

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001547

改良型小鼠肾移植动物模型的建立

何云峰¹,程洪林²,张尧¹,王德林¹,蒲军¹,吴小候¹

(1. 重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016;2. 重庆市长寿区人民医院泌尿外科,重庆 401220)

【摘要】目的:建立一种操作简便、手术时间短、效果确切的小鼠肾移植模型。**方法:**静脉采用套扎式吻合,将供肾下腔静脉穿过导管,外翻套扎于导管,将其插入受体肾静脉内,套扎受体肾静脉于腔静脉外,完成静脉端端吻合;动脉采用供体腹主动脉与受体腹主动脉端侧吻合,供体膀胱瓣与受体膀胱吻合。**结果:**开放血管后供肾颜色正常,动脉搏动正常,静脉充盈好,成功建立小鼠肾移植模型,静脉吻合(10±5) min,动脉吻合(10±5) min,膀胱瓣吻合 2~5 min,总手术时间 40~60 min。**结论:**采用改良的套扎式原位静脉吻合和膀胱瓣吻合,可以降低手术难度,缩短手术时间,成功建立小鼠肾移植模型。

【关键词】小鼠;肾移植;动物模型**【中图分类号】**R619**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-03-07

Establishment of the modified mouse kidney transplantation model

He Yunfeng¹, Cheng Honglin², Zhang Yao¹, Wang Delin¹, Pu Jun¹, Wu Xiaohou¹

(1. Department of Urology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Department of Urology Surgery, the Changshou People's Hospital of Chongqing)

【Abstract】Objective: To establish a modified mouse kidney transplantation model with simple operation, short operation time and exact effect. **Methods:** The end to end anastomosis was performed on the veins, the donor kidney vena cava was evaginated after inserting catheter, and the evaginated vena cava was put into the receptor renal vein like sleeve. The abdominal aorta of the donor was anastomosed end-to-side to the abdominal aorta of the recipient. The donor bladder patch was anastomosed with the recipient bladder. **Results:** After open the blood vessels, the renal color was normal, the arterial pulsation was normal, the vein filling was good, and the kidney transplantation model of the mouse was successfully established. The venous anastomosis was (10±5) min, the arterial anastomosis was (10±5) min, and the bladder flap anastomosis was 2~5 min. Total operation time was 40~60 min. **Conclusion:** Using the modified type of venous anastomosis and the anastomosis of the bladder flap can reduce the difficulty and shorten the operation time. The mouse kidney transplantation model could be established successfully.

【Key words】mouse; kidney transplantation; animal model

小鼠肾移植模型建立一直是困扰研究者的难题,目前国内外关于小鼠肾移植模型建立报道较多,但绝大多数均采用供体静脉和受体下腔静脉吻合,这种方法需要阻断下腔静脉,吻合时间较长且手术难度较大且不易掌握,本实验采用改进方法进行套扎式吻合,降低手术难度,易于掌握,报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究材料

BALB/c 小鼠购于重庆医科大学实验动物中心,均为雌性

作者介绍:何云峰, Email: hyf028@163.com,

研究方向:泌尿生殖疾病诊断与治疗。

通信作者:程洪林, Email: chenghonglin2006@126.com。

基金项目:教育部博士点新教师基金资助项目(编号:20115503120012);

重庆市教委基金资助项目(编号:KJ1500207)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180329.1501.002.html>

(2018-03-30)

成年健康鼠,体质量 20~30 g。采用显微外科手术器械和缝线。

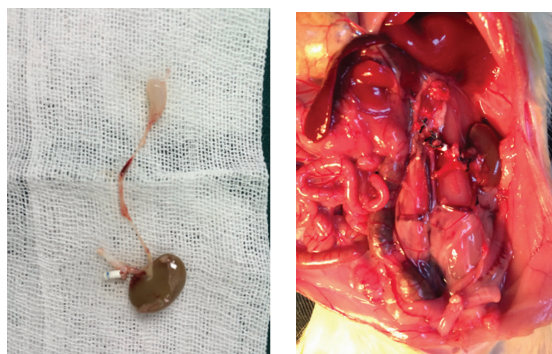
1.2 研究方法

麻醉:以异氟醚吸入麻醉,麻醉满意后消毒进行手术。

供体手术:行腹部十字形切口,游离受体腔静脉、腹主动脉、双肾动静脉,游离同时电凝止血阻断分支血管,结扎右肾血管并切断。充分游离腔静脉和腹主动脉后,于左肾血管分叉上方 5 mm 和下方 10 mm 处各预置 5-0 丝线 1 根,以备灌注时结扎下腔静脉和腹主动脉用。游离输尿管至膀胱,剪断膀胱颈,保留膀胱和全长左侧输尿管。

供肾灌注和腔静脉外翻固定:尾静脉注射肝素液 1 mL (25 U/mL),结扎预留于肾血管上方及下方的 5-0 丝线,腔静脉下方结扎线处剪开一小口作为灌注流出道,腹主动脉剪开后插入灌注导管行灌注(灌注液为 4℃ 25 U/mL 肝素-林格氏液),灌注至肾脏变白,腔静脉内流出液清亮,切忌压力太大。切取完整的左侧肾、输尿管及膀胱,放入 0~4℃ 乳酸林格氏液,将下腔静脉穿过导管(导管为自制,导管直径 0.2 mm,长度约 0.5 cm),外翻下腔静脉并用 9-0 血管缝线捆扎固定

下腔静脉于导管上备用(图 1)。



A. 供肾静脉外翻固定

B. 血管吻合后

图 1 成功建立小鼠肾移植模型

Fig.1 Establishment of the modified mouse kidney transplantation model

原位肾移植:取受体旁正中切口,充分游离和显露腹主动脉、左肾动静脉,凝断左输尿管,于肾门处分别结扎左肾动静脉并切除左肾。左肾静脉血管夹阻断后先用 9-0 血管缝线 2 针悬吊,再剪开断端,肝素水冲洗并寻找管腔,在悬吊牵引线的帮助下,管腔容易找到,静脉采用端端吻合:利用悬吊缝线适当牵拉左肾静脉充分显露管腔,将外翻固定于导管上的腔静脉插入肾静脉,将肾静脉捆扎固定于导管上,完成静脉吻合。动脉采用端侧吻合:血管夹上下阻断腹主动脉,在腹主动脉正中切口,9-0 血管缝线于腹主动脉上下两端和左右两侧吻合,于相邻两固定点间各缝合两针,肝素水冲洗。先后开放肾静脉、腹主动脉,移植肾迅速充盈变红,肾静脉充盈、肾动脉搏动明显,观察 2~4 min,输尿管开口即有尿液流出。重建尿路:在受体膀胱顶部做一直径与供肾膀胱瓣大小相当的切口,9-0 血管缝线两固定点间断缝合吻合供体膀胱瓣和受体膀胱。4-0 丝线缝合切口。术毕,据出血情况行尾静脉注射温 5% 糖水 1~3 mL,置受体小鼠于暖气旁。此吻合静脉不会出血,一般渗血为动脉渗血,可用棉签压迫 1~2 min。

择期切除受体右肾:受体术后第 6 天,由受体右腹部切口入腹,4-0 丝线结扎右肾动、静脉及右输尿管,切除右肾;并观察移植肾情况。术后腹腔内注射青霉素 20 万单位,4-0 丝线缝合腹壁切口。

2 结 果

供肾切除灌注修整时间(20 ± 6) min,热缺血时间(10 ± 6) s,冷缺血时间(20 ± 8) min。受体手术:静脉吻合(10 ± 4) min,动脉吻合(10 ± 5) min,膀胱瓣吻合 2~5 min,总手术时间 40~60 min。前期手术训练使用小鼠 20 只,熟悉吻合全过程。共行 40 例小鼠肾移植术,成功建立 28 例移植模型(图 1),手术成功率 70.0%,12 例手术失败并死亡原因如下:5 例肾静脉牵拉后破裂无法吻合,4 例吻合口出血,2 例不明原因死亡,1 例动脉吻合后不充盈、吻合口狭窄。

3 讨 论

建立小鼠肾移植模型是利用基因敲除以及转基因小鼠在分子水平研究肾移植排斥反应的基本条件和模型。小鼠肾移植模型建立困难,不易掌握,其中最难的就是静脉吻合,由于小鼠血管较小,静脉吻合困难,有时候根本找不到静脉开口。我们的模型具有以下特点:①静脉吻合采用端端吻合,不阻断腔静脉血供,先将腔静脉外翻套扎于导管上,肾静脉阻断前先行 2 针牵引悬吊,避免阻断后找不到开口,利用导管的支撑作用将腔静脉插入肾静脉内,然后将肾静脉套扎于导管上,完成静脉吻合,全过程不需要进行静脉缝合,且肾静脉和腔静脉时内膜对内膜,完全密闭吻合,吻合时间短,易于掌握,效果确切,且不会有吻合后出血发生。②输尿管吻合:切取供肾时同时切取膀胱,吻合时将供肾膀胱剪开形成膀胱瓣,然后将膀胱瓣与受体膀胱吻合,这种方式方便、快捷,易于掌握,避免了输尿管和膀胱吻合导致的困难和相关并发症。③动脉吻合则用常规的端侧吻合进行。④为保证存活率和成功率,我们在移植时保留右肾,6 d 后切除,有利于受体的存活。

参 考 文 献

- [1] Ashraf MI, Schwelberger HG, Brendel KA. Exogenous lipocalin 2 ameliorates acute rejection in a mouse model of renal transplantation[J]. Am J Transplant, 2016, 16(3): 808-820.
- [2] Hueper K, Hensen B, Gutberlet M, et al. Kidney transplantation: multiparametric functional magnetic resonance imaging for assessment of renal allograft pathophysiology in mice[J]. Invest Radiol, 2016, 51(1): 58-65.
- [3] Chen WW, Yang YR, Stevens KM, et al. Application of modified small bladder patch-to-bladder double-layer sutures to improve renal transplantation in mice[J]. Eur Surg, 2017, 49(1): 17-22.
- [4] Gueler F, Shushakova N, Mengel M, et al. A novel therapy to attenuate acute kidney injury and ischemic allograft damage after allogeneic kidney transplantation in mice[J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0115709.
- [5] Zhang Y, Zheng D, Praseedom R, et al. Kidney transplantation in mice with intraureteral cannula technique for urinary reconstruction[J]. Transplantation, 2014, 98(9): e82-85.
- [6] Chen H, Zhang Y, Zheng D, et al. Orthotopic kidney transplantation in mice: technique using cuff for renal vein anastomosis[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77278.
- [7] Tian Y, Chen J, Gaspert A, et al. Kidney transplantation in mice using left and right kidney grafts[J]. J Surg Res, 2010, 163(2): e91-97.
- [8] 赵大强, 李思雯, 廖 涛, 等. 抗体介导的小鼠肾移植急性排斥模型的建立[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(7): 1243-1246.

(责任编辑: 冉明会)