

大鼠脊髓损伤动物模型建立的研究进展

李敏^{1,2}, 杨孝^{1,3}, 向武^{1,2}, 汪俊宇^{1,2}, 唐瑞苓^{1,2}

(1. 成都中医药大学, 四川 成都; 2. 成都军区总医院, 四川 成都; 3. 成都医学院, 四川 成都)

摘要: 脊髓损伤的发病率较高, 其病理生理机制复杂, 临床治疗效果不佳, 给家庭和社会带来沉重负担。为进一步认识脊髓损伤的病理生理机制, 对脊髓损伤动物模型研究的完善与发展必不可少。目前已有多种大鼠脊髓损伤模型较好地模拟了不同脊髓损伤的形式, 本文就大鼠脊髓损伤模型的研究进展做一简要综述。

关键词: 脊髓损伤; 动物模型; 大鼠

中图分类号: R744

文献标识码: A

DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.72.0731

本文引用格式: 李敏, 杨孝, 向武, 等. 大鼠脊髓损伤动物模型建立的研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(72):111-112.

0 引言

脊髓损伤 (Spinal cord injury, SCI) 是指由于外界直接或间接因素导致的脊髓损伤, 在损伤的相应节段出现各种感觉、运动和括约肌功能障碍、肌张力异常及病理反射等相应改变^[1]。脊髓损伤分为原发性损伤和继发性损伤。原发性损伤由受伤时外力因素所决定, 继发性损伤为伤后数小时至数日内发生的一系列自身激活的破坏过程^[2]。脊髓损伤动物模型的建立为研究继发性损伤提供了基础。

1 实验动物的选择

动物模型的动物选择首先要符合实验目的及要求, 尽量使用标准化的实验动物, 以提高实验的稳定性和可比性。脊髓损伤实验研究最常选用的动物有大鼠、小鼠、兔、犬、猪。最理想的实验动物是灵长类 (如猕猴、大猩猩等), 其解剖以及生理、病理、基因分子生物学等与人类有着高度同源性, 但因成本较高且较多地涉及伦理问题, 因此未能被普遍应用^[3]。目前国内外脊髓损伤实验研究中常用的动物多为大鼠, 其具有制作脊髓损伤模型造价低、容易获取、种系内纯合度高、再生能力与抗感染能力强、管理饲养方便等优势, 更重要的是大鼠的电生理和脊髓形态上与人类脊髓相似, 并且对大鼠脊髓损伤后行为学评估方法也较为成熟, 因此成为脊髓损伤常用的实验动物^[4]。目前应用最广泛的大鼠品系是 Sprague Dawley 和 Wistar。

2 大鼠脊髓损伤的模型分类

不同原因引造成的脊髓损伤类型有较大差异, 为了满足临床研究的需要, 目前建立的脊髓损伤模型主要有挫伤型、压迫型、缺血损伤型、横断损伤型、牵拉损伤型等多种动物模型^[5], 但没有一种模型能完全模拟临床脊髓损伤的病理生理过程, 无法精确控制脊髓损伤的程度和范围。因此, 熟悉不同类型脊髓损伤动物模型的制作过程及模型特点, 根据具体的研究目的和实验条件, 选择科学、恰当的脊髓损伤模型, 对整个实验研究将起到事半功倍的作用。

2.1 挫伤型脊髓损伤模型

挫伤型脊髓损伤是短暂的、急性脊髓损伤, 损伤外力与脊髓接触时间较短。目前打击装置主要包括重物坠击器、电磁打击器、气枪打击器等。Allen AR^[6]首次于 1911 年使用重物坠击法 (WD 法) 制作脊髓背侧损伤模型。该方法能复制出不同程度的脊髓挫伤模型, 但是撞击脊髓时重物不能及时离开造成二次损伤。电磁打击器是通过步进电动机、计算机、传感器、脊柱磁夹固定的应用, 打击器能精确控制打击力度^[7]。近年来, 一种新型的气枪打击器开始应用于大鼠脊髓损伤模型, 通过其喷出高压气体对脊髓造成损伤。但对此模型作为评分时, 不同损伤程度的模型没有统计学意义, 因此对损伤的量化需要进一步研究^[8]。

2.2 压迫型脊髓损伤模型

在临床中, 椎体骨折脱位、爆裂骨折等对脊髓的损伤往往是持续性压迫所致。压迫型脊髓损伤模型往往通过动脉钳夹、气囊等方式对脊髓造成压迫。秦慧慧等^[9]通过动脉夹内侧置入厚度不同的垫片, 确保动脉瘤夹释放后夹住脊髓横径的一半, 该方法不但保持了大鼠硬脊膜的完整, 而且与临床上因骨折移位、椎间盘突出等对脊髓造成的挤压伤非常类似。此外, 汪红林等^[10]采用环扎法制作大鼠急性脊髓损伤压迫模型, 研究脊髓损伤早期减压时间对神经细胞凋亡的相关性研究。

2.3 缺血损伤型脊髓损伤模型

脊髓缺血损伤模型对研究脊髓缺血再灌注损伤及损伤后病理机制变化有重要作用。目前制作该模型的方法主要有三种: 血管栓塞法、血管夹闭法、电凝灼闭法等。金华等^[11]在 2012 年改良大鼠脊髓缺血再灌注损伤模型, 通过电凝肾上腹主动脉发出的椎动脉和结扎肾下腹主动脉 60min、90min、120min 后再灌注, 该方法能够有效阻断腰段脊髓血液供应。Chen RK 等^[12]通过双极电凝器电凝大鼠脊髓背侧中央静脉制作脊髓缺血损伤模型, 该模型较以往电极能有效限制过度热扩散, 减少邻近脊髓组织损伤, 模型制作一致性较强。

2.4 横断损伤型脊髓损伤模型

脊髓全横断是 SCI 再生修复研究最常用的模型之一。横断的方法多采用椎板切除术, 以虹膜刀片、眼科剪等锐器横切断脊髓^[13]。贺丰等^[14]通过自制的脊髓剪制作脊髓完全横断模型, 脊髓断端整齐, 损伤长度固定, 有效消除了个体差异, 有助于治疗效果的量化分析和研究比较。但这种模型存在手术的稳定性较差、术后护理较难、死亡率非常高等不足。

2.5 牵拉损伤型脊髓损伤模型

牵拉型脊髓损伤是脊柱矫形手术的常见并发症之一, 该模型主要模拟脊柱外科手术医源性的脊髓牵拉伤。目前该模型已应用于兔、狗、猪、山羊等实验动物, 但可重复性较差, 脊髓损伤程度难以达到高度一致^[15]。2000 年, 周子强等^[16]用模拟神经拉钩特制的牵开器建立大鼠脊髓牵拉性损伤的模型, 实现水平方向上的脊髓牵拉性损伤, 并用磁刺激运动诱发电位和行为学功能试验指标进行综合评价探讨实验性脊髓牵拉性损伤的病理生理改变及临床意义。除此之外, 国内尚缺乏关于大鼠用于牵拉损伤型脊髓损伤模型相关基础研究的报道。

2.6 脊髓损伤节段的选择

在多数报道脊髓损伤模型中, 部位常选择低位颈髓、胸髓及腰髓, 用于脊髓损伤修复研究时多采用中下胸段^[17]。动物胸段脊髓处椎板咬除较方便, 能避开骶髓排便中枢。另外, 损伤节段越高, 伤后早期越易出现呼吸、心血管等系统并发症, 死亡率亦越高, 故大部分学者选择 T10 节段^[18]。T10 节段造模成功的标志为大鼠躯体回缩样扑动, 双下肢呈弛缓性

瘫痪,尾巴痉挛性摆动^[19]。当然,脊髓造模节段的选择还应该根据实验的要求和目的进行选择。

3 研究与展望

脊髓损伤动物模型经过近一个世纪的发展,已取得了的相当的研究成果。为了便于研究脊髓损伤的机制,动物脊髓损伤模型应具备的特点^[20,21]:①临床相似性:脊髓损伤模型与临床脊髓损伤情况相似;②可控性:可根据研究需要量化脊髓损伤大小;③可重复性:研究脊髓损伤机制及治疗需要大量的实验动物,因此要易于制作。综观以上的动物模型可以看出各种模型与临床脊髓损伤仍有很大区别,每种模型仅能代表脊髓损伤的某一侧面,各有其优缺点。实际上没有一种特定的脊髓损伤模型能完全阐明脊髓损伤机制及功能恢复的各个方面,多种模型的使用加深了对脊髓损伤的全面理解。今后,如何能制造出更加接近临床状态、更加可靠、标准化、调控性强、重复性强的脊髓损伤模型,仍然是我们需要努力研究的方向。

参考文献

- Shi P, Fang Y, Yu H. Bladder response to acute sacral neuromodulation while treating rats in different phases of complete spinal cord injury: a preliminary study[J]. *International Braz J Urol*, 2015, 41(6): 1194-1201.
- 汪红林, 汪军玉, 徐祝军. 环扎法致大鼠脊髓损伤早期减压后 caspase-3 的表达及其与神经细胞凋亡相关性研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 4: 358-362.
- Kwon BK, Streijger F, Hill CE, et al. Large animal and primate model of spinal cord injury for the testing of novel therapies[J]. *Experimental Neurology*, 2015, 269: 154-168.
- 姜丽, 卫小梅, 王巧缘, 等. 脊髓损伤大鼠痉挛腓肠肌的超声弹性成像观察[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(5): 364-369.
- 李剑锋, 冯世庆, 夏润福, 等. 不同程度脊髓背侧压迫损伤模型大鼠脊髓损伤致伤器的设计[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(18): 2856-2861.
- Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column: a preliminary report[J]. *J Amer Med Association*, 1911, 57: 878-880.
- Cheriyian T, Ryan DJ, Weinreb JH, et al. Spinal cord injury models: a review[J]. *Spinal Cord*, 2014, 52(8): 588-595.
- Marcol W, Slusarczyk W, Gzik M, et al. Air gun impactor--a novel model of graded white matter spinal cord injury in rodent[J]. *Journal of Reconstructive Microsurgery*, 2012, 28(8): 561-568.
- 秦慧慧, 王文春, 葛杜鹃, 等. 改良钳夹型脊髓损伤大鼠模型的建立及神经功能评价[J]. *西南军医*, 2014, 16(1): 1-4.
- 汪红林, 汪军玉, 徐祝军. 环扎法致大鼠脊髓损伤早期减压后 caspase-3 的表达及其与神经细胞凋亡相关性研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 20(4): 358-362.
- 金华, 郭光琼, 李江. 脊柱缺血再灌注损伤模型的改进及对大鼠神经行为学的影响[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2012, 29(10): 879-882.
- Chen RK, Than KD, Wang AC, et al. Comparison of thermal coagulation profiles for bipolar forceps with different cooling mechanisms in a porcine model of spinal surgery[J]. *Surgical Neurology International*, 2013, 4(4): 113-115.
- Lopez-Vales R, Fores J, Verdu E, et al. Acute and delayed transplantation of olfactory ensheathing cells promote partial recovery after complete transection of the spinal cord[J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 21(1): 57-68.
- 贺丰, 俞兴, 穆晓红, 等. 新型脊髓完全横断缺损模型大鼠的建立[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(5): 635-639.
- Hong JY, Suh SW, Lee SH, et al. Continuous distraction-induced delayed spinal cord injury on motor-evoked potentials and histological changes of spinal cord in a porcine model[J]. *Spinal Cord*, 2016, 54(9): 649-655.
- 周子强, 李佛保, 陈裕光. 脊髓牵拉性损伤动物模型的建立[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2000, 10(5): 269-273.
- 吴卓, 汪玉良. 脊髓损伤动物模型的研究进展[J]. *中国矫形外科杂志*, 2014, 22(12): 1086-1089.
- 邵将, 贾连顺, 朱巍, 等. 颈髓损伤早期死亡影响因素与时间分布[J]. *中华骨科杂志*, 2007, 8: 561-565.
- 陈向东, 张烽, 陆秋惠. NUMBL 在大鼠脊髓损伤过程中的表达变化[J]. *中国矫形外科杂志*, 2011, 8: 671-675.
- 张军, 陈晓, 张荣佳, 等. 脊髓损伤动物模型的研究进展[J]. *中华全科医学*, 2017, 15(3): 501-504.
- 王海峰, 方便. 脊髓损伤动物模型的研究现状[J]. *实用骨科杂志*, 2011, 17(1): 44-47.
- hyaluronic acid composite gels for nucleus pulposus tissue regeneration[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(23): 2999-3009.
- Bhakta G, Lim Z X, Rai B, et al. The influence of collagen and hyaluronan matrices on the delivery and bioactivity of bone morphogenetic protein-2 and ectopic bone formation[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(11): 9098-9106.
- McKay WF, Peckham SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE Bone Graft)[J]. *Int Orthop*, 2007, 31: 729-734.
- Wong DA, Kumar A, Jatana S, Ghiselli G, Wong K. Neurologic impairment from ectopic bone in the lumbar canal: a potential complication of off-label PLIF/TLIF use of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)[J]. *Spine J*, 2008, 8: 1011-1018.
- Kaneko H, Arakawa T, Mano H, et al. Direct stimulation of osteoclastic bone resorption by bone morphogenetic protein (BMP)-2 and expression of BMP receptors in mature osteoclasts[J]. *Bone*, 2000, 27(4): 479-486.
- Gruber RM, Ludwig A, Merten HA, Pippig S, Kramer FJ, Schliephake H. Sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 (rhGDF-5): a pilot study in the Goettingen miniature pig comparing autogenous bone and rhGDF-5[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2009, 20(2): 175-182.
- Bae M S, Ohc J Y, Lee J B, et al. Photo-cured hyaluronic acid-based hydrogels containing growth and differentiation factor 5 (GDF-5) for bone tissue regeneration[J]. *Bone*, 2014, 59(1): 189-198.
- De B B B, Mendes Brazão M A, de Campos M L, et al. Association of hyaluronic acid with a collagen scaffold may improve bone healing in critical-size bone defects[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2012, 23(8): 938-942.
- Dochertyskog A C, Bergman K, Waern M J, et al. Bone morphogenetic protein-2 delivered by hyaluronan-based hydrogel induces massive bone formation and healing of cranial defects in minipigs[J]. *Plastic & Reconstructive Surgery*, 2010, 125(5): 1383.
- De A N M, Cintra N, Maló P. Peri-implant maintenance of immediate function implants: a pilot study comparing hyaluronic acid and chlorhexidine[J]. *International Journal of Dental Hygiene*, 2007, 5(2): 87-94.
- Ballini A, Cantore S, Capodiferro S, et al. Esterified Hyaluronic Acid and Autologous Bone in the Surgical Correction of the Infra-Bone Defects[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2009, 6(2): 65-71.

(上接第 110 页)