

## 化学法建立溃疡性结肠炎动物模型的研究进展

张瑶, 颜宏利, 周海玥, 宋立华

### ■背景资料

近年来, 随着人们饮食结构和饮食模式的变化, 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 发病率呈年轻化、上升趋势。该病具有迁延不愈、易复发等特点, 为临床治疗带来问题。因此, 需要建立合适的动物模型, 以深入研究其发病机制, 为临床用药提供理论依据。利用化学物质建立UC动物模型方法简便, 易操作, 在UC发病机制及临床药理研究方面应用较多, 本综述就化学法建立UC模型的特点及应用现状进行介绍。

### ■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

张瑶, 周海玥, 宋立华, 上海交通大学农业与生物学院 上海市 200240

颜宏利, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院实验诊断科 上海市 200433

张瑶, 主要从事食品营养学的研究。

作者贡献分布: 文献调研与论文撰写由张瑶完成; 周海玥负责部分文献的收集整理; 论文修改由宋立华完成; 颜宏利审校;

通讯作者: 宋立华, 副研究员, 200240, 上海市闵行区东川路800号, 上海交通大学农业与生物学院, lihuas@sjtu.edu.cn  
电话: 021-34205717

收稿日期: 2015-06-23 修回日期: 2015-07-14

接受日期: 2015-07-30 在线出版日期: 2015-09-28

### Animal models of ulcerative colitis developed with chemicals

Yao Zhang, Hong-Li Yan, Hai-Yue Zhou, Li-Hua Song

Yao Zhang, Hai-Yue Zhou, Li-Hua Song, College of Agricultural and Biological Sciences, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China

Hong-Li Yan, Department of Laboratory Diagnostics, Affiliated Changhai Hospital of Second Military Medical University of PLA, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Li-Hua Song, Associate Researcher, College of Agricultural and Biological Sciences, Shanghai Jiaotong University, 800 Dongchuan Road, Minhang District, Shanghai 200240, China. lihuas@sjtu.edu.cn  
Received: 2015-06-23 Revised: 2015-07-14

Accepted: 2015-07-30 Published online: 2015-09-28

### Abstract

In recent years, the incidence of ulcerative colitis (UC) has been rising obviously with the changes in people's diet (e.g., high fat diet), and it has become a common digestive system disease as well as a main cause of chronic diarrhea. Patients usually suffer from great pain because of the delayed recovery and repeated attacks of UC, and some of the

patients may develop into colon cancer. At present, the pathogenesis of UC is not fully clear, anti-inflammatory drugs are mostly used clinically for the treatment of UC, but their efficacy is not satisfying. Therefore, it is of great significance to further investigate the etiology, mechanisms and new treatment strategies for UC using effective animal models of UC. There are many methods to establish animal models of UC. The present review mainly focuses on the mechanisms, characteristics and applications of UC animal models established using chemical substances.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative Colitis; Rats; Mice; Chemical method

Zhang Y, Yan HL, Zhou HY, Song LH. Animal models of ulcerative colitis developed with chemicals. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(27): 4384-4392  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4384.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i27.4384>

### 摘要

近年来, 随着我国居民饮食的精细化及高脂饮食摄入量的增加, 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的发病率呈上升趋势, 逐渐成为常见消化系统疾病和慢性腹泻的重要原因。该病反复发作, 迁延不愈, 部分患者可进一步发展为结肠癌。目前, 关于UC的病理机制尚不完全清楚, 临床上多使用抗炎药物对其进行, 但疗效均不理想。

因此, 建立简便有效的动物模型对深入研究UC的发病机制及新的治疗方案具有重要意义. 建立UC动物模型的方法有多种, 本文针对实验常用动物大鼠、小鼠, 就化学物质诱导法建立UC模型的机制、特点及其应用进行综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 大鼠; 小鼠; 化学法

**核心提示:** 利用化学法建立溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)动物模型, 操作简单易行, 对深入研究UC的发病机制和临床治疗方法具有重要意义. 但不同的化学物质、不同的动物、不同的给药方法和剂量所建立的UC模型其发病机制也有所不同, 本文综合介绍了目前最常用的化学物质诱导建立实验大鼠、小鼠UC模型的方法、特点及其应用.

张瑶, 颜宏利, 周海玥, 宋立华. 化学法建立溃疡性结肠炎动物模型的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(27): 4384-4392 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4384.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i27.4384>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因尚不完全明确的慢性肠道炎症性疾病, 主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC). 其中UC在西方国家非常常见, 发病率接近1/1000<sup>[1]</sup>. 近年来, 随着人们饮食的精细化及高脂饮食摄入量的增加, UC的发病率明显增加. 根据2010年多家医院的病例统计结果, 其发病率约为11.6/10万, 已逐渐成为常见消化系统疾病和慢性腹泻的重要病因. 该病反复发作, 迁延不愈, 并且部分患者会进一步发展成为结肠癌, 是导致结肠癌的高危因素之一, 其中, 左半结肠炎患者发展为结肠癌的概率是正常人的2.8倍, 全结肠炎为15.0倍<sup>[2]</sup>. 因此深入研究该病的发病机制, 建立临床上有效的预防和治疗方法具有重要意义.

## 1 UC简介

现有研究<sup>[3,4]</sup>表明, UC的发病与遗传因素密切相关, 遗传易感患者的肠道在某些抗原的诱导下, 较易发生免疫反应过度激活, 使肠黏膜通

透性增加, 最终引起免疫细胞的激活及炎症反应; 此外, 饮食不均衡等原因造成的肠道菌群失调、感染及精神等因素也与UC的发生和发展密切相关<sup>[5,6]</sup>, 但其发病机制尚不完全明了. 目前, 临床上通常使用广谱抗炎药物或抗肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)的抗体药物(anti-TNF)等进行治疗, 但均难以治愈, 且长期用药易导致抗生素耐药. 因此, 有必要利用简便有效的动物模型, 深入研究UC的发病机制, 为建立有效的治疗方案提供更广泛的理论依据.

目前, 建立UC动物模型的方法有多种, 本文就最常用的实验大鼠、小鼠, 利用化学物质诱导法建立UC模型的机制、效果及其优缺点进行阐述.

## 2 化学物质诱导模型

**2.1 葡聚糖硫酸钠UC模型** 葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)是一种肝素样硫酸多糖体, 是最常用的建立UC动物模型的化学物质之一. 实验结果表明, DSS对结肠上皮屏障的完整性具有破坏性, 可使肠黏膜通透性增加, 导致多糖、蛋白质等大分子物质能够轻易渗入肠黏膜组织中, 进而引发一系列炎症反应<sup>[7]</sup>; 研究证实DSS UC模型由1型/2型辅助性T细胞(T helper cells 1/T helper cells 2, Th1/Th2)反应介导, 该模型可引起TNF- $\alpha$ 、 $\gamma$ -干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和白介素-10(interleukin-10, IL-10)的表达异常, 这与人类UC的免疫反应较相似.

DSS模型最早是日本学者Ohkusa<sup>[8]</sup>于1985年利用仓鼠建立. 之后有研究相继用其他小、大鼠分别建立了急、慢性DSS UC模型. 其中, 急性模型的建立给药时间较短, 一般为4-7 d. Chu等<sup>[9]</sup>通过使C57BL/6小鼠连续5 d自由饮用3.0%DSS水溶液, 小鼠即表现出体质量下降和便血等急性UC临床症状, 组织学观察结果表明, 结肠溃疡形成, 隐窝破坏, 上皮细胞损伤, 白细胞浸润; IL-17A、IL-17F、IL-17A<sup>+</sup>/IL-22<sup>+</sup>、IL-4及IFN- $\gamma$ 比例显著升高. 赵平等<sup>[10]</sup>给SD大鼠饮用4.0%DSS溶液7 d后, 正常饮水10 d. 根据疾病活动指数(disease activity index, DAI)及组织学病理评分, 大鼠在饮用DSS溶液第3-4天左右开始出现急性UC症状, 表现为腹泻, 隐血试验阳性; 第5-7

## ■ 研究前沿

利用不同的化学物质可有效建立UC模型, 但不同物质、不同的给药剂量和给药方法, 诱导建立的UC模型其发病机制可能有所不同, 表现为发病时炎症因子的种类及水平不同, 调控基因和信号通路也有所不同, 其与人类UC发病机制的一致性需要进一步研究.

## ■ 相关报道

化学物质建立UC模型的基本机制是: 利用化学物质的刺激作用破坏、损伤结肠细胞和肠黏膜屏障, 使肠黏膜通透性增加, 进而刺激机体的细胞免疫反应, 诱导炎症因子表达增加。葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)UC模型是目前应用较多的模型之一, 被广泛用于结肠炎的发病机制、结肠炎致结肠癌的分子机制研究、中药、功能性植物化学物质等对UC的预防和治疗效果及其作用机制等相关研究。

天, 见黏液脓血便, 体质量下降。病理观察呈现结肠肠壁增厚、管壁僵硬, 肠黏膜充血水肿, 局部有糜烂、出血, 溃疡面明显, 炎症主要累及黏膜及黏膜下层, 部分肠黏膜表皮脱落, 黏膜上皮内杯状细胞减少, 隐窝破坏, 中性粒细胞浸润等典型急性UC症状, 且与人类UC的临床症状相似<sup>[11,12]</sup>。急性DSS UC模型给药周期短、重复性好、操作简单易行、是最常用的UC模型之一, 可用于人类致炎机制、免疫机制及遗传学研究, 也可以用于抗炎药物疗效的研究<sup>[13]</sup>。但由于其黏膜病变并非自发的慢性炎症, 是由急性化学损伤所致, 不适宜于慢性UC所致结肠癌的发病机制研究, 并且由于不能精确控制动物饮水量, 使小鼠间病变程度差异较大。

慢性DSS UC模型的建立通常是周期性给以DSS水溶液<sup>[14,15]</sup>。Trivedi等<sup>[16]</sup>利用Swiss小鼠建立慢性DSS UC模型时, 小鼠首先连续7 d自由饮用3.0%DSS水溶液, 之后连续14 d给予普通饮水, 最后再连续7 d给予3.0%DSS水溶液。结果显示, 与正常对照组相比, UC模型组小鼠具有较高的DAI评分, 结肠明显缩短。病理检查发现小鼠结肠表面形成明显溃疡, 隐窝破坏, 上皮细胞损伤, 白细胞浸润; 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、IL-6、IL-17、TNF- $\alpha$ 等细胞因子水平显著升高; 结肠部位硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)反应物显著升高, 还原性谷胱甘肽(glutathione, GSH)显著降低, 氧化应激增强, 并且诱导DNA损伤。

与急性DSS UC模型相比, 慢性模型为周期性循环给药, 造模时间较长, 是研究慢性UC发病机制的理想动物模型, 可用于初步观察UC与结肠癌相关性研究<sup>[17]</sup>。由于较长时间饮用DSS后, 会造成动物一定的死亡率, 为降低死亡率, 在较短时间内构建UC致结肠癌的稳定动物模型, 常将致癌剂与周期性循环给予DSS相结合。李伟伟等<sup>[18]</sup>通过联合应用氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)和DSS, 诱导C57BL/6小鼠发生结肠炎相关结肠癌; 另有研究<sup>[19]</sup>也证实, 一次性腹腔注射AOM(10 mg/kg)联合DSS三循环喂养, 可建立小鼠从UC发展到肿瘤的动态全过程。Lin等<sup>[20]</sup>利用该方法建立小鼠结肠模型, 用于研究参苓白术散对结肠癌的治疗效果及其机制。本课题组

采用周期性给予DSS饮水和一次性腹腔注射AOM与周期性给予DSS饮水联用的方法, 分别建立了C57BL/6小鼠结肠炎及结肠炎致结肠癌模型。周期性给予DSS饮水的具体方法为: 小鼠连续5 d饮用2.5%DSS水溶液, 之后给予普通饮水16 d, 重复上述一个循环, 最后连续4 d给予2.0%DSS水溶液, 再给予普通饮水10 d, 成功建立小鼠慢性UC模型; 建立结肠炎致结肠癌小鼠模型, 首先给予C57BL/6小鼠腹腔注射AOM(12.5 mg/kg), 然后让其自由饮水5 d, 之后DSS的周期性给予方法与慢性UC模型组相同。

慢性DSS UC模型在急性期可观察到腹泻、体质量减轻、血便等与人类UC极为相似的症状。病理学检查可看到结肠缩短、黏膜充血水肿和散在溃疡、溃疡部位中性粒细胞浸润、腺体萎缩和巨噬细胞浸润等。慢性DSS模型可用于药物/保健食品治疗或预防作用效果的研究, 但造模时间较长、DSS试剂和动物培养所需费用高、模型动物病变程度存在一定个体差异, 且造成一定的致死率。

模型应用方面, Håkansson等<sup>[21]</sup>利用DSS溶液(4.0%)建立的小鼠急性UC模型, 通过QPCR定量分析乳杆菌、肠杆菌、脱硫弧菌等, 发现UC小鼠肠道菌群的变化与其免疫系统失调存在相关性, 并进一步证明肠黏膜菌群失调是结肠炎重要的发病机制之一。还有研究利用C57BL/6小鼠慢性DSS UC模型, 在分子水平上评估富含多酚提取物的初榨橄榄油对慢性UC的预防作用, 发现其可通过上调过氧化物酶体增殖剂激活受体 $\gamma$ (peroxisome proliferators-activated receptors  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )、核因子- $\kappa$ B(nuclear factor of kappa B, NF- $\kappa$ B), 抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)信号通路, 抑制炎症级联反应, 证明富含多酚提取物的初榨橄榄油对UC具有一定预防作用<sup>[22]</sup>。目前, DSS模型是在UC发病机制及治疗的药理药效研究方面应用较多的模型<sup>[23-25]</sup>。

## 2.2 2,4-二硝基氯苯UC模型

2,4-二硝基氯苯(2,4-dinitrochlorobenzene, DNCB)是具有毒性的化学物质, 利用DNCB造模操作中, 常将DNCB溶解于乙酸等有机溶剂中, 构成DNCB-乙酸动物模型。该模型首先由乙酸破坏肠黏膜屏障, 使肠黏膜通透性增加, 然后DNCB作为半



抗原进入黏膜内与组织蛋白大分子结合,通过T细胞介导刺激机体的细胞免疫反应<sup>[26]</sup>。建模过程中,使实验动物多次接触DNCB致敏后,采用DNCB-乙醇液灌肠,造成以结肠黏膜为主的炎症反应。

DNCB模型最早是Bicks等<sup>[27]</sup>利用DNCB溶液灌肠法,在豚鼠体内建立,其后Rabin等<sup>[28]</sup>对其进行了改进,建立兔子UC模型。朱慧敏等<sup>[29]</sup>在研究DNCB致敏UC大鼠的细胞因子活性中,采用DNCB致敏联合醋酸灌肠复合造模法,建立了SD大鼠UC模型,并与醋酸单独造模进行对比研究。实验每天给予SD大鼠2 mL生理盐水灌胃治疗。分别在第1、15和29天取样,对结肠组织进行黏膜损伤评分和病理组织学评分,同时检测血清IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17及IL-23等细胞因子水平。复合造模法的具体操作是:首先将SD大鼠颈背部全部脱毛,连续2 wk在脱毛处以0.3 mL DNCB丙酮液滴背。第15天用灌胃针缓慢插入SD大鼠结肠约8 cm,注入0.1%DNCB乙醇溶液0.25 mL,次日同部位注入1 mL 10%醋酸,停留15 s后用5 mL生理盐水冲洗;单独醋酸造模组连续2 wk在颈部脱毛处以0.3 mL生理盐水滴背,第16天注入10%乙酸1 mL,其余操作同复合造模组。实验结果表明,DNCB与醋酸联合造模及醋酸单独灌肠法均能成功建立SD大鼠UC模型,与醋酸单独灌肠法比较,复合造模组可能通过降低IL-2、增加IL-6、IL-17水平,加重和延长了大鼠的免疫紊乱状态,提示不同的化学物质诱导UC模型时,造成的免疫应答反应和程度有所不同。安晓霞等<sup>[30]</sup>在研究白头翁、黄连、黄柏等中药制成的中药灌肠I号<sup>[31]</sup>对UC的治疗效果中,利用昆明小鼠和DNCB-乙酸复合法,成功建立了UC模型。实验首先以10%硫化钠溶液使小鼠颈背部脱毛,1%DNCB-丙酮液滴背脱毛处致敏,0.3 mL/(次·d),连续给药14 d,第15天麻醉小鼠后,将内径0.1 mm的聚乙烯管插入小鼠直肠约3.5 cm处,注入0.2 mL 0.3%DNCB-乙醇液,保持肛门2 min以防止药物流出。次日同法灌入0.2 mL 8%醋酸。实验结果显示小鼠结肠病理学损伤明显加重,特别是CD4<sup>+</sup>、CD29<sup>+</sup> T细胞比例明显升高。Yunusi等<sup>[32]</sup>利用DNCB急性UC模型,研究药物西帕依溃结安对UC的治疗作用,发现溃结安能通过抑制

IL-1 $\beta$ ,转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)和NF- $\kappa$ B发挥一定的治疗作用。

利用DNCB建立UC模型,方法较简单,重复性好,动物易存活,可以反映外源性抗原和机体自身抗原诱发的典型胃肠道迟发过敏反应,病理表现与人类UC相似度较高,可用于UC局部迟发过敏反应的免疫调控发病机制研究,但具有自愈性强的缺点。

**2.3 三硝基苯磺酸UC模型** 实际操作中常将三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid sol, TNBS)溶于乙醇,建立TNBS-乙醇UC动物模型,其建模机制与DNCB-乙酸UC模型类似:结肠黏膜经乙醇刺激灼伤后,TNBS进入黏膜内与构成组织蛋白的赖氨酸 $\epsilon$ -氨基团结合,作为完全抗原,激发肠黏膜免疫反应,进而引起一系列免疫应答反应。

TNBS模型于1984年由Morris等<sup>[33]</sup>在兔子体内建立。之后有研究利用TNBS诱导建立了Wistar大鼠复发性UC模型<sup>[34]</sup>,该方法首先用异戊巴比妥麻醉大鼠,钝头导管插入肛门约8 cm,将TNBS-50%乙醇溶液(20 mg/mL)缓慢灌肠(4 mL/kg·BW),快速诱导急性UC,大鼠于灌肠后第1周活动减少、腹泻、血便且伴有体质量明显下降;第2周大鼠腹泻改善、饮食增加;15 d后实施第2次TNBS(20 mg/mL)灌肠(1.5 mL/kg·BW),造成复发性UC,除上述症状再次出现外,TNBS模型组TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B的表达水平也明显地升高。此外,另有研究用TNBS-乙醇溶液(25 mg/mL)灌肠BALB/c小鼠后,可以发现小鼠逐渐出现排未成形稀便、血便、竖毛、少动、体质量下降等症状,且于造模后第2-3天达到最严重状态,随后逐渐好转;病理呈现典型的结肠炎样变化,脾和肠系膜淋巴结CD25<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、Foxp3<sup>+</sup>细胞比例明显下降,结肠Foxp3阳性细胞明显增多<sup>[35]</sup>。利用TNBS小鼠肠炎模型,Lee等<sup>[36]</sup>研究了人参皂甙Rg1的代谢物及其抗炎机制;Bai等<sup>[37]</sup>研究了血清糖皮质激素激酶(serum-and-glucocorticoid-inducible-kinase-1, SGK1)对结肠上皮细胞发挥保护作用的分子机制。

利用TNBS灌肠的方法建立结肠炎模型,与CD更加相似,其免疫反应以Th1/Th17反应为主,可用于CD发病机制和药物治疗效果的

#### ■创新盘点

各种常用化学造模法使用的化合物不同,实验动物不同,引起的免疫反应也不尽相同,因此,在具体的实验研究中,应根据不同的研究目的选择合适的动物模型。此外,人类UC的发病是由遗传、免疫、感染、精神和心理等多种因素综合作用所致,因此,单一的化学造模方法尚不能完全反映人类UC的发病机制。同时,化学法建立的部分UC模型具有自愈性强的特点,无法复制人类UC反复发作的临床特点,尚需进一步摸索并建立更接近于人类UC发病过程的化学诱导方法。

### 应用要点

大量实验研究均表明利用化学物质诱导建立UC模型可操作性强, 为UC发病机制以及其预防的研究提供了可能。

研究<sup>[38]</sup>。

**2.4 乙酸UC模型** 乙酸(acetic acid, AA)UC模型是利用AA的化学刺激作用, 造成结肠上皮细胞凋亡, 进而破坏黏膜屏障, 促使肠黏膜通透性增加, 诱导炎症细胞浸润和TNF- $\alpha$ 、IL-6等炎症介质的表达<sup>[39]</sup>。

AA UC模型的建立也常采用灌肠法。陈文华等<sup>[40]</sup>利用SD大鼠造模时, 经肛门插入导管(2 mm), 注入2 mL冰乙酸(8%), 20 s后生理盐水冲洗。之后常规饲养, 灌肠3 d后大鼠即出现典型UC病变, 结肠黏膜结构遭严重破坏。Luo等<sup>[41]</sup>给予昆明小鼠5%乙酸(0.2 mL)灌肠后, 小鼠很快出现腹泻、血便等症状, 小鼠于灌肠后第3天病变达高峰期, 且病变以远端结肠为主。组织病理学与人类UC类似, 主要表现为上皮细胞坏死、黏膜细胞高度水肿、出血及中性粒细胞浸润等。

AA UC模型与上述其他化学诱导UC模型相比, 多模拟急性UC。该模型由于建立方法简便、建模周期短、重复性好、成本低, 适合新药的开发和疗效评估。Al-Rejaie等<sup>[42]</sup>给予AA诱导的UC模型大鼠柚皮素, 通过检测结肠黏液含量、总谷胱甘肽水平(total glutathione, T-GSH)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、硫代巴比妥酸反应物(thiobarbituric acid reactive substance, TBARS)、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)和一氧化氮等, 研究了柚皮素对于肠炎的作用效果。徐香琴等<sup>[43]</sup>利用昆明小鼠AA UC模型, 研究白屈菜红碱对UC的治疗作用; 王欣等<sup>[44]</sup>用SD大鼠AA UC模型, 观察香连胶囊的治疗效果; Dogan等<sup>[45]</sup>也利用大鼠AA UC模型, 研究紫锥菊对UC的预防作用。

AA UC模型是利用该化合物的直接刺激作用, 引起动物结肠部位出现急性化学损伤, 不能确切地反映人类慢性UC发病过程的免疫学变化, 故而不适合UC发病免疫机制的研究<sup>[46]</sup>。

**2.5 恶唑酮模型** 恶唑酮(oxazone, OXZ)是一种经典的半抗原物质, 是染料、农药等的重要中间体<sup>[47]</sup>, 作用于动物身体的各个部位均可诱发接触性过敏反应<sup>[48]</sup>。研究<sup>[49-52]</sup>表明,

OXZ UC模型是由IL-4过量生成的Th2型炎症, 其组织学变化特征也与人类UC相近。

一般地, OXZ小鼠UC模型的建立方法如下: 腹部剃毛(2 cm $\times$ 2 cm)后, 连续2 d于脱毛处涂抹3%OXZ无水乙醇溶液约200  $\mu$ L, 以预先致敏小鼠。致敏6 d后, 结肠内缓慢注入150  $\mu$ L 1%恶唑酮(OXZ溶于500 mL/L乙醇), 倒提鼠尾30-60 s, 使1%OXZ被充分吸收。灌肠24 h后, 小鼠体质量下降, 同时出现杯状细胞减少、腺体密度降低、炎症细胞浸润、浅溃疡形成等典型UC组织学变化, OXZ UC模型的炎症主要局限于黏膜和黏膜下层<sup>[51]</sup>。张海强等<sup>[48]</sup>在研究阿泰宁对结肠炎的治疗作用中, 即利用OXZ诱导建立Wistar大鼠UC模型。方法是: 大鼠背部剃毛(2 cm $\times$ 2 cm), 剃毛处5%OXZ溶液擦拭致敏。之后分别于第5、7天用5%OXZ溶液分别灌肠1次(450  $\mu$ L)。该方法诱导的大鼠UC模型病变主要表现在远端结肠, 症状与OXZ小鼠UC模型类似, 炎症多存在于黏膜和黏膜下层, 但少数可达肌层, 部分细胞因子如IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平增加, 抗炎因子如IL-10水平显著降低。

在OXZ UC模型的应用方面, Chen等<sup>[53]</sup>利用BALB/c小鼠OXZ UC模型, 研究乳源性酪蛋白糖基化肠肽(casein glycomacropeptide, CGMP)的抗凋亡及抗炎作用, 发现CGMP可以减缓UC小鼠体质量降低, 减轻小鼠结肠组织形态学损伤; 此外, CGMP还可降低UC小鼠结肠组织乙型跨膜糖蛋白(fas ligand, FasL)和p65的mRNA表达水平, 研究表明CGMP可通过FasR/FasL通路抗细胞凋亡, 通过NF- $\kappa$ B/p65通路发挥抗炎作用。此外, 张少卓等<sup>[52]</sup>用3%OXZ建立昆明小鼠OXZ UC模型, 观察葶苈草颗粒的治疗作用。He等<sup>[54]</sup>利用OXZ诱导结肠炎, 研究四甲基吡嗪(TMP)通过PPAR- $\gamma$ 信号通路对UC发挥治疗作用的分子机制。Watanabe等<sup>[55]</sup>利用OXZ UC模型, 研究传统中草药柴苓汤对UC的作用。由于OXZ UC模型维持时间短, 自愈性强, 不适合模拟慢性复发性UC发病机制的研究。

## 3 结论

化学法建立UC模型主要利用化学物质的直接刺激作用, 使动物的结肠黏膜屏障受损, 通透性增加, 或者通过皮肤刺激致敏, 再进一步

表 1 化学法建立UC动物模型的比较

诱导物质	剂量	周期	建模方法	用途	优点	缺点
DSS	2%–5%的 DSS水溶液	急性: 4–7 d	急性: 自由饮用 DSS水溶液(浓度 2%–5%)4–7 d	人类致炎机制及 抗炎药物疗效的 研究, 也可以作 为免疫机制及遗 传学研究	方法简便、周期 短、重复性好、适 应性强、复发 性和维持性好	不能模拟人类慢性 UC所致结肠癌的 病理过程, 且实验 个体间病变程度差 异较大
	2%–5%的 DSS水溶液	慢性: 42–66 d	慢性: 自由饮用 DSS水溶液(浓 度2%–5%), 4– 7 d, 随后正常饮 水10–15 d, 即1 个循环, 一般重 复3循环	用于药物/保健食 品治疗或预防作 用效果的研究	可模拟人类慢性 UC所致结肠癌的 病理过程	造模时间较长, DSS试剂和动物培 养所需要费用高
DNCB	1% DNCB 丙酮液; 0.3% DNCB 乙醇液	约15 d	1% DNCB–丙酮 液滴背致敏连续 14 d 0.3% DNCB– 乙醇液灌入结肠	UC局部迟发过 敏反应的免疫调 控发病机制研究	方法简单, 重复 性好, 动物易存 活, 临床与病理 表现与人类UC 的相似度高	自愈性强
TNBS	25 mg/mL TNBS–乙 醇溶液	约3 d	25 mg/mL TNBS– 乙醇溶液缓慢灌 肠	模拟UC慢性复发 性过程, 也可用 于评估新的治疗 方法对人类UC的 治疗作用	方法简便、周期 短	与克罗恩病更加 类似
AA	8% AA	约3 d	8% AA自肛门 处缓慢灌肠	新药的开发和疗 效评估	方法简便, 成本 低, 结果可靠, 重 复性好, 适应性 强, 周期短	不能确切地反映人 类UC的免疫学变 化, 故不适合免疫 机制的研究
OXZ	3% OXZ	约10 d	腹部皮肤涂抹 3% OXZ预先致敏, 第8天自肛门处缓 慢灌入1% OXZ	研究UC发病机 制和药物疗效的 评估	制模简单, 重复 性好	模型维持时间短, 自愈性强

DSS: 葡聚糖硫酸钠; DNCB: 2,4-二硝基氯苯; TNBS: 三硝基苯磺酸; AA: 乙酸; OXZ: 恶唑酮; UC: 溃疡性结肠炎。

使肠道产生炎性病灶。由于化学物质诱导法具有造模时间相对较短, 实验操作简单、重复性好、实用性强且症状明显等优点, 在实际中应用较多。各种常用的化学造模法各有其特点, 造模周期长短也有所不同(如表1所示), 造模所使用的化合物不同, 实验动物不同, 引起的免疫反应也不尽相同, 因此, 在具体的实验研究中, 应根据不同的研究目的选择合适的动物模型。

值得一提的是, 由于人类UC的发病是由遗传、免疫、感染、精神和心理等多种因素综合作用所致, 因此, 单一的化学造模方法尚不能完全反映人类UC的发病机制。同时, 化学法建立的部分UC模型具有自愈性强的特点,

无法复制人类UC反复发作的临床特点, 今后尚需进一步摸索出更接近于人类UC发病过程的、简便可行的化学诱导方法。

#### 4 参考文献

- Collins P, Rhodes J. Ulcerative colitis: diagnosis and management. *BMJ* 2006; 333: 340-343 [PMID: 16902215 DOI: 10.1136/bmj.333.7563.340]
- Herszenyi L, Miheller P, Tulassay Z. Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2007; 25: 267-269 [PMID: 17827953 DOI: 10.1159/000103898]
- Comito D, Romano C. Dysbiosis in the pathogenesis of pediatric inflammatory bowel diseases. *Int J Inflam* 2012; 2012: 687143 [PMID: 22685684 DOI: 10.1155/2012/687143]
- Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in

#### ■名词解释

疾病活动指数 (disease activity index, DAI): 结合UC患者/患病动物的体质量下降百分率、大便黏稠度和大便出血3种情况进行综合评分, 3项结果的总分除以3即得到DAI值。



# ■ 同行评价

本文在完成大量文献调研的基础上, 对于化学法建立大、小鼠UC模型的特点及其应用做了较详尽的论述, 论述条理清晰, 引用了部分较新的文献, 对深入研究UC的发病机制和临床治疗方法具有较好的参考价值。

- inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J Gastroenterol* 2011; 17: 557-566 [PMID: 21350704 DOI: 10.3748/wjg.v17.i5.557]
- 5 Lewis JD. A review of the epidemiology of inflammatory bowel disease with a focus on diet, infections and antibiotic exposure. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 2014; 79: 1-18 [PMID: 25227291 DOI: 10.1159/000360664]
- 6 Ek WE, D'Amato M, Halfvarson J. The history of genetics in inflammatory bowel disease. *Ann Gastroenterol* 2014; 27: 294-303 [PMID: 25331623]
- 7 Perše M, Cerar A. Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 718617 [PMID: 22665990 DOI: 10.1155/2012/718617]
- 8 Ohkusa T. [Production of experimental ulcerative colitis in hamsters by dextran sulfate sodium and changes in intestinal microflora]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1985; 82: 1327-1336 [PMID: 2411981]
- 9 Chu CC, Hou YC, Pai MH, Chao CJ, Yeh SL. Pretreatment with alanyl-glutamine suppresses T-helper-cell-associated cytokine expression and reduces inflammatory responses in mice with acute DSS-induced colitis. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 1092-1099 [PMID: 22137260 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.06.002]
- 10 赵平, 董蕾, 罗金燕, 马卉, 管海涛, 商鹤玲. 葡聚糖硫酸钠致溃疡性结肠炎大鼠模型的建立. *第四军医大学学报* 2005; 26: 1738-1740
- 11 Osman N, Adawi D, Ahrné S, Jeppsson B, Molin G. Modulation of the effect of dextran sulfate sodium-induced acute colitis by the administration of different probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 320-327 [PMID: 15104378 DOI: 10.1023/B:DDAS.0000017459.59088.43]
- 12 Luk HH, Ko JK, Fung HS, Cho CH. Delineation of the protective action of zinc sulfate on ulcerative colitis in rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 443: 197-204 [PMID: 12044810]
- 13 张艳丽, 黄循铷, 王承党. 小鼠葡聚糖硫酸钠急性溃疡性结肠炎模型的建立和评价. *胃肠病学和肝病学杂志* 2006; 15: 130-133
- 14 Nishiyama Y, Kataoka T, Yamato K, Taguchi T, Yamaoka K. Suppression of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by radon inhalation. *Mediators Inflamm* 2012; 2012: 239617 [PMID: 23365486]
- 15 Sha T, Igaki K, Yamasaki M, Watanabe T, Tsuchimori N. Establishment and validation of a new semi-chronic dextran sulfate sodium-induced model of colitis in mice. *Int Immunopharmacol* 2013; 15: 23-29 [PMID: 23142502 DOI: 10.1016/j.intimp.2012.10.022]
- 16 Trivedi PP, Jena GB. Melatonin reduces ulcerative colitis-associated local and systemic damage in mice: investigation on possible mechanisms. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 3460-3474 [PMID: 23975342 DOI: 10.1007/s10620-013-2831-6]
- 17 Wang X, Mandal AK, Saito H, Pulliam JF, Lee EY, Ke ZJ, Lu J, Ding S, Li L, Shelton BJ, Tucker T, Evers BM, Zhang Z, Shi X. Arsenic and chromium in drinking water promote tumorigenesis in a mouse colitis-associated colorectal cancer model and the potential mechanism is ROS-mediated Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 262: 11-21 [PMID: 22552367 DOI: 10.1016/j.taap.2012.04.014]
- 18 李伟伟, 韩文晓, 赵新华, 汪红英. 微小RNA-155在结肠炎相关结肠癌发生过程中的表达变化. *中华肿瘤杂志* 2014; 36: 257-262
- 19 胡元昌, 杨晓俊, 史传兵, 沈健, 汪宝. 小鼠炎症性肠病至肠癌的动态模型. *中华实验外科杂志* 2014; 31: 1367-1368
- 20 Lin X, Xu W, Shao M, Fan Q, Wen G, Li C, Jing L, Sun X. Shenling Baizhu San suppresses colitis associated colorectal cancer through inhibition of epithelial-mesenchymal transition and myeloid-derived suppressor infiltration. *BMC Complement Altern Med* 2015; 15: 126 [PMID: 25897964 DOI: 10.1186/s12906-015-0649-9]
- 21 Håkansson Å, Tormo-Badia N, Baridi A, Xu J, Molin G, Hagslätt ML, Karlsson C, Jeppsson B, Cilio CM, Ahrné S. Immunological alteration and changes of gut microbiota after dextran sulfate sodium (DSS) administration in mice. *Clin Exp Med* 2015; 15: 107-120 [PMID: 24414342 DOI: 10.1007/s10238-013-0270-5]
- 22 Sánchez-Fidalgo S, Cárdeno A, Sánchez-Hidalgo M, Aparicio-Soto M, de la Lastra CA. Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates DSS-induced chronic colitis in mice. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 1401-1413 [PMID: 23337347 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2012.11.008]
- 23 Hudcovic T, Kolinska J, Klepetar J, Stepankova R, Rezanka T, Srutkova D, Schwarzer M, Erban V, Du Z, Wells JM, Hrnčir T, Tlaskalova-Hogenova H, Kozakova H. Protective effect of *Clostridium tyrobutyricum* in acute dextran sodium sulphate-induced colitis: differential regulation of tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-18 in BALB/c and severe combined immunodeficiency mice. *Clin Exp Immunol* 2012; 167: 356-365 [PMID: 22236013 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04498.x]
- 24 Yeom Y, Kim Y. The sasa quelpaertensis leaf extract inhibits the dextran sulfate sodium-induced mouse colitis through modulation of antioxidant enzyme expression. *J Cancer Prev* 2015; 20: 136-146 [PMID: 26151047 DOI: 10.15430/JCP.2015.20.2.136]
- 25 Ghaleb AM, Bialkowska AB, Snider AJ, Gnatenko DV, Hannun YA, Yang VW, Schmidt VA. IQ motif-containing GTPase-activating protein 2 (IQGAP2) is a novel regulator of colonic inflammation in mice. *PLoS One* 2015; 10: e0129314 [PMID: 26047140 DOI: 10.1371/journal.pone.0129314]
- 26 Catalana WJ, Taylor PT, Rabson AS, Chretien PB. A method for dinitrochlorobenzene contact sensitization. A clinicopathological study. *N Engl J Med* 1972; 286: 399-402 [PMID: 5009231 DOI: 10.1056/NEJM197202242860804]
- 27 Bicks RO, Rosenberg EW. A chronic delayed

- hypersensitivity reaction in the guinea pig colon. *Gastroenterology* 1964; 46: 543-549 [PMID: 14153963]
- 28 Rabin BS, Rogers SJ. A cell-mediated immune model of inflammatory bowel disease in the rabbit. *Gastroenterology* 1978; 75: 29-33 [PMID: 401093]
  - 29 朱慧敏, 朱杭溢, 裘生, 梁陈武, 宋利斌, 陈超, 叶涵婷, 朱曙东. 二硝基氯苯致敏溃疡性结肠炎大鼠细胞因子活性研究. *天津药学* 2014; 26: 6-10
  - 30 安晓霞, 崔玉芳, 李燕, 董波, 孙淑华, 辛旭妮, 柳晓兰, 毛建平, 刘萍. 复合法诱发小鼠结肠炎模型的建立和免疫学验证. *感染炎症修复* 2008; 9: 28-31
  - 31 刘萍, 杨洁, 罗庆良, 余祖胤. 中药灌肠 I 号对炎性肠病大鼠血象与病理学指标的影响. *中国中药杂志* 2006; 30: 1677-1681
  - 32 Yunusi K, Zhang J, Zhong L, Mosha G, Nuermaimaiti A, Abudula M, Upur H. Uygur medicine Xipayi Kui Jie'an affects gene expression profiles in intestinal tissue lesions in a rat model of ulcerative colitis. *BMC Complement Altern Med* 2015; 15: 152 [PMID: 25997744 DOI: 10.1186/s12906-015-0672-x]
  - 33 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803 [PMID: 2914642]
  - 34 Wang YH, Ge B, Yang XL, Zhai J, Yang LN, Wang XX, Liu X, Shi JC, Wu YJ. Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 1620-1627 [PMID: 21642017 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.05.024]
  - 35 王舒蓓, 王颖, 张树贤, 徐莹, 陈平, 孙蕴伟. 三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎模型中调节性T细胞的变化. *中华消化杂志* 2013; 33: 47-52
  - 36 Lee SY, Jeong JJ, Eun SH1, Kim DH. Anti-inflammatory effects of ginsenoside Rg1 and its metabolites ginsenoside Rh1 and 20(S)-protopanaxatriol in mice with TNBS-induced colitis. *Eur J Pharmacol* 2015; 762: 333-343 [PMID: 26054809 DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.06.011]
  - 37 Bai JA, Xu GF, Yan LJ, Zeng WW, Ji QQ, Wu JD, Tang QY. SGK1 inhibits cellular apoptosis and promotes proliferation via the MEK/ERK/p53 pathway in colitis. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 6180-6193 [PMID: 26034353 DOI: 10.3748/wjg.v21.i20.6180]
  - 38 Guan Q, Ma Y, Hillman CL, Qing G, Ma AG, Weiss CR, Zhou G, Bai A, Warrington RJ, Bernstein CN, Peng Z. Targeting IL-12/IL-23 by employing a p40 peptide-based vaccine ameliorates TNBS-induced acute and chronic murine colitis. *Mol Med* 2011; 17: 646-656 [PMID: 21424108 DOI: 10.2119/molmed.2010.00252]
  - 39 Thippeswamy BS, Mahendran S, Biradar MI, Raj P, Srivastava K, Badami S, Veerapur VP. Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *Eur J Pharmacol* 2011; 654: 100-105 [PMID: 21185828 DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.12.012]
  - 40 陈文华, 赵凤达, 沈丽娟, 李宁, 严莉, 黄国栋, 游宇, 杨治芳. 姜黄水醇提取液对冰乙酸损伤性溃疡性结肠炎大鼠结肠粘膜保护作用及机制研究. *中国中医急症* 2011; 20: 1611-1612
  - 41 Luo J, Cao J, Jiang X, Cui H. Effect of low molecular weight heparin rectal suppository on experimental ulcerative colitis in mice. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 441-445 [PMID: 20359854 DOI: 10.1016/j.biopha.2010.01.013]
  - 42 Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Al-Enazi MM, Al-Assaf AH, Parmar MY, Ahmed MM. Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5633-5644 [PMID: 24039355 DOI: 10.3748/wjg.v19.i34.5633]
  - 43 徐香琴, 黄松, 杜先华, 周家乐, 黄火娣. 白屈菜红碱对小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用. *中国实验方剂学杂志* 2014; 20: 171-174
  - 44 王欣, 王伟明, 宋亚娟, 张丹丹, 张树明, 张雅丽. 香连胶囊对大鼠急性肠炎的作用. *中国实验方剂学杂志* 2013; 19: 212-215
  - 45 Dogan Z, Ergul B, Sarikaya M, Filik L, Gonultas MA, Hucumenoglu S, Can M. The protective effect of Echinacea spp. (*Echinacea angustifolia* and *Echinacea purpurea*) in a rat colitis model induced by acetic acid. *Pak J Pharm Sci* 2014; 27: 1827-1835 [PMID: 25362606]
  - 46 罗凤燕, 白爱平. 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 607-613
  - 47 Friedlaender MH, Cyr R. Contact sensitivity in the guinea pig eye. *Curr Eye Res* 1981; 1: 403-407 [PMID: 7318493]
  - 48 张海强, 李爱玲, 乔刚, 杨鑫, 张海霞, 马庆英, 李雄彪, 崔云龙. 阿泰宁对恶唑酮诱导的大鼠结肠炎模型的治疗作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3036-3042
  - 49 王烜, 欧阳钦. 吡格列酮对噻唑酮诱导的小鼠实验性结肠炎模型的影响. *中华消化杂志* 2004; 24: 222-225
  - 50 王烜, 欧阳钦, 罗文杰. 恶唑酮结肠炎小鼠模型的建立. *胃肠病学* 2004; 9: 77-80
  - 51 Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS, Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* 2002; 17: 629-638 [PMID: 12433369]
  - 52 张少卓, 沈宇燕, 田文全, 刘二伟, 樊官伟, 杜天洋, 高文远, 柳占彪. 葶苈草颗粒对恶唑酮诱导的小鼠实验性肠炎的治疗作用. *中国实验方剂学杂志* 2014; 20: 171-177
  - 53 Chen Q, Wang H, Zhu C, Yan Y, Pang G. Antiapoptotic effects of milk-derived casein glycomicropeptide on mice with ulcerative colitis. *Food and Agricultural Immunology* 2014; 25: 453-466 [DOI: 10.1080/09540105.2013.823912]
  - 54 He X, Zheng Z, Yang X, Lu Y, Chen N, Chen W. Tetramethylpyrazine attenuates PPAR- $\gamma$  antagonist-deteriorated oxazolone-induced colitis in mice. *Mol Med Rep* 2012; 5: 645-650 [PMID: 22200888 DOI: 10.3892/mmr.2011.721]
  - 55 Watanabe T, Yamamoto T, Yoshida M, Fujiwara



K, Kageyama-Yahara N, Kuramoto H, Shimada Y, Kadowaki M. The traditional herbal medicine saireito exerts its inhibitory effect on murine oxazolone-induced colitis via the induction of

Th1-polarized immune responses in the mucosal immune system of the colon. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 151: 98-106 [PMID: 19752563 DOI: 10.1159/000235999]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

《世界华人消化杂志》2011 年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)