

# 子宫内位症猕猴动物模型的建立

宗利丽<sup>1</sup> 袁亚里<sup>2</sup> 袁龙霞<sup>3</sup> 袁杰<sup>2</sup> 袁洁<sup>2</sup> 袁婷<sup>2</sup> 渊第一军医大学珠江医院妇产科 广东 广州 510282 日解放军总医院<sup>2</sup> 妇产科 袁B 超科 袁北京 100853 冤

**摘要** 目的 构建子宫内位症渊endometriosis 冤猕猴动物模型 方法 选择 5 只健康 尧月经规律的雌性猕猴(4 只实验猴 尧 1 只对照猴) 袁在月经第 8~15 天 尧雌激素高峰的第 3~5 天 尧手术将猕猴的子宫内位种植到盆腔子宫腔以外的部位 袁对照猴用大网膜取代内位种植 遥在术后第 2 尧 4 个月动物月经周期的第 8~15 天开腹或腹腔镜探查 遥结果 术后第 2 个月探查 袁 1 只实验猴中 袁 1 只内位种植存活 袁其中 2 只形成异位囊肿 遥术后第 4 个月 袁 2 只已形成 EM 的猕猴行腹腔镜再次探查 袁其盆腔粘连 尧异位内位生长情况与术后第 2 个月基本相似 日 1 只形成 EM 的猕猴精神状态 尧饮食 尧体重增长情况均较对照猴差 袁 1 只发生肠套叠死亡 遥结论 本研究根据种植学说原理成功地构建了子宫内位症猕猴动物模型 袁且猕猴的个体差异是模型是否成功的一个关键因素 袁因而认为遗传因素是子宫内位症发病中的另一重要机制 袁子宫内位生长对机体的整体机能能有较为明显的影响 遥

**关键词** 子宫内位症 日猕猴 日动物模型

中图分类号 冤 711.71 文献标识码 冤 文章编号 冤 000-2588(2003)10-1006-04

## Establishment of animal models of endometriosis in rhesus monkeys

ZONG Li-li<sup>1</sup>, LI Ya-li<sup>2</sup>, WANG Long-xia<sup>3</sup>, ZOU Jie<sup>2</sup>, LI Jie<sup>2</sup>, LI Ting<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China; Department of Obstetrics and Gynecology<sup>2</sup>, Department of B-mode Ultrasound<sup>3</sup>, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

**Abstract:** Objective To establish animal models of endometriosis in rhesus monkeys and study the invasion mechanism of endometriosis. Methods Five female healthy rhesus monkeys with regular menstrual cycles were selected, of whom 4 were used for endometriosis model establishment and 1 for control. During the period of days 8-15 of menstruation, or 3-5 days after the midcycle estrogen peak, the endometrium was implanted into the pelvic cavity other than the uterus in the experimental group, and in the control group, the greater omentum was implanted instead. Exploratory laparotomy or laparoscopy was performed during the period between days 8 and 15 of menstruation in the second and the fourth month respectively after the implantation for observing the occurrence of endometriosis. Results In the experimental group, the implanted endometrium survived in the receptor site in 3 monkeys, 2 of whom were found to have chocolate cyst after the operation. Laparoscopy was again performed in the 2 monkeys with endometriosis 4 months after the operation, showing pelvic adhesion and growth of ectopic endometrium similar to the changes as observed two months after the operation. In comparison with the control, deteriorated mental states and dietary changes, along with body weight losses, occurred in the 3 models of endometriosis, and 2 of them later died of intussusception. Conclusions Animal models of endometriosis can be established successfully in rhesus monkeys on the basis of the implantation theory, which, however, is influenced by individual differences between the animals. Heredity is an important factor in pathogenesis of endometriosis, and ectopic growth of the endometrium may severely impact the body function.

**Key words:** endometriosis; rhesus; animal models

子宫内位症渊endometriosis 冤EM 是指有活动功能的子宫内位出现于正常子宫内位以外的部位 袁其发病率达 10%~15% (其中 50% 不孕) 袁且有逐渐增加的趋势 遥由于 EM 只发生在人类和类灵长类动物 袁因伦理因素我们很难对患病的妇女进行全过程的观察 袁也很难在人类身上作侵袭性实验 袁因此 袁目前人们对 EM 的发病机制与发病过程尚无确切结论 遥

究成功建立了 EM 灵长类动物模型 袁旨在为深入研究 EM 的发病机制奠定实验基础 遥

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验动物

选择 5 只健康 尧月经规律的雌性猕猴(由军事医学科学院动物中心提供) 袁其中 4 只为实验猴 尧 1 只为对照猴 袁年龄 6~8 岁 袁生育 1~3 次 袁体重 6~7 kg 遥给予标准光照周期 渊2 h 光明 尧 2 h 黑暗 冤 袁室内温度 渊20 依 冤 益 袁每个兽笼饲养 袁标准饲料加苹果 袁每日喂养 2 次 遥

收稿日期 冤 003-02-13

基金项目 冤 国家自然科学基金重点课题 渊9830350 冤

Supported by National Natural Science Foundation of China 渊9830350 冤

作者简介 渊宗利丽 967- 冤 袁女 袁江西南昌人 袁在读博士研究生 袁科主任 袁电话 冤 20-61642728, E-mail: zonglili67@hotmail.com

1.2 实验动物的观察

手术前观察实验动物精神状态习惯体位和月经周期每日行阴道涂片检测猕猴血清雌二醇水平手术后观察实验动物的生命体征精神状态饮食体位的改变体质量增长情况月经周期和月经量的改变

1.3 实验药品及器械

戊巴比妥钠生理盐水止血敏催产素肝素常规消毒药品青霉素无影手术灯麻醉机呼吸机腹腔镜德国产MEDIZINTECHNIK及配套器械普通眼科手术器械腹腔镜拉钩电刀气管插管

1.4 子宫内位症模型的建立

猕猴月经后的第 8 日开始每日上午 8 时抽取外周血 2 ml 检测血清雌二醇水平在雌激素水平高峰的第 3~5 d,在解放军总医院动物手术室行开腹手术由专业动物手术麻醉师行气管插管戊巴比妥那(15~20 mg/kg b.w.)静脉用药全麻下常规消毒选取下腹部正中切口约 3 cm 切开皮肤电刀切开皮下及腹直肌前鞘钝性分离腹直肌剪开腹膜并留取腹水如无腹水注盆腔注入 3 ml 生理盐水收集腹腔冲洗液于抗凝管中暴露子宫及双侧附件,在子宫前壁作一 1 cm 长的垂直切口剖开子宫从子宫腔粘膜面取出约 100 mg 的子宫内膜置于 0.9% 的无菌盐水中沿肠线全层缝合子宫切口将切下的子宫内膜切成直径 2~3 mm 的碎片接受位点上先用小刀划一痕再用丝线将子宫内膜碎片的一边缝至划痕上,接受点有膀胱子宫反折腹膜子宫切口在阔韧带子宫直肠陷凹和右卵巢实质处,对照组取约 1 mg 的网膜脂肪组织,切碎置于 0.9% 盐水中,同样种植到上述 5 处然后逐层关闭腹部切口术后肌注青霉素 80 万单位连续 5 d 术后 7 d 腹部伤口完全愈合

1.5 猕猴子宫内位症模型建立后的剖腹或腹腔镜探查

5 只猕猴均于术后第 2 个月月经周期的第 8~15 天探查其中 3 只实验猕猴和 1 只对照猕猴行开腹探查只实验猕猴行腹腔镜探查只形成内异症的猕猴于术后第 4 个月再次行腹腔镜手术探查手术均

在动物手术室,气管插管戊巴比妥那(15~20 mg/kg b.w.)静脉用药全身麻醉下进行,术中观察盆腔粘连子宫内膜异位生长情况留取腹水异位种植的内膜组织

2 结果

2.1 阴道涂片与月经周期和雌激素水平的关系

猕猴月经周期各个阶段的阴道涂片中脱落细胞的成分和形态与人类非常相似例如月经中期检测血清雌激素水平达高峰时阴道涂片中脱落细胞亦表现为雌激素高度作用细胞都属表层 0% 以上角化黏液清淡几乎无白细胞涂片背景明朗蓝相间的角化细胞和角化前细胞显得非常艳丽与正常妇女排卵期的阴道涂片一致月经前雌激素低落时脱落细胞多属中间层杂有表层嗜兰色细胞有 1 只猕猴的阴道涂片见到较为典型的底层细胞

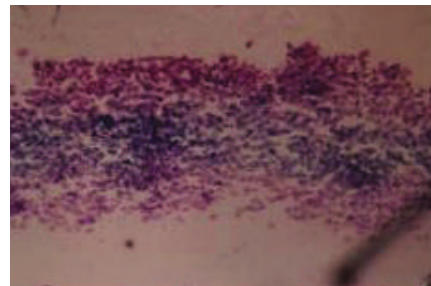


图 1 月经中期时的正常猕猴阴道涂片(原始放大倍数 100) Fig.1 Midmenstrual vaginal smear of normal rhesus (Original magnification 100)

2.2 猕猴子宫内位症模型建立情况

2.2.1 一般情况 种植内膜组织的 4 只猕猴术后精神状态和进食均较术前差其中 3 只体位明显改变喜好侧卧和俯卧位尤其是月经期月经周期均有不同程度缩短缩短 5~8 d 月经量和月经期的长短无明显改变只成功构建子宫内位症模型的猕猴分别于建模后的 2.5 个月和 4.5 个月死亡死亡原因均为肠套叠对照的猕猴精神状态非常好进食和体位表月经周期均无明显改变

表 1 盆腔异位症建模手术前后猕猴的一般情况改变

Tab.1 General condition and focal formation in the pelvis of the rhesus after operation

Table with 14 columns: Rhesus No., Mental status, Dietary status, Posture, GB (kg/month), Menstrual cycle (d) Pre/Pos, Menstrual blood (ml) Pre/Pos, Menstrual time (d) Pre/Pos, IS, PA, CC, ES. It contains data for 4 experimental monkeys and 1 control monkey.

GB: Gain weight; Pre:Pre-operation; Pos: Post-operation; IS: Intussusception.; PA: pelvic adhesion; CC: Chocolate cyst; ES: Endometrium survived; PP: Prone position; LPP: Lateral prone position

2.2.2 术后第 2 个月猕猴盆腔情况 4 只实验猕猴中有 3 只盆腔粘连明显。盆腔内膜种植部位可见存活的内膜组织。其中 2 只形成异位囊肿。只位于左侧阔韧带及右侧卵巢。另 1 只位于左侧阔韧带。异位囊肿内均能抽出暗红色不凝的液体。只猕猴子宫底部种植点

及卵巢均有紫蓝色样结节病灶。1 只实验猕猴盆腔无任何粘连。种植的内膜组织被吸收。仅见缝线的线头。对照猕猴盆腔有轻度粘连。种植点未见种植的组织。种植的大网膜组织均被吸收。

2.2.3 术后第 4 个月猕猴盆腔情况 2 只实验猕猴于

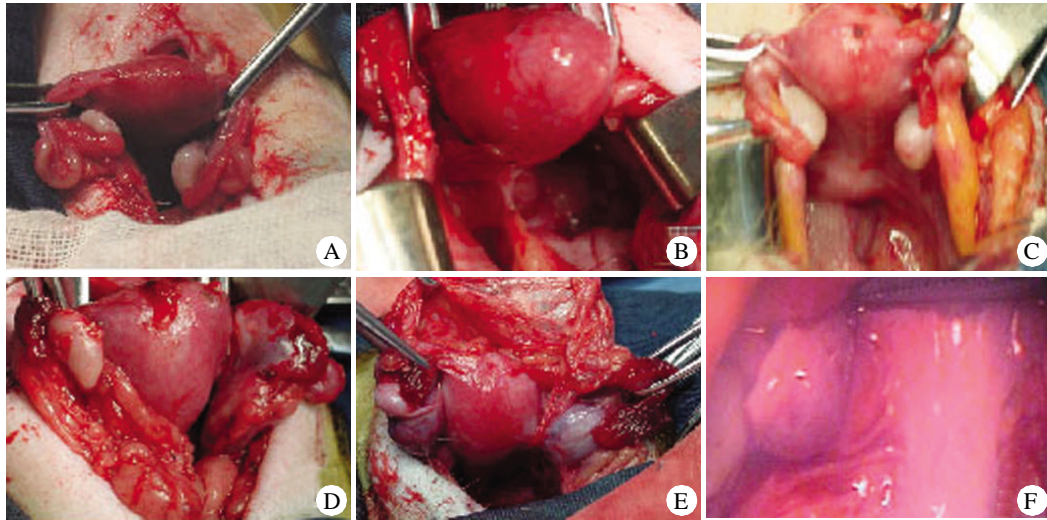


图 2 建立子宫内膜异位症模型前后猕猴的盆腔

Fig.2 Comparison of the pelvis pre- and post-operation in rhesuses

A: The normal genitalia of rhesus; B: Light peritoneal adhesion in the pelvis of control rhesus; C: No peritoneal adhesion and absorption of the implanted endometrium can be noted in the pelvis of experimental rhesus without endometriosis; D: Obvious peritoneal adhesion in the pelvis of rhesus with endometriosis. Growth of the implanted endometrium in the uterine fundus and right ovary; E: Obvious pelvic adhesion and chocolate cysts in the left broad ligament and right ovary in the rhesus with endometriosis; F: Chocolate cysts in the left broad ligament and obvious pelvic adhesion in the laparoscopic vision of the pelvis of the rhesus with endometriosis.

建模 4 个月再次行腹腔镜探查。盆腔粘连情况及内膜异位生长情况于建模后 2 个月基本一致。

2.2.4 异位内膜组织病理 取动物卵巢、子宫底部及阔韧带的异位种植组织作病理检查。染色有两种表现。子宫底部的异位内膜与在位子宫内膜相似。有完整的内膜腺体。取自卵巢及阔韧带异位囊肿的异位内膜与人类异位囊肿内膜相似。以间质细胞为主。内膜腺体不典型。有腺体样结构。见图 3。

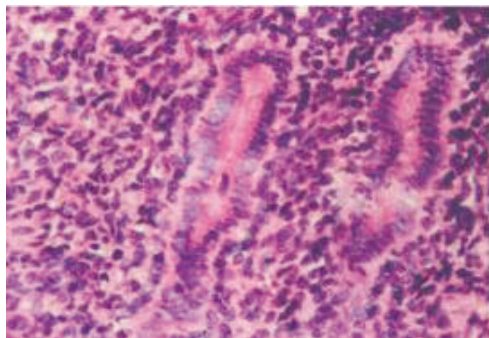


图 3 猕猴异位内膜的组织病理切片 (原始放大倍数 200)

Tab.3 Histopathological section of the ectopic endometrium of the rhesus (Original magnification 200)

### 3 讨论

最理想的 EM 动物模型为灵长类动物。原因在于：首先，它们的遗传背景与人类有很多相似。第二，非人类的灵长类动物，恒河猴、猕猴等具有自发性的子宫内膜异位症。第三，它们的内分泌、月经周期和解剖结构上与妇女有许多相同之处。因此，猕猴是最为理想的子宫内膜异位症模型。但在我国为国家保护动物，很难获得。因此，至今为止，非人类灵长类动物中最广泛应用于医药领域的是猕猴。

本研究首先观察了 9 岁以后的猕猴。发现猕猴的月经周期已经不规则。可能与长期室内饲养有关。因而选择了 6~8 岁的猕猴。观察 9 个月中，出现 1 次动情期。即春天的 4 月。几只猕猴同时出现。持续 7~10 d。表现性情烦躁、面部、臀部充血。本研究提示，选择饲养的猕猴作为研究子宫内膜异位症的动物模型。最佳年龄为 6~8 岁。与生育史无明显关系。

进行实验前，我们对猕猴的月经生理作了仔细的观察。只猕猴的月经周期为 26~40 d。经期期为 1~5 d。整个月经周期每天作阴道涂片。发现阴道涂片与人类非常相似。阴道复层鳞状上皮的脱屑细胞的成份。

层细胞尧中层细胞尧表层细胞尧随月经周期的不同时期改变尧通过观察阴道涂片能大致了解猕猴体内雌激素水平尧提示猕猴是可以作为研究女性月经生理及内分泌疾病的最佳的动物模型遥

本实验成功构建了 EM 猕猴模型尧发现猕猴内膜异位生长尧从大体形态到组织病理改变与人类子宫内膜异位症很相似尧子宫内膜异位生长对猕猴平素的体位及月经周期有一定影响尧发生肠套叠的危险性增加尧同样身体素质的对照猕猴尧盆腔种植大网膜尧二月后开腹探察也有盆腔粘连尧精神状态尧饮食尧体重增加情况均较构建了子宫内膜异位症的猕猴好尧肠套叠是实验猕猴死亡的主要原因尧说明子宫内膜种植在盆腔不仅仅产生盆腔粘连尧对猕猴全身状态均有明显的影响尧这一现象能够从另一方面支持免疫异常是子宫内膜异位症的结果的观点尧也为子宫内膜种植学说提供一个客观依据遥有文献报道尧通过大样本的观察猕猴群体尧发现猕猴内异症自发性的发展过程及病灶形态学与人类相同遥临床表现包括腹部膨隆尧盆腔包块和行为改变尧特别是月经的改变可能与不适有关尧如果没引起重视尧内异症可导致动物肠梗阻而死亡遥

本研究还发现并不是所有异位的内膜均能形成内异症尧只建模型的猕猴中有 1 只未形成盆腔内异

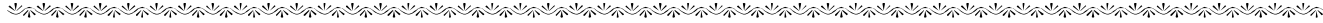
症尧重要的是这只猕猴盆腔无任何粘连尧参照猕猴有盆腔粘连尧此现象说明内异症的发生与个体遗传因素有关尧遗传因素在猕猴的内异症发生中起重要作用尧我们可以应用猕猴研究遗传因素与内异症发病的相关性尧对确认内异症的高危因素尧判断疾病的预后有重大价值遥

本实验留取的血清尧腹水尧组织可以动态的观察内异症形成过程尧体液免疫尧血清标记物尧相关的细胞因子的动态变化尧为进一步从分子水平及遗传基因方面研究 EM 的发病机制尧提供有力证据尧并为临床诊治提出新思路遥

参考文献

咱暂 Giudice LC, Tazuke SI, Swiersz L. Status of current research on endometriosis咱暂 J Reprod Med, 1998, 43(3 Suppl): 252-62.
咱暂 Vernon MW. Experimental endometriosis in laboratory animals as a research model咱暂 Prog Clin Biol Res, 1990, 323: 49-60.
咱暂 Fazleabas AT, Brudney A, Gurates B, et al. A modified baboon model for endometriosis咱暂 Ann N Y Acad Sci, 2002, 955: 308-17.
咱暂 Zondervan K, Cardon L, Desrosiers R, et al. The genetic epidemiology of spontaneous endometriosis in the rhesus monkey咱暂 Ann N Y Acad Sci, 2002, 955: 233-8.

尧责任编辑 隍毅咏慧冤



- 窑第二届国家期刊奖百种重点期刊
- 窑中国科学引文数据库统计源期刊
- 窑中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊
- 窑美国化学文摘尧 A 尧等国内外权威数据库收录期刊

- 窑中国基础医学类核心期刊
- 窑中国综合性医药卫生类核心期刊
- 窑中国科技论文统计源期刊
- 窑俄罗斯文摘杂志尧 J 尧源期刊

第二军医大学学报尧订启事

第二军医大学学报是由第二军医大学主办的国内外公开发行的综合性医药卫生类学术期刊尧主要报道基础医学尧临床医学尧预防医学尧军事医学尧药学和祖国医学等领域达到国内领先及国际水平的最新科研成果尧新理论尧新技术和新经验尧读者对象主要为从事医药卫生工作的中高级科研尧医疗尧教学尧管理人员和高等医药院校的师生遥

第二军医大学学报为月刊尧国际标准大 16 开本尧 0 克铜版纸彩色双胶印刷尧正文 116 页尧国内统一刊号院 N31-1001/R尧国际标准刊号院 ISSN 0258-879X尧遥请及时向当地邮局订阅尧邮发代号 4-373尧漏订者可来函本刊编辑部办理邮购尧免收邮寄费尧邮局汇款尧请勿电汇尧遥每期定价 10 元尧全年共 120 元尧合订本 140 元遥

地址 上海翔殷路 800 号 第二军医大学学报编辑部 邮编 院 200433
联系人 隋素芳 电话 渊 21 冤 5074344 25074340 转 824 分机
Http://dejdxxb.periodicals.net.cn E-mail 隋xue@smmu.edu.cn