

基于中西医临床病证特点的卵巢癌动物模型分析

易楚¹, 马昕怡², 伍洋杰³, 布筠艺¹, 马民¹, 颜显欣^{1*}

(1. 暨南大学 中医学院, 广州 510632;
2. 南方医科大学 第一临床医学院, 广州 510515;
3. 暨南大学 第一临床医学院, 广州 510630)

[摘要] 目的: 卵巢癌是全球第3常见的妇科癌症, 其死亡率在妇科癌症中排名第2位, 在许多低收入和中等收入国家的年龄标准化比率正在逐步上升。目前, 卵巢癌病因尚未明确, 发病机制尚未清晰。早期无明显症状, 待症状明显时往往已到晚期。晚期5年生存率仅17%, 对妇女健康造成极大威胁。因此, 深入研究卵巢癌的病因病机, 对探究卵巢癌的防治方法十分重要。笔者基于卵巢癌的中西医临床病证特点, 结合目前动物模型的评价新方法, 对卵巢癌的动物模型进行评价, 给予分析和建议。方法: 对中国知网、万方、维普及PubMed数据库进行“卵巢癌”和“动物模型”主题词检索, 排除不符合条件的文章, 对剩下的文献进行分类整理。结合西医临床诊断标准与中医辨证分型, 对卵巢癌动物模型相关指标赋值, 进行吻合度评价。结果: 移植性动物模型使用率最高, 其次是诱发性动物模型。各模型的中医吻合度均比其西医吻合度低。诱发性模型的临床吻合度较高, 在肿瘤生长方式、疾病进展过程、并发症等方面与人卵巢癌类似, 是较为理想的卵巢癌动物模型。该动物模型虽然在一定程度上能够模拟卵巢癌发病的病因病机, 能够体现中西医的部分指标, 但对中医证候区分欠缺。结论: 卵巢癌动物模型在原有造模的基础上, 加以气虚证、血虚证、气滞证、血瘀证、热毒证、阳虚证证型干预因素, 实现中医病证结合的卵巢癌动物模型, 更能模拟中西医临床实际情况, 为研究中西医结合治疗卵巢癌奠定坚实基础。

[关键词] 卵巢癌; 中西医; 病证特点; 动物模型; 吻合度分析

[中图分类号] R2-0; R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2024)08-0206-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20231325 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20230607.0933.001>

[网络出版日期] 2023-06-07 18:02:22

Animal Models of Ovarian Cancer Based on Characteristics of Clinical Symptoms of Traditional Chinese and Western Medicine

YI Chu¹, MA Xinyi², WU Yangjie³, BU Junyi¹, MA Min¹, YAN Xianxin^{1*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China;
2. The First Clinical Medical School, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
3. The First Clinical Medical School, Jinan University, Guangzhou 510630, China)

[Abstract] **Objective:** Ovarian cancer is the third most common gynecologic cancer worldwide, with the second highest mortality rate among gynecologic cancers, and age-standardized rates are gradually increasing in many low- and middle-income countries. At present, its etiology and pathogenesis are not clear. There are no obvious symptoms in the early stage, and when the symptoms become obvious, it often indicates the advanced stage. The 5-year survival rate of the advanced stage is only 17%, which poses a great threat to women's health. Therefore, an in-depth study of the etiology and pathogenesis of ovarian cancer is very important to the

[收稿日期] 2023-03-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81803979, 82074430); 广东省基础与应用研究基金项目(2022A1515011674); 暨南大学2022年度国家级大学生创新创业训练计划项目(202210559067)

[第一作者] 易楚, 在读硕士, 从事中医药防治女性恶性肿瘤的研究, E-mail: yichu@stu2022.jnu.edu.cn

[通信作者] * 颜显欣, 博士, 讲师, 从事中医药防治女性恶性肿瘤的研究, E-mail: yanxianxin@jnu.edu.cn

exploration of prevention and treatment methods for ovarian cancer. Based on the clinical characteristics of ovarian cancer in traditional Chinese and Western medicine, and combined with the existing evaluation methods of animal models, this study evaluated the animal model of ovarian cancer, and provided analysis and suggestions. **Method:** This study searched China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wanfang data, VIP information database, and PubMed database using the keywords "ovarian cancer" and "animal model", excluded the articles that did not meet the criteria, and then classified the remaining studies. Combined with the clinical diagnostic criteria of Western medicine and traditional Chinese medicine syndrome differentiation, the related indicators of ovarian cancer animal models were assigned and the degree of agreement was evaluated. **Result:** The use of the transplanted animal model exhibited the highest frequency, followed by that of the induced model. The degree of agreement of traditional Chinese medicine for each model was lower than that of Western medicine. The induced ovarian cancer model had a high degree of clinical agreement and was similar to human ovarian cancer in terms of tumor growth pattern, disease progression and complications, which is an ideal animal model of ovarian cancer. Although this animal model can simulate the etiology and pathogenesis of ovarian cancer to a certain extent and reflect some indicators of traditional Chinese and Western medicine, it lacks differentiation of traditional Chinese medicine syndromes. **Conclusion:** On the basis of the original model, the animal model of ovarian cancer was added with Qi deficiency syndrome, blood deficiency syndrome, Qi stagnation syndrome, blood stasis syndrome, heat-toxin syndrome, and Yang deficiency syndrome to establish an animal model combining traditional Chinese medicine disease and syndrome of ovarian cancer, which could better simulate the clinical actual situation of traditional Chinese and Western medicine and lay a solid foundation for the study of integrated traditional Chinese and Western medicine for the treatment of ovarian cancer.

[Keywords] ovarian cancer; traditional Chinese and Western medicine; disease characteristics; animal model; analysis of degree of agreement

据全球癌症调查结果显示,卵巢癌是全球第3常见的妇科癌症,妇科癌症患者死亡的第2大常见原因^[1]。其早期症状不明显,大多数妇女被诊断时已处于晚期。卵巢癌预后不佳,晚期患者的5年生存率仅17%^[2]。因此,深入研究卵巢癌的病因病机对人们预防或治疗卵巢癌极为重要。西医治疗卵巢癌通常采用肿瘤细胞减灭术,结合铂类和紫杉烷类化疗的综合性疗法,此种方式治疗后容易出现复发^[3]。中医药在卵巢癌领域的治疗研究不断发展进步,现已有研究证明中药成分单体能够逆转卵巢癌顺铂耐药^[4],中药方剂能够进行免疫调节,抑制卵巢癌肿瘤生长,提高正常免疫功能等^[5],且不良反应较少。当前,人们对卵巢癌中医理论的研究探讨也日益增多。有从“阴阳平衡观”等观点去探讨卵巢癌炎性微环境的防治^[6],亦有从女性长期处于易焦虑状态而形成卵巢癌的角度出发^[7],探究卵巢癌的病理机制,对卵巢癌术后的复发转移也提出了“清补冲任”等治疗原则^[8]。基于完整的中医理论体系,中医医师在卵巢癌各个时期均能灵活辨证处方用药^[9]。不论是现代医学还是传统医学,对卵巢癌预

防和治疗均可提供科学且有效的思路方法。因此,构建中西医病证结合的卵巢癌动物模型十分必要。本文基于卵巢癌中西医临床病证特点,总结了现有卵巢癌动物模型的应用情况,比较了卵巢癌动物模型的中西医临床症状的吻合度,指出了目前卵巢癌动物模型存在的问题,为建立标准的卵巢癌动物模型提供思路。

1 材料与方法

1.1 文献来源 以“卵巢癌”和“动物模型”为主题词,对中国知网、万方、维普及PubMed数据库进行检索,时间范围设置为“建库至2023年3月”。

1.2 纳入、排除标准 排除硕博论文、会议、体外实验、资料不全面及综述等文献。通过阅读标题、摘要、全文进行逐步筛选,纳入记载有卵巢癌动物造模方法的实验性文献。录入卵巢癌动物模型动物种类、造模方法、检测指标等数据,构建卵巢癌动物模型相关数据库。

1.3 数据整理 将符合标准的文献用Excel 2013进行归纳整理,共178篇文献。对造模方法应用情况进行统计分析,统计情况见图1。

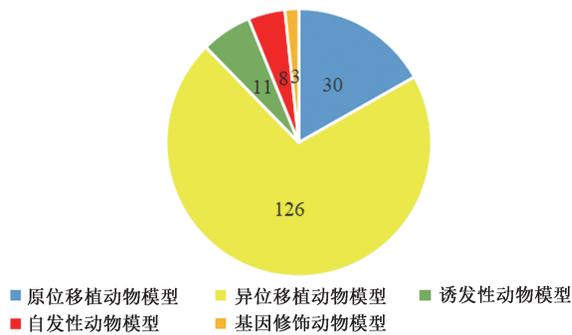


图1 卵巢癌动物模型造模方法应用情况

Fig. 1 Application of ovarian cancer animal model establishment methods

2 卵巢癌的发病机制研究

2.1 中医病因病机 传统中医学中缺乏对卵巢癌的直接记载。卵巢癌临床多表现为女子下腹有包块,胀满、疼痛、坚硬,中医按其症状表现将其归于“癥瘕”“积聚”或“腹痛”。《肘后备急方》中记载:“凡症坚之起,多以渐生,如有卒觉,便牢大自难治也。腹中症有结积,便害饮食,转羸瘦。”《诸病源候论》中对癥积描述如下:“若积引岁月,人即柴瘦,腹转大,诊其脉弦而伏,其症不转动者,必死。”《备急千金要方·妇人方下》记载:“小如鸡子,大者如拳”“或月经不通,或下如腐肉,青黄赤白黑等如豆汁”等表现与卵巢癌的临床症状表现极为类似。

历代医家认为,卵巢癌多由外感六淫、饮食失节、情志失常等因素导致正气亏虚,邪毒侵犯冲任,脏腑功能失常,气机受阻,病理产物停积于下腹胞宫致病^[10]。

2.2 西医发病机制 目前,卵巢癌的西医病因尚未明确。卵巢癌发病机制涉及多个方面,主要包括①内分泌改变:现有理论认为促性腺激素与雌激素作用于卵巢上皮,可导致卵巢上皮恶性转化;绝经后的激素替代治疗、不育或使用促排卵药物均可导致卵巢癌发病率上升;②遗传学改变及家族史:存在卵巢癌家族史;或乳腺癌患者合并家族史的BRCA1/2基因突变人群,患病危险随着年龄的增长增加;③饮食因素:高脂饮食可增加卵巢患病风险,而水果蔬菜等低脂高纤维素的饮食可以降低危险;④微生物感染:持续的炎症反应和免疫损伤;微生物能够通过调节炎症因子水平,刺激癌细胞上皮间质转化,影响卵巢癌的免疫调节机制,促使卵巢癌的发展^[11-13]。临床上卵巢癌可分为两类:I型和II型。I型患者较多,预后较好,主要以基因突变、高频微卫星不稳定性为分子遗传学特征;II型患者病情进展迅速,且预后不良,以p53基因突变为主要

分子遗传学特征^[14]。大部分卵巢癌呈散发状态,而遗传性的占15%,一般女性患卵巢癌概率为1%~2%。对于具有卵巢癌家族史、子宫内膜异位症、吸烟、肥胖、长期接受激素治疗等高风险因素的女性人群^[15],尤应注意预防卵巢癌,具体预防可表现在日常饮食中尽量减少摄入咖啡、鸡蛋和脂肪类食物等方面^[16]。

3 卵巢癌诊断与辨证

3.1 西医诊断标准 现代医学诊断卵巢癌主要从以下几个方面入手,详细的病史采集、全面体格检查、影像学检查及肿瘤标志物等实验室检查^[17]。根据患者不同症状分别考虑加以胃肠镜、腹腔镜探查等,方便与卵巢癌作鉴别区分。根据《临床肿瘤学》^[13]、《卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(2021年版)》^[17]及NCCN2022版指南^[18],卵巢癌西医诊断标准及临床表现见表1。依据田硕等^[19]建立的中医药动物模型评价新方法,符合病理诊断赋值60%,符合临床症状、体格检查及影像学检查赋值共30%,各项占10%,符合实验室检验及除影像学检查外的其他检查结果等间接指标各赋值5%,具体每项按权重比计算。

3.2 中医辨证标准 参照《恶性肿瘤中医诊疗指南》^[20]的卵巢癌的中医辨证进行归纳总结,将卵巢癌中医证候分为6个证型:气虚证、血虚证、气滞证、血瘀证、热毒证、阳虚证。依据田硕等^[19]的赋值方法,主证赋值60%,次证赋值40%,每满足一项按权重比计算,具体证候表现见表2。

4 卵巢癌动物模型分析

4.1 卵巢癌动物模型的应用现状 制备卵巢癌动物模型所使用的动物种类有小鼠、大鼠、裸鼠等^[21]。大鼠、小鼠自身具有免疫功能,接种人源性肿瘤细胞常常会发生免疫反应。因此,多接种同种同源系的肿瘤细胞。目前,多数卵巢癌动物模型构建时使用人源性卵巢癌细胞。移植人源肿瘤细胞时大多数使用免疫缺陷的裸鼠,使用的小鼠从单一T细胞缺陷的裸小鼠扩展到几种免疫细胞联合缺陷小鼠,如T、B细胞联合免疫缺陷的重度联合免疫缺陷(SCID)小鼠,T、B、NK细胞联合免疫缺陷的非肥胖糖尿病重症联合免疫缺陷(NOD-SCID)小鼠等^[22]。构建卵巢癌动物模型时,有自发性动物模型、诱发性动物模型、移植性动物模型和转基因动物模型等类型。自发性卵巢癌动物模型虽符合卵巢癌自然发生发展过程,但是具有肿瘤发生率低、周期过长和不能稳定建立等缺点。诱发性卵巢癌动物模型

表1 卵巢癌西医诊断标准

Table 1 Western medicine diagnostic criteria for ovarian cancer

序号	诊断内容	诊断指标
1	病理学诊断	肿物穿刺活检,腹腔镜探查对盆腔肿块或可疑部位取组织检测
2	临床症状	①早期症状:常无症状或有较轻微的症状,常在体格检查或因其他疾病就医做妇科检查或无意中发生。首发症状常表现在消化道,如食欲减退、消化不良、腹胀、恶心想吐;②压迫症状:肿瘤生长较大时压迫、牵拉或浸润邻近器官组织时,可致腹痛、腰痛、消化道症状及尿频,若压迫致盆腔静脉,会出现下肢浮肿;③并发症:肿瘤扭转、破裂、出血、感染等急腹症;④一般情况:晚期明显消瘦、虚弱、贫血等症状
3	体格检查	①盆腔肿块:肿瘤位于盆腔时,可扪及肿物在子宫一侧或双侧,增大时进入腹腔。表面呈结节状,实性或囊实性;②腹水征:少量腹水时叩诊呈移动性浊音阳性;大量腹水时,腹部膨隆呈蛙状腹;③第二性征异常:性早熟、男性化、闭经、月经紊乱及绝经后出血等;④远处转移征:锁骨上淋巴结肿大;胸水;肝脾肿大等
4	实验室检验	血清肿瘤标志物检测:①甲胎蛋白(AFP);②绒毛膜促性腺激素β亚单位(β-HCG);③糖类抗原125(CA125);④人附睾蛋白4(HE4)
5	检查结果	①影像学检查:电子计算机断层扫描(CT)、核磁共振、超声检查、正电子发射断层显像/X射线计算机体层成像(PET-CT)和X射线等;②细胞学检查:腹水或胸水细胞学检查;③基因检测;④其他全身检查:骨扫描、胃肠镜、腹腔镜和循环肿瘤细胞检测等

表2 卵巢癌中医辨证分型

Table 2 Traditional Chinese medicine syndrome differentiation of ovarian cancer

证型	主证	次证	主舌	或见舌	主脉	或见脉
气虚证	①腹痛绵绵;②神疲乏力; ③少气懒言	①食少纳呆;②形体消瘦;③气短;④自汗; ⑤畏寒肢冷	舌淡胖	舌边有齿痕,苔白滑,苔薄白	脉虚	脉细弱,脉沉细
血虚证	①面色无华;②头晕眼花; ③爪甲色淡白;④少腹胀满	①心悸怔忡;②失眠健忘;③月经闭止 或阴道出血色淡量少	舌淡	苔白,苔薄白	脉细	脉沉细,脉细弱
气滞证	①少腹胀满;②痛无定处	①烦躁易怒;②口苦咽干;③暖气;④少腹包块,攻撑作痛;⑤腹胀胁痛	舌淡红	舌边红,苔薄白,苔薄黄,苔白腻或黄腻	脉弦	脉弦细
血瘀证	①少腹包块;②刺痛固定; ③肌肤甲错	①面色黧黑;②唇甲青紫;③阴道出血 色黯瘀,或夹血块	舌黯	舌紫黯或见瘀斑、瘀点,舌边青紫,舌下脉络曲张	脉涩	脉细涩,脉结代
热毒证	①口苦身热;②尿赤便结	①面红目赤;②便秘;③小便黄;④出血; ⑤疮疡痈肿;⑥口渴饮冷;⑦发热	苔腻	舌淡或红,苔白腻或黄腻	脉滑	脉细滑,脉滑数
阳虚证	①面色晄白;②畏寒肢冷; ③少腹冷痛	①倦怠乏力;②少气难言;③小便清长,或短少色淡; ④大便溏泄;⑤身体浮肿;⑥眩晕;⑦口淡不渴,痰涎清稀;⑧面色晄白或黧黑;⑨局部冷痛喜温喜按;⑩精神萎靡	舌淡苔白	舌胖大苔滑	脉沉迟	脉细弱

构建时,多使用致癌物二甲基苯并蒽(DMBA)诱导,诱导时间相对较长,但重复性好。移植性卵巢癌模型中,仔猪这类新兴动物实验模型值得关注。其创新初衷是猪在解剖学和生理学上与人类相似,且具有物种优势,属于中型动物模型。猪的腹腔大小与人相似,免疫系统、多种疾病与人类的功能等效。目标疾病进行有效评分时影像学上可行,人源细胞和组织异种移植后免疫排斥反应相对减少,相较于灵长类动物,仔猪有更好地伦理接受度^[23]。移植性模型有更广阔的研究空间,为人肿瘤细胞在其他动物体内实验的实施奠定坚实的基础。转基因卵巢癌动物模型能够直接分析卵巢癌发病的具体分子生物学细节,从微观的角度研究卵巢癌发病的原因。通过研究基因可以从源头上控制卵巢癌的发生发展,如肿瘤抑制基因治疗,自杀基因疗法,免

疫增强,多重耐药性等^[24]。利用转基因技术制作转基因卵巢癌动物模型时,操作技术要求高,且人们无法确定是一个或哪几个基因对于卵巢癌的发生发展起主导作用,抑或是多个基因共同作用改变,影响卵巢癌发生发展。因此,转基因动物模型制作过程中,基因的选择也是个难题。

在构建卵巢癌动物模型时,造模成功率也是需要考的因素之一。在实验中已证明诱发性卵巢癌动物模型造模成功率可达87%^[25];原位移植卵巢癌动物模型造模成功率可达57.14%^[26];异位移植卵巢癌动物模型造模成功率可达100%^[27];人源组织异位移植卵巢癌动物模型造模成功率可达40%^[28];基因修饰模型中转基因卵巢癌动物模型的造模成功率可达50%^[29]。自发性卵巢癌动物模型不需要人为进行干预造模,只需要观察实验动物卵巢癌的

发生率。其中, BALB/C小鼠卵巢癌发病率75.8%; RⅢ系小鼠卵巢癌发病率50%~60%; C3H系小鼠卵巢癌发病率22%~64%; CE系小鼠卵巢癌发病率33%; RF系小鼠卵巢癌发病率2.1%^[22]。

4.2 卵巢癌动物模型症状吻合度 本文以卵巢癌西医临床诊断标准及中医辨证分型为参照, 以已发表的实验性文献中构建的卵巢癌动物模型为依据, 结合卵巢癌动物模型造模成功后的外在症状表现, 腹部包块、腹水等体征、西医病理学检查及生化指标等检查结果来进行中西医吻合度评价分析, 确保吻合度的科学性和准确性。以模型动物客观指标(如体质量、饮食量、毛色等表现)为根据进行证候归类, 与西医卵巢癌诊断标准和中医辨证分型进行比较, 症状符合越多即该动物模型与该证型吻合度越高。具体可表现在以下几点: 体质量减轻可类比消瘦; 饮食量减少可与中医食少纳呆证候相类似; 精神萎靡, 活动减少可与中医神疲乏力证候相吻合等等。吻合度越高即该种模型作为实验动物模型效果越好。

构建卵巢癌自发性动物模型, 多选用产蛋龄2岁以上的母鸡、RⅢ系、C3H系、CE系、东方田鼠、长爪沙鼠等这类能够自然发生卵巢癌的动物^[30]。卵巢癌自发性动物模型优点是相似率高, 人工干预少, 结果较为准确; 缺点是肿瘤发生率低, 周期长, 影响因素多, 均一性差, 实验成本高, 应用较少。卵巢癌自发性动物模型可出现腹部膨大, 体质量增加, 活动能力受阻, 腹腔有腹水; 卵巢肿大, 内有积水, 肠系膜淋巴结、隔膜等处有癌细胞转移, 肝淋巴结增大; 病理检查细胞有明显异型, 上皮细胞呈乳头分支多或呈实心团块^[31]。吻合度评价上看, 西医诊断符合1、3①②, 西医临床吻合度65%; 符合中医主证2④、3①④, 次证3④⑤, 中医临床吻合度13%。

构建卵巢癌诱发性动物模型, 常用DMBA皮膜下注射、涂层布片或局部埋线^[32]。优点是能原位诱发小鼠卵巢肿瘤, 癌变率高, 重复性好; 缺点是诱导时间长, 成瘤率不高。构建卵巢癌诱发性动物模型多选用Fischer344雌性大鼠, C57BL6雌性小鼠、B6C3F1雌性小鼠、Wistar雌性大鼠等动物。沈忠飞等^[25]使用两根含0.3 mg的DMBA的棉线缝入小鼠两侧卵巢, 连续观察72周, 构建诱发性卵巢恶性肿瘤大鼠模型。模型构建成功后, 腹部可扪及肿块, 呈进行性增大, 质地较硬, 边界不清; 精神萎靡、进食少、消瘦、腹部膨隆或蛙形腹, 并逐渐加重; 卵巢明显增大, 形态不规则, 表面呈结节状或较光滑, 伴

出血及坏死; 肿瘤与周围组织有不同程度的粘连, 多处见大小不等的肿瘤结节; 病理学检查以腺癌为主, 有局部浸润, 腹膜等种植性转移、肺的血行转移, 并出现血性腹水和胸水^[25]。西医诊断符合1、2①③④、3①②④, 西医临床吻合度75%; 符合中医主证1②、2④、3①、4①, 次证1①②、3④⑤、6①⑩, 中医临床吻合度21%。

移植性动物模型可分为原位移植动物模型和异位移植动物模型。

构建卵巢癌原位移植模型, 是将卵巢肿瘤组织或细胞悬液移植到与肿瘤原发部位相对应的移植宿主卵巢器官组织内。如同源小鼠的卵巢囊下原位注射ID8小鼠卵巢表面上皮细胞系(MOSEC)生成上皮卵巢癌(EOC)小鼠模型^[33]。优点是操作相对简单、建模周期短、移植瘤成功率高, 生长速度快, 来源容易; 缺点是缺少肿瘤发生过程, 不能与临床肿瘤发生发展过程全吻合。构建卵巢癌原位移植模型多选用C57BL6雌性小鼠、BALB/c雌性小鼠、SD雌性大鼠等作为模型动物。张骄等^[26]取皮下移植瘤构建成功的裸鼠肿瘤组织, 在肋骨与股骨之间的空虚部位做平行于脊椎的长约1 cm的纵切口, 暴露腹腔, 用眼科镊牵出卵巢, 塞入已准备好的肿瘤组织块, 于卵巢破口深处缝合, 历时4周成功构建模型。卵巢癌原位移植模型中, 成瘤的裸鼠腹部可触及肿块, 逐渐消瘦, 腹围增加, 活动减少, 对外界反应迟钝; 有病理学检查, 肿瘤转移至肺、膈肌、肝、胰、胃、髂窝淋巴结等处^[26]。西医诊断符合1、2④、3①④, 西医临床吻合度67.5%; 符合中医主证1②、2④、3①、4①, 次证1②、3④⑤、6①, 中医临床吻合度19%。

卵巢癌异位移植模型分为腹腔种植模型、淋巴转移模型、皮下移植模型。异位移植优点是西医构建模型相似度高, 所呈现病理指标与患者肿瘤组织表达的高度一致, 很好地保留了来源肿瘤特征; 缺点是手术复杂、耗时, 要求技术高, 需免疫缺陷动物, 成本高, 术后并发症多。

卵巢癌腹腔种植模型可选用Fischer344雌性大鼠、SCID雌性裸鼠、仔猪等动物。以卵巢癌腹腔种植动物模型为例, 张辉等^[27]通过对SCID鼠腹腔注射人卵巢癌SKOV3细胞, 观察40 d, 构建卵巢癌腹腔种植动物模型。模型构建成功后, 小鼠腹部均能触及包块, 小鼠出现不同程度的行为迟钝、目光呆滞、腹部膨隆或蛙形腹、消瘦明显, 盆腔、横膈、肝周出现移植瘤; 光镜下能发现小鼠肿瘤组织均保持了

人卵巢癌的特点,且有CA125表达^[27]。西医诊断符合1、2④、3①②④、4③,西医临床吻合度71.2%;符合中医主证2④、3①、4①,次证1②、3④⑤,中医临床吻合度14%。

另外,构建淋巴转移动物模型可将VEGF-D重组质粒DNA或对照载体转染人卵巢浆液性腺癌SKOV3细胞皮下注射到裸鼠的足垫中,建模时间12~15周,建模成功后取材,通过苏木精-伊红染色和CA125/CD40染色评估肿瘤向淋巴结的转移^[34]。皮下移植动物模型多选用Fischer344大鼠、BALB/c雌性小鼠,如蔡智慧等^[35]将卵巢癌SKOV-3细胞悬液皮下注射于BALB/c雌性小鼠右前肢腋窝外侧,7d后测量肿瘤体积达到3~4 mm³,即认为卵巢癌皮下移植动物模型构建成功。

人源肿瘤组织异种移植模型的优点是保留了肿瘤原始特征,同时通过小鼠多次传代保持生物学稳定性;缺点是人组织标本难获得、动物维护成本高、植入率不稳定及植入后潜伏期长。构建人源卵巢肿瘤组织异种移植模型多选用NOD/SCID小鼠、SCID裸鼠、雌性无胸腺BALB/c-nu/nu小鼠等。李巍等^[28]取卵巢癌患者新鲜手术切除组织样本利用25号套管针将卵巢肿瘤组织1~2块接种于NOD/SCID小鼠腋背部皮下,每周监测肿瘤生长,当移植瘤体积为500~1 000 mm³时即认为建模成功,成功后进行传代移植。小鼠活动、精神状态、外界反应、饮食、二便等均正常,肿瘤病理检查与人卵巢癌结构及瘤细胞异型特征基本一致,免疫组化证实移植瘤组织与患者肿瘤组织高度一致^[28]。此种方法吻合度低,西医诊断符合1,西医临床吻合度60%。

卵巢癌基因修饰动物模型分为卵巢癌基因敲除动物模型和卵巢癌转基因动物模型。基因敲除模型通过使外源DNA与受体细胞染色体DNA上的同源序列之间发生重组,使之整合到预定位点上并代替原有基因。该模型的优点是肿瘤模型的致癌过程和病理表现更接近人体,为探索人卵巢癌的病因及发病机制、发病过程、转移、多药耐药等生物学行为提供了一种可靠的手段;缺点是操作复杂、成功率低、肿瘤缺乏异质性,费用高,不易被影像学检测。卵巢癌基因敲除动物模型选用有FORKO雌性小鼠等^[36]。卵巢癌转基因动物模型是将外源基因导入小鼠受精卵或用重组病毒携带目的基因感染早期胚胎,产生携带外源基因的小鼠品系^[37]。优点是增强研究的指向性,能研究卵巢癌的发生发展过程;缺点是要求技术高,操作复杂,可操作性不强。

卵巢癌转基因动物模型选用有Amhr2^{cre/+}雌性小鼠,通过将腺病毒-Cre注射到卵巢法氏囊和/或与Amhr2^{cre/+}小鼠杂交来删除调节性floxed基因,可以将卵巢表面上皮细胞(OSE)转化为卵巢癌细胞^[38]。卵巢癌基因修饰动物模型均可出现腹部肿块,大小不等,腹腔中有血性腹水,有子宫肿块,增大的囊性肾脏;肿瘤广泛扩散并侵犯网膜;组织病理学检查卵巢表面几乎完全被深染的细胞核和多边形或椭圆形的嗜酸性细胞质肿瘤细胞取代。西医诊断符合1、3①②,西医临床吻合度65%;符合中医主证2④、3①、4①,次证3④⑤,中医临床吻合度13%。卵巢癌动物模型具体吻合度情况见增强出版附加材料。

5 讨论

本文结合卵巢癌西医临床诊断标准及中医辨证分型对卵巢癌动物模型进行评价,十分有利于基础研究及临床之间产生更为密切的联系。通过对卵巢癌动物模型应用情况进行统计,发现移植性动物模型最为常见。本文以造模成功的动物模型的客观表现为依据,进行吻合度分析,得出人源肿瘤组织异种移植卵巢癌动物模型的吻合度最低,诱发性卵巢癌动物模型的临床吻合度最高,各卵巢癌动物模型的中医吻合度均比西医吻合度低。诱发性卵巢癌动物模型在肿瘤生长方式、疾病进展过程、并发症等方面与人卵巢癌类似,是较为理想的卵巢癌动物模型。该动物模型虽然在一定程度上能够模拟卵巢癌发病的病因病机,能够体现中西医的部分指标,但对中医证候的区分欠缺。

基于各模型的证候表现,比较分析认为,除人源肿瘤组织异种移植模型外,各模型均可适用于气滞证;诱发性模型及原位移植模型还较适用于气虚证。除此之外,各模型对其他证型的体现还有待提高。以上卵巢癌动物模型辨证分型结果可供科研者们进行卵巢癌动物模型构建时参考。目前构建的卵巢癌动物模型均存在一定局限性,如对小鼠的中医证候指标的观察不全面,大部分动物模型构建中缺乏对小鼠舌象的记录观察,且观察指标不统一,缺乏规范性。在一定程度上反映了当前研究者们构建卵巢癌动物模型时对中医证候重视度的欠缺。对此,本文提出几点建议,以期后续科研者们能够不断优化卵巢癌造模方法。

5.1 构建病证结合动物模型 动物模型中增加中医证候的构建,有利于提高动物模型的中医证候吻合度。目前,中医病证结合模型的研究日益增多。

如周晟芳等^[39]根据中医学“恐伤肾”和“寒凝血瘀”的理论,每日以冰水冷敷在大鼠胸前区并惊扰大鼠半小时,皮下加注相应剂量的氢化可的松,构建肾虚血瘀证动物模型;左冠状动脉前降支结扎,最后以检查大鼠心电图,观察大鼠体征及西医的生化指标等方式,以验证心肌缺血型冠心病肾虚血瘀病证结合模型制备成功。买鹏宇等^[40]对小鼠进行了实验性自身免疫性前列腺炎造模后,采取高脂饲料(含胆固醇、蛋黄粉、猪油)喂食,饮水予特制饮料(单日米酒、双日蜂蜜)饲养,每日10:00至14:00放入湿热环境为主的模室[温度(35±2)℃、湿度(90±5)%]成功构造湿热证前列腺炎模型。倪喆鑫等^[41]将小鼠进行为时6 min的冷水浴1周,出现耳廓血流变缓,爪甲青紫时,即认为构造寒凝血瘀证小鼠模型成功;再注射雌激素溶液,将内膜碎片进行腹腔移植,小鼠自然生长3周后检出腹腔内出现明显内异病灶,即寒凝血瘀型的子宫内膜异位症小鼠模型造模成功。这些动物模型造模方法为构建卵巢癌病证结合动物模型提供了参考依据。

5.2 西医指标“中医化” 在构建卵巢癌动物模型时,除了检测卵巢癌西医病理指标外,还可以检测中医证候的“西医指标”。如卵巢癌出现血瘀证候时,可分析血液流变学。恶性肿瘤的血液流变学改变主要以高黏滞血症、血清中纤维蛋白原含量增加为主要表现,通过观察这类症状的出现和检测理化指标的变化,将其与中医血瘀证巧妙地联系在一起^[42]。刘悦等^[43]研究瘀毒互结型动物模型,在造模24 h后观察大鼠中医证候宏观评价指标,根据血氧仪监测出的脉象,中医舌象图片及表现在外的黑尾长度判定瘀毒互结证是否形成。在宏观指标的把控上,卵巢癌动物模型的外在表现也需要进行相应观察记录,将观察结果与中医证型证候表现作对比。构建的模型有了更多的数据结果作支撑,将会更具有说服力,也更科学,全面。

5.3 以方测证 通过选用该证型代表方,观察疗效,反证中医证候模型的成功构建。如刘欣等^[44]对大鼠分组,除正常组外,均灌薄荷油进行造模,造模成功后,实验组灌右归丸,观测动物宏观状态表现及客观生化指标,21 d后发现模型组发生的改变基本符合阳虚状态表现,而右归丸组表现出一定治疗作用,研究采用以方测证的方法验证模型的成功构建。郭春荣等^[45]通过以地塞米松灌胃和卵蛋白注射、吸入,构造大鼠肾阳虚哮喘模型,比较六味地黄汤和金匮肾气方治疗肾阳虚哮喘后大鼠 RhoA、

Rock2蛋白表达量及病理学检查等结果,发现金匮肾气汤对此模型治疗有效,反证肾阳虚模型的构建成功。王明珠等^[46]研究小鼠脾虚与诱导性关节炎之间关系,采用潮湿环境和饮用冰水诱导 DBA/1 小鼠脾虚证,给予牛源性Ⅱ型胶原建立诱导性关节炎模型,采用以方测证,用参苓白术散治疗脾虚胶原诱导性关节炎小鼠,发现脾虚证缓解,反证脾虚模型的构建。除了考虑症状因素,对于动物自身的体质因素、自身发病情况、外界环境因素也应严格掌握^[47]。

卵巢癌动物模型的构建方法还有待进一步提高。可从以下两个方面考虑,一是达到中医药可发挥疗效的现代医学疾病病理阶段标准,二是达到与中医药主治相吻合的中医“证”的标准^[48]。疾病处在不断发展的阶段,证候的形成与疾病所处的阶段密切相关,掌握疾病动物模型现代医学不同的病理阶段与中医“证”的关系,对卵巢癌动物模型的成功构建至关重要。

6 结语

在动物模型建立过程中,不仅要求症状符合,其病因、病机和证候之间的关联性也应有所体现。期望后续科研者们能够不断优化造模方法。通过不断观察总结,构建系统规范的中西医结合卵巢癌动物模型。提高中医证候的吻合度,以便更好地实现中西医融合,为解决卵巢癌的防治问题提供新思路与新方法。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] BALDWIN L A, HUANG B, MILLER R W, et al. Ten-year relative survival for epithelial ovarian cancer [J]. Obstet Gynecol, 2012, 120(3): 612-618.
- [3] LHEUREUX S, BRAUNSTEIN M, OZA A M. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(4): 280-304.
- [4] 申芳,徐佳越,刘芳媛,等. 中药单体逆转卵巢癌顺铂耐药机制的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(3): 226-233.
- [5] 田璐,张新,张阳. 扶正抗癌汤免疫调节及抑制大鼠卵巢癌移植瘤生长的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(10): 38-43.

- [6] 王玮玉,郭滢,沈影,等.从“阴阳平衡观”探讨对卵巢癌炎性微环境的中医认识[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(12):237-244.
- [7] 吴娜,宁春晖,唐末,等.杨宇飞基于“情志致病”理论治疗卵巢癌经验[J].中国中医基础医学杂志,2022,28(12):2050-2052,2055.
- [8] 王妍,朱广辉,张英,等.从冲任论卵巢癌术后复发转移[J].山东中医药大学学报,2023,47(2):132-135,141.
- [9] 张兰鑫,侯炜,李玉潇,等.全国名中医朴炳奎治疗卵巢癌的中西医结合证治思路[J].湖南中医药大学学报,2022,42(9):1502-1506.
- [10] 韩凤娟,王小玉.基于命门学说探究卵巢癌的发病机制[J].四川中医,2022,40(4):18-20.
- [11] 李丹.卵巢癌发病机制与免疫治疗的临床研究进展[J].实用妇产科杂志,2020,36(12):908-911.
- [12] 陈程,段秋香,谢海涛,等.微生物与卵巢癌关系的相关研究进展[J].肿瘤药学,2022,12(6):720-726.
- [13] 徐瑞华,万德森.临床肿瘤学[M].北京:科学出版社,2020:352-354.
- [14] CHO K R, IEM S. Ovarian cancer [J]. Annu Rev Pathol,2009,4:287-313.
- [15] WEBB P M, JORDAN S J. Epidemiology of epithelial ovarian cancer [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol,2017,41:3-14.
- [16] TANHA K, MOTTAGHI A, NOJOMI M, et al. Investigation on factors associated with ovarian cancer: An umbrella review of systematic review and meta-analyses[J]. J Ovarian Res,2021,14(1):153.
- [17] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会.卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(2021年版)[J].中国癌症杂志,2021,31(6):490-500.
- [18] ARMSTRONG D K, ALVAREZ R D, BACKES F J, et al. NCCN guidelines® insights: Ovarian cancer, Version 3. 2022 [J]. J Natl Compr Canc Netw. 2022, 20(9):972-980.
- [19] 田硕,曹利华,苗明三,等.基于临床中西医结合特点的中医药动物模型评价新方法[J].中药药理与临床,2017,33(6):165-169.
- [20] 林洪生.恶性肿瘤中医诊疗指南[M].北京:人民卫生出版社,2014:453-455.
- [21] 陈语柔,陈莹.卵巢癌动物实验模型造模方法概述[J].实用中医内科杂志,2022,36(5):103-106.
- [22] 周光兴,高诚,徐平等.人类疾病动物模型复制方法学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2008:364-370.
- [23] LEE E J, PARK S J, SEOL A, et al. Establishment of a piglet model for peritoneal metastasis of ovarian cancer [J]. J Transl Med,2022,20(1):329.
- [24] ÁYEN Á, JIMENEZ MARTINEZ Y, MARCHAL J A, et al. Recent progress in gene therapy for ovarian cancer [J]. Int J Mol Sci,2018,19(7):1930.
- [25] 沈忠飞,方马荣,张梅光,等.二甲苯并萘诱发卵巢恶性肿瘤的动物实验[J].中华妇产科杂志,2006(8):572-573.
- [26] 张骄,于廷和.人卵巢癌高转移细胞株裸鼠原位移植瘤模型[J].科技导报,2010,28(12):32-35.
- [27] 张辉,左连富,王晓玲,等.人卵巢癌顺铂耐药细胞 SCID 小鼠腹腔移植模型的建立及其生物学特性的实验研究[J].第三军医大学学报,2005,27(9):874-877.
- [28] 李巍,王娇,苏莉,等.卵巢癌异种移植动物模型的建立及鉴定研究[J].中国医药导报,2021,18(32):18-21,198.
- [29] CONNOLLY D C, BAO R, NIKITIN A Y, et al. Female mice chimeric for expression of the simian virus 40 TAg under control of the MISHIR promoter develop epithelial ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2003,63(6):1389-1397.
- [30] 李冬冬,王莉,钟洁,等.卵巢癌动物模型制备的研究进展[J].中国实验动物学报,2018,26(2):259-264.
- [31] 马亚东,苏志杰,俞远京.东方田鼠自发性卵巢癌及病理学特征初步观察[J].中国现代医学杂志,2004,14(12):156-156.
- [32] HUANG Y, JIANG W, WANG Y, et al. Enhanced efficacy and specificity of epithelial ovarian carcinogenesis by embedding a DMBA-coated cloth strip in the ovary of rat [J]. J Ovarian Res, 2012, 5(1):21.
- [33] GREENAWAY J, MOOREHEAD R, SHAW P, et al. Epithelial-stromal interaction increases cell proliferation, survival and tumorigenicity in a mouse model of human epithelial ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol,2008,108(2):385-394.
- [34] DU L C, CHEN X C, WANG D, et al. VEGF-D-induced draining lymphatic enlargement and tumor lymphangiogenesis promote lymph node metastasis in a xenograft model of ovarian carcinoma [J]. Reprod Biol Endocrinol,2014,12(1):1-11.
- [35] 蔡智慧,李鹏,梁义娟,等.miR-106a对小鼠卵巢癌移植瘤生长的影响研究[J].中国现代医学杂志,2018,28(19):12-15.
- [36] CHEN X, ARAVINDAKSHAN J, YANG Y, et al. Early alterations in ovarian surface epithelial cells and induction of ovarian epithelial tumors triggered by loss of FSH receptor[J]. Neoplasia,2007,9(6):521-531.
- [37] 刘恩岐.人类疾病动物模型[M].北京:人民卫生出版社,2014:199-201.
- [38] SHI M, WHORTON A E, SEKULOVSKI N et al. Inactivation of TRP53, PTEN, RB1, and/or CDH1 in

- the ovarian surface epithelium induces ovarian cancer transformation and metastasis [J]. Biol Reprod, 2020, 102(5): 1055-1064.
- [39] 周晟芳,刘如秀,尹琳琳,等. 心肌缺血型冠心病肾虚血瘀病证结合模型研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(9): 56-59.
- [40] 买鹏宇,徐楠,朱闯,等. 前列消汤对EAP湿热证模型前列腺内NF- κ B表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(8): 128-132, 271-272.
- [41] 倪喆鑫,毕艳丽,孙帅,等. 寒凝血瘀状态对子宫内异位症小鼠肠道菌群结构的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(10): 1214-1218.
- [42] 齐聪,张勤华. 气虚血瘀证卵巢癌动物模型的建立及其生物学特性[C]. //全国中医妇科第五次学术研讨会论文汇编. 2005: 61-66.
- [43] 刘悦,姚明江,梁晓,等. 瘀毒互结证动物模型的建立与评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20230105.
- [44] 刘欣,崔一然,刘小青,等. 右归丸干预薄荷油诱导大鼠阳虚状态的研究[J]. 中药材, 2015, 38(8): 1702-1704.
- [45] 郭春荣,施旻昱,庄怡娴,等. 基于以方测证的肾阳虚哮喘大鼠模型建立与评价研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(10): 4715-4718.
- [46] 王明珠,黄琳,李海昌,等. 冰水潮湿诱发的脾虚对DBA/1小鼠胶原诱导型关节炎的影响及参苓白术散的“以方测证”[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(11): 6781-6784.
- [47] 宋亚刚,李艳,崔琳琳,等. 中医药病证结合动物模型的现代应用研究及思考[J]. 中草药, 2019, 50(16): 3971-3978.
- [48] 傅晓晴. 现代医学疾病动物模型中医“证”的诊断研究思路[J]. 中华中医药杂志, 2008(10): 868-870.
- [责任编辑 张丰丰]

· 书讯 ·

康复护理对腹部手术患者术后胃肠功能恢复的影响 ——评《加速康复外科学》

《加速康复外科学》由人民卫生出版社出版,黎介寿名誉主编;江志伟主编;秦环龙、杨桦、杨国斌、葵卫东、张利东副主编。《加速康复外科学》主要包括我国胃肠癌手术加速康复外科措施不同观点的讨论、加速康复外科多学科所扮演的角色及对胃肠癌患者围手术期生理及心理的指导等。本书特色在于胃肠研究发展的现状及最新的研究进展、加速康复外科理论观点解读、加速康复外科相关实用技术方法、加速康复肠癌手术围手术期处理,传统观念中很多围手术期处理并没有真正改善围手术期的医疗质量,对于这类问题,本书进行了详细地解读,总结最新的研究进展,对这类问题进行详细的探讨。本文结合《加速康复外科学》讨论康复护理对腹部手术患者术后胃肠功能恢复的影响。根据我国临床腹部手术解剖学及特点,患者在进行腹部手术后对其机体创伤大,且各个重要脏器都长时间暴露在外空气中,同时受麻醉药物和长时间手术的影响,会加大刺激患者的胃肠功能出现短暂抑制状态,导致大量的气体聚集到肠腔中,从而患者更易出现胃肠功能不适反应。并且患者术后行动不便,需卧床休息,致使患者肠胃功能进一步减弱。有研究显示,患者在进行腹部手术后肠胃功能若不能快速恢复和缓解,会导致患者后续就诊难度增大及多种并发症,如肠道粘连和肠梗阻等多种并发症。目前我国临床上对手术质量及护理质量进行评估的重要指标之一即为患者胃肠功能是否恢复,判断其恢复的标准主要有患者是否可以正常饮食,现采用康复护理来帮助患者术后胃肠功能的恢复。

康复护理针对腹部手术患者是全方面站到患者角度出发为患者进行全方位的护理模式,护理过程中可以综合考虑患者出现肠梗阻或粘连等因素,及时干预和对患者进行指导,减少不良反应的发生。从患者手术、饮食、术后恢复及理疗等多方面出发,观察患者在进腹部手术后首次排气、排便时间、腹胀程度、肠鸣音等,并进行记录和分析,可以有效的减少肠梗阻或粘连的发生率。康复护理主要是干预指导,其护理措施主要包括以下6点:第一,床上活动。在患者手术后生命体征平稳后,患者需每天2次保持半卧位,护理人员指导进行呼吸运动和上下肢运动。运动主要包含伸展和拉力,上肢还需进行拉力、握力,下肢需蹬腿等,半卧位需体位进行两边交换,护理人员帮助翻身的活动等。第二,床下活动。针对不同患者的恢复情况制定相应的运动,如恢复较好的患者护理人员需指导下床活动,帮助患者坐到床边,每天在床边进行站立,时间控制在30 min以内。根据患者的状况,可以适当的增加运动量和时间。第三,腹部按摩。护理人员需根据患者的恢复情况进行腹部按摩,按摩方式主要采用顺时针和逆时针相互交错摩擦进行,每次时间控制在15 min左右,按摩采取轻重后换进行。第四,中药调节。护理人员需每日督促患者口服中药,每日服药3次,7 d一个疗程,中药处方主要根据患者的病情和身体状况由专业医生为其开具处方,主要以粘连缓解汤和复方大承气汤为主。第五,促进胃肠蠕动。患者每天在术后需采用38℃的温水进行足部浸泡,每天2~3次,每次10 min最佳。护理人员需帮助患者胃肠功能恢复和肛门排气,需在术后3 d后采用开塞露刺激肛门来促进胃肠的蠕动。第六,饮食指导。患者术后1 d不能进食,术后饮食应以流质食物为主,口味清淡,营养均衡,采取少食多餐的用餐原则进食,以上为康复护理的全部流程。腹部手术因手术创伤部位特殊、患者活动受限等特点,造成患者胃肠功能受限和术后不适感增加等,并且患者术后需卧床不利于胃肠功能恢复,再加上患者的身心受到影响将影响患者术后恢复和治疗效果。因此康复护理从术前、术中、术后3方面进行,正确的对患者身体进行评估和治疗,积极开导患者不良情绪,鼓励患者乐观面对手术,成为医护人员的重要工作。随着社会发展,医学模式的改变,也加速了康复护理模式的进行,现已成为我国护理工作的重要环节,其应用价值高,效果显著。综上所述,康复护理干预腹部手术能够改善患者胃肠功能障碍,有利于帮助患者恢复健康、提高生活质量,临床实践意义显著,可行性较强,值得临床推广。

(作者王丽萍,蔡向红,上海市奉贤区中心医院,上海 201499)