

芥子气皮肤损伤不同动物模型的比较

Sulfur mustard induced skin damage:a comparison of different animal models

吴建华¹,吕挺²,朱明学²

(1. 第二军医大学长海医院皮肤科,上海 200433; 2. 第二军医大学防护医学教研室,上海 200433)

[关键词] 芥子气;皮肤疾病;模型,动物

[中图分类号] R 827.174 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2006)02-0223-02

芥子气是一种典型的双功能烷化剂,因为它具有理化性质比较稳定、穿透性强、中毒途径多、消毒及防治都比较困难等特点,因而被外军认为是一类军事性能较好的持久性毒剂。目前它仍是各国装备的主要毒剂之一,在现代战争中仍然有着十分重要的地位。皮肤是芥子气中毒的主要途径,又是损伤的主要靶器官,因此皮肤的防护一直是芥子气研究的重点。但由于缺乏合适的皮肤实验模型而制约了芥子气研究的进展。本研究对目前国内外常用的研究芥子气皮肤损伤的动物模型进行了实验对比分析,以确定一种可靠的实验模型,为将来的进一步研究服务。

1 材料和方法

1.1 实验动物 豚鼠和家兔购自第二军医大学实验动物中心。断奶小猪购自农家圈养的猪仔。

1.2 实验毒剂 芥子气由军事医学科学院提供,纯度99.6%,浓度1.26 mg/ml,用无水乙醇作为溶剂配制浓度为0.1 mg/ μ l的母液。

1.3 染毒方法 以背部皮肤作为实验区域,先剪毛,后剃毛,然后用记号笔划出边长为1 cm的正方形染毒区。不同动物不同区域的染毒剂量分别为:豚鼠0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1、5 mg,家兔0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、3.8(3 ml原液)、6.3 mg(5 ml原液),断奶小猪0.5、1、3.8、6.3 mg,以溶剂无水乙醇作为空白对照。

1.4 观察方法和指标 定期观察实验动物的活动和饮食状况,比较不同剂量染毒创面的形态学变化,家兔和断奶小猪的染毒创面还取活检,采用H-E染色法和弹力、胶原纤维双重组合特殊染色观察组织病理学变化^[1]。

2 结果

2.1 豚鼠模型 豚鼠的染毒总剂量为7.47 mg,未出现全身中毒症状,饮食和活动状况良好。各染毒区域均未出现明显的红斑、水疱、糜烂等变化;剂量为1 mg和5 mg的染毒创面在染毒后第4天出现结痂现象,痂皮容易剥离。在染毒后2周所有染毒创面均完全恢复正常。

2.2 家兔模型 每只家兔的染毒总剂量为11.75 mg,均出现了全身吸收中毒症状,表现为拒食、少动,有3只家兔在染毒后3~6 d内死亡。所有中毒创面均未出现水疱期。8号染毒区域(剂量6.3 mg)中毒后6 h出现红斑、水肿。剂量小于0.5 mg的创面,经过红肿、脱屑阶段即完全恢复正常,时

间为5~7 d。剂量大于或等于0.5 mg的创面,经过红斑、水肿、溃疡、结痂等阶段后恢复正常,时间为2~4周。组织病理结果与创面变化一致,染毒创面在1周内表现出各种炎症反应,即表皮角层分离,棘细胞层次减少,真皮浅层胶原轻度肿胀,小血管扩张充血伴水肿,2周以后开始创面修复,呈现明显的细胞连接,痂皮脱落。

2.3 断奶小猪模型 断奶小猪的染毒总剂量为23.6 mg,未出现全身中毒症状,饮食和活动情况良好。染毒后6 h,各染毒区域均呈红斑损害。染毒后24 h,染毒皮肤的红斑范围更加扩大,剂量越大范围越广。染毒后1~2周各染毒区表现化脓和结痂。染毒后3~4周染毒区边缘有细小痂皮翘起或脱落。染毒后5~6周染毒区逐渐愈合,剂量越小愈合时间越短。组织病理学结果和家兔模型相似,也能看到特征性的表皮下水疱形成,而且表皮结构和人皮肤更接近。

3 讨论

有人用无毛豚鼠作为芥子气皮肤中毒实验模型产生了表皮下微小水疱,但由于这种动物价格较贵,实验条件高,而且和人皮相比,表皮增殖速率要快得多,制约了这种模型在实验中的应用^[2]。因此我们尝试用普通有毛豚鼠作为芥子气实验模型,结果表明豚鼠皮肤被芥子气染毒后,无论剂量大小,均先出现红斑,随即进入愈合期,没有水疱期,糜烂、溃疡等症状也不明显。另外,豚鼠毛有花色,而且再生非常迅速,和人皮差异较大,严重影响结果观察。鉴于上述原因,我们认为普通有毛豚鼠不宜作为芥子气皮肤实验的动物模型。

家兔性情温顺,容易获得,也容易饲养,是非常实用的实验动物。家兔的皮肤对刺激较敏感,反应近似于人,常用来观察化妆品、冻伤、烫伤等对皮肤的局部反应^[3],因此也有人用它作为芥子气皮肤中毒的实验模型^[4,5]。本实验就是为了确定家兔芥子气皮肤中毒的最适染毒剂量并在组织病理学上和其他模型作一比较。实验中我们发现染毒体积以5~10 μ l/ cm^2 为宜,体积太小不易定量,太大又容易扩散而超出1 cm^2 的染毒范围;剂量以0.5 mg/ cm^2 最适合于家兔芥子气皮肤中毒实验。在这一剂量下,可以观察到红斑、水肿、糜烂、

[基金项目] 全军医药卫生科研基金指令性课题(96L037, 01L054)。Supported by Mandatory Medical Science Research Foundation of PLA(96L037, 01L054)。

[作者简介] 吴建华,博士,副教授。E-mail:wujh@sh163.net

溃疡、结痂等各期变化,组织病理切片还能看到表皮下水疱形成,平均愈合时间为3周左右;剂量太小,就不能观察到其中的一些创面变化;剂量太大,各染毒点剂量相加,又容易引起全身中毒症状,影响皮肤实验结果。但家兔模型也有其不利因素,一方面兔毛细软,备皮很困难,另一方面兔皮薄嫩,在备皮过程中极易被损伤,引起点状出血或缺损,影响实验结果的观察。夏季蚊虫叮咬也易引起弥漫性红点,干扰结果观察。

猪皮和人皮结构很相似,尤其是刚断奶小猪的皮肤解剖生理特点最接近于人,包括体表毛发较疏、表皮较厚并分多层、有相似的表皮脂(这对于皮肤吸收亲脂性的芥子气可能很重要),网状嵴和毛囊结构以及真皮组织也比啮齿类动物甚至有毛灵长类动物更接近于人类^[3,6]。虽然芥子气染毒猪皮肤后不能引起眼观水疱,但光镜和电镜的组织病理学、超微结构以及免疫组化改变均和人皮肤相似^[7]。本实验也证实了表皮下水疱的形成。实验还发现猪芥子气皮肤染毒实验以 $0.5\sim 1\text{ mg/cm}^2$ 为最适剂量;病变范围不超过标记区,可以观察到红斑、糜烂、溃疡等各期变化,病理组织切片还可看到表皮下水疱形成,而且观察时间在4~5周左右。因此断奶小猪是一种较理想的芥子气皮肤中毒实验模型。但以猪为实验动物也有其不利因素,实验猪特别是纯种猪比较昂贵,饲养场所要求较高,饲料准备比较烦琐。特别是猪桀骜不驯,每次实验(备皮、染毒、涂药等)都必须麻醉,染毒后的皮肤护理也比较困难。

综上所述,对于芥子气皮肤中毒的实验研究,可以根据实验目的和要求、实验场所和条件,选择以断奶小猪或家兔

为动物模型。

[参考文献]

- [1] 龚志锦,阮静,陶文照.显示弹性、胶原纤维的双重组合染色法[J].动物学杂志,1993,28:29-30.
- [2] Smith KJ, Graham JS, Moeller RB, et al. Histopathologic features seen in sulfur mustard induced cutaneous lesions in the hairless guinea pig[J]. J Cutan Pathol, 1995, 22: 260-268.
- [3] 吕圭源,王一涛主编.中药新产品开发学[M].北京:人民卫生出版社,1997.167-170.
- [4] Chauhan RS, Murthy LV, Arora U, et al. Structural changes induced by sulfur mustard in rabbit skin[J]. J Appl Toxicol, 1996, 16: 491-495.
- [5] Tanaka F, Dannenberg AM Jr, Higuchi K, et al. Chemotactic factors released in culture by intact developing and healing skin lesions produced in rabbits by the irritant sulfur mustard[J]. Inflammation, 1997, 21: 251-267.
- [6] Smith KJ, Graham J, Hamilton T, et al. Immunohistochemical markers for basement membrane proteins and proliferation and apoptosis markers in sulfur mustard induced cutaneous lesions in weanling pigs[J]. J Dermatol Sci, 1997, 15: 173-182.
- [7] Smith KJ, Casillas R, Graham J, et al. Histopathologic features seen with different animal models following cutaneous sulfur mustard exposure[J]. J Dermatol Sci, 1997, 14: 126-135.

[收稿日期] 2005-08-13

[修回日期] 2005-12-21

[本文编辑] 孙岩