

昂小杰,李森,周峰,等. 间质性膀胱炎动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 148-152.

Ang XJ, Li M, Zhou F, et al. Research progress on establishing interstitial cystitis models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 148-152.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.022

间质性膀胱炎动物模型的研究进展

昂小杰,李森,周峰,蔡宗强,陈卫国*

(苏州大学附属第一医院泌尿外科,江苏 苏州 215006)

【摘要】 间质性膀胱炎(interstitial cystitis, IC),也称膀胱疼痛综合征(bladder pain syndrome, BPS),是泌尿外科常见疾病之一,发病机制复杂,现缺乏标准的IC动物模型来进行全面深入的研究。目前,IC模型包括化学药物膀胱灌注、环磷酰胺腹腔内注射、自身免疫性膀胱炎、神经源性炎症及心理和生理压力/自然模型等,每种模型都有其优缺点。本文就近年来IC动物模型的研究进展做一综述。

【关键词】 间质性膀胱炎;膀胱疼痛综合征;动物模型;发病机制;炎症

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)01-0148-05

Research progress on establishing interstitial cystitis models

ANG Xiaojie, LI Miao, ZHOU Feng, CAI Zongqiang, CHEN Weiguo*

(the First Affiliated Hospital Of Soochow University, Suzhou 215006, China)

Corresponding author: CHEN Weiguo. E-mail:urologistchen@163.com

【Abstract】 Interstitial cystitis (IC), also known as bladder pain syndrome, is a common urological disease. As the IC pathogenesis is complex, no standard animal model has been established for the comprehensive and in-depth study of IC. Current IC models include intravesical infusion of chemical drugs, intraperitoneal injection of cyclophosphamide, autoimmune cystitis, neurogenic inflammation and psychological and physiological stressors/natural models. Each model has advantages and disadvantages. This paper reviews the research progress on animal models of IC.

【Keywords】 interstitial cystitis; bladder pain syndrome; animal models; pathogenesis; inflammation

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

间质性膀胱炎(interstitial cystitis, IC),又称为膀胱疼痛综合征(bladder pain syndrome, BPS),是一种慢性炎症性膀胱病变,临床表现为与膀胱充盈相关的疼痛或盆腔不适,伴下尿路症状,如尿频或尿急^[1]。其好发于女性,女性发病率大约为男性的5倍,甚至更高。通常伴发睡眠功能障碍、焦虑、抑郁和性功能障碍,严重影响患者的生活质量^[2]。IC/BPS的发病机制尚未明确,目前仅提出糖胺聚糖层(glycosaminoglycan, GAG)的损害、肥大细胞活化、神经源性炎症及自身免疫性炎症等相关假说^[3]。基于这些假说,研究人员建立了化学药物膀胱内滴注、腹腔注

射环磷酰胺(cyclophosphamide, CYP)、自身免疫性膀胱炎和神经源性炎症及心理和生理压力/自然模型等IC动物模型^[4]。本文综述了近年来各种IC动物模型,并分析了不同动物模型的特点和不足之处。

1 动物模型分类和特点

IC/BPS的病因未明,目前没有标准的动物模型。基于各类假说,大约20多种动物模型已经在过去的几十年制备出来。从1980年到2000年,IC模型通常是通过膀胱内滴注化学刺激物(如盐酸、乙酸或丙酮等^[5-7])诱导膀胱炎症;2000年以后,CYP

【基金项目】江苏省重点学科(ZDXKA2016012)。

Funded by Jiangsu Provincial Key Medical Discipline (ZDXKA2016012).

【作者简介】昂小杰(1992—),男,硕士在读。Email:861101051@qq.com

【通信作者】陈卫国,男,副教授,硕士生导师,主要从事女性泌尿疾病及泌尿生殖系肿瘤研究。Email:urologistchen@163.com

的全身给药、自身免疫或全身性诱导的动物模型越来越多。目前常用模型大致分为以下五类,各类模型优缺点归纳如下。见表 1。

1.1 膀胱内药物滴注模型

自发现 IC/BPS 起,研究人员就一直围绕着膀胱区疼痛或不适及下尿路症状来建模。早期通常非选择性的向动物膀胱内滴注酸性刺激物引起膀胱的急性炎症。Song 等^[8]向 8 周龄雌性 SD 大鼠膀胱内滴注 0.1 mol/L 盐酸,观察到大鼠排尿间隔缩短、膀胱黏膜腐蚀及肥大细胞浸润。但这些模型一般诱导急性膀胱炎症,表型维持时间短,目前已较少使用。

后来,研究发现通过选择性损伤 GAG 层,改变尿路上皮渗透率,也可以用来建立 IC 模型。Ryu 等^[9]通过向 8 周龄雌性 SD 大鼠膀胱灌注 10 mg 硫酸鱼精蛋白,并且每周灌注 2 次 750 μ g 脂多糖,5 周后发现大鼠排尿间隔明显缩短,且伴有膀胱尿路上皮剥脱、肥大细胞浸润和细胞凋亡的显著增加。Lv 等^[10]每周向两组雌性 SD 大鼠膀胱内分别灌注低剂量透明质酸酶(1 mg/mL)及高剂量透明质酸酶(4 mg/mL) 3 次,持续 4 周,观察发现大鼠均呈现膀胱慢性炎症和纤维化、肥大细胞活化及膀胱上皮缺失,而且高剂量透明质酸酶组大鼠膀胱病理改变更显著。

这类模型直接作用于膀胱,机理简单,成本较低,能够很好地还原人类 IC/BPS 的表型。但是,此法需尿道插管,特别是对于小鼠存在一定的技术要求,需反复操作,容易损伤尿道,引起小鼠尿道狭窄及炎症的可能性。总的来说,此类模型符合目前人们对于 IC/BPS 的认知,应用较为广泛。

1.2 腹腔内注射 CYP 模型

CYP 作为一种氮芥类衍生物,可由脱氢酶转变为羧磷酸胺而失活,或以丙烯醛形式排出。丙烯醛是一种刺激性化合物,通过肾脏过滤清除,在膀胱中积聚导致组织损伤。Hu 等^[11]将成年雌性 Wistar 大鼠随机分为 CYP-4 h、CYP-48 h 和 CYP-10 d 组,CYP-4 h 和 CYP-48 h 组的大鼠接受单次高剂量给药(150 mg/kg,腹膜内),而 CYP-10 d 第 1、4、7 和 10 天重复接受低剂量 CYP(75 mg/kg,腹膜内)给药,结果显示重复低剂量 CYP 治疗产生了更明显的炎症反应、粘膜侵蚀、溃疡、水肿区域及瘀点出血,而高剂量较低剂量组发生了明显的自身行为改变及活动度的降低。为了观察在小鼠中是否同样如此,Golubeva 等^[12]向 8 周龄 C57BL/6J 雌性小鼠第

0、2、4 及 6 天重复低剂量 CYP(80 mg/kg,腹膜内)给药,发现小鼠膀胱组织中炎症因子表达和肥大细胞数量的轻度增加,却没有出现大量炎性浸润、组织出血和尿路上皮损伤的表现,且 CYP 诱导后尿路上皮呈增生改变。

CYP 诱导的动物模型经济且给药方便,通常单次高剂量 CYP 24 h 内就诱发 IC/BPS 的许多典型特征,如疼痛相关行为、膀胱水肿、大量炎性细胞浸润、出血和粘膜破坏。如反复给予低剂量 CYP,可以很好地诱发 IC/BPS 患者的疼痛症状及下尿路症状。通常认为单次高剂量给药诱导急性出血性膀胱炎,而重复多次低剂量给药诱导出慢性膀胱炎,且小鼠与大鼠不同,长期注射 CYP 后可引起小鼠膀胱尿路上皮增生改变,不符合溃疡型 IC/BPS 的特征,目前更主张将其应用到非溃疡型 IC/BPS 中。根据国内外相关报道,此类模型应用最多,是一种经过充分研究的模型,其在稳定性及可操作性上具备独特优势。

1.3 自身免疫模型

尿溶蛋白(uroplakin, UPK)属于异二聚体整合膜蛋白家族,是终末分化的尿路上皮细胞形成的不对称单位膜的一部分,可通过刺激 CD4+促炎性 Th1 样 T 细胞产生自身免疫性炎症^[13]。因此,Song 等^[8]将 200 μ g UPK2 皮下注射到 8 周龄雌性 SD 大鼠的腹侧区域,2 周后大鼠的排尿间隔明显缩短、排尿容量减低且膀胱内肥大细胞活化及炎症因子明显升高,但未表现出骨盆区慢性疼痛。Izgi 等^[14]向 6 ~ 8 周龄雌性 BALB/c 小鼠腹部皮下注射 200 μ g UPK3A 65-84 肽,5 周后发现 UPK3A 65-84 肽可以诱发主要的 IC 表型,包括骨盆区慢性疼痛,并且可以维持此慢性疼痛。另外,Liu 等^[15]开发了一种名为 URO-OVA 转基因小鼠,其表达模型抗原卵白蛋白(OVA)的膜形式,作为膀胱上皮细胞上的自身抗原,其在第 7 天自发 IC 样组织学膀胱炎症,包括肥大细胞浸润和炎症因子的增加。

相较于其他模型,自身免疫模型能够很好地诱发 IC/BPS 的典型症状,无需导尿,操作相对简单,避免损伤实验动物的尿道,减少因尿道损伤导致炎症而引起尿道疼痛及炎症,但其制备成本较高,故不宜大面积推广,目前仍作为免疫学说的研究模型。

1.4 神经炎症模型

基于神经炎症理论基础,Yang 等^[16]通过向 10 ~ 14 周龄的 BALB/c 雌性小鼠外展肌尾侧肌注射

2. 29×10^6 pfu 的伪狂犬病毒 (pseudorabies virus, PRV), 并注射等量灭活 PRV 作为对照, 结果显示 PRV 感染的小鼠的膀胱中炎症因子 TNF 及肥大细胞数量明显升高。通过 PRV 诱导的神经源性膀胱炎是一种特异性骨盆疼痛模型, 对模拟内脏疼痛行为有独特优势^[17]。

神经炎症模型不直接作用于膀胱, 能模拟 IC/BPS 患者主要症状, 特别是对于神经源性炎症的研究至关重要。不过, 研究发现动物膀胱在注射病毒 5 d 后就会失去张力, 因此其稳定性仍需验证。

1.5 心理和生理压力/自然模型

此类模型包括各种压力模型、猫科动物 IC 模型、注射苯肾上腺素和控制环境温度或光线的模

型。虽然目前机制尚未阐明, 但自主神经系统中交感神经的激活可能起关键作用。

Wang 等^[18]将实验组雌性 Wistar-Kyoto 大鼠暴露于避水应激 (water avoidance stress, WAS) 下 10 d, 对照组不施加干涉, 发现实验组较对照组膀胱充盈期间内脏发生超敏反应、膀胱收缩增强及排尿次数增加, 但实验组大鼠的膀胱容量未发生明显变化。猫科动物 IC 模型虽然与人类疾病最相似, 是 IC 的自然发生模型, 但由于其未知的病因, 以及维持和处理猫的高成本, 目前较少使用^[19]。Charrua 等^[20]连续每日向雌性 Wistar 大鼠皮下注射苯肾上腺素 14 d, 剂量为 2.5 mg/kg, 发现其诱发了内脏疼痛、膀胱反射活动增加及肥大细胞活化等。

表 1 各种类型 IC 动物模型比较

Table 1 Comparison of different types of IC animal models

动物模型 Animal model	制备药物 Preparation of drugs	膀胱病理改变 Pathological changes of bladder	优缺点 Advantages and disadvantages	参考文献 Reference
膀胱内药物滴注模型 Intravesical drug infusion model	盐酸、乙酸或丙酮等 Hydrochloric acid, acetic acid or acetone, etc.	膀胱黏膜的侵蚀及肥大细胞浸润 Erosion of bladder mucosa and infiltrated of mast cell.	成本低, 但一般诱导出急性炎症, 表型维持时间短, 目前已较少使用。 The cost is low, but it generally induces acute inflammation and the phenotypic maintenance time is short, so it has been rarely used at present.	[5-9]
	透明质酸酶 Hyaluronidase	膀胱慢性炎症和纤维化、肥大细胞活化及膀胱上皮缺失 Chronic inflammation and fibrosis of bladder, activated of mast cells and loss of bladder epithelium	成本低, 能很好地还原人类 IC/BPS 的表型。但需行反复导尿, 对于小鼠存在一定的技术要求。 It has low cost and can well restore the phenotype of human IC/BPS. However, repeated catheterization is required, and there are certain technical requirements for mice.	[10, 22]
腹腔内注射 CYP 模型 Model of intraperitoneal injection of CYP	CYP	尿路上皮增生、肥大细胞浸润 Urothelial hyperplasia and infiltrated of mast cell	经济、给药方便, 较为成熟, 但小鼠膀胱上皮呈增生改变, 不符合人溃疡型 IC 改变。 It is economical, convenient and mature, but the bladder epithelium of mice shows proliferative changes, which does not accord with the changes of human ulcerative IC.	[11-12]
自身免疫模型 Autoimmune model	UPK	IC 样组织学膀胱炎症, 肥大细胞浸润和炎症因子升高 IC-like histological cystitis, infiltrated of mast cell and elevated inflammatory factors	模型比较理想, 但是制备成本高, 不宜大面积推广。 The model is ideal, but the preparation cost is high, so it is not suitable to be popularized in a large area.	[8, 14]
神经炎症模型 Neuroinflammatory model	PRV	肥大细胞浸润、炎症因子升高 Infiltrated of mast cell and elevated inflammatory factors	操作简单, 对于模拟骨盆疼痛有独特优势, 需大量实验证明其稳定性。 It is easy to operate and has a unique advantage in simulating pelvic pain, and a large number of experiments are needed to prove its stability.	[16-17]
心理和生理压力/自然模型 Psychological and physical stress/natural model	WAS 或苯肾上腺素 WAS or phenylephrine	肥大细胞活化 Activated of mast cells	较为新颖, 反映了人类状况的压力变化, 但需证明其稳定性。 It is relatively novel and reflects the pressure change of human condition, but its stability needs to be proved.	[18-20]

WAS 模型反映了人类状况的压力变化,并且表现出患者中出现的许多关键症状,较为新颖,可作为动物模型来阐明导致 IC/BPS 患者的内脏敏感性脑表型的机制。此外,采用多学科的方法,评估了该模型来研究泌尿系统慢性骨盆疼痛综合征的可行性^[21]。WAS 模型和苯肾上腺素模型不仅重现了 IC/BPS 膀胱的变化,而且还诱导了可能在 IC/BPS 患者中发现的全身性改变,为 IC/BPS 提供了新的研究方向。

2 模型评估标准

IC/BPS 的主要症状为尿频、尿急及膀胱区疼痛。因此,是否能表达所有表型成为 IC 动物模型评估的标准。

为了观察膀胱活动,徐曦等^[22]将 PE-50 导管置入大鼠膀胱,连接多通道生理信号采集处理系统,以速度为 10 mL/h 灌注生理盐水,记录大鼠膀胱收缩间歇及排尿频率。Lai 等^[23]将小鼠置于单独的定制排尿笼中,以 12 h 光照和 12 h 黑暗循环 24 h 实时记录排尿习惯。关于疼痛的评估,Governò 等^[24]使用一组尺寸为 1.65 ~ 5.07 的 von Frey 细丝,通过垂直于膀胱表面施加 von Frey 细丝并记录动物的反应来评估耻骨上骨盆区域的触觉敏感性。阳性行为是:①腹部急剧收缩,②即时舔和刮擦,③跳跃。从最小的细丝开始,每个细丝总共施加 10 次,持续 3 s,每次刺激之间间隔为 8 s。记录每根单丝的阳性反应百分比(响应频率),通过响应频率对应数图的线性部分绘制的回归线计算每只小鼠的 von Frey 力。

3 总结与展望

IC/BPS 是一种病因未明的慢性疼痛疾病。为了更好地了解其病理生理学,已经付出许多努力来创建 IC 动物模型。大多数现有的 IC 模型是通过对健康动物施以有害物质,引起膀胱内或全身刺激,来重现人类患者的症状和全身变化。这些模型虽然有助于理解各种机制,但是仅限于证明膀胱和神经系统如何对伤害性刺激做出反应,并不能反映 IC/BPS 复杂的相互作用和病理生理学。

目前,关于构建 IC 模型的所有方法中,任何单一模型都无法模拟人类疾病的所有方面。因此,在后续的研究工作中应着重对以下方面进行改进:①膀胱内药物滴注作为常用方法,能很好地还原人类

IC/BPS 的表型,但需反复灌注,特别对于小鼠有一定的操作难度及尿道狭窄的可能;②腹腔内注射 CYP 作为应用最多的方法,是一种方便且经过充分研究的模型,但针对小鼠造模,其膀胱黏膜呈增生改变,不符合人类溃疡型 IC/BPS 改变,需要联合其他方法共同造模;③自身免疫模型兼顾了 IC/BPS 全身症状,但其制备成本高,需进一步优化剂量;④其他造模方法目前较为新颖,更加关注模拟患者的全身症状,为研究提供可新方向,但需长期观察其其稳定性。

综上所述,IC/BPS 现病因未明,模型多样,各具优缺点,尚没有标准的动物模型,但是可以改良现有的模型适应不同的研究需求。构建理想的 IC 模型将随着对疾病的认识不断加深,相信在不久的将来会实现。

参 考 文 献(References)

- [1] Malde S, Palmisani S, Al-Kaisy A, et al. Guideline of guidelines: bladder pain syndrome [J]. *BJU Int*, 2018, 122 (5): 729-743.
- [2] 王旭, 邓晓敬. 膀胱疼痛综合征/间质性膀胱炎的研究进展 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(20): 2235-2238. Wang X, Deng XJ. Research progress of bladder pain syndrome/interstitial cystitis [J]. *J Clin Exp Med*, 2018, 17(20): 2235-2238.
- [3] Rourke W, Khan SA, Ahmed K, et al. Painful bladder syndrome/interstitial cystitis: aetiology, evaluation and management [J]. *Arch Ital Urol Androl*, 2014, 86(2): 126-131.
- [4] Westropp JL, Buffington CA. In vivo models of interstitial cystitis [J]. *J Urol*, 2002, 167(2 Pt 1): 694-702.
- [5] Kato K, Kitada S, Longhurst PA, et al. Time-course of alterations of bladder function following acetone-induced cystitis [J]. *J Urol*, 1990, 144(5): 1272-1276.
- [6] El-Hamamsy D. Bladder wall injection of mesenchymal stem cells ameliorates bladder inflammation, overactivity and nociception in a chemically induced interstitial cystitis-like rat model [J]. *Int Urogynecol J*, 2019, 30(5): 845-846.
- [7] Lee YL, Lin KL, Chuang SM, et al. Elucidating mechanisms of bladder repair after hyaluronan instillation in ketamine-induced ulcerative cystitis in animal model [J]. *Am J Pathol*, 2017, 187 (9): 1945-1959.
- [8] 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.
- [9] Ryu CM, Yu HY, Lee HY, et al. Longitudinal intravital imaging of transplanted mesenchymal stem cells elucidates their functional integration and therapeutic potency in an animal model of interstitial cystitis/bladder pain syndrome [J]. *Theranostics*,

- 2018, 8(20):5610-5624.
- [10] Lv YS, Yao YS, Rong L, et al. Intravesical hyaluronidase causes chronic cystitis in a rat model: a potential model of bladder pain syndrome/interstitial cystitis[J]. *Int J Urol*, 2014, 21(6):601-607.
- [11] Hu VY, Malley S, Dattilio A, et al. COX-2 and prostanoid expression in micturition pathways after cyclophosphamide-induced cystitis in the rat [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 284(2):R574-585.
- [12] Golubeva AV, Zhdanov AV, Mallel G, et al. The mouse cyclophosphamide model of bladder pain syndrome: tissue characterization, immune profiling, and relationship to metabotropic glutamate receptors [J]. *Physiol Rep*, 2014, 2(3): e00260.
- [13] Lee G. Uroplakins in the lower urinary tract [J]. *Int Neurourol J*, 2011, 15(1):4-12.
- [14] Izgi K, Altuntas CZ, Bicer F, et al. Uroplakin peptide-specific autoimmunity initiates interstitial cystitis/painful bladder syndrome in mice [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72067.
- [15] Liu W, Evanoff DP, Chen X, et al. Urinary bladder epithelium antigen induces CD8+T cell tolerance, activation, and autoimmune response [J]. *J Immunol*, 2007, 178(1): 539-546.
- [16] Yang W, Yaggie RE, Jiang MC, et al. Acyloxyacyl hydrolase modulates pelvic pain severity [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2018, 314(3): R353-r365.
- [17] Rudick CN, Chen MC, Mongiu AK, et al. Organ cross talk modulates pelvic pain [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293(3): R1191-1198.
- [18] Wang Z, Chang HH, Gao Y, et al. Effects of water avoidance stress on peripheral and central responses during bladder filling in the rat: A multidisciplinary approach to the study of urologic chronic pelvic pain syndrome (MAPP) research network study [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0182976.
- [19] Buffington CA, Pacak K. Increased plasma norepinephrine concentration in cats with interstitial cystitis [J]. *J Urol*, 2001, 165(6 Pt 1):2051-2054.
- [20] Charrua A, Pinto R, Taylor A, et al. Can the adrenergic system be implicated in the pathophysiology of bladder pain syndrome/interstitial cystitis? A clinical and experimental study [J]. *Neurourol Urodyn*, 2015, 34(5):489-496.
- [21] Clemens JQ, Mullins C, Kusek JW, et al. The MAPP research network: a novel study of urologic chronic pelvic pain syndromes [J]. *BMC Urol*, 2014, 14:57.
- [22] 徐曦, 张嘉鹏, 王健, 等. NALP3 炎症小体在间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征中的表达及作用 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2018, 39(8):619-625.
- Xu X, Zhang JP, Wang J, et al. Expression and role of NALP3 inflammatory bodies in Interstitial cystitis/bladder pain Syndrome [J]. *Chin J Urol*, 2018, 39(8): 619-625.
- [23] Lai H, Gereau RW 4th, Luo Y, et al. Animal models of urologic chronic pelvic pain syndromes: Findings from the multidisciplinary approach to the study of chronic pelvic pain research Network[J]. *Urology*, 2015, 85(6):1454-1465.
- [24] Governo RJ, Prior MJ, Morris PG, et al. Validation of an automated punctate mechanical stimuli delivery system designed for fMRI studies in rodents [J]. *J Neurosci Methods*, 2007, 163(1): 31-37.

[收稿日期] 2019-08-22