



# 近交系小鼠酒精性脂肪肝模型建立的分析

白云峰<sup>1</sup>, 李晓娟<sup>2</sup>, 李永纲<sup>1</sup>, 王立福<sup>1</sup>, 王睿林<sup>1</sup>, 李蓓<sup>2</sup>, 李瑞生<sup>2</sup>

(1. 解放军第302医院中西医结合肝病诊疗与研究 中心, 北京 100039;  
2. 解放军第302医院实验技术研究保障中心, 北京 100039)

**【摘要】** 目的 通过比较研究选择一种最佳的小鼠品系来建立良好的酒精性脂肪肝动物模型。方法 选取 BALB/c、C57 和 C3H 三种常用的近交系小鼠, 采用酒精灌胃法复制酒精性脂肪肝模型, 并对其血清生化指标和病理学改变进行综合对比分析。结果 BALB/c 模型组体重增长量和肝指数均小于对照组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); C57 和 C3H 模型组体重增长量均小于对照组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。BALB/c 模型组 ALT、AST 与对照组相比均显著升高 ( $P < 0.01$ ); C57 模型组 ALT、AST、TG 与对照组相比均显著升高 ( $P < 0.01$ ); BALB/c 模型组小鼠肝细胞胞质中出现大量散在的脂肪滴, 呈脂肪变性; 而 C57 模型组小鼠肝细胞的胞质中脂肪滴更多, 明显多于 BALB/c 和 C3H 组小鼠, 且脂滴融合成空泡, 空泡又融合成较大的囊泡结构, 汇管区出现炎性细胞浸润。结论 C57 小鼠是复制酒精性脂肪肝模型较为理想的实验动物, 也为今后研究酒精性脂肪肝疾病及其发病机制提供良好的实验平台。

**【关键词】** 小鼠; 近交系; 酒精性脂肪肝; 模型, 动物

**【中图分类号】** R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 01-0008-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.001.003

## Analysis of alcoholic fatty liver model establishment in inbred mice

BAI Yun-feng<sup>1</sup>, LI Xiao-juan<sup>2</sup>, LI Yong-gang<sup>1</sup>, WANG Li-fu<sup>1</sup>, WANG Rui-lin<sup>1</sup>, LI Bei<sup>2</sup>, LI Rui-sheng<sup>2</sup>

(1. Liver Disease Center for Combined TCM and Western Medicine, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China;  
2. Research and Technology Service Center, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

**【Abstract】 Objective** To select a best mouse strain for establishing a better animal model of alcoholic fatty liver through comparison study. **Methods** BALB/c, C57 and C3H were choose to establish alcoholic fatty liver model through alcohol gavage and the serum biochemical indicator and the results of pathology were compared. **Results** Weight gain and liver index in BALB/c model group were lower than those of the control group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); weight gain in C57 and C3H model group were lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the control group, ALT, AST levels in BALB/c model group were markedly increased ( $P < 0.01$ ); ALT, AST, TG levels in C57 model group were increased ( $P < 0.01$ ); liver cell cytoplasm appeared a large number of scattered fat droplets in BALB/c mice model group, and fat droplets in C57 model group were more than those of BALB/c and C3H model group, the hepatic steatosis degrees in C57 model group were obviously serious. **Conclusion** C57 is the better ideal experimental animal for providing a good experimental platform to study the pathogenesis of alcoholic fatty liver diseases.

**【Key words】** Mouse; Inbred strain; Alcoholic fatty liver; Model, animal

近年来酒精性肝病的发病率呈逐年上升趋势, 酒精性脂肪肝作为酒精性肝病的前期病变, 属于一

[作者简介] 白云峰(1970-), 男, 博士, E-mail: yunfengbai@aliyun.com; 李晓娟(1980-), 女, 硕士, E-mail: sxlily55@163.com。

[通讯作者] 李瑞生(1969-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事人类疾病动物模型研究, E-mail: lrsheng@sohu.com。

种可逆转的良性肝脏疾患<sup>[1]</sup>。目前国内外学者对酒精性脂肪肝的研究非常关注,但其发病机制尚不完全清楚,因此建立稳定可靠、简单易行的动物模型对研究酒精性脂肪肝的发病机制尤为重要。小鼠因其体型小、操作简便,而成为复制模型较为理想的实验动物,但小鼠的品种品系较多,大量研究者<sup>[2-5]</sup>在使用不同品系小鼠复制酒精性脂肪肝模型时其实验结果又尽相同。因此,本实验选取 BALB/c、C57 和 C3H 三种常用的近交系小鼠,采用酒精灌胃法复制酒精性脂肪肝模型,并对其血清生化指标和病理学改变进行综合对比分析,以期从中选择一种最佳实验动物来建立酒精性脂肪肝模型,为今后研究酒精性脂肪肝疾病及其发病机制提供良好的实验保障。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

选择近交系 BALB/c、C57 和 C3H 小鼠,均为 SPF 级,雄性,各 20 只,单鼠体质量为 20 ~ 22 g, BALB/c 小鼠和 C57 小鼠来自军事医学科学院实验动物中心,生产许可证【SCXK(军)2012-0004】,C3H 小鼠来自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证【SCXK(京)2011-0009】。本实验室具有 SPF 级实验动物使用许可证【SYXK(军)2012-0010】。

### 1.2 试剂及饲料

乙醇(分析纯,纯度 > 99.7%) (国药集团化学试剂有限公司,批号:20130315);生理盐水(解放军第 302 医院制剂室提供,批号:130527405,石家庄四药有限公司);小鼠饲料(购自军事医学科学院实验动物中心饲料室),生产许可证【SCXK(军)2012-0003】。

### 1.3 动物分组及模型制备

各品系小鼠均在本实验室 SPF 级屏障环境内饲养,动物自由饮水采食,3 d 后将各品系小鼠随机分为对照组(n = 10)和模型组(n = 10)。造模方法:

各组小鼠每日给予 50% 乙醇灌胃,灌胃量为 12 mL/(kg·bw),折合乙醇的剂量为 4.8 g/(kg·bw)<sup>[6]</sup>,持续 30 d,小鼠正常饮水采食鼠蛋料。对照组给予等量的生理盐水灌胃。

### 1.4 观察指标及检测方法

造模过程中每天观察各组小鼠精神状态和活动情况,每周称重一次,于实验结束前一天禁食 12 h,次日称重后经小鼠眶后静脉丛采集血液,离心取血清,使用全自动生化仪检测各组小鼠血清生化指标:天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和甘油三酯(TG)。采集各组小鼠的肝脏称重,计算其肝指数 = 肝脏重量(g)/小鼠体重(g) × 100%,然后将所有采集的肝组织用 10% 的甲醛固定、脱水、包埋、切片和 HE 染色,在光学显微镜下观察分析各组小鼠肝脏的组织病理学结果。

### 1.5 数据处理

各组的实验数据均采用 SPSS 12.0 统计软件进行 *t* 检验统计分析。

## 2 结果

### 2.1 各品系间小鼠体重增长量和肝指数的对比分析

通过对三种近交系小鼠体重增长量和肝指数的对比分析: BALB/c 模型组体重增长量和肝指数均明显小于对照组( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); C57 模型组体重增长量小于对照组( $P < 0.05$ ),肝指数不具有统计学意义; C3H 模型组体重增长量小于对照组( $P < 0.01$ ),肝指数也不具有统计学意义(表 1)。

### 2.2 各品系间小鼠血清生化指标的对比分析

通过对三种近交系小鼠血清生化指标的检测分析: BALB/c 模型组 ALT、AST 与对照组相比均显著升高( $P < 0.01$ ); C57 模型组 ALT、AST、TG 与对照组相比均显著升高( $P < 0.01$ ); C3H 模型组与对照组的 ALT、AST、TG 之间不具有统计学意义(表 2)。

表 1 三种近交系小鼠体重增长量和肝指数的对比分析

Tab. 1 Comparison of body weight gain and liver index in 3 inbred mice

名称\品系 Name\ strain	BALB/c		C57		C3H	
	模型组 Model group	对照组 Control group	模型组 Model group	对照组 Control group	模型组 Model group	对照组 Control group
体重增长量 Body weight gain	1.35 ± 0.98**	7.36 ± 0.48	1.26 ± 0.73*	2.74 ± 0.61	1.73 ± 1.43**	4.93 ± 2.66
肝指数 Liver index	0.042 ± 0.005*	0.058 ± 0.005	0.043 ± 0.008	0.045 ± 0.002	0.045 ± 0.008	0.051 ± 0.007

注:与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: compared with the control group: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

表 2 三种近交系小鼠血清生化指标的对比分析  
Tab. 2 Comparison of serum levels of ALT, AST and TG in 3 inbred mice

生化指标\品系 Biochemical indicator\ strain	BALB/c		C57		C3H	
	模型组	对照组	模型组	对照组	模型组	对照组
	Model group	Control group	Model group	Control group	Model group	Control group
ALT	46.10 ± 11.02**	21.57 ± 5.44	64.10 ± 16.16**	23.00 ± 4.58	40.20 ± 17.13	32.14 ± 5.18
AST	164.10 ± 77.14**	84.43 ± 19.39	137.40 ± 34.31**	87.43 ± 19.05	107.60 ± 30.47	102.00 ± 8.56
TG	1.53 ± 0.89	0.94 ± 0.35	1.70 ± 0.15**	0.80 ± 0.17	1.03 ± 0.40	0.94 ± 0.35

注:与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

### 2.3 各品系间小鼠肝组织病理学的分析

各对照组小鼠的肝细胞索结构完整,肝小叶结构清晰,肝细胞胞浆均匀,无脂肪空洞和炎性浸润。BALB/c 模型组小鼠肝细胞胞质中出现大量散在的脂肪滴,脂肪变性明显;而 C57 模型组小鼠肝细胞的胞质中脂肪滴更多,明显多于 BALB/c 小鼠,而且脂滴融合成空泡,空泡又融合成较大的囊泡结构,汇管区出现炎性细胞浸润, BALB/c 和 C57 模型组均未出现肝纤维化病变; C3H 组小鼠肝脏组织几乎不存在脂肪空泡,脂肪变不明显(彩插 6 图 1)。

### 3 讨论

酒精性肝病是由于长期大量饮酒所致的肝脏疾病,最初表现为脂肪肝,进而可发展为酒精性肝炎、酒精性肝纤维化和肝硬化。由于酒精性脂肪肝为可逆病变,因此研究酒精性脂肪肝的发病机制和预防措施显得尤为重要。国内外研究者<sup>[7-9]</sup>为了阐明乙醇在体内所导致肝脏损伤的发病机制,采用小鼠、大鼠、家兔和犬等动物来复制酒精性脂肪肝动物模型,但小鼠因其自身独特的优势成为最佳的实验动物,其中近交系 BALB/c 小鼠和 C57 小鼠最为常用。聂娇等<sup>[10]</sup>利用 C57 小鼠对内毒素在酒精性脂肪肝形成过程中的作用进行了相关研究; Sung 等<sup>[11]</sup>也利用 C57 小鼠探索了 IL-22 由于具有抗氧化、抗凋亡、抗脂肪变的作用而对酒精性肝损伤具有改善作用。而廖彩侗等<sup>[12]</sup>则研究表明骨髓源性肝干细胞对 BALB/c 小鼠酒精性肝纤维化病变结构和功能具有改善作用。但目前有关不同品种品系动物所建立的酒精性脂肪肝模型对于其研究结果是否存在差异还未见报道。

因此,本实验选取 BALB/c、C57 和 C3H 小鼠来建立酒精性脂肪肝模型,通过对三种近交系小鼠体重增长量和肝指数的对比分析,其模型组体重增长量均明显小于对照组,说明长期酒精灌胃对小鼠的体重增长有影响,因此小鼠在造模过程中会出现身体逐渐瘦弱的现象,甚至出现 BALB/c 模型组 3 只

动物死亡, C3H 模型组 1 只死亡的现象,可能是由于小鼠对酒精的耐受力不同以及酒精的毒性造成的死亡。而 C57 模型组未见死亡,说明 C57 小鼠对酒精的耐受性相对较强。在酒精性脂肪肝造模过程中,自由基、酶及脂质过氧化等在此过程中发挥着重要的作用,其中 ALT 和 AST 是肝细胞损伤最敏感的指标之一<sup>[13-14]</sup>。本实验中 BALB/c 和 C57 模型组 ALT、AST 与对照组相比均显著升高 ( $P < 0.01$ ),符合转氨酶升高的基本特点,另外, C57 模型组的 TG 与对照组相比也存在明显的升高现象 ( $P < 0.01$ ),而 C3H 组的生化指标无差异。在病理学检测中 C57 模型组小鼠肝细胞脂肪滴明显多于 BALB/c 和 C3H 组,而且脂滴已经融合成囊泡结构,说明了 C57 模型组小鼠的脂肪病变最明显,表明 C57 是复制酒精性脂肪肝模型最理想的实验动物,这与 Petrsek<sup>[15]</sup>、Tan<sup>[16]</sup>等选择 C57 小鼠进行酒精性脂肪肝疾病研究的理念基本一致。

综上所述,利用三种不同品系的小鼠可建立酒精性脂肪肝动物模型,但通过对其模型动物的体质量、肝指数、血清生化和组织病理学结果的综合分析,证实了 C57 小鼠成为复制酒精性脂肪肝模型较为理想的实验动物,这也为今后如何选择实验动物建立酒精性脂肪肝模型提供了理论参考,也为进一步研究酒精性脂肪肝疾病的发病机制、筛选最佳的临床预防和治疗药物提供了可靠的实验平台。

### 参考文献:

- [1] Andrew M. Miller, Norio Horiguchi, Won-IL Jeong, et al. Molecular mechanisms of alcoholic liver disease: Innate immunity and cytokines [J]. Alcohol Clin Exp Res, 2011, 35 (5): 787-793.
- [2] 彭彦卿,张梦妍,党好,等. 不同醉酒度浓香型白酒对小鼠酒精性肝损伤的影响 [J]. 现代预防医学, 2011, 38 (5): 847-849.
- [3] Lu Y, Wu D, Wang X, et al. Chronic alcohol-induced liver injury and oxidant stress are decreased in cytochrome P4502E1 knockout mice and restored in humanized cytochrome P4502E1

- knock-in mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49 (9): 1406 - 1416.
- [ 4 ] Sun F, Xie M L, Zhu L J, et al. Inhibitory Effect of Osthole on Alcohol-induced Fatty Liver in Mice [J]. *Digest Liver Dis*, 2009, 41: 127 - 133.
- [ 5 ] 薛晓伟, 丰平, 董坤, 等. 槲芪散对小鼠酒精性肝损伤的干预作用[J]. *实验动物科学*, 2010, 27(4): 27 - 32.
- [ 6 ] 付萍, 杨铭, 陈颖丽, 等. 玉米肽对小鼠酒精性肝损伤保护作用的研究[J]. *中国中医药科技*, 2008, 15(2): 115 - 116.
- [ 7 ] 刘安军, 孙海波, 张国蓉, 等. 硒酸精氨酸对小鼠酒精性肝损伤的保护作用, *中国比较医学杂志*, 2007, 17(9): 533 - 538.
- [ 8 ] 牛术仙, 仲云, 李勇. 肝脂清治疗酒精性脂肪肝大鼠的实验研究[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2011, 21(2): 97 - 98.
- [ 9 ] 李晓娟, 张大鹏, 隋丽华, 等. 超声在评价大鼠酒精性脂肪肝模型中的应用[J]. *中国比较医学杂志*, 2013, 23(4): 19 - 22.
- [ 10 ] 聂娇, 李鑫, 徐有青. 内毒素在酒精性肝病肠损伤中的作用[J]. *实用肝脏病杂志*, 2012, 15(3): 206 - 208.
- [ 11 ] Sung H K, Park O, Zheng M Q, et al. Interleukin - 22 treatment ameliorates alcoholic liver injury in a murine model of chronic-binge ethanol feeding; Role of STAT3 [J]. *Hepatology*, 2010, 52 (4): 1291 - 1300.
- [ 12 ] 廖彩佶, 廖彩仙, 廖欣鑫, 等. 骨髓单个核细胞移植对小鼠酒精性肝纤维化的影响[J]. *临床医学工程*, 2011, 18(1): 13 - 14.
- [ 13 ] 郑荣梁, 黄中洋. 自由基生物学[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2007: 95 - 108.
- [ 14 ] 朱强, 王科, 钱晓锋, 等. 改良小鼠酒精性肝损伤模型的建立[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2010, 4(9): 1532 - 1536.
- [ 15 ] Petrasek J, Dolganiuc A, Csak T, et al. Interferon regulatory factor 3 and Type I interferons are protective in alcoholic liver injury in mice via cross-talk of parenchymal and myeloid cells [J]. *Hepatology*, 2011, 53(2): 649 - 660.
- [ 16 ] Tan X, Sun X, Li Q, et al. Leptin deficiency contributes to the pathogenesis of alcoholic fatty liver disease in mice [J]. *The American Journal of pathology* [J]. 2012, 181(4): 1279 - 1286.

[ 修回日期 ] 2013-12-04

## (上接第 18 页)

- [ 9 ] 路倩, 陈五军, 尹凯, 等. 动脉粥样硬化中胆固醇外流的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2012, 39(4): 319 - 326.
- [ 10 ] Steinberg D, Glass CK, Witztum JL. Evidence mandating earlier and more aggressive treatment of hypercholesterolemia [J]. *Circulation*, 2008, 118(6): 672 - 677
- [ 11 ] 倪艳波, 张丽霞, 杨静, 等. 灰树花多糖对高血压模型大鼠心脏血流动力学的影响[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(25): 12037 - 12038
- [ 12 ] 陈康联. 代谢综合征与心血管疾病研究进展[J]. *贵州医药*, 2012, 36(4): 365 - 368.
- [ 13 ] 徐雷, 冯波, 王华, 等. 2 型糖尿病大鼠动脉粥样硬化模型不同制备方法探讨[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16(9): 707 - 709.
- [ 14 ] Moghadasian MH, Frohlich JJ, McManus FB. Advances in Experimental Dyslipidemia and Atherosclerosis [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(9): 1173 - 1183
- [ 15 ] Moghadasian MH. Experimental atherosclerosis, a historical overview [J]. *Life Sciences*, 2002, 70: 855 - 865.

[ 修回日期 ] 2013-11-18