

[文章编号] 1007-385X(2004)05- 0063-02

二甲基胍诱导昆明小鼠大肠癌的研究

刘成霞¹, 张尚忠¹, 李铁军², 黄丽华², 王 兵², 张孝卫², 耿秀兰²(1. 山东大学齐鲁医院消化科, 济南 250012; 2. 济南市医学科学研究所, 济南 250013)

随着大肠肿瘤发病率的逐年升高, 大肠癌的化学预防已成为目前肿瘤学领域的研究热点。在防治研究中, 常常应用动物模型进行具体防治措施的效果验证。本研究应用二甲基胍(dimethylhydrazine, DMH)诱发昆明小鼠大肠癌实验, 旨在探索一种比较经济实用的用于大肠癌研究的动物模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性昆明种小鼠(杂交系动物)80 只, 5~6 周龄, 体重 24~28 g。购自山东大学实验动物中心, 检疫许可证号 SCXY(鲁)20030004。饲养于济南市医学科学研究所实验动物室。模型组 56 只, 对照组 24 只。

1.2 实验过程

根据文献[1-2]方法并加以改进。改进主要表现在以下几个方面:(1)实验动物: 国产昆明种小鼠;(2)二甲基胍的剂量: 每周 30 mg · kg⁻¹ 体重, 连续应用 11 周;(3)以肿瘤发生为观察终点。实验过程: 模型组: 用生理盐水将二甲基胍(美国 Sigma 公司产品)配制成 1% 的溶液, 抽滤除菌, 4℃ 冰箱保存备用, 2 周配制 1 次。以 30 mg · kg⁻¹ 体重, 于小鼠背部皮下注射, 每周 1 次, 连续给药 11 周。对照组每周给予等量生理盐水皮下注射。分别于给药后第 12 周、18 周和 24 周处死实验动物。

1.3 观察指标和处理方法

重点观察小鼠肛门有无糜烂、红肿、肿物、大便性状等。颈椎脱臼处死动物后, 取出全部大肠和主要脏器。肉眼观察后, 4% 的多聚甲醛固定、脱水、石蜡包埋, 5 μm 厚连续切片。HE 染色, 常规观察黏膜上皮不典型增生和肿瘤组织类型。

1.4 统计学方法

用 SPSS11.0 软件对数据进行 X² 检验、秩和检验。

2 结果与讨论

2.1 实验期间(模型组小鼠死亡 5 只, 对照组 1 只)

解剖未发现死亡肿瘤, 最后有 74 只动物完成实验。

2.2 肉眼检查

实验第 12 周, 处死动物 22 只(模型组 14 只, 对照组 8 只), 无异常。实验 18 周时处死小鼠 28 只(模型组 20 只, 对照组 8 只), 模型组 13 只小鼠出现异常。表现为大肠黏膜表面粗糙, 皱褶变粗而不规则, 可见单发或多发结节, 有的带蒂, 直径 2~12 mm 不等。结节数目可多达 20~30 个, 有的相互融合成巨块。结节多分布于大肠远端及近肛门处, 对照组小鼠, 大肠黏膜光滑, 皱褶规则。第 24 周时, 处死全部剩余小鼠共 24 只(模型组 17 只, 对照组 7 只)。实验 18 周和 24 周小鼠肉眼检查的肿瘤数目和大小见表(1, 2)。

表 1 诱癌实验不同阶段(18, 24 周)小鼠大肠肉眼肿瘤数目和发生率

实验周数	分组	n	荷瘤鼠(只)	肿瘤数目(个)					肉眼肿瘤发生率(%)
				0	1~5	6~10	11~15	>15	
18	模型组	20	13	7	6	3	3	1	65
	对照组	8	0	0	0	0	0	0	0
24	模型组	17	16	1	2	8	4	2	94.12
	对照组	7	0	0	0	0	0	0	0

2.3 组织学检查

诱癌过程中, 模型组小鼠大肠黏膜上皮依次出现轻、中、重度不典型增生, 腺瘤, 腺癌。本实验 51 只小

鼠, 共诱发肠道肿瘤结节 187 枚, 其中, 高分化腺癌 126 枚, 占 67.38%; 黏液腺癌 20 枚, 占 10.69%; 未分化癌 27 枚, 占 14.44%, 管状腺瘤并中、重度不典型增生 14

枚,占7.49%。诱癌20周时,黏膜内癌占75%(9/12),浸润癌(以突破基底膜为界)占25%(3/12);至诱

癌24周,浸润癌达53.85%(7/13)。诱癌不同时段小鼠大肠黏膜病理组织学变化(表3)。

表2 诱癌实验不同阶段(18,24周)小鼠大肠肉眼肿瘤平均直径(mm)

实验周数	分组	n	荷瘤鼠(只)	肿瘤平均直径(mm)			
				0	≤2	3~5	6~10
18	模型组	20	13	7	2	7	4
	对照组	8	0	0	0	0	0
24	模型组	17	16	1	2	9	5
	对照组	7	0	0	0	0	0

表3 诱癌不同时段小鼠大肠黏膜病理组织学变化

实验周数	分组	n	正常	不典型增生			腺癌	腺癌	
				轻度	中度	重度		黏膜内癌	浸润癌
12	模型组	14	7	2	4	1	0	0	0
	对照组	8	8	0	0	0	0	0	0
18	模型组	20	2	2	1	2	1	9	3
	对照组	8	0	0	0	0	0	0	0
24	模型组	17	0	0	0	1	3	6	7
	对照组	7	0	0	0	0	0	0	0

二甲基胍是一种前致癌物,主要在肝脏被氧化成甲基偶氮甲醇,与β-葡萄糖醛酸结合,一部分经尿排出,一部分随胆汁进入肠腔。在肠道细菌和肠黏膜上皮的β-葡萄糖苷酸酶作用下,氧化甲基偶氮甲醇又重新游离出来,代谢成终致癌物,导致大肠黏膜上皮癌变^[3]。二甲基胍是目前公认的致大肠癌的较为特异的致癌剂。许多学者都曾致力于大肠癌动物模型的研究。国外Wei^[1]和Ma等^[2]利用二甲基胍成功诱发了大鼠结肠癌,并以此为基础研究了近、远端结肠肿瘤的发生过程及某些食物、药物对结肠肿瘤发生的影响。本研究用二甲基胍30mg·kg⁻¹体重,皮下注射,连续11周诱癌,至实验18周时,肿瘤发生率达65%,实验24周时,94.12%的动物出现肿瘤,且绝大多数肿瘤发生在结肠,远端结肠肿瘤发生率为95.19%,近端结肠为3.74%,与孙^[4]等实验结果相似。另外,本实验51只小鼠共诱发出结肠肿瘤结节187枚,其中黏液腺癌146枚(78.07%),未分化癌27枚(14.44%),管状腺瘤并中、重度不典型增生14枚(7.49%),肿瘤的发生部位、组织学类型以及肿瘤的发生过程均与人类大肠癌十分相似,可以较好地用于模拟人体大肠癌发生发展的实验研究。

该动物模型制备方法简单,成模时间较短,成瘤率高,且昆明小鼠来源充足,价格便宜,容易饲养,不失为一种比较实用的、适用于大肠癌发生发展以及化学预防研究的动物模型。

[关键词] 二甲基胍; 大肠癌; 动物模型

[中图分类号] R735.3⁺4 [文献标识码] A

[参考文献]

[1] Wei HB, Han XY, Fan W, et al. Effect of retinoic acid on cell proliferation kinetics and retinoic acid receptor expression of colorectal mucosa[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(8): 1725-1728.

[2] Ma QY, Williamson KE, Rowlands BJ. Variability of cell proliferation in the proximal and distal colon of normal rats and rats with dimethylhydrazine induced carcinogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(5): 847-852.

[3] Fiala ES. Investigation into the metabolism and mode of action of the colon carcinogen 1, 2-dimethylhydrazine and azoxymethane[J]. Cancer, 1977, 40(5): 2436-2445.

[4] 孙保存, 王 岚, 赵秀兰, 等. 细胞凋亡与增殖失衡在小鼠大肠癌诱发过程中的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(1): 45-49.

[收稿日期] 2004-08-17

[修回日期] 2004-09-20

[本文编辑] 韩 丹, 王 莹