

金黄色葡萄球菌致小鼠慢性 输卵管炎性不孕模型制作

徐桂中^{1,2}, 张欣¹, 侯一平¹, 刘向文¹

(1. 兰州大学基础医学院人体解剖学与组织胚胎学研究所神经生物学研究室, 兰州 730000;
2. 武汉市中心医院急诊科, 武汉 430012)

【摘要】 目的 通过金黄色葡萄球菌直接感染小鼠输卵管, 建立炎症致不孕的动物模型。方法 用 1×10^9 / mL 的金黄色葡萄球菌接种小鼠, 制作慢性输卵管炎症模型, 观察输卵管病理炎性改变以及小鼠的受孕情况。结果 造模术 75 d 后, 模型组小鼠受孕率、输卵管通畅率显著低于对照组 ($P < 0.001$)。模型组肉眼观察输卵管有不同程度积水积脓、僵硬, 输卵管与周围组织均有不同程度的粘连; 病理学观察输卵管管腔被异物肉芽组织完全阻塞, 全层均见大量慢性炎细胞浸润。结论 输卵管内接种浓度 1×10^9 / mL 的金黄色葡萄球菌可以成功建立小鼠输卵管炎性不孕模型。

【关键词】 金黄色葡萄球菌; 小鼠; 输卵管炎; 模型; 不孕

【中图分类号】 Q492.6 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)03-0006-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.03.002

Modeling Chronic Salpingitis Infertility with *Staphylococcus aureus* in Mice

XU Gui-zhong^{1,2}, ZHANG Xin¹, HOU Yi-ping¹, LIU Xiang-wen¹

(1. Laboratory of Neurobiology, Department of Anatomy, Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;
2. Emergency Department of WuHan Central Hospital, WuHan 430014, China)

【Abstract】 Objective To establish infertile animal model through inflammation by directing infection mouse oviduct with *staphylococcus aureus*. **Methods** Directing inoculation concentration of 1×10^9 / mL of *staphylococcus aureus* into mice tube, making the model of chronic inflammation in the fallopian tube, observing the pathological inflammatory changes and pregnancy of mice. **Results** Seventy-five days later, mouse pregnancy rates and tubal patency rate in model group were significantly lower than control group ($P < 0.001$). In model group, the tubes had different degrees of dropsy, empyema and rigid tube had different levels of adhesion with surrounding tissue by visual observation. The fallopian tube lumen was completely obstructed by foreign granulation tissue and the whole layer was full of a large number of chronic inflammatory cell infiltrations by pathological observation. **Conclusion** That the concentration of 1×10^9 / mL of *Staphylococcus aureus* were inoculated could successfully establish a mouse model of salpingitis infertility.

【Key words】 Staphylococcus aureus; Mouse; Salpingitis; model; Infertility

临床发现, 随着流产手术操作增加以及各种原因引起的盆腔炎症的增多, 慢性输卵管炎性狭窄、阻塞致不孕症占女性不孕的 $1/3$ ^[1]。为了建立慢性输卵管炎性不孕症的动物模型, 作者采用浓度 $1 \times$

[作者简介] 徐桂中(1979 -), 男, 研究方向: 中药治疗输卵管炎性不孕的基础研究。

[通讯作者] 徐桂中, E-mail: xujie19982003@yahoo.com.cn。

10⁹ / mL 的金黄色葡萄球菌接种小鼠双侧输卵管成功制作了慢性输卵管炎性不孕模型, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 动物

清洁级昆明雌性小鼠 30 只, 雄性小鼠 6 只, 60 日龄, 体重为 25 ± 3 g, 均购于兰州大学医学实验动物中心 [SCXK(甘)20050007, 合格证号 0000285]。在兰州大学基础医学院人体解剖学研究所动物房分笼饲养, 温度 20℃ ~ 28℃, 光暗周期 12 h。将雌性小鼠随机分为两组, 其中造模组 15 只, 正常对照组 15 只。

1.2 细菌悬液的配制

金黄色葡萄球菌 [ATCC25923], 用无菌生理盐水稀释, 配成浓度约为 1 × 10⁹ / mL 的致病菌悬液。菌种由甘肃省疾病预防控制中心提供, 由兰州大学微生物研究所培养。

1.3 仪器

光镜: OlympusbhsCH-2, 中国产。

1.4 模型制作方法

健康小鼠分别称重, 参考赵广兴^[2]的细菌接种方法, 用无水乙醚麻醉小鼠, 将小鼠仰卧固定, 腹部剃毛备皮, 酒精消毒, 铺巾, 于耻骨联合向上约 0.5 cm 处作纵形切口, 长约 1.5 cm, 用眼科手术器械打开腹腔, 暴露 Y 形子宫, 沿子宫找到双侧输卵管, 分别在子宫角近输卵管处进针, 向输卵管-卵巢方向缓慢注射。对照组: 注入生理盐水 0.02 mL, 模型组: 注射细菌悬液 0.02 mL。注射完毕后, 用眼科小镊夹闭子宫角 1 min, 手术尽量避免损伤其他组织, 分层关腹, 消毒术区, 铺无菌垫料。术后第 45 d 后分别放入雄性小鼠 3 只, 75 d 后观察受孕情况并分别选取 3 只小鼠进行病理学观察。

1.5 观察项目与方法

1.5.1 观察受孕情况:

造模术后第 45 d, 每 5 只造模小鼠中放入 1 只同种成熟雄性小鼠。以同笼饲养 30 d 后为限, 分别观察受孕情况。

1.5.2 肉眼观察:

观察输卵管与周围组织有无粘连, 有无积水、化脓等。

1.5.3 观察输卵管通畅程度:

在子宫-输卵管交界处进针, 向输卵管-卵巢方向注射 5% 美蓝溶液约 3 mL, 同时捏紧子宫侧, 观察

输卵管通畅程度, 分为管腔通畅和不通畅。

1.5.4 观察病理改变:

选取输卵管, 置于 10% 中性甲醛溶液中固定, 常规切片, HE 染色, 光镜下观察病理改变。

1.5.5 实验数据统计学方法:

用 SPSS 10.0 软件进行四格表 χ^2 检验。

2 结果

2.1 小鼠受孕情况

造模术后第 75 d 受孕情况见下表 1, 经统计学检验 $P < 0.001$, 两组具有显著性差异, 模型组小鼠受孕率明显低于对照组。

表 1 两组小鼠受孕成功率的比较 ($n = 15$)

Tab. 1 Comparison of the success rate of pregnancy with two groups of mice ($n = 15$)

组别 Group	受孕(只) Pregnant (N)	未受孕(只) Nonpregnant (N)	合计(只) Total(N)	受孕成功率(%) The success rate of pregnancy (%)
对照组 Control group	13	2	15	86.67
模型组 Model group	2**	13	15	13.33
合计 Total	15	15	30	50.00

注: 与对照组比较, ** $P < 0.001$

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.001$

2.2 肉眼观察变化

对照组 15 只小鼠, 输卵管均无积水及积脓, 与周围组织无粘连。与对照组相比, 模型组 12 只小鼠的输卵管有不同程度的积水积脓, 输卵管伞端与周围组织均有不同程度的粘连; 3 只小鼠输卵管僵硬, 壶腹部与周围组织轻度粘连。

2.3 输卵管通畅情况

正常组与模型组通畅情况, 经统计学检验 $P < 0.001$, 两组具有显著性差异, 模型组小鼠输卵管通畅率明显低于对照组(表 2)。

表 2 两组小鼠输卵管通畅率的比较 ($n = 15$)

Tab. 2 Comparison of the patency rate of tubal with two groups of mice ($n = 15$)

组别 Groups	通畅(只) Patency (N)	不通畅(只) Occlusion (N)	合计(只) Total(N)	通畅率(%) The patency rate of tubal (%)
对照组 Control group	15	0	15	100
模型组 Model group	3**	12	15	20.00
合计 Total	18	12	30	60.00

注: 与对照组比较, ** $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.001$

2.4 光镜观察病理改变

对照组 3 只小鼠输卵管壁组织结构清晰,黏膜上皮呈柱状,有纤毛(图 1、2)。与正常组相比,模型组 3 只小鼠管腔被异物肉芽组织完全阻塞,纤维组织明显增生,血管扩张充血,管腔部分阻塞;全层均见大量慢性炎细胞浸润,主要为淋巴细胞、浆细胞及少量酸性粒细胞等慢性炎性细胞浸润(图 3、4、5)。

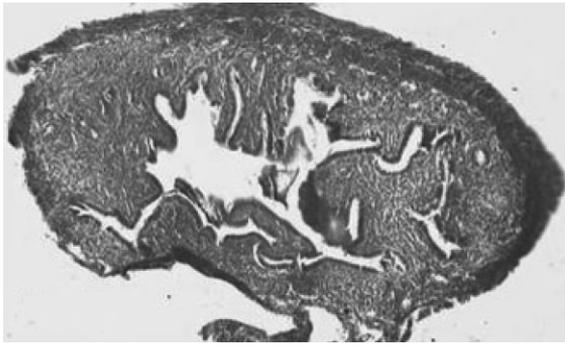


图 1 正常小鼠输卵管管壁,组织结构清楚,管腔通畅,细胞排列紧密。HE

Fig. 1 Normal mouse oviduct wall, clear organizational structure, the lumen patency, tightly packed cell. HE

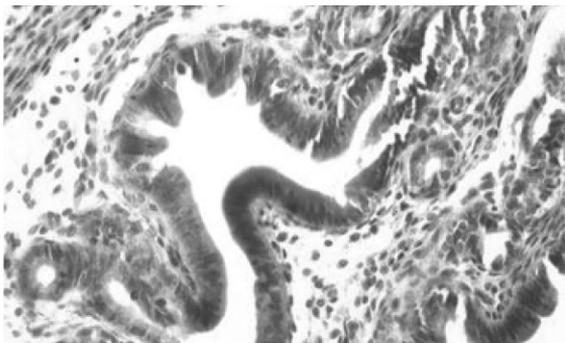


图 2 正常小鼠输卵管黏膜上皮有较多纤毛,黏膜形成许多皱褶。HE

Fig. 2 Normal mouse oviduct epithelium has more cilia and the formation of many folds of mucous membrane. HE

3 讨论

输卵管具有运送卵子,摄取卵子及将受精卵运送到子宫腔的作用,因而任何影响输卵管功能的因素均可导致不孕。慢性输卵管炎是不孕的主要原因之一。机制研究表明,输卵管病理上出现炎症的渗出,发生积水、积液、粘连;久之,产生纤维疤痕,管壁变硬、增厚,从而导致输卵管狭窄、阻塞,妨碍精卵的通过而造成不孕^[3]。

在科研实验中,慢性输卵管炎致不孕的动物模

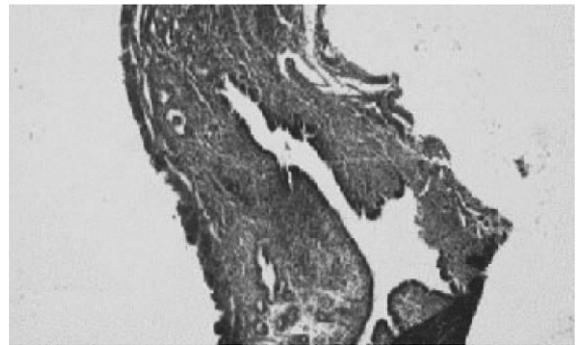


图 3 造模第 75 d 小鼠输卵管管壁,黏膜皱褶明显减少。HE

Fig. 3 Seventy-five days later, mucosa fold decreased in mouse oviduct wall. HE

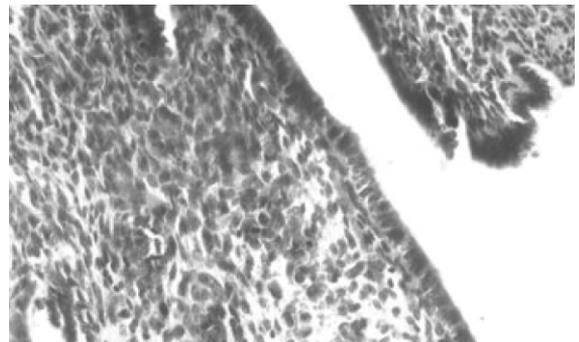


图 4 造模 75 d 小鼠输卵管黏膜纤毛柱状上皮变成矮柱状,固有层可看到血管扩张、充血。HE

Fig. 4 Seventy-five days later, mouse oviduct has low columnar ciliated columnar epithelium in mucosa, vascular dilation and congestion in lamina propria. HE

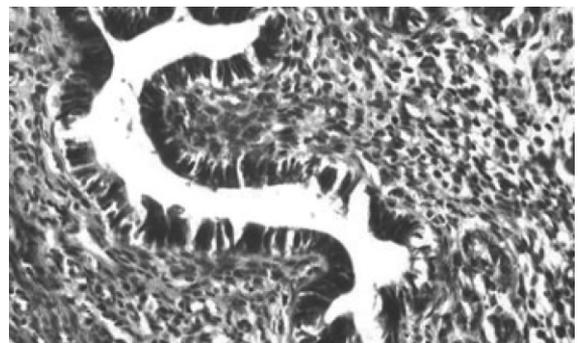


图 5 造模 75 d 小鼠输卵管黏膜层,可见炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主。HE

Fig. 5 Seventy-five days later, mouse oviduct mucosa shows infiltration of inflammatory cells, mainly lymphocytes. HE

型所选择的动物及致炎剂各不相同。国内黄河玲^[4]等用苯酚胶浆剂注射兔制作慢性输卵管炎模型;国内李祥云等^[5]用β溶血性链球菌制作兔输卵

管阻塞模型;刘丽^[4]等用混合菌金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、大肠杆菌等制作大鼠输卵管不孕模型。国内外大多选用大鼠^[2,4],兔^[5-7]及猴^[8]等大型动物,在制作及饲养费用、制作难度相对小鼠来说较高。

同时,上述模型制作与临床病例不够接近,临床中术后输卵管炎多数是由于革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌感染所致。本实验用金黄色葡萄球菌制作输卵管炎症模型更贴近临床,选用小鼠制作输卵管炎症模型有利于临床科研的进行;而且采用的金黄色葡萄球菌,在实践中较易获取,培养较容易,能为研究慢性输卵管炎性不孕提供可靠的动物模型。

致谢:本研究得到兰州大学微生物研究所雒艳萍老师、人体解剖与组织胚胎学研究所周媛媛等给予的支持和帮助!

参考文献:

[1] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:381.

- [2] 赵广兴,王春田,马宝璋,等. 大鼠输卵管炎性不孕症模型的建立[J]. 中国比较医学杂志,2004,14(1):23-26.
- [3] 李栓,于英奇. 男女不孕症诊治荟萃[J]. 北京:中国中医药出版社,1993:89.
- [4] 刘丽,谷娜,张轶群,等. 解毒除湿化瘀止痛法对输卵管炎性阻塞性不孕大鼠模型作用机理的研究[J]. 世界中西医结合杂志,2010,5(2):117-119.
- [5] 黄河玲,吴高媛. 兔慢性输卵管炎动物模型的建立[J]. 现代中西医结合杂志,2000,9(20):1982-1983.
- [6] 李祥云,胡晓梅,李路,等. “峻峻煎”对输卵管炎变阻塞动物模型影响的实验研究[J]. 上海中医药杂志,1997(10):41-43.
- [7] Pearlman MD, McNeeley SG, Frank TS, et al. Antiendotoxin antibody is protective against tubal damage in an Escherichia coli rabbit salpingitis model[J]. Am J Obstet Gynecol 1994 Dec;171(6):1588-1593.
- [8] Patton DL, Sweeney YT, Kuo CC. Demonstration of delayed hypersensitivity in Chlamydia trachomatis salpingitis in monkeys: a pathogenic mechanism of tubal damage[J]. J Infect Dis. 1994; 169(3):680-683.

修回日期)2010-06-25