

癌性恶病质小鼠模型的建立及其自然发展过程研究

肖春红¹, 徐迎新², 张再重¹, 邹忠东¹, 邹振玉², 杜晓辉², 王烈¹

¹南京军区福州总医院 普通外科, 福建福州 350025; ²解放军总医院 普通外科, 北京 100853

摘要: **目的** 探讨癌性恶病质小鼠模型的建立并研究其自然发展过程。**方法** 32只BALB/c雄性小鼠, 随机分为健康对照组(n=8)和轻、中、重度恶病质组(每组n=8)。健康对照组右侧腋窝皮下单次注射0.9%氯化钠注射液0.1ml, 恶病质组右侧腋窝皮下接种结肠腺癌细胞株C26细胞悬液0.1ml(1×10^6 只)。恶病质组建模后轻度恶病质(Mild)、中度恶病质(Moderate)、重度恶病质(Severe)3个组观测时间不同。建模后, 观测各组小鼠的精神状态、毛发、自主活动、体质量、摄食量、饮水量、瘤体体积和瘤重。当轻度恶病质组小鼠体质量减少5%时、中度恶病质组减少10%时、重度恶病质组减少15%时(健康对照组与重度恶病质组同时处理), 取血检测血常规、生化及炎症指标, 并解剖小鼠称取瘤重。**结果** 健康对照组小鼠精神状态、摄食量、饮水量无明显变化。恶病质组接种C26细胞后第5天皮下均可触及肿瘤结节, 第7~8天肿瘤体积的增长速度最快。第9天, 体质量减少达5%, 出现轻度恶病质; 第13天, 体质量减少达10%, 出现中度恶病质; 第18天, 体质量减少达15%, 出现重度恶病质。恶病质组小鼠体质量、摄食量、饮水量均明显低于健康对照组, 并随着恶病质程度进展变化越来越明显。恶病质组白细胞计数(blood cell count, WBC)、中性粒细胞百分比(neutrophil percentage, NEUT%)、三酰甘油(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, CHO)、IL-6、TNF- α 和CRP明显升高, 淋巴细胞百分比(percentage of lymphocytes, LYM%)、总蛋白(total protein, TP)、血清白蛋白(serum albumin, ALB)和血糖(blood glucose, GLU)明显下降, 且随着恶病质程度进展变化越来越明显。**结论** 皮下接种C26细胞制备小鼠癌性恶病质模型致瘤率高、稳定性好, 符合癌性恶病质的病理生理学特点, 且操作简单。建模后随着肿瘤的生长, 癌性恶病质小鼠经历了轻、中、重度恶病质的进展过程, 表现出不同程度的营养不良、炎症反应和代谢紊乱。

关键词: 癌性恶病质; 代谢紊乱; 炎症反应; 小鼠

中图分类号: R 73-35 文献标志码: A 文章编号: 2095-5227(2016)11-1177-06 DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2016.11.016

网络出版时间: 2016-05-11 10:06

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20160511.1006.004.html

Establishment of animal model of cancer cachexia in mice and its natural development process

XIAO Chunhong¹, XU Yingxin², ZHANG Zaizhong¹, ZOU Zhongdong¹, ZOU Zhenyu², DU Xiaohui², WANG Lie¹

¹Department of General Surgery, Fuzhou General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350025, Fujian Province, China; ²Department of General Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: DU Xiaohui. Email: duxiaohui301@sina.com; WANG Lie. Email: fzptwk@163.com

Abstract: Objective To establish a mouse model of cancer cachexia (CC) and explore its natural development process. **Methods** BALB/c male mice were inoculated with C26 in the armpit subcutaneously to build CC model. Thirty-two male BALB/c mice were randomly divided into normal control group (n=8), mild cachexia, moderate cachexia and severe cachexia groups (n=8, respectively). Rats in normal control group received right axillary subcutaneous single injection of 0.1 ml normal saline, and rats in cachexia group received right axillary subcutaneous single injection of colon adenocarcinoma cell line C26 cell suspension (0.1 ml, 1×10^6). After modeling, the mental state, hair, activity, body weight, food intake, water volume, tumor weight and volume of the mice were observed. When the body weight of mice in mild cachexia group decreased 5%, moderate cachexia group decreased 10%, severe cachexia group decreased 15% (normal control group and severe cachexia group were sacrificed at the same time), blood tests including CBC, biochemical factors and inflammatory factors were performed. Mice in cachexia group were dissected to weigh the tumor. **Results** In normal control group, the general condition, food intake and water intake did not change significantly. The subcutaneous tumor nodules in cachexia group could be touched at day 5, and the tumor volume grew fastest at day 7-8. The body weight decreased 5% at day 9 with mild cachexia, decreased 10% at day 13 with moderate cachexia, and decreased 15% at day 18 with severe cachexia. The body weight, food intake, water intake were significantly lower in cachexia group than normal control group, and they decreased in a severity-dependent manner. The white blood cell count (WBC), neutrophil percentage (NEUT%), triglyceride (TG), cholesterol (CHO), IL-6, TNF- α and CRP significantly increased, while the percentage of lymphocytes (LYM%), total protein (TP), serum albumin (ALB) and blood glucose (GLU) decreased significantly in cachexia group, and they all changed in a severity-dependent manner. **Conclusion** Establishing mice model of cancer cachexia with subcutaneous inoculation of C26 cells shows high tumorigenic rate, good stability, and it also conforms to the physiological and pathological characteristics of cancer

收稿日期: 2016-01-05

作者简介: 肖春红, 男, 硕士, 主治医师。研究方向: 胃肠道肿瘤的临床和基础研究。Email: xiao84chun@163.com

通信作者: 杜晓辉, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师。Email: duxiaohui301@sina.com; 王烈, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师。Email: fzptwk@163.com

cachexia, which is a simple and valid method. As time passing, mice change from mild cachexia to moderate cachexia and then to severe cachexia with different degrees of malnutrition, inflammation and metabolic disorders.

Keywords: cancer cachexia; metabolic disorders; inflammatory response; mice

癌性恶病质 (cancer cachexia, CC) 是一种主要表现为骨骼肌和脂肪组织短期内大量消耗, 进而导致体质量进行性下降的不可逆性综合征, 可出现于 50% ~ 80% 的癌症患者中, 是死亡的直接原因之一^[1]。建立稳定性强、符合病理生理学特性的动物模型是深入研究 CC 的重要前提。目前荷 C26 小鼠被认为是研究 CC 最为理想的动物模型, 但荷瘤小鼠进入恶病质不同阶段的判定标准仍有争议, 且在荷瘤小鼠恶病质整个自然发展过程方面缺乏系统性研究。为此, 本研究综合评估了荷 C26 小鼠 CC 模型自然发展过程中相关指标的变化, 探讨其病理生理学演变特点, 为深入了解 CC 的发病机制和针对性治疗提供理想的动物模型和理论依据。

材料和方法

1 实验动物 BALB/c 雌性小鼠 32 只, 采购于军事医学科学院实验动物中心, SPF 级, 鼠龄 6 ~ 8 周, 体质量 20 ~ 25 g。

2 C26 细胞的传代培养 小鼠结肠腺癌细胞株 C26 由解放军总医院普通外科研究所传代培养。轻晃 C26 细胞培养瓶数次, 使细胞碎片悬浮, 连同培养基一起倒出, 0.9% 氯化钠注射液洗涤细胞 1 次。沿培养瓶无细胞面侧加入 0.25% 胰蛋白酶消化液 4 ~ 5 ml, 翻转培养瓶, 使消化液浸没细胞。水平放置约 1 min, 肉眼见细胞面出现布纹孔状时, 倒出消化液。沿细胞面侧加入适量新鲜 RPMI-1640 培养基, 吸管吹打瓶壁数次, 使细胞脱落、溶解, 1 500 r/min 离心 5 min, 加入适量 RPMI-1640 培养基后以 1 : 2 或 1 : 3 分配传代。将传代后的细胞置于 37℃、5% CO₂、95% 湿度的培养箱中培养。取对数生长期 C26 细胞, 加入 0.25% 胰蛋白酶消化细胞, PBS 洗涤重悬, 0.9% 氯化钠注射液制成单细胞悬液, 调整细胞浓度为 1×10^7 / ml, 锥虫蓝染色后测定活细胞率 > 90%, 备用。

3 小鼠 CC 模型的构建 32 只小鼠随机分为健康对照组 (n=8) 和轻、中、重度恶病质组 (各组 n=8)。健康对照组右侧腋窝皮下单次注射 0.9% 氯化钠注射液 0.1 ml, 恶病质组右侧腋窝皮下注射结肠腺癌细胞株 C26 细胞悬液 0.1 ml (1×10^6 / 只)。轻度、中度、重度 3 组观测时间不同。

4 小鼠一般情况 致瘤后每日同一时间观测各组小鼠的精神状态、毛发、自主活动、体质量、摄

食量、饮水量和肿瘤的体积。测出皮下肿瘤的最大径 (a) 和最小径 (b), 按公式 $V(\text{mm}^3) = ab^2/2$ 计算肿瘤体积, 绘制肿瘤的生长曲线和体质量变化曲线。

5 小鼠实验室指标检测 轻度恶病质组小鼠的体质量较初始体质量减少 5% 时、中度恶病质组减少 10% 时、重度恶病质组减少 15% 时 (对照组与重度组同时处理), 如下法检测血常规、生化及炎性指标, 解剖小鼠并称取瘤重: 1) 血常规及生化指标检测: 小鼠摘去眼球取血; 取全血抗凝后检测血常规, 另取全血静置 1 h 后 2 000 r/min 离心 10 min, 吸取血清, 取部分血清用全自动生化仪检测生化指标 (血糖、总蛋白、白蛋白、胆固醇), 剩余部分血清 -80℃ 冻存留用。2) 炎性因子含量检测: 留取的血清用酶联免疫吸附法 (ELISA) 定量检测 IL-6、TNF- α 及 CRP。从 4℃ 恒温箱中取出试剂盒, 室温放置 30 min。试剂盒中包含标准品、标准品稀释液、酶标包被板、链霉亲和素 -HRP、30 倍浓缩洗涤液、生物素标记的抗体、显色剂 A 液、显色剂 B 液、终止液等。按说明书操作使用。

6 统计学分析 使用 SPSS19.0 统计软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数比较采用 *t* 检验, 多组间均数比较采用方差分析, 组间的两两比较采用 LSD 法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

1 小鼠 CC 模型建立情况 小鼠接种 C26 肿瘤细胞后第 5 天皮下均可触及肿瘤结节, 第 7 ~ 8 天肿瘤体积的增长速度最快。第 9 天以后荷瘤小鼠逐渐出现颈背部毛色发暗, 行动迟缓等表现, 体质量减轻达 5%, 判断荷瘤小鼠进入轻度恶病质状态; 第 13 天以后荷瘤小鼠自主活动减少, 摄食量、饮水量下降, 并出现毛发变暗无光泽、虚弱及精神不振等症状, 体质量减轻达 10%, 判断荷瘤小鼠进入中度恶病质状态; 第 18 天以后荷瘤小鼠精神萎靡, 几乎无自主活动, 摄食量、饮水量很少, 体质量减轻达 15%, 判断荷瘤小鼠进入重度恶病质状态。

2 各组小鼠体质量的比较 健康对照组小鼠的体质量随时间逐渐增长。荷瘤小鼠在致瘤后最初几天体质量随时间逐渐增长, 但增长速度较对照组慢, 致瘤后第 6 ~ 7 天开始体质量逐渐下降, 第 9 天体质量降低超过 5%, 第 10 ~ 11 天因肿瘤生长

迅速, 体质量保持平稳, 第13天体质量降低超过10%, 之后体质量进一步降低, 至第18天体质量降低超过15%(图1)。如表1所示, 各组小鼠初始体质量的差异无统计学意义($P > 0.05$), 而恶病质组较健康对照组的终末体质量明显降低, 随着恶病质程度的进展, 肿瘤体积及瘤重进一步增加, 去瘤体质量进一步减轻($P < 0.01$)。如图2所示, 轻度组致瘤第9天体质量降低 $5.55\% \pm 3.14\%$, 去瘤体质量降低 $8.78\% \pm 3.62\%$, 中度组致瘤第13天体质量降低 $10.82\% \pm 3.32\%$, 去瘤体质量降低 $17.84\% \pm 4.70\%$, 重度组致瘤第18天体质量降低 $17.89\% \pm 1.13\%$, 去瘤体质量降低 $26.82\% \pm 4.10\%$ 。

3 各组小鼠摄食量和饮水量比较 对照组每日摄食量和饮水量变化不大。恶病质组每日平

均摄食量明显较对照组少($P < 0.01$), 重度组(3.05 ± 1.88) g明显少于轻度组(4.69 ± 0.89) g和中度组(3.78 ± 1.68) g($P < 0.05$), 而轻度组和对照组摄食量差异无统计学意义($P > 0.05$), 见图3A。各组小鼠每日平均饮水量, 轻度组与对照组差异无统计学意义, 重度组明显少于轻度组和中度组, 见图3B。

4 各组小鼠血常规比较 随着恶病质程度的进展, 荷瘤小鼠外周血白细胞计数、中性粒细胞百分比逐渐增加, 淋巴细胞百分比逐渐降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。而各组小鼠的血红蛋白、红细胞计数及血小板计数随着恶病质程度的进展有下降的趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

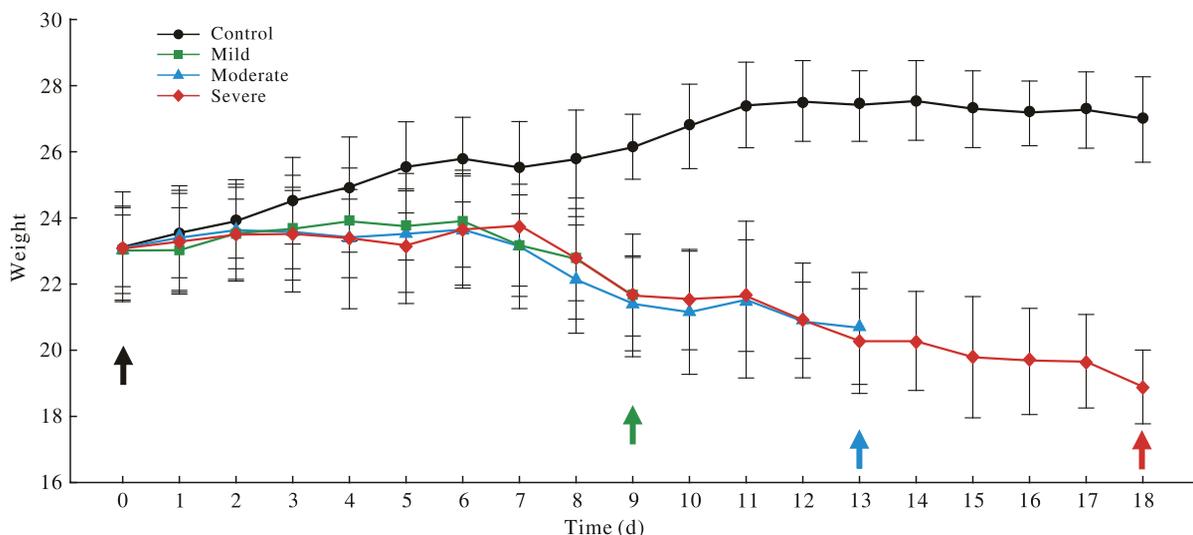


图1 各组小鼠体质量变化曲线(n=8) ↑: 致瘤时间; ↑: 轻度组终止时间; ↑: 中度组终止时间; ↑: 重度组终止时间
Fig.1 Changes of weight in different mice groups (n=8) ↑: Time of tumor inoculation; ↑: Endpoint for mild cachexia group; ↑: Endpoint for moderate cachexia group; ↑: Endpoint for severe cachexia group

表1 各组小鼠体质量及肿瘤比较
Tab.1 Weight of body and tumor in different mice groups (n=8)

Group	Initial weight (g)	Final weight (g)	Tumor volume (mm ³)	Tumor weight (g)	Body weight without tumor (g)
Control	23.00 ± 1.31	27.00 ± 1.31	-	-	-
Mild	22.88 ± 1.46	21.63 ± 1.85 ^c	119.63 ± 80.33	0.74 ± 0.26	20.89 ± 1.72
Moderate	23.13 ± 1.64	20.63 ± 1.69 ^c	494.31 ± 194.03 ^d	1.63 ± 0.37 ^d	19.00 ± 1.89 ^a
Severe	23.00 ± 1.67	18.88 ± 1.13 ^{bcd}	1 014.94 ± 347.62 ^{de}	2.06 ± 0.33 ^{bd}	16.82 ± 1.19 ^{bd}

^a $P < 0.05$, vs mild; ^b $P < 0.05$, vs moderate; ^c $P < 0.01$, vs control; ^d $P < 0.01$, vs mild; ^e $P < 0.01$, vs moderate

表2 各组小鼠血常规比较
Tab.2 Blood routine results in different mice groups (n=8)

Group	WBC ($\times 10^9/L$)	NEUT% (%)	LYM% (%)	HGB (g/L)	RBC ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)
Control	7.56 ± 2.55	53.53 ± 14.91	30.60 ± 9.30	146.38 ± 26.25	8.71 ± 1.15	928.50 ± 169.32
Mild	10.81 ± 1.46 ^a	66.69 ± 11.70 ^a	24.06 ± 10.78	142.38 ± 18.93	8.69 ± 0.67	913.75 ± 163.74
Moderate	12.58 ± 3.47 ^d	77.71 ± 11.58 ^d	19.41 ± 8.54 ^a	135.75 ± 15.94	8.19 ± 0.92	895.13 ± 228.60
Severe	15.36 ± 2.72 ^{cde}	79.79 ± 5.79 ^{bd}	17.89 ± 4.23 ^d	115.13 ± 30.18	7.09 ± 1.97	867.50 ± 167.65

^a $P < 0.05$, vs control; ^b $P < 0.05$, vs mild; ^c $P < 0.05$, vs moderate; ^d $P < 0.01$, vs control; ^e $P < 0.01$, vs mild

5 各组小鼠生化指标比较 随着恶病质程度的进展, 荷瘤小鼠代谢紊乱逐渐加重。荷瘤小鼠外周血清总蛋白、白蛋白和血糖逐渐降低 ($P < 0.01$)。在脂代谢方面, 荷瘤小鼠血清三酰甘油和胆固醇随恶病质程度的进展而升高 ($P < 0.05$), 见表 3。

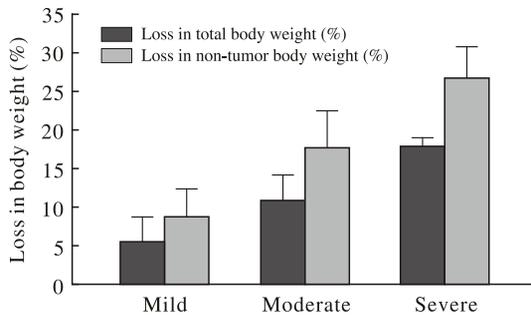


图 2 各组小鼠终末体质量及去瘤体质量变化幅度 (n=8)
Fig.2 Changes of total body weight and nontumor body weight in each group (n=8)

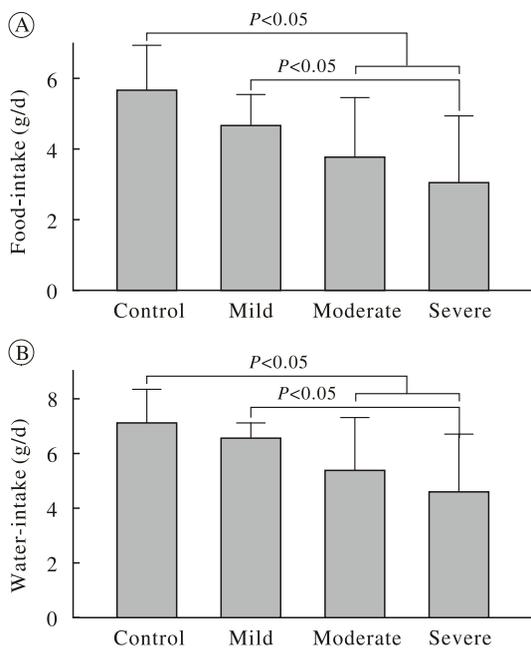


图 3 各组小鼠摄食量(A)和摄水量(B)的比较 (n=8)
Fig.3 Food intake (A) and water intake (B) in different mice groups (n=8)

6 各组小鼠炎症因子比较 各组小鼠外周血清炎症因子水平随恶病质程度的进展而增加 (图 4)。轻度组 (598.96 ± 143.29) ng/L、中度组 ($967.62 \pm$

176.59) ng/L 和重度组 ($1\ 240.61 \pm 427.37$) ng/L 外周血清 IL-6 明显高于对照组 (394.32 ± 275.49) ng/L ($P < 0.01$)。恶病质组与对照组 TNF- α [466.74 ± 194.88] ng/L, ($1\ 054.00 \pm 133.33$) ng/L, ($1\ 517.79 \pm 858.91$) ng/L vs (315.56 ± 195.36) ng/L] 和 CRP [96.99 ± 32.38] ng/L, (147.48 ± 45.46) ng/L, (219.17 ± 147.22) ng/L vs (88.48 ± 47.74) ng/L] 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

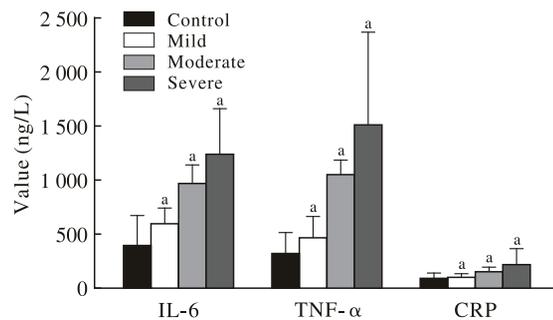


图 4 各组小鼠外周血炎症因子的比较 (n=8)
Fig.4 Comparison of inflammatory indicators of mice in different groups (n=8) ($P < 0.01$, vs control group)

讨论

CC 不仅降低癌症患者生活质量, 并且还影响抗肿瘤治疗的效果。据统计癌症患者相关死亡原因中, 超过 20% 是由 CC 导致, 可见 CC 还可直接导致患者死亡。因此, 研究 CC 的病理生理学特点, 对寻求潜在的有效治疗方法具有重要意义。小鼠结肠腺癌细胞系 C26 是一种未分化的肿瘤细胞, 以 C26 诱发的荷瘤小鼠模型恶病质的特点符合以骨骼肌和脂肪组织短时间大量丢失, 同时引起低血糖、低糖皮质激素和肝功能受损等代谢紊乱的表现, 与临床肿瘤患者恶病质表现基本一致^[2]。因此荷 C26 小鼠最常用于建立 CC 动物模型, 但关于实验动物进入恶病质阶段的时间以及恶病质不同严重程度判断标准仍有争议, 且国内外对 CC 整个自然发展过程方面缺乏系统性研究。本研究在荷 C26 小鼠建模后持续动态观察研究, 比较小鼠精神状态、体质量、瘤重、营养代谢及炎症因子等指标在 CC 不同阶段的变化, 以期深入了解 CC

表 3 各组小鼠血清生化指标的比较

Tab. 3 Biochemical tests results in different mice groups (n=8)

Group	TP (g/L)	ALB (g/L)	GLU (mmol/L)	TG (mmol/L)	CHO (mmol/L)
Control	63.25 \pm 4.53	40.63 \pm 8.02	4.29 \pm 1.11	0.91 \pm 0.18	2.36 \pm 0.85
Mild	63.00 \pm 5.01	37.38 \pm 10.07	3.49 \pm 1.40	1.53 \pm 0.65	2.98 \pm 0.79
Moderate	59.75 \pm 9.25	32.25 \pm 7.40 ^a	1.96 \pm 1.04 ^{bc}	2.08 \pm 1.42 ^a	3.24 \pm 1.15
Severe	50.63 \pm 6.50 ^{ode}	26.50 \pm 4.69 ^{cd}	1.29 \pm 1.16 ^{cd}	2.36 \pm 0.87 ^c	4.09 \pm 0.88 ^{bc}

^a $P < 0.05$, vs control; ^b $P < 0.05$, vs mild; ^c $P < 0.01$, vs control; ^d $P < 0.01$, vs mild; ^e $P < 0.01$, vs moderate

病理生理学的自然发展过程并探讨不同严重程度 CC 的综合评估方法。

进行性体质量下降是 CC 的主要特征之一,也是判断肿瘤患者进入恶病质不同阶段的一个重要临床指标^[3]。临床上,一般认为肿瘤患者体质量较初始体质量减少 5% 即进入轻度恶病质状态,减少至 10% 和 15% 分别提示肿瘤患者进入中度和重度恶病质状态^[4]。肿瘤患者出现不同程度的摄食中枢和相应的外周信号通路紊乱,是导致厌食、早饱等症状的主要机制,进一步发展可导致骨骼肌和脂肪大量丢失,造成营养不良、体质量持续性下降、消瘦。肿瘤组织生长过程中,代谢产物作用于下丘脑摄食中枢,导致厌食、发热、疼痛等症状^[5-6]。肿瘤生长也会使血浆色氨酸浓度升高,大脑中色氨酸浓度的升高可导致下丘脑腹内侧核 5-羟色胺能神经元活性增强,是患者产生厌食、早饱等症状的重要因素^[7]。我们观察到,荷瘤小鼠在致瘤后第 9 天体质量减少 5%,并逐渐出现颈背部毛色发暗、自主活动迟缓等表现,开始进入轻度 CC 状态;第 13 天体质量减少 10%,自主活动明显减少,摄食量、摄水量减少,并出现毛发变暗无光泽、体力虚弱、精神不振等恶病质症状,开始进入中度 CC 状态;第 18 天体质量减少 15%,精神萎靡,无明显自主活动,摄食量、饮水量很少,表明进入重度 CC 状态。

代谢紊乱也是 CC 的一个重要特征。1) 糖代谢紊乱。肿瘤患者糖代谢异常的表现形式主要是肿瘤对葡萄糖的消耗量急剧增加,但却远不止如此,肿瘤患者还存在不同程度的葡萄糖储存下降、肝糖异生增强和胰岛素抵抗程度加大等。肿瘤组织葡萄糖需求量为正常组织的 7 倍^[8],由于肿瘤组织线粒体异常以及细胞因子的改变^[9],且肿瘤患者大多处于严重缺氧状态,肿瘤组织的代谢几乎全靠糖酵解功能,这一过程产生的大量乳酸导致患者出现酸中毒,进一步加重厌食等症状^[10]。2) 脂肪代谢异常。肿瘤患者脂肪降解作用增强,内源性脂肪降解和脂肪酸氧化加强,三酰甘油转化率升高,而外源性三酰甘油水解减少,导致血浆游离脂肪酸的浓度升高^[11-13]。3) 蛋白分解增加。癌症患者骨骼肌蛋白降解,同时蛋白合成降低,导致血清总蛋白量大幅降低^[10,14-15]。骨骼肌是内源性氮流失的主要场所,由于骨骼肌约占成人体质量的 40%,因此,肌肉蛋白质降解增强是导致 CC 的重要原因^[16]。我们观察到,随着恶病质程度的进展,小鼠外周血血清中反映糖代谢的血糖水平进行性

降低,反映脂肪代谢的三酰甘油、胆固醇水平进行性升高,反映蛋白质代谢的总蛋白、白蛋白水平进行性降低。这一结果与以往研究发现的 CC 病理生理学改变特征一致,也从侧面证实该动物模型建模成功,符合该病的临床特征和病理特点。

肿瘤的进展有赖于肿瘤自身的生长和与宿主之间复杂的炎症反应,CC 相关的炎性因子一方面是宿主免疫细胞分泌的细胞因子,另一方面是肿瘤细胞的分解代谢产物^[17-18],晚期肿瘤患者的体质量下降和活动减少与 SIRS 密切相关。宿主免疫细胞分泌的细胞因子主要包括 TNF- α 、IL-6、IL-1 以及 INF- γ 等,这些细胞因子主要在代谢紊乱过程中伴随脂质、蛋白质降解的增加而产生,是导致神经性厌食的机制之一^[17-19]。血清 CRP 是反应机体 SIRS 严重程度重要检测指标^[20]。本研究发现荷瘤小鼠外周血 TNF- α 、IL-6 及 CRP 水平随肿瘤生长有逐渐升高的趋势,且轻、中、重度 CC 小鼠之间存在显著差异。该结果一方面证实炎性细胞因子及其相关的 SIRS 在 CC 发病过程中的作用,另一方面也表明随着 CC 严重程度变化,炎性细胞因子对其作用不断加强。

一种疾病理想的动物模型应该最大限度地复制该病的病理生理学特征并与临床实际相符。本研究中 C26 所诱导 CC 小鼠模型在症状表现、代谢和营养指标变化、炎性细胞因子水平方面与该病实际情况最大限度一致,表明该方法是目前研究 CC 最为理想、稳定和可靠的动物模型建模方法。同时,我们通过动态观察,既明确了实验动物进入 CC 的判定依据,又划分出轻、中、重度 CC 的评估标准,对深入理解 CC 自然发展过程中的病理生理学变化以及寻求潜在的治疗手段提供了参考资料。

参考文献

- 1 Argiles JM, Busquets S, Stemmler BA. Cancer cachexia: understanding the molecular basis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14 (11): 754-762.
- 2 Murphy KT, Chee A, Trieu J, et al. Importance of functional and metabolic impairments in the characterization of the C-26 murine model of cancer cachexia [J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5 (4): 533-545.
- 3 Blum D, Strasser F. Cachexia assessment tools [J]. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2011, 5 (4): 350-355.
- 4 Bonetto A, Aydogdu T, Kunzevitzky N, et al. STAT3 activation in skeletal muscle links muscle wasting and the acute phase response in cancer cachexia [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (7): e22538.
- 5 Tsai VW, Husaini Y, Manandhar R, et al. Anorexia/cachexia of chronic diseases: a role for the TGF- β family cytokine MIC-1/GDF15 [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2012, 3 (4): 239-243.

- 6 Ruud J, Nilsson A, Engström Ruud L, et al. Cancer-induced anorexia in tumor-bearing mice is dependent on cyclooxygenase-1 [J]. *Brain Behav Immun*, 2013, 29 : 124-135.
- 7 Ezeoke CC, Morley JE. Pathophysiology of anorexia in the cancer cachexia syndrome [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2015, 6(4): 287-302.
- 8 黎介寿. 肿瘤营养学的兴起及临床应用 [J]. *中国临床营养杂志*, 2004, 12 (4): 221-222.
- 9 Aulino P, Berardi E, Cardillo VM, et al. Molecular, cellular and physiological characterization of the cancer cachexia-inducing C26 colon carcinoma in mouse [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10 : 363.
- 10 Grabiec K, Burchert M, Milewska M, et al. Systemic and local mechanisms leading to cachexia in cancer [J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2013, 67 (67) : 1397-1409.
- 11 Das SK, Hoefler G. The role of triglyceride lipases in cancer associated cachexia [J]. *Trends Mol Med*, 2013, 19 (5) : 292-301.
- 12 Batista ML, Neves RX, Peres SB, et al. Heterogeneous time-dependent response of adipose tissue during the development of cancer cachexia [J]. *J Endocrinol*, 2012, 215 (3) : 363-373.
- 13 杨凯. 结直肠癌多不饱和脂肪酸代谢及相关临床病理因素分析 [D]. 北京 : 解放军医学院, 2013.
- 14 Esposito A, Criscitiello C, Gelao L, et al. Mechanisms of anorexia-cachexia syndrome and rational for treatment with selective ghrelin receptor agonist [J]. *Cancer Treat Rev*, 2015, 41 (9) : 793-797.
- 15 Fujiwara Y, Kobayashi T, Chayahara N, et al. Metabolomics evaluation of serum markers for cachexia and their intra-day variation in patients with advanced pancreatic cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (11) : e113259.
- 16 Benny Klimek ME, Aydogdu T, Link MJ, et al. Acute inhibition of myostatin-family proteins preserves skeletal muscle in mouse models of cancer cachexia [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391 (3) : 1548-1554.
- 17 De Matos-Neto EM, Lima JD, De Pereira WO, et al. Systemic inflammation in cachexia - is tumor cytokine expression profile the culprit? [J]. *Front Immunol*, 2015, 6 : 629.
- 18 Peppersack T. For an operational definition of cachexia [J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12 (5) : 423-424.
- 19 隆艳艳, 焦顺昌. mTOR 抑制剂对炎症相关细胞因子分泌的影响 [J]. *解放军医学院学报*, 2015, 36 (12) : 1252-1254.
- 20 Punzi T, Fabris A, Morucci G, et al. C-reactive protein levels and vitamin d receptor polymorphisms as markers in predicting cachectic syndrome in cancer patients [J]. *Mol Diagn Ther*, 2012, 16 (2) : 115-124.