

# 慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变动物模型的总结应用与评述

林玲<sup>1,2</sup>, 韩涛<sup>1</sup>, 陆璐<sup>2,3</sup>, 孙倩倩<sup>1</sup>, 孙明瑜<sup>2,3\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所, 上海 201203;  
3. 上海中医药大学, 上海 201203)

**[摘要]** 胃癌是目前在全球范围中发病率和死亡率较高的一种疾病,也是在全球医学界作为重点关注的疾病。胃癌的发生是一个多重阶段、多重因素的过程。大量流行病学、病理学和临床证据证实,慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)患者的胃癌罹患风险增高,CAG的患病率与胃癌死亡率高度相关。胃黏膜萎缩和肠上皮化生(特别是不完全型结肠化生)及异型增生是胃癌的癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)的主要阶段。对CAG患者尤其是伴有肠化和异型增生者进行病情监测,对于早期胃癌的发现意义重大。CAG与PLGC作为在胃癌发生过程中的重要病理阶段意义非凡,近年来与此相关的深入临床及实验研究越来越多。迄今为止,动物实验是CAG与PLGC疾病实验方向的主要研究途径,所以造模方法的探索显得尤为关键,选择一个稳定可靠的模型是研究动物实验的首要因素。鉴于两种疾病的关联性,本文总结了近年来CAG与PLGC动物模型的建立方法,大致分为化学药物诱变法、物理方式刺激法、免疫造模法、幽门螺杆菌感染复制法以及手术造模法,对各种方法在之前实验中的应用分别举例,并加以笔者后续探索而且已经成功的实验造模方法,同时对各种方法的优缺点做简要评述,为今后CAG与PLGC实验中动物模型的建立和应用提供一定的参考。

**[关键词]** 慢性萎缩性胃炎; 癌前病变; 动物模型; 胃癌

**[中图分类号]** R22;R242;R2-031;R273;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)02-0220-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182329

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20180911.1104.028.html>

**[网络出版时间]** 2018-9-13 8:40

## Summary and Review of Animal Models for Chronic Atrophic Gastritis and Precancerous Lesions of Gastric Cancer

LIN Ling<sup>1,2</sup>, HAN Tao<sup>1</sup>, LU Lu<sup>2,3</sup>, SUN Qian-qian<sup>1</sup>, SUN Ming-yu<sup>2,3\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ji'nan 250355, China;

2. Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital, Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China;

3. Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** Gastric cancer is a disease with high morbidity and mortality in the world, and also obtains attention in the global medicine. The occurrence of gastric cancer is a multi-stage and multi-factor process. A large number of epidemiological, pathological and clinical evidences have confirmed that the risk of gastric cancer in patients with chronic atrophic gastritis (CAG) is significantly correlated with the mortality of gastric cancer. Gastric mucosal atrophy, intestinal metaplasia (especially incomplete colonic metaplasia) and dysplasia are the main stages of precancerous lesions of precancerous lesions of gastric cancer (PLGC). Monitoring the condition of CAG patients, especially those with intestinal metaplasia and dysplasia, is of great significance for the discovery of early gastric cancer. CAG and PLGC are great significance in the pathological stage of gastric carcinogenesis. In recent years, more and more in-depth clinical and experimental studies have been carried out in this direction. So far,

**[收稿日期]** 20180415(004)

**[基金项目]** 上海市科委专项(15DZ1900104)

**[第一作者]** 林玲, 硕士, 从事方剂临床配伍与现代研究, E-mail: 819786987@qq.com

**[通信作者]** \*孙明瑜, 研究员, 博士生导师, 博士, 从事中医药防治消化疾病和肿瘤的基础与临床研究, E-mail: mysun248@hotmail.com

animal experiment is the main research way for CAG and PLGC disease, so it is very important to explore the modeling method. Choosing a stable and reliable model is the primary factor to study animal experiment. In view of the relationship between two diseases, this paper will summarize the methods of establishing animal models for CAG and PLGC in recent years, generally including chemical drug mutagenesis, physical stimulation, immune modeling, *Helicobacter pylori* infection replication and surgical modeling. Examples would be given for the application of various methods in the previous experiments, and the author would make a brief comment on the merits and demerits of these methods, which have been explored and successfully made by the author. This study would provide certain reference for the establishment and application of animal models in further CAG and PLGC experiments.

[ **Key words** ] chronic atrophic gastritis (CAG); precancerous lesions of gastric cancer (PLGC); animal model; gastric cancer

慢性萎缩性胃炎(CAG)是目前临床上常见的一种消化系统疾病,胃癌是全世界发病率较高的一种癌症。胃癌是 20 世纪 80 年代初,90 年代末我国死亡率最高的恶性肿瘤,死亡病例约占恶性肿瘤的 23%<sup>[1-2]</sup>。胃癌的发病率和死亡率居恶性肿瘤的第 2 位,对健康构成严重的威胁。近年来新发胃癌患者呈现年轻化趋势,30 岁以下患者的比例由 20 世纪 70 年代的 1.7% 蹿升至当前的 3.3%,给家庭和社会造成了巨大负担。因此,如何提高胃癌综合防治水平一直是关系人民群众健康和国计民生的大事,也是我国医务和科研人员多年来集中精力研究的热点领域之一<sup>[3]</sup>。CAG 是胃癌前病变(PLGC)前的一个重要的阶段<sup>[4]</sup>。CAG 演变至胃癌需要一个相对较长的过程,在 CAG 基础上伴发的肠上皮化生和异型增生者被认为是 PLGC<sup>[5]</sup>。其进展的过程为慢性萎缩性胃炎-胃黏膜小肠型肠上皮化生-胃黏膜大肠型肠上皮化生-不典型增生-胃癌<sup>[2]</sup>。CAG 常合并肠化生,少数患者出现上皮内瘤变,一些病例经过长期演变可发展为胃癌<sup>[5]</sup>。鉴于胃癌的高度恶性,且其病因尚未完全阐明,实施针对病因的一级预防比较困难,因此对 PLGC 进行密切的监测及予以及时有效的处理将是预防胃癌的关键<sup>[6]</sup>。在 CAG 的治疗方面,许多药物被证实有效,包括抗菌剂以及抗酸剂,维生素 B12,维生素 C,叶酸和中药制剂(如胃复春)等<sup>[7]</sup>。随着 CAG 和 PLGC 的相关研究愈发深入,动物实验被认为是重点方向。考虑到目前文献中造模方法繁多,缺乏各种因素和方法之间的分析比较,通过分析比较来选择并且建立一个稳定可靠的动物模型对于科研来说尤为重要。本文对 CAG 和 PLGC 动物模型的建立因素方法进行分类总结,根据两个不同阶段的发生发展规律分类进行应用举例,并结合自身选用的造模方法从文献常见的方法

中进一步分析优缺点,以此为 CAG 和 PLGC 的动物实验提供更具体可靠的造模方法,为 CAG 和 PLGC 的研究提供参考依据。

迄今为止,在动物实验中较为多见的造模方法大致分为以下几种,化学药物诱变法,物理方式刺激法,免疫造模法,幽门螺杆菌(Hp)感染复制法以及手术造模法。下述各种方法具体内容和应用。

## 1 造模方法

**1.1 化学药物诱变法** 化学药物诱变法是指用一些化学试剂以及药物等使胃黏膜病变的情况。通常在动物实验中比较常见的试剂和药物的有 *N*-甲基-*N*-硝基-*N*-亚硝基胍(MNNG)溶液、盐酸雷尼替丁、热 NaCl 溶液、脱氧胆酸钠、水杨酸钠、乙醇和氨水等。化学药物诱变法采用一些化学试剂和药物的溶液对动物进行自由饮用或者灌胃操作,相对而言操作简单,目前应用的比较广泛,单一因素造模时间比较长,所以目前实验通常采用 2 种及以上因素联合造模的方法。

**1.1.1 MNNG 溶液** 此方法是目前公认比较理想的方法,在造模的化学药物中使用较为广泛。MNNG 法模拟人类的摄入硝酸盐不当而在胃中产生致癌物质的过程<sup>[8]</sup>,诱变率高达 1%<sup>[9]</sup>。MNNG 是一种 *N*-亚硝基化合物,能够和 DNA 产生直接作用,导致 DNA 链上已有的碱基烷化产生致癌作用<sup>[10]</sup>。单功能烷化剂 MNNG 可引发甲基鸟嘌呤的型损伤,这种损伤与胃癌的发生关系尤为密切<sup>[11]</sup>。

使用 MNNG 溶液通常采用自由饮用法和灌胃法,在浓度上也有一定差异。MNNG 溶液加入水中自由饮用在诱导大鼠胃黏膜病变时的质量浓度通常在 50 ~ 100 mg·L<sup>-1</sup><sup>[12]</sup>。质量浓度过低时,会使造模时间过长,质量浓度过高则容易引发其他癌变。此方法操作简单方便,是现在比较多用的方式。此用

法不足之处在于摄入的剂量无法精确控制。若采用灌胃的方式,对剂量可以比较准确的控制,但加重了实验人员的劳动量,而且长期灌胃对大鼠的胃黏膜也会有一定的刺激。美国国家癌症研究所国家毒理学规划处(NTP)的资料显示,通过 144 种化学物质灌胃和其他给药方式(如饮食添加)对大鼠、小鼠胃的肿瘤的诱变进行比较,发现灌胃法中有 17 种化学物质导致大鼠和小鼠的前胃良恶性肿瘤,但是其他给药途径只出现 2% 前胃肿瘤<sup>[13]</sup>。所以,灌胃法的不足之处在于可能引起理化性质相同的化学物质产生不同的表现。

**1.1.2 盐酸雷尼替丁** 低酸环境会使 MNNG 诱发胃癌前病变的作用加快<sup>[14]</sup>,在饲料中加入雷尼替丁可起到抑制胃酸分泌的作用,联合 MNNG 自由饮用可缩短造模周期。雷尼替丁可以对胃酸分泌进行抑制,使胃内的环境变为弱酸性,促进硝酸盐转化为亚硝酸盐,从而使 MNNG 的诱导作用加速。盐酸雷尼替丁通常作为药品加入饲料中,也有少数采用灌胃的形式,是联合 MNNG 法诱导大鼠胃黏膜病变的方法之一。

**1.1.3 热 NaCl 溶液** 长期饮用浓茶、烈酒、咖啡,进食过热、过冷、过咸的食物等不良饮食习惯,都可能导致胃黏膜的反复损伤。流行病学资料显示,喜食烫热、高盐饮食有较高的胃癌发生风险。热 NaCl 溶液可以直接刺激胃黏膜导致胃黏膜损伤,破坏正常黏膜屏障;亦可间接诱导炎症介质,使细胞浸润,影响胃黏膜血液灌流,逐渐发展为 CAG。长期对胃黏膜的热刺激会导致胃黏膜的慢性炎症。通常在实验中常用 55 ~ 65 °C 的热盐水对大鼠进行灌胃,每只每日 2 mL 左右<sup>[15]</sup>。

**1.1.4 脱氧胆酸钠溶液** 脱氧胆酸钠溶液的作用为模拟胆汁反流,产生脂溶性物质胆酸,从而破坏胃黏膜。胆汁返流是引发 CAG 的主要因素之一,胆汁中的胆盐能够使胃黏膜屏障对离子通透的功能降低,胃液中 H<sup>+</sup> 离子破坏胃黏膜细胞的脂蛋白层,从而引发炎症。20 mmol·L<sup>-1</sup> 脱氧胆酸钠溶液灌胃或者自由饮用是最常见的方法,此方法可联合其他因素,共同用于 CAG 和 PLGC 造模。例如,通过自由饮用脱氧胆酸钠溶液以及阿司匹林水溶液结合免疫损伤法造成 CAG 模型<sup>[16]</sup>。

**1.1.5 水杨酸钠溶液** 水杨酸钠溶液通过对胃黏膜局部的直接刺激引起胃黏膜炎性反应,致使胃黏膜细胞脱落。此外,水杨酸钠溶液对胃黏膜的生长有一定的抑制作用。胃黏膜的营养因子有胃泌素、

表皮生长因子、前列腺素、生长抑素等。胃炎发病过程中,前列腺素有促进胃黏膜内糖蛋白和粘多糖的合成与释放、加强胃黏膜屏障的作用,还可加快黏膜血液循环,促进胃黏膜的修复。前列腺素能起到对胃黏膜的保护作用,而水杨酸钠抑制前列腺素合成,进一步破坏其保护作用。所以长期小剂量的水杨酸钠溶液灌胃会造成大鼠胃黏膜慢性炎症<sup>[17]</sup>。

**1.1.6 乙醇** 乙醇是 CAG 和 PLGC 发生的重要诱因,既可直接刺激胃黏膜,又可刺激胃酸分泌,引起消化道黏膜充血、水肿。无水乙醇灌胃能够导致胃黏膜血管内皮损坏,发生微循环障碍,引起胃黏膜缺血并且损伤胃黏膜屏障,导致急性胃黏膜损伤<sup>[18]</sup>。动物实验通常使用 30% ~ 60% 的乙醇灌胃<sup>[19]</sup>。

**1.1.7 氨水** 正常胃黏膜的 pH 为 2.0。碱性的氨水能够破坏胃黏膜的酸性环境,对胃黏膜造成损伤。长此以往会破坏正常黏膜屏障,亦可间接诱导炎症介质,引发 CAG。动物实验中通常使用氨水溶液自由饮用法或者灌胃法。在探究氨水对胃黏膜长期的影响实验中,通过自由饮用法使 3 组大鼠分别摄入体积分数为 0%, 0.01%, 0.02% 的氨水。1 个月后,0.02% 氨水组大鼠的胃黏膜发生明显的腺体萎缩,胃黏膜 pH 上升,壁细胞数量降低;0.01% 氨水组的在 3, 6 个月后同样发生了上述病变,6 个月后的萎缩程度更加严重<sup>[20]</sup>。氨水浓度等同于 Hp 阳性者的胃液中氨浓度,对探讨 Hp 阳性 CAG 的发病机制十分有意义。

**1.2 物理方式刺激法** 物理方式刺激法包括 X 射线照射法,<sup>60</sup>Co 照射法等,是通过射线的方法刺激胃黏膜,使胃黏膜发生改变的过程。此方法相对简便,不过造模时间长短不同,成模时间可能十分漫长,也可能只需几日。此方法不够成熟,在国内较少使用。

**1.3 免疫造模法** 免疫造模法即利用自身免疫性胃炎患者血液中出现自身抗体造成胃壁细胞损伤,从而导致胃酸和内因子分泌降低或消失。免疫造模法对技术水平要求较高,而稳定性较差,所以国内很少使用。在动物实验研究中,可以通过免疫佐剂成功复制 GAG 和 PLGC 模型。

**1.4 Hp 感染复制法** 研究显示, Hp 与胃癌的发病密切相关<sup>[21]</sup>。Hp 感染是 CAG 形成和发病的关键因素之一, CAG 进一步发展为肠上皮化生、不典型增生,最终发展为胃癌<sup>[22]</sup>。Hp 引起的胃癌发生与慢性炎症有关,特征是中性粒细胞和巨噬细胞浸润胃上皮细胞,使得促炎细胞因子和活性氧的积累<sup>[23]</sup>。此方多用于小鼠,优点为周期较短,缺点为

小鼠的病理改变可能存在较大差距,所以用慢性胃炎病变研究的案例极少。Hp 感染的早期即可通过激活蛋白激酶 B(Akt) 信号通路并作用于其下游因子 GsK-3 $\beta$  而诱导正常胃黏膜细胞发生上皮细胞-间充质转化(EMT),进而引起胃黏膜细胞增殖、凋亡紊乱,参与胃癌的发生并增加胃癌浸润、转移的风险。

**1.5 手术造模法** 手术造模法包括胃大部切除术、幽门弹簧插入法以及胃空肠吻合术后吻合口功能不良法。十二指肠液里含有胆汁,经手术造模后不断刺激胃黏膜,导致胃黏膜发生病变。手术造模法的缺点为对实验人员的技术的要求较高,造模失败的风险大,动物死亡率高,对实验条件等也有较严格的要求,而且大多数模型相对不稳定。优点为可以极大缩短造模周期。

## 2 应用

### 2.1 CAG 的应用

**2.1.1 化学法** 实验中有选用 SD 大鼠,每日自由饮用质量浓度为 120 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液,并且每周禁食 1 次。禁食当天 50% 乙醇灌胃每只 1 mL,其余日均用 0.03 g·kg<sup>-1</sup> 雷尼替丁溶液灌胃。14 周后,CAG 造模成功<sup>[24]</sup>。对 SD 大鼠使用 MNNG 自由饮用结合饥饿失常的方法,12 周后均成功得到 CAG 胃癌前变大鼠模型<sup>[25]</sup>。Wistar 大鼠自由饮用 170 mg·L<sup>-1</sup> 的 MNNG 溶液,8 周后得到 CAG 模型<sup>[26]</sup>。相关研究使用含有雷尼替丁的饲料联合 MNNG 造模,缩短造模时间<sup>[27]</sup>。罗伟等<sup>[28]</sup> 采用 120 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液给 SD 大鼠灌胃,结合饥饿失常,喂食 1 d,禁食 1 d,同时采用 2% 的水杨酸钠和 15% NaCl 溶液(加热至 50 ℃)隔日交替灌胃,连续 12 周得到大鼠 CAG 模型。范英昌等<sup>[29]</sup> 对大鼠采用 2% 水杨酸钠液(每天 1 次,每次 2 mL)及饥饿失常,疲劳过度等方法造模共计 8 周,成功复制出 CAG 模型,病理显示其胃黏膜发生 CAG 样改变,部分伴显著的肠腺化生。邵雪辉等<sup>[30]</sup> 采用 2% 水杨酸钠和 30% 乙醇混合溶液给大鼠灌胃,并结合劳累、饥饿失常等多因素方法刺激 Wistar 大鼠胃黏膜,多因素联合进行 8 周后,良好的复制了大鼠的 CAG 模型,稳定性较高。在黄芪多糖治疗 CAG 和 PLGC 的机制研究中,周杰<sup>[31]</sup> 选用了 SD 大鼠,给予自由饮用 150 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液,170 mg·L<sup>-1</sup> 的 MNNG 溶液[1 mL·(100 g)<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>]灌胃,同时大鼠用 40% 乙醇[1 mL·(100 g)<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>]灌胃,每周 2 次,第 5 周起开始饥饿失常(逢单禁食,逢双饱食),12 周后得到

大鼠 CAG 模型。在改良半夏泻心汤治疗 CAG 的实验研究中,金东明等<sup>[32]</sup> 对 Wistar 大鼠采用 0.04% 的氨水自由饮用,隔日换 1 次氨水,连续 30 d,期间<sup>60</sup>Co 照射 1 次,得到大鼠 CAG 模型。

**2.1.2 物理法** 实验用 15.4 Gy·s<sup>-1</sup> X 射线,对豚鼠胃部进行照射,动态地观察胃壁细胞数目、胃组织及功能变化,结果表明,X 射线照射豚鼠胃区,能够诱发形态和功能上和人类 CAG 十分近似的病证。

**2.1.3 免疫法** 李兆申等<sup>[33]</sup> 对大鼠进行 2 次主动免疫,同时用热水、胆汁给予灌胃,连续 70 d,成功复制大鼠 CAG 模型,模型组大鼠体质量、黏膜血流量和电位差,胃黏膜 pH,胃病理改变相对正常组而言差异具有极显著意义。造模完成后,饲养 45 d,与正常组对比,模型组的上述指标,差异有显著意义。张淑芹等<sup>[34]</sup> 采用自身免疫法,选用 Wistar 大鼠,每只给予大鼠皮下注射佐剂抗原,经过 3 周后重复注射 1 次,结合饥饿失常,单日禁食,双日进食,经过 6 周,通过病理检查显示,成功制造了大鼠 CAG 模型。在胃安素防治慢性 CAG 及 PLGC 的实验病理研究当中,赵敏等<sup>[35]</sup> 选用了体质量 120 ~ 130 g 的 Wistar 大鼠,采用主动免疫,每只大鼠足底注射佐剂抗原(用同种大鼠胃黏膜的生理盐水组织匀浆与弗氏佐剂以 1:1 配成的乳剂)每次 0.3 mL,每 4 周 1 次,共 2 次,配合去氧胆酸钠水溶液自由饮用,浓度为 20 mmol·L<sup>-1</sup>,加寒凉胆汁灌胃,将猪胆汁离心后置 -20 ℃ 备用,灌胃前用自来水化冻至冰水各半,按每 1 kg 体质量 12.5 mL 给大鼠灌胃每天 1 次,并且配合饥饿失常,2 d 喂鼠料,1 d 停食,连续 90 d 后成大鼠 CAG 模型。

**2.1.4 Hp 感染复制法** 姚永莉<sup>[36]</sup> 在 Hp 感染与胃癌形成的动物实验研究中,通过蒙古沙土鼠体质量在 20 ~ 30 g,采用 Hp 增菌后用 280 g·L<sup>-1</sup> 布氏肉汤调制成感染菌液,浓度为 2 × 10<sup>10</sup> CFU·L<sup>-1</sup>,30 min 内用胃管注入禁食 12 h 的沙土鼠胃内,每只 0.5 mL,然后再禁食 4 h,连续接种 10 d。实验动物在接种 Hp 后第 25 周时,成功复制小鼠的 CAG 模型。

**2.1.5 手术造模法** 在 CAG 证候规律探讨和消痞颗粒治疗慢性萎缩性胃炎癌前病变的机制研究中,孟捷<sup>[37]</sup> 选用了 Wistar 大鼠,对其进行禁食不禁水 24 h 后,以 3.5% 水合氯醛腹腔麻醉,在无菌条件下开腹,在腺胃距胃幽门环 0.2 cm 处切一小口,将一长约 2 cm 的金属弹簧一端插入幽门环,并用缝线将弹簧两端固定。按手术常规逐层缝合胃及腹壁

切口,手术周后,每周给每只大鼠分别灌胃 2 次高盐热淀粉糊(60~70℃,含 10% NaCl),每次 2 mL,至实验第 16 周结束,复制大鼠 CAG 模型。

**2.1.6 笔者的应用** 此次笔者结合了化学造模法的其中几个因素,选用了 5 周龄 Wistar 大鼠,以 100 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液自由饮用,并喂食含有 3% 雷尼替丁的鼠饲料。3 d 为 1 个周期,采用饥饱失常,进食 2 日,禁食 1 日,进食第 1 天上午用 56℃ 150 g·L<sup>-1</sup> 的 NaCl 溶液灌胃,每 100 g 灌胃 2 mL,禁食当天下午用 30% 乙醇灌胃。8 周后通过病理切片检查已经出现胃黏膜萎缩和炎症状态,提示 CAG 造模成功。

## 2.2 PLGC 的应用

**2.2.1 化学法** 相关研究使用 100 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液自由饮用 20 周或者 150 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液自由饮用联合饥饱失常饱食 2 d,禁食 1 d,制造大鼠 PLGC 模型<sup>[38-39]</sup>。李美丽等<sup>[40]</sup>对 SD 大鼠采用 200 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液按 5 mL·kg<sup>-1</sup> 灌胃等综合因素造模 8 周,成功制备 PLGC 大鼠模型。有研究采用大鼠自由饮用质量浓度为 50 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液,饲料中加入 0.03% 雷尼替丁,20 周后,病理检查显示,MNNG 雷尼替丁联合使用,与单用 MNNG 或雷尼替丁相比,肠上皮化生以及异型增生率显著提高,同时,肠上皮化生和异型增生的程度也有显著提升<sup>[41]</sup>。李岩<sup>[42]</sup>采用给大鼠灌胃 55℃,95% 的氯化钠溶液联合 20 mmol·L<sup>-1</sup> 去氧胆碱钠,2% 水杨酸钠灌胃、饥饱失常,12 周成功复制 PLGC 模型。Wistar 大鼠自由饮用 100 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液,同时进食含有 0.03% 雷尼替丁的标准鼠料,上午用 56℃,15% NaCl 溶液按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 灌胃,结合饥饱失常,进食 2 d,禁食 1 d,在禁食当天下午用 40% 乙醇按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 灌胃,进食当天下午用 0.85% 脱氧胆酸钠溶液按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 灌胃,24 周复制成功大鼠 PLGC 模型<sup>[43]</sup>。亦有 20 mmol·L<sup>-1</sup> 脱氧胆酸钠溶液自由饮用结合 150 g·L<sup>-1</sup>,55℃ 热盐水灌胃加上 2% 水杨酸溶液 10 mL·kg·d<sup>-1</sup> 灌胃,饥饱失常 2 d 饱食,1 d 禁食,12 周后得到大鼠 PLGC 模型<sup>[44]</sup>。在 3 种中医治法对 PLGC 大鼠胃黏膜细胞增殖的影响中,蒋时红等<sup>[45]</sup>选用 Wistar 大鼠,体质量(120±10)g,给予 MNNG 溶液 167 mg·L<sup>-1</sup> 自由饮用,0.017 mol·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液灌胃,结合饥饱失常,每进食 2 d,禁食 1 d,禁食当天下午用 40% 乙醇按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 剂量灌胃,每周止血钳夹尾刺激 30 min,8 周得到大鼠 PLGC 模型。魏玥等<sup>[46]</sup>选用了 100 g 左右 Wistar 大

鼠在,给予 0.05% 氨水溶液自由饮用,喂食含 0.03% 盐酸雷尼替丁饲料,同时用 120 mg·L<sup>-1</sup> 的 MNNG 溶液灌胃,每只每天 5 mL·kg<sup>-1</sup>,32 周后得到大鼠 PLGC 模型。

**2.2.2 物理法** Watanabe<sup>[47]</sup>采用 X 射线照射 5 周龄的大鼠胃部,每天 1 次,5 Gy·s<sup>-1</sup>,连续 80 周后,成功造成了伴有潘氏细胞及肠标记酶的肠上皮化生(IM)。SHEN 等<sup>[17]</sup>对 SD 大鼠采用<sup>60</sup>Co 照射,每日 1 次,每剂 200 g,连续 3 d 造成大鼠 PLGC 模型。

**2.2.3 免疫法** Watanabe<sup>[47]</sup>首次用大鼠胃抗原加福氏完全佐剂<sup>[44]</sup>皮下注射,成功复制了 PLGC 模型。6 周后造模成功。蔺焕萍等<sup>[48]</sup>对大鼠进行皮下注射佐剂抗原(同种大鼠胃黏膜的生理盐水组织匀浆与等量的完全弗氏佐剂配成的乳剂 0.3 mL)在第 1 周和第 5 周各免疫 1 次,同时给予 2 g·L<sup>-1</sup> 去氧胆酸钠自由饮用,每天热开水 55℃ 灌胃进行刺激,3 个月造模成功。

**2.2.4 Hp 感染复制法** 王睿斌<sup>[49]</sup>在 Hp 感染与 PLGC 及胃癌形成的关系动物实验研究中,选用 C<sub>57</sub>BL/6 小鼠 18~22 g,经口灌喂 Hp,每只灌喂 Hp 菌液 5 mL,3×10<sup>9</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>,灌喂后再禁食 4 h,1 次/d,共 5 次,12 周后得到动物 PLGC 模型。

**2.2.5 手术造模法** SHI 等<sup>[50]</sup>选用 Wistar 大鼠体质量为 250~300 g,使用金属弹簧插入通过幽门括约肌固定,恢复 1 周后,用 50~60℃,150 g·L<sup>-1</sup> NaCl 每只 2 mL 热盐水灌胃,每周 2 次,15 周后,成功复制大鼠 PLGC 模型。

在化浊解毒和胃方对 PLGC 大鼠血管生成机制的影响中,高绍芳等<sup>[51]</sup>将雄性 Wistar 大鼠禁食不禁水 16 h 后,以 1.0% 戊巴比妥 5 mL·kg<sup>-1</sup> 腹腔注射麻醉,称其质量,固定大鼠四肢,在无菌条件下开腹,暴露胃,在胃前壁距幽门环 0.2 cm 无或少血管处切一小口,将一长约 2 cm,直径约 0.2~0.3 cm 的金属弹簧前 1/3 插过幽门环进入十二指肠,用缝线将弹簧两端及中央固定,按手术常规逐层缝合胃及腹壁切口。手术后禁食不禁水 24 h,恢复性饲养 1 周后,开始灌胃 60~70℃ 高盐热淀粉糊(含有 15% NaCl),每只每次 2 mL,每周 2 次,连续 24 周后复制成功大鼠 PLGC 模型。

**2.2.6 笔者的应用** 此次笔者结合了化学造模法的其中几个因素,选用了 5 周龄 Wistar 大鼠,以 100 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液自由饮用,喂食含有 3% 雷尼替丁的鼠饲料。3 d 为 1 个周期,采用饥饱失常,进食 2 d,禁食 1 d,进食第 1 天上午用 56℃,

150 g·L<sup>-1</sup> NaCl 溶液灌胃,每 100 g 灌胃 2 mL,禁食当天下午用 30% 乙醇灌胃,16 周结束后,通过病理切片检查已经出现肠上皮化生和异型增生,提示 PLGC 造模成功。

### 3 小结

本文介绍了多种 CAG 与 PLGC 模型的造模方法。其中化学试剂诱导法在众多方法中是最常用的,虽然有的周期比较长,操作次数较多,需要实验人员的一定技术,但是成模率在所有方法中是相对比较高的,而且较为稳定。MNNG 溶液是最常用的化学试剂诱导法因素之一,通常配合 2~3 种其他化学试剂使用,缩短造模周期。而物理方法(X 射线,<sup>60</sup>Co)优点为操作次数大幅度减少,使实验缩短了一定时间,不过由于其不确定性强,模型稳定率不足,而被实验者较少采用,目前国内实验中运用较少,未来还需要更多探究验证。免疫法的优点也是可以适当缩短造模周期,因其针对一部分患者的发病原因,而且过程相对复杂,操作比较麻烦,也较少被实验者选用。Hp 感染法相对直接,作为一种病因直接感染,常用于小鼠实验,优点是成模时间短,缺点为小鼠的病理差异不好控制,可能相对比较大,未来还需要一定的经验技术更深入的发展;手术法可以缩短一定的造模时间,但是对实验人员的要求较高,风险大,目前采用的也不是很多,还需要今后更多实验者的继续探索。总而言之,目前较可靠的还属化学法,通过试剂的饮用及灌胃等方法直接或间接刺激胃黏膜,导致胃黏膜损伤进而引发 CAG 甚至 PLGC。见表 1。

表 1 CAG 和 PLGC 造模方法比较

Table 1 Comparison of modeling methods for CAG and PLGC

方法	优点	缺点
化学法	成模率较高,较稳定,操作相对简单	实验周期较长,操作次数多
物理法	周期短	较不稳定
免疫法	周期较短	过程较复杂,技术要求要
Hp 感染法	周期较短,较稳定	多用小鼠,可能的病理差异大
手术造模法	周期较短	风险大,技术要求高

笔者此次运用了化学法建立慢性萎缩性胃炎和胃癌前病变大鼠模型,幼龄的 Wistar 大鼠,自由饮用 100 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 溶液,喂食含有 3% 雷尼替丁的鼠饲料,并且加以采用饥饱失常,进食 2 d,禁食 1 d,进食第 1 天上午用 56 ℃,150 g·L<sup>-1</sup> 的 NaCl 溶液灌

胃,每 100 g 灌胃 2 mL,禁食当天下午用 30% 乙醇灌胃,8 周结束时,成功得到第一批慢性萎缩性胃炎大鼠模型,16 周结束时成功建立胃癌前病变大鼠模型。此方法较为省时省力,不需要太高的技术要求,考虑到大鼠每天灌胃的刺激承受度,采用了 3 d 1 个周期,在第 1 天和第 3 天时灌胃,这样可以适当降低死亡率,相比较之前的其他模型来说,周期也比较短,并且证实了两个疾病阶段的关联性,未来的实验人员可以参考此方法,更加省时的同时建立模型来研究这两个阶段的疾病。此方法的不足是连续 16 周需要每天都进行操作,适合时间合适的实验人员选择。

综上所述,可选择的动物 CAG 和 PLGC 模型的复制方法比较广泛。某些模型相对稳定可靠,目前被比较多的研究人员接受,如 MNNG 溶液联合其他因素的方法。大多数方法并不是只采用单一因素进行造模,而是联合 2 种或者 2 种以上其他因素,从而缩短造模时间,提高成模率。实验人员应该根据自己的实际来选择合适造模方法,也要参考具体研究的内容。

### [参考文献]

[1] Kuper H, Adami H O, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer[J]. J Intern Med, 2000, 248(3): 171-183.

[2] National Office for Cancer Prevention and Control. China report on cancer mortality-the third national sampling retrospective death survey[M]. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2010:52-62.

[3] 张玉峰,刘新爱,叶坤英,等. 参枳消萎汤对慢性萎缩性胃炎癌前病(肝胃气滞证)变转归的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(4): 174-177.

[4] Park Y H, Kim N. Review of atrophic gastritis and intestinal metaplasia as a premalignant lesion of gastric cancer[J]. J Cancer Prev, 2015, 20(1): 25-40.

[5] 房静远,刘文忠,李兆申,等. 中国慢性胃炎共识意见[J]. 现代消化及介入诊疗, 2013, 18(2): 119-128.

[6] Che T C H, François S, Bouchet S, et al. Early lesions induced in rat colon epithelium by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine [J]. Tissue Cell, 2010, 42(3): 190-194.

[7] 陈曦,赵亚红,张也青,等. 胃复春的临床应用和现代研究进展[J]. 江西中医药, 2016, 47(9): 77-80.

[8] LUO C, WU X G. Lycopene enhances antioxidant enzyme activities and immunity function in N-methyl-N'-

- nitro-*N*-nitrosoguanidine-induced gastric cancer rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(12): 3340-3351.
- [9] ZHU X, LIU S, ZHOU J, et al. Effect of astragalus polysaccharides on chronic atrophic gastritis induced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine in rats[J]. *Drug Res*, 2013, 63(11): 597-602.
- [10] 许伟光. 加味生胃方治疗慢性萎缩性胃炎的临床观察与实验研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2016: 25-26.
- [11] 刘更. 低浓度 MNNG 激活内质网应激及其对表皮生长因子受体通路的影响[D]. 杭州:浙江大学, 2005: 14-16.
- [12] 袁孝兵. 大鼠胃癌前病变模型的研究进展[J]. *安徽中医学报*, 2004, 23(5): 62-64.
- [13] WANG X Y, WANG L L, ZHENG X, et al. Expression of p-STAT3 and vascular endothelial growth factor in MNNG-induced precancerous lesions and gastric tumors in rats[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2016, 8(3): 305-313.
- [14] 周晶, 黄柳向, 喻斌, 等. MNNG 诱导胃癌前病变模型的探讨[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2016, 24(11): 888-890.
- [15] Kandasamy M, Rosskopf M, Wagner K, et al. Reduction in subventricular zone-derived olfactory bulb neurogenesis in a rat model of Huntington's disease is accompanied by striatal invasion of neuroblasts[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0116069.
- [16] 陈小野, 邹世洁, 佟彤, 等. 大鼠 CAG 证病结合模型胃黏膜病理研究[J]. *中医药学刊*, 2002, 20(3): 292-295.
- [17] SHEN S, YUWEN Y, ZHANG Z, et al. Effect of Jinguo Weikang capsule on proto-oncogene expression of gastric mucosa in rats with gastric precancerous lesions[J]. *Chin J Integr Med*, 2008, 14(3): 212-216.
- [18] YANG Z, WANG C, CHEN J, et al. Effects of moxibustion on cell proliferative factors in gastric mucosa in rats with precancerous lesions of chronic atrophic gastritis[J]. *Chinese Acupun Mox*, 2015, 35(12): 1269-1273.
- [19] Uchiyama S, Saeki N, Ogawa K. Aberrant EphB/ephrin-B expression in experimental gastric lesions and tumor cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(2): 452-464.
- [20] 朱晓玲. 氨水对大白鼠胃黏膜长期作用的组织学变化[J]. *中华消化杂志*, 1990, 10(4): 198-201.
- [21] Tsukamoto T, Mizoshita T, Tatematsu M. Animal models of stomach carcinogenesis[J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(5): 636-648.
- [22] ZHANG H, DING C, SUO Z, et al. Effect of *Helicobacter pylori* on cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in patients with gastric precancerous lesions and its clinical significance[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(6): 2364-2368.
- [23] Valenzuela M A, Canales J, Corvalán A H, et al. *Helicobacter pylori*-induced inflammation and epigenetic changes during gastric carcinogenesis[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(45): 12742-12756.
- [24] 李俊青, 李纯, 刘希, 等. 参七消痞颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠血清 GH, EGF, GAS 的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(12): 172-175.
- [25] Den Hollander W J, Kuipers E J. Current pharmacotherapy options for gastritis[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2012, 13(18): 2625-2636.
- [26] 宋春红, 王海苹, 宫明华, 等. 坐珠达西对 MNNG 致大鼠慢性萎缩性胃炎的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(20): 142-144.
- [27] XIE J R, SUN F, LIANG G Y. Effects of xinwei granule on STAT3 and p-STAT3 signal pathway in rats with precancerous lesion of gastric cancer[J]. *Chin J Integr Trad West Med*, 2013, 33(1): 65-70.
- [28] 罗伟, 刘春雷, 王军英, 等. 针刺与智能通路治疗仪联合应用对慢性萎缩性胃炎大鼠胃电节律及胃黏膜组织前列腺素 E<sub>2</sub>、前列腺素 F<sub>2α</sub> 的影响[J]. *针刺研究*, 2014, 39(6): 482-486.
- [29] 范英昌, 张斌, 胡利明, 等. 大鼠脾气虚型慢性萎缩性胃炎动物模型的实验研究——胃黏膜病理形态及超微结构改变的研究[J]. *天津医药*, 1994, 22(2): 86-88.
- [30] 邵雪辉, 王建国, 戴杰, 等. 大鼠慢性萎缩性胃炎模型的建立[J]. *张家口医学院学报*, 2002, 19(2): 11-13.
- [31] 周杰. 黄芪多糖治疗慢性萎缩性胃炎和胃癌前病变的机制研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2013: 4-7.
- [32] 金东明, 吴巍, 孙树权, 等. 改良半夏泻心汤治疗慢性萎缩性胃炎实验研究[J]. *长春中医学报*, 2001, 17(3): 41-42.
- [33] 李兆申, 全山丛. 综合法制作大鼠萎缩性胃炎模型的实验研究[J]. *中华医学杂志*, 1992, 72(2): 81-83.
- [34] 张淑芹, 赵林山, 郑继奎, 等. 慢性萎缩性胃炎动物模型的复制[J]. *哈尔滨师范大学:自然科学学报*, 2001, 17(6): 81-83.
- [35] 赵敏, 张占海, 危北海, 等. 胃安素防治慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变的实验病理研究[J]. *中国中西医结合脾胃杂志*, 1996, 4(4): 225-229.

- [36] 姚永莉. 幽门螺杆菌感染与胃癌形成的动物实验研究[D]. 北京:第一军医大学南方医院全军消化内科研究所,2001.
- [37] 孟捷. 慢性萎缩性胃炎证候规律探讨和消痞颗粒治疗慢性萎缩性胃炎癌前病变的机理研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2005.
- [38] PENG L, XIE Y, WANG C, et al. Moxibustion alleviates gastric precancerous lesions in rats by promoting cell apoptosis and inhibiting proliferation-related oncogenes[J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2017, 14(2): 148-160.
- [39] JIANG X Y, QIAN L P, ZHENG X J, et al. Interventional effect of Ginkgo biloba extract on the progression of gastric precancerous lesions in rats[J]. *J Dig Dis*, 2009, 10(4): 293-299.
- [40] 李美丽, 朱西杰, 李卫强, 等. 复方蜥蜴散不同微粒组合剂对胃癌前病变模型大鼠 Bcl-2 和 Survivin 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(15): 150-153.
- [41] 谢晶日, 王业莉, 张扬, 等. 复合造模法建立大鼠胃癌前病变模型的实验研究[J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(11): 2341-2342.
- [42] 李岩. 中药不同组方对胃癌前病变模型大鼠胃黏膜组织细胞凋亡的影响[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2010.
- [43] 孙丽群. 加味左金丸治疗大鼠胃癌前病变的实验研究和机理探讨[D]. 武汉:湖北中医学院, 2005: 28-29.
- [44] 谢晶日, 孙芳, 梁国英. 胃癌前病变动物模型的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2012, 30(11): 2377-2379.
- [45] 蒋时红, 刘旺根, 张文娟, 等. 3 种中医治法对胃癌前病变大鼠胃黏膜细胞增殖的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(10): 2423-2425.
- [46] 魏玥, 杨晋翔, 杨会敏, 等. 益气化痰解毒法对慢性萎缩性胃炎伴异型增生大鼠干预的实验研究[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2011, 20(10): 916-919.
- [47] Watanabe H. Experimentally induced intestinal metaplasia in Wistar rats by X-ray irradiation[J]. *Gastroenterology*, 1978, 75(5): 796-799.
- [48] 蔺焕萍, 王小平, 付倩, 等. 参佛胃康对大鼠慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变逆转作用的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(2): 266-269.
- [49] 王睿斌. 幽门螺杆菌感染与胃癌前病变及胃癌形成的关系动物试验研究[D]. 长春:吉林大学, 2004: 44-46.
- [50] SHI X Y, ZHAO F Z, DAI X, et al. Effect of jianpiyiwei capsule on gastric precancerous lesions in rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(4): 608-612.
- [51] 高绍芳, 王彦刚, 李佃贵, 等. 化浊解毒和胃方对胃癌前病变大鼠血管生成机制的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(11): 1515-1519.

[责任编辑 张丰丰]