

# 脊髓损伤动物模型研究进展

涂承东 徐宏光 宋俊兴

**摘要** 脊髓损伤(SCI)是一种常见而致残率很高的疾病,构建理想的 SCI 模型对于研究 SCI 病理生理机制和转归具有重要意义。目前国内外报道中最常见的 SCI 动物模型有挫伤型模型、压迫型模型、锐性损伤型模型、缺血-再灌注损伤型模型等。该文就 SCI 动物模型研究进展作一简要综述。

**关键词** 脊髓损伤;动物模型;病理学

DOI:10.3969/j.issn.1673-7083.2012.06.017

脊髓损伤(SCI)是一种致残率很高的疾病,患者数量逐年上升。SCI 及其继发性病理生理反应可导致神经功能障碍,破坏脊髓作为神经功能中介通路的作用,从而引起组织、器官功能障碍。近年 SCI 动物模型研究得到很大进展,为进一步研究 SCI 治疗方法,如脊髓干细胞移植、药物治疗等提供了有力的实验支持,而 SCI 实验研究则可为今后临床治愈 SCI 提供理论支持。

## 1 动物模型制备标准

理想的 SCI 模型应具备以下条件:一是能反映实验动物脊髓受损的神经生理和运动行为情况;二是具有良好的临床相关性,即能提供与临床 SCI 一致的动物模型;三是要有高度的重复性,因为 SCI 病理及治疗研究需要大量实验动物,需要损伤模型标准化,并需要一系列实验参数对损伤情况进行比较<sup>[1]</sup>。

## 2 实验动物种类

正确选择实验动物应遵循以下基本原则<sup>[2]</sup>:①相似性:实验动物生物学特性需与人类接近;②差异性与可获性:最理想的实验动物是灵长类动物(如猿、猩猩、猴等),这类动物体型大,在手术操作实感上接近人类,但价格昂贵,难以获得并推广。目前国内实验研究最常选用的动物是大白鼠、兔、猫和犬。这些动物高级神经系统较发达,且价格便宜,最易获得。有研究<sup>[3]</sup>对近 10 年 96 个 SCI 实验研究项目进行统计分析,选用大白鼠模型的项目有 54 项(56%),其余依次为兔模型(20%)、猫模型(12.5%)、犬模型(11.5%)。

## 3 SCI 动物模型种类与制备

### 3.1 挫伤型 SCI 模型

Allen 等于 1911 年最早应用重物坠落法(重物从不同高度落下打击脊髓背侧)造成不同程度 SCI<sup>[4]</sup>。该模型与人类 SCI 性质非常相近,两者均呈现一定力量撞击后脊髓水肿、缺血并继发一系列损伤反应的典型 SCI 表现。然而同样势能造成的损伤程度其实相差很大,打击瞬间的不稳定及侧向偏移常导致重复性差。Khan 等<sup>[5]</sup>经大鼠实验显示,相同势能撞击导致的截瘫在 6 周后有的完

全恢复,有的还是截瘫,结果不一。Falconer 等<sup>[6]</sup>报道根据重物坠落法技术要领设计制作了重物坠落仪,可全部自动化控制与记录撞击结果;利用激光探测器给出势能、速度及质量,保证脊髓只受 1 次撞击,从而确保模型的一致性。Iwanami 等<sup>[7]</sup>报道采用小猿作为实验动物进行撞击试验研究,组织学量化分析证实随着撞击重量的增加,运动神经元、有髓区域脊髓束数量明显减少。Fernandez-Martos 等<sup>[8]</sup>报道在瘦素治疗急性 SCI 研究中采用精密打击器制作实验模型,获得较好的研究效果。Liu 等<sup>[9]</sup>应用重物坠落法制作 SCI 小鼠模型并经运动诱发电位观察 N1 波潜伏期情况,获得较好的实验结果。挫伤型 SCI 模型较接近人类 SCI 病理生理特点及变化规律,其研究正朝着精确、可控制、可重复及可定量的方向发展,旨在提高不同实验研究的可比性,对 SCI 后神经元研究,神经胶质细胞病理变化、再生规律及相互作用研究,神经保护策略研究等产生较大帮助,但在模拟人类急性 SCI 方面仍存在一些弊端。重物打击法仅模拟了致伤时的最初打击状态,持续性挤压作用受到忽略,而人类急性 SCI 发生时脊柱骨折往往伴有持续性挤压作用。

### 3.2 压迫型 SCI 模型

压迫型 SCI 模型主要模拟椎管内出血、退行性变、肿瘤等占位性病变造成的 SCI。Tarlov 等<sup>[10]</sup>早期报道用一小气囊连接导气管并置于椎管内,然后向气囊内充气造成脊髓压迫性损伤。Ushio 等<sup>[11]</sup>报道将肿瘤细胞种植至大鼠椎体前,使肿瘤细胞生长压迫脊髓,平均种植 16 d 后大鼠双后肢发生瘫痪,结果模拟出慢性压迫型 SCI 临床表现与病理表现。Rivlin 等<sup>[12]</sup>报道采用改装的动脉瘤夹直接钳夹脊髓制作急性 SCI 大鼠模型。Fleming 等<sup>[13]</sup>采用钳夹不同节段脊髓的方式制备动物模型,研究不同节段 SCI 导致的肝脏炎症反应,获得满意的实验效果。Esposito 等<sup>[14]</sup>也报道应用该方法制作小鼠 SCI 模型。该模型在研究 SCI 急性期病理生理变化、解除钳夹压迫时机及电刺激和神经保护性干预等方面具有重要作用。Sheng 等<sup>[15]</sup>报道以微创方法制作 SCI 鼠模型,即在垂直于脊髓纵轴的 T<sub>11</sub> 水平硬膜外隙置放 1.5 mm 硅胶管压迫脊髓并分别在压迫后 1、30、60、120 min 时撤除硅胶管,损伤后 1、3、7、14 d 评测神经系统功能显示,Basso-Beattie-Bresnahan 后肢运动功能评分(BBB)随时间推移而逐渐下降,组织学分析表明腹侧角正常神经元逐渐减少,细胞坏

基金项目:国家自然科学基金(30973025)、安徽省教育厅自然科学基金重点基金项目(KJ2010A320)

作者单位:241001 安徽芜湖, 皖南医学院附属弋矶山医院脊柱外科

通信作者:徐宏光 Email:xuhg@medmail.com.cn

死横断面积增加。Takahashi 等<sup>[16]</sup>报道将一连接 ATS-1000 空气压力装置的塑料球置于犬 S<sub>1</sub> 椎板下,并在 1.33 kPa 注射压力下向球内缓慢注射一种物质,对脊髓形成压迫。这一模型的优点在于可对不同脊髓节段压迫致伤,压迫持续时间可控制,重复性好,方法简便,缺点是气球膨胀导致的球内压力变化并非呈直线样改变。Uchida 等<sup>[17]</sup>报道制作转基因小鼠慢性压迫性颈髓损伤模型并进行脊髓压迫性疾病研究,转基因小鼠随着年龄的增长而颈椎体内钙化沉积物增多,从而产生脊髓压迫。

### 3.3 锐性 SCI 模型

切割型 SCI 模型是采用锐利的虹膜刀片或显微剪全横断或半横断脊髓,或切除一段脊髓,使损伤部位头端和尾端失去解剖连续性 & 生理上联系的模型。Cho 等<sup>[18]</sup>应用此模型进行运动神经元损伤的治疗研究。Munro 等<sup>[19]</sup>在研究 SCI 后炎症反应时采用一种细小的显微刀切除脊髓,获得较好的实验结果。杨宝林等<sup>[20]</sup>报道制作大鼠全横切和半横切急性 SCI 模型,并对两种模型的优缺点进行比较研究。切割型 SCI 模型的最大特点是可为神经轴突再生提供有价值的资料,利于准确判定损伤所涉及的轴突为何种类型神经,同时也可观察神经递质、神经营养因子、神经组织、细胞移植等对这一损伤过程的影响及作用,尤其是脊髓半横断损伤还可与健侧对照,具有独特的优越性。

吸除型 SCI 模型是用玻璃针吸出或负压吸除部分脊髓,造成脊髓完全或非完全的横断性缺损而制作的模型,可为放置植入物或药物等进行再生性研究提供方便。

锐性 SCI 模型的特点在于伤口整齐、出血较少,且操作方便、重复性好、损伤程度较恒定、解剖定位准确、功能障碍确定,便于进行 SCI 基础理论研究和神经生物学研究。但该模型与临床相关性差,难以复制出与临床相似、可量化的 SCI,且多破坏硬脊膜,有外来因素作用于脊髓损伤部位,破坏了局部环境。因此,相关研究者大多强调在脊髓横断损伤后需仔细缝合硬脊膜,并覆盖以明胶海绵或游离脂肪片,尽量减少周围组织的影响。

### 3.4 缺血-再灌注 SCI 模型

Marsala 等<sup>[21]</sup>报道应用股动脉插管或直接关闭降主动脉方法制作缺血-再灌注 SCI 鼠模型。伍亚民等<sup>[22]</sup>采用结扎腰动脉方法制备缺血-再灌注 SCI 兔模型,随着缺血时间的加长,再灌注脊髓组织损伤逐渐加重。Kim 等<sup>[23]</sup>采用闭塞腹主动脉及其属支使脊髓暂时性缺血的方法制作 SCI 鼠模型,研究急性等容血液稀释对 SCI 功能状态的影响。这些高选择性阻断局部供血形成的缺血性 SCI 模型的制备过程尽管比较复杂,但并不影响模型其他供血区的血流,可控制性及可重复性较好。

### 3.5 其他 SCI 模型

光化学诱导型 SCI 模型制备方法为注射光增敏剂二碘曙红(孟加拉玫瑰红)或四碘荧光素二钠(藻红 B)后分别以氩离子灯或氩弧灯产生的 514.5 nm 激光或 560 nm 绿光照射拟损伤的脊髓部位,光与光增敏剂发生反应使局部产生的氧自由基大量堆积,损伤脊髓血管内皮细胞,

进而引发血栓,导致缺血性损伤和水肿。该模型能保持硬脊膜完整性,甚至不必切开皮肤,激光足以穿透脊背表面,但应注意防止光的热效能对脊髓的直接灼伤。Jang 等<sup>[24]</sup>采用孟加拉玫瑰红制备 SCI 模型,用于研究金属酶类在 SCI 过程中的作用;该模型制备中使用一种冷光,可有效防止脊髓灼伤。

脊髓牵拉性 SCI 模型即双侧椎板切除显露大鼠脊髓,用牵开器向侧方牵拉脊髓,实现水平方向上的脊髓牵拉损伤。选用不同牵拉比率可复制出不同程度的牵拉性 SCI,并能观察到神经电生理改变与行为学功能改变的相关性。

高梁斌等<sup>[25]</sup>结合临床上脊柱后凸畸形矫正过程中脊柱截骨缩短后脊髓受力情况,设计出脊髓纵向压缩性 SCI 模型,以期证实纵向压缩量对脊髓的损伤。

## 4 展望

目前 SCI 研究进展存在两种趋势,一是更趋于微观化,以求了解神经损伤和抗损伤反应的变化规律及其机制;二是更趋于宏观、系统、接近临床实际。随着神经科学、高分子技术、分子生物学、计算机技术及信息科学的发展,SCI 实验模型评价标准也将朝着标准化、量化、系统化、智能化方向发展,而不再局限于神经电生理、病理学、行为学等常规检测,分子生物技术和计算机应用是当前研究重点。由于存在多种变异因素,因此在建立上述 SCI 模型时应尽可能简化操作步骤,使损伤装置及致伤能量能准确、客观、定量,以便复制出具有高度稳定性和可重复性的动物模型。此外,SCI 模型种类繁多,各有优缺点,具体应用中需根据具体实验研究目的和条件作出科学选择。在今后相当长一段时间内,进一步研究和完善 SCI 模型,加深对其机制的理解,并藉此探索各种行为学评价标准<sup>[26]</sup>及治疗最佳途径,有助于推动 SCI 研究不断深入,减轻 SCI 患者功能障碍,改善生活质量,最终使 SCI 后功能重建成为现实。

## 参考文献

- 1 Ronsyn MW, Berneman ZN, van Tendeloo VF, et al. Can cell therapy heal a spinal cord injury? *Spinal Cord*, 2008, 46(8):532-539
- 2 吴端生. 现代实验动物学技术[M]. 第1版, 化学工业出版社: 北京, 2007: 232-234
- 3 Seki T, Hida K, Tada M, et al. Graded contusion model of the mouse spinal cord using a pneumatic impact device. *Neurosurgery*, 2002, 50(5):1075-1081
- 4 Yezierski RP. Spinal cord injury: a model of central neuropathic pain. *Neurosignals*, 2005, 14(4):182-193
- 5 Khan M, Griebel R. Acute spinal cord injury in the rat: comparison of three experimental techniques. *Can J Neurol Sci*, 1983, 10(3):161-165
- 6 Falconer JC, Narayana PA, Bhattacharjee M, et al. Characterization of an experimental spinal cord injury model using waveform and morphometric analysis. *Spine(Phila Pa 1976)*, 1996, 21(1):104-112
- 7 Iwanami A, Yamane J, Katoh H, et al. Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: the common marmoset. *J Neurosci Res*, 2005, 80(2):172-181
- 8 Fernandez-Martos CM, Gonzalez P, Rodriguez FJ. Acute leptin treatment enhances functional recovery after spinal cord injury. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35594
- 9 Lu M, Quan Z, Liu B, et al. Establishment and assessment of the mouse model for spinal cord injury. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2008, 22(8):933-938
- 10 Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *AMA Arch Neurol Psychiatry*, 1953, 70(6):813-819

- 11 Ushio Y, Posner R, Posner JB, et al. Experimental spinal cord compression by epidural neoplasm. *Neurology*, 1977, 27(5):422-429
- 12 Rivlin AS, Tator CH. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol*, 1978, 10(1):38-43
- 13 Fleming JC, Bailey CS, Hundt H, et al. Remote inflammatory response in liver is dependent on the segmental level of spinal cord injury. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 72(5):1194-1201
- 14 Esposito E, Impellizzeri D, Mazzon E, et al. The NAMPT inhibitor FK866 reverts the damage in spinal cord injury. *J Neuroinflammation*, 2012, 9:66
- 15 Sheng H, Wang H, Homi HM, et al. A no-laminectomy spinal cord compression injury model in mice. *J Neurotrauma*, 2004, 21(5):595-603
- 16 Takahashi N, Yabuki S, Aoki Y, et al. Pathomechanisms of nerve root injury caused by disc herniation: an experimental study of mechanical compression and chemical irritation. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2003, 28(5):435-441
- 17 Uchida K, Baba H, Maezawa Y, et al. Progressive changes in neurofilament proteins and growth-associated protein-43 immunoreactivities at the site of cervical spinal cord compression in spinal hyperostotic mice. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2002, 27(5):480-486
- 18 Cho DC, Cheong JH, Yang MS, et al. The effect of minocycline on motor neuron recovery and neuropathic pain in a rat model of spinal cord injury. *J Korean Neurosurg Soc*, 2011, 49(2):83-91
- 19 Munro KM, Perreau VM, Turnley AM. Differential gene expression in the

- EphA4 knockout spinal cord and analysis of the inflammatory response following spinal cord injury. *PLoS One*, 2012, 7(5):e37635
- 20 杨宝林,刘德明,夏雯涵,等. 两种大鼠急性脊髓切割伤模型的建立. *四川解剖学杂志*, 2006, 14(4):23
- 21 Marsala M, Yaksh TL. Transient spinal ischemia in the rat: characterization of behavioral and histopathological consequences as a function of the duration of aortic occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1994, 14(3):526-535
- 22 伍亚民,王正国,朱佩芳,等. 脊髓缺血损伤模型及行为学的实验研究. *中华创伤杂志*, 2000, 16(3):157-159
- 23 Kim J, Hwang J, Huh J, et al. Acute normovolemic hemodilution can aggravate neurological injury after spinal cord ischemia in rats. *Anesth Analg*, 2012, 114(6):1285-1291
- 24 Jang JW, Lee JK, Kim SH. Activation of matrix metalloproteinases-9 after photothrombotic spinal cord injury model in rats. *J Korean Neurosurg Soc*, 2011, 50(4):288-292
- 25 高梁斌,廖维宏,胡文辉,等. 脊髓纵向压缩过程中脊髓诱发电位、血流量和微循环变化. *中国脊柱脊髓杂志*, 1992, 2(5):209-214
- 26 Sedy J, Urdzikova L, Jendelova P, et al. Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats. *Neurosci Biobehav Rev*, 2008, 32(3):550-580  
(收稿:2012-08-10; 修回:2012-08-31)  
(本文编辑:翁洁敏)

(上接第 391 页)

- 17 Xu Y, Ao YF. Histological and biomechanical studies of inter-strand healing in four-strand autograft anterior cruciate ligament reconstruction in a rabbit model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2009, 17(7):770-777
- 18 Yoshikawa T, Tohyama H, Enomoto H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in patellar tendon grafts in the early phase after anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2006, 14(9):804-810
- 19 Petersen W, Unterhauser F, Pufe T, et al. The angiogenic peptide vascular endothelial growth factor (VEGF) is expressed during the remodeling of free tendon grafts in sheep. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2003, 123(4):168-174
- 20 Weiler A, Peine R, Pashmineh-Azar A, et al. Tendon healing in a bone tunnel. Part I: Biomechanical results after biodegradable interference fit fixation in a model of anterior cruciate ligament reconstruction in sheep. *Arthroscopy*, 2002, 18(2):113-123
- 21 Ng GY, Oakes BW, Deacon OW, et al. Long-term study of the biochemistry and biomechanics of anterior cruciate ligament-patellar tendon autografts in goats. *J Orthop Res*, 1996, 14(6):851-856
- 22 Rougraff BT, Shelbourne KD. Early histologic appearance of human patellar tendon autografts used for anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 1999, 7(1):9-14
- 23 Zaffagnini S, de Pasquale V, Marchesini-Reggiani L, et al. Neoligamentization process of BTPB used for ACL graft: histological evaluation from 6 months to 10 years. *Knee*, 2007, 14(2):87-93
- 24 Rougraff B, Shelbourne KD, Gerth PK, et al. Arthroscopic and histologic analysis of human patellar tendon autografts used for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*, 1993, 21(2):277-284
- 25 Stener S, Ejerhed L, Movin T, et al. The reharvested patellar tendon has the potential for ligamentization when used for anterior cruciate ligament revision surgery. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2012, 20(6):1168-1174
- 26 Ntoulia A, Papadopolou F, Ristanis S, et al. Revascularization process of the bone-patellar tendon-bone autograft evaluated by contrast-enhanced magnetic resonance imaging 6 and 12 months after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*, 2011, 39(7):1478-1486
- 27 Falconiero RP, DiStefano VJ, Cook TM. Revascularization and ligamentization of autogenous anterior cruciate ligament grafts in humans. *Arthroscopy*, 1998, 14(2):197-205
- 28 Chun CH, Han HJ, Lee BC, et al. Histologic findings of anterior cruciate ligament reconstruction with Achilles allograft. *Clin Orthop Relat Res*, 2004, 421:273-276
- 29 Tonin M, Saciri V, Veselko M, et al. Progressive loss of knee extension after injury. Cyclops syndrome due to a lesion of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med*, 2001, 29(5):545-549
- 30 Crawford R, Walley G, Bridgman S, et al. Magnetic resonance imaging versus arthroscopy in the diagnosis of knee pathology, concentrating on meniscal lesions

- and ACL tears: a systematic review. *Br Med Bull*, 2007, 84:5-23
- 31 Marumo K, Saito M, Yamagishi T, et al. The "ligamentization" process in human anterior cruciate ligament reconstruction with autogenous patellar and hamstring tendons: a biochemical study. *Am J Sports Med*, 2005, 33(8):1166-1173
- 32 Tohyama H, Yoshikawa T, Ju YJ, et al. Revascularization in the tendon graft following anterior cruciate ligament reconstruction of the knee: its mechanisms and regulation. *Chang Gung Med J*, 2009, 32(2):133-139
- 33 Lee BI, Kwon SW, Kim JB, et al. Comparison of clinical results according to amount of preserved remnant in arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction using quadrupled hamstring graft. *Arthroscopy*, 2008, 24(5):560-568
- 34 Reider B, Arcand MA, Diehl LH, et al. Proprioception of the knee before and after anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy*, 2003, 19(1):2-12
- 35 Gohil S, Annear PO, Breidahl W. Anterior cruciate ligament reconstruction using autologous double hamstrings: a comparison of standard versus minimal debridement techniques using MRI to assess revascularisation. A randomised prospective study with a one-year follow-up. *J Bone Joint Surg Br*, 2007, 89(9):1165-1171
- 36 Ahn JH, Lee SH, Choi SH, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of anterior cruciate ligament reconstruction using quadrupled hamstring tendon autografts: comparison of remnant bundle preservation and standard technique. *Am J Sports Med*, 2010, 38(9):1768-1777
- 37 Dhillon MS, Bali K, Vasistha RK. Immunohistological evaluation of proprioceptive potential of the residual stump of injured anterior cruciate ligaments(ACL). *Int Orthop*, 2010, 34(5):737-741
- 38 Xie GM, Huang Fu XQ, Zhao JZ. The effect of remnant preservation on patterns of gene expression in a rabbit model of anterior cruciate ligament reconstruction. *J Surg Res*, 2012, 176(2):510-516
- 39 Vogrin M, Ruprecht M, Dinevski D, et al. Effects of a platelet gel on early graft revascularization after anterior cruciate ligament reconstruction: a prospective, randomized, double-blind, clinical trial. *Eur Surg Res*, 2010, 45(2):77-85
- 40 Sanchez M, Anita E, Azofra J, et al. Ligamentization of tendon grafts treated with an endogenous preparation rich in growth factors: gross morphology and histology. *Arthroscopy*, 2010, 26(4):470-480
- 41 Figueroa D, Melean P, Calvo R, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of the integration and maturation of semitendinosus-gracilis graft in anterior cruciate ligament reconstruction using autologous platelet concentrate. *Arthroscopy*, 2010, 26(10):1318-1325
- 42 Papatheodorou LK, Malizos KN, Poultsides LA, et al. Effect of transosseous application of low-intensity ultrasound at the tendon graft-bone interface healing: gene expression and histological analysis in rabbits. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35(4):576-584

(收稿:2012-06-09; 修回:2012-09-13)

(本文编辑:翁洁敏)