

肺癌造模操作指南

配套产品：尿烷（abs816485）| 爱必信（Absin）

适用模型：化学诱导小鼠原发性肺癌 | 参考文献方案 [1-3] | 仅供实验参

目录

关键方案速览.....	2
描述.....	2
使用方法.....	2
一、尿烷肺癌造模方法.....	3
（一）实验动物.....	3
（二）动物适应.....	3
（三）尿烷溶液配制与剂量换算.....	3
（四）给药方案.....	4
（五）注射操作与术后监护.....	4
二、模型验证.....	4
（一）大体解剖与肿瘤计数.....	4
（二）组织病理学验证.....	5
（三）分子生物学验证.....	5
（四）影像学检测（可选）.....	6
三、模型成功标准与评价体系.....	6
四、应用示例.....	6
五、常见问题解答.....	8
参考文献.....	10
相关产品推荐.....	10

关键方案速览

推荐给药剂量	A/J 成瘤率（约 20 周）	C57BL/6 方案
1 mg/g 按体重腹腔注射	接近 100% 多发性肺腺瘤	10 周 每周 1 次，连续给药

本指南介绍以尿烷（Urethane，爱必信货号 abs816485）为诱导剂构建小鼠原发性肺癌模型的完整流程：动物选择与适应、溶液配制与剂量换算、腹腔给药（单次或多次方案）、以及大体解剖、组织病理学、分子生物学与影像学四个维度的模型验证，并给出成功标准、应用文献实例与常见问题解答。

描述

尿烷（Urethane），又称氨基甲酸乙酯（Ethyl carbamate），分子式 $C_3H_7NO_2$ ，外观为白色结晶或结晶性粉末，易溶于水。尿烷是国际癌症研究机构（IARC）认定的 2A 类致癌物，对多种实验动物具有明确的致癌性，是最经典的化学诱癌剂之一。

尿烷是构建小鼠原发性肺癌模型最常用的化学诱导剂之一。其致癌机制是多方面的：尿烷主要在肝脏经细胞色素 P450 2E1（CYP2E1）代谢激活为乙烯基氨基甲酸酯（vinyl carbamate），并进一步转化为具有高度反应活性的乙烯基氨基甲酸酯环氧化物（vinyl carbamate epoxide）；该环氧化物与 DNA 形成加合物，特异性诱导 Kras 基因第 61 密码子点突变（如 Q61R、Q61L），启动肺上皮细胞的多阶段癌变。与此同时，肿瘤发生过程中伴随慢性炎症微环境的形成、髓源性抑制细胞（MDSC）与 M2 型巨噬细胞的招募，以及 DNA 甲基化等表观遗传改变，共同驱动“增生→腺瘤→腺癌”的病理演进。

尿烷诱导的肺癌模型在免疫功能正常的小鼠体内自然演进，病理过程与人类肺癌高度相似，且具有操作简便（腹腔注射即可）、成本低、成瘤率高、重复性好等优点，广泛应用于肺癌化学预防、肿瘤微环境与免疫调控、癌变机制等研究。在敏感品系（如 A/J 小鼠）中，单次低剂量给药即可诱导接近 100% 的多发性肺腺瘤；在较耐受品系（如 C57BL/6 小鼠）中，采用多次给药方案同样可获得高成瘤率。

使用方法

本方案主要参考文献 [1-3]，为通用基础指导，仅供实验参考。尿烷肺癌模型的建立受动物品系、周龄、性别、给药剂量与方案、给药途径及检测终点等多因素影响，不同文献的给药方案差异较大（A/J 敏感品系多

为单次 1 mg/g, C57BL/6 多为每周 1 mg/g 连续 10 周），且模型类型与成瘤时间随品系-方案组合而改变。具体实施时，建议结合多篇文献及预实验结果，依据您的实验目的（成瘤时程、药物干预窗口、终点指标等）对剂量与时间点进行相应调整。

一、尿烷肺癌造模方法

尿烷肺癌模型的操作流程可概括为：动物选择与适应 → 尿烷溶液配制与剂量换算 → 腹腔注射给药（单次或多次方案）→ 给药后监护与长期观察。其中给药剂量按体重精确换算、尿烷溶液现配现用、以及给药后保温监护，是决定成瘤成败的三个关键环节，以下分别说明。

（一）实验动物

根据实验目的选择品系。A/J 小鼠对尿烷高度敏感，单次给药即可高效成瘤，是化学预防研究的经典选择；C57BL/6 小鼠相对耐受，需多次给药，适合需要与基因修饰背景（如条件性敲除鼠）匹配的实验。通常选择 6 - 8 周龄小鼠，SPF 级饲养，雌雄均可，但同批次实验应统一性别（雄性成瘤数通常略多于雌性）。每组至少需要 10 只动物——化学诱癌的荷瘤数个体间呈泊松分布，需要足够样本量以保证统计学意义。

（二）动物适应

将动物在实验环境中适应 1 周，保持温度、湿度和光照条件稳定，并使它们能够自由获取食物和水。所有操作应符合所在机构动物伦理委员会（IACUC）规定，当达到预设人道终点（如体重下降大于 20%、呼吸窘迫、弓背、被毛粗糙、活动衰竭等严重痛苦）时，立即实施安乐死。

（三）尿烷溶液配制与剂量换算

以无菌生理盐水为溶剂，配制 100 mg/mL（10%，W/V，尿烷水溶性高，10% 溶液可完全溶解。）的尿烷溶液。称取尿烷粉末，加入生理盐水后充分搅拌或涡旋至完全溶解（必要时可于 37°C 温和温浴助溶）。溶解后用 0.22 μm 水系滤器过滤除菌后再给药。**尿烷水溶液易水解，最推荐现配现用。**给药剂量为 1 mg/g（体重），按 10% 浓度即 10 μL/g（体重）腹腔注射。

表 1 尿烷剂量换算参考表

小鼠体重（g）	单只尿烷用量（mg）	单只注射体积（μL）	10 只用量（mg / 溶液总体积）
16	16	160	160 mg / 1.6 mL
20	20	200	200 mg / 2.0 mL

24	24	240	240 mg / 2.4 mL
28	28	280	280 mg / 2.8 mL
32	32	320	320 mg / 3.2 mL

警告：尿烷为 IARC 2A 类致癌物，同时具有麻醉作用。避免吸入、摄入以及与皮肤和眼睛接触。称量粉末和处理溶液时应在通风橱或生物安全柜中进行，穿戴实验服、丁腈手套、护目镜和口罩，避免产生粉尘和气溶胶。被尿烷污染的垫料、粪便、饲料及废弃溶液应按照危险化学品废物规范收集处理，避免环境污染。怀孕或备孕人员应避免接触本产品。建议建立标准操作规程（SOP）并经机构伦理委员会批准后实施。

（四）给药方案

常用以下两种方案，按品系选择：

方案 A（A/J 敏感品系，推荐用于化学预防与癌变机制研究）：单次腹腔注射尿烷 1 mg/g（体重）。给药后约 20 周可见多发性肺腺瘤，24 - 42 周部分病变进展为腺癌；成瘤率接近 100%。

方案 B（C57BL/6 较耐受品系）：腹腔注射尿烷 1 mg/g（体重），每周 1 次，连续 10 周；停药后约 15 周（即首次给药后约 25 周）评估肿瘤形成。

对照组：注射等体积无菌生理盐水。

（五）注射操作与术后监护

使用 25G 针头行腹腔注射（进针角度约 30 - 45°，进针后回抽确认未误入肠道或血管）。尿烷本身是麻醉剂，注射后小鼠会在数分钟内出现嗜睡，通常持续 1 - 5 小时，此为正常麻醉效应；小鼠一般可保持翻正反射和体温调节能力。将小鼠置于保温环境（加热垫或保温笼）监护至完全苏醒，每小时巡视一次；对无法恢复翻正反射的动物（极罕见）按人道终点实施安乐死。给药后第一周每日称重并记录，此后每周称重一次，记录体重、被毛、活动度等一般状态。

二、模型验证

尿烷肺癌模型的验证需通过大体解剖、组织病理学、分子生物学、影像学等多维度进行，以下是系统的验证方法分类及操作要点。

（一）大体解剖与肿瘤计数

安乐死后打开胸腔，经气管注入或经右心室灌注 4% 多聚甲醛使肺充盈（肺充分膨胀至与活体大小相当）

固定，小心分离全肺并称重。将肺组织浸入 Bouin 固定液（或 4% 多聚甲醛）固定 24 小时后，取出组织，70% 乙醇反复浸泡更换，直至组织黄色基本褪去，于体视显微镜下计数肺表面隆起的肿瘤结节（直径大于 0.5 - 1 mm 者纳入计数）。记录指标包括：平均荷瘤数、瘤体直径分布、肺重及肺重/体重比、成瘤率（出现至少一个肿瘤的动物比例）。经 Bouin 液固定后，肿瘤灶呈白色隆起，与周围粉红色正常肺组织对比明显，便于计数。

注：Bouin 液使肿瘤灶呈白色隆起，与正常肺组织对比鲜明，尤其便于体视镜下表面计数。但 Bouin 为酸性固定液，Bouin 长时间浸泡后的组织不适合 RNA 提取（核酸降解），部分抗原会被破坏，不适合部分免疫组化；如果同一个肺组织既要大体计数，又要做 qPCR/WB，不能用 Bouin 浸泡，只能选择 4% 多聚甲醛。

（二）组织病理学验证

取材与处理：4% 多聚甲醛灌注或气管内灌注固定后取全肺（建议完整取材或按固定叶位取材）；石蜡切片（4 - 5 μm）。染色方法与结果判读如下表。

表 2 模型验证染色方法与判

染色 / 检测类型	检测目标	结果判读
HE 染色	肿瘤检出与病理分型	腺瘤（肺泡结构保留、无异型浸润）、乳头状瘤、腺癌（细胞异型性、核分裂象、间质浸润、肺泡结构破坏），可参照小鼠肿瘤国际分类标准（MMHCC）判读
Masson 三色染色	间质纤维化与肿瘤间质	胶原纤维蓝染区域比例（ImageJ 定量）
免疫组化 Ki-67	肿瘤细胞增殖活性	阳性细胞核染色百分比（增殖指数）
免疫组化 TTF-1 / Napsin A	肺腺癌来源标志	阳性定位于肿瘤细胞核（TTF-1）/ 胞质（Napsin A）
免疫组化 F4/80、CD206、精氨酸酶 I（Arg-1）、iNOS	巨噬细胞浸润与极化	阳性细胞密度 / 活化形态（M1: iNOS；M2: CD206、Arg-1）

（三）分子生物学验证

Kras 突变检测：从肿瘤组织中提取基因组 DNA，PCR 扩增 Kras 第 61 密码子所在外显子并进行 Sanger 测序，确认 Q61R/Q61L 等特征性突变，是验证尿烷来源肿瘤的金标准之一（注：Kras Q61R/Q61L 为主要特征突变，少数肿瘤会出现其他突变（如 G12 等））。

流式细胞术: 制备肺组织、脾脏单细胞悬液, 分析肿瘤免疫微环境: MDSC (CD11b+Gr1+)、TAM (F4/80+CD206+)、T 细胞亚群 (CD4+、CD8+、Treg: CD4+CD25+FoxP3+)。

细胞因子检测: ELISA 或 qPCR 检测肺组织促炎因子 (IL-6、TNF- α 、IL-1 β) 与抗炎因子 (IL-10、TGF- β) 表达。

蛋白表达分析: Western Blot 检测增殖与炎症相关通路蛋白, 如 PI3K/Akt/mTOR、p-STAT3、NF- κ B p65 等。

(四) 影像学检测 (可选)

可采用 micro-CT 对麻醉小鼠进行肺部扫描, 活体纵向监测肺结节的发生、数目与体积变化, 实现同一动物的全过程随访, 减少所需动物数量; 也可用于给药前后肿瘤负荷的动态定量。

三、模型成功标准与评价体系

基础标准: A/J 小鼠单次给药后约 20 周, 成瘤率接近 100%, 平均荷瘤数可达数十个 (剂量与周龄依赖); C57BL/6 小鼠多次给药方案 (每周 1 mg/g 连续 10 周) 首次给药后约 25 周 (即停药后约 15 周) 成瘤率大于 80% (该时间为参考, 根据预实验调整取材时间); 组织病理学可见典型的腺瘤/腺癌病变; 生理盐水对照组无肿瘤发生。

高级标准: 病变谱进展 (出现腺癌比例、浸润性病变); 免疫微环境改变 (MDSC、Treg 比例升高, M2 型巨噬细胞极化); 分子标志物 (Kras 第 61 密码子突变检出, p-STAT3 等通路激活)。

注: 实际研究除成瘤率外, 还需报告平均荷瘤数 (均数 $\pm$ 标准误) 及个体荷瘤数分布。化学诱癌模型的肿瘤数目属于离散计数资料, 个体差异大, 建议每组样本量不少于 10 只, 并结合预期效应量开展样本量估算; 组间比较优先 Mann-Whitney U 非参数检验, 仅当满足正态且方差齐才可用 t 检验。

四、应用示例

示例 1: 高脂饮食联合尿烷多次注射构建 C57BL/6J 小鼠肺癌模型, 揭示肥胖相关的高瘦素血症通过激活 PI3K/Akt/mTOR/STAT3 通路促进肺肿瘤发生, 为肥胖-肺癌风险关联提供了机制证据[1]。

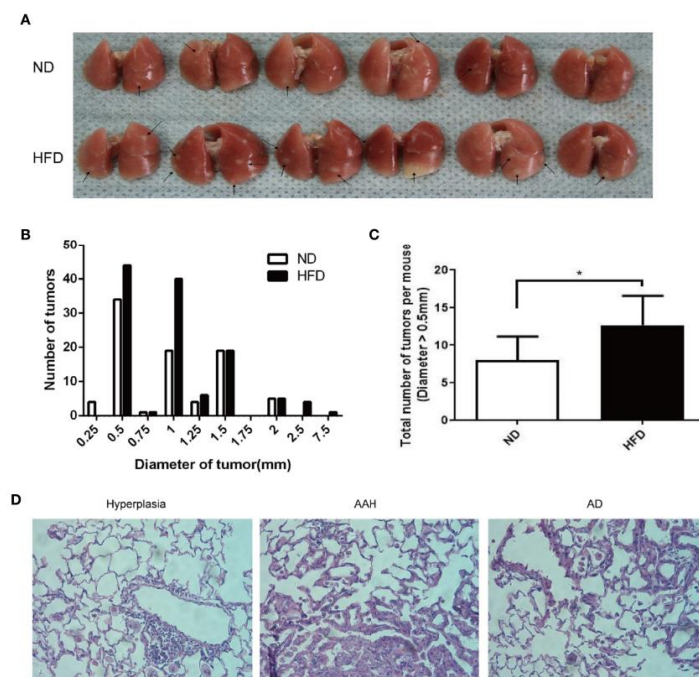


图1 HFD 喂养增加 C57BL/6J 小鼠肺肿瘤负荷。(A) HFD 和 ND 喂养小鼠肺表面结节大体图，箭头示可见肺肿瘤。(B) 结节直径分布（该文献 n=6/组）。(C) 直径>0.5 mm 的结节数量（该文献 n=6/组），*P<0.05。(D) 肺切片 H&E 染色：上皮增生（左）、非典型腺瘤样增生（AAH，中）、乳头状及实性腺瘤（AD，右）。

示例 2：文献提供尿烷诱导小鼠肺腺癌模型的标准化操作流程，用于评价经鼻吸入化学预防剂（如依洛前列素）对肺癌发生的干预效果。该模型可模拟人类肺腺癌从癌前病变到恶性腺癌的完整进展，且给药方式与吸入性依洛前列素 II 期临床试验平行，具有高度临床转化价值[2]。

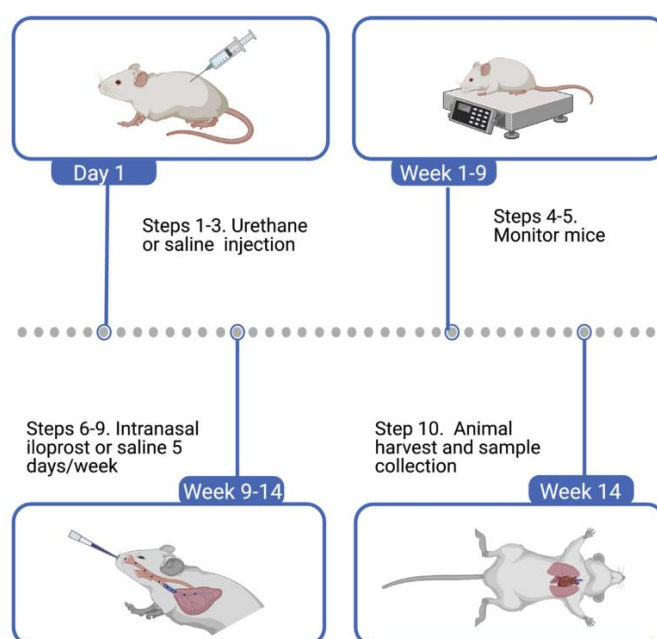


图2 尿烷诱导小鼠肺腺癌模型及经鼻化学预防给药时间轴。Day 1: 单次腹腔注射尿烷 (1 mg/g) 诱导肺肿瘤发生。Week 1–9: 定期监测小鼠健康状态及体重变化。Week 9–14: 经鼻给予化学预防剂 (如依洛前列素, 5 µg/100 µL), 每周5天, 连续5周。Week 14: 处死小鼠, 采集肺组织进行肿瘤计数及病理分析。

注: 该方案为化学预防干预的早期终点设计, 14周主要观察早期/微小病变, 与本文20–25周的成瘤率终点不同

应用示例 3: 利用 A/J 小鼠尿烷原发肺癌模型, 揭示肿瘤信号对骨髓单核细胞及肺巨噬细胞表型的重塑作用, 阐明原发性肺癌发生过程中的炎症-免疫调控机制[3]。

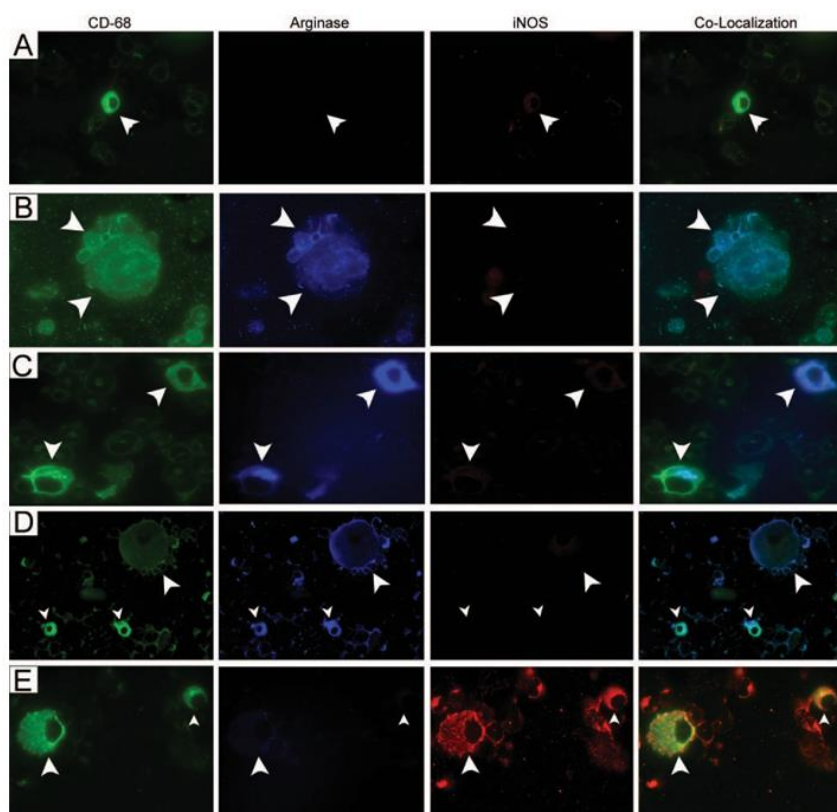


图3 骨髓来源单核细胞 (BDMC) 的 M1/M2 活化状态。BDMC 用 CD68 (绿)、精氨酸酶 I (M2, 蓝) 和 iNOS (M1, 红) 染色。正常小鼠 BDMC 双阴性 (A); 尿烷注射后 6、16、24 周 BDMC 呈 M2 型 (B–D); 42 周恶性腺癌期转为 M1 型 (E)。

五、常见问题解答

Q1: 造模后不成瘤或成瘤率很低是什么原因?

A1: 常见原因包括: ①品系选择不当——C57BL/6 等耐受品系单次给药难以成瘤, 需采用多次给药方案 (每周 1 mg/g 连续 10 周); ②观察时间不足——A/J 单次给药后约 20 周 (最早 16 周可见结节) 才能肉眼观察到腺瘤, 勿过早取材; ③溶液失效或剂量计算错误——尿烷溶液建议现配现用, 给药前按体重逐只核

对剂量；④周龄过大或动物状态差——建议使用 6 - 8 周龄动物。可对照表 1 排查给药环节。

Q2: 注射后小鼠长时间嗜睡甚至死亡，正常吗？

A2: 尿烷本身具有麻醉作用，注射后嗜睡 1 - 5 小时属于正常现象，小鼠通常可保持翻正反射与体温调节能力，保温监护至苏醒即可。若出现死亡，多为剂量计算错误（体重称量或浓度配制失误）、误将药液注入肠道/膀胱或动物本身状态不佳。建议双人核对剂量换算，严格按体重给药，注射后每小时巡视。

Q3: 同组小鼠之间肿瘤数目差异很大，正常吗？

A3: 化学诱癌模型的荷瘤数在个体间呈泊松分布，存在一定离散度属正常现象。可通过以下方式减小差异：统一周龄、性别与批次；保证给药剂量准确（按实际体重逐只换算）；病理计数时按统一标准（如仅计直径大于 0.5 mm 的表面结节）；保证每组样本量不少于 10 只，以均数±标准误进行组间比较。

Q4: 如何区分腺瘤与腺癌？病理判读有什么标准？

A4: 主要依据 HE 染色形态学：腺瘤呈界限清楚的膨胀性结节，保留肺泡样结构，细胞无异型性或异型性轻微；腺癌表现为细胞明显异型、核分裂象增多、失去正常肺泡结构并可出现间质浸润。建议参照小鼠肿瘤组织学分类（MMHCC）标准，并由两名病理人员双盲阅片。

Q5: 为什么推荐 Bouin 液固定？可以只用 4% 多聚甲醛吗？

A5: Bouin 液使肿瘤灶呈白色隆起，与正常肺组织对比鲜明，尤其便于体视镜下表面计数；4% 多聚甲醛也可用于固定和后续切片，但表面结节对比度稍差。若仅需做石蜡切片与病理分析，使用 4% 多聚甲醛灌注/气管内灌注固定即可。如果后续切片要做 Masson 三色染色，4% 多聚甲醛固定切片，需要用 Bouin 做切片媒染，保证胶原染色效果。

Q6: 操作中如何做好个人防护与废弃物处理？

A6: 尿烷为 2A 类致癌物兼麻醉剂。称量与配液应在通风橱内进行，佩戴丁腈手套、护目镜、口罩与实验服；避免产生粉尘。注射器、手套等一次性耗材及被污染的垫料、粪便、饲料应按危险化学废物分类收集，交由机构统一处置，不得作为普通垃圾丢弃。

Q7: 尿烷模型与 NNK 模型如何选择？

A7: 两者均为小鼠肺癌经典模型。尿烷操作简便（腹腔注射）、成本低、成瘤率高，适合化学预防、肿瘤微环境与免疫调控研究；NNK 为烟草特异性致癌物，更贴近吸烟相关肺癌的病因学，适合烟草致癌机制研

究。若关注 Kras 突变驱动的腺瘤-腺癌演进与化学预防干预窗口，尿烷模型是首选。

参考文献

- [1] Shi D, Wu J, Wu Y, Lin X, Xu C, Lian X. High-Fat Diet-Related Obesity Promotes Urethane-Induced Lung Tumorigenesis in C57BL/6J Mice. *Front Oncol.* 2021;11:620993. Published 2021 Feb 23.
- [2] Dwyer-Nield L, Keith RL, Tennis MA. Protocol for intranasal chemoprevention delivery in a urethane mouse lung cancer model. *STAR Protoc.* 2022;3(4):101750.
- [3] Redente EF, Orlicky DJ, Bouchard RJ, Malkinson AM. Tumor signaling to the bone marrow changes the phenotype of monocytes and pulmonary macrophages during urethane-induced primary lung tumorigenesis in A/J mice. *Am J Pathol.* 2007;170(2):693-708.

相关产品推荐

货号	品名	主要作用	规格
abs816485	尿烷（ Urethane ）	肺癌模型化学诱导剂	250mg
abs47052148	氯化钠	配制 0.9% 无菌生理盐水，用于溶解尿烷及腹腔注射。	500g
abs9179	4% 多聚甲醛	肺组织固定	500mL
abs9217	HE 染色试剂盒	病理染色（肿瘤检出与病理分型）	100mL
abs9348	改良 Masson 三色染色液	间质纤维化与肿瘤间质	50mL×8
abs123999	Rabbit anti-Ki-67 Polyclonal Antibody	肿瘤细胞增殖活性	50μL
abs120238	Rabbit anti-TTF1 Polyclonal Antibody	肺腺癌来源标志	100μL
abs137239	Rabbit anti-F4/80 Recombinant Monoclonal Antibody(313-49)	巨噬细胞总标记	100μL
abs130136	Rabbit anti-iNOS Recombinant Monoclonal Antibody(R131)	巨噬细胞 M1 极化	100μL
abs154875	Mouse anti-CD206 Monoclonal Antibody(JMMR-835)	巨噬细胞 M2 极化	100μL