



## 大鼠再生障碍性贫血模型制备

额尔敦都楞, 布仁巴图, 巴图德力根, 韩志强, 金花, 娜仁其其格, 莫日根毕力格

(内蒙古民族大学附属医院, 通辽 028007)

**【摘要】** 目的 诱导稳定而可逆的大鼠再生障碍性贫血模型。方法 模型 A 组造模第 1 天以直线加速器剂量率为 240 cGy/min, SSD = 100 cm, 全身照射 1.2 min, 分别于第 4、6、8 天腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg, 共 3 次; 模型 B 组造模第 1 天以直线加速器剂量率 300 cGy/min, SSD = 100 cm, 全身照射 1.2 min。分别于第 4、5、6 天腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg, 共 3 次。对照组造模第 1 天以假照射。于造模 9、12、15 d 后进行网织红细胞计数、外周血象检查、骨髓活检。结果 造模第 9 天与对照组比较, A 组、B 组的白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(HGB)、网织红细胞计数(RET)均明显降低, 差异有显著性( $P < 0.05$ )。于造模第 15 天, A 组 RBC、HGB 值继续下降, WBC、PLT、RET 值回升, 与对照组比较降低, 差异有显著性( $P < 0.05$ ); B 组 WBC、RBC、HGB、PLT 值有显著回升, 与对照组比较降低, 差异有显著性( $P < 0.05$ ); RET 值与对照组比较升高, 差异有显著性( $P < 0.05$ )。结论 模型 A 组具有复制周期短, 成功率高、重复性好, 死亡率低等优点。适合用于治疗药物研究的实验。

**【关键词】** 再生障碍性贫血; 模型, 大鼠; 直线加速器; 全身照射; 环磷酰胺; 氯霉素

**【中图分类号】** R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)10-0043-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.010.010

## Establishment of a Rat Model of Aplastic Anemia

E Er Dun Du Leng, Bu Ren Ba Tu, Ba Tu De Li Gen, Han Zhi-qiang, JIN Hua, Na Ren Qi Qi Ge, Mo Ri Gen Bi Li Ge  
(Affiliated Hospital of Inner Mongolian University for Nationalities, Tongliao 028007, China)

**【Abstract】 Objective** To establish a stable and reversible rat model of aplastic anemia. **Methods** Forty-four healthy adult female Wistar rats were randomly divided into 3 groups; control group ( $n = 8$ ), modeling groups A and B ( $n = 18$ , each). The rats of modeling group A received a total body irradiation by a linear accelerator at a dose of 240 cGy·min<sup>-1</sup>, SSD = 100 cm and for 1.2 min on the first day of modeling, and intraperitoneal injection of cyclophosphamide 35 mg/kg and chloromycetin 43.75 mg/kg once a day on the 4th, 6th and 8th days of modeling. The rats of modeling group B received a total body irradiation at a dose of 300 cGy·min<sup>-1</sup>, SSD = 100 cm and for 1.2 min on the first day of modeling, and the same doses of intraperitoneal injection of cyclophosphamide and chloromycetin but on the 4th, 5th and 6th days of modeling. The rats of control group received sham operation of irradiation only. On the 9th, 12th, 15th days of modeling, reticulocyte count, peripheral blood examination and bone marrow biopsy were performed. **Results** On the 9th day of modeling, compared with the control group, the WBC, RBC, PLT, HGB, RET in the experimental groups A and B were significantly decreased (all  $P < 0.05$ ). On the 15th day of modeling, compared with that in the control group, the RBC and HGB were significantly and continuously decreased, but WBC, PLT and RET significantly increased in the experimental group A ( $P < 0.05$ ). In the experimental group B, the WBC, RBC, HGB, PLT and RET were significantly

**【基金项目】** 内蒙古自治区科技应用技术研究项目(20100505)。

**【作者简介】** 额尔敦都楞(1984-),男,硕士研究生,研究方向:蒙医血液病的发病机理研究。

**【通讯作者】** 布仁巴图(1962-),男,教授,硕士研究生导师,研究方向:蒙医病证规律及血液病的发病机理研究。

decreased, and the RET was significantly increased (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions** Stable and reversible rat models of aplastic anemia can be prepared by the protocol of the modeling group A in this study, and they have advantages such as short experiment time, high successful rate, good reproducibility, and low mortality. This animal model is suitable for experimental studies on therapeutic drugs for the treatment of aplastic anemia.

**【Key words】** Aplastic anemia; Model, rat; Linear accelerator; Total body irradiation; Chloromycetin; Cyclophosphamide.

再生障碍性贫血(简称再障)(aplastic anemia, AA)是一种获得性骨髓造血功能障碍性疾病,本病发生与骨髓造血干细胞损伤、造血微环境缺陷、免疫性造血抑制及遗传倾向等多种因素有关<sup>[1]</sup>。我们为了筛选治疗药物,建立复制周期短,稳定,成功率高的 AA 模型,综合了文献方法<sup>[2-3]</sup>。对照射 + Cy + CH 复合法干预剂量、干预时间进行了对比研究获得了与人类病理改变相似,重复性好的 AA 大鼠模型。报道如下:

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 化学试剂:环磷酰胺(cyclophosphamide)由山西普德药业有限公司生产,批号 2009 0901。氯霉素(chloramphenicol injection)由天津药业焦作有限公司生产,批号:05022821。

1.1.2 实验仪器:BJ-6B-X 直线加速器(北京医疗器械公司),XT2000i 全自动血液分析仪(日本 Sysmex 公司),COVER-015 显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.1.3 实验动物:Wistar 大鼠,雌性,体重 180 g ~ 220 g,吉林大学基础医学院动物实验中心提供,生产许可证号:SCXK(吉)2007-0003。

### 1.2 实验方法

1.2.1 造模方法:将 44 只 Wistar 雌性大鼠禁食不禁水 12 h 后按体重随机分为对照组、模型 A 组(A 组)、模型 B 组(B 组)等 3 组。其中对照组 8 只,A 组和 B 组各 18 只。造模第 1 天,A 组以直线加速器照射剂量率为 240 cGy/min,SSD = 100 cm,全身照射 1.2 min,分别于第 4、6、8 天腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg,共 3 次。B 组参照文献方法<sup>[2-3]</sup>,于造模第 1 天以直线加速器照射剂量率 300 cGy/min,SSD = 100 cm,全身照射 1.2 min,第 4 天、5 天、6 天腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg,共 3 次。对照组第 1 天铅砖屏蔽假照射。在造模期间观察大鼠进食量、进水

量、毛发光泽、出血点及死亡等一般状况。于造模第 9 天、12 天、15 天,A 组、B 组各随机抽取 6 只,腹主动脉采血检测白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(HGB)、网织红细胞计数(Ret #),取股骨做骨髓活检。

1.2.2 再障模型判断标准:外周血三系细胞减少,RET 减少,骨髓活检示骨髓增生或减低(造血细胞容量 40%),非造血细胞(脂肪细胞)增多,脾脏萎缩或不明显改变,可判定为 AA 模型<sup>[2,4]</sup>。

1.2.3 统计学方法:本实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析处理,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 F 检验。

## 2 结果

### 2.1 一般体征

与空白对照组相比,模型组大鼠自 6 d 起陆续出现皮毛松弛蓬乱,光泽度降低,部分大鼠有脱毛及皮损。消瘦、摄食减少、精神不佳,唇色眼睑苍白、活动减少,足底、鼻部出现瘀斑等症状。以上表现 B 组比 A 组严重。于造模第 11 天 B 组出现 2 只大鼠死亡。

### 2.2 骨髓活检

模型组与对照组比较,再障模型骨髓脂肪细胞增多,骨髓有核细胞增生减低,红细胞系、粒细胞系明显减少,无巨核细胞,网状细胞等非造血细胞易见(图 1~4,见彩插 2)。

### 2.3 模型外周血象变化

从表 1 可见,于造模第 9 天与对照组比较 A 组、B 组 WBC、RBC、PLT、HGB、RET 均明显降低,差异有显著性( $P < 0.05$ )。于造模第 15 天,A 组 RBC、HGB 值继续下降,WBC、PLT、RET 值回升,与对照组比较降低,差异有显著性( $P < 0.05$ );B 组 WBC、RBC、HGB、PLT 值有显著回升,与对照组比较降低,差异有显著性( $P < 0.05$ ),RET 值与对照组比较升高,差异有显著性( $P < 0.05$ )。

表 1 各组外周血象变化的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
**Tab. 1** Comparison of peripheral blood picture in the three groups ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别 Groups	天 Days	白细胞 WBC $10^9/L$	红细胞 RBC $10^{12}/L$	血红蛋白 HGB g/L	血小板 PLT $10^9/L$	网织红细胞计数 RET# $10^9/L$
对照组 Control		8.58 ± 0.92	7.96 ± 0.29	142.8 ± 4.12	903.4 ± 25.6	256.5 ± 85.5
A 组	9	0.18 ± 0.026 <sup>1)</sup>	6.40 ± 0.30 <sup>1)</sup>	120.5 ± 9.48 <sup>1)</sup>	104.5 ± 11.7 <sup>1)</sup>	5.63 ± 1.59 <sup>1)</sup>
B 组	9	0.082 ± 0.03 <sup>1)3)</sup>	6.63 ± 0.22 <sup>1)</sup>	122.67 ± 2.75 <sup>1)</sup>	130.3 ± 2.98 <sup>1)3)</sup>	9.6 ± 1.01 <sup>1)3)</sup>
A 组	12	0.25 ± 0.069 <sup>1)</sup>	5.58 ± 0.38 <sup>1)</sup>	109.3 ± 5.93 <sup>1)</sup>	24.3 ± 4.61 <sup>1)</sup>	39.67 ± 9.78 <sup>1)</sup>
B 组	12	1.07 ± 0.32 <sup>1)3)</sup>	5.93 ± 0.25 <sup>1)3)</sup>	106.7 ± 6.99 <sup>1)3)</sup>	88.5 ± 20.8 <sup>1)3)</sup>	76.3 ± 11.9 <sup>1)3)</sup>
A 组	15	1.82 ± 0.16	5.23 ± 0.36 <sup>1)</sup>	94.1 ± 7.92 <sup>1)</sup>	458.7 ± 32.4 <sup>1)</sup>	167.6 ± 22.0 <sup>1)</sup>
B 组	15	2.31 ± 0.39 <sup>1)2)</sup>	6.12 ± 0.49 <sup>1)3)</sup>	119.7 ± 7.61 <sup>1)3)</sup>	563.2 ± 30.6 <sup>1)3)</sup>	602.5 ± 40.9 <sup>1)3)</sup>

注:与对照组比较, <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; A 组与 B 组比较, <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , Compared between groups A and B, <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

再生障碍性贫血是由苯及其衍生物、有机磷农药、氯霉素、抗肿瘤药等化学物品、药物和辐射,生物因素造成的骨髓造血功能衰退,导致红细胞、白细胞和血小板等全血细胞减少引起的一组综合征。复合法建立的再障动物模型病理与人类病理改变相似,且有方法简便、成功率高的优点,适合治疗药物的筛选。复合法主要采用放射线、Cy、CH 共同作用引起造血细胞损伤,抑制骨髓细胞的再生,导致骨髓造血功能的衰竭。由于以上因素的干预剂量、方法、时间的不同模型诱发的成功率、再障期的稳定性、造模的周期、死亡率都有不同。通过对比研究表明,采用直线加速器照射剂量率为 240 cGy/min, SSD = 100 cm, 全身照射 1.2 min, 于第 4 天开始隔日腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg, 共 3 次的造模方法与采用直线加速器照射剂量率 300 cGy/min, SSD = 100 cm, 全身照射 1.2 min, 于第 4 天开始连续腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg, 共 3 次的造模方法比较, 后者于造模第 9 天 WBC 和 RET 急剧下降, 自第

12 天起快速回升, 特别是 RET 值到第 15 天时已超过对照组的 2.5 倍。表明该造模方法缺乏稳定性。前者自第 9 天至第 15 天各项指标相对稳定, 且无死亡。认为直线加速器照射剂量率为 240 cGy/min, SSD = 100 cm, 全身照射 1.2 min, 于第 4 天开始隔日腹腔注射环磷酰胺 35 mg/kg 和氯霉素 43.75 mg/kg, 共 3 次的造模方法具有复制周期短、成功率高、重复性好的优点。适合用于治疗药物研究的实验。

#### 参考文献:

- [1] 王永才. 最新血液骨髓细胞诊断学教学医用多媒体图谱 [M]. 人民军医出版社, 2007: 218.
- [2] 孙纪元, 王四旺, 谢艳华, 等. 再生障碍性贫血的动物模型实验研究 [J]. 中国实验动物学杂志, 2000, 10: 210.
- [3] 陈慧莉, 李建华, 王海霞, 等. 愈障汤对再生障碍性贫血大鼠骨髓细胞超微结构的影响 [J]. 潍坊医学院学报, 2007, 29: 487.
- [4] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准第三版 [S]. 科学出版社, 2007: 8: 19 - 20.

[修回日期] 2012-09-25