

# 慢性萎缩性胃炎大鼠造模方法研究进展

刘百惠<sup>1</sup>, 袁方<sup>2</sup>, 陈前<sup>1</sup>, 邹阳<sup>3</sup>

1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250000; 2. 山东中医药大学附属医院消化内镜诊疗科, 山东 济南 250355;  
3. 山东中医药大学中学院, 山东 济南 250000

**摘要:** 近年来我国慢性萎缩性胃炎(CAG)发病率呈逐年上升趋势,已受到人们的高度重视,但因其起病隐匿,病程迁延,临床缺乏特异性症状等特点,在其诊断和治疗上仍存在种种问题。本文通过整合现阶段对慢性萎缩性胃炎大鼠造模方法的最新研究进展,以期对 CAG 的实验研究提供更具可重复性、确定性、稳定性且便捷的造模方法。

**关键词:** 慢性萎缩性胃炎; 大鼠造模; 综述

**中图分类号:** R 573.3+2 R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)08-1128-03

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是由慢性非萎缩性胃炎长期演变而来的一种临床常见病,其主要表现为胃黏膜上皮固有腺体的萎缩,数量减少,消化吸收功能减退,属于胃癌前状态<sup>[1-2]</sup>。CAG 进一步演化进展,则会出现胃癌前病变(PLGC),其主要包括胃黏膜肠上皮化生和上皮内瘤变<sup>[3]</sup>。由于 CAG 缺乏临床特异性症状,且诊断困难,仅靠胃镜象及胃黏膜组织活检予以确诊,故临床上对于 CAG 的诊疗仍需不断探究、完善<sup>[4]</sup>。所以能否建立稳定、规范的大鼠模型,对于更好地进行 CAG 的实验研究进而惠及临床具有重要意义,故将近年各学者对 CAG 大鼠造模方法综述如下。

## 1 化学刺激

**1.1 MNNG 诱导造模** 亚硝基胍(MNNG)具有致癌作用,其造模机制主要是模拟人大量食用亚硝酸盐,在胃内转化为亚硝酸铵等致癌物质的过程,是目前最常使用的造模试剂<sup>[5]</sup>。由于其最佳配制浓度尚未达到统一标准,马林等<sup>[6]</sup>研究发现造模过程中如浓度过低则易导致时间延长,甚至造模失败,浓度过高则易诱发大鼠其他器官癌症,导致死亡率升高,影响造模效果。高浓度 MNNG 可提高 CAG 诱变率,其将大鼠按照 MNNG 溶液浓度不同分为 80、100、120  $\mu\text{g}/\text{ml}$  三组,每日配置不同浓度的饮用液 200 ml MNNG 供大鼠自由饮用,造模时间为 26 周,80  $\mu\text{g}/\text{ml}$  组造模失败,100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  组用时 22 周,120  $\mu\text{g}/\text{ml}$  组用时 17 周,通过试验大鼠胃黏膜组织活检,成功模拟出 CAG 模型。Zhang 等<sup>[7]</sup>采用饥饿失常喂食法,并以 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MNNG 自由饮,仅用时 12 周便成功制备大鼠 CAG 模型。实验证明 MNNG 剂量越高,大鼠越早出现 CAG 征象。魏玥等<sup>[8]</sup>发现用去离子水配制 MNNG 溶液灌胃,以 120  $\mu\text{g}/\text{ml}$  浓度造模,效果最为显著。

MNNG 在应用时存在见光易分解、单用效果不佳等问题,故使用时应注意避光操作,且常采用 MNNG 联合多因素共同

造模,以提高成功率,缩短造模时间<sup>[9]</sup>。朱伟等<sup>[10]</sup>研究发现采用 150  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MNNG 自由饮,联合每周两次 40% 乙醇灌胃、隔日禁食以模拟饥饿失常法,12 周后造模成功,大大缩短了造模时间。朱莹莹等<sup>[11]</sup>以 150  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MNNG 自由饮,联合每周两次 40% 乙醇灌胃,以模拟长期大量饮酒造成的胃黏膜损伤,同时使用 170  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以 10 ml/kg 剂量灌胃,造模 8 周后大鼠胃黏膜病理切片即出现肠上皮化生及溃疡、糜烂。Duan 等<sup>[12]</sup>以 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MNNG 自由饮,每天 1 次给予大鼠雷尼替丁盐酸盐胶囊 0.03 g/kg,并采用单日禁食双日饱食法喂养,12 周后造模成功。以上研究表明,MNNG 联合多因素方法,明显缩短了造模时间,提高了造模成功率和稳定性。

**1.2 马兜铃酸及关木通灌胃** 马兜铃酸具有一定的毒性及致癌性,李春英等<sup>[13]</sup>以其提取物隔日灌胃 1 次(相当于马兜铃酸 12.5、5.0、10.0 mg/kg),分别于第 10、15、20 周时通过测定胃质量及光镜下胃组织形态学改变,成功制备出 CAG-PLGC 模型,且 3 个剂量大鼠均未见死亡,但发现当马兜铃酸浓度达 10 mg/kg 时,虽然各项指标提示造模成功,但肾脏检查出现肾曲管变性,故认为此剂量偏大,不推荐应用。马兜铃酸造模法成功克服了 MNNG 造模死亡率较高的缺陷,由于其具有一定致癌性,故对于制备 CAG-PLGC 模型具有独特优势<sup>[14]</sup>。

**1.3 去氧胆酸钠** 去氧胆酸钠主要是通过模拟胆汁反流对胃黏膜的损伤从而制备大鼠模型,常与乙醇合用灌胃,以提高成模率<sup>[15]</sup>。黄铭涵等<sup>[16]</sup>以 20 mmol/L 去氧胆酸钠 2 ml/d 灌胃,每周 2 次,配合 60% 乙醇共同造模,第 12 周末随机取大鼠胃黏膜组织行病理学检查提示,出现萎缩及肠上皮化生及异性增生等病理变化,证实造模成功,造模期间死亡率约为 4%。

## 2 幽门螺杆菌(Hp)感染法

2017 年慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见<sup>[17]</sup>指出:Hp 感染是引起 CAG 的首要病因,Hp 感染几乎都会引起胃

黏膜的活动性炎症,而长期的慢性活动性炎症,则是导致胃黏膜腺体萎缩的主要原因<sup>[18]</sup>。唐旭东等<sup>[19]</sup>采用 Hp 菌悬液 1 ml 灌胃,隔日 1 次,以感染大鼠,4 周后配合水杨酸钠与 60% 乙醇混合溶液,每日 2 ml 灌胃,造模 14 周后处死大鼠,快速尿素酶试验阳性,黏膜组织病理学检查出现固有腺体变薄,腺体数目减少,解决了既往 Hp 感染率低、胃部病变不显著等问题<sup>[20]</sup>,建立了达到造模标准的 Hp 感染 CAG 模型。

### 3 手术法

史瑞等<sup>[21]</sup>以弹簧幽门植入术结合高盐热淀粉糊灌胃,模拟长期胆汁反流,饮食过热过咸导致的萎缩性胃炎,以活性金属环型 165 宫内节育器改造为一长约 2 cm,直径约 0.2 cm 的金属弹簧,将其前 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,术后第 2 周开始给予 60~70℃ 高盐热淀粉糊灌胃,每只 2 ml/d,每周 2 次,4 月末时测定大鼠血清前列腺素(PE)G2、胃泌素水平及胃黏膜病理变化,成功制备出 CAG 模型。该方法符合我国 CAG 患者流行病学特点,且造模稳定性高,但其仍存在技术要求高、操作较为复杂等问题。

### 4 免疫法

CAG 患者血清中常可检测到两种抗体,分别为内因子抗体及壁细胞抗体<sup>[22]</sup>,此类疾病常由于自身免疫细胞对胃黏膜的攻击和损伤所致<sup>[23]</sup>。针对这一病因,戴关海等<sup>[24]</sup>以同种大鼠胃黏膜与生理盐水、完全福氏佐剂等比例混合,以 0.3 ml/只的剂量皮下注射,每月 1 次,以激发大鼠主动免疫,同时联合去氧胆酸钠及 30%~60% 乙醇联合造模。90 d 后通过观察大鼠胃黏膜,证实造模成功。

### 5 病证结合造模法

中医学对于 CAG 的认识,认为其主要与饮食不节、嗜食烟酒、进食热烫粗糙或刺激性食物,抑郁恼怒,劳倦内伤等有关<sup>[25]</sup>。故本文从脾虚型、湿热型、肝郁型、气虚血瘀型<sup>[26]</sup>四方面加以论述,其中以脾虚型发病最为常见<sup>[27]</sup>。

#### 5.1 脾虚型

5.1.1 脾胃气虚型 《内外伤辨惑论》曰:“苟饮食失节,寒湿不适,则脾胃乃伤;喜怒忧恐,劳役过度,而损耗元气<sup>[28]</sup>。指出饥饱失常、劳逸失度等皆会损伤脾气,从而发为脾胃虚弱<sup>[29]</sup>。朱萱萱等<sup>[11]</sup>以 MNNG 联合乙醇灌胃法建立大鼠 CAG 模型后,在饥饱失常的基础上,佐以生大黄、生厚朴、生枳实 1:1:1 配伍,三药煎汤,每日给予大鼠 2 ml/100 g,以起到破气苦降之功效,同时训练大鼠每日跑步,造成疲劳过度,10 周后大鼠出现蜷卧喜静,精神萎靡,皮毛干枯无泽,耳尾色白,大便溏泄,形体消瘦等脾虚表现,胃黏膜组织光镜下观察,出现肠上皮化生及异型增生,成功建立了大鼠脾气虚型 CAG 模型。

5.1.2 脾胃虚寒型 脾胃气虚证继续发展,感受寒邪,或长期大量应用苦寒泻下之物,导致脾胃阳气受损,脾阳衰惫,寒从中生,故发为脾胃虚寒之证<sup>[30]</sup>。杨建辉等<sup>[31]</sup>采用 0.02% 冰氨水自由饮,配合 65% 冰乙醇每周灌胃 2 次(2 ml/只),同时以饥饱失常法供食。造模期限为 12 周,12 周后观察大鼠胃

黏膜组织,出现胃腺体萎缩及炎细胞浸润,且大鼠表现出毛色枯槁,便溏,耳尾色白,喜扎堆等脾胃虚寒的征象。该法在模拟酒精、氨水损伤胃黏膜引起萎缩的条件下,遵循中医思想中饥饱失常、苦寒败胃的理论,以饮用及灌服冰冷试剂的方法<sup>[32]</sup>,成功制备出符合脾胃虚寒证的大鼠模型。

5.2 湿热型 平素饮食不节,嗜食膏粱厚味,则易酿成湿热,湿热内蕴于脾胃,故发为脾胃湿热证<sup>[33]</sup>,其症状主要表现为脘腹胀闷,口中黏腻,头身困重,大便稀黏,小便灼热刺痛等<sup>[34]</sup>。吕冠华等<sup>[35]</sup>立足于脾胃湿热证发病的病因病机,通过模拟湿热气候、肥甘厚腻、白酒的共同致病因素,提出了脾胃湿热的造模方法。给予大鼠 20% 蜂蜜水自由饮,并每日交替灌服油脂(2 g/200 g)及白酒(2 ml/200 g),以模拟嗜食肥甘厚腻所致脾胃损害,10 日后将大鼠置于高温高湿的人工气候箱中,经过多次实验后得出,人工箱最适宜温度及湿度分别为(32±2)℃,95%,放入人工试验箱 5 d 后,大鼠即出现一系列特征性脾胃湿热证表现,且其胃黏膜组织病理表现符合 CAG 征象,其提出的气候因素+肥甘饮食+生物因子的复合造模方法为日后脾胃湿热证造模的探索提供了新的思路。

5.3 肝郁型 肝郁证多由于突发情志刺激或长期精神抑郁,阻遏肝脉,肝气失于疏泄调达所致<sup>[36]</sup>。任健等<sup>[37]</sup>通过束缚大鼠,限制其正常活动,致其焦虑不安,情志不舒,以期模拟长期肝郁所致的 CAG。实验过程主要以 0.02% 氨水自由饮,同时每周 1 次经口灌服 1% 氨水(10 ml/L),10 周后通过大鼠胃黏膜组织病理学检查证实出现胃腺体萎缩,在此基础上,以自制束缚筒限制大鼠行动,从每日束缚 4 h 开始,束缚时间及束缚强度逐日递增,共束缚 4 周。模型大鼠出现反应明显迟纯、两目浑浊、眼眯等临床表现,符合肝郁证型。

5.4 气虚血瘀型 “运血者,既是气”,气是血液运行和输布的动力,血是气机生成和变化的根源和载体,故曰“气为血之帅,血为气之母”。于春月等<sup>[38]</sup>立足于气血的相关性,在大鼠 CAG 模型的基础上,采用 150 μg/ml MNNG 自由饮、0.05% 雷尼替丁饲料自由进食,联合双日饱食,单日禁食,禁食日以 2% 水杨酸钠溶液灌胃(5 ml/100 g)。造模时限为 16 周,通过对照大鼠表征观察量表发现,第 5 周开始,大鼠出现活动度减少、唇舌淡白、爪淡白等气虚证候,继续上述方法造模,第 13 周大鼠开始出现血瘀证候,主要表现为唇爪青紫,舌暗红。造模第 16 周时观察大鼠胃黏膜组织,呈现 CAG 表现。

### 6 结语

近些年,我国 CAG 发病率越来越高,但在临床诊治过程中仍存在内镜和病理诊断的符合率较低,临床诊断欠精准等问题<sup>[39]</sup>,故急需建立稳定、简便、可行性强的 CAG 大鼠模型用以探索发病规律、疾病进程。但目前大多数文献属治疗性造模,造模期结束后随机选取部分试验动物以观察造模效果,与实际成功率之间仍然存在误差,很少有单纯造模性研究。在病证结合造模过程中,大部分造模方法是先制备 CAG 模型,再在 CAG 的基础上模拟相应证型,与实际疾病发生过程中病、证共同出现,相互影响的现状不符。且在实际临床中,肝胃不和证发病率较高,CAG 伴焦虑、抑郁的患者较为典型,但

却缺乏相应的造模方法的文献支持。因此,在日后的研究过程中,应针对以上问题进行补充和拓展,以期早日建立起完善、标准的大鼠造模方案。

## 参考文献

- [1] 段浩博,周焕荣,王艳艳,等. 中医治疗慢性萎缩性胃炎临床研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2017,26(12):1362-1365.
- [2] Lahner E,Zagari RM,Zullo A, et al. Chronic atrophic gastritis: natural history, diagnosis and therapeutic management. A position paper by the Italian Society of Hospital Gastroenterologists and Digestive Endoscopists [AIGO], the Italian Society of Digestive Endoscopy [SIED], the Italian Society of Gastroenterology [SIGE], and the Italian Society of Internal Medicine [SIMI] [J]. Dig Liver Dis, 2019, 51(12):1621-1632.
- [3] 张剑锋,王立恒. 胃癌前病变的中医研究进展[J]. 广西中医药大学学报,2014,17(1):109-111.
- [4] 史亚飞,潘华峰,王超,等. 慢性萎缩性胃炎从瘀毒论治机理探讨[J]. 新中医,2011,43(11):1-2.
- [5] 吴娟,王婷,魏睦新. MNNG 在大鼠胃癌前期病变造模中的量效关系[J]. 世界华人消化杂志,2017,25(17):1543-1552.
- [6] 马林,李素荷,王坤,等. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍诱发大鼠慢性萎缩性胃炎的浓度探讨[J]. 辽宁中医杂志,2017,44(7):1544-1547.
- [7] Zhang J, Wang HH. Morroniside protects against chronic atrophic gastritis in rat via inhibiting inflammation and apoptosis [J]. Am J Transl Res, 2019, 11(9):6016-6023.
- [8] 魏玥,杨晋翔,李志钢,等. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍胃癌前病变大鼠造模联合因素的探讨[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19(2):111-112.
- [9] 李雨文,周周雅,林三仁,等. 单独高胃泌素血症及其与 MNNG 合用对大鼠胃黏膜的影响[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2013, 22(8):759-762.
- [10] 朱伟,胡小珍,钟欢,等. 基于经脉-脏腑相关的慢性萎缩性胃炎模型大鼠足三里穴区代谢组学特点分析[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(2):768-772.
- [11] 朱萱萱,史淋峰,吴旭彤,等. 实验性慢性萎缩性胃炎脾虚证模型的建立及不同时期病理形态学的改变[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(2):231-233, 449-450.
- [12] Duan YQ, Cheng WD, Cheng YX, et al. Variations of energy metabolism and adenosine triphosphatase activity in gastric mucosa in chronic atrophic gastritis rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome and effect of Zhiweifangbian capsule [J]. JTCM, 2013, 33(4):500.
- [13] 李春英,梁爱华,高双荣,等. 大鼠胃癌前病变模型的建立[J]. 中国中药杂志,2012,37(1):89-93.
- [14] 杨洋,刘志新,瞿先侯,等. 慢性萎缩性胃炎动物模型研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2018,27(17):1934-1938.
- [15] 火明才,周语平,刘光炜,等. 复合因素联合诱导慢性萎缩性胃炎实验动物模型方法综述[J]. 中国保健营养旬刊,2013(7):101.
- [16] 黄铭涵,王文荣,黄健,等. 中药复方清化饮对慢性萎缩性胃炎大鼠血清 IL-10、NO、GAS 及血浆 MTL 的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版),2018,39(1):116-120.
- [17] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2017 年) [J]. 中国中西医结合消化杂志,2018,26(2):121-131.
- [18] 唐旭东,王风云,张声生,等. 消化系统常见病慢性非萎缩性胃炎中医诊疗指南(基层医生版) [J]. 中华中医药杂志,2019, 34(8):3613-3618.
- [19] 唐旭东,张翠萍,张琪,等. 改良式 Hp 感染萎缩性胃炎大鼠模型的建立[J]. 青岛大学医学院学报,2012,48(3):247-249,252.
- [20] 刘昆梅,刘宏鹏,郭乐. 幽门螺旋杆菌 ATCC 43504 感染 BALB/c 小鼠动物胃炎模型的建立及分析[J]. 生物技术进展,2015, 5(6):446-450,482-483.
- [21] 史瑞,李晓红,方蕾,等. 弹簧幽门植入术结合高盐热淀粉糊灌胃诱导大鼠萎缩性胃炎模型的方法及评价[J]. 世界华人消化杂志,2011,19(10):1001-1008.
- [22] 吴传楠,张海涵,刘世育,等. 内因子及壁细胞抗体阴性的自身免疫性胃炎 1 例及文献复习[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2019, 28(3):358-360.
- [23] 杨金娜,李欣欣,马晓慧,等. 慢性胃炎模型建立方法及其检测指标概述[J]. 医学综述,2014,20(15):2788-2790.
- [24] 戴关海,童晔玲,张春丽,等. 胃乐煎对慢性萎缩性胃炎模型大鼠作用的实验研究[J]. 中国现代应用药学,2013,30(1):15-20.
- [25] 王宗柱,葛震,王永杰,等. 加味四逆泻心汤对实验性大鼠胃癌前病变 p16 及 bcl-2 基因表达的影响[J]. 四川中医,2009,27(7):34-36.
- [26] 中华中医药学会脾胃病分会. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见(2010 年) [J]. 中医杂志,2010,51(8):749-753.
- [27] 朱永钦,朱永苹,黄连梅,等. 慢性萎缩性胃炎中医病因病机和辨证分型的临床研究进展[J]. 中华中医药学刊,2017,35(2):322.
- [28] 白建英,张秀芬,杨贵真,等. 李东垣《脾胃论》“阴火”理论探讨[J]. 中华中医药杂志,2018,33(10):4586-4588.
- [29] 赵兵,崔一鸣,周斌,等. 慢性萎缩性胃炎脾胃虚弱证病理等级影响因素[J]. 中华中医药杂志,2019,34(5):1950-1955.
- [30] 王海军,李郑生. 李振华外感热病学术思想及临证经验探讨[J]. 中华中医药学刊,2013,31(1):62-64.
- [31] 杨建辉,张峰. 大鼠慢性萎缩性胃炎脾胃虚寒型模型建立的实验研究[J]. 江西中医学院学报,2012,24(3):66-69.
- [32] 苏剑东,吴灵飞,蒲泽锦. 慢性萎缩性胃炎动物模型的实验研究[J]. 汕头大学医学院学报,2007,20(2):88-89,99,130.
- [33] 林传权,蔡佳仲,胡玲. 劳绍贤运用藿朴夏苓汤治疗脾胃病湿证经验举隅[J]. 广州中医药大学学报,2014,31(2):307-308.
- [34] 张佳艺,丁杰,杜璐璐,等. 中医治疗慢性萎缩性胃炎概况[J]. 中医学报,2019,34(12):2570-2575.
- [35] 吕冠华,劳绍贤. 脾胃湿证动物模型的造模思路与应用研究[J]. 广州中医药大学学报,2005,20(3):231-235.
- [36] 雷明红,任小军,史红. 肝郁证的实验研究进展[J]. 湖北中医杂志,2019,41(7):63-66.
- [37] 任健,陈宇. 疏肝健脾方药对慢性胃炎肝郁证模型大鼠外在表征及 NO、ET 的影响[J]. 中华中医药学刊,2012,30(12):2730-2731.
- [38] 于春月,刘婷,刘凯歌,等. 慢性萎缩性胃炎病证结合动物模型的建立与评价. [J] 中华中医药杂志,2018,33(5):2140-2144.
- [39] 陈剑鸣,龚飞跃. 慢性萎缩性胃炎的相关因素及内镜与病理诊断比较的临床意义[J]. 中华腹部疾病杂志,2005(6):405-407.