

文章编号:1005-6947(2007)02-0133-03

· 基础研究 ·

建立小鼠腹部心脏移植模型的体会

朱鹏, 陈义发, 张宜江, 陈孝平

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 肝脏外科中心, 湖北武汉 430030)

摘要:目的 探讨小鼠腹部异位心脏移植手术的技术方法及其改进,为进行移植免疫学研究提供动物模型。方法 采用供心主动脉与受体腹主动脉、供心肺动脉与受体下腔静脉端侧吻合方法对100例小鼠进行腹部心脏移植术,同时测量相关移植部位的重要解剖结构。结果 供心主动脉直径为(1.0 ± 0.1) mm,供心肺动脉直径为(1.3 ± 0.2) mm;受体下腔静脉直径为(1.9 ± 0.2) mm,腹主动脉直径为(0.9 ± 0.1) mm,腹腔大血管平均可利用长度为(6.0 ± 1.0) mm。建模成功率为92%。供、受体手术时间分别为(8.0 ± 1.0) min和(40.2 ± 3.0) min;其中动脉吻合为(9.3 ± 1.2) min,静脉吻合为(7.8 ± 1.7) min。结论 所建立的小鼠心脏移植模型稳定可靠,适用于移植免疫学方面的研究。

[中国普通外科杂志,2007,16(2):133-135]

关键词: 心脏移植/方法; 模型,动物; 腹部

中图分类号: R617 **文献标识码:** A

Ventral heterotopic heart transplantation in mice

ZHU Peng, CHEN Yi-fa, ZHANG Yi-jiang, CHEN Xiao-ping

(Hepatic Surgery Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Objective** To explore an improved technique of mouse ventral heterotopic heart transplantation and construct an animal model for the study of transplantation immunity. **Methods** The donor heart aorta and the recipient ventral aorta, the donor pulmonary artery and the recipient inferior caval vein, were anastomosed by using the end-to-side suture technique respectively. At the same time, important anatomical structures of transplantation-related sites were measured. **Results** The diameter of recipient inferior caval vein and ventral aorta was (1.9 ± 0.2) mm and (0.9 ± 0.1) mm respectively. The average length of ventral blood vessels which can be used was (6.0 ± 1.0) mm. The model construction success rate was 92%. The average time of donor operation and recipient operation was (8.0 ± 1.0) min and (40.2 ± 3.0) min respectively. The time of artery anastomosis and vena cava anastomosis was (9.3 ± 1.2) min and (7.8 ± 1.7) min respectively.

Conclusions The animal model is stable and can be used for the study of transplantation immunity.

[Chinese Journal of General Surgery, 2007, 16(2):133-135]

Key words: Heart Transplantation/methods; Models, Animal; Abdomen

CLC number: R617 **Document code:** A

小鼠的基因型相对容易控制,各种纯系小鼠的成功繁殖等有利因素,使小鼠模型在移植免疫方面占据不可替代的地位;尤其是小鼠异位心脏移植,现已成为移植免疫研究中最为常用的模型

之一。但小鼠心脏移植模型与大鼠等其它动物相比,其制作相对困难。笔者自2005年9月初至12月底共进行100例小鼠腹部异位心脏模型制作,效果较为满意。现对该模型的制作技术方法总结体会如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物及分组 近交系 C57BL/6 小鼠 50 只及近交系 BALB/c 小鼠 150 只,雌雄不限,约

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571754)。

收稿日期:2006-06-06; **修订日期:**2006-08-04。

作者简介:朱鹏,男,江苏靖江人,华中科技大学同济医学院附属同济医院博士研究生,主要从事肝胆外科及器官移植方面的研究。

通讯作者:陈义发 E-mail: yfchen@tjh.tjmu.edu.cn。

8周龄,15~20g,购于本院器官移植研究所。供、受体体重差异无显著性,手术前后不禁饮食。同系移植组:供、受体均为BALB/c小鼠。同种异品系移植组:供体为C57BL/6小鼠,受体为BALB/c小鼠。两组均为50例。

1.1.2 手术器械及试剂 双人双目手术显微镜一台购于上海医用光学仪器厂;显微手术包购于上海医疗器械有限公司手术器械厂;12-0带线缝合针购于宁波医用缝线厂;5-0医用丝线上海医用缝合厂;戊巴比妥钠由同济医学院职业医学研究所惠赠;肝素钠注射液购于天津市生物化学制药厂。

1.2 手术方法

1.2.1 供体手术 麻醉采用腹腔注射1%戊巴比妥钠[0.01mL/g(体重)]的方法。供体小鼠麻醉满意后,四肢用橡皮筋固定于自制手术台上。迅速沿正中切口进入腹腔,显露下腔静脉,经下腔静脉静推注0.2mL肝素钠,使供体小鼠全身肝素化。约1min后,剪断腹主动脉放血,并迅速剪开膈肌,沿两侧腋前线剪断肋骨直至颈部,充分暴露心包。剪开心包,将胸腺组织向上推移,充分显露心脏。于靠近心脏处分别结扎并切断下腔静脉和上腔静脉,充分游离主动脉,于头臂干分支近侧将之横断;同法将肺动脉在分叉处横断,然后将肺静

脉连同心脏后的组织一并结扎并切断;取下供心,置于4℃生理盐水中保存。

1.2.2 受体手术 将小鼠用上法麻醉满意后,固定于手术台上。剃去腹部鼠毛,以1%的活力碘消毒后,经正中切口分两层进腹;切口上至剑突下至尿道外口上缘约1cm处。腹壁切口两侧采用自制拉钩牵拉固定。剪开小肠与直肠间的系膜,将小肠向左上腹推移,充分显露下腔静脉。剪开结肠系膜和后腹膜,充分游离下腔静脉及与其伴行的主动脉;上至左肾静脉分支下方,下至左右髂血管分叉上方约0.5cm处。于下腔静脉近心端和远心端各置1根阻断带,先阻断近端血供,待腔静脉充盈后阻断远端血流。用30G针头于腹主动脉戳一小孔,然后沿孔作一纵行切口,行供心主动脉和受体腹主动脉端侧吻合。吻合方法为:将供心置于小鼠右侧腹腔,于吻合口两端各作一牵引线,自尾侧一针连续缝合至头侧打结固定后,翻转心脏至左侧,行后壁连续缝合,与尾侧牵引线打结固定。同法剪开下腔静脉,行肺动脉和下腔静脉端侧吻合,吻合方法为一针连续缝合后壁先缝法,吻合至对侧时自身打结固定1次。吻合完毕后,先开放远端血流,后松开近端阻断带。将肠管复位后,分两层连续缝合关闭腹腔(图1)。

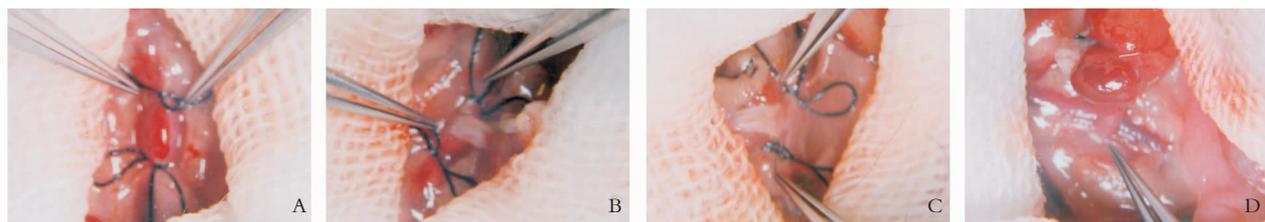


图1 心脏移植的主要步骤 A:阻断腹主动脉和下腔静脉;B:动脉吻合;C:静脉吻合;D:吻合完毕开放血流

1.3 术后处理与观察

小鼠多在术后10~30min苏醒。给予保暖,单笼饲养,不禁饮食。每天通过视、触诊观察供心的搏动情况。如供心有搏动,而且小鼠存活4d以上者视为手术成功。术后8d收集两组的供心标本作石蜡病理切片,行HE染色。

2 结果

2.1 心脏移植结果

本实验行小鼠腹部心脏移植手术共100对,存活92对,成功率为92%。供、受体手术时间分别为(8.0±1.0)min和(40.2±3.0)min,其中动、静脉吻

合时间分别为(9.3±1.2)min和(7.8±1.7)min。

2.2 小鼠腹腔异位心脏移植的应用解剖

小鼠供心主动脉直径为(1.0±0.1)mm,供心肺动脉直径为(1.3±0.2)mm。小鼠下腔静脉及其伴行的腹主动脉位于后腹膜后方,两侧为输尿管,其前方有直肠系膜覆盖。常用的腹部血管吻合部位即是左肾静脉分支下方至双侧髂血管分叉之间的部分,其平均可利用长度为(6.0±1.0)mm,受体下腔静脉直径为(1.9±0.2)mm,腹主动脉直径为(0.9±0.1)mm。此段常有3~5支腰血管分支。雄性小鼠下腔静脉表面尚有睾丸血管附着。

2.3 供心存活时间

同种异品系移植组供心平均存活时间为 (7.8 ± 0.77) d;而同系移植组,除两动物在术后1周因下腔静脉出现血栓而导致下肢瘫痪之外,其余供心在移植后28d(观察终点)均存活(图2)。

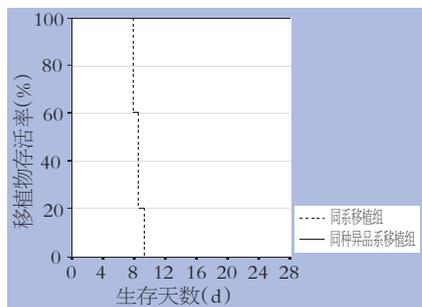


图2 两组移植植物生存时间与存活率比较

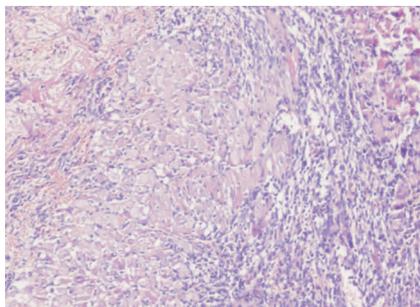


图3 同种异品系移植组供心(×100)

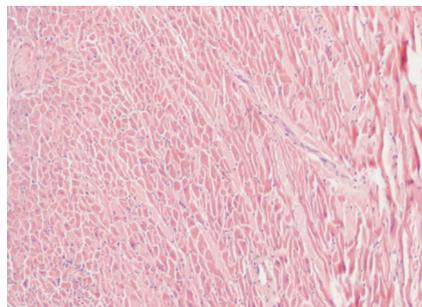


图4 同系移植组供心(×100)

3 讨论

小鼠异位心脏移植模型在移植免疫研究中应用较为广泛,但目前多采用颈部异位移植模型^[1-3]。由于颈部空间相对较小,以致周围组织与供心粘连过多,限制其搏动而使冠脉供血不足,对实验结果造成影响。因此,目前国外大多推荐采用腹部异位移植模型^[4-7]。

本实验发现,小鼠腹部异位心脏移植模型手术成功的影响因素很多,最主要的有两点:一是手术者的显微操作熟练程度;二是小鼠围手术期的正确处理。现将笔者等执行本实验的实践经验讨论如下。

3.1 供心切取

整个过程要控制在10min之内,这样有利于供心质量的控制。上腔静脉在汇入心脏前有一个较大的分支,清晰可见,应在其近心侧结扎并切断上腔静脉;否则恢复血供后,此处会发生难以控制的出血。应尽可能保留较长的主动脉及肺动脉,以便吻合。对于主动脉和肺动脉之间的脂肪组织,应予电凝处理,切忌强行剔除;否则易造成细小毛细血管破裂,导致术后吻合口间渗血不止。集束结扎肺静脉及其分支时,切忌损伤左右心耳,否则也易造成术后出血不止。

3.2 血管吻合

行血管准备前,可先将小鼠膀胱和直肠内容物排空,有助于显露。由于腹主动脉和下腔静脉紧密相连,因此不必强求分开。阻断带选用5-0丝线,可以避免血管夹对手术区域的阻挡,而且不易滑脱。对于吻合口切开,笔者认为,本组所采用的方法对血管内膜损伤较小,术后发生血栓的可能性较小。血管吻合时,边距和针距比约为1:1.5,单面6针即可。边距太大或收线太紧,都易引

2.4 病理切片

同种异品系移植组供心心肌变性坏死,大量淋巴细胞浸润;同系移植组供心心肌变性坏死轻、淋巴细胞浸润较少(图3-4)。

起吻合口狭窄。对于下腔静脉与肺动脉吻合口,连续缝合的第1针尤为关键,必须保证肺动脉角处不致漏针。对于吻合口少量渗血,可用棉签压迫片刻,效果较好。

3.3 围手术期的其他处理

整个手术过程中,环境温度最好控制在25℃以上,不宜过低;否则术后小鼠苏醒较慢。手术视野要用湿盐水纱布覆盖,以减少因光照造成水份的丢失。

总之,小鼠腹部异位心脏移植模型的建立需要娴熟的显微外科技巧和合适的围手术期处理。此模型较稳定、可靠,可以用于移植免疫等相关研究。

参考文献:

- [1] Chen HA. New technique of cervical heterotopic heart transplantation in mice [J]. *Transplantation*, 1991, 52 (6): 1099 - 1101.
- [2] Steinbruchel DA, Nielsen B, Salomon S, et al. A new model for heterotopic heart transplantation in rodents [J]. *Transplantation Proceedings*, 1994, (26): 1298 - 1299.
- [3] 王铭辉,苏逢锡,宋尔卫,等. 小鼠心脏移植技术的改良[J]. *广东医学杂志*, 2001, 22 (1): 24 - 25.
- [4] Chen Y, Demir Y, Valujskikh A, et al. The male minor transplantation antigen preferentially activates recipient CD4 + T cells through the indirect presentation pathway in vivo [J]. *J Immunol*, 2003, 171 (12): 6510 - 6518.
- [5] Demir Y, Chen Y, Metz C, et al. Cardiac allograft rejection in the absence of macrophage migration inhibitory factor [J]. *Transplantation*, 2003, 76 (1): 244 - 247.
- [6] Chen Y, Demir Y, Valujskikh A, et al. Antigen location contributes to the pathological features of a transplanted heart graft. [J]. *Am J Pathol*, 2004, 164 (4): 1407 - 1415.
- [7] Chen Y, Heeger PS, Valujskikh A. In vivo helper functions of alloreactive memory CD4 + T cells remain intact despite donor-specific transfusion and anti-CD40 ligand therapy [J]. *J Immunol*, 2004, 172 (9): 5456 - 5466.