

# 脾胃湿热型幽门螺杆菌相关性胃炎小鼠模型建立的初步研究

王红梅<sup>1</sup>, 胡锦洋<sup>2</sup>, 肖梅英<sup>3</sup>, 徐琳本<sup>3</sup>, 陈志鹏<sup>1</sup>

1. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006
2. 湖南省中药研究院附属医院, 湖南 长沙 410006
3. 湖南省中医药研究院中药研究所, 湖南 长沙 410013

**[摘要]** 目的: 探索脾胃湿热型幽门螺杆菌(Hp)相关性胃炎小鼠模型的建立及模型病证的保存期。方法: 将40只SPF级昆明小鼠分为空白组10只、模型组30只, 采用Hp菌液灌胃法建立Hp感染动物, 期间给予湿热环境+高脂高糖饮食多种因素综合作用, 最终制作脾胃湿热型Hp相关性胃炎小鼠模型。造模4周。定期观察动物体质量、症状积分, 动物分别于第4、8、12周处死1/3, 观察胃组织病理积分、Hp感染积分。结果: 模型组第4周内死亡3只小鼠, 2只雄1只雌, 经解剖确定系胃肠严重糜烂穿孔所致。模型组1周后体质量明显减轻, 2周后体质量缓慢增长, 期间食量、饮水量无明显变化。与空白组比较, 第4、8周模型组动物体质量差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。模型组第1周, 小鼠好动, 急躁, 形体消瘦, 皮毛枯燥, 眼睛、鼻、二便、二阴无明显影响, 舌苔稍多。第3周其它症状无明显变化, 舌苔更厚。与空白组比较, 第4、8周模型组动物症状积分差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。与空白组比较, 第4、8周模型组病理积分差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。与空白组比较, 模型组Hp感染积分第4、8、12周差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。结论: 现有条件下脾胃湿热型Hp相关性胃炎小鼠模型建立成功, 其保存期不超过8周。

**[关键词]** 胃炎; 幽门螺杆菌(Hp); 脾胃湿热; 动物模型; 小鼠

**[中图分类号]** R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2014)12-0200-02

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2014.12.094

幽门螺杆菌相关性胃炎(Helicobacter pylori associated gastritis, HAG)仍是目前消化系统的顽疾之一, 幽门螺杆菌(Helicobacter pylori associated, Hp)致病机制尚不明确。Hp属中医学六淫湿热邪气范畴, 具有“毒”的性质, 因此, 笔者建立脾胃湿热型病证结合动物模型来研究Hp相关性胃炎, 以期为进一步开展提供基础。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂与菌株** 胃Hp染色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司提供, 编号: MST-8027)。Hp菌株由湖南中医药大学微生物免疫教研室提供。

**1.2 湿热环境试验箱的制备** 箱体为双层透明有机玻璃, 玻璃厚度10 mm, 大小为50 cm×40 cm×50 cm, 上下层各放2笼小鼠。参照文献<sup>[1]</sup>在箱外装温循环水浴箱、超声雾化器、温湿度测量仪、多种气体监测仪、风机。试验箱为双层结构, 内层为箱体, 用于饲养动物, 外层为循环水保温层, 连接循环水恒温器, 用于维持内层空气温度。设置室内温度(32±0.5)°C, 相对湿度(75±2)%。

**1.3 动物分组及处理** SPF级昆明小鼠40只, 雌雄各半, 体

质量25~30 g(由湖南斯莱克景达动物有限公司提供, 小鼠ICR质量合格证号: 43004700003938)。随机分成空白组10只与模型组30只, 模型组小鼠经禁食24 h后, 每只灌胃50%的乙醇0.1 mL, 1 h后灌胃0.5 mL Hp菌株( $10^9$ 个/mL); 隔天灌胃1次, 共5次(灌胃前6 h, 灌胃后30 min内禁食、禁水)。每天置于湿热环境试验箱中8 h, 喂饲高脂高糖饲料(基础饲料60%, 猪油11%, 蔗糖16%, 胆固醇3%, 蛋黄粉10%), 共4周。动物定期测量体质量、食量、饮水量, 每天观察动物症状, 如精神状况、形体、皮毛、眼睛、鼻、二便、二阴的变化, 按各项症状无、轻、中、重程度, 分别记为0、1、2、3分, 统计记录每只大鼠的症状积分。分别在第4、第8、第12周处死1/3动物, 取胃组织切片, 普通染色, 参照悉尼分级系统<sup>[2]</sup>对慢性胃炎形态进行评估, 将黏膜病变按照炎症细胞浸润、腺体萎缩程度分为3级并记分: 无炎症0分, 轻度炎症1分, 中度炎症2分, 重度炎症3分。胃组织切片按试验盒说明染色, 观察Hp分级: Hp深红色, 背景红色。Hp: 无HP(<2个红点); Hp+: 局部少量Hp(2~10个红点); Hp++: 10~50个红点; Hp+++ : >50个红点。

**[收稿日期]** 2014-09-01

**[基金项目]** 湖南省科技厅资助项目(编号: 2012TT2032); 湖南省中医药管理局资助项目(编号: 201285)

**[作者简介]** 王红梅(1981-), 女, 助理研究员, 研究方向: 脾胃病中医诊治。

**[通讯作者]** 陈志鹏, E-mail: 41785892@qq.com。

1.4 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析, 所得计量数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。

## 2 结果

2.1 各组小鼠体重质量变化比较 见表 1。模型组第 4 周内死亡 3 只小鼠, 2 只雄 1 只雌, 经解剖确定系胃肠严重糜烂穿孔所致。模型组 1 周后体质量明显减轻, 2 周后体质量缓慢增长, 期间食量、饮水量无明显变化。与空白组比较, 第 4、8 周模型组动物体质量差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。

表 1 各组小鼠体重质量变化比较 $(\bar{x} \pm s)$  g

组别	第 0 周	第 4 周	第 8 周	第 12 周
空白组	26.8 ± 1.6	31.7 ± 2.4	34.2 ± 2.5	35.9 ± 2.7
模型组	27.4 ± 2.1	28.5 ± 2.9	31.7 ± 2.2	34.2 ± 2.4

与空白组同期比较, ① $P < 0.05$

2.2 各组小鼠症状积分变化比较 见表 2。模型组第 1 周, 小鼠好动, 急躁, 形体消瘦, 皮毛枯燥, 眼睛、鼻、二便、二阴无明显影响。第 3 周其它症状无明显变化。与空白组比较, 第 4、8 周模型组动物症状积分差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。

表 2 各组小鼠症状积分变化比较 $(\bar{x} \pm s)$  分

组别	第 4 周	第 8 周	第 12 周
空白组	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5
模型组	2.5 ± 0.5	1.9 ± 0.7	0.8 ± 0.7

与空白组同期比较, ① $P < 0.05$

2.3 各组小鼠胃组织病理积分变化比较 见表 3。与空白组比较, 第 4、8 周模型组病理积分差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。

表 3 各组小鼠胃组织病理积分变化比较 $(\bar{x} \pm s)$  分

组别	第 4 周	第 8 周	第 12 周
空白组	0.6 ± 0.7	0.5 ± 0.6	0.6 ± 0.5
模型组	2.1 ± 0.6	1.9 ± 0.7	1.3 ± 0.9

与空白组同期比较, ① $P < 0.01$

2.4 各组小鼠胃组织 Hp 感染积分比较 见表 4。与空白组比较, 模型组 Hp 感染积分第 4、8、12 周差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。

表 4 各组小鼠胃组织 Hp 感染积分比较 $(\bar{x} \pm s)$  分

组别	第 4 周	第 8 周	第 12 周
空白组	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4
模型组	2.0 ± 0.6	1.5 ± 0.8	0.8 ± 0.7

与空白组同期比较, ① $P < 0.05$

## 3 讨论

Hp 感染是慢性胃炎的重要致病因素, 不同中医证型下的慢性胃炎与 Hp 感染程度有一定关系。研究表明, 脾胃湿热型慢性胃炎 Hp 活性最大, 阳性率高于脾虚肝郁型与肝胃不和型等<sup>[2]</sup>。究其原因, 可能是湿热环境有利于 Hp 生长与繁殖。

脾胃湿热型 Hp 相关性胃炎小鼠模型的研究较少, 本文在前期研究的基础上, 选用室内温度 $(32 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 相对湿度 $(75 \pm 2)\%$ 为湿热条件, 有利于动物长期生长而不致死亡。有报道大鼠在 $38^\circ\text{C}$ 的高温下, 60 min 后体质量减轻 3.16%, 120 min 后体质量减轻 5.52%, 再长时间动物不能坚持<sup>[3]</sup>。也有人采用温度 $(32 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 相对湿度 $(95 \pm 2)\%$ 为湿热条件<sup>[4]</sup>, 但湿度太大, 也不利于动物长期生活。

一个成功的模型, 不仅在于其很好地模拟疾病症状, 而且还要有一定的保存期, 才有试验研究的价值。本文在模型成功后持续观察模型保存期 4~12 周, 发现 4、8 周时小鼠的体质量、症状、胃组织病理及 Hp 感染均与空白组显著差异( $P < 0.05$ ), 12 周时动物上述指标基本无明显差异, 提示该模型的保存期不能超过 8 周。

虽然本文初步建立了脾胃湿热型 Hp 相关性胃炎小鼠模型, 但其中多数指标均为非客观性指标, 如何将中医证型的指标客观化是中医病证动物模型的核心问题, 须得广大学者深入研究。

## [参考文献]

- [1] Moorchung N, Srivastava AN, Gupta NK, et al. Gytokine gene poly-morphisms and the pathology of chronic gastritis [J]. Singapore Med J, 2007, 48 (5): 447-454.
- [2] 周喜汉, 黄赞松. 幽门螺杆菌相关性疣状胃炎患者症状及胃动力关系[J]. 临床荟萃, 2003, 18(2): 66-68.
- [3] 赵远鹏, 蔡颖, 董兆君. 一种小动物湿热环境试验箱的研制[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(5): 461-462.
- [4] 常丽萍, 阙铁生, 吕军影, 等. 湿病湿热证大鼠模型复制的条件探索[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1243-1245.

(责任编辑: 骆欢欢)