

实验研究

荷瘤小鼠非创伤性辨证指标的对照研究

陈晓* 陈德溯* 方肇勤*

摘要 目的:初步建立荷瘤小鼠非创伤性辨证指标。方法:观察 H22 荷瘤小鼠瘤径(瘤重)、体重、悬尾反应、尾爪毛外观、生存期等,运用中医辨证方法筛选非创伤性辨证指标。结果:荷瘤后小鼠个体差异有扩大的趋势,瘤重与去瘤体重比值与生存天数呈高度负相关($P < 0.01$);悬尾反应明显低下($P < 0.01$),个别出现亢进变化;尾爪毛在形、质、色泽方面有瘦瘪、枯槁,色淡白或晦暗,失光泽,污物附着,形态挛缩不舒展等表现。结论:疾病动物模型亦有证可辨,根据中医八纲辨证的原则,可将荷瘤小鼠初步分为 4 种证型。

主题词 辨证/方法 肿瘤/诊断 @ 非创伤性辨证指标

中医辨证论治强调个体化诊治,而实验动物的个体差异相对较小,因此之前的有关中医证的实验动物研究大都未涉及实验动物个体差异的问题,而我们在以往的相关研究中发现,在病理状态下,实验动物个体差异有扩大的趋势^[1],说明在实验动物上也有证可辨。由此,在中医辨证论治机理的研究中,实验动物非创伤性辨证的研究是不可或缺的重要内容。本实验旨在观察荷瘤小鼠外观变化的个体差异,以冀为初步建立实验动物的非创伤性辨证指标提供证据。

1 材料和方法

1.1 动物分组与造模:健康雄性昆明小鼠 30 只(购自上海中医药大学实验动物中心),体重 $20 \pm 2\text{g}$,随机分为正常对照组 10 只,模型组 20 只。以上动物均按单笼标准化饲料喂养。抽取 H22 腹水昆明小鼠(购自中科院药物所实验动物中心)腹水 8ml,以 4 倍生理盐水稀释,常规消毒,在模型组小鼠右腋皮下注射 0.2ml。

1.2 观察项目与方法

1.2.1 体重(T)、体外瘤径(换算成瘤体积)、瘤重(LT)、去瘤体重(QT):分组造模前先称取体重,此后每周观察体重 2 次,测量瘤直径、横径 2 次,换算为瘤体积。模型组小鼠死亡后即称取瘤重,并根据瘤重和瘤体积的直线回归关系,用于今后在非创伤条件下,推算荷瘤小鼠去瘤体重。

1.2.2 瘤重比去瘤体重(L/Q)、生存天数:运用相关的分析方法,比较接种 2 周时 L/Q 值与生存天数的

关系。

1.2.3 悬尾反应(XW):捏住小鼠尾端,悬尾 30s,记录身体向上扭转次数,并根据扭转强度分为强弱二级,头部向上扭转 $> 90^\circ$ 为强扭转,1 次得 2 分; $\leq 90^\circ$ 为弱扭转,1 次得 1 分。

1.2.4 爪:肉眼结合解剖显微镜拍照(12.5 倍,1/60s,闪光光源),观察小鼠后爪的形态、色泽、质地、清洁度。每周 2 次。

1.2.5 尾:肉眼结合解剖显微镜拍照(20 倍,1/60s,闪光光源),观察小鼠尾部的色泽、质地、清洁度。每周 2 次。

1.2.6 全身活动情况:方法略。

1.3 统计学方法:相关分析、直线回归分析、 t 检验。

2 结果

2.1 瘤径和瘤重的关系:通过解剖剥取肿瘤称重,与瘤体积作相关分析,结果二者呈高度正相关($r = 0.945, P < 0.01$),进一步作回归分析,得出其直线回归方程为 $Y = 0.3044X + 1.1966$ 。根据这一方程,可在非创伤的前提下,由体外瘤径换算成瘤体积,再推算出瘤重及去瘤体重。

2.2 LT、QT、L/Q:附表表示,LT 第 3 周时较第 2 周时明显增长($P < 0.01$),第 4 周有降低的趋势;QT 逐渐增加;第 2 周时 T 标准差大于正常组体重,后期大于正常组体重;L/Q 第 3 周呈现大于第 2 周的趋势,第 4 周有下降趋势。

2.3 L/Q 与生存天数的关系:L/Q(第 2 周时)与生存天数呈负相关($r = -0.465$)。如除去 X 轴最右边的一个数值的影响,二者呈高度负相关($r = -0.723, P < 0.01$),即比值越大,生存天数越少。

2.4 后爪:正常小鼠后爪色红润泽;质饱满,形态舒展,无污物附着。荷瘤小鼠均有不同程度外观异常变化,后爪色淡白或青紫,失光泽;质瘦瘪、枯槁,污物附着;形态挛缩不舒展。

2.5 尾:正常小鼠的尾色淡红润泽;质细腻圆润,无污物附着;形态呈有力抬起状。荷瘤小鼠有不同程度外观异常变化,尾色淡白或青紫,失光泽;质地粗糙甚至呈鳞片状,瘦瘪、枯槁,污物附着;形态呈无力下垂状。

* 上海中医药大学基础医学院,上海市零陵路 530 号(200032)

收稿日期:2001-12-13;修回日期:2002-07-30

附表 A、B 两组 T、QT、LT、L/Q、XW 结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间(周)	鼠数	T(g)	QT(g)	LT(g)	L/Q	XW
模型组	0	20	21.16±1.66	—	—	—	6.17±5.18
	1	20	32.98±3.02	—	—	—	3.45±4.33
	2	18	38.27±6.88	35.58±6.36	2.69±1.28	0.07±0.03	3.11±2.87
	3	14	45.30±7.29	39.98±8.32	5.05±4.41▲	0.14±0.16	0.93±2.92*
	4	9	51.20±5.62	46.23±4.80	4.96±1.55	0.10±0.03	0.33±0.50*
正常组	0	10	20.85±1.36	—	—	—	6.40±3.03
	1	10	30.06±3.25	—	—	—	3.90±1.73
	2	10	35.15±3.36	—	—	—	3.10±2.13
	3	10	37.53±7.29	—	—	—	3.30±3.13
	4	10	39.99±4.18	—	—	—	3.50±2.50

与同期正常组比较, * $P<0.01$; 与本组第 2 周比较, ▲ $P<0.01$ (注: 模型组接种 2 周起出现死亡情况, 故鼠数逐周减少)

2.6 XW 变化: 附表表示, 正常组和模型组接种前及接种后均有个体差异, 第 2 周正常组和模型组的分值较接种前明显下降, 组间无区别; 第 3、4 周模型组较正常组显著降低($P<0.01$)。第 2 周时荷瘤小鼠在总体水平降低中, 也出现个别亢进的情况。

2.7 毛: 正常小鼠毛色白而光泽, 致密整齐且紧贴身体; 荷瘤小鼠均有不同程度毛色白中带黄, 蓬松凌乱, 脱毛等表现。

2.8 全身情况: 正常组攀爬、觅食等活动积极活跃。模型组有蜷缩畏寒, 埋于垫料中, 活动度减低或躁动等表现。

3 讨论

实验动物存在个体差异: 以往的研究提示, 在病理情况下, 实验动物存在个体差异^[2]。本次实验也表明模型组接种 2 周后体重的离散程度较正常组大, 表明在病理状态下, 个体差异有扩大的趋势。

非创伤性指标的辨证意义: (1) 瘤重与去瘤体重关系的辨证意义: 肿瘤的病机可归纳为“局部为实, 整体为虚”^[3], 实为气滞、血瘀、痰湿与邪毒胶结, 虚则气血阴阳亏损。瘤体的大小直接反映了气血痰并合凝聚等邪实的程度。体重是人体生长发育及全身营养状况的重要指标, 即中医所谓的形质状况的体现, 可作为正气盛衰的指标。实验结果显示, 瘤重与去瘤体重的比值呈现规律性的变化, 提示随病程发展, 邪正力量对比朝邪强正弱方向发展, 待后期邪正俱盛, 比值出现下降趋势。而且接种 2 周后的比值与其生存天数呈显著负相关。符合中医肿瘤病机由实转虚的特征^[4]。(2) 尾爪毛色质态的辨证意义: 根据中医辨证标准^[5]对尾爪毛色质态的辨证意义分析如下: 尾爪色淡白及毛色白中带黄、失光泽, 主气血不足; 尾爪色青紫主瘀血或虚寒; 尾爪瘦瘪、枯槁, 脱毛为阴精亏损; 尾下垂、尾爪污物附着为气衰。爪挛缩主虚寒或阴血亏虚。(3) 悬尾反应的辨

证意义: 悬尾反应主要观察小鼠的活动能力。气虚证特征是活动能力降低, 故悬尾反应可反映小鼠气虚的情况。结果显示, 模型组悬尾反应的下降幅度总体大于正常组, 提示整体气虚是荷瘤小鼠的共有特征, 但也有个别荷瘤小鼠出现反应增强的情况, 这种虚性亢进, 中医辨证应属阴虚阳亢的范畴。(4) 其他指标的辨证意义: 全身活动度减少为气虚; 畏寒蜷缩或埋于垫料下为阳虚; 躁动不安为阴虚。

荷瘤小鼠初步的辨证分型: 综合上述指标的辨证意义, 初步确定以下 4 个证型: (1) 瘀毒壅盛型: 肿块生长明显, QT 在正常范围, 无虚象, XW 正常, 多见于早期。(2) 瘀毒兼气血虚型: 瘤体生长减缓, QT 增长减缓或正常, L/Q 值增加明显, XW 降低, 尾爪色淡白或毛色白中带黄, 背毛蓬松。(3) 瘀毒兼气阴虚型: 瘤体生长减缓; QT 增长减缓或停止, L/Q 值呈最大值后有下降趋势, XW 降低或全身躁动、XW 亢进, 消瘦或尾爪瘦瘪, 尾爪色淡白, 污物附着, 爪蜷缩。(4) 阴阳亏虚型: 瘤体生长缓慢或停止, QT 增长停止或下降, L/Q 值下降, 无 XW, 尾下垂, 畏寒, 消瘦或尾爪瘦瘪枯槁, 尾爪色苍白或青紫, 污物附着明显, 脱毛, 爪蜷缩, 多见于晚期。

需说明的是, 以上指标和分型尚属初步结果, 我们将制订定量及半定量的辨证标准, 结合证的实验室指标及辨证治疗加以验证, 使之完善。

参考文献

- 1 方肇勤. 开拓证研究新途径的思考. 上海中医药杂志, 2001, (4): 4-5.
- 2 方肇勤, 管冬元, 李海燕. 不同中医治法对大鼠肝癌作用的比较. 上海中医药大学学报, 1999, 13(1): 57-59.
- 3 凌耀星. 中医治疗疑难病证 130 例纪实. 上海: 上海三联书店, 2001: 5.
- 4 李中梓. 医宗必读. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 215.
- 5 柯雪帆. 中医辨证学. 上海: 上海中医学院出版社, 1987: 87-127.