

病证结合模式下结直肠癌动物模型构建的思考*

郭欣煜^{1,2}, 王菲叶¹, 许云^{1**}, 龚璐天¹, 付力¹, 曾钰梅¹, 杨宇飞¹

(1. 中国中医科学院西苑医院 北京 100091; 2. 北京中医药大学西苑临床医学院 北京 100029)

摘要:实验动物模型是结直肠癌基础研究中必不可少的环节。构建以中医辨证论治理论为基础的中医特色的病证结合动物模型,使动物模型既符合西医疾病特征又具备中医证候的特点,对中医药治疗结肠肿瘤的基础研究有重要意义。本文通过文献梳理的方式总结了当前常用的结直肠肿瘤动物模型和病证结合动物模型的构建方法与特点,以期为从事结直肠肿瘤科学研究的科研工作者提供参考。

关键词:结直肠癌 病证结合 动物模型 中医证候

doi: 10.11842/wst.20230620013 中图分类号: R735.3⁷ 文献标识码: A

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)是临床常见的消化道恶性肿瘤,在我国其发病率和死亡率逐年攀升,发病率已跃居我国恶性肿瘤的第2位,死亡率居第5位^[1]。目前结直肠癌的基础实验研究中,已建立了多种动物模型,对结直肠癌病理机制及药物靶点的研究有重要意义。近年来,随着中医病证结合临床诊疗和研究模式的推广,对同时具备疾病与证候特征的结直肠癌病证结合动物模型进行构建与应用,为全面模拟临床病理特征和中医证候的动物模型构建提供了新的可能及发展方向。本文对病证结合模式下结直肠癌动物模型的构建方法进行梳理总结,并分析其特点,以期为构建符合中医证候特征的结直肠癌动物模型提供参考。

1 结直肠癌动物模型

结直肠癌动物模型常采用BALB/c、C57BL/6小鼠, BALB/c裸鼠和Wister大鼠作为造模动物^[2]。目前结直肠癌动物模型具有多样性,可根据造模方式及目的分为:诱发瘤模型、移植瘤模型、自发瘤模型3种造模方式。移植模型根据移植部位分为原位移植瘤模

型与异位移植瘤模型;根据肿瘤细胞的来源分为细胞系来源的肿瘤移植模型(Cell-derived xenograft, CDX)和患者肿瘤组织来源的肿瘤移植模型(Patient-derived xenograft, PDX);以腋部皮下移植最为常用。

诱发瘤模型模拟了结直肠肿瘤“炎癌转化”的发生进展过程,保留了较为真实的肿瘤微环境,临床吻合度高。在研究结直肠癌与肠道微生物、免疫治疗相关药物中起到重要作用^[3-4]。但因其造模周期长;难以直接观察肿瘤大小等组织表观指标;自发转移率过低,难以用于肿瘤转移的研究。原位移植瘤模型能够观察到原发肿瘤不同形态生理特征的发展,临床吻合度高,多用于结直肠癌的遗传和分子途径、转移过程的研究。但其操作难度大,且操作对肠道微生态有一定干扰,难以进行肿瘤微环境、微生物的研究。皮下移植瘤模型操作简单、价格低廉、造模周期短、成瘤率高,便于观测肿瘤生长情况。但其与肠道肿瘤微环境差异较大,且难以进行转移瘤研究。转移瘤模型造模时间短、复现率及稳定性高。但因其转移途径与人体有一定差距,仅能模拟部分晚期转移或术中播散过程。原位基因工程自发瘤模型保留了小鼠的正常免

收稿日期:2023-06-20

修回日期:2024-01-31

* 国家自然科学基金委员会面上项目(82074414):基于ASCT2/GS介导的谷氨酰胺代谢途径探讨祛邪胶囊干预结肠癌机制研究,负责人:许云;中国中医科学院科技创新工程重大攻关项目(CI2021A01807):基于肠道微生态的结直肠癌的寒热证候特征与优势人群干预方案精准化研究,负责人:许云。

** 通讯作者:许云,博士研究生导师,主任医师,主要研究方向:中西医结合防治肿瘤研究。

表1 结直肠肿瘤常见动物模型特点总结

模型	造模方法	优点	局限性
诱发瘤	DMH法:大鼠腹腔内注射 $4\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的二甲基肼(Dimethylhydrazine, DMH)溶液,每周1次,连续20周成瘤 ^[5] 。	肿瘤微环境真实、临床吻合度高。	造模周期长、难以直接观测肿瘤生长情况。
	AOM法:小鼠腹腔内注射 $1.25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 氧化偶氮甲烷(Azoxymethane, AOM)溶液,每周1次,连续4周,第36周观察 ^[6] 。		
	AMO/DSS法:①四步法:对小鼠进行AOM单剂量($7.5\text{--}12.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射后,即时或1周后饲喂含1%–3% DSS,饮水4–7天后,改为正常饮水7–14天为1个循环,共循环3次 ^[7] ;②两步法:将3次循环的DSS处理缩短为单次循环,共两步完成,6周成瘤 ^[8] 。		
	DMH/DSS法:对小鼠进行0.4% DMH腹腔注射($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),每周2次,继而连续自由饮用3% DSS 2周为1循环;连续3个循环,9周成瘤 ^[9] 。		
移植瘤	原位移植瘤模型:将肿瘤细胞或组织移植到大鼠或小鼠结肠部位 ^[10–13] 。	临床吻合度高。	操作难度大;对肠道微生态有一定干扰。
	皮下移植瘤模型:将结肠癌细胞或组织悬液接种于小鼠腋部或背部皮下,约1–2周成瘤 ^[2] 。	操作简单、价格低、造模周期短、成瘤率高、便于观测肿瘤生长情况。	肿瘤微环境差异较大;难以进行转移瘤研究。
转移瘤	肝转移模型:将肿瘤细胞注射到小鼠的循环系统形成实验性肝转移模型的方式(脾接种肝转移模型、门静脉/肠系膜接种肝转移模型、肝脏种植肝转移模型),还原结肠癌细胞经血行播散发生肝转移的过程 ^[14] 。	造模时间短、复现率及稳定性高。	临床吻合度不高,仅能模拟部分晚期转移或术中播散过程。
	肺转移模型:将肿瘤细胞注射到小鼠的尾静脉,形成尾静脉注射肺转移模型,建模效果稳定、转移效率高 ^[15] 。		
	肿瘤细胞系注射于小鼠、裸小鼠或大鼠腹腔,使得肿瘤细胞在小鼠腹腔播散生长,模拟结肠癌腹腔种植扩散和终末期患者腹腔广泛转移的过程 ^[16–18] 。		
自发病	原位基因工程模型:通过转基因技术对结肠直肠癌发生相关的基因进行编辑,形成自发性结肠肿瘤模型,以ApcMin小鼠最为多见 ^[19] 。	临床吻合度高,肿瘤微环境真实。	成本高、造模周期长、难以直接观测肿瘤生长情况。

疫及肠道微生态,有效模拟结直肠肿瘤发生发展的全过程,临床吻合度高,肿瘤微环境真实。但研究成本高、造模周期长、难以直接观察肿瘤大小等组织观指标限制了其应用范围。

目前广泛使用的结直肠癌动物模型都有各自的优缺点及适应范围,适用于不同类型的研究(见表1)。大多侧重于结直肠癌发生发展过程中某一阶段的病理过程,难以兼顾疾病的全病程,尚缺少完美的动物模型。理想的结直肠动物模型具有构建方法简单、成功率高、造模周期适中、与临床吻合度高、模型构建费用合适的特点。

2 病证结合结直肠癌动物模型

结直肠癌病证结合的诊疗模式在临床中广泛应用^[20–21],因此学者们一直在探索构建结直肠癌病证结合动物模型。目前大多数学者认同结直肠癌“本虚标实”“虚实夹杂”的证候特点^[22],脾为后天之本,气血生化之源,肾为先天之本,脾虚失运痰湿内生,积于肠

道,肾虚温化无力,继而导致寒凝、血瘀、痰湿等病理产物形成^[23–24]。临床证候规律显示出,脾虚、肾虚、痰湿、瘀毒等虚实夹杂证候并存的规律^[25–27],亦有学者提出在辨明虚实的基础上,应注重寒、热证候的演化^[28–31]。

目前结直肠肿瘤动物模型的评价方法主要通过肿瘤组织病理、肿瘤组织免疫组化、肿瘤组织蛋白免疫印迹法等检测指标来进行评价,保证了模型中“病”的统一^[2]。但由于造模方式难以复制结直肠肿瘤发生发展的自然进程,这些结直肠癌动物模型并未关注“证”与中医理论的一致性,并不能较好地契合中医“辨证论治”的核心特点,也限制了中医药治疗结直肠癌的机制研究的进一步发展。近年来随着病证结合动物模型理论的发展,有研究者在中医学理论的支持下构建了具有病证结合特点的结直肠肿瘤动物模型,按照中医证型可分为以下6类:寒热证模型、痰证模型、肝郁模型、脾虚模型、血瘀模型、湿热模型(见表2)。

表2 结直肠肿瘤常用病证结合模型总结

证型	动物	肿瘤造模方法	证候造模方法	造模周期	证候评价指标	造模顺序
寒热证	大鼠 ^[32-36]	DMH皮下注射原位诱导模型	热证:辣椒素乙醇混合液灌胃;寒证:冰水灌胃联合凉水泡浴	38周	摄食量、体质量、大便等一般情况,证候表征,ATP酶活性,方药反证	先证后病
痰证	小鼠 ^[37-39]	AOM+DSS诱发瘤模型	高脂饮食	26周	症状体征,血脂生化结果,方药反证	先证后病
	裸小鼠 ^[40]	CDX皮下移植瘤 ^a	高脂饮食+寒湿刺激	2周左右	症状体征,血脂生化结果	
肝郁证	大鼠 ^[41]	DMH皮下注射原位诱导模型	束缚制动法	20周	症状体征,方药反证。	病证同时造模
	裸小鼠 ^[42-43]	脾种植肝转移模型	束缚制动法	5周		先证后病
肝郁脾虚证	大鼠 ^[44]	DMH皮下注射原位诱导模型	激怒应激+肾上腺素	15周	摄食量、体质量等一般情况,方药反证	病证同时造模
脾虚证	小鼠 ^[45]	CDX皮下移植瘤	番泻叶水煎剂灌胃	4周	证候评价指标	先病后证
	小鼠 ^[46]	半脾切除注射肝转移	半脾切除联合生大黄泻下	10天		病证同时造模
血瘀证	裸小鼠 ^[47-48]	脾种植肝转移模型	实验用氟氢可的松(Fludrocortisol, F-Col)、肾上腺素(Adrenaline, Adr)注射慢性血瘀模型	3周	摄食量、体质量、大便等一般情况,旷场实验	先证后病
	小鼠 ^[49]	尾静脉注射肺转移模型	肾上腺素皮下注射+冰浴	4周		
	小鼠 ^[50-53]	尾静脉注射血行转移模型	利血平注射	4周	证候量化评分表	
	小鼠 ^[54-56]	CDX皮下移植瘤	LSP尾静脉注射	6周	症状体征量化评分表	
湿热证	小鼠 ^[57-58]	原位移植模型	高脂高糖饮食、湿热环境、白酒灌服	3周	摄食量、体质量、大便等一般情况	先证后病
湿热瘀毒证	小鼠 ^[59-60]	AOM+DSS原位诱导模型	高脂饮食+湿热环境	9周		病证同时造模
	小鼠 ^[61]	AOM+DSS原位诱导模型	高脂饮食	9周	症状体征类比	

注:a:CDX:细胞系来源的肿瘤移植模型(Cell-derived xenograft)。

2.1 寒热证候模型

寒证和热证是临床中常见的基本证候,反映机体阴阳的盛衰,也是许多医家论治结直肠肿瘤的切入点^[31]。寒热病机又是中医“辨证论治”的基础,因此寒热证候的结直肠癌病证结合模型对研究结直肠癌的阴阳属性、寒热证与结直肠癌演变的相关性具有重要意义。李慧璇^[32]采用冰水灌胃联合凉水泡浴以及辣椒素乙醇混合液灌胃,联合DMH诱发相结合的方式分别构建寒、热证结直肠癌模型,并通过检测大鼠体内ATP酶活性的方式对证候进行评价,与对照组相比,寒证组ATP活性降低、热证组ATP活性升高。该团队进一步研究证明寒热不同证候实验大鼠的表征与寒热证候的症状描述相符:寒证组精神欠佳、懒动、黏液便、毛发不光泽,热证组形体消瘦、大便干结、毛发易脏;寒证组能量代谢产物较对照组降低,热证组则增加;左金丸、反左金丸的方药反证能减轻证候表现,对证候造模起到了方药反证作用,进一步验证了该模型的构建成功^[33-36]。该模型临床证型模拟度较高,但造

模周期较长、干扰因素较多。

2.2 痰证模型

结直肠癌的发病与糖脂代谢失调相关,大部分患者的血脂和血糖水平出现异常,同时糖脂代谢指标还可参与结直肠癌的预后预测^[62-64]。有研究从分子机制角度阐释了脂代谢异常促进结直肠癌进展,为结直肠癌治疗提供了靶向脂质合成的新靶点^[65-66]。李灿东团队采用高脂饮食联合AOM+DSS诱发的方式构建痰证结直肠癌模型,并通过小鼠的血脂、毛发、体质量等症状体征表现对证候进行评价,与对照组相比,痰证模型小鼠血脂升高、毛发更加油亮、体质量增长更快^[25-27]。同时以方测证,采用具有化痰作用的二陈汤进行干预,发现二陈汤中药组的小鼠肿瘤相比较痰证组发病率降低,进一步验证了痰证结直肠癌小鼠模型的构建成功。后续有研究在此模型思路基础上,构建高脂饮食联合人源细胞系皮下移植方法构建裸鼠痰证结直肠癌模型,进行肿瘤细胞病理组织学检测,痰证组肿瘤细胞生长更加旺盛^[40]。表明此模型具有明确

的证候评价标准,可行性、稳定性及可操作性都较好,做出了有益探索。

痰浊久聚肠腑,阻滞大肠传导功能,气血运行不畅、痰湿郁而化火,痰阻、气滞、血瘀、热毒相互搏结而成肠癌,其中痰浊内阻是结直肠癌形成的关键病理因素^[67]。痰证模型通过高脂饮食构建,契合现代医学中脂质摄入过多导致糖、脂代谢紊乱的认知,与中医的恣食肥甘厚味,导致脾胃受损进而脾虚生痰不谋而合,与临床中结直肠癌的痰浊内阻的病机临床吻合度较高,中医药对糖、脂代谢的调节具有一定优势^[68],该模型或可用于探索揭示中医药通过干预糖、脂代谢治疗结直肠癌的作用机制。

2.3 肝郁模型

精神、心理因素在肿瘤的发病中起到重要作用,中医也认为情志致病与肝密切相关,肝气郁结是临床结直肠癌患者的常见证候。赵建晴^[41]通过束缚制动法联合DMH皮下注射诱发构建小鼠结直肠癌肝郁模型,模型操作简便,并通过症状体征及方药反证评价证型。肝郁组较对照组病理学改变为重,而具有疏肝解郁功能的四逆散能改善肝郁组的病理学变化。此外,实验结果表明肝郁因素还影响了大鼠的血液流变学和单胺类神经递质并抑制大鼠的免疫功能,为肝郁证模型的验证提供了思路。在此基础上,许建华团队采用束缚制动法联合脾种植肝转移模型构建裸鼠结肠癌肝郁模型,验证了肝郁证可影响 $\beta 2$ -AR信号路的表达,进而促进肝转移的发生^[42-43]。另方艺晓等^[44]采用DMH皮下注射诱发瘤模型联合激怒大鼠应激配合肾上腺素注射的方式构建了大鼠结肠癌肝郁脾虚模型,并通过观察大鼠体质量下降、行为学变化先烦躁转而少动,并经具有疏肝解郁作用的疏肝散方药干预后上述症状体征好转,证明了该模型构建的合理性。

肝主疏泄,可调整机体的气机与情志,肝失疏泄时会产生抑郁情绪。有研究表明,胆汁酸代谢异常是肝郁的微观体现^[69],或可通过胆汁酸的变化进一步验证该模型与临床肝郁证候的一致性,探索明确简便的证候判断指标。肝失疏泄会进而引起脾胃运化失调,与现代医学的脑肠轴调节具有一致性,即肠道微生物群通过神经、体液、免疫等途径与中枢神经系统进行双向沟通,整合宿主肠道和大脑活动的系统,溃疡型结肠炎、肠易激综合征等肠道疾病中均可见脑肠轴功能紊乱的情况,近年来中药通过HPA轴、免疫应答途

径、神经信号通路、脑肠肽、细菌代谢产物等途径调控脑肠轴治疗消化道疾病成为研究热点^[70-71],或可通过该模型探索中医药通过脑肠轴治疗结直肠癌的相关靶点。

2.4 脾虚模型

中医认为结直肠癌其病机本在脾,且脾虚证候与肠道微生物之间存在密切关系^[72]。陈彬等^[45]采用肿瘤细胞皮下移植联合番泻叶水煎剂灌胃的方式构建小鼠结直肠癌脾虚模型,并根据大便溏、神色萎靡、毛色枯槁等脾虚证症状体征对证候造模进行判断。对实验结果的分析表明脾虚证小鼠存在肠道菌群的失调,侧面表明了造模的可靠性。此外,乔大伟^[46]采用肿瘤细胞注射肝转移瘤模型联合半脾切除联合生大黄泻下的造模方式构建脾虚证结直肠癌肝转移模型,并通过旷场实验小鼠运动路程与速度降低证明造模成功,但该模型操作较为复杂,较适合与脾切除肝转移手术造模同时进行。有临床研究表明结直肠癌患者肠道菌群结构变化与中医证候具有一定相关性^[73],后续研究中或可探索脾虚模型小鼠与结直肠癌患者肠道菌群结构的异同,或可通过粪菌移植等方式构建特异性较高的结直肠癌脾虚证模型,肠道菌群也对指标特异性对模型的证候构建及治疗效果进行评价。

2.5 血瘀模型

血瘀证是结直肠癌常见的临床证候,一般被认为与结直肠癌的转移具有相关性。贾小强等^[47-48]采用脾种植肝转移模型联合F-Col、Adr注射慢性血瘀构建裸小鼠结直肠癌肝转移血瘀证模型,并通过耳廓微循环的血浆黏度验证血瘀证候模型的构建,同时通过肝脏表面转移结节的个数验证了血瘀证与结直肠癌的转移具有正相关关系。郭勇团队分别采用肾上腺素皮下注射+冰浴、利血平注射、LSP尾静脉注射构建寒凝血瘀、气虚血瘀、热毒血瘀证荷瘤小鼠模型,并采用小鼠的症状量化评分表、微循环血流量及血浆黏度验证血瘀证候模型构建,结果均表明血瘀证与结直肠癌的发生发展与转移存在相关性,具有明确的证候评价指标,临床模拟度较高,具有可行性^[49-56]。

2.6 湿热模型

有医家认为结直肠癌的病性属本虚标实,以湿热瘀毒为核心病机^[74]。刘宣等^[57-58]采用高脂饮食结合湿热环境,联合原位移植构建了湿热证小鼠模型,通过食水量减少、嗜卧懒动、大便时干时溏等症状体征验

证模型构建的合理性,并证明湿热证候能促进结直肠肿瘤的血管新生,促进结直肠肿瘤的肝转移,为该证候的客观指标判断提供思路。后续有研究在此模型基础上进行探索,认为该模型具有湿热瘀毒证的特质,并进行了仙连解毒方清热化湿治疗结直肠肿瘤的机制研究^[59-61]。据此判断该造模方式具有一定可行性与稳定性,但模型的证候评价尚待更具稳定性的客观指标进一步判断。

3 讨论和展望

3.1 造模方法

现有结直肠癌病证结合动物模型,大多为疾病、证候叠加模型,即在结直肠癌动物模型基础上复合中医病因病机造模法。“证”是“病”的某一阶段的病因、病位、病理的概括,相对于“病”的稳定,“证”存在进展的变化特点。临床上疾病可能同时存在多种证型“同病异治”,尤其结直肠癌病机复杂,涉及多个脏腑,相兼多种证型、证候的特点。动物模型制作过程中,仅简单地将“病”“证”叠加,但所形成的“证型”与疾病的产生没有必然联系,无法证明所施加的“证型造模方式”直接或间接参与了结直肠肿瘤的生成过程,难以完全模拟临床中“证”与“病”的相关性。

根据“病”“证”因素施加顺序分类大多属于先后病或病证同步模型,将疾病的造模方式叠加于已存在某种“证型”的动物模型之上,难以保证“病”模型制作过程中不引起“证”的变化,影响证候模型的稳定性。

临床中相同病邪侵犯不同患者,会因个体差异产生不同的症状与证候,造模动物所能表现的表征与症状有限,判断指标较少,其证型更加难以区分。例如高脂饮食同时作为痰证与湿热证的干预因素,分别以动物的毛发、体质量、大便摄食量等一般情况作为判定标准,缺乏横向比较,构建出唯一证型模型的逻辑必然性不强。

或可采取多因素叠加的造模方式,模拟临床中体质、外邪、情志等多种致病因素,同时把控多因素造模的施加时间,摸索出最佳的病证结合造模方式。此外,还可引入同病不同证候的比较,将一病一证的病证结合动物模型造模方式变更为一病多证,将证候动物模型的对照组从正常动物替换为同病他证模型。例如结直肠癌寒热证动物模型,寒、热证造模动物出

现的症状体征、生物学指标互相映照,结合由中医病因干预推测造模动物证的属性及药物反证,因其具有同病异证的相同观测指标相比较,较单独构建的病证模型更有说服力。也可效仿冠心病痰瘀互结证动物模型^[75]的造模方法,对单纯西医疾病动物模型进行证候观测,即模拟临床结直肠肿瘤发病的病理过程,对形成的动物模型进行中医证候评价,最终形成疾病、证候客观化指标均与临床吻合度较高的病证结合动物模型。

3.2 评价指标

现有结直肠癌病证结合动物模型的证型评价,大多基于致病因素、症状体征、以方测证反证和少量客观指标佐证的方式。其中采集动物模型症状体征进行“四诊”的对照辨证是证候模型评价的主要手段,指标大多为定性、定量相结合,例如体质量、旷场活动评分、症状体征自拟量表等定量评分与毛色、大小便等定性指标结合,对动物的证候进行综合评定。但采用动物表征和动物行为学指标与临床症状对应进行证候判断,缺乏客观、统一的模型评价标准,主观性较强,可复制性不高。

以方测证依据“方证相对”的理论,在证型评价中作为宏观辨证与客观指标的补充。但也有学者认为方剂与证候具有“一对多”的关系,方药反证的疗效对动物模型的证候说服力不强^[76]。因此在开展方药反证时,可以尝试除选择方证相应的药物外,根据所选的疗效指标,选择具有明确临床疗效但方证不相应的经典方剂进行对照,增加以方测证对动物模型证型判断的可靠性。

除了证候体征和方证相应外,也常结合临床中或前期基础研究中的证候特异性指标对动物模型进行评价,例如采取血液流变学指标对血瘀证进行评价,指标的选择具有一定主观性,除血瘀证、痰证外,缺少明确简便的证候判断指标,对证候造模是否成功的造模评价并不明确。且证候特异性指标临床直接证据较少,难以形成统一的辨证标准。

随着现代科学技术的发展,更多检测手段的引入对中医证候模型评价具有积极意义。除将现有的血液学指标检测、肿瘤组织病理学、基因组学、代谢组学、蛋白质组学等检测与临床相关数据、四诊信息结合外,还可引入对实验动物无创或微创的检测指标,检测模型动物的连续生物信号,对证候变化进行动态

观察,如利用红外线遥测热成像或可辅助小鼠阳虚证的判定^[77]。随着大数据的发展,利用计算机技术对实验动物复杂行为模式分析、舌脉等进行定量测量分析也成为可能。探索更多的动物四诊信息客观化采集与评价的技术方法,构建成熟完善的证候指标评价体系为目标,将极大地提升病证结合动物模型的可推广性和受认可度。

类器官技术作为生物医学研究的新窗口,利用不同类型的干细胞在体外特定环境培养下,在体外高度模拟体内真实器官的结构、生理功能及病变的过程,形成了简化且易于获取的“最小器官”^[78]。而结直肠癌患者来源的类器官能够高度模拟肿瘤在体内的组织学亚型、分化层次、细胞基因表达情况及对治疗的敏感性等各方面特性^[79-81]。结直肠癌类器官模型作为一个可视化的体外模型,能更加直观地呈现中药的药效作用,其对中药干预的疗效反馈或可直接揭示肿瘤在体内的发病、复发、转移及转归过程中的中医病机特点,并通过实时检测指标变化探索验证作用机制、发现潜在靶点及通路。

综上所述,现有结直肠癌病证结合动物模型,运用较多的为肝郁证与脾虚证及寒凝、瘀血、湿热、痰凝等致病因素,而“肾虚”的致病理论在结直肠癌发病、治疗过程中同样意义重大,但尚无病证结合模型报道^[82-83]。此外,现有的结直肠癌病证结合动物模型,大多为单证素的证候模型,除肝郁脾虚模型和血瘀证模型与临床证型吻合度较高外,其余证候模型仅能代表了结直肠癌临床证型的一部分致病因素,尚需对模型症状体征进行进一步的收集并辨证分型,判断该模型与临床辨证分型的吻合度,也缺乏与临床辨证分型吻合度更高的病证结合动物模型造模方法的报道。

同时现有结直肠癌肿瘤病证结合模型种类较少,大多未形成可推广的、广受认可的造模方式,尚处于起步的摸索阶段。后续研究尚需优化现有的结直肠癌肿瘤病证结合模型构建技术和方法,提高证候模型的丰富度、完善模型评价标准,以期构建出符合中医“辨证论治”特点的高认可度、稳定可推广的结直肠癌肿瘤病证结合动物模型。

参考文献

- Zheng R, Zhang S, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016. *J Natl Cancer Center*, 2022, 2(1):1-9.
- 王志潇, 张亚楠, 苗明三, 等. 基于数据挖掘的结直肠癌动物模型应用特点分析. *中药药理与临床*, 1-15 [2024-01-31]. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyj.20220929.001>.
- Leung H K M, Lo E K K, El-Nezami H. Theabrownin alleviates colorectal tumorigenesis in murine AOM/DSS model via PI3K/Akt/mTOR pathway suppression and gut microbiota modulation. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(9):1716.
- Yassin M, Sadowska Z, Djurhuus D, et al. Upregulation of PD-1 follows tumour development in the AOM/DSS model of inflammation-induced colorectal cancer in mice. *Immunology*, 2019, 158(1):35-46.
- 杨琼, 孙元水, 张喆, 等. 二甲胍诱导大鼠结肠癌模型的建立及其病理学特征和肠道菌群变化. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(21):3242-3246.
- Zhu Q C, Jin Z M, Wu W, et al. Analysis of the intestinal lumen microbiota in an animal model of colorectal cancer. *PLoS One*, 2014, 9(3):e90849.
- Parang B, Barrett C W, Williams C S. AOM/DSS model of colitis-associated cancer. *Methods Mol Biol*, 2016, 1422:297-307.
- Neufert C, Becker C, Neurath M F. An inducible mouse model of colon carcinogenesis for the analysis of sporadic and inflammation-driven tumor progression. *Nat Protoc*, 2007, 2(8):1998-2004.
- 张涛, 黄会云, 张志明, 等. DMH/DSS复合法诱导小鼠溃疡性结肠炎相关癌变的实验研究. *时珍国医国药*, 2011, 22(7):1744-1746.
- Liao H W, Hung M C. Intracaecal orthotopic colorectal cancer xenograft mouse model. *Bio-protocol*, 2017, 7(11):e2311.
- Caetano-Oliveira R, Gomes MA, Abrantes AM, et al. Revisiting colorectal cancer animal model—An improved metastatic model for distal rectosigmoid colon carcinoma. *Pathophysiology*, 2018, 25(2):89-99.
- 陈剑, 武华, 陈春华. 经肛门直肠注射大鼠原位大肠癌模型的构建. *中国医药导报*, 2010, 7(26):26-27, 30.
- 赵晓辉, 胡鸿涛, 黎海亮, 等. 经小动物内窥镜行肠黏膜下注射肿瘤细胞建立原位结直肠癌模型的技术探讨. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(20):3639-3643.
- 王熙悦, 路荣, 董婉维, 等. 实验动物在结直肠癌肝转移中的研究进展. *解剖科学进展*, 2022, 28(4):491-494.
- 朱杨壮壮, 邹纯朴, 陈晓, 等. 小鼠肿瘤肺转移模型及其应用进展. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(14):25-31.
- 陈晓珍, 李一飞, 张璇, 等. 脂肪细胞谷氨酰胺合成酶抑制结肠癌细胞的腹腔转移及血管生成. *第三军医大学学报*, 2018, 40(1):70-75.
- 郭苇, 左谦, 肖茜, 等. 参芪扶正注射液联合化疗对结肠癌腹腔转移小鼠炎症微环境和心肌损伤的影响. *辽宁中医杂志*, 2021, 48(3):183-186.
- 王国柱, 吴文溪, 张玉华. 大鼠结肠癌腹腔转移模型的建立和肿瘤

- 切除术后结肠吻合口羟脯氨酸含量的测定. 南京医科大学学报(自然科学版), 2006, 26(12):1255-1256.
- 19 Betzler A M, Kochall S, Blickensdörfer L, et al. A genetically engineered mouse model of sporadic colorectal cancer. *J Vis Exp*, 2017(125):55952.
 - 20 何斌, 刘建平, 孙红, 等. I~III期结直肠癌西医常规治疗后中医干预指南. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(21):1-9.
 - 21 张彤, 刘建平, 许云, 等. 转移性结直肠癌中医诊疗指南. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(21):24-31.
 - 22 吴时礼, 徐振晔. 近十年恶性肿瘤中医病因病机进展. 吉林中医药, 2020, 40(7):976-980.
 - 23 Tang M, Zhang W, Qin W Y, et al. Association between oral Chinese herbal medicine and recurrence and metastasis in patients with stages II and III colorectal cancer: A cohort study in China. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022:1-11.
 - 24 宋卓, 杨宇飞, 孙凌云, 等. 胃肠恶性肿瘤以脾虚为核心病机的理论与实践探讨. 世界中医药, 2021, 16(9):1357-1363, 1371.
 - 25 陈叶青, 李晓琳, 陈子睿, 等. 基于数据挖掘的结直肠癌中医证型与中药应用规律研究. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(3):412-416.
 - 26 张彤, 何文婷, 杨宇飞. 结直肠癌术后患者中医证型及用药规律文献分析. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(1):38-42.
 - 27 高风, 郭丽君, 谢雁鸣, 等. 真实世界直肠恶性肿瘤患者证候分布与用药特征研究. 海南医学院学报, 2022, 28(23):1810-1816, 1828.
 - 28 杜瑀焯, 柴可群, 陈嘉斌, 等. 柴可群辨治结直肠癌验案举隅. 浙江中医杂志, 2017, 52(3):221.
 - 29 高治理, 郝宇, 贺娟. 从“阳虚阴盛”论肿瘤病机. 环球中医药, 2019, 12(3):437-439.
 - 30 陈惠惠, 范家鸣, 江啸锋, 等. 从肿瘤阴阳属性辨治恶性肿瘤的思路探析. 医学争鸣, 2018:44-47.
 - 31 许云, 宋卓, 王菲叶, 等. 肿瘤病机法于阴阳的动态辨析. 中医杂志, 2022, 63(5):420-424.
 - 32 李慧璇. 寒热宿体大肠癌发生过程中纤维蛋白表达差异分析. 广州: 广州中医药大学硕士学位论文, 2020.
 - 33 杨万斌. 寒热证候大鼠大肠癌变过程肠上皮 Vang1、Lg1 和 Podx1 表达差异分析. 广州: 广州中医药大学硕士学位论文, 2016.
 - 34 罗培灿. 寒、热证候大鼠大肠癌启动相关机制差异分析及中药干预. 广州: 广州中医药大学硕士学位论文, 2017.
 - 35 李慧璇, 覃景春, 吕智豪, 等. 寒热不同宿体大肠癌模型建立及差异分析. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(21):109-117.
 - 36 于维涛, 文彬, 覃景春, 等. 寒热不同证候大肠癌大鼠细胞外基质特征差异分析. 中药药理与临床, 2022, 38(4):144-149.
 - 37 张斐. 从脂肪酸分解酶表达变化探讨痰促结直肠癌的分子机制. 福州: 福建中医药大学硕士学位论文, 2019.
 - 38 张晓芳. 基于巨噬细胞极化探讨高脂饮食小鼠结直肠癌痰证的细胞学基础. 福州: 福建中医药大学硕士学位论文, 2020.
 - 39 刘瑞芳. 从胆固醇-胆汁酸代谢异常探讨痰对小鼠结直肠癌发病的影响研究. 福州: 福建中医药大学硕士学位论文, 2021.
 - 40 吴金文. 探讨以痰浊为核心影响大肠肿瘤发病的病理组织学改变. 贵阳: 贵州中医药大学硕士学位论文, 2019.
 - 41 赵建晴. 肝郁因素对二甲甲基诱发大鼠实验性大肠癌的影响及四逆散加味的作用研究. 北京: 北京中医药大学硕士学位论文, 2001.
 - 42 赵璐. 逍遥散对肝郁小鼠结肠癌肝转移干预作用的机制研究. 上海: 上海中医药大学博士学位论文, 2016.
 - 43 马梦雨, 杨晓燕, 赵璐, 等. 肝气郁结对结肠癌模型小鼠肝转移的影响. 环球中医药, 2017, 10(6):682-686.
 - 44 方艺晓, 姚良权, 聂陆安, 等. 中药与肝郁脾虚因素刺激对大肠癌大鼠免疫功能变化的探讨. 江西医药, 2006, 41(7):451-453.
 - 45 陈彬, 孙珏, 梁芳, 等. 健脾解毒方对脾虚证荷瘤小鼠肠道菌群的调节作用. 上海中医药杂志, 2018, 52(1):81-85.
 - 46 乔大伟. 基于 Hippo 信号通路探讨结直肠癌肝转移脾虚证及中药干预机制. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2020.
 - 47 贾小强. 大肠癌血瘀证与肿瘤转移相关性及化瘀解毒方抗转移机制的研究. 北京: 北京中医药大学博士学位论文, 2006.
 - 48 贾小强, 黄乃健. 血瘀证对 BALB/C 裸鼠结肠腺癌 Lovo 细胞肝转移的影响. 中医药临床杂志, 2007, 19(5):440-445.
 - 49 周华妙, 郭勇. 寒凝血瘀对结肠癌肺转移模型小鼠肺组织 VEGF、MMP-2 表达的影响. 浙江中西医结合杂志, 2012, 22(6):429-432.
 - 50 郭勇, 姚庆华, 楼亭. 气虚血瘀证与 Balb/c 小鼠结肠癌血行转移相关性的机理研究. 中华中医药学刊, 2010, 28(8):1575-1578.
 - 51 姚庆华, 楼亭, 郭勇. 气虚血瘀证与 Balb/c 小鼠结肠癌血行转移相关性实验研究. 中华中医药杂志, 2010, 25(7):1115-1119.
 - 52 楼亭. 气虚血瘀状态下 BALB/c 小鼠结肠癌血行转移的机制研究. 甘肃中医, 2011, 24(6):37-39.
 - 53 钱丽燕, 郭勇, 李妍, 等. 气虚血瘀证荷瘤小鼠复合模型的建立及活血化痰法对其干预的影响研究. 中华中医药学刊, 2016, 34(1):177-180.
 - 54 李妍, 钱丽燕, 唐朋林, 等. 热毒血瘀证结肠癌荷瘤小鼠模型的建立及清热解毒活血化痰法对其的影响. 中华中医药杂志, 2017, 32(3):1336-1339.
 - 55 李妍, 钱丽燕, 唐朋林, 等. 中药干预对热毒血瘀证荷瘤小鼠肺组织中基质金属蛋白酶及细胞外信号调节激酶的影响. 中华中医药杂志, 2017, 32(8):3725-3728.
 - 56 李妍. 中药干预对热毒血瘀证荷瘤小鼠肺组织中基质金属蛋白酶及 ERK 影响的研究. 杭州: 浙江中医药大学硕士学位论文, 2013.
 - 57 刘宣, 柴妮, 韩植芬, 等. 健脾解毒方对湿热证结肠癌小鼠肿瘤血管新生的抑制作用. 上海中医药大学学报, 2015, 29(6):50-54.
 - 58 刘宣, 季青, 柴妮, 等. 湿热因素对结肠癌血管新生与肝转移的影响. 中华中医药杂志, 2015, 30(6):1934-1937.
 - 59 陈桐庆, 余成涛, 许惠琴, 等. 仙连解毒方干预“湿热瘀毒证”小鼠结直肠肿瘤的转录组学分析. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8):63-71.
 - 60 张钦畅, 程海波, 余成涛, 等. 仙连解毒方对结肠癌湿热瘀毒证模型小鼠肠道细胞类型的影响. 中医杂志, 2022, 63(5):461-467.
 - 61 曹文, 周小青. 湿热-痰结-瘀毒型小鼠肠癌模型的建立. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(1):38-41.
 - 62 Chen D, Zhou X B, Yan P Y, et al. Lipid metabolism reprogramming in colorectal cancer. *J Cell Biochem*, 2023, 124(1):3-16.
 - 63 Sedlak J C, Yilmaz Ö H, Roper J. Metabolism and colorectal cancer.

- Annu Rev Pathol*, 2023, 18:467-492.
- 64 Jin E H, Choi Y J, Lim J H, *et al.* Alteration of metabolic syndrome is associated with the decreased risk of colorectal cancer. *J Clin Med*, 2023, 12(15):4889.
- 65 Wei Z H, Xia J Y, Li J T, *et al.* SIRT1 promotes glucolipid metabolic conversion to facilitate tumor development in colorectal carcinoma. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(6):1925-1940.
- 66 Yang Y F, Luo D K, Shao Y, *et al.* circCAPRN₁ interacts with STAT2 to promote tumor progression and lipid synthesis via upregulating ACC1 expression in colorectal cancer. *Cancer Communications (London, England)*, 2023, 43(1):100-122.
- 67 邹建华, 李刘生, 吴煜. 基于脾虚痰蕴病机探讨健脾化痰法防治结肠癌. *北京中医药*, 2022, 41(1):39-41.
- 68 Zhong J, Duan Y. Research progress on the effect of traditional Chinese medicine on glycolipid metabolism diseases. *Inter J Front Med*, 2023, 5(5):1.
- 69 吴菲, 向华, 阳丽. 柴胡疏肝散加味干预妊娠期肝内胆汁淤积症临床疗效分析. *中医药导报*, 2016, 22(8):83-85.
- 70 Ling X W, Peng S Y, Zhong J B, *et al.* Effects of Chang-Kang-Fang formula on the microbiota-gut-brain axis in rats with irritable bowel syndrome. *Front Pharmacol*, 2022, 13:778032.
- 71 Yang Y, Wang Y, Zhao L, *et al.* Chinese herbal medicines for treating ulcerative colitis via regulating gut microbiota-intestinal immunity axis. *Chin Herbal Med*, 2023, 15(2):181-200.
- 72 闫蕴孜, 孙凌云, 闫韶花, 等. 基于中医脾虚量表的结肠癌患者临床特征、肠道菌群及免疫功能相关性研究. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(3):405-411.
- 73 徐超, 徐露, 张闰哲, 等. 结肠直肠癌患者肠道菌群结构变化与中医证候相关性研究. *中华中医药杂志*, 2020, 35(4):2056-2059.
- 74 任明名, 顾立梅, 杨文娟, 等. 国医大师周仲瑛从湿热瘀毒、脾气亏虚论治结肠直肠癌经验. *中华中医药杂志*, 2022, 37(8):4488-4492.
- 75 李磊, 林成仁, 任建勋, 等. 小型猪痰瘀互结证冠心病证候诊断研究. *世界中医药*, 2013, 8(10):1132-1136.
- 76 李奕, 沈照波. 从逻辑关系角度考察“以方测证”法. *中医学报*, 2019, 34(4):714-716.
- 77 钱宏梁, 潘志强, 方肇勤. 红外热像技术在小鼠阳虚证研究中的应用及其评价体系. *中国实验动物学报*, 2019, 27(6):733-739.
- 78 Corrò C, Novellademunt L, Li V S W. A brief history of organoids. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 319(1):C151-C165.
- 79 Betge J, Jackstadt R. From organoids to bedside: Advances in modeling, decoding and targeting of colorectal cancer. *Int J Cancer*, 2023, 152(7):1304-1313.
- 80 Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, *et al.* Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 2018, 359(6378):920-926.
- 81 Lv T, Shen L J, Xu X Y, *et al.* Patient-derived tumor organoids predict responses to irinotecan-based neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer. *Int J Cancer*, 2023, 152(3):524-535.
- 82 闫韶花, 许云, 孙凌云, 等. “两阶段三部曲”在结肠癌辅助化疗期的应用. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(10):3640-3644.
- 83 吴娜, 孙凌云, 陈楠, 等. 健脾补肾序贯方减轻结肠癌辅助化疗所致骨髓抑制疗效观察及机制探讨. *北京中医药*, 2023, 42(4):355-359.

Considerations on the Construction of Animal Models of Colorectal Cancer Under the Pathology-Evidence Combination Model

GUO Xinyu^{1,2}, WANG Feiye¹, XU Yun¹, GONG Lutian¹, FU Li¹, ZENG Yumei¹, YANG Yufei¹

(1. Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. Xiyuan Clinical Medical College of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract: Experimental animal models are an essential part of basic research on colorectal cancer. It is important for basic research on colorectal tumor treatment in TCM to construct animal models with the characteristics of TCM based on the theory of TCM diagnosis and treatment, so that the animal models can meet the characteristics of both western medicine and TCM symptoms. In this paper, we summarize the methods and characteristics of animal models of colorectal tumors and the combination of disease and evidence for scientific research on colorectal tumors through literature review, in order to provide reference for researchers engaged in scientific research on colorectal tumors.

Keywords: Colorectal cancer, Pathology-evidence combination, Experimental animal models, TCM syndrome

(责任编辑: 李青)