

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2021.02.009

## • 综述 •

## 内脏痛动物模型的制备和特点

吕继鹏 冷玉芳<sup>△</sup> 范俊 顾凤香 张广儒 彭晨媚  
(兰州大学第一医院麻醉科, 兰州 730000)

**摘要** 内脏痛为临床上常见的症状,但由于其特殊的疼痛性质和特点使之成为疼痛领域中的研究难点之一。随着动物解剖学和神经生物学研究的深入,各位学者提出了诸多内脏痛动物模型,尽可能的模拟临床症状,以便于内脏痛研究的进一步开展,为内脏痛产生、传导、调制等机制与内脏痛的预防、缓解和治疗等方面的研究提供了新的方向。内脏痛动物模型尚无权威分类,当前报道中常按照造模刺激分类,分为化学性刺激、缺血性刺激、机械性刺激和应激诱导等模型。本文旨在对近年来常见的内脏痛动物模型建立以及其特点做简要综述。

**关键词** 内脏痛;动物模型;分类;刺激

内脏痛 (visceral pain) 是区别于一般躯体疼痛的胸腔或腹腔内脏器官来源的疼痛现象,为临床上常见的症状之一,多由内脏受到机械性牵拉、痉挛、缺血或炎症等刺激引起,常伴有情绪反应和防御反应,产生这种反应的神经反射通路包括周围神经系统和中枢神经系统。内脏痛是临床上疾病发生中常见的疼痛形式之一,也是病人寻求治疗的原因之一。传统观点中,内脏痛是躯体痛的一种变体,这种观点基于一种单一的观念,即认为神经机制导致了所有疼痛,尽管这两个疼痛过程有着许多的共同点,但两者之间也有非常明显的差异。虽然内脏痛是人类正常感觉谱的重要组成部分之一,也是许多临床中的非常突出的症状之一,但该领域尚未进行过深入的临床研究,导致疼痛和过敏的机制仍尚未完全了解,内脏痛的处理往往并不满意。有报道称,任何时间都有 25% 的人在承受内脏痛的困扰<sup>[1]</sup>。肺癌开胸术后慢性疼痛发病率约为 33%;在西方国家妇女痛经患病率达 43%;而我国报道的痛经患病率达 33.1%。在功能性肠病中,伴有反复腹痛腹泻的肠易激综合症病人的发病率为 22%;内脏痛给病人的日常生活造成了严重的影响,也给整个医疗系统和社会带来了极大的负担。

### 一、内脏痛特点

内脏器官痛觉传入纤维互有交叉,路径复杂,在高级中枢有广泛的汇聚。其特点有以下几个方面:①标志性特征是其疼痛部位定位不明确且不稳

定;②牵涉痛 (referred pain)。内脏痛可牵涉到远离病变的躯体或其他部位,称之为牵涉痛,又称放射痛或放散痛;③疼痛奇特,有人称之为怪痛 (strange pain)。与躯体疼痛不同,内脏器官对疼痛敏感程度不同。如肝病和肺病已经相当严重,但病人可能没有任何疼痛感觉。又如胃、膀胱或子宫,很小的损伤即可产生极度疼痛;④痛觉过敏 (hyperalgesia)。痛阈值降低的现象称为痛觉过敏,常表现为静息状态下的活性增高和高阈值内脏传入纤维的反应阈值降低,是组织损伤和炎症的重要特征,也出现在神经病变的情况下。诱发内脏痛的刺激并不需要像激活躯体伤害性感受器那样强的刺激,诱发因素包括中空器官扩张、肠系膜牵拉、缺血,非伤害性温度刺激、化学或炎症刺激等;⑤内脏痛常伴有强烈的不愉快情绪反应以及恶心、呕吐等自主神经反射的症状。

### 二、内脏痛动物模型与分类

由于内脏痛独特的性质、发病部位等的不明确,目前为止,内脏痛的形成机制尚未完全阐述清楚。直至 20 世纪八十年代,辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 跨越神经节追踪技术的出现,才能够对神经纤维进行全程追踪和标记,进而研究支配内脏器官的初级传入神经元,为深入研究内脏痛的内在机制奠定了初级传入神经通路的解剖结构基础,同时向内脏器官感觉传入神经中枢通路的临床和实验室研究提供了非常宝贵的科研线索。随着神

<sup>△</sup> 通讯作者 冷玉芳 lengyf@lzu.edu.cn

经生物学研究的深入, 学者们设计并提出了众多的内脏痛模型, 以便于内脏痛研究的进一步开展。理想的内脏痛动物模型应符合所研究内脏疾病的理论模型, 能够很好的模拟出人类内脏疾病所引起的疼痛或痛觉过敏症状, 疼痛措施可以抑制, 还能模拟其发生、发展过程, 被研究的动物出现可被测量的疼痛反应, 故理想的实验刺激引起内脏痛应该是自然的、最低伤害性、可靠的、可重复和可量化的。常见的内脏痛模型刺激有化学性刺激、缺血性刺激、机械性刺激和应激诱导等。本文旨在对当前常见的一系列动物模型的制备与特点进行总结。内脏痛有多种分类方法, 本文以内脏痛发生部位进行分类叙述。

### 1. 心脏

(1) 心包炎模型: 正常大鼠置于平台上时总是试图从平台下来。将一环形硅胶管放入大鼠心包内, 5 天后将缓激肽 (bradykinin, BK)、组胺 (histamine, HIST) 和前列腺素 E<sub>2</sub> (prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>) 混合物或辣椒素溶液注射入心包, 再将其置于平台时, 大鼠则停留在平台上, 表现出被动回避行为 (passive avoidance behavior), 同时焦虑躁动、血压心率升高; 产生心包炎的同时, 心包内压力的增加也会造成痛刺激<sup>[1]</sup>。该模型的优点在于模拟了临床上的心包炎, 且行为学变化确切。但手术操作复杂, 且注射化学刺激物后会引起大鼠严重的心律失常甚至死亡, 造模成功率低。

(2) 冠状动脉阻塞模型: 血管阻塞尤其是动脉阻塞可以造成病理学疼痛。目前仅有冠状动脉阻塞模型<sup>[2]</sup>被承认。阻塞冠状动脉导致心肌缺血, 可以引起动物行为学的变化。该模型中, 动物行为反应随牵拉血管产生, 在只闭塞冠状动脉下不产生反应, 说明缺血并非致痛的直接原因。且冠脉对心肌供血的变异性造成了行为学变化有很大差异。因此, 该模型目前仅用于定性研究。

### 2. 胃十二指肠

(1) 功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 模型: 目前常用有三种模型: ①从 10 天龄开始, 每日通过口服管饲法给予大鼠 0.1% 碘乙酰胺 (含 2% 蔗糖) 0.2 ml, 持续 6 天, 大鼠成年后表现出对胃扩张的高敏感性<sup>[3]</sup>; ②出生第 10 天的幼鼠施用 130 mg/kg 三硝基苯磺酸 (trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS) 0.2 ml 灌肠, 导致其对成年期胃扩张的高敏反应<sup>[4]</sup>; ③向胃壁腹侧和背侧腺体的 15~20 个黏膜下层位点注射 20% 乙酸 10 μl, 以产生多个小胃溃疡, 导致大鼠对胃扩张敏感, 胃排空延迟<sup>[5]</sup>。

(2) 胃十二指肠扩张模型: 将前端装有可扩张气囊的导管置入胃或十二指肠内, 向气囊充气或充水, 大鼠将出现抖动、磨牙、伸展肢体、旋转身体等行为<sup>[6]</sup>。放入胃内的模型可模仿胃壁扩张, 放入十二直肠内的模型可模仿十二指肠梗阻。该模型可靠、重复性好, 但造模手术较为复杂, 限制了其应用。

### 3. 胰腺

(1) 急性胰腺炎模型: 通过外科手术的方法向胰胆管逆行置入 5 mm 软管, 夹闭胆总管防止倒流入肝脏, 注射甘氨酸脱氧胆酸 (glycodeoxycholic acid, GDOC) 混合蛙皮素或 5% 牛磺胆酸钠 (1 ml/kg) 制备急性胰腺炎模型<sup>[7]</sup>, 记录大鼠站立次数、兴奋与休息时间。该模型可模仿胰管梗阻、胆汁反流等病因, 可通过改变注射速度、注射时间、药物浓度等产生轻重不同的胰腺炎, 但操作相对困难。

(2) 慢性胰腺炎模型: 大鼠尾静脉注射溶于无水乙醇的二丁基二氯化锡 (dibutyltin dichloride, DBTC 8 mg/kg) 250 μl, 6 天后大鼠机械痛敏增高<sup>[8]</sup>。该模型制作简单、成功率高, 在注射 DBTC 后 24 h 内诱导急性胰腺炎, 1 周后逐渐进展为慢性炎症, 最后逐渐形成纤维化。可模拟临床疾病, 适用于研究疾病的发病机制、进程演变以及治疗等。

将 TNBS 溶于含 10% 乙醇的生理盐水中配置成 2% TNBS 溶液, 大鼠麻醉后开腹, 经十二指肠乳头将导管插入胆胰管约 1 cm, 使用微量泵在 40 min 内推注 TNBS 溶液 400 μl 制备慢性胰腺炎模型<sup>[9]</sup>。造模后 1 周胰腺呈急性炎症表现, 至第 4 周逐渐演变成慢性炎症。TNBS 逆行胰胆管灌注致慢性胰腺炎可用于模拟人类因长期酗酒所引起的慢性酒精性胰腺炎。

(3) 胰腺肿瘤: 临床中胰腺肿瘤疼痛非常常见, 目前常用的胰腺癌动物模型有致癌物诱导、肿瘤移植模型和基因工程小鼠模型。为避免移植排斥, 常用的肿瘤移植小鼠多为裸鼠或免疫缺陷小鼠, 而基因工程小鼠的胰腺癌模型也常通过转基因、基因敲入与敲除技术实现, 以上两种模型多用于单纯的肿瘤研究, 不能很好体现临床疼痛, 因此本文仅描述常见的两种正常动物由化学性致癌物诱导的胰腺癌模型。

化学致癌剂 N-亚硝酸 2-双丙基胺 [bis-(2-oxopropyl)-N-nitro samine, BOP] 诱导叙利亚仓鼠胰腺癌模型, 每周定时向仓鼠皮下注射 BOP 10 mg/kg, 在 13 周左右大概率出现胰腺癌, 该模型动物常表现黄疸、淋巴结转移和明显恶病质等人类胰腺癌典型临床特征, 肿瘤生物学行为也与人胰腺癌极其类似, 具

有促结缔组织增生反应和嗜神经生长的特性<sup>[10]</sup>。值得注意的是,该模型诱导癌变的基因突变位点不明,器官特异性较低。

二甲基苯并蒽(dimethylbenzanthracene, DMBA)可诱导胰腺癌,大鼠麻醉后开腹,剪开胰腺被膜后用荷包法缝合被膜,同时将10 mg/100 g剂量的DMBA颗粒植入荷包后关腹。DMBA植入后1个月即可出现癌前病变胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)和早期胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC),并在接下来数月内逐渐进展,诱导的胰腺癌具有较高的K-ras基因突变发生率,与人胰腺癌类似,不会诱导其他脏器产生肿瘤,模拟了大鼠由正常胰腺逐级发展为胰腺癌的动态变化过程<sup>[11]</sup>。

#### 4. 小肠

术后肠梗阻模型:术后肠梗阻(postoperative ileus, POI)为临床上常见的术后并发症,表现为腹胀腹痛、停止排气排便、恶心呕吐等。将大鼠小肠取出腹腔外置于双层湿纱布中,用湿棉球自小肠末端回盲部向上擦拭肠管至幽门环,反复6次,时间5~10 min,而后将肠管放回腹腔原位缝合关腹,建立术后肠梗阻模型<sup>[12]</sup>。大鼠腹腔内小肠间粘连严重、充血水肿、胃肠传输速率降低。该模型操作简单、可重复性强、应用广泛,能基本模拟术后肠梗阻的发生过程。

#### 5. 结直肠

(1)炎症性肠病模型:TNBS是常用的诱导炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的化学物质,适用于多种动物,以SD大鼠效果最为突出。麻醉状态下将导管插入大鼠肛门内约3~4 cm,注入溶于50%乙醇的TNBS 20 mg/0.4 ml,并保持大鼠倒立10 min以便于炎性物质吸收。注射后数小时大鼠出现舔下腹、舔睾丸和弓背等行为学变化,持续数天,大鼠内脏痛觉过敏、痛阈下降<sup>[13]</sup>。肠道炎症于成模后4~5天达到高峰,并持续约1个月。有约24%的大鼠在造模16周后炎症痊愈的情况下依然表现出内脏痛觉过敏,这与某些感染后的肠易激综合症(Irritable Bowel Syndrome, IBS)病人表现类似——炎症消退,但疼痛持续存在。该模型方法简单、个体差异小、炎症持续时间长、成模率高,可模仿临床急性炎症到慢性炎症的发生发展过程,为研究IBD最为常用的模型之一。

(2)乙状结肠痛模型:大鼠麻醉状态下将5%甲醛100 μl注射到距肛门35 mm处的乙状结肠壁,大鼠迅速出现舔腹、伸展肢体、腹部收缩和弓背等

行为学变化,以30 min内的变化最为显著<sup>[14]</sup>。该模型优点在于避免了腹腔的广泛反应,仅在肠壁产生局部的炎症反应;炎症变化可在1~2周后完全自愈,适用于药物和治疗方法的自身对照试验。

(3)新生儿母婴分离(neonatal maternal-separation, MS)模型:新生大鼠在出生后第2~14天,每天上午固定时间与母鼠分开,放入另一笼并转移至隔壁房间中,15 min或180 min后放回与母鼠团聚,这种早期负性生活事件会导致大鼠成年(出生后第60天)后的内脏痛觉敏化,引起肠易激综合征<sup>[15]</sup>。

大量的研究表明<sup>[16]</sup>,新生儿早期是伤害性神经通路发育的关键期,新生儿母婴分离会造成下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA or HTPA axis)紊乱,引起长期的神经内分泌改变,同时会影响肠道屏障和黏膜免疫系统发育,并导致肠道炎症。新生儿母婴分离是一种明确的早期负性生活事件,会导致幼鼠中枢应激环路的改变和应激反应的增强,内脏痛觉敏化,可模拟临床中IBS的病理生理改变和临床症状。

(4)新生儿伤害性刺激模型:与MS模型类似,大鼠在幼年受到的伤害性刺激会造成成年后的内脏痛觉敏化。常见的伤害性刺激有两种<sup>[17]</sup>:结直肠刺激(colon irritation, CI)和芥子油化学性刺激。结直肠刺激是在大鼠出生第8~21天(亦有研究<sup>[18]</sup>将时间点安排在出生第8、10、12天)期间,每天在固定时间将人血管重建气囊经肛门插入降结肠,气囊注入0.3 ml水以产生60 mmHg压力,持续1 min后放水撤出气囊;于30 min后再次行CI,每天2次,建立大鼠IBS模型。芥子油化学性刺激是在大鼠出生第8~21天之间,每天固定时间通过导管向结肠内注射5%芥子油0.2 ml,以造成结肠炎症,5周龄后炎症消失,但大鼠内脏痛觉敏化。造模成功后大鼠痛阈降低,痛反应增强,部分大鼠长期排便异常、腹泻或便秘,结直肠黏膜无明显病理改变,提示该模型与临床IBS类似。CI模型对操作水平有一定要求,需防止因操作不慎导致幼鼠结直肠损伤甚至引起死亡。

(5)新生儿结直肠炎症(neonatal colonic inflammation, NCI)模型:将0.2 ml乙酸(0.5%)一次性注射到10日龄幼鼠距离肛门2 cm处的结肠,大鼠成年后出现明显的内脏高敏反应<sup>[19]</sup>。该方法仅产生极其轻微的炎症或组织损伤,可引起幼鼠内脏高敏反应并持续到成年期。模型操作简单,可重复性高,对结直肠的损伤或不可控的因素较少。

(6)急性应激模型(acute stress models):成年

期急性应激可导致大鼠 IBS, 其中应用最广泛的是孤岛避水应激 (water avoidance stressor, WAS): 将大鼠放置在一个环水的小平台上持续 1 h, 基于大鼠对周围水环境的厌恶和恐惧以模拟心理压力, 使大鼠对 CRD 产生内脏感觉高敏反应<sup>[20]</sup>。此外, 其他形式的急性应激如 2 h 的 4℃ 下冷束缚应激 (cold and restrained stressor, CRS) 以及强迫游泳应激 (forced swimming stressor, FSS) 也会造成大鼠对 CRD 的反应增强。目前该模型已广泛用于研究心理应激对内脏痛高敏机制的影响。值得注意的是, WAS 模型会引起神经性恐惧, 导致大鼠在 CRD 中出现假阴性行为, 影响结果; 持续时间 > 2 h 的急性应激源会导致动物对环境适应, 也会混淆动物行为检测。

(7) 慢性轻度应激 (chronic mild stress, CMS) 模型: 日常高水平的慢性轻度应激会影响动物内脏疼痛的强度和持续时间。WAS 是第一个适用于内脏超敏反应研究的慢性应激。连续 10 天的每天 1 h WAS 会导致大鼠对结肠扩张反应高敏, 且在应激结束仍持续达 30 天<sup>[21]</sup>。

(8) 间隙性异源型应激 (heterotypic intermittent stress, HIS) 模型: 亦称作异源型慢性应激 (heterotypic chronic stress, HeCS), 将大鼠暴露于 3 个随机排列的异型间歇性应激: 60 min 的 WAS、45 min 的 CRS 和 20 min 的 FSS, 每种刺激每日进行 1~2 次, 持续 9 天, 会导致大鼠结肠对扩张刺激的高敏反应, 并且在应激后持续 48 h<sup>[22]</sup>。

给予妊娠期母鼠刺激也会导致其后代成年后的结肠高敏反应, 即孕期母体应激 (prenatal maternal stress, PMS), 指将母鼠自妊娠第 7 天至分娩 (即妊娠第 21 天), 每天暴露于 3 个随机排列的异型间歇性应激——60 min 的 WAS、45 min 的 CRS 和 20 min 的 FSS, 分娩后, 幼鼠正常饲养至 3 周龄断奶。幼鼠成年后表现出对结肠直肠扩张刺激的高敏反应, 神经元兴奋性增强<sup>[23]</sup>。

(9) 环境恐惧诱导的应激模型 (conditioned fear-induced stress model): 在捕食者或同种动物攻击的对抗性环境下, 或短暂冲击下, 大鼠会对创伤产生长期的条件性恐惧反应, 对新的刺激表现出广泛的敏感行为, 且行为是持久并随着时间的推移而加剧<sup>[23]</sup>。值得注意的是, 雌性大鼠对同一刺激更为敏感。

(10) 感染后内脏痛模型: 通过病原体一过性感染建立 IBS 模型, 使肠道过度运动、过度分泌, 引发炎症, 在炎症消退后内脏高敏反应依然存在<sup>[24]</sup>。与病毒性肠胃炎的短暂效应相比, 细菌感染作用更

为持久。空肠弯曲杆菌感染引起小鼠结肠背根神经节神经元的长期过度兴奋, 旋毛虫短暂感染可以导致小鼠持续内脏痛觉超敏反应。巴西钩虫感染的大鼠内脏持续高敏, 柠檬酸杆菌感染会导致大鼠腹部回撤反射评分显著增加, 且效果可被阿洛司琼被抑制。

(11) 慢性心理社会应激 (chronic psychosocial stress): 连续 19 天内反复随机暴露于 2 h (每日 1~2 次) 的社会压力 (social defeat, SD) 和持续 24 h 或 48 h 过度拥挤 (overcrowding, OC) 的慢性心理社会应激, 小鼠在最后一次应激后的 24 h 内出现内脏痛觉过敏和躯体痛觉减退, 这种慢性社会心理模型应激在小鼠结肠炎模型中也会增加胃肠功能障碍<sup>[25]</sup>。该刺激也能导致大鼠对 CRD 的高敏性, 并伴随 HPA 轴活性增强和肠粘膜炎。

(12) 口服铝制剂致肠易激综合征 (IBS): 口服低剂量铝可上调结肠中伤害感受的主要介质, 诱导大鼠和小鼠产生 IBS, 导致内脏痛觉高敏反应<sup>[26]</sup>。该反应在治疗停止后仍会持续一段时间, 且 IBS 复发后的重新治疗会放大动物的痛觉反应, 同时, 该模型的雌性动物更为敏感, 痛阈降低更早且阈值更低。SD 大鼠和 C57BL/6 小鼠每日口服 1.5 mg/kg 柠檬酸铝 (aluminum citrate, AlCi) 1 个月, 可引起结肠低度炎症, 可诱导啮齿动物出现剂量依赖性和持续性的结肠超敏反应, 导致 IBS。

(13) 神经源性内脏痛模型: 将凡士林涂抹于大鼠肛周区域, 避免与刺激性化学物质接触。然后经由肛门将具有圆形尖端 (外径 0.61 mm; 长 4 cm) 的导管插入结肠, 注射 0.1% 辣椒素溶液 0.05 ml。注射 20 min 后大鼠出现舔腹、挣扎和腹肌收缩的行为学变化<sup>[27]</sup>。辣椒素可结合并激活肠道的神经元末梢辣椒素受体, 改变神经元内的钙离子浓度传递疼痛刺激, 造成神经源性疼痛。该模型的优点在于操作简单、反应剧烈、模型可靠、位置局限、特异性强、可重复性好。

(14) 结肠扩张模型: 结肠扩张 (colorectal distension, CRD) 模型适用于多种动物, 以大鼠研究最为成熟。在麻醉状态下, 将前端有可扩张气囊 (长 6~8 cm) 的导管经过肛门放入大鼠直肠内 1 cm, 通过导管向气囊充气后, 大鼠产生腹部收缩、弓背、骨盆或睾丸抬起等行为学变化<sup>[28]</sup>。在气囊压 80 mmHg 以内大鼠产生压力依赖性行为学改变。Julia 等<sup>[29]</sup>在 CRD 的基础上进一步提出了炎症性 CRD 模型, 即先将 0.5% 乙酸或 50% 乙醇注射到大鼠结肠壁造成肠壁炎症, 后再进行机械扩张, 这样可提高血流动力学、自主神经、厌恶行为等改变的

频率。

CRD 模型的优点在于操作简单, 行为学变化稳定, 可重复性好, 特异性强, 逐渐增加的压力模拟了生理性刺激到伤害性刺激的变化过程内脏痛, 是较为可靠的内脏痛模型之一。需要注意的是, 过高的气囊压力可能造成肠道损伤, 阻断脏器血流, 导致脏器缺血, 产生一系列的自主神经反应, 从而影响结果。

#### 6. 输尿管

(1) 输尿管结石模型: 将 20  $\mu$ l 牙科水泥注射到输尿管上三分之一处, 形成人造尿路结石, 随着材料变硬, 输尿管将会逐渐被阻塞并产生明显的痛觉。大鼠出现类似于扭体反应的行为学变化, 伤害性反应频率从 0~60 次不等, 持续时间到 45 min 左右<sup>[30]</sup>。

该模型与临床上的输尿管梗阻表现类似, 是一种长时程的内脏痛模型, 特异性强, 行为学变化明显。但操作难度较大, 结石形成的时间和形态不一, 故而限制了该模型的应用范围。

(2) 输尿管结扎模型: 大鼠腹部中线做切口, 沿切口用尼龙线在输尿管绑一个宽松的结, 随着时间的变化(时间点是根据腹部切口和肠管刺激产生的脊髓 c-Fos 表达消失得出), 术后 8 天尼龙线末端已被绑扎紧输尿管, 大鼠表现出弓背、拉伸身体、下腹部向地板挤压等疼痛行为<sup>[31]</sup>。该种模型的疼痛主要来自于输尿管结扎处的扩张和肾盂的扩张。

#### 7. 膀胱

(1) 急性膀胱炎模型: 通过导管将乙酸、松节油或丙烯醛等炎症刺激物注射入膀胱中, 造成膀胱炎、痛感和充盈感, 大鼠立即出现腹部收缩、撕咬、摇头等行为学反应<sup>[32]</sup>。该模型操作相对简单, 但缺乏较肯定的评分标准。

(2) 间质性膀胱炎模型: 大鼠腹腔内注射环磷酰胺 (cyclophosphamide, CYP) 或脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), 或皮下注射尿溶蛋白 II (uroplakin II, UPK 2), 产生间质性膀胱炎 (interstitial cystitis, IC), 出现呼吸频率降低、闭眼和特殊姿势等行为学变化<sup>[33]</sup>。临床上 IC 好发于女性, 但用环磷酰胺建立的 IC 模型, 大鼠性别在行为学评分中差异无统计学意义<sup>[34]</sup>。该模型操作简单、刺激中等。环磷酰胺会对多个脏器产生影响, 进而影响动物行为学改变, 故特异性有待进一步验证。

#### 8. 子宫

子宫颈扩张模型: 在大鼠宫颈两侧分别穿过一金属钩, 金属钩的另一端分别连接一个相同重量的砝码, 持续 10 s, 制造大鼠子宫颈扩张模型 (uterine cervical

distension, UCD), 大鼠腹直肌肌电图出现重量依赖性活跃, 在单侧砝码重量达 75 g 时达到最大活跃<sup>[35]</sup>。

#### 9. 腹腔

广泛性炎症性内脏痛模型: 向动物腹腔中注射化学刺激物, 引起典型的动物腹部肌肉收缩, 同时伴有一侧躯体伸缩的特征性行为反应, 此反应称为扭体反应。腹腔注射后潜伏期为 3~5 min, 15~20 min 扭体反应频率升高。此方法可以应用于多种动物, 以小鼠和大鼠最佳。化学刺激物有多种, 如高渗盐水、等渗的酸或碱溶液、乳酸、各种含氯化、钠盐或钾盐的溶液、硫酸镁、缓激肽等。应用最普遍的是乙酸, 浓度为 0.3%~1%, 小鼠 5~10 ml/kg<sup>[36,37]</sup>, 大鼠 10 ml/kg<sup>[38]</sup>。该模型的优点是操作方便, 对动物影响轻微; 不必麻醉动物, 避免麻醉药对模型的影响; 行为反应即时出现, 变化明显, 为应用最为广泛的内脏痛模型之一, 是外周镇痛药评价的最常规方法, 特别适用于筛选非麻醉性镇痛药。缺点为由于化学物质在腹腔内的扩散程度和速度不一, 从而造成动物神经生理和行为的差异; 化学物质刺激腹膜壁层, 产生躯体痛, 造成内脏痛与躯体痛共存。约有 8% 的动物不会出现痛反应。特别要注意的是, 一些对人无镇痛作用的药物, 如阿托品, 在该模型上可产生抑制痛反应。因此, 该模型的特异性存在疑问。

#### 三、总结与展望

内脏痛一直是疼痛领域的研究热点和难点。疼痛相关的基础研究进展很快, 但其临床转化应用却十分困难, 开展动物研究是非常必要的。在新药和新的治疗方法研发中, 动物实验研究是先导, 动物实验的结果将为临床试验研究提供安全有效的科学实验依据, 拟订比较妥善而有效的临床研究方案, 确保临床试验研究安全有效。大多数情况下, 药物对人和实验动物的作用在性质上是相似的, 不能低估动物实验的重大意义。动物实验不仅有理论的意义, 而且对临床实践也能起到一定的指导作用。

内脏痛的动物模型以啮齿类为主, 但其他的实验动物同样是不能忽视的: 如猫在神经病学研究的知识构筑和发展过程中起到的贡献。其神经系统发达, 上文提到的辣根过氧化物酶 (HRP) 即经常使用在猫身上, 以进行神经传导通路的研究, 对去脑实验耐受力强, 反射机能与人近似, 适宜作观察各种反应的实验; 犬类易于调教, 通过短期训练即可较好地配合, 非常适合用于慢性研究, 其消化系统发达, 肠道微生物菌群基因和人接近, 适用于慢性消化系统研究; 猪和人的免疫系统、心血管系统、

消化系统以及骨骼发育和营养需求类似,其体型大小和驯服习性允许进行反复采样和进行各种外科手术,基因多样、繁殖周期短、生产力高,一窝产仔多,便于根据特殊需要进行选育,在心血管疾病、胃肠道疾病、营养性疾病和皮肤病等医学科学研究中有着广泛的应用。这些实验动物有着啮齿类截然不同的特点,因此,以其他物种为基础的内脏痛动物模型是可行的也是必要的,提出新的不同物种的实验动物模型对于内脏痛将会有着巨大的推动作用。

本文总结的内脏痛模型是当前常见的、应用广泛的,同时相对能较好模拟临床疾病。虽然相关研究取得了一定的进展,但由于内脏痛本身的特殊性和复杂性,仍有许多问题亟待解决。一些模型因其缺点过于明显,其应用有限,甚至已被淘汰。例如电刺激内脏大神经(greater splanchnic nerve, GSN)诱发内脏痛模型,虽然模型可重复性好,刺激参数可控,但会引起动物血压、心率、呼吸等的改变,且电刺激并非生理性刺激,与临床疾病相差甚远,故本文并未纳入。又如输尿管扩张模型扩张压力的报道不尽相同,且行为学表现不太具有特异性,目前已逐渐被输尿管结石模型所取代。因此本文并未对所有的内脏痛动物模型做一一描述,但这些模型为内脏痛的研究提供了代表性的方法,以利于新的假说提出和新的机制的探讨。现有的动物模型都或多或少的存在一定的缺点,限制了其在实验室研究和转化医学中的应用,因此,需要设计出更理想动物模型,加以总结论证,进一步推动该领域的研究。

### 参 考 文 献

- [1] Liu X, Zhang Q, Han M, *et al.* Intrapericardial capsaicin and bradykinin induce different cardiac-somatic and cardiovascular reflexes in rats[J]. *Auton neurosci-basic*, 2016, 198:28-32.
- [2] 侯晓来, 王晋平, 郭政. 可乐定对大鼠急性心肌缺血性内脏痛的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2009, 29(7):630-632.
- [3] Zhou J, Li S, Wang Y, *et al.* Effects and mechanisms of auricular electroacupuncture on gastric hypersensitivity in a rodent model of functional dyspepsia[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3):e0174568.
- [4] John, H, Winston, *et al.* Developmental origins of functional dyspepsia-Like gastric hypersensitivity in rat[J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(3):570-579.e3.
- [5] Dai F, Lei Y, Li S, *et al.* Desvenlafaxine succinate ameliorates visceral hypersensitivity but delays solid gastric emptying in rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 305(4):G333-G339.
- [6] Zhang X, Jiang C, Tan Z, *et al.* Vagal motor neurons in rats respond to noxious and physiological gastrointestinal distention differentially[J]. *Eur J Neurosci*, 2002, 16(11):2027-2038.
- [7] Hong YP, Chen C, Guo WY, *et al.* Effects of castanospermine on inflammatory response in a rat model of experimental severe acute pancreatitis[J]. *Arch Med Res*, 2016, 47(6):436-445.
- [8] Vardanyan M, Melemedjian OK, Price TJ, *et al.* Reversal of pancreatitis-induced pain by an orally available, small molecule interleukin-6 receptor antagonist[J]. *Pain*, 2010, 151(2):257-265.
- [9] Xu C, Shen J, Zhang J, *et al.* Recombinant interleukin-1 receptor antagonist attenuates the severity of chronic pancreatitis induced by TNBS in rats[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 93(4):449-460.
- [10] Takahashi M, Mutoh M, Ishigamori R, *et al.* Involvement of inflammatory factors in pancreatic carcinogenesis and preventive effects of anti-inflammatory agents[J]. *Semin Immunopathol*, 2013, 35(2):203-227.
- [11] Wang L, Liu Hl, Yuan P. Proteomic analysis of pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatic carcinoma in rat models[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(11):1434-1441.
- [12] Lin SS, Zhang RQ, Shen L, *et al.* Alterations in the gut barrier and involvement of Toll-like receptor 4 in murine postoperative ileus[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018, 30(6):e13286.
- [13] Zhou Q, Yang L, Larson S, *et al.* Decreased miR-199 augments visceral pain in patients with IBS through translational upregulation of TRPV1[J]. *Gut*, 2016, 65(5):797-805.
- [14] Zhang YB, Guo ZD, Li MY, *et al.* Gabapentin effects on PKC-ERK1/2 signaling in the spinal cord of rats with formalin-induced visceral inflammatory pain [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10):e0141142.
- [15] Barreau F, Ferrier L, Fioramonti J, *et al.* New insights in the etiology and pathophysiology of irritable bowel syndrome: contribution of neonatal stress models[J]. *Pediatr Res*, 2007, 62(3):240-245.
- [16] Ménard C, Pfau ML, Hodes GE, *et al.* Immune and neuroendocrine mechanisms of stress vulnerability and resilience[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2017, 42(1):62-80.
- [17] Fuentes IM, Christianson JA. The influence of early life experience on visceral pain[J]. *Front Syst Neurosci*, 2018, 12:2.
- [18] Chen ZY, Zhang XW, Yu L, *et al.* Spinal toll-like receptor 4-mediated signalling pathway contributes to visceral hypersensitivity induced by neonatal colonic irritation in rats[J]. *Eur J Pain*, 2015, 19(2): 176-186.

- [19] Zhu L, Zhao L, Qu R, *et al.* Adrenergic stimulation sensitizes TRPV1 through upregulation of cystathionine  $\beta$ -synthetase in a rat model of visceral hypersensitivity[J]. *Sci Re*, 2015, 5(18):16109.
- [20] Schwetz I, Bradesi S, Mcroberts JA, *et al.* Delayed stress-induced colonic hypersensitivity in male Wistar rats: Role of neurokinin-1 and corticotropin-releasing factor-1 receptors[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 286(4):G683-G691.
- [21] Moloney RD, O'Mahony SM, Dinan TG, *et al.* Stress-induced visceral pain: Toward animal models of irritable-bowel syndrome and associated comorbidities[J]. *Front Psychiatry*, 2015, 6:15.
- [22] 张弘弘, 孙艳, 徐广银. 慢性内脏痛的病理机制研究和临床治疗新进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2017, 23(1):2-20.
- [23] Wang HJ, Xu X, Xie RH, *et al.* Prenatal maternal stress induces visceral hypersensitivity of adult rat offspring through activation of cystathionine- $\beta$ -synthase signaling in primary sensory neurons[J]. *Mol Pain*, 2018, 14:174480691877740.
- [24] Greenwood-Van Meerveld B, Prusator DK, Johnson AC. Animal models of gastrointestinal and liver diseases. Animal models of visceral pain: Pathophysiology, translational relevance, and challenges[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 308(11):G885-903.
- [25] Vicario M, Alonso C, Guilarte M, *et al.* Chronic psychosocial stress induces reversible mitochondrial damage and corticotropin-releasing factor receptor type-1 upregulation in the rat intestine and IBS-like gut dysfunction[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(1):65-77.
- [26] Esquerre N, Basso L, Dubuquoy C, *et al.* Aluminum ingestion promotes colorectal hypersensitivity in rodents[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2018, 7(1):185-196.
- [27] González-Cano R, Merlos M, Baeyens JM, *et al.*  $\sigma$ 1 receptors are involved in the visceral pain induced by intracolonic administration of capsaicin in mice[J]. *Anesthesiology*, 2013, 118(3):691-700.
- [28] İlkaya F, Bilge SS, Bozkurt A, *et al.* The antinociceptive effect of intravenous imipramine in colorectal distension-induced visceral pain in rats: The role of serotonergic and noradrenergic receptors[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 122(1-3):1-6.
- [29] Julia V, Mezzasalma T, Buéno L. Influence of bradykinin in gastrointestinal disorders and visceral pain induced by acute or chronic inflammation in rats[J]. *Dig Dis Sci*, 1995, 40(9):1913-1921.
- [30] Sandner P, Tinel H, Affaitati G, *et al.* Effects of PDE5 inhibitors and sGC stimulators in a rat model of artificial ureteral calculosis.[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10):e0141477.
- [31] Westlund KN. Animal Models of Pain//Animal Models of Visceral Pain[M]. 2011, 4:50.
- [32] Birder L, Andersson KE. Animal modelling of interstitial cystitis/bladder pain syndrome[J]. *Int Neurourol J*, 2018, 22(Suppl 1):S3-S9.
- [33] 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.
- [34] Nahoko K, Asao T, Koichiro H, *et al.* Fiber type-specific afferent nerve activity induced by transient contractions of rat bladder smooth muscle in pathological states[J]. *PLoS One*, 2017, 12(12):e0189941.
- [35] Wang LZ, Liu X, Wu WX, *et al.* Phosphorylation of spinal signaling-regulated kinases by acute uterine cervical distension in rats[J]. *Int J Obstet Anesth*, 2010, 19(1):50-55.
- [36] Zapata-Morales JR, Alonso-Castro AJ, Granados-Soto V, *et al.* Assessment of the antinociceptive and ulcerogenic activity of the tapentadol-diclofenac combination in rodents[J]. *Drug Dev Res*, 2018, 79(1):38-44.
- [37] Thirunavukkarasu K, Tan B, Swearingen CA, *et al.* Pharmacological characterization of a potent inhibitor of autotaxin in animal models of inflammatory bowel disease and multiple sclerosis[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2016, 359(1):207-214.
- [38] Cao FL, Su XJ, Wang Y, *et al.* Antinociceptive effects of systemic tanshinone IIA on visceral and somatic persistent nociception and pain hypersensitivity in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 124:74-80.