

## ·综述 General review·

## 主动脉夹层动物模型构建方法研究现状

侯钦茂, 冯家烜, 周建, 景在平, 冯睿

**【摘要】** 主动脉夹层是一种致死致残率极高的危急疾病, 患者出现濒死样剧烈胸背部疼痛应怀疑此病可能, CT 或 MRI 是诊断该病的可靠方法。近年腔内治疗已成为 Stanford B 型主动脉夹层首选治疗方法, 部分无法开放手术治疗的 Stanford A 型夹层患者也可采用腔内治疗方法。为了改进腔内治疗方法、开发新器械、研究主动脉夹层发病机制, 需要构建出稳定的动物模型。该文就主动脉夹层动物模型构建研究现状作一综述。

**【关键词】** 动物模型; 主动脉; 夹层; 腔内治疗

中图分类号: R528.1 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2017)-05-0471-04

**The establishment of animal models of Stanford type B aortic dissection: its research status** HOU Qinmao, FENG Jiaxuan, ZHOU Jian, JING Zaiping, FENG Rui. Department of Vascular Surgery, Affiliated Changhai Hospital, Second Military University, Shanghai 200000, China

Corresponding author: FENG Rui, E-mail: fengrui1588@qq.com

**【Abstract】** Aortic dissection is a dangerous and critical disease with extremely high mortality and disability rate. In clinical practice, aortic dissection should be highly suspected when patients developed dying-like severe chest and back pain. CT and MRI have been the reliable tools for diagnosing aortic dissection. In recent years, endovascular therapy has become the preferred treatment for Stanford type B aortic dissection, and some patients with Stanford type A dissection who cannot receive open surgery may also be treated with endovascular therapy. In order to improve endovascular treatment, to develop new instruments and to study the pathogenesis of aortic dissection, the preparation of stable and reliable animal models is very necessary. This paper aims to make a brief review about the research status concerning the preparation of animal models of aortic dissection. (J Intervent Radiol, 2017, 26: 471-474)

**【Key words】** animal model; aorta; dissection; endovascular therapy

主动脉夹层是血管系统疾病中一种非常危险危急的动脉扩张性疾病, 一般是指血液通过主动脉时血管内膜局部撕裂, 血液经破口进入中膜或中外膜交界并沿长轴剥离扩展, 使得主动脉分离为真假两腔的一种病理性改变, 而根据破口位置可分为 Stanford A 型和 B 型, 其发生发展与血流动力学改变密切相关<sup>[1-2]</sup>。该病致死致残率极高, 可造成主动脉破裂死亡, 或因远端重要脏器缺血引起严重并发症<sup>[3]</sup>。近年来, 腔内治疗方法以创伤小、手术成功率较高、并发症较少等优点, 成为 B 型主动脉夹层的首选治疗方法。为了研究改进腔内治疗方法, 提

高治疗水平, 开发新器械, 需要构建出一种可重复性好、假腔通畅率高、维持时间长的动物模型。

## 1 外科手术构建主动脉夹层模型

### 1.1 主动脉夹层动物模型溯源

主动脉夹层模型构建最早可追溯到 1959 年, Blanton 等<sup>[4]</sup>报道先阻断实验犬近端升主动脉, 切开外膜至中膜层, 分离出中膜层, 在此平面向近端分离 1 cm, 远端分离 2~3 cm, 横向扩张至主动脉周长 1/2, 阻断血流后切开内膜, 将内膜片缝合在侧壁上, 为防止假腔血栓化, 术后实验犬需服用华法林抗凝; 结果显示 13 只实验犬中 6 只假腔血栓化, 余 7 只破裂死亡。该方法可构建出类似壁间血肿的夹层, 夹层假腔较窄, 距离较短, 容易血栓化。作为夹层模型构建的先驱, Blanton 等已构建出具有相当重

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2017.05.022

作者单位: 200433 上海 第二军医大学附属长海医院血管外科

通信作者: 冯睿 E-mail: fengrui1588@qq.com

要意义的模型,而后在相当长一段时间内并未取得较大突破,只是在此基础上有些许改进,如 Fujii 等<sup>[5]</sup>报道的改进是以手揉搓增加假腔长度,但经 12 周观察仅有 2 头实验猪存活,干预段已有明显假腔。

### 1.2 动脉壁间注射空气法

Pappas 等<sup>[6]</sup>报道在主动脉分离后,尝试在动脉壁中层注射空气诱导夹层,扩张假腔,结果表明降主动脉相对于升主动脉和弓上血管较难扩张出夹层。一些夹层模型研究也证实,主动脉分层在升主动脉段较为明显,在降主动脉段却不甚明显,构建的 Stanford B 型夹层成功率可达 66%,且可存活较长时间<sup>[7-8]</sup>。

### 1.3 内膜双角缝合法

Cui 等<sup>[9]</sup>报道,麻醉开胸显露胸主动脉后环形切开外膜、中膜外层约 1/2 管壁周径,找到中膜间隙层,用特制剥离子分别向下、侧、上方分离,将已切开内膜下唇双角部分约 1/3 长度缝合于侧壁全层,使间隙裂口持续存在,保证血流进入假腔,再将已切开外膜及部分中膜缝合;12 只实验犬中 8 只构建出较为明显的真假腔,成功率 66.7%。该方法可制造出明显的近端裂口,近端裂口不会闭合,假腔不易血栓化,但近端裂口较大易压迫真腔,远端脏器血供易受影响。该模型适用于夹层自然演变与各种手术器械创新和研究开发等。

### 1.4 机械扩张加肾上腺素冲击法

肾上腺素是一种理想的可快速升高血压的药物,夹层在高压波动血流冲击下,立即向远端和轴向发生明显扩增,夹层直径亦立即明显增大,夹层假腔包绕真腔的形态十分典型和显著。Li 等<sup>[10]</sup>报道静脉注射肾上腺素构建长段夹层,实验动物构建全部成功,撕裂长度可达 17 cm;未用肾上腺素的对照组动物未发生夹层。Wang 等<sup>[11]</sup>报道在开胸分离出主动脉中膜层后静脉注射肾上腺素,16 只实验犬中 12 只成功建模,成功率 75%。Tang 等<sup>[12]</sup>也报道采用该方法建模,12 只实验犬中成功 9 只,成功率 75%。肾上腺素不失为夹层模型构建中一种效果较好药物,但应控制其剂量,避免血压过度升高致使夹层撕裂,导致动物死亡。

### 1.5 弹力蛋白酶联合肾上腺素法

主动脉夹层发生与血压变化密切相关,尤其是波动性血压变化<sup>[13-14]</sup>。血压波动脉冲血流可造成主动脉中膜层分离、中膜平滑肌细胞损伤,最终导致中膜板层囊性坏死、中膜结构性损害,使得夹层易发生。因此,理论上可通过血压变化影响夹层发生。

虽然可采用外科方法将主动脉管壁逐层分离,但主动脉管壁弹力蛋白层回缩作用对抗夹层扩张力,易使形成的夹层模型再次闭合。严彩萍<sup>[15]</sup>采用肾上腺素联合弹力蛋白酶构建健康家猪夹层,12 头猪中仅 3 头夹层形成,成功率 25%。该方法创新性较强,结果却不佳,可能与操作有关。如何在制作夹层模型时适当加入药物,更加贴合发病机制,值得借鉴与参考。

### 1.6 升主动脉夹层模型构建

近年来腔内微创治疗技术及器械发展迅速,升主动脉不再是腔内微创治疗禁区。现阶段腔内微创治疗适用于不宜开放手术的高龄、伴发严重并发症或循环不稳定的升主动脉夹层患者<sup>[16-17]</sup>。Pappas 等<sup>[6]</sup>构建 Stanford A 型主动脉夹层,但死亡率较高,30 d 内死亡率可达 88%。Qin 等<sup>[18]</sup>报道构建比格犬升主动脉夹层,正中开胸、阻断主动脉后切开主动脉外膜和部分中膜层,钝性分离中膜层,在内膜片上剪开另一破口联通真假腔,再将内膜片以 6-0 Prolene 线缝至对侧主动脉壁上,结果显示模型较为稳定,可用于研究夹层发病机制。升主动脉血流动力学和降主动脉有较大区别,如何保证动物在构建模型后存活且假腔不闭合,值得研究。

## 2 腔内方法构建主动脉夹层模型

采用腔内方法制作主动脉夹层动物模型的优势在于更符合夹层发病机制,因为腔内方法一般均直接破坏内膜而非由外膜进入到中膜层,更加微创,可避免开胸,避免使用抗生素、呼吸机等设备,一定程度上可增加成功率。但微创方法必须保证破坏至中膜层,需要相当的操作经验和技巧,破坏深度不够可能不会形成夹层,破坏过深则可能导致管壁破裂,致使动物死亡、实验失败。

### 2.1 早期肝穿针颈动脉法

Razavi 等<sup>[19]</sup>最早采用腔内方法制作夹层模型,Holger 等<sup>[20]</sup>借鉴该方法,选择体重 60~100 kg 家猪,10 F 鞘导入左侧颈总动脉,6 F 猪尾导管作主动脉造影,交换 9 F Colapinto 穿刺针,先戳入主动脉壁内,手推对比剂进入内膜下,然后将导丝置入内膜破口内,手推更多对比剂,交换猪尾导管将肝素注入夹层内,夹层扩张至降主动脉乃至腹主动脉,同时出现远端裂口,夹层构建成功;15 头实验猪中 11 头建模成功,成功率为 73%。

### 2.2 金属倒钩刺破内膜法

肖亮等<sup>[21]</sup>采用自制金属倒钩构建犬夹层模型

(金属倒钩系 0.038 英寸不锈钢丝,将头端折曲接近 180°,用砂轮打磨反折部分钢丝至扁刀状),透视下将金属倒钩通过 12 F 鞘管送至降主动脉,旋转倒钩使其与血管内壁紧密接触,同时回撤倒钩,遇到阻力时停止,维持不动;将导丝及导管移至倒钩头端,捻转导丝,然后跟进导管,注射对比剂;10 只实验犬中 4 只建模成功,成功率仅 40%。除实验方法及操作原因外,犬血管相对猪较细,成功率低或许也与此相关。

### 2.3 肾下腹主动脉法

Okuno 等<sup>[22]</sup>自制导管构建夹层模型,将肝穿针套装中导管头端塑形成铲状,将其通过股动脉鞘送至肾下腹主动脉,穿刺内膜,0.035 英寸软导丝逆行成襻上行,通过导管注射对比剂扩张假腔,然后用肝穿针返回真腔;14 头实验猪中成功建模 11 头,成功率为 78%,构建假腔长度较短,大部分 < 10 cm,但分层较为明显,组织学显示主动脉管壁外 1/3 和内 2/3 分离。这是一种逆行构建夹层方法,效果较理想,腹主动脉血管壁相对胸降主动脉较薄,分层不甚明显,故操作难度较大。

## 3 小动物主动脉夹层模型构建

小动物模型不同于大动物模型,常用于发病机制方面研究。小动物血管较细,不易操作,但体型较小,生命周期相对较短,有其得天独厚优势,通过药物喂养构建模型即为大动物所不能完成。

### 3.1 $\beta$ -氨基丙腈饮食控制诱导法

$\beta$ -氨基丙腈是一种可抑制弹性蛋白和胶原交联的赖氨酰氧化酶因子<sup>[23]</sup>。Nagashima 等<sup>[24]</sup>报道采用饲料中加入 0.25% $\beta$ -氨基丙腈方法成功构建大鼠主动脉夹层模型,成功率为 64.7%。张雷等<sup>[25]</sup>用含 0.25% $\beta$ -氨基丙腈饲料喂养幼年期大鼠,9 只实验鼠全部死于夹层破裂,平均死亡时间是  $\beta$ -氨基丙腈处理后(31±7) d;大鼠尸检可见胸腔血凝块。

### 3.2 血管紧张素-Ⅱ诱导法

血管紧张素-Ⅱ(Ang-Ⅱ)可激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统,并有促进血管收缩、血管平滑肌细胞增生、引起炎症反应等作用,可介导夹层发生<sup>[26]</sup>。Tieu 等<sup>[27]</sup>选用 7~12 个月龄雄性 C57B1Z6 小鼠,采用植泵方法灌注 Ang-Ⅱ 2 500  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ,6~10 d 后 35%小鼠发生夹层。冯俊波等<sup>[28]</sup>采用腹腔注射 Ang-Ⅱ(4.5 mg/kg,8 h 1 次),20 只实验小鼠中 7 只发生主动脉夹层,成功率为 35%。

### 3.3 $\beta$ -氨基丙腈和 Ang-Ⅱ联合诱导法

单独采用  $\beta$ -氨基丙腈或 Ang-Ⅱ诱导,夹层发生率较低,造模结果不稳定不理想,但两者联合应用的效果良好。Kurihara 等<sup>[29]</sup>报道用含有  $\beta$ -氨基丙腈水喂养 FVB 小鼠 4 周,之后植入 Ang-Ⅱ或去甲肾上腺素微泵,成模率可达 100%。Ren 等<sup>[30]</sup>也证实  $\beta$ -氨基丙腈和 Ang-Ⅱ联合构建夹层模型的成功率可达 100%。

## 4 结语

主动脉夹层动物模型主要用于腔内器械评判及研究开发、技术方法改进、发病机制研究等。动物模型构建要求操作好,技术高,又非常注重细节,每一小细节出现问题均可能致使造模失败。主动脉夹层发病与多种因素,如动脉粥样硬化、波动性高血压、基因缺陷等相关,如果在模型构建中参考更多发病因素,将其加入模型构建,不仅可更加容易地构建出模型,而且该模型也更加符合发病机制和病理生理,意义重大。

### [参考文献]

- [1] 王亮,冯睿,陆清声,等.采用 CT 断层扫描图像构建 DeBakey Ⅲ型主动脉夹层三维血流动力学数值模拟分析模型[J].介入放射学杂志,2010,19:177-178.
- [2] Hagan PG, Nienaber CA, Isselbacher EM, et al. The international registry of acute aortic dissection (IRAD): new insights into an old disease[J]. JAMA, 2000, 283: 897-903.
- [3] Tsai TT, Fattori R, Trimarchi S, et al. Long-term survival in patients presenting with type B acute aortic dissection: insights from the International Registry of Acute Aortic Dissection[J]. Circulation, 2006, 114: 2226-2231.
- [4] Blanton FS Jr, Muller WH Jr, Warren WD. Experimental production of dissecting aneurysms of the aorta[J]. Surgery, 1959, 45: 81-90.
- [5] Fujii H, Tanigawa N, Okuda Y, et al. Creation of aortic dissection model in swine[J]. Jpn Circ J, 2000, 64: 736-737.
- [6] Pappas G, Burquist J. Creation of dissecting thoracic aortic aneurysms in dogs[J]. J Surg Res, 1970, 10: 333-336.
- [7] 王利新.建立犬主动脉夹层模型的初步研究[D].上海:第二军医大学,2005.
- [8] 崔佳森,梅志军,景在平,等.内膜片双角缝合法建立犬 Stanford B 型主动脉夹层动脉瘤模型[J].第二军医大学学报,2007,28:995-998.
- [9] Cui S, Zhuang SJ, Zhang J, et al. Two-end intimal flap suturing method for establishing Stanford B type aortic dissection in a canine model[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2009, 38: 603-607.
- [10] Li M, Luo N, Bai Z, et al. A canine model of multiple organ

- dysfunction following acute type-A aortic dissection[J]. Surg Today, 2012, 42: 876-883.
- [11] Wang LX, Wang YQ, Guo DQ, et al. An experimental model of Stanford type B aortic dissection with intravenous epinephrine injection[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2013, 29: 194-199.
- [12] Tang J, Wang Y, Hang W, et al. Controllable and uncontrollable Stanford type B aortic dissection in canine models[J]. Eur Surg Res, 2010, 44: 179-184.
- [13] 汤敬东, 景在平, 熊江, 等. 波动性高血压与中膜板层变化的动物实验[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21: 604-605.
- [14] 田文. 血压波动性对急性 Stanford B 型主动脉夹层预后的预测价值[D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
- [15] 严彩萍. 主动脉夹层动脉瘤实验动物模型的建立[D]. 上海: 同济大学, 2005.
- [16] Rampoldi V, Trimarchi S, Eagle KA, et al. Simple risk models to predict surgical mortality in acute type A aortic dissection: the International Registry of Acute Aortic Dissection score[J]. Ann Thorac Surg, 2007, 83: 55-61.
- [17] Centofanti P, Flocco R, Ceresa F, et al. Is surgery always mandatory for type A aortic dissection? [J]. Ann Thorac Surg, 2006, 82: 1658-1663.
- [18] Qin C, Zhang H, Gu J, et al. Dynamic monitoring of platelet activation and its role in post-dissection inflammation in a canine model of acute type A aortic dissection[J]. J Cardiothorac Surg, 2016, 11: 86.
- [19] Razavi K, Nishimura E, Slonim S, et al. Percutaneous creation of acute type-B aortic dissection: an experimental model for endoluminal therapy[J]. J Vasc Interv Radiol, 1998, 9: 626-632.
- [20] Holger E, Hilmar K, Kaiser GM, et al. Feasibility of real-time magnetic resonance-guided stent-graft placement in a swine model of descending aortic dissection[J]. Eur Heart J, 2006, 27: 613-620.
- [21] 肖亮, 徐克, 于世平, 等. 经皮经腔内膜剥脱法主动脉夹层模型的制备及影像学评价[J]. 中国医学影像技术, 2006, 22: 532-534.
- [22] Okuno T, Yamaguchi M, Okada T, et al. Endovascular creation of aortic dissection in a swine model with technical considerations[J]. J Vasc Surg, 2012, 55: 1410-1418.
- [23] Tang SS, Trackman PC, Kagan HM. Reaction of aortic lysyl oxidase with beta-aminopropionitrile[J]. J Biol Chem, 1983, 258: 4331-4338.
- [24] Nagashima H, Uto K, Sakomura Y, et al. An angiotensin-converting enzyme inhibitor, not an angiotensin II type-1 receptor blocker, prevents beta-aminopropionitrile monofumarate-induced aortic dissection in rats[J]. J Vasc Surg, 2002, 36: 818-823.
- [25] 张雷, 王亮, 陆华, 等. 主动脉夹层大鼠模型及其力学机制的研究[J]. 中华外科杂志, 2012, 50: 1108-1112.
- [26] Touyz M, Schiffrin L. Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells[J]. Pharmacol Rev, 2000, 52: 639-672.
- [27] Tieu BC, Chang L, Hong S, et al. An adventitial IL-6/MCP1 amplification loop accelerates macrophage-mediated vascular inflammation leading to aortic dissection in mice[J]. J Clin Invest, 2009, 119: 3637-3651.
- [28] 冯俊波, 葛圣林, 刘海渊. 血管紧张素-Ⅱ腹腔注射建立小鼠主动脉夹层动物模型[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30: 399-400.
- [29] Kurihara T, Shimizu-Hirota R, Shimoda M, et al. Neutrophil-derived matrix metalloproteinase 9 triggers acute aortic dissection[J]. Circulation, 2012, 126: 3070-3080.
- [30] Ren W, Liu Y, Wang X, et al.  $\beta$ -aminopropionitrile monofumarate induces thoracic aortic dissection in C57BL/6 mice[J]. Sci Rep, 2016, 6: 28149.

(收稿日期:2016-09-06)

(本文编辑:边 伟)