

·实验研究 Experimental research·

大鼠食管支架置入术后再狭窄模型构建及观察

周 春, 周卫忠, 刘 圣, 张金星, 施海彬

【摘要】 目的 探讨大鼠食管支架置入及术后食管良性增生性狭窄模型构建的可行性和安全性。
方法 实验使用定制的自膨式金属直筒支架(直径 5 mm, 长 15 mm), 其中部两侧各有一外突倒刺用作固定, 防止滑脱移位。12 只健康 Sprague-Dawley 大鼠随机分成 A 组(空白对照组)和 B 组(支架置入组), 每组 6 只; B 组大鼠食管内置入支架, 分别于置入即刻、1 周、4 周作食管造影。4 周后处死所有大鼠, 取 A 组正常食管组织及 B 组支架部位食管组织作大体形态、光镜等病理学分析。
结果 B 组食管内支架置入均获成功, 术后即刻、1 周、4 周复查造影均未发现食管内支架移位, 手术及随访期间无严重并发症发生。与 A 组相比, 4 周后 B 组复查造影显示支架段食管增生导致食管狭窄, 取出支架部位食管段肉眼见管腔明显狭窄, 光镜下呈典型良性增生样表现。
结论 采用大鼠构建食管支架置入后再狭窄模型安全、可行, 带倒刺食管支架能够明显降低支架置入后移位发生率。

【关键词】 大鼠; 食管支架; 再狭窄; 动物模型

中图分类号: R571.1 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2017)-02-0157-04

The establishment of esophageal re-stenosis model by using esophageal stent implantation: observation in experimental rats ZHOU Chun, ZHOU Weizhong, LIU Sheng, ZHANG Jinxing, SHI Haibin. Department of Interventional Radiology, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu Province 210029, China

Corresponding author: LIU Sheng, E-mail: liusheng@njmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To evaluate the feasibility and safety of establishing benign proliferative esophageal stenosis model by using stent implantation in experimental rats. **Methods** A customized self-expanding, metallic and straight tubular stent was used in this experiment (5 mm in diameter and 15 mm in length), on both sides at the stent's middle part there was a protruding barb that was used as a fixation device. Twelve healthy Sprague Dawley (SD) rats were randomized divided into group A (blank control group) and group B (stent implantation group), with 6 rats in each group. Esophageal stent implantation was employed in the rats of group B, and esophageal radiography was separately performed immediately, one and 4 weeks after stent implantation. All the experimental rats were sacrificed 4 weeks after stent implantation. The normal esophageal tissue of the rats in group A and the esophageal tissue at stent site of the rats in group B were collected and sent for pathological examinations, including gross morphology, light microscopy, etc. **Results** Successful stent implantation was achieved in all rats of group B, and the esophageal radiography performed immediately, one and 4 weeks after stent implantation showed no esophageal stent displacement; no severe complications occurred during the operation or follow-up period. Compared with group A, esophageal radiography reexamination performed 4 weeks after stent implantation in group B revealed that esophageal stricture at stent segment, caused by benign tissue hyperplasia, could be observed. The esophageal stent segment was taken out, its lumen was obviously narrowed under gross observation, and typical benign hyperplasia could be seen under optical microscope examination. **Conclusion** Using esophageal stent implantation to establish esophageal stenosis model is safe and feasible in experimental rats. The use of esophageal stent with barbs can significantly reduce the incidence of stent displacement. (J Intervent Radiol, 2017, 26: 157-160)

【Key words】 rat; esophageal stent; restenosis; animal model

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2017.02.014

作者单位: 210029 南京医科大学第一附属医院介入放射科

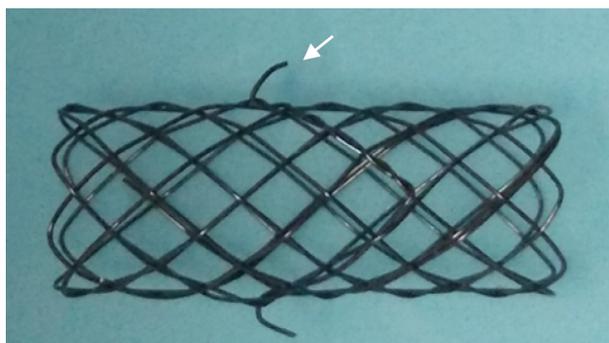
通信作者: 刘 圣 E-mail: liusheng@njmu.edu.cn

近年食管支架置入术治疗食管良恶性狭窄已取得良好临床效果,但术后再狭窄是最常见并发症之一。目前国内研究食管支架置入术后再狭窄动物模型多用犬、家兔及猪构建^[1-5],存在体型较大、不易操作且实验成本高等不足。大鼠体积小、可操作性强、应用范围广,国外已用于食管狭窄研究^[6]。从病理机制上研究术后再狭窄,大鼠在可供选择药物和抗体种类、数量方面具明显优势。本实验初步探索食管支架置入及术后食管良性增生性狭窄大鼠模型构建的可行性和安全性,为进一步实验研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与器械

选择健康清洁级 Sprague-Dawley 大鼠 12 只,雌雄不限,体重 300~350 g,由南京医科大学实验动物中心提供。实验动物处置均符合国家科委《实验动物管理条例》。实验器械包括南京微创医学公司按实验要求定制的自膨式镍钛合金直筒食管支架(图 1)、4 F 透明长鞘管及其直径 1 mm 长推杆、直径 0.889 mm 超滑泥鳅导丝及全套手术器械、全套常规病理试剂及 Olympus 组织显微镜。



注:支架金属丝直径 0.127 mm,支架完全扩张时直径 5 mm,长度 15 mm,上下管径一致;支架中部两侧各有 1 根长 1.3 mm 倒刺,与支架长轴呈 58°,朝向支架尾端,以防止支架移位

图 1 定制的自膨式镍钛合金直筒食管支架

1.2 食管支架动物模型制作

12 只实验大鼠由计算机随机分成 A 组(空白对照组)和 B 组(支架植入组),每组 6 只。动物禁食 4 h 后,用戊巴比妥按 40 mg/kg 进行腹腔麻醉,然后将其固定在 DSA 手术台上。透视下大鼠经自制咬口器将导引导丝前端由食管送至胃腔,固定导丝并沿导丝送入 6 F 外鞘管至食管中段(外鞘管头端约平主动脉弓水平);退出导丝,经外鞘管注入少量稀释对比剂作食管造影;造影后 A 组动物正常复苏,B 组则采用推杆将支架装载器内支架推送入外鞘管

内,透视下将支架远端推送至与外鞘管头端齐平,固定推杆,回撤外鞘管释放支架在食管中段水平;经外鞘管再次注入少量稀释对比剂显示支架开放程度与食管位置关系。术毕所有实验大鼠统一饲养于动物房,术后即刻、1 周、4 周复查食管造影,以铅尺为参照物测量食管支架段上、中、下 3 部分最狭窄处直径,取平均值用于评估食管支架置入术后狭窄程度。随访期间密切关注实验大鼠一般情况及体重、饮食变化。

1.3 病理分析

4 周后处死所有实验大鼠,开胸取 A 组正常食管组织及 B 组支架段食管组织,进行病理分析。按纵轴方向切开 B 组支架部位食管,观察食管壁大体形态学变化;测量食管内径及管壁厚度,与 A 组正常食管作对比;4%甲醛液固定 24 h 后将支架食管段等份切成上、中、下 3 段,将标本上支架丝小心移除,按常规洗涤、脱水、透明、石蜡包埋、切片和苏木精-伊红(HE)染色,Olympus 组织显微镜(1.25、20、40 倍)观察评估食管壁炎性细胞、成纤维细胞和食管上皮细胞增生情况。

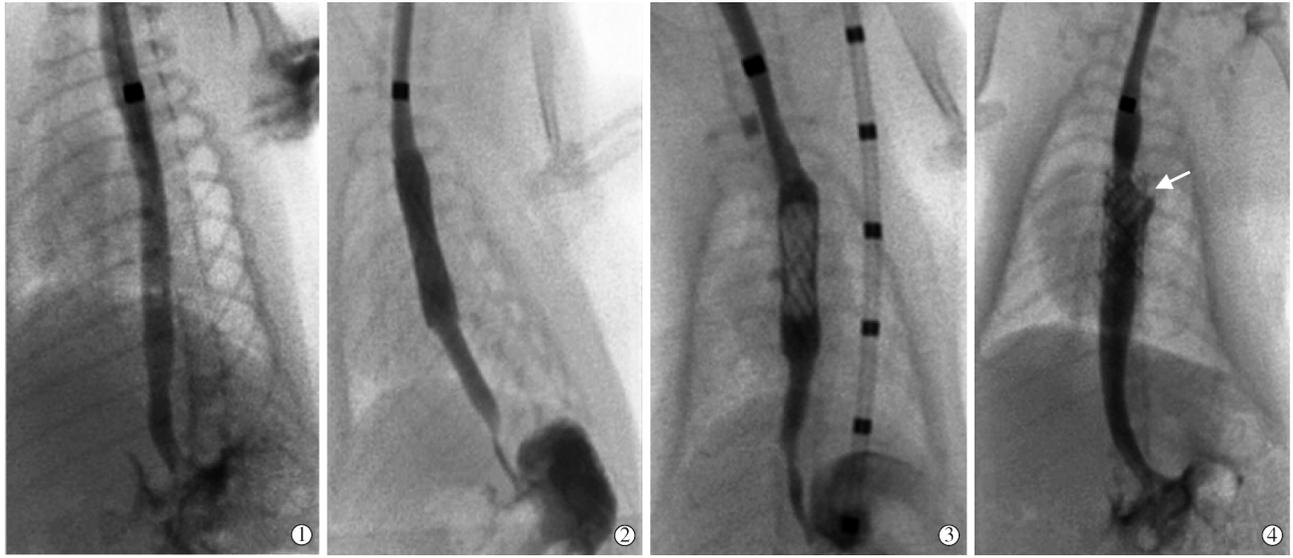
2 结果

所有实验大鼠术后第 1 天禁食,第 2、3 天流质饮食,1 周后进食固体食物。B 组大鼠支架术后 4 周内饮食均大致正常,未出现反复呕吐及梗噎等表现。4 周后复测实验大鼠体重无明显减轻。

术中造影示所有动物黏膜走行正常,食管通畅,直径 3~4 mm,手术操作均顺利,术中无并发症发生。B 组大鼠支架置入后即刻食管造影显示支架段宽于上下食管,支架开放良好,术后 1 周造影显示支架开放通畅,未见明显移位,术后 4 周造影显示食管内对比剂局部滞留,支架段组织增生导致局部食管段显著再狭窄,支架未见明显移位(图 2);支架段管腔内径变化见表 1,管壁随时间延长逐渐增厚,管腔内径逐渐减小,以支架上段最明显。

肉眼观察 B 组大鼠支架段食管标本,可见支架深嵌于食管壁内,支架段食管 3 个横断面标本显示食管内壁增生明显,管腔明显狭窄,以支架上、下两段为著(图 3)。

病理检查显示,术后 4 周支架段食管组织鳞状上皮细胞单纯性增生,细胞圆形或卵圆形,胞质嗜酸,核深染,部分细胞角化,有大量炎性细胞浸润;黏膜下淋巴细胞浸润,成纤维细胞增殖明显,大量纤维组织增生,肌层萎缩变薄(图 4)。



①术前食管造影;②③支架置入即刻、1周食管造影示支架开放良好;④术后4周造影示支架段组织增生导致再狭窄,以支架上段最明显(箭头)

图2 B组大鼠食管支架置入前后食管造影

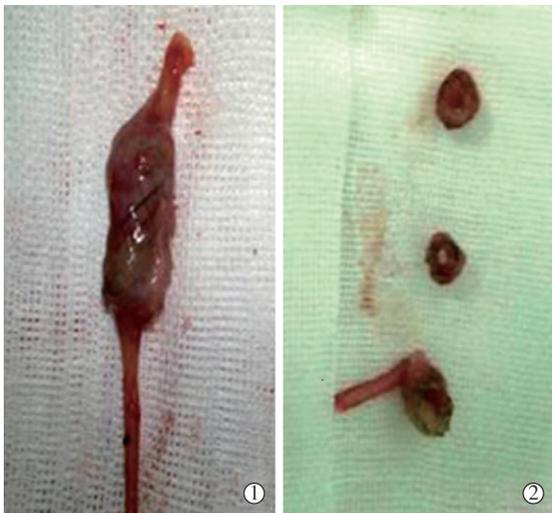
表1 B组支架置入术后支架段管腔内径变化 mm, $\bar{x} \pm s$

时间	上段	中段	下段	3段平均值
即刻	4.4±0.1	4.2±0.2	4.6±0.2	4.4±0.2
1周	4.2±0.1	4.1±0.1	4.4±0.2	4.2±0.2
4周	3.3±0.3	3.7±0.3	4.0±0.2	3.7±0.4

3 讨论

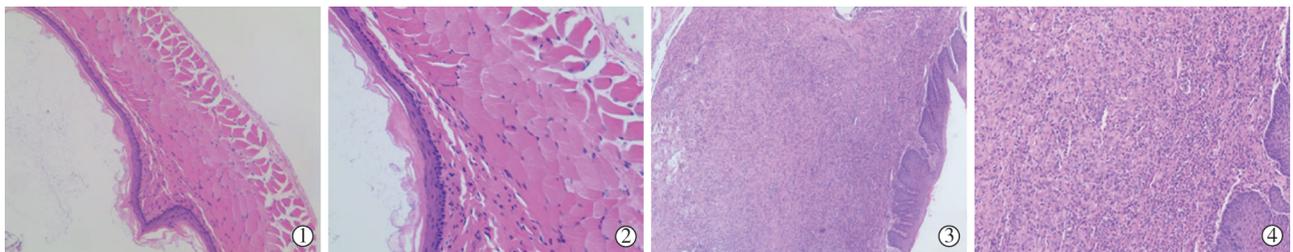
食管支架置入术是治疗食管良恶性狭窄的常用方法。但术后支架对食管壁径向力压迫,会造成食管壁缺血性损伤,引起良性组织增生向支架端口边缘外、支架网眼内生长,导致食管再狭窄^[7-9]。尽管部分覆膜或全覆膜食管支架可减少支架网眼组织内生长,但支架边缘良性组织增生依旧会导致再狭窄^[10]。Kim等^[11]报道采用全覆膜金属支架治疗顽固性良性食管狭窄,术后组织增生引起患者吞咽困难症状达到35%,平均发生时间为49d。类似文献报道发生率也在20%~30%^[12]。这是食管支架成形术后重要并发症之一,也是临床治疗难题。

为研究食管支架置入术后再狭窄机制,需要构建一切实可行、简单易操作的食管支架置入后组织增生动物模型。本实验研究提示,选用大鼠作为食管支架置入后再狭窄研究动物模型,在技术上是安全和可行的。大鼠与人虽归不同种属,食管直径相较于犬、家兔或人要小得多,但在食管解剖生理、疾病发生与转归等方面与人类相似,所获实验结果相



①支架段食管取出后标本;②支架段食管3个横断面示食管内壁增生明显

图3 B组支架置入术后4周大体观



①②正常大鼠食管 HE 染色($\times 10, \times 20$)所示;③④大鼠食管支架置入后4周示食管鳞状上皮细胞、炎性细胞和成纤维细胞增生明显($\times 10, \times 20$)

图4 大鼠食管 HE 染色镜下观察

似,且经济、易购买和管理,是较理想的实验动物。实验过程中,大鼠模型食管支架置入及造影复查的可操作性强,死亡率低,有较高的可重复性。同时由于目前大鼠模型应用广泛,相关药物及抗体较多,也为未来生物学及遗传学研究提供可能。

食管支架置入动物模型构建中支架移位是需要考虑的关键问题之一,目前一般从动物模型或支架结构设计方面防止其发生。宛新建等^[1]报道采用自体阔筋膜移植固定法构建犬食管支架置入后再狭窄模型,即先于犬后腿外侧取阔筋膜,随后手术游离食管壁,置入支架后将阔筋膜贴附于置架部位食管外壁,最后用细丝缝合作固定。秦永林等^[2]采用总长 50 mm、主体直径 20 mm 裸支架联合 60 mm 长×15 mm 宽补片外固定法,构建出较理想的比格犬(体重 10~12 kg)食管支架置入后再狭窄模型。这两种物理方法构建的再狭窄模型,均可有效降低支架移位发生率,但也不同程度延长了手术时间,增加了手术操作难度,还会对实验动物造成额外损伤,如食管壁局部创伤性炎症、瘢痕形成等。本实验中食管造影显示正常大鼠食管直径为 3~4 mm,据此置入参考 Kim 等^[6]研究设计的一种带倒刺自膨式食管支架,结果显示所有支架置入后均未发生移位,同时均未发生食管及周围脏器穿孔;考虑这主要归因于合适并起有效固定作用的倒刺长度和角度。

总之,本实验构建的大鼠食管支架置入后再狭窄模型安全、可行,支架移位率低,可克服传统大动物模型操作麻烦、费用高、相关抗体等生物制剂少之不足,有助于更方便、更深入地开展食管支架再狭窄机制研究,也为新型药物洗脱及可降解支架等研究打下良好基础^[13-14]。

[参 考 文 献]

[1] 宛新建,李兆申,许国铭.自体阔筋膜移植固定法制作犬食管

支架术后再狭窄模型[J].第二军医大学学报,1998,19:481-482.

- [2] 秦永林,朱光宇,柏志斌,等.食管支架置入后良性增生性狭窄动物模型的建立及观察[J].中华消化内镜杂志,2013,30:634-637.
- [3] 荆 剑,甘 振,朱光宇,等.预防良性再狭窄食管支架的动物实验研究[J].中华消化内镜杂志,2014,31:37-41.
- [4] 狄镇海,王永忠,王晓川,等.食管支架在兔食管中的实验研究[J].介入放射学杂志,2003,12:298-300.
- [5] 颜 波,施瑞华,冯亚东,等.新型可降解食管支架动物实验研究[J].介入放射学杂志,2016,25:155-159.
- [6] Kim EY, Shin JH, Jung YY, et al. A rat esophageal model to investigate stent-induced tissue hyperplasia[J]. J Vasc Interv Radiol, 2010, 21: 1287-1291.
- [7] Jeon SR, Eun SH, Shim CS, et al. Effect of drug-eluting metal stents in benign esophageal stricture: an in vivo animal study [J]. Endoscopy, 2009, 41: 449-456.
- [8] 朱光宇,滕举军,郭金和,等.支架端改型防治食管支架术后再狭窄的临床应用[J].介入放射学杂志,2011,20:440-443.
- [9] Mayoral W, Fleischer D, Salcedo J, et al. Nonmalignant obstruction is a common problem with metal stents in the treatment of esophageal cancer[J]. Gastrointest Endosc, 2000, 51: 556-559.
- [10] Zhou WZ, Song HY, Park JH, et al. Stent placement in benign esophageal strictures[J]. Gastrointest Interv, 2015, 4: 69-75.
- [11] Kim JH, Song HY, Choi EK, et al. Temporary metallic stent placement in the treatment of refractory benign esophageal strictures: results and factors associated with outcome in 55 patients[J]. Eur Radiol, 2009, 19: 384-390.
- [12] Eloubeidi MA, Talreja JP, Lopes TL, et al. Success and complications associated with placement of fully covered removable self-expandable metal stents for benign esophageal diseases (with videos)[J]. Gastrointest Endosc, 2011, 73: 673-681.
- [13] 朱海东,郭金和,滕举军.食管支架成形术治疗食管狭窄现状及研究进展[J].介入放射学杂志,2011,20:494-498.
- [14] 杨 凯,朱悦琦,程英升.食管良性狭窄药物镁合金可降解支架研究现状及展望[J].介入放射学杂志,2015,24:452-456.

(收稿日期:2016-07-15)

(本文编辑:边 佶)