

· 基础研究 ·

# 球囊导管构建大鼠督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型的研究

谭明生<sup>1</sup>, 齐英娜<sup>2</sup>, 姜良海<sup>1</sup>, 刘楚吟<sup>2</sup>, 王延雷<sup>2</sup>, 王威<sup>2</sup>, 郝庆英<sup>1</sup>, 穆平<sup>1</sup>, 杨峰<sup>1</sup>, 唐向盛<sup>1</sup>

(1. 中日友好医院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

**摘要** 目的:探讨构建大鼠督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型的有效方法。方法:选取 30 只 3 月龄 SPF 级 Wistar 大鼠,随机分为正常组、假手术组和模型组,每组 10 只。正常组不进行处理,其余 2 组大鼠经寰枕间隙置入球囊导管。麻醉苏醒后 24 h,正常组和假手术组大鼠直接进行实验观察;在模型组大鼠的球囊导管末端连接手推压力泵,推注碘海醇注射液加压至 3 bar(1 bar = 100 kPa),持续加压 1 h 后进行实验观察。观察各组大鼠活动情况及体征,采集四诊信息,按照自拟的督脉瘀阻证辨证标准进行中医辨证。对各组大鼠行颈椎 MRI 检查,选择横断位 T2WI 上脊髓受压最严重的层面,测定脊髓最小径和最大径,计算脊髓压迫率(最小径/最大径)。同时采用改良 Tarlov 评分法和 BBB 评分法对假手术组和模型组大鼠的运动功能进行评定。结果:造模后正常组和假手术组大鼠精神状态良好,喜动,活动灵活,皮毛光泽,唇色淡红,耳色淡,爪色淡红;模型组大鼠精神萎靡,蜷缩,活动减少,步态不稳,垂尾,唇色暗红,耳暗红,爪色青紫。按照自拟的辨证标准,模型组属督脉瘀阻证。模型组脊髓压迫率低于假手术组( $0.64 \pm 0.04$ ,  $0.73 \pm 0.04$ ,  $t = 4.672$ ,  $P = 0.000$ )。3 组大鼠 Tarlov 评分、BBB 评分总体比较,组间差异均有统计学意义[( $4.98 \pm 0.18$ )分, ( $4.82 \pm 0.43$ )分, ( $4.17 \pm 0.60$ )分,  $F = 9.408$ ,  $P = 0.001$ ; ( $20.91 \pm 0.23$ )分, ( $21.01 \pm 0.36$ )分, ( $16.10 \pm 0.71$ )分,  $F = 111.516$ ,  $P = 0.000$ ];正常组和假手术组 Tarlov 评分、BBB 评分比较,组间差异均无统计学意义( $P = 0.420$ ;  $P = 0.631$ );模型组 Tarlov 评分、BBB 评分均低于正常组和假手术组( $P = 0.000$ ,  $P = 0.000$ ;  $P = 0.003$ ,  $P = 0.000$ )。结论:经寰枕间隙置入球囊导管并注射造影剂加压,可构建大鼠督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型。

**关键词** 脊髓损伤;督脉瘀阻;颈椎;模型;动物;大鼠, Wistar;球囊导管

**A governor – vessel – blockade – type upper cervical spinal cord injury rat model created using Foley's tube**  
TAN Mingsheng<sup>1</sup>, QI Yingna<sup>2</sup>, JIANG Lianghai<sup>1</sup>, LIU Chuyin<sup>2</sup>, WANG Yanlei<sup>2</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, HAO Qingying<sup>1</sup>, YI Ping<sup>1</sup>, YANG Feng<sup>1</sup>, TANG Xiangsheng<sup>1</sup>

1. China – Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

**ABSTRACT Objective:** To explore the effective method for building a governor – vessel – blockade – type upper cervical spinal cord injury rat model. **Methods:** Thirty 3 – month – old SPF – grade Wistar rats were selected and randomly divided into normal group, sham – operated group and model group, 10 cases in each group. The rats in normal group did not receive any treatment, while the rats in the other two groups were treated by inserting a Foley's tube into atlanto – occipital space. At 24 hours after anesthesia recovery, the rats in normal group and sham – operated group were observed immediately; while in model group the manumotive force – pumps were connected with the tail end of Foley's tube and the iohexol injections were injected into the Foley's tube continuously till the pressure reached 3 bar(1 bar = 100 kPa). One hour later, the experimental observation was performed on the rats of model group. The activities and signs of all the rats were observed and their diagnostic informations were collected and the traditional Chinese medicine(TCM) syndrome differentiation were carried out according to self – made syndrome differentiation standard. The cervical MRI examination were performed on rats in each group and the transverse T2 – weighted MRI on which the most serious compression of spinal cord were found were selected for measuring the minimal and maximal diameters of spinal cord, and then the spinal cord compression ratios( ratio of minimal diameter to maximal diameter of spinal cord) were calculated. The motor function were evaluated by using improved Tarlov scoring method and BBB scoring method in rats of sham – operated group and model group. **Results:** After modeling, the rats in normal group and sham – operated group were in good mental states and liked activities and presented with flexible movement, shiny fur, reddish lips, light – colored ears and reddish paws. The rats in model group were in bad mental states and dislike activities and presented with instability of gait, drooping tail, dull – red lips and ears and livid paws.

基金项目:国家自然科学基金项目(81173423)

通讯作者:谭明生 E-mail: zrtanms@sina.com

According to the self-made syndrome differentiation standard, the TCM symptom complex of rats in model group categorized as governor-vessel-blockade syndrome. The spinal cord compression ratio was lower in model group compared to sham-operated group ( $0.64 \pm 0.04$  vs  $0.73 \pm 0.04$ ,  $t = 4.672$ ,  $P = 0.000$ ). There was statistical difference in Tarlov scores and BBB scores between the 3 groups ( $4.98 \pm 0.18$ ,  $4.82 \pm 0.43$ ,  $4.17 \pm 0.60$  points,  $F = 9.408$ ,  $P = 0.001$ ;  $20.91 \pm 0.23$ ,  $21.01 \pm 0.36$ ,  $16.10 \pm 0.71$  points,  $F = 111.516$ ,  $P = 0.000$ ). There was no statistical difference in Tarlov scores and BBB scores between normal group and sham-operated group ( $P = 0.420$ ;  $P = 0.631$ ). The Tarlov scores and BBB scores were lower in model group compared to normal group and sham-operated group ( $P = 0.000$ ,  $P = 0.000$ ;  $P = 0.003$ ,  $P = 0.000$ ). **Conclusion:** The governor-vessel-blockade-type upper cervical spinal cord injury rat models can be build by inserting Foley's tube and injecting contrast medium under pressure into the atlanto-occipital space of rats.

**Key words** spinal cord injuries; blockade of governor vessel; cervical vertebrae; models, animal; rats, Wistar; Foley's tube

脊髓损伤有很高的发病率和致残率,在全世界范围内创伤导致的脊髓损伤每年使超过 18 万人出现永久性的运动和感觉功能障碍<sup>[1]</sup>。中医学中无脊髓损伤的病名,依据其临床表现,可将其归属于“体惰”“痿证”“骨错缝”范畴<sup>[2]</sup>。针灸、中药对于脊髓损伤所造成的感觉和运动功能障碍恢复具有肯定的促进作用<sup>[3-6]</sup>。因此中西医结合治疗可作为临床治疗脊髓损伤的有效手段。

建立理想的脊髓损伤病证结合动物模型是进行相关研究的基础<sup>[7]</sup>。以往建立的病证结合动物模型多是在西医疾病模型的基础上通过药物或化学、物理、机械刺激使动物的生活环境、条件改变造成同时兼有证的模型。由于各种人为因素的干扰,所建立模型的可靠性和稳定性难以保证。富琦等<sup>[8]</sup>认为,理想的病证结合动物模型应该是在西医病的模型的基础上,不施加任何人为干预因素,在疾病模型建立过程中或建成后,通过观察确认模型是否具备中医证的特点。而以往通过植入不锈钢螺钉、肿瘤细胞、硅胶片等异物局部压迫制成的脊髓损伤疾病模型,造模成功

率也较低<sup>[9-11]</sup>。为此本研究首次采用在寰枕间隙置入球囊导管加压的方法制作上颈脊髓损伤疾病模型,并通过采集的四诊信息进行辨证,建立了大鼠督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型,现总结报告如下。

## 1 材料与仪器

**1.1 实验动物** 3 月龄 SPF 级 Wistar 大鼠 30 只,雌雄不分,体质量( $400 \pm 20$ )g,由军事医学科学院实验动物中心提供,实验动物许可证号:SCXK-(军)2012-0004。实验方案经实验动物医学伦理委员会审核通过。

**1.2 试剂和仪器** 戊巴比妥钠(Sigma,批号 20160925,规格 5 g);碘海醇注射液[通用电气药业(上海)有限公司,国药准字 H20160912,规格 100 mL:30 g];球囊压迫系统,由 SPL25012X 球囊导管(Medtronic,规格 2.5 mm × 12 mm)、Cougar XT 导丝(Medtronic,规格 18)、Everest 手推压力泵(Medtronic,规格 30 atm)组成(图 1);PharmaScan 7.0/16 US 小动物核磁共振活体影像系统(Bruker);Mimics 17.0 医学图像处理软件(Materialise)。



(1)球囊导管



(2)手推压力泵

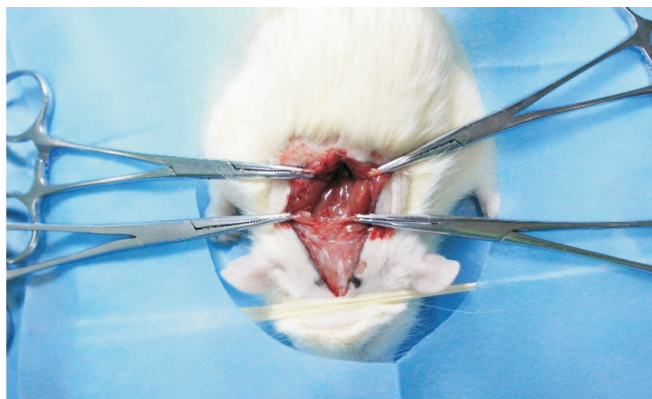
图 1 球囊压迫系统

## 2 方法

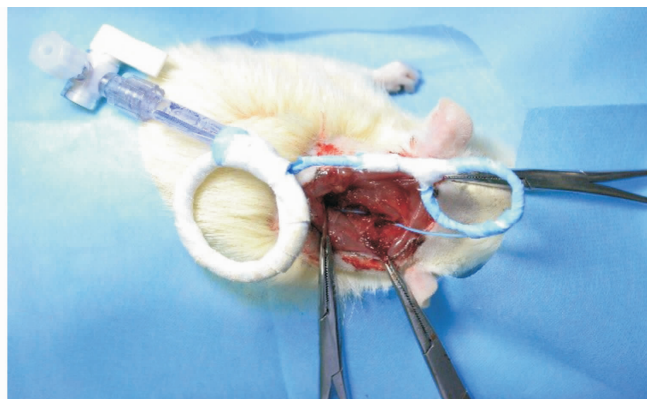
**2.1 分组及造模** 将 30 只大鼠随机分为正常组、假手术组和模型组,每组 10 只。正常组大鼠不进行处理。假

手术组和模型组大鼠以 2% 戊巴比妥钠( $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉,低头俯卧位固定。枕颈部剃毛备皮,常规消毒。在颈后正中自枕外隆突至  $C_3$  纵形切开,小心

剥离椎旁肌肉,暴露枕下三角[图 2(1)]。打开枕下三角,暴露寰枕间隙及寰、枢椎椎板间隙。以神经剥离子和圆刀分离寰枕后膜及寰、枢椎椎间韧带。在导丝引导下经寰枕间隙置入球囊导管,球囊头端于寰、枢椎椎板间隙穿出,留置于 C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub> 椎板外[图 2(2)]。以温盐水彻底冲洗术区,逐层缝合,将留在体外的导管固定于大鼠头顶部及背部。废弃麻醉复苏 30 min



(1) 在 C1 水平经后正中入路暴露并打开枕下三角区



(2) 经寰枕间隙置入球囊导管

图 2 球囊导管置入方法

**2.2 大鼠四诊信息采集及辨证** 观察大鼠活动情况及体征,按照方肇勤等<sup>[14]</sup>制定的小鼠四诊采集项目标准采集各组大鼠四诊信息,包括活动、精神状态、尾色等。按照根据文献<sup>[15-17]</sup>自拟的督脉瘀阻证辨证标准进行中医辨证。具体辨证标准为行走不稳,甚者肢体不能活动;脊强反折而屈伸不利;小便不畅、淋漓不尽;耳色暗红,唇暗红或青紫,爪色暗红或青紫。

**2.3 大鼠颈椎 MRI 检查及运动功能评定** 采用 PharmaScan 7.0/16 US 小动物核磁共振活体影像系统对各组大鼠行颈椎 MRI 检查。将获取的 Dicom 格式的数据导入 Mimics 17.0 软件,选择横断位 T2WI 上脊髓受压最严重的层面,测定脊髓最小径和最大径,计算脊髓压迫率(最小径/最大径)<sup>[18]</sup>。同时采用改良 Tarlov 评分法<sup>[19]</sup>和 BBB 评分法<sup>[20]</sup>对假手术组和模型组大鼠的运动功能进行评定。

**2.4 数据统计分析** 采用 SPSS 15.0 软件进行数据统计学分析。3 组大鼠 Tarlov 评分、BBB 评分的组间总体比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,假手术组和模型组脊髓压迫率的组间比较采用 *t* 检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

### 3 结果

造模后正常组和假手术组大鼠精神状态良好,喜动,活动灵活,皮毛光泽,唇色淡红,耳色淡,爪色淡

后不能正常站立行走的大鼠,同时补充大鼠,保证每组大鼠数量为 10 只。麻醉苏醒后 24 h,正常组和假手术组大鼠直接进行实验观察;模型组大鼠的球囊导管末端与手推压力泵连接,推注碘海醇注射液加压至 3 bar(1 bar = 100 kPa),持续加压 1 h 后进行实验观察。鼠尾痉挛性摆动,单侧肢体及躯体回缩扑动,单侧肢体瘫痪,脊髓损伤成功<sup>[12-13]</sup>。

红;模型组大鼠精神萎靡,蜷缩,活动减少,步态不稳,垂尾,唇色暗红,耳暗红,爪色青紫。按照自拟的辨证标准,模型组属督脉瘀阻证。

颈椎 MRI 示正常组大鼠脊髓未受压,信号无异常[图 3(1)];假手术组球囊位于脊髓寰椎段右后方,球囊在 T2WI 呈低信号,所在部位蛛网膜下腔变窄,脊髓无明显受压,脊髓信号无异常[图 3(2)];模型组球囊位于脊髓寰椎段右后方,球囊在 T2WI 呈高信号,髓受压变扁,脊髓信号无异常[图 3(3)]。模型组脊髓压迫率低于假手术组(表 1)。

造模后 3 组大鼠 Tarlov 评分、BBB 评分总体比较,组间差异均有统计学意义;正常组和假手术组 Tarlov 评分、BBB 评分比较,组间差异均无统计学意义( $P = 0.420$ ;  $P = 0.631$ );模型组 Tarlov 评分、BBB 评分均低于正常组和假手术组( $P = 0.000$ ,  $P = 0.000$ ;  $P = 0.003$ ,  $P = 0.000$ )。见表 1。

### 4 讨论

对于脊髓损伤动物模型的建立,国内外学者已作了大量探索。杨辰等<sup>[21]</sup>经颈前路在绵羊 C<sub>4-5</sub> 椎间隙置入压力球囊装置建立了可靠的慢性颈脊髓压迫动物模型。王军等<sup>[22]</sup>通过将吸水性压迫材料聚乙烯醇-聚丙烯酰胺互穿网络水凝胶植入 C<sub>5</sub> ~ C<sub>7</sub> 椎板下,制成了慢性颈脊髓压迫动物模型。施立奇等<sup>[9]</sup>用



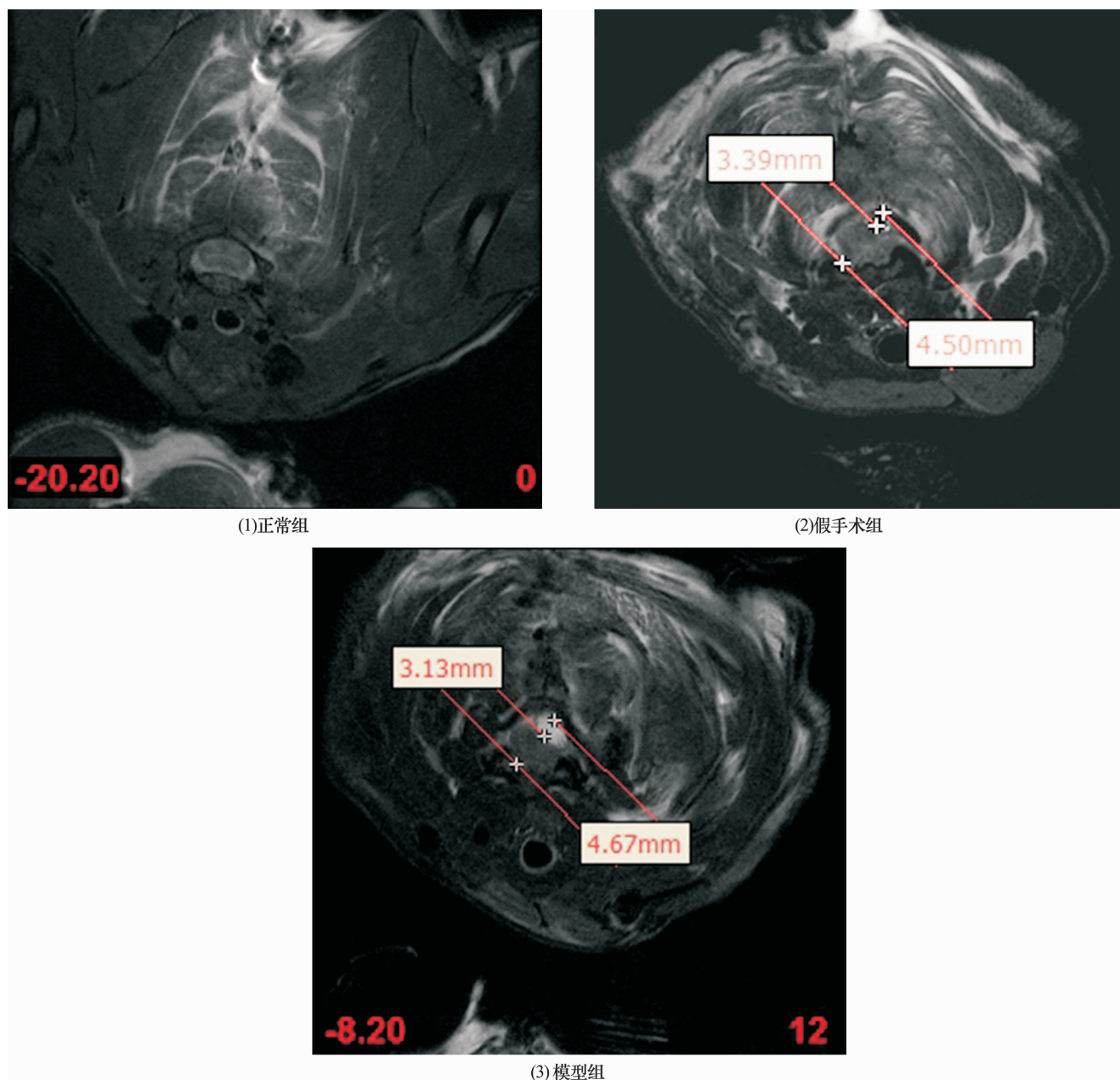


图3 3组大鼠颈椎 MRI 横断位 T2WI

表1 3组大鼠脊髓压迫率及改良 Tarlov 评分和 BBB 评分比较  $\bar{x} \pm s$

组别	样本量(只)	脊髓压迫率	改良 Tarlov 评分(分)	BBB 评分(分)
正常组	10		$4.98 \pm 0.18$	$20.91 \pm 0.23$
假手术组	10	$0.73 \pm 0.04$	$4.82 \pm 0.43$	$21.01 \pm 0.36$
模型组	10	$0.64 \pm 0.04$	$4.17 \pm 0.60$	$16.10 \pm 0.71$
检验统计量		$t = 4.672$	$F = 9.408$	$F = 111.516$
P 值		0.000	0.001	0.000

咬骨钳咬除兔 C<sub>2</sub> 棘突正中部分,置入螺钉压迫 C<sub>2</sub> 节段脊髓,建立了上颈髓损伤动物模型。Sheng 等<sup>[23]</sup>通过切开棘间韧带暴露硬膜外隙,将硅酮管垂直于脊柱纵轴置于 T<sub>11</sub>硬膜外间隙,制成了微创脊髓损伤动物模型。这些动物模型对脊髓损伤的病理学及分子生物学研究起到了积极的推动作用,但均有各自的适用

范围,而且成功率较低。

中医学理论认为,外伤所造成的脊髓损伤,伤其脊骨是现象,损其督脉是实质。督脉与脊髓在走行路线和解剖学上有共同性。《灵枢·营气》云:“上额,循巅,下项中,循脊,入骶,是督脉也。”《黄帝内经太素》对于督脉的认识都与脊柱相关。从督脉的功能上

看,“督者,都也,为阳脉之督纲。”十二经脉的作用为“宗筋主束骨而利机关也。”而这一作用只有在督脉阳气的温煦推动下才能发挥。此外,督脉与脊髓在病理学上也相互影响。《素问·骨空论》曰:“督脉为病,脊强反折……此生病,从少腹上冲心而痛,不得前后,为冲疝;其女子不孕,癥,痔,遗溺,隘干。”《灵枢·经脉》曰:“督脉之别,名曰长强……实则脊强,虚则头重。”《素问·刺禁论》称“刺脊间,中髓为伛”。沈金鳌在其《杂病源流犀烛》中也有“脊痛,督脉病也”的论述。

与以往构建的脊髓损伤模型相比,本研究通过球囊导管构建大鼠督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型具有以下优势:①首次采用经寰枕间隙置入带球囊导管建立督脉瘀阻型上颈脊髓损伤动物模型;②经枕颈后正中入路经寰枕间隙置入带球囊导管,缝线打结固定,模型大鼠的颈椎生物力学稳定性高;③选用品系纯正的大鼠,可用于电生理和分子生物学研究,而且价格较低。

寰椎连接枕部及颈椎,解剖位置险要,操作时易损伤脊髓,导致动物死亡,操作过程中要注意以下几点:①打开枕下三角时必须注意避免损伤  $C_1$ 、 $C_2$  神经及  $C_1$ – $C_2$  椎板间静脉丛;②分离开寰枕后膜及寰枢椎间韧带时,应注意避免损伤脊髓;③术前、术中必须注意无菌操作,加强围手术期护理,以降低动物死亡率。

本研究的结果表明,经寰枕间隙置入球囊导管并注射造影剂加压,可构建大鼠督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型。本课题组将对该模型进行进一步改良,构建不同损伤程度的急性、亚急性、慢性督脉瘀阻型上颈脊髓损伤模型。

## 5 参考文献

- [1] 李觅,姚猛. 脊髓损伤与 MicroRNA:体外预构组织工程化脊髓及损伤脊髓修复中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(2): 267–271.
- [2] 田纪钧. 骨错缝与筋出槽治疗术[M]. 北京:人民军医出版社, 2007: 3–4.
- [3] 李晓宁,迟蕾. 夹脊配合督脉电针治疗脊髓损伤后功能障碍临床观察[J]. 上海针灸杂志, 2015, 34(10): 972–975.
- [4] 郭家松,曾园山,陈班玲,等. 督脉电针治疗大鼠全横断性脊髓损伤的实验研究[J]. 第一军医大学分校学报, 2004, 27(1): 74.
- [5] 周鹏,张晓艳,朱超,等. 三七、川芎注射液对脊髓损伤后神经细胞凋亡及脊髓血流量变化的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2008, 16(4): 29–30.
- [6] 侯兆阳,陈哲,魏家森. 补阳还五汤对急性脊髓损伤模型大鼠神经细胞凋亡的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,

- 2015, 25(1): 8–11.
- [7] 江建春,王拥军,施杞,等. 颈椎病中医证候模型研究思路初探[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(2): 5–8.
- [8] 富琦,陈信义. 建立病证结合动物模型的新思路[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(9): 79–80.
- [9] 施立奇,蔡贤华,严华,等. 螺钉压迫法致上颈髓损伤的动物模型建立及评价[J]. 中国矫形外科杂志, 2014, 22(12): 1099–1103.
- [10] Harari D, Minaker L. Megacolon in patients with chronic spinal cord injury[J]. Spinal Cord, 2000, 38(6): 331–339.
- [11] 周长嵩. 大鼠脊髓慢性压迫后损伤和修复规律的初步探究[D]. 沈阳:中国医科大学, 2009.
- [12] 陈及非,阎作勤,龙作林,等. 脊髓缺血再灌注损伤后神经细胞凋亡的实验研究[J]. 中国临床医学, 2008, 15(6): 772–774.
- [13] 方健,陈文笔,严家春,等. 脊髓损伤大鼠脊髓组织的病理形态学观察[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 10(10): 996–998.
- [14] 方肇勤,潘志强,付晓伶,等. 小鼠四诊采集项目标准的建议[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(9): 692–694.
- [15] 王和鸣,葛继荣,沈冯君,等. 丹鹿通督片治疗瘀阻督脉型腰椎管狭窄症Ⅲ期临床试验总结[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2005, 13(4): 1–4.
- [16] 刘绪银,石海澄,石凯歌. 督脉病证治辨析—奇经八脉病证辨析之一[J]. 中医药导报, 2001, 7(1): 6–8.
- [17] 谭明生,李显,张恩忠,等. 寰枢椎脱位外科治疗与疏通督脉瘀阻相关性研究[J]. 中国骨伤, 2012, 25(11): 915–919.
- [18] 刘记存,刘怀军,徐英进,等. 经椎间孔颈脊髓压迫模型的建立[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(9): 694–697.
- [19] Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression[J]. AMA Arch Neurol Psychiatry, 1953, 70(6): 813–819.
- [20] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats[J]. J Neurotrauma, 1995, 12(1): 1–21.
- [21] 杨辰,张凤山,姜亮,等. 绵羊慢性压迫性颈脊髓病动物模型的建立及评估[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(8): 685–690.
- [22] 王军,韦峰,汪辉亮,等. 慢性颈脊髓压迫模型大鼠构建及评价[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(7): 1196–1200.
- [23] Sheng Huaxin, Wang Haichen, Homi M, et al. A no-laminectomy spinal cord compression injury model in mice[J]. J Neurotrauma, 2004, 21(5): 595–603.

(2016-10-24 收稿 2016-11-28 修回)