

张威,孟令峰,刘晓东,等. 大鼠间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征模型建立的研究进展[J].中国实验动物学报, 2019,27(5):673-677.

Zhang W, Meng LF, Liu XD, et al. Research progress in the establishment of rat models of interstitial cystitis/bladder pain syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(5): 673-677.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.05.020

大鼠间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征模型建立的研究进展

张威, 孟令峰, 刘晓东, 王佳文, 张耀光*

(北京医院国家老年医学中心泌尿外科, 北京 100730)

【摘要】 间质性膀胱炎动物模型是研究间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征(interstitial cystitis, IC/bladder pain syndrome, BPS)的重要参考依据,目前对于 IC/BPS 的基础研究大多需要经过其动物模型的探索及验证。IC/BPS 并不存在病理诊断金标准,,各类动物模型大多表现 IC/BPS 的一种或几种表型。本文对啮齿类动物中最常用的大鼠模型的造模方法和应用进行了总结。

【关键词】 间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征;大鼠;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 05-0673-05

Research progress in the establishment of rat models of interstitial cystitis/bladder pain syndrome

ZHANG Wei, MENG Lingfeng, LIU Xiaodong, WANG Jiawen, ZHANG Yaoguang*

(Department of Urology, Beijing Hospital, National Center of Gerontology, Beijing 100730, China)

Corresponding author: ZHANG Yaoguang. E-mail: zhang003887@sina.com

【Abstract】 The animal model of interstitial cystitis is critical for the study of interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS). However, many problems still exist in the establishment of the animal model. There is no gold standard for the pathological diagnosis of IC/BPS, and most animal models show one or several phenotypes of IC/BPS. In this paper, the establishment method and applications of rat models, the most commonly used IC/BPS rodents models, are summarized.

【Keywords】 interstitial cystitis/bladder pain syndrome; IC/BPS; rats; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征(interstitial cystitis, IC/bladder pain syndrome, BPS)是国际公认的诊疗十分困难的下尿路功能障碍相关性疾病之一。国际尿控组织与欧洲泌尿外科协会提出:IC/BPS 与真正的膀胱炎性疾病不同,应被归类为一种慢性疼痛综合征,是一种与膀胱相关的疼痛、压力或不适,至少伴有一种泌尿系统症状,例如没有大量液体摄入的情况下出现的尿频,或者持续的尿意感^[1]。国内外学者建立了多种 IC/BPS 动物模型,其中啮齿类动物的建模周期短,表现稳定,操作简

【基金项目】 国家重点研发计划(2018YFC2002202)。

Funded by National Key Research and Development Program of China (2018YFC2002202).

【作者简介】 张威(1990—),男,博士,主要从事尿控及老年泌尿系统疾病研究。Email: 815382588@qq.com

【通信作者】 张耀光,男,博士,主任医师,副教授,博士生导师,主要从事尿控、女性及老年泌尿系统疾病研究。Email: zhang003887@sina.com

单,花费少,是国内外 IC/BPS 研究的首选^[2]。由于 IC/BPS 不存在标准的病理变化,因此没有公认的造模标准。各类动物模型大多表现 IC/BPS 的一种或几种表型,哪种模型的表型最全面、最适合用作研究,目前尚无定论。本文对啮齿类动物中最常用的大鼠模型进行了综述。

1 大鼠 IC/BPS 模型分类

IC/BPS 模型的造模方式主要分为三类:膀胱内途径模型、膀胱外途径模型和联合途径模型。膀胱内途径模型是通过膀胱内灌注的方式,利用灌注物对于膀胱直接的物理、化学或者生物性作用,使其产生特定的病理变化;膀胱外途径模型是通过全身或局部用药的方式,利用药物本身或者代谢产物作用于动物,引起相应的病理生理改变;联合途径模型是将膀胱内和膀胱外途径共同作用于实验动物进行建模。

2 常用造模方法

2.1 实验大鼠选择

由于雌性大鼠尿道短,利于膀胱灌注等操作,大鼠品系的选择一般以 SPF 级 SD 雌性大鼠为主,偶尔采用白化 Wistar 大鼠、F344 大鼠^[3]。研究表明^[4]雌激素与 IC/BPS 的发病相关,因此多选择 6 ~ 8 周、已性成熟的大鼠。体重一般为 200 ~ 250 g。实验鼠一般需适应性喂养 2 d ~ 2 周,房间控制光照 12 h/黑暗 12 h,温度 20 ~ 26℃,湿度 50% ~ 70%,自由摄食、水。

2.2 膀胱内途径模型

一般是将大鼠麻醉后经尿道膀胱置管灌注药物,保留一段时间,待充分反应后排出。

2.2.1 麻醉方式

主流的麻醉药物包括:(1)戊巴比妥钠:浓度 3% ~ 5%,剂量 0.3 mL/100 g 体重,腹腔注射^[5]。(2)乌拉坦:浓度 20% ~ 25%,剂量 0.7 mL/100 g 体重,腹腔注射^[6]。(3)水合氯醛:浓度 10%,剂量 0.3 mL/100 g 体重,腹腔注射^[7]。(4)乙醚:吸入性麻醉,适合时间短的操作^[8]。以上药物能够满足大多数的麻醉需求,另有盐酸赛拉嗪+替来他明-唑拉西泮合剂肌肉注射、混合麻醉气体(氧气, N₂O, 氟烷)或异氟醚气体(5%诱导, 2%维持)麻醉的方式^[9-11]。

2.2.2 膀胱置管方式

麻醉完全后,将大鼠仰卧位固定于实验台。酒

精消毒泌尿生殖区, PE-50 导管导尿, 200 μ L/min 膀胱注入试剂,避免注入过快造成膀胱输尿管返流和试剂溢出,然后拔除导管^[12]。灌注时间达到后,重新导尿,排空膀胱。

2.2.3 用于诱导的化学物质

(1) 硫酸鱼精蛋白 (protamine sulfate, PS)/脂多糖

PS 是一种碱性蛋白,能与强酸性的肝素结合,形成稳定的复合物,而膀胱上皮的氨基葡聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 层富含肝素,因此当 PS 与膀胱上皮接触后,便可以破坏 GAG 层,造成上皮细胞的损伤。脂多糖是革兰阴性细菌的内毒素,可通过诱导肥大细胞的活化等介导炎症反应。造模时用量为 10 mg/mL PS 1 mL, 2 mg/mL 脂多糖 1 mL, 500 mmol/L 氯化钾溶液 1 mL, 时间 30 ~ 45 min。Li 等^[13]采用 PS+脂多糖造模,模型膀胱组织切片,光镜下可见 GAG 层不规则;扫描电镜下可见散在溃疡面;透射电镜下可见肥大细胞数显著增加。善辉等^[6]采用 PS+氯化钾溶液的方法也取得了类似效果。单用 PS 造模,浓度要求更高^[14]。部分学者在灌注时或之后用生理盐水或磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 冲洗膀胱,目的是避免不同试剂产生化学反应以及为试剂提供稳定的液体环境^[15]。造模周期从 1 d 到 3 个月不等。善辉等^[6]应用 PS+氯化钾隔日灌注 1 次的方案,比较造模 1、2、3 个月的差异,发现模型炎症反应的类型与造模时间相关,时间短者多为急性炎症,随时间延长逐渐过渡为慢性炎症。

(2) 透明质酸酶 (Hyaluronidase, HA)

HA 是 1 种内切糖苷酶,可水解透明质酸等 GAG 成分,启动膀胱炎症进程,促进细胞间黏附分子-1 的促炎症作用。造模选用 4 mg/mL HA 0.5 mL 膀胱灌注,时间 30 min,每周 3 次,周期为 1 周、2 周和 4 周不等。Lv 等^[16]将 1 周和 4 周组进行对比发现,两组均有炎症细胞增多、排尿频率增加,但 4 周组的尿频症状和病理改变更重。吕夷松等^[7]采用了 2 周的造模周期,也获得成功。

(3) 盐酸

盐酸属于无机一元酸,具有较强腐蚀性,可直接造成膀胱上皮组织的化学性损伤。用盐酸制作的动物模型显示出多种 IC 样病理生理改变,如上皮剥脱、炎症因子增加等^[17]。0.1 mol/L 盐酸 200 μ L 即可造模。Furuta 等^[3]用盐酸膀胱灌注 4 min,每周

1 次,共 2 周,第 2 次灌注后等待 1, 2, 3 周和 4 周分别取病理,发现:1 ~ 2 周时肥大细胞数显著增加,而 2 ~ 4 周,胶原纤维表达显著增加。Song 等^[9]用盐酸造模发现,模型鼠 1 周时排尿间隔缩短,2 周后自行恢复,病理显示尿路上皮糜烂。

(4) 乙酸

乙酸是一种有机一元酸,水溶液具有腐蚀性,可直接造成膀胱上皮的损伤。Song 等^[9]用 50 μL 3% 的乙酸膀胱灌注,结果表明乙酸造模所致 IC 相关变化能够自行消失,无法持续。

2.2.4 模型特点

膀胱内途径的造模方式有很多优点:膀胱内灌注药物,能够保证药物优先作用于膀胱,减少全身用药的副作用及其他器官的损伤;各类造模试剂相对容易获得,价格适中;造模周期灵活,可以满足多种实验进程需要;PS/脂多糖与 HA 造模相对成功的模拟了间质性膀胱炎患者中膀胱 GAG 层损伤的病理变化,且给药周期越长,与急性炎症模型的区别越明显,是目前国内进行治疗学研究应用最广泛的造模方法。当然,膀胱内途径也有一些无法避免的劣势:大鼠清醒状态下对于尿道内置管无法耐受,因此每次灌注都需要进行麻醉,操作相对繁琐,多次麻醉,对于大鼠健康状态可能会有影响;盐酸和乙酸造模并无明确病理生理学支持,造模周期短,病损可恢复,造模周期长,则与急性化学性膀胱炎的膀胱黏膜损伤表现非常类似。

2.3 膀胱外途径模型

多采用皮下或腹腔注射药物的方式。

2.3.1 用于诱导的化学物质

(1) 环磷酰胺

环磷酰胺是一种化疗药,本身对膀胱无毒性,腹腔注射后,通过肾脏代谢产生丙烯醛,该物质能够破坏膀胱上皮黏膜屏障,造成炎症反应及疼痛。腹腔注射剂量为 40 ~ 150 mg/kg 体重^[18]。模型鼠膀胱可见慢性炎症细胞浸润及肥大细胞脱颗粒。李兆飞等^[8]对比了造模 4 h、48 h、10 d、30 d、45 d 的病理改变,发现早期改变多为急性炎症,30 d 后才进入慢性炎症期。

(2) 尿溶蛋白 II (uroplakin II, UPKII)

UPKI、II 和 III 是尿路上皮的整体膜蛋白家族,在膀胱中高表达,研究证实 UPKII 能够诱导小鼠膀胱发生特异性自身免疫反应和 IC 相关炎症表现,但该模型的疼痛表现并不显著^[19]。因此, Song 等^[9]

将大鼠腹部皮下注射 200 μL 的等体积 PBS 和甘油 +200 μg UPKII 进行造模,3 ~ 7 d 观察到模型大鼠膀胱过度活动,2 周时消失,肥大细胞的改变也类似,IFN- γ 等细胞因子有显著性差异,病理提示尿路上皮糜烂。如何建立更为接近 IC/BPS 表型的自身免疫膀胱炎动物模型,是将来的热点。

(3) 曲司尼特

曲司尼特是一种新型抗变态反应药物。临床偶然发现其高剂量给药可以通过抑制血管成纤维细胞的活性以及增加血管通透性而造成 IC 样改变。Nishijima 等^[20]通过给大鼠饮用含有大剂量曲尼司特悬浮液的水的方式 (2 mg/mL, 20 mL/d, 共 4 周) 建模。结果发现模型大鼠膀胱收缩间隔明显缩短,部分符合 IC/BPS 的建模要求。

2.3.2 模型特点

膀胱外途径造模大多通过特定物质代谢以及免疫的方式间接作用于泌尿系统,造成 IC/BPS 相关临床及病理改变,相对于化学物质对于膀胱的直接损伤更接近 IC/BPS 可能的自然发病机制,多被用于进行 IC/BPS 病因学及发病机制的研究;给药途径多为皮下或腹腔注射甚至饮水投喂,不需麻醉,操作简单,对动物的全身影响小;环磷酰胺获取相对简单,储存方便,造模 30 d 以上的模型便能够表现疼痛和膀胱过度活动的典型 IC/BPS 表现,膀胱组织病理也可见明确慢性炎症细胞及肥大细胞浸润,因此是目前最常用的膀胱外造模药物;UpkII 构建了典型的自身免疫模型,对 IC/BPS 的免疫学病因研究更有意义;而曲司尼特造模则更适合于进行 IC/BPS 的血管生成及通透性障碍的研究^[21]。但膀胱外途径的造模药物造模周期长;UPKII 的保存条件非常苛刻;除环磷酰胺外,UPKII 和曲司尼特均价格昂贵;且 UPKII 和曲司尼特的模型动物表现以膀胱过度活动为主,疼痛症状缺失,并非完整的 IC/BPS 模型,应用受限。

2.4 联合造模途径

联合造模的组合方式基本就是上述的两种或几种方式的联合应用。邵远等^[10]采用膀胱灌注 PS + 脂多糖联合环磷酰胺腹腔注射的方式造模,发现无论从炎症等级还是肥大细胞的浸润数目上,联合造模组均优于其他组。张祥等^[22]将环磷酰胺的剂量增大后发现:模型鼠中可见明显的尿路上皮脱落以及黏膜下层的水肿,虽然大鼠的痛觉反应并未纳入评估,但研究基本证实联合造模的可行性。因

此,以膀胱灌注 PS+脂多糖联合环磷酰胺腹腔注射为代表的联合造模方式,更加接近 IC/BPS 的病理生理改变,价格适中,造模周期相对稳定,操作简单,实用性强,值得在治疗学研究方面推广应用。

3 IC/BPS 动物实验新进展

3.1 治疗方案

近年来逐渐尝试应用各类干细胞治疗 IC/BPS,例如脂肪间充质干细胞^[3];尿源性干细胞^[13];脐带血间充质干细胞^[17];骨髓干细胞^[23]等,通过膀胱内灌注和膀胱壁注射可以通过激活 Wnt 信号级联通路或抑制氧化应激、炎症反应、凋亡过程等复杂机制恢复膀胱的功能和组织学结构,从而改善间质性膀胱炎动物模型的炎症表现和膀胱疼痛及过度活动症状。

3.2 发病机制

目前对于 IC/BPS 发病机制的研究多聚焦于各类细胞或炎症因子。研究发现:NALP3 炎症小体^[5];单核细胞趋化因子-1^[15];细胞间粘附分子-1^[21]等在 IC/BPS 动物模型中均有增加,可通过各种不同的机制来促进肥大细胞的活化脱颗粒,释放炎症介质。前列腺素 E 受体-1,-2,-4 有可能在 IC 中被激活,造成膀胱过度活动表现^[7,24]。除了炎症因子,还有抗炎因子的发现,肿瘤坏死因子 α 刺激基因-6 能够编码一种保护性的炎症因子,通过与 GAG 层成分结合,参与细胞外基质重塑,具有保护性抗炎作用^[16]。

4 结语

综上所述,尽管现阶段并未发现非常理想的能够拟合 IC/BPS 所有表征的大鼠模型,但目前有多种可行的造模方案可根据不同的实验目的进行选择,关于 IC/BPS 大鼠模型的研究也取得了一定的成果,相信通过将动物模型与临床基础研究紧密结合,未来一定能够发现更加满足研究要求的 IC/BPS 动物模型,解决更多 IC/BPS 的诊疗难题。

参 考 文 献(References)

- [1] Hanno P, Lin A, Nordling J, et al. Bladder Pain Syndrome Committee of the International Consultation on Incontinence [J]. *Neurourol Urodyn*, 2010, 29(1): 191-198.
- [2] Bayrak O, Erturhan S, Seckiner I, et al. Chemical cystitis developed in experimental animals model: Topical effect of intravesical ozone application to bladder [J]. *Urol Ann*, 2014, 6(2): 122-126.
- [3] Furuta A, Yamamoto T, Igarashi T, et al. Bladder wall injection of mesenchymal stem cells ameliorates bladder inflammation, overactivity, and nociception in a chemically induced interstitial cystitis-like rat model [J]. *Int Urogynecol J*, 2018, 29(11): 1615-1622.
- [4] 王旭,张卫,韩瑞发. 间质性膀胱炎肥大细胞雌激素受体的表达及意义[J]. *天津医药*, 2011, 39(7): 598-600.
Wang X, Zhang W, Han RF. Expression and significance of estrogen receptor in bladder mast cells in patients with interstitial cystitis [J]. *Tianjin Med*, 2011, 39(7): 598-600.
- [5] 徐曦,张嘉鹏,王健,等. NALP3 炎症小体在间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征中的表达及作用[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2018, 39(8): 619-625.
Xu X, Zhang JP, Wang J, et al. The function and mechanism of NALP3 inflammasome in interstitial cystitis/bladder pain syndrome [J]. *Chin J Urol*, 2018, 39(8): 619-625.
- [6] 善辉,王晶晶,刘洋,等. 硫酸鱼精蛋白联合氯化钾构造间质性膀胱炎动物模型的研究[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2009, 30(9): 602-605.
Shan H, Wang JJ, Liu Y, et al. Combination of protamine sulfate and potassium chloride in establishing the interstitial cystitis animal model [J]. *Chin J Urol*, 2009, 30(9): 602-605.
- [7] 吕夷松,荣禄,谢云,等. 前列腺素 E 受体-4 在透明质酸酶诱导大鼠慢性膀胱炎中的作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(12): 2525-2527.
Lyu Y, Rong L, Xie Y, et al. Effect of prostaglandin E2 receptor-4 on hyaluronidase-induced chronic cystitis in rats [J]. *Chin J Exp Surg*, 2013, 30(12): 2525-2527.
- [8] 李兆飞,徐晨,邢菲,等. 阿米替林对大鼠间质性膀胱炎的治疗作用[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(18): 1936-1940.
Li ZF, Xu C, Xing F, et al. Therapeutic effect of amitriptyline on phenotype-induced interstitial cystitis in rats [J]. *J Third Milit Med Univ*, 2013, 35(18): 1936-1940.
- [9] Song PH, Chun SY, Chung JW, et al. Comparison of 5 different rat models to establish a standard animal model for research into interstitial cystitis [J]. *Int Neurourol J*, 2017, 21(3): 163-170.
- [10] 邵远.透明质酸对间质性膀胱炎膀胱粘膜损害的修复作用研究[D]. 上海交通大学, 2011.
Shao Y. Study on the repairing effect of hyaluronic acid on bladder mucosal damage in interstitial cystitis [D]. Shanghai Jiaotong University, 2011.
- [11] Lv YS, Yao YS, Rong L, et al. Intravesical hyaluronidase causes chronic cystitis in a rat model: a potential model of bladder pain syndrome/interstitial cystitis [J]. *Int J Urol*, 2014, 21(6): 601-607.
- [12] 赖焕玲,梁志健,吴清和,等. 不同灌注速度及方法对大鼠膀胱容量、压力及神经传入电活动测定的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(2): 379-384.
Lai HL, Liang ZJ, Wu QH, et al. Effects of different speeds and ways of instillation on bladder volume, pressure and pelvic nerve firing [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2015, 31(2): 379-384.
- [13] Li J, Luo H, Dong X, et al. Therapeutic effect of urine-derived

- stem cells for protamine/lipopolysaccharide-induced interstitial cystitis in a rat model [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 107.
- [14] 胡海龙, 谢林国, 韩瑞发, 等. 卵巢切除对间质性膀胱炎动物模型膀胱肥大细胞的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(9): 1965–1969.
- Hu HL, Xie LG, Han RF, et al. Effects of ovariectomy on bladder mast cells in an animal models of interstitial cystitis [J]. *Chin J Exp Surg*, 2014, 31(9): 1965–1969.
- [15] 吕坚伟, 杨刚刚, 张宇坚, 等. 单核细胞趋化因子-1 在间质性膀胱炎大鼠模型中表达和作用机制的研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2012, 33(9): 664–668.
- Lv JW, Yang G, Zhang YJ, et al. Study on the expression and mechanism of monocyte chemoattractant protein-1 in interstitial cystitis rats [J]. *Chin J Urol*, 2012, 33(9): 664–668.
- [16] Lv YS, Gao R, Lin QM, et al. The role of TSG-6 and uroplakin III in bladder pain syndrome/interstitial cystitis in rats and humans [J]. *Iran J Basic MedSci*, 2017, 20(11): 1242–1249.
- [17] Song M, Lim J, Yu HY, et al. Mesenchymal stem cell therapy alleviates interstitial cystitis by activating Wnt signaling pathway [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(14): 1648–1657.
- [18] 张宝丽, 雷华凤, 龙官运, 等. 肥大细胞及 PAR-2 与间质性膀胱炎纤维化的相关性研究 [J]. *医学理论与实践*, 2013, 26(19): 2524–2527.
- Zhang BL, Lei HF, Long GY, et al. The study of the correlation among mast cells, PAR-2 and the fibrosis of interstitial cystitis [J]. *Med Theory Pract*, 2013, 26(19): 2524–2527.
- [19] Altuntas CZ, Daneshgari F, Sakalar C, et al. Autoimmunity to uroplakin II causes cystitis in mice; A novel model of interstitial cystitis [J]. *Eur Urol*, 2012, 61(1): 193–200.
- [20] Nishijima S, Sugaya K, Kadekawa K, et al. High-dose tranilast administration to rats creates interstitial cystitis-like symptoms with increased vascular permeability [J]. *Life Sci*, 2013, 93(23): 897–903.
- [21] Saban R. Angiogenic factors, bladder neuroplasticity and interstitial cystitis-new pathobiological insights [J]. *Transl Androl Urol*, 2015, 4(5): 555–562.
- [22] 张祥, 邵远, 许天源, 等. 细胞间粘附分子-1 在间质性膀胱炎大鼠动物模型膀胱炎症中的作用 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2016, 21(12): 956–963.
- Zhang X, Shao Y, Xu TY, et al. The role of intercellular adhesion molecule 1 in inflammatory response of bladder tissue in a rat model of interstitial cystitis [J]. *J Modern Urol*, 2016, 21(12): 956–963.
- [23] Hirose Y, Yamamoto T, Nakashima M, et al. Injection of dental pulp stem cells promotes healing of damaged bladder tissue in a rat model of chemically induced cystitis [J]. *Cell Transplant*, 2016, 25(3): 425–436.
- [24] Wada N, Ameda K, Furuno T, et al. Evaluation of prostaglandin E2 and E-series prostaglandin receptor in patients with interstitial cystitis [J]. *J Urol*, 2015, 193(6): 1987–1993.

[收稿日期] 2019-03-23