维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2003年第12卷第3期
J Regional Anat & Operative Surg, 2003, Vol.12, No.3

同种异体大鼠耳廓移植模型的建立及意义

曹 川[1]，李世荣[1]，孙志成[1]，王珍祥[1]，吴 军[2]

【摘要】 **目的** 建立同种异体大鼠外耳廓移植模型，进行异体复合组织移植免疫的实验研究。**方法** 以Lewis大鼠为供体、BN大鼠为受体，应用显微外科技术，进行吻合血管的全耳廓异体移植，观察移植耳排斥反应的大体表现及组织学特征。**结果** 20只受体动物移植术后全部存活，吻合血管即刻通畅率为100%，移植耳廓呈现典型的免疫排斥反应过程，平均存活时间为(7.8±1.7)d。**结论** 大鼠外耳廓移植是进行异体复合组织移植免疫研究良好的动物模型。

【关键词】耳廓；复合组织；异体移植
【中图分类号】R622.9 【文献标识码】A 【文章编号】1672-5042(2003)03-0188-03

Rat auricle allograft model and its significance *CAO Chuan, LI Shi-rong, SUN Zhi-cheng, et al. Department of Plastic Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China*

【**Abstract**】 **Objective** To establish rat auricle allograft model for study of composite tissue allotransplantation. **Methods** The whole auricle transplantation was performed from Lewis to BN rats under microsurgery. The gross appearance and pathologic changes of rejection were observed. **Results** 20 recipients were all survived and the auricles were successfully reperfused immediately after operation. The grafts underwent typical immune rejection and the mean survive time was (7.8±1.7) days. **Conclusion** Rat ear allograft is an ideal animal model for study of composite tissue allotransplantation.

【**Key words**】 auricle; composite tissue; allotransplantation

复合组织(composite tissue)系指包括皮肤、皮下、肌肉、骨组织、神经、血管等在内的多种组织复合体，主要用于创伤或肿瘤术后机体大块组织缺损的修复与再造。既往一般采用自体复合组织修复缺损，但自身切取的复合组织瓣不仅给病人增添了新的痛苦，而且与原有的正常组织在形态和功能上都难以一致，有些部位的缺损(如肢体)自身无相应组织可用来进行修补。随着器官移植术的发展，不少学者着手研究异体复合组织移植，希望应用解剖结构上相同的异体组织使缺损区获得理想的再造[1]。大鼠一直以来是进行器官移植研究理想的实验动物，鼠耳是以皮肤及软骨为主体并包括肌肉、神经、血管等组成的复合组织，具有恒定的解剖结构及血供分布，由此我科设计以颈外动脉及面后静脉为蒂的鼠耳皮瓣作为移植物，进行吻合血管的异体全耳廓移植，建立同种异体大鼠外耳廓移植模型，为异体复合组织移植的研究提供一种良好的实验材料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

Lewis近交系大鼠、Brown-Norway(BN)近交系大鼠各20只，鼠龄7～8周，体重(250±50) g；以Lewis鼠为供体，BN鼠为受体。

1.2 手术器械

1.2.1 XTS-6A外科手术显微镜(江苏镇江光学仪器厂)。

1.2.2 显微外科手术器械(上海手术器械二厂)。

1.2.3 显微外科缝线10/0、11/0(上海金环医疗用品公司)。

1.3 手术步骤

1.3.1 供体手术 (1)Lewis大鼠以1%戊巴比妥按0.8 ml/100 g腹腔注射麻醉，置于侧卧位，待取耳侧向上，四肢无需固定；耳廓及周围基底术区剃毛，常规消毒铺洞巾；(2)沿耳廓基底距颅耳交界线0.5 cm环绕耳廓作椭圆形切口，于外侧切口中部作一斜向后外下方约2 cm的附加切口；(3)开始镜下操作，先行静脉蒂分离手术：按皮瓣切取手术原则沿耳周切口进行解剖分离，于耳廓基底外侧找到浅层的耳前及耳后静脉，二者向下汇入表浅而粗大的面后静脉，结扎切断其远端并向近心侧解剖，逐步剪断各小静脉及神经分支，游离静脉至与颈外静脉交界部；(4)动脉蒂分离手术：贴外耳道软骨后方可见颈外动脉向颅顶走行的末段，沿动脉干向近心端游离，剪断横跨在动脉上方的面神经主干，环形切断外耳道软骨，于耳廓基底上方结扎剪断动脉入颅顶的末段远端，将近侧端保留在欲切取的耳廓基底组

作者单位：1.第三军医大学西南医院整形外科中心，重庆400038；2.第三军医大学西南医院烧伤研究所

维普资讯 http://www.cqvip.com

织内,以保证耳动脉分支完整连于皮瓣中;继续沿动脉干向下分离至二腹肌,可看到二腹肌下方的平行走行的舌下神经,两者均横跨于动脉干上方,分别切断分开,在此处结扎剪断颌外动脉分支;进一步剪断下颌舌骨肌群在舌骨大角的附着(必要时可去掉部分舌骨大角以便更好地显露视野);进入颈深层,显露颈动脉三角、迷走神经及颈外动脉各分支,依次结扎剪断咽升动脉、舌动脉、甲状腺上动脉、枕动脉等分支,游离颈外动脉主干;(5)分别在颈外动脉及面后静脉根部水平剪断血管蒂,完整取下耳廓,立刻用肝素生理盐水从动脉口内灌洗耳廓组织,冲净残留的血凝块,暂置4℃保存。

1.3.2 受体手术 (1)受体BN大鼠麻醉消毒方法与体位摆放同供体,耳部术区作与供体相对应的切口,切除外耳廓组织部分;(2)分离浅层脂肪组织至表浅的面后静脉,沿静脉干向下游离至有足够长度和管径与供体静脉蒂相吻合即可;贴近外耳道软骨后方找到颈外动脉末段,沿动脉干向下分离至二腹肌平面,小心分离二腹肌肌膜并游离二腹肌中部,穿过4号双线,用线将二腹肌提起轻轻向外牵开,显露出颈外动脉中段及颌外动脉分支部位;用血管夹夹闭颌外动脉分支以下的颈外动脉干,结扎并剪断动脉远端;(3)供体耳廓置于术区,以受体颈外动脉中段(颌外动脉分支下方)近心断端为吻合口,10/0无创缝合针线以间断缝合法与供体动脉蒂行端端吻合(图1);以另一血管夹夹闭已游离的面后静脉,同法与供体静脉蒂吻合(图2);(4)动静脉吻合完毕检查无误放开两血管夹,恢复血供后移植耳颜色即由苍白迅速转为红润,透光明显可见充血的耳廓血管网;(5)保持吻合的动静脉通畅无扭曲受压,将供体及受体外耳道软骨断端用6/0号线对合缝合固定,原位全层间断缝合皮肤,酒精消毒伤口,术区无需包扎。

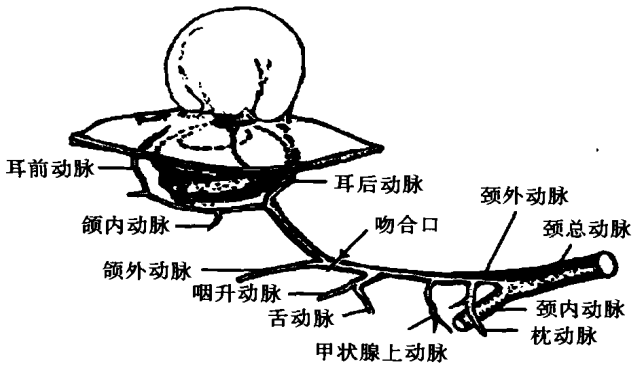


图1 鼠耳移植动脉系统示意图

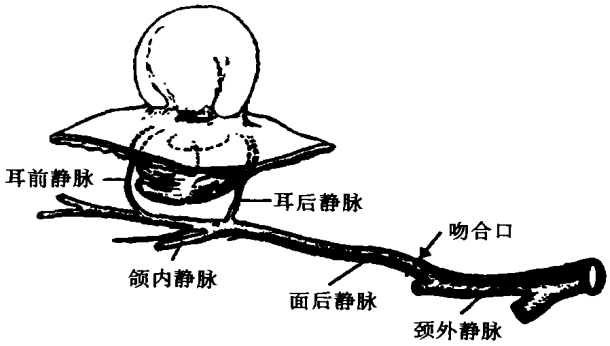


图2 鼠耳移植静脉系统示意图

2 结果

2.1 大体观察

术后1~2 d耳廓表面皮肤轻度水肿,颜色呈现为粉红色,活检见创口明显渗血,与自体皮瓣移植表现相似;第3天起水肿进一步加重,皮肤颜色加深,局部出现红斑;第4天质地变硬,皮温下降,耳廓开始变形,局部出现小水泡及溃烂点,5~6 d表面皮肤呈现深紫色,部分区域发黑,溃烂面增多,耳廓变形严重,活检区已看不到明显渗血;7~8 d耳廓表面皮肤基本变黑,多处溃烂坏死。

2.2 组织学表现

移植初期少量中性粒细胞浸润,类似轻度非特异性炎症,进一步可见淋巴细胞及单核细胞浸润,真皮层水肿;之后白细胞数量增多,其中以淋巴细胞为主,伴部分单核细胞浸润,炎细胞常围绕在血管及毛囊周围,真皮层水肿明显;排斥后期水肿反而有所减轻,但淋巴细胞浸润进一步增多,出现典型的血管炎及毛囊炎,多处表皮分离,结构模糊甚至脱落消失;肌肉组织变性坏死,部分软骨结构破坏。

2.3 移植耳廓存活情况

以耳廓部皮肤90%以上颜色变黑为移植物完全排斥的判定标准,同种异体移植耳廓平均存活(7.8±1.7) d,最短存活6 d,最长11 d。

3 讨论

以往的鼠耳移植都是在受体颈总动脉或颈外动脉主干根部水平进行吻合[2,3],视野狭小而深,操作困难,极不便于吻合,而且在颈动脉三角区有迷走神经及颈动脉窦,手术激惹易造成动物呼吸抑制死亡,过大的手

维普资讯 http://www.cqvip.com

术创伤还可造成咽喉部水肿导致窒息，颈总动脉结扎也对动物的生存不利。作者在初期以这种方法手术大鼠死亡率较高，经过多次探索，选择不同的吻合平面进行试验，最后发现在发出颌外动脉分支处的动脉干（即颈外动脉中部）作为吻合点最佳：(1)操作简易，顺外耳道软骨后侧沿动脉向下分离到二腹肌上缘即可，适当游离二腹肌中部将肌腹牵开就能较好地显露视野，便于吻合操作，此处的动脉及分支解剖结构非常恒定，以上操作都不进入二腹肌以下的颈深层组织，损伤小，安全可靠；(2)如在颈动脉根部水平吻合血管，则颈动脉系统血流全部进入移植耳廓，流量将大大超过正常耳廓的血供，而此时又结扎了所有分支，只有一条中等静脉回流，这样吻合后的耳廓在恢复血运后很快（通常在数分钟内）就呈现深红甚至紫红色，在血流动力学方面就已对移植耳造成了非生理性的影响，进一步还会影响其存活；而在颈外动脉中部进行吻合，既保证了移植物的血供，又不会造成动脉压力及流量过高；(3)此段动脉管径约0.5～0.8 mm，足以进行一般的显微血管吻合操作，如受体体型较小此处血管口径细，还可在发出颌外动脉分支部位的“Y”型区中部水平剪断动脉，形成直径较大的动脉断端以方便吻合。

供体手术应尽可能保持移植耳及血管蒂的完整性，取材时就要注意每一步牢靠结扎各小血管分支，勿等移植到供体恢复血运后再处理出血点，一些细小的动脉分支在取材时出血少易被忽视，移植后往往出现大的出血，此时再缝合修补很可能造成血管栓塞。颌外动脉支的地位十分重要：它位于二腹肌中部下方并被其遮盖，解剖恒定，找到它是颈外动脉干定位及进一步手术的关键，也是在受体进行动脉吻合的定位点；其他动脉分支包括咽升动脉、舌动脉、甲状腺上动脉、枕动脉等不必明确定位，只需在沿动脉蒂向下分离时逐个结扎切断即可。在受体进行的移植手术，要注意操作轻柔仔细，只要找到理想的动静脉吻合位点即可，不要过多破坏和去除组织，减少创伤及出血。血管吻合不畅造成的缺血性坏死一般在术后1～2 d内发生，主要表现为移植物苍白萎缩；而异体排斥2 d后开始，具有肿胀、变黑、溃烂及淋巴细胞浸润等典型反应过程，术后观察时要注意区分这两种结果。本移植模型主要用于异体移植免疫研究，如移植物早期因手术原因缺血坏死，则不应纳入实验观察。目前大鼠器官移植模型一般以BN鼠为供体、Lewis鼠为受体，BN近交系鼠呈棕黑色，如以这种颜色的耳廓为供体，则不利于观察排斥反应中皮肤颜色变化，因此作者认为以白色的Lewis鼠为供体、BN鼠作为受体更好。

建立良好的动物实验模型是进行研究的基础，当前复合组织的研究多以猪、狗、兔等大动物为实验对象[4,5]，这些动物缺乏严格的近交系品种，异基因体系对照不严格，一些复合皮瓣移植取材不稳定，肢体移植手术复杂，且实验动物价格昂贵。而用大鼠耳廓移植作为实验模型，除了动物价格便宜等一般性因素外，还有以下优点：(1)大鼠作为一类优良的实验动物，已培育出多种完善的近交系，可选择科学的异基因种系进行对比试验，尤其是进行异体器官移植方面的研究；(2)鼠耳解剖结构与血管分布恒定，以带血管的外耳廓皮瓣移植稳定可靠，对比性强；(3)传统的肢体移植模型需进行骨干固定及缝合肌肉肌腱等多个步骤，移植后的肢体也得不到良好的外固定，动物活动更进一步影响手术效果，而耳廓移植的主要步骤只需吻合两条血管，操作简化，熟练手术后平均取耳1.0 h，移植耳1.5 h，全手术约2～2.5 h即可完成；移植耳廓固定简便易行，不受动物活动的干扰；(4)外耳容易观察，可随时多次进行活检取材。鼠耳同种异体移植是进行复合组织移植免疫研究良好的动物模型，对于复合组织的移植免疫研究及用异体移植进行器官的修复再造具有一定的价值。

【参考文献】

[1] 何楚发. 同种复合组织移植的研究进展[J]. 中华器官移植杂志，1990,11(3)：142－144.

[2] Chiu DT, Chen L, Chen ZW. Rat ear reattachment as an animal model[J]. Plast Reconstr Surg, 1990, 85(5):782－788.

[3] Chiu DT, Ascherman JA, Patsis MC. Rat ear transplantation: A feasibility study[J] . Reconstr Microsurg, 1993, 9(1):33－38.

[4] Zdichavsky M, Jones JW, Ustuner ET, et al. Scoring of skin rejection in a swine composite tissue allograft model[J]. J Surg Res, 1999, 85(1)：1－8.

[5] Shirbacheh MV, Jones JW, Harralson TA, et al. Pharmacokinetics of intra－arterial delivery of tacrolimus to vascularly isolated rabbit forelimb[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1999, 289(3)：1196－1201.

（收稿日期：2003－06－20） （编辑：邱全光）