

陈彪,董熙远. 环磷酰胺腹腔注射诱导建立大鼠间质性膀胱炎模型的优化 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(6): 56-61.  
Chen B, Dong XY. Optimization of establishment of a rat model of cyclophosphamide-induced interstitial cystitis [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(6): 56-61.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.06.009

# 环磷酰胺腹腔注射诱导建立大鼠间质性膀胱炎模型的优化

陈彪,董熙远\*

(华中科技大学同济医学院附属同济医院妇产科, 武汉 430030)

**【摘要】** 目的 探索环磷酰胺腹腔注射建立大鼠间质性膀胱炎模型的理想剂量。方法 大鼠随机分七组, 腹腔注射生理盐水作为对照或 50 mg/kg、100 mg/kg、150 mg/kg、200 mg/kg、250 mg/kg 和 300 mg/kg 环磷酰胺诱导建立间质性膀胱炎模型。用 HE 染色和 Real-time PCR 方法从组织学和分子水平评估不同剂量环磷酰胺对膀胱组织的致炎效果, 采用尿动力学测定、行为量表和 Von-Frey 测试进行膀胱功能及感觉评定, 综合评价各组大鼠建模情况。**结果** 50 mg/kg 组大鼠膀胱炎症指标和自发性痛觉过敏评分较对照组均无显著性差异。100 mg/kg 组大鼠膀胱部分炎症指标较对照组显著增高 ( $P < 0.05$ ), 但自发性痛觉过敏与对照组无明显差异; 150 mg/kg 和 200 mg/kg 大鼠膀胱炎症指标较对照组明显增高 ( $P < 0.05$ ), 且出现自发性疼痛过敏 ( $P < 0.05$ ), 其中 200 mg/kg 组观察到大鼠在 CYP 注射后 48 h 内死亡; 250 mg/kg 和 300 mg/kg 组大鼠虽然膀胱炎症指标和自发性痛觉阈值均较对照组明显增高 ( $P < 0.05$ ), 但膀胱收缩力受损 ( $P < 0.05$ ) 且观察到大鼠在环磷酰胺注射后 48 h 内死亡。**结论** 环磷酰胺 (150 mg/kg) 腹腔注射是一种建立大鼠间质性膀胱炎模型的理想方法, 可同步模拟间质性膀胱炎的两大特征: 膀胱炎症和自发疼痛, 且兼顾了建模效率和大鼠存活率。

**【关键词】** 间质性膀胱炎; 环磷酰胺; 尿动力学; 动物模型; 大鼠

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 06-0056-06

## Optimization of establishment of a rat model of cyclophosphamide-induced interstitial cystitis

CHEN Biao, DONG Xiyuan\*

(Department of Obstetrics and Gynecology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**【Abstract】** **Objective** To explore the establishment of a rat model of interstitial cystitis based on intraperitoneal injection of cyclophosphamide. **Methods** Saline or gradient concentrations of cyclophosphamide were intraperitoneally injected in rats to establish an animal model of interstitial cystitis. The grade of bladder inflammation was then estimated at the histological and molecular levels based on hematoxylin-eosin staining and real-time polymerase chain reaction. The rats' pain sensation was tested by both behavior recording and Von Frey examination. Mortality during the study was also recorded. **Results** The bladder inflammatory indices and pain sensitivity of the rats in the 150-, 200-, 250-, and 300-mg cyclophosphamide groups were significantly higher than those of the control rats. Urodynamic examination revealed

**【基金项目】** 湖北省卫生健康科研基金资助 (WJ2019M145)。

**【作者简介】** 陈彪 (1982—), 男, 博士学位, 研究方向: 女性盆底功能障碍。E-mail: chenbiao@tjh.tjmu.edu.cn

**【通信作者】** 董熙远 (1986—), 男, 博士学位, 研究方向: 辅助生殖及女性盆底功能。E-mail: xydong@tjh.tjmu.edu.cn

impaired contraction capacity of the rats' bladders in the 250- and 300-mg cyclophosphamide groups. Rats in the 100-mg cyclophosphamide group showed observable inflammatory changes in their bladders without a significant increase in sensitivity to spontaneous visceral pain or somatic nociception. The rats in the 50-mg cyclophosphamide group showed no alteration of bladder inflammatory indices or pain sensitivity. Some rats died within 48 hours after cyclophosphamide injection in the 200-, 250-, and 300-mg groups. **Conclusions** Intraperitoneal injection of cyclophosphamide is a feasible and reliable method for the establishment of a rat model of interstitial cystitis, showing the two critical features of this disease; bladder inflammation and pain sensation. Based on our data, we recommend 150 mg/kg as a suitable dose for the establishment of a rat model of interstitial cystitis.

**[Keywords]** interstitial cystitis; cyclophosphamide; urodynamics; animal model; rat

间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征 (interstitial cystitis/Bladder Pain Syndrome, IC/BPS) 是一种病因尚不明确的可导致病人严重精神衰弱的临床综合征, 主要表现为膀胱功能紊乱及下腹疼痛, 严重影响患者生活质量<sup>[1-2]</sup>。虽有多种理论假说试图解释 IC/BPS 的发病原因, 然而其机制仍不明确, 基于动物模型的科学研究成为探索 IC/BPS 等泌尿系统疾病发病机制及治疗方法的重要途径<sup>[3]</sup>。

目前, 环磷酰胺 (cyclophosphamide, CYP) 腹腔注射诱导建立的大鼠间质性膀胱炎模型是 IC/BPS 的科学研究中使用最多的实验动物模型之一<sup>[4]</sup>。在前期工作中, 我们发现文献报道中多种剂量的环磷酰胺被用于腹腔注射建立大鼠 IC/BPS 模型开展 IC/BPS 研究, 如毛厚平等<sup>[5]</sup>用 75 mg/kg CYP 腹腔注射建立大鼠 IC/BPS 模型探索透明质酸治疗 IC/BPS 的机制, 而 Smaldone 等<sup>[6]</sup>采用 150 mg CYP 腹腔注射建立大鼠 IC/BPS 模型探索 IC/BPS 的尿液生物标志物。此外, 不同剂量的环磷酰胺可不同程度的改变膀胱感觉和功能, 即使相同剂量的环磷酰胺在不同的研究中对膀胱功能的影响也并不一致<sup>[7]</sup>。Juszczak 等<sup>[8]</sup>用 200 mg CYP 单次腹腔注射建立模型发现 CYP 引起显著的膀胱炎性改变并增加排尿期膀胱最大收缩力; 而 Büyüknacar 等<sup>[9]</sup>采用 150 mg CYP 腹腔注射却发现大鼠排尿期膀胱收缩幅度并未改变。可靠和一致的动物模型是开展病理生理研究和整合不同研究成果的前提, 因此, 开展系统性的研究以明确环磷酰胺用量及评估其建模效率显得非常重要和迫切。

临床上, 膀胱疼痛和功能紊乱是 IC/BPS 患者的主要症状, 部分患者伴有明显的躯体痛觉过敏。近年来越来越多的证据支持炎症在 IC/BPS 病理生理过程中发挥核心作用, 多种炎症因子被证实在 IC/BPS 患者膀胱组织中表达增高<sup>[10-11]</sup>。前期研究发现 150 mg/kg CYP 腹腔注射建立的 IC/BPS 模型

大鼠尿液和膀胱组织中的 IL-1 $\beta$  表达显著升高<sup>[12-13]</sup>。本课题基于环磷酰胺单次腹腔注射的方法, 将 Sprague-Dawley (SD) 大鼠随机分组后腹腔注射不同剂量的环磷酰胺, 比较各组大鼠膀胱功能、疼痛感知和膀胱组织炎症状态及 IL-1 $\beta$  表达情况, 探索环磷酰胺剂量和建模效率的最佳契合点, 以期建立规范的环磷酰胺腹腔注射建立大鼠 IC/BPS 模型的方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

健康清洁级雌性成年 SD 大鼠 70 只, 每只体重 200~220 g, 购自湖北省实验动物中心 [SCXK (鄂) 2017-0012]。大鼠在华中科技大学实验动物中心适应性饲养一周后进行实验 [SYXK (鄂) 2016-0057]。本课题得到华中科技大学同济医学院附属同济医院实验动物伦理委员会批准 (20170828037), 符合 3R 原则。

### 1.2 主要试剂与仪器

环磷酰胺 (纯度 98.9%, PHR1404, Sigma-Aldrich); 乌拉坦 (纯度 99.8%, U2500, Sigma-Aldrich); Von-Frey 纤毛 (Aesthesio, Danmic); 电子天平 (Mettler Toledo); 生理记录仪 (PowerLab 26T, AD Instruments); 逆转录试剂盒 (Thermo Fisher); 荧光定量试剂盒 (DBI Bioscience); 荧光定量 PCR 仪 (LightCycler<sup>®</sup> 96, Roche)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 建模方法

将环磷酰胺溶于生理盐水配置成质量分数 30 mg/mL 溶液, 大鼠采用随机数字表法随机分成七组, 每组 10 只。对照组大鼠腹腔注射 1 mL/100 g 体重生理盐水, 其余六组按 50 mg/kg、100 mg/kg、150 mg/kg、200 mg/kg、250 mg/kg 或 300 mg/kg 分别取上述环磷酰胺溶液用生理盐水稀释并按 1 mL/

100 g 体重腹腔注射建立模型。

### 1.3.2 自发性内脏疼痛评分

环磷酰胺腹腔注射 48 h 后,将大鼠置于安静环境中,避免一切不必要的噪音,同时在进行评分前给予足够的时间适应实验室环境。参照文献<sup>[14]</sup>,将大鼠单独放入透明观察笼内,疼痛行为的观察及打分按下述标准执行:毛色光亮,活动正常=0 分;皮毛缺乏光泽伴毛发竖立=1 分,呼吸急促费力伴活动减少=2 分;精神萎靡伴眼上睑下垂=3 分;蹲坐不动且舔扰腹壁=4 分;跛行或弓背蜷缩=5 分。上述行为持续 1 min 以上即进行记录,连续观察 2 h,累积相加得出疼痛评分。由两位研究者独立评分,再进行比较分析。

### 1.3.3 Von-Frey 躯体疼痛测定

参考文献方法<sup>[15]</sup>,将大鼠单独放置于透明树脂包围的不锈钢网底鼠笼内,使用校正过的不同粗细的 Von-Frey 纤毛(1 g, 1.4 g, 2 g, 4 g, 6 g, 8 g, 10 g, 15 g, 26 g)按 up-down 法垂直刺激大鼠足底和下腹盆部正中膀胱体表区域。大鼠出现以下行为则认定为盆部区域刺激阳性反应:腹部急剧回缩、跳跃或者刺激后立即舔触、搔抓盆部皮肤;急剧缩腿或用舌头舔足则认定为足底刺激阳性。每个区域重复 3 次,取最低值作为机械痛阈。

### 1.3.4 尿动力学测定

乌拉坦(质量分数 20%, 1 g/kg 体重)腹腔麻醉成功后,大鼠取仰卧位,消毒外阴后经尿道置入 PE50 管。打开生理记录仪并取实验台平面置零。将测压导管、微量输液泵及尿动力仪与三通相连。按压排空膀胱后,生理盐水以 10 mL/h 的速度灌注膀胱,生理记录仪描计膀胱充盈过程中膀胱内压力变化,标记开始灌注和出现排尿的时间。排尿开始即停止灌注,排尿后轻压下腹部排空膀胱,排出的尿液作为膀胱残余尿量。每只大鼠至少测定 3 个排尿周期。最大膀胱容量=灌注时间×灌注速率;排尿容积则根据公式  $1\text{ g} = 1\text{ mL}$  换算获得;最大膀胱压、膀胱基础压、阈值膀胱压、非排尿性膀胱收缩均从生理记录仪记录的动态压力记录数据中分析获取。

### 1.3.5 膀胱大体标本观察

大鼠结束尿动力学测定后打开腹腔,切取膀胱。棉签轻拭吸取残存尿液后,使用电子天平称量新鲜膀胱组织重量和游标卡尺测量膀胱顶部中心厚度后记录数据。同时,体视显微镜下观察并采用

1999 年 Assreuy 等<sup>[16]</sup>提出的标准评估膀胱水肿和出血严重程度来评价膀胱炎症程度。每例标本分两份,1 份质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液固定,用于组织切片 HE 染色,另一份置于液氮中保存用于分子生物学实验。

### 1.3.6 膀胱组织学评估

膀胱组织常规石蜡包埋切片,HE 染色,光镜下观察膀胱壁粘膜层和肌层的水肿、渗出、出血及炎性细胞增多等炎症表现。

### 1.3.7 IL-1 $\beta$ mRNA 的 PCR 检测

自液氮罐中取出组织,冰上解冻后采用 TRIzol 法抽提总 RNA,进行 RNA 纯度分析后,取 3  $\mu\text{g}$  总 RNA 根据试剂盒说明书逆转录合成第一链 cDNA。根据试剂盒说明书操作,运用 SYBGreen 染料作为指示剂,以  $\beta$ -actin 作为内参(引物序列 5' - CGTTGACATCCGTAAGACCTC/TAGGAGCCAGGG CAGTAATCT-3'),利用 IL-1 $\beta$  特异性引物(引物序列 5' - CCTCGTGCTGTCTGACCCAT/ GACAAACCGC TTTTCCATCTTC-3')实时定量扩增目标 DNA,采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法比较分析各组大鼠膀胱组织内 IL-1 $\beta$  的表达水平。

## 1.4 统计学方法

本文中数据表示形式为平均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ );统计分析使用 Graphpad 软件(X16)完成,多组比较采用单因素方差分析,有统计学意义时采用 LSD-*t* 检验进行组间比较。 $P < 0.05$  视为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 一般观察及自发性内脏和躯体痛觉评估

CYP 注射后,200 mg/kg、250 mg/kg 组和 300 mg/kg 组分别有 1 只、4 只和 5 只大鼠在 48 h 内死亡。如图 1 所示,50 mg 和 100 mg CYP 腹腔注射并不引起大鼠自发性内脏疼痛,躯体痛觉阈值测试同样发现 50 mg 和 100 mg 组与对照组无明显统计学差异。150 mg、200 mg、250 mg 和 300 mg CYP 腹腔注射均显著( $P < 0.05$ )增加大鼠的自发性内脏疼痛(图 1A)和降低躯体疼痛阈值(图 1B)。

### 2.2 各剂量组大鼠尿动力学测定结果

如表 1 所示,环磷酰胺腹腔注射后 48 h 行尿动力学测定发现,与对照组相比较,50 mg 组大鼠膀胱功能未见明显改变;100 mg 组大鼠残余尿量明显增多( $P < 0.05$ ),最大膀胱容积和最大膀胱压未见明

显改变;150 mg 和 200 mg 组大鼠最大膀胱容量较对照组明显减少( $P < 0.05$ ),而残余尿量明显增多( $P < 0.05$ ),同时最大膀胱压未见明显改变;250 mg 和 300 mg 组大鼠的最大膀胱容量明显减少( $P < 0.05$ ),残余尿量明显增多( $P < 0.05$ ),而最大膀胱压明显下降( $P < 0.05$ )。综上说明,50 mg CYP 腹腔注射不影响膀胱功能,100 mg、150 mg 和 200 mg CYP 腹腔注射引起膀胱功能紊乱,但不影响膀胱收缩力,而 250 mg 和 300 mg CYP 腹腔注射明显破坏膀胱收缩力。

### 2.3 膀胱炎性改变

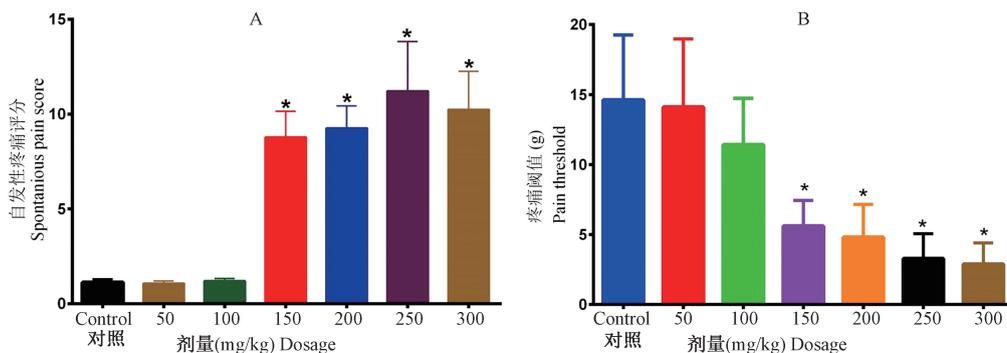
#### 2.3.1 大体标本观察

如表 2 所示,50 mg 和 100 mg 组大鼠膀胱重

量、厚度和出血与对照组未见明显差异,而 150~300 mg CYP 腹腔注射均显著( $P < 0.05$ )增加大鼠膀胱重量和厚度,同时引起明显的膀胱组织水肿和出血( $P < 0.05$ )。

#### 2.3.2 组织学改变

如图 2 所示,50 mg 组(A)大鼠膀胱基本没有炎症改变,100 mg 组(B)部分区域可见粘膜水肿,未见出血及坏死;150 mg 组(C)和 200 mg 组(D)开始出血较广泛水肿及局灶性出血,主要累及粘膜和粘膜下层,肌层可见水肿但无明显出血坏死性改变;250 mg 组(E)和 300 mg 组(F)出现广泛水肿及严重出血坏死,累及肌层,可见肌纤维肿胀,部分区域伴随肌组织溶解。



注:A:自发性疼痛评分;B:躯体痛觉阈值。 $n = 10/10/10/10/9/6/5$ 。

图 1 不同剂量 CYP 腹腔注射对大鼠疼痛感觉的影响

Note. A, Spontaneous visceral pain. B, Somatic nociception.  $n = 10/10/10/10/9/6/5$ .

Figure 1 Impact of cyclophosphamide on rat sensitivity to pain sensation

表 1 大鼠尿动力学参数

Table 1 Rat urodynamic parameters

组别 Groups	最大膀胱容积 (mL) Maximum bladder capacity	残余尿量 (mL) Residual volume	最大膀胱压 (mmH <sub>2</sub> O) Maximum bladder pressure
对照组 Control	1.57±0.41	0.13±0.06	36.5±10.3
50 mg 组 50 mg group	1.72±0.56	0.17±0.06	34.7±8.9
100 mg 组 100 mg group	1.22±0.35	0.52±0.18*	37.4±11.4
150 mg 组 150 mg group	0.87±0.21*	0.43±0.14*	39.2±12.7
200 mg 组 200 mg group	0.74±0.27*	0.47±0.16*	35.8±9.3
250 mg 组 250 mg group	0.63±0.22*	0.35±0.12*	24.3±7.5*
300 mg 组 300 mg group	0.71±0.29*	0.36±0.15*	21.4±8.2*

注:与对照组相比,\* $P < 0.05$ 。 $n = 10/10/10/10/9/6/5$ 。

Note. Compared with control group, \* $P < 0.05$ .  $n = 10/10/10/10/9/6/5$ .

表 2 大鼠膀胱炎症参数

Table 2 Inflammation parameters of rat bladders

参数 Parameters	对照组 Control	50 mg 组 50 mg group	100 mg 组 100 mg group	150 mg 组 150 mg group	200 mg 组 200 mg group	250 mg 组 250 mg group	300 mg 组 300 mg group
重量 (mg) Weight	72.67±13.3	75.3±15.2	83.7±13.7	95.7±24.3*	112.5±25.1*	107.9±18.2*	98.2±21.4*
厚度 (mm) Thickness	0.36±0.12	0.33±0.11	0.41±0.13	0.53±0.13*	0.66±0.14*	0.61±0.16*	0.59±0.22*
水肿 Edema	0	0.3±0.12	1.3±0.15*	2.1±0.10*	2.4±0.16*	2.3±0.63*	2.6±0.77*
出血 Hemorrhage	0	0.2±0.11	0.27±0.13	1.8±0.33*	2.0±0.51*	2.5±0.81*	2.8±0.85*

注:与对照组相比,\* $P < 0.05$ 。 $n = 10/10/10/10/9/6/5$ 。

Note. Compared with control group, \* $P < 0.05$ .  $n = 10/10/10/10/9/6/5$ .

## 2.4 IL-1 $\beta$ 的表达

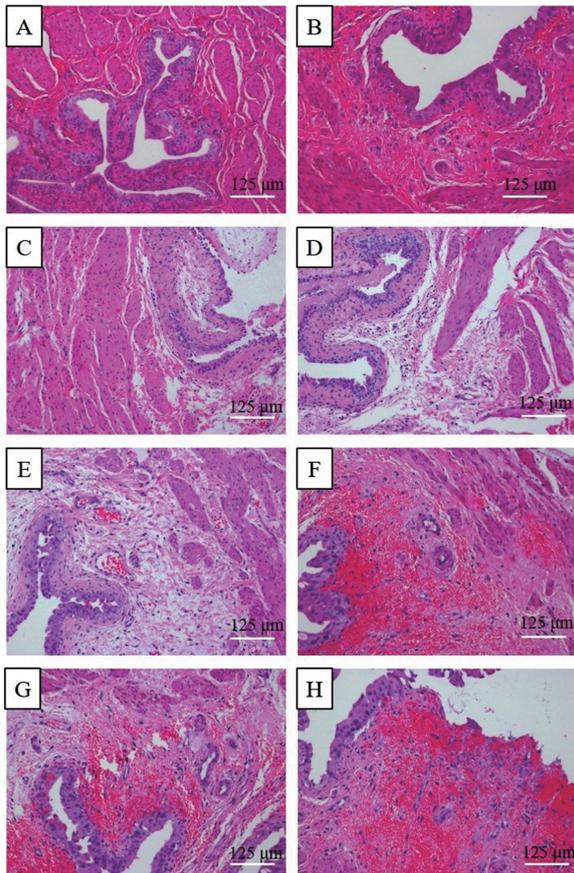
如图 3 所示,50 mg 组和 100 mg 组大鼠膀胱内 IL-1 $\beta$  的表达较对照组未见明显差异,而 150 mg、200 mg、250 mg 和 300 mg CYP 腹腔注射均显著( $P < 0.05$ )增加大鼠膀胱内 IL-1 $\beta$  的表达,证实炎症反应的存在。

## 3 讨论

间质性膀胱炎/膀胱疼痛综合征是无明确下尿路感染和病变而出现与膀胱充盈相关的疼痛症状,伴有其他排尿异常症状如尿频、尿急、夜尿增多等的一种临床综合征,IC/BPS 病人的最主要症状是耻骨上区的疼痛和下尿路症状<sup>[17-18]</sup>。然而,IC/BPS 的发病机制目前在很大程度上仍未阐明,基于实验动物模型的相关研究在认识 IC/BPS 的病理和病理

生理中发挥着重要作用。

腹腔注射环磷酰胺诱导的大鼠膀胱炎模型由于较好的模拟了 IC/BPS 的两大特征-疼痛过敏和膀胱炎症而被广泛用于 IC/BPS 的研究<sup>[4,7]</sup>,但文献报道中采用多种剂量用于大鼠模型的建立使得基于非一致模型的研究成果难以整合。本文作者选择雌性成年大鼠作为实验对象,用 50 mg/kg 至 300 mg/kg 的梯度浓度 CYP 行腹腔注射诱导膀胱炎模拟 IC/BPS,从病理生理和器官功能两个角度对模型进行量化分析,系统性阐明了不同剂量 CYP 腹腔注射建立 IC/BPS 模型的病理生理和行为特征。如图 1 和图 2 所示,50 mg/kg CYP 腹腔注射不引起膀胱炎性改变和大鼠痛觉敏化,显然不是建立大鼠 IC/BPS 模型的理想选择。Lantéri-Minet 等<sup>[19]</sup> 和 Boucher 等<sup>[14]</sup> 使用雄性大鼠腹腔注射 100 mg/kg CYP 发现,CYP 腹腔注射成功诱导大鼠膀胱出现显著的炎症改变并导致雄性大鼠内脏疼痛。而我们基于雌性大鼠却发现,100 mg/kg CYP 虽然引起雌性大鼠一定程度的膀胱组织学炎症和功能紊乱(图 2 和表 1),但未升高其膀胱组织 IL-1 $\beta$  水平和诱发自发性内脏疼痛及敏化躯体痛觉(图 1 和图 3),说明性别差异在建立大鼠 IC/BPS 模型时值得重视。与前期研究一致,我们发现 150 mg/kg 和 200 mg/kg CYP 腹腔注射较对照组引起显著的膀胱炎性改变和功能紊乱(图 1 和图 3),并且诱发大鼠内脏疼痛过敏和躯体痛觉敏化(图 1),较好的重现了 IC/BPS 的两大临床症状,然而我们在 200 mg/kg 组观察到大鼠死亡<sup>[14,20]</sup>。既往研究发现 CYP 腹腔注射后,膀胱炎性病理改变随着 CYP 剂量的增加而加

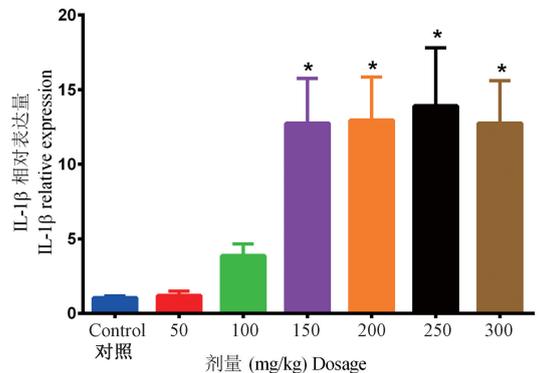


注:A:对照组;B:50 mg 组;C:100 mg 组;D:150 mg 组;E:200 mg 组;F:250 mg 组;G,H:300 mg 组。 $n = 6/6/6/6/6/6/5$ 。

图 2 大鼠膀胱组织切片 HE 染色

Note. A, Control group. B, 50 mg group. C, 100 mg group. D, 150 mg group. E, 200 mg group. F, 250 mg group. G/H, 300 mg group.  $n = 6/6/6/6/6/6/5$ .

Figure 2 Rat bladder sections stained with haematoxylin and eosin



注:与对照组相比,\* $P < 0.05$ , $n = 6/6/6/6/6/5$ 。

图 3 IL-1 $\beta$  在大鼠膀胱内的表达

Note. Compared with control group, \* $P < 0.05$ , $n = 6/6/6/6/6/5$ .

Figure 3 Expression of IL-1 $\beta$  in rat bladders

重<sup>[14]</sup>,但更高剂量的 CYP 腹腔注射是否更适合用于大鼠 IC/BPS 模型建立未见报道。我们发现,250 mg/kg 和 300 mg/kg CYP 腹腔注射虽然引起显著的膀胱炎症和膀胱痛觉过敏(图 1 和图 2),也引起膀胱组织 IL-1 $\beta$  显著升高(图 3),但病理检查提示存在膀胱逼尿肌损伤且尿动力学测定提示膀胱收缩能力受损(图 2 和表 1),这些改变明显与 IC/BPS 的临床特征不符,同时两组均观察到高比率的(4/10 只和 5/10 只)大鼠 48 h 内死亡。

由于 150 mg/kg 体重 CYP 腹腔注射建立的大鼠 IC/BPS 模型较好的兼顾了 IC/BPS 的组织学病理改变和疼痛敏化的功能改变,并且在观察期内未见大鼠死亡,推荐作为建立大鼠 IC/BPS 模型的理想剂量。此外,大鼠性别是影响 CYP 腹腔注射诱导建立 IC/BPS 模型的重要因素。由于临床上绝大多数 IC/BPS 发生于女性患者,且本文数据支持性别差异与 CYP 腹腔注射诱导的大鼠内脏和躯体痛觉过敏相关,因此有理由认为,雌性大鼠是利用 CYP 腹腔注射建立 IC/BPS 模型的更佳选择。然而,年龄及饲养条件等因素是否也影响大鼠 CYP 腹腔注射诱导建立 IC/BPS 模型虽然截至目前未见相关文献报道,需要进一步探索。综上,作者推荐基于雌性大鼠采用 150 mg/kg 体重 CYP 腹腔注射作为建立 IC/BPS 模型开展科学研究的理想方法。

#### 参考文献:

[ 1 ] Chen JL, Zhou X, Liu BL, et al. Normalization of magnesium deficiency attenuated mechanical allodynia, depressive-like behaviors, and memory deficits associated with cyclophosphamide-induced cystitis by inhibiting TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B signaling in female rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17 (1): 99.

[ 2 ] 顾向晨,王怡,邵汀汀. 泌尿道感染动物模型制作研究现状 [J]. *中国比较医学杂志*, 2010, 20(4): 69-73.

[ 3 ] 迟强,孙全武,周逢海,等. 豚鼠腺性膀胱炎模型的建立及尿流动力学的检查 [J]. *中国比较医学杂志*, 2009, 19(9): 38-40, 91.

[ 4 ] Bjorling DE, Wang ZY, Bushman W. Models of inflammation of the lower urinary tract [J]. *Neurourol Urodyn*, 2011, 30(5): 673-682.

[ 5 ] 毛厚平,吕夷松,周辉良,等. 透明质酸对环磷酸酰胺诱导膀胱炎大鼠前列腺素 E2 的影响 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2014, 35(10): 782-785.

[ 6 ] Smaldone MC, Vodovotz Y, Tyagi V, et al. Multiplex analysis of urinary cytokine levels in rat model of cyclophosphamide-induced cystitis [J]. *Urology*, 2009, 73(2): 421-426.

[ 7 ] Birder L, Andersson EK. Animal modelling of interstitial cystitis/

bladder pain syndrome [J]. *Int Neurourol J*, 2018, 22(1): S3-S9.

[ 8 ] Juszcak K, Gil K, Wyczolkowski M. Functional, histological structure and mastocytes alterations in rat urinary bladders following acute and [ corrected ] chronic cyclophosphamide treatment [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2010, 61(4): 477-482.

[ 9 ] Büyüknacar HS, Kumcu EK, Göçmen C, et al. Effect of phosphodiesterase type 4 inhibitor rolipram on cyclophosphamide-induced cystitis in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 586(1-3): 293-299.

[ 10 ] Grover S, Srivastava A, Lee R, et al. Role of inflammation in bladder function and interstitial cystitis [J]. *Ther Adv Urol*, 2011, 3(1): 19-33.

[ 11 ] Offiah I, Didangelos A, Dawes J, et al. The expression of inflammatory mediators in bladder pain syndrome [J]. *Eur Urol*, 2016, 70(2): 283-290.

[ 12 ] Nasrin S, Masuda E, Kugaya H, et al. Improvement by phytotherapeutic agent of detrusor overactivity, down-regulation of pharmacological receptors and urinary cytokines in rats with cyclophosphamide induced cystitis [J]. *J Urol*, 2013, 189(3): 1123-1129.

[ 13 ] Smaldone MC, Vodovotz Y, Tyagi V, et al. Multiplex analysis of urinary cytokine levels in rat model of cyclophosphamide-induced cystitis [J]. *Urology*, 2009, 73(2): 421-426.

[ 14 ] Boucher M, Meen M, Codron JP, et al. Cyclophosphamide-induced cystitis in freely-moving conscious rats; behavioral approach to a new model of visceral pain [J]. *J Urol*, 2000, 164 (1): 203-208.

[ 15 ] Arms L, Girard BM, Malley SE, et al. Expression and function of CCL2/CCR2 in rat micturition reflexes and somatic sensitivity with urinary bladder inflammation [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(1): F111-F122.

[ 16 ] Assrey AM, Martins GJ, Moreira ME, et al. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by glucose-mannose binding plant lectins [J]. *J Urol*, 1999, 161(6): 1988-1993.

[ 17 ] Abrams P, Cardozo L, Fall M, et al. The standardisation of terminology in lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society [J]. *Urology*, 2003, 61(1): 37-49.

[ 18 ] Chrysanthopoulou EL, Doumouchtsis SK; Challenges and current evidence on the management of bladder pain syndrome [J]. *Neurourol Urodyn*, 2014, 33(8): 1193-1201.

[ 19 ] Lantéri-Minet M, Bon K, de Pommery J, et al. Cyclophosphamide cystitis as a model of visceral pain in rats: model elaboration and spinal structures involved as revealed by the expression of c-Fos and Krox-24 proteins [J]. *Exp Brain Res*, 1995, 105(2): 220-232.

[ 20 ] Arms L, Girard BM, Vizzard MA. Expression and function of CXCL12/CXCR4 in rat urinary bladder with cyclophosphamide-induced cystitis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 298 (3): 589-600.