维普资讯 http://www.cqvip.com



局解手术学杂志 2006年第15卷第2期
J Regional Anat & Operative Surg, 2006, Vol. 15, No. 2

# 实验动物模型在脾脏研究中的应用

## Application of animal models in spleen study

代云群[1]，黄春霞[2] （1. 合川市中西医结合医院，重庆 合川 401520；2. 第三军医大学基础医学部外科应用解剖与手术学教研室，重庆 400038）

[关键词] 模型；实验动物；脾脏
[中图分类号] R322.21 [文献标识码] B [文章编号] 1672－5042(2006)02－0130－02

脾脏是机体最大的淋巴器官，脾脏在生理学上具有造血，储血，滤血和破坏衰老细胞的作用，同时脾脏具有强大的特异性和非特异性免疫功能。已知脾脏有广泛的抗感染和抗肿瘤的作用[1]。脾脏疾病动物模型就是指医学研究中建立的具有人类外伤性和病理性脾脏疾病模拟表现的动物实验对象和相关材料，为临床开展脾脏手术以及相关脾脏疾病的深入研究提供前提[2]。本文就目前主要开展的几种脾脏疾病动物模型加以综述。

## 1 保留脾脏功能手术的实验动物模型

### 1.1 犬部分脾切除模型

犬的脾脏血管分布有明显的规律性，脾动脉距脾门稍远处分为上下两支：脾上叶动脉和脾下叶动脉，分别分布于脾上、下叶，每叶动脉又分为两个分支，即脾上段动脉和脾中上段动脉及脾中下段动脉和脾下段动脉，分别营养各个脾段。这种脾叶段血液供应的特点为脾叶段切除提供了解剖学依据。

选用健康成年犬，雌雄不限。按常规术前准备。用3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)静脉麻醉。仰卧固定于手术台，腹部皮肤常规消毒铺单。行剖腹术后先探查肝、胆、脾。并测量脾脏长度(正常15.5～21.5 cm，平均18.23 cm)，观察脾脏血管主干、分支及其与脾叶的关系。预实验时可先用无损伤血管钳夹预切除脾脏部分的供应血管如上叶动脉，该部分脾脏缺血后与正常供血部分脾脏出现明显分界，以判断是否达到按实验设计要求预切除脾脏的范围。测量正常供血部分脾脏长度以确定切除部分脾脏所占比例。然后游离脾脏上极，切开脾肾韧带和脾胃韧带，双重结扎脾动脉上叶分支，在脾缺血线处切断脾上叶，使脾切断端呈凹陷的鱼口状以便于缝合脾断端，结扎脾断端创面的中央动脉和其它血管分支。用4号丝线水平褥式缝合脾断端，再用大网膜覆盖缝合于脾创面。检查确无出血后即可关腹。切除的脾脏按实验要求处理后即可用于研究的自身对照。手术后静脉注射50%葡萄糖60 ml，根据实验目的选用适当抗生素。动物按一般术后处理，喂养普通饲料，观察至伤口愈合。

### 1.2 大鼠脾脏部分或次全切除模型

实验性大部分脾脏切除术亦可根据实验设计选用较小型动物，如杂交系大鼠。手术方法与大型动物模型类似。大鼠实验性脾脏部分切除或次全切除术模型制作较方便，实验者可一人完成手术。复制的模型亦较稳定，且费用较低，有较多优点。唯小型动物对手术耐受性差，制作模型中动物有一定死亡率，在实验设计时应予考虑。

一般成年Wistar大鼠，雌雄不限。1%戊巴比妥钠腹腔内注射麻醉，剂量为15 mg/kg；或开放式乙醚吸入麻醉。麻醉成功后，用带有橡皮筋的塑料夹夹住大鼠四肢，将其固定于手术台板上，消毒后左上腹肋缘下1.5 cm处作斜切口入腹，游离脾脏，在脾门处结扎切断脾脏下极血管，然后行脾脏部分切除或次全切除，脾脏断端彻底缝合止血，关闭腹腔完成手术。术后予分笼喂养。

### 1.3 脾切除自体脾组织大网膜移植模型

临床上当外伤后脾脏损伤严重，伤及脾门或为脾脏碎裂性伤，无法行脾修补或保留部分脾脏时需行全脾切除术。全脾切除术后为保留脾脏功能则需行脾移植术。目前，自体脾组织大网膜内移植术是较常用的方法。具有手术操作简单，脾组织成活率较高和可恢复部分脾脏功能的优点。脾切除自体脾组织大网膜内移植模型对于研究术后机体的病理生理变化，移植脾的组织再生形态、脾功能恢复的程度、时间及其抗感染能力等均具有重要价值。

此模型大、中、小型动物均可选用。按上述模型的操作步骤进腹后，常规方法行脾切除术，切脾时注意保持脾包膜完整。如有副脾则同时切除。立即将切除的脾切成小块状：如犬等大型动物，则将脾切成1 cm×1 cm×0.5 cm小脾块。取50～70个小脾块，以0.5 cm的间距平均置于展平的大网膜上；如鼠等小型动物，则将脾切成1 mm×1 mm×1 mm的脾碎块置于展平的大网膜上。然后将大网膜游离端翻起覆盖脾块，使移植脾组织上下面均有网膜覆盖，适当缝合大网膜固定脾组织，把置入脾组织的网膜袋固定于脾窝处，关腹。术后处理同上。注意移植的脾组织总量不得少于正常脾脏的1/3，否则移植成功后可能显示脾功能低下。保留脾脏功能手术的实验动物模型制作前后和模型成功后可根据实验设计检测各种生理和病理指标。

## 2 门脉高压症疾病动物模型

门静脉系统血流受阻和血流量增加，导致门静脉及其属支血管内压力升高，称为门静脉高压症。门静脉高压症手术中脾脏具有重要的角色。门静脉通常有肠系膜上静脉和脾静脉汇合而成。门静脉系没有静脉瓣，因此门静脉压力过高时，其所属系统内血流可以形成逆流，从而形成脾肿大与脾功能亢进。

[收稿日期]2005－11－28 [修回日期]2006－01－15

维普资讯 http://www.cqvip.com



研究发现,门静脉高压症可引起脾大和脾功能亢进,反之脾脏也参与肝硬化的形成[1,3]。

四氯化碳肝硬化动物模型[2-4]:Wistar或SD大鼠,体重180~200 g,皮下注射40%~50%四氯化碳油溶液(0.3 ml/100g),每周2次,第二周开始,隔日以20%~30%酒精1 ml灌胃(或作为唯一饮料),饲以单纯玉米面(混以0.5%胆固醇),10周后形成肝硬化,造成门静脉高压。该模型为目前国内外常采用的动物模型,可靠且复制时间短,肝纤维化进展稳定,适合于肝硬化发生发展过程的动态研究。

国内管洪庚[4]选取雄性体重为200~220 g的Wistar大鼠。将硫代乙酰胺(Thioacetamide,TAA)加蒸馏水配制成3%溶液,对大鼠腹腔内注射60 mg/kg(即2 ml/kg),每日1次,8周后形成肝硬变,并继续维持给药,分别于0、8、10、12、14、16、18周取动物用于实验。

## 3 脾细胞移植动物模型

脾细胞移植又称脾细胞输注,是利用脾的造血,抗感染、抗肿瘤、免疫调节和合成产生VIII:C因子等方面的功能,将脾制备成细胞悬液,通过各种途径输注给异体来研究机体免疫功能和治疗临床上某些难治性疾病的一种新方法。临床上脾细胞移植的途径有3个:经腹腔内注射,这是1963年Woodruff采用的途径,目的是治疗腹腔内转移性癌肿和腹水,并取得了初步疗效。经浅表静脉输注,类同于一般的输液,只是速度上放慢,这是目前最常用的移植途径,主要特点是简单易行,可反复多次输注。肝内移植法,又分B型超声波引导下门静脉插管输注法和用Seldinger技术经肝动脉插管输注法。这种方法是基于肝是免疫器官,肝门静脉血供类同脾内环境,将脾细胞移植到肝内期望能获得免疫耐受和长期存活。此外,采用这种方法治疗晚期肝癌,可以将脾细胞直接输注到癌肿所在地,利用脾细胞的免疫功能(脾细胞本身包含大量的免疫活性细胞,如NK细胞,以及能产生释放多种淋巴因子),杀伤癌细胞[1]。

陈知水[5]用犬作了两种途径同种脾细胞移植的实验研究。健康杂种犬,重11~18 kg,雌雄不拘。将动物分为三组,I组为单纯脾切除;II组为脾切除+经浅表静脉移植同种脾细胞;III组为脾切除+经门脉输注同种脾细胞。II组与III组动物进行配对研究,脾脏互为供受。将切下的脾脏用MSE组织捣碎机制得脾细胞悬液,作常规计数和活力测定。然后将III组动物的脾细胞悬液经浅表静脉输注给II组,同时又将II组动物的脾细胞悬液从脾静脉插管至门脉主干输注给III组动物肝内。两组动物输注的脾细胞悬液为60~130 ml,计有活力的细胞数15~40亿个。术中用琥珀酰氢考100 mg冲击,术后3 d氢考100 mg/d,自第四天起改口服免疫抑制药物硫唑嘌呤2 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$,强的松1 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$,维持至1个月。术后每天观察犬的一般情况(包括饮食、精神活动、大小便等)以及作实验指标测定。

## 4 脾脏肿瘤动物模型

临床上脾脏的原发肿瘤十分少见。国外报道脾脏原发性肿瘤占全部肿瘤的0.64%,而脾脏的恶性肿瘤仅占0.13%[6]。虽然如此,脾脏原发性恶性淋巴瘤仍然是脾脏原发性恶性肿瘤中最高者,约占脾脏恶性肿瘤的2/3以上,原发于脾脏淋巴组织。目前有关脾原发性恶性淋巴瘤的病因和发病机制尚不清楚,与其他肿瘤相比基础和临床研究深度仍受限,为了深入研究此病,张宁等[7-9]成功建立了人脾原发性恶性淋巴瘤裸鼠原位移植模型和皮下移植模型。该模型完整的模拟了人脾原发性恶性淋巴瘤的临床过程。

用鼠龄3~5周的BALB/C-nu/nuSPF(specific patnogen free)裸小鼠,体重17~20 g,雌雄兼用。无菌切取的活体人原发性恶性淋巴瘤组织置入PRMI-1640培养液中,清除非瘤组织,将其剪切成1 $mm^3$组织小块,供移植用。皮下移植:用2.5%的碘酊和75%的酒精消毒裸鼠背部皮肤,用无菌套管针抽吸已剪碎的瘤组织小块行四肢皮下种植。原位移植:裸鼠在0.5%巴比妥钠(5 mg/kg)腹腔注射麻醉下取左侧腹切口、暴露脾脏,在脾脏上极被膜处做2 mm长切口,经切口将2粒2 $mm^3$瘤块植入脾实质内,75%酒精纱布压迫止血,10/0无损伤缝线缝合脾被膜,将脾放回原处,关腹。术后逐日观察肿瘤生长情况,传代或作有关指标检测。

总之,随着对脾脏的深入研究,相应的更多脾脏实验动物模型将建立或更完善。同时,实验动物模型也将推动着脾脏研究的向前发展。

## [参考文献]

[1] 姜洪池,陈孝平.实用肝脾外科学[M].北京:科学出版社,2003.765.
[2] 魏 泓.医学实验动物学[M].成都:四川科学技术出版社,1999.279-402.
[3] 黄凤瑞,褚海波.门脉高压症巨脾大部分切除的进展[J].中国实用外科杂志,1999,12(7):735.
[4] 管洪庚,程亚梅,陈易人,等.门脉高压性脾脏形态结构的实验研究[J].临床与实验病理学杂志,1997,13(1):48-51.
[5] 陈知水,夏穗生,刘慎微,等.两种途径同种脾细胞移植的实验研究[J].1996,4(4):239-240.
[6] 陈辉树,陈文杰.脾肿大的病理与临床[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998.168-185.
[7] 张 宁,脱朝伟,刘秋珍,等.人脾原发性恶性淋巴瘤裸小鼠皮下及原位移植模型的建立[J].消化外科,2002,1(3):166-169.
[8] 刘秋珍,脱朝伟,张龙石.人胰腺癌裸鼠原位移植模型的建立及其生物学特性的研究[J].中华肿瘤杂志,1998,14(6):403.
[9] 刘秋珍,脱朝伟,吴秉铨.人结直肠癌裸鼠原位移植肝转移模型的建立及生物学特性的研究[J].中华肿瘤杂志,1998,20(2):98.
[10] 陈希炜,侯会池.小鼠脾保留和自体移植脾组织抗疟原虫感染的超微结构动态观察[J].河北医科大学学报,2001,22(6):328-331.

(编辑:郭光金)