

心血管系疾病的动物模型

肿瘤模型的复制方法

复制动物肿瘤的方法很多，如将实验动物用放射线照射或静脉、局部注射放射性同位素；使用各种化学致癌剂（烷化剂、多环芳香烃类、芳香胺类、氨基偶氮染料、亚硝胺类）；使用植物毒素（如苏铁素、黄樟素等）；使用金属（如铬、镍、砷、镉等）；使用 RNA 和 DNA 肿瘤病毒；使用多种致癌性霉菌毒素（其中致癌作用最强者为黄曲霉素）等，均可诱发成各种肿瘤。

诱发性肿瘤模型其数量在诱发性动物模型中占首位。一般是利用致癌物质通过口服、注入、埋藏和涂抹等方式使动物发生肿瘤。

能诱发动动物肿瘤的病毒也有不少报导，例如小鼠白血病病毒（MLV）、鸡白血病病毒（ALV）和猫白血病病毒（FLV）分别能引起大小鼠，鸡和猫白血病。Rous 鸡肉瘤病毒可使田鼠、鸡、鸭、鹌鹑、猴、蛇等多种动物发生肉瘤。猫肉瘤病毒（FSV）可使大鼠、猫、犬和猴发生肉瘤。人类腺病毒能诱发小鼠、田鼠肉瘤和淋巴瘤。

（一）诱发性肿瘤动物模型

1. 肝癌 二乙基亚硝胺（DEN）诱发大白鼠肝癌：取体重 250g 左右的封闭群大白鼠，雌雄不拘。按性别分笼饲养。除给普通食物外，饲以致癌物，即用 0.25% DEN 水溶液灌胃，剂量为 10mg/kg，每周一次，其余 5 天用 0.025% DEN 水溶液放入水瓶中，任其自由饮用。共约 4 个月可诱发成肝癌。或单用 0.005% 掺入饮水中口服 8 个月诱发肝癌。4-2 甲基氨基氮苯（DBA）诱发大鼠肝癌：用含 0.06% DBA 的饲料喂养大鼠，饲料中维生素 B2 不应超过 1.5~2mg/kg，4~6 月就有大量的肝癌诱发成功。2-乙酰氨基酸（2AAF）诱发小鼠、狗、猫、鸡、兔肝癌：给成年大鼠含 0.03% 2AAF 标准饲料。每日每平均 2~3mg 2AAF（也可将 2AAF 混于油中灌喂），3~4 月后有 80~90% 动物产生肝肿瘤。二乙基亚硝胺诱发大鼠肝癌：用剂量为每日 0.3~14mg/kg 体重，混于饲料或饮水中给予，6~9 个月后 255/300 大鼠发生了肝癌。亚胺基偶氮甲苯（OAAT）诱发小鼠肝癌：用 1% OAAT 苯溶液（约 0.1ml 含 1mg）涂在动物的两肩胛间皮肤上，隔日一次，每次 2~3 滴，一般涂 100 次。实验后 7~8 周即而出现第一个肝肿瘤，7 个月以上可诱发小鼠肝肿瘤约 55%。或用 2.5mg OAAT 溶于葵花子油中，给 C3H 小鼠

皮下注射 4 次，每日间隔 10 天，也可诱发成肝癌。黄曲霉素诱发大鼠肝癌：每日饲料中含 0.001~0.015ppm，混入饲料中喂 6 个月后，肝癌诱发率达 80%。

2. 胃癌 甲基胆蒽诱发小鼠胃癌：取 20g 左右的小鼠，无菌手术下，在腺胃粘膜面穿挂含甲基胆蒽（MC）线结。含 MC 的线结是用普通细线，在一端打结后，将线结置于盛有 MC 小玻璃试管内，在酒精灯上微微加温，使 MC 液化渗入线结。MC 浓度为 0.05~0.1g/20-甲基胆蒽内浸入 10~20 根线。手术埋线后 4~8 个月可诱发成功胃癌。用不对称亚硝胺，剂量为 0.25ml/kg 体重，3 个月后全部动物发生前胃乳头状癌，7~8 个月后有 85~100% 发生前胃癌。昆明种最敏感。A 系次之，615 系小鼠敏感性最差。此外还可用甲基亚硝基醋酸尿素给 BD 大鼠饮水中加 2mg/kg 体重，每周 5 次饮用，520 天后全部大鼠均发生了腺胃癌。

3. 食管癌 甲基苄基亚硝胺（MBNA）诱发大鼠食管癌：取体重 100g 以上的 Wistar 大鼠，任其食用含甲基苄基亚硝胺的饮水，并将 MBNA 掺入饲料中使每日摄入量达 0.75~1.5mg/kg 体重。80~100 天可诱发成食管癌。也可用二羟黄樟素（Dihydrosafrole），它是一种制备啤酒的调味品，在大鼠饲料中加入百万分之二千五百至一万（2500~10000ppm）黄樟素，就能引起 20~75% 的食管癌。用 0.2% 或 0.005% 的甲基苄基亚硝胺水溶液，给动物经口灌喂，每天一次，大鼠灌注剂量为 1mg/kg 体重，至第 27 天即发现一例食管乳头状瘤，154 天发现第一例食管癌，11 个月食管癌的发生率为 53%。

4. 肺癌 二乙基亚硝胺（DEN）诱发小鼠肺癌：小白鼠每周皮下注射 1% DEN 水溶液一次，每次剂量 56mg/kg，DEN 总剂量达到 868mg，观察时间为 100 天左右时，发癌率可达 40%。而 DEN 总剂量达到 1176mg，观察时间为半年左右时；发癌率可达 94%。乌拉坦诱发肺腺癌：小鼠（A 系，1~11/2 月龄）较大鼠敏感，每次每只腹腔注入 10% 乌拉坦生理盐水液 0.1~0.3ml，间隔 3~5 日再注，共注 2~3 个月，每只小鼠用量约为 100mg，注后 3 个月肺腺癌发生率为 100%，而且多数为多发性，这种诱发瘤为良性。此外还可用气管内注入苯并芘、硫酸铵气溶胶、甲基胆蒽等诱发肺癌。如猴气管内注入 3, 4 苯并芘（苯并芘为 3~15mg 与等量之 Fe₂O₃ 混合液），每周一次，共 10 次，6 只猴中有 2 只诱发肺的鳞状上皮癌。亦有人用硫酸铵气溶剂给 100 只大鼠吸入，13 个月后所有大鼠都发生了肺腺癌。用 0.2% 明胶作悬浮剂将甲基胆蒽混合后给金地鼠气管内注入，每次

0.1ml (含甲基胆蒽 5mg) 每周一次, 共 6 次, 53 周后有 62.5% 动物发生了肺癌。

5. 鼻咽癌 二甲基胆蒽 (MC) 诱发大鼠鼻咽癌: 取直径 2~3mm 的硬质塑米管, 在酒精灯上小火拉成锥形, 每段长约 3.5cm, 管内填以结晶体 MC。小管一端用火封闭, 以防药物外溢, 尖端用针刺数孔, 使 MC 能从小孔溢出。取体重 120g 左右的大白鼠, 雌雄均可, 乙醚麻醉后, 由前鼻孔将上述含 MC 的塑料小管插入鼻腔, 利用前鼻孔较小管粗端为小的特点, 稍加用力, 迫使小管全部进入鼻腔内, 其尖部可达鼻咽腔。不需另加固定, 即可使小管长期留于鼻腔内。待到预定时间 (半年以上), 或动物自行死亡时, 到其鼻咽部, 10% 福尔马林固定, 脱钙后, 石蜡包埋, 进行连续切片。发癌率可达 60% 以上。二乙基亚硝胺滴鼻法诱发鼻咽癌: 取 120g 左右大白鼠, 雌雄均可, 乙醚麻醉后, 用磨平针尖的 8 号针头, 从前鼻孔轻轻插入, 针尖可达鼻咽腔。经注射器灌注用 1% 吐温-80 新配的 33.3% DEN 混悬液 0.02ml (含 DEN 6.7mg) 每周 1 次, 共 15~20 次, 可诱发出鼻咽癌。

6. 宫颈癌 取雌性小白鼠, 以附有 0.1mg MC 的棉纱线结在动物不麻醉的状态下, 借助于阴道扩张器及磨钝的弯针, 将线穿入宫颈。经右宫角背部穿出, 使线结固定于宫颈口。线的另一端则固定于背部肌肉, 缝合皮肤, 挂线以后, 同日开始连续注射青霉素 2~3 天。以防术后感染。至一定时间 (半年左右) 处死动物, 宫颈组织用 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋, 连续切片。

7. 结肠癌 给四周龄的雄性大白鼠, 皮下注射二甲基苄肼 (Dimethylhydrazine, DMH) 每周一次, 连续 21 周, 每次 DMH 21mg/kg。最后一次给药后 1~4 周, 处死动物。降结肠部位用 Bouin 液固定, 脱水, 石蜡包埋, 切片。所用之 DMH 先配成每 100ml 含 400mg 的母液, 并加 EDTA 37mg, 用氢氧化钠 (0.1N) 液将 pH 调至 6.5 备用。

(二) 移植性肿瘤动物模型

目前临床所用的抗肿瘤药中, 大多数是经动物移植性肿瘤试验筛选而发现的。应用动物移植性肿瘤筛选药物的优点是: 使一群动物同时接种同样量的瘤细胞, 生长速率比较一致, 个体差异较小, 接种成活率近 100%, 对宿主的影响相类似, 易于客观判断疗效, 可在同种或同品系动物中连续移植, 长期保留供试验用, 试验周期一般均较短, 试验条件易于控制等。因此目前抗肿瘤药筛选大多数

采用动物移植瘤作为筛选模型。目前世界上保存的动物移植肿瘤约有 400 株，但筛选试验常用者仅 20~30 种。据 1984 年统计，我国在同系、同种动物中已建立各种动物和人的常见的瘤株 64 个。例如小鼠肺腺瘤（HP615）、小鼠子宫颈瘤 27 号（U27）、小鼠脑瘤 22（B22）、小鼠淋巴细胞性血病（L615）、裸鼠人肝癌移植瘤和人脑恶性胶质细胞瘤（NCS—1）等。

动物肿瘤可通过移植传代而培养出所需要的肿瘤细胞株。瘤株是一种组织学类型和生长特性已趋稳定，并能在同系或同种动物中连续传代的肿瘤细胞模型。肿瘤移植于健康动物，相当于活体组织培养，可长期保存瘤种，供实验所用。

实验中常用腹水瘤和实体瘤两种方式进行移植。对于会产生腹水的肿瘤，可将其一定数量的细胞注入受体动物腹腔形成腹水瘤或产生腹水。实体瘤移植也是在无菌条件下，把实体瘤切成 2~3mm 小块，植于受体动物皮下。

自体式同系动物肿瘤植不产生排导现象。同种动物移植时可结合注射肾上腺皮质激素、抗肿瘤药物和适当量的放射等方法，降低宿主免疫排斥反应。异种动物肿瘤移植始于 Leidy（1834 年），难度较大。近 50 年来异体移植常用下列方法：①接种于皮下或粘膜下，优点是易观察，但排斥作用大，效果欠佳。②动物肿瘤移植于鸡胚尿囊膜。特点是较易存活，但人类肿瘤无成功报导。③人类肿瘤接种于大鼠、豚鼠、兔的眼前房。缺点是细胞不能传代。④移植于动物脑内。肿瘤生长快，但难度大，不易观察。1983 年 Bodgen 等人用无胸腺大鼠肾包膜下移植人体肿瘤筛选新药，全部实验仅需 11 天，且命中率高，这项工作为临床病人的药物筛选带来了福音。

60 年代以来国外已建立可移植性人体肿瘤数百种，这些瘤株能防止由传代伴随的形成和功能的退化。1969 年 Rygaard 首次成功地将人类肿瘤移于无胸腺裸小鼠，这为异种动物肿瘤移植开辟了新局面。由于裸小鼠缺乏 T 淋巴细胞功能，所以是极为理想的肿瘤移植模型材料。