

骨折实验动物模型研究进展

刘钟阳 陈新 苏佳灿

中图分类号: R336 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108 (2010) 10-0791-04

摘要: 骨折实验动物模型作为一种实验平台已经被广泛地应用于临床前研究,用来说明和阐述骨折的各种生理及病理过程的特征,以及用来探索可以改变生物学及生物力学的新的特殊方法。在研究中,实验动物模型的选择需要进行人工干预,所使用的实验动物模型应该是特征清晰的、建立了对照组数据并且能够被重复试验的,只有这样,所得到的结果才能与其他类似的研究进行可靠的定量和定性的比较。本文的目的是通过讨论在骨折愈合研究中所使用的不同类型的实验动物模型,就适用条件描述它们的特征,并为实验动物模型的选择提供方向。

关键词: 骨折; 实验动物模型

Progress in the experimental animal bone fracture model research LIU Zhongyang, CHEN Xin, SU Jiachan. Changhai Hospital, the Second Military Medicine University, Shanghai 200433, China
Corresponding author: LIU Zhongyang, Email: lzy_westlife@163. com

Abstract: Experimental animal bone fracture models have been extensively applied as platforms for preclinical research to explain and illustrate the physiological and pathological characters of the bone fracture and to explore new specific maneuvers which can alter the biology and biomechanics of bone. The experimental animal models selected for research should be employed for artificial intervention. The experimental animal models used should be clearly characterized, control group established, and the experiments could be reproduced. By these, the results produced can be compared reliably with other similar studies quantitatively and qualitatively. The aim of this review is to describe the characteristics of the experimental animal bone fracture models applied in diverse fracture healing research and to provide selection guidance of experimental animal models.

Key words: Bone fracture; Experimental animal model

骨折实验动物模型已经作为一种平台被广泛的应用于临床前研究,用来说明和阐述骨折生理及病理过程的特征,以及探索可以改变生物学及生物力学的特殊方法。为了促进体外实验向体内实验的转变,实验动物骨折模型需要研究者建立相应方法来更深入的理解骨折愈合的生理机制、加快骨折愈合的速度以及提高骨折愈合的质量。

在研究中,实验动物模型的选择与特定的人工干预有着直接的关联。所以,为了临床前研究精确可靠的进行,选择具有特征性的动物模型是很重要的。所应用的实验动物模型应该是特征清晰的、建立了对照组数据并且能够被重复试验的。

1 骨折实验动物选择策略

骨折愈合的典型模式,即通过成骨细胞系或者软骨细胞系进行的骨修复。成骨细胞系引起的直接新骨形成,类似于未成熟动物的膜内骨化。而软骨细胞途径则通过软骨内骨化形成新骨。人类骨折愈合的组织学研究表明,在软骨存在之前成骨骨化已经很明显,并且这两个过程在正常的骨修复中共同存在^[1]。除内骨痂和外骨痂的参与外,相似的骨折愈合模式亦存在于更高等的动物中(比如犬)^[2]。虽然在啮齿类动物的骨折愈合中,两种骨质的形成都存在,但是软骨内骨化占主导地位^[3,5]。

骨折的修复受伤情、伤部、伤口大小以及内固定类型影响。局部的生物学特点,包括血运,病人的个体性,如:年龄、性别、药物使用及自体疾病等,这些都影响骨折的修复。骨折成功修复所必须的额外因

作者单位: 200433 上海,第二军医大学长海医院
通讯作者: 刘钟阳, Email: lzy_westlife@163. com

素包括局部组织的活力,血运等。Rhineland 等^[2]通过血管学研究证实,在正常的骨骼中存在小型的血运系统,在骨折时会迅速地生长。Boström 等^[6]证实,新生的血管系统通过增生的周样细胞产生了大量的 BMP。Brighton 等^[7-9]证实,进入愈合期时氧张力仍能保持较低水平。而血管的增生提供了以周样细胞相关的营养物质及干细胞,血流本身仅起到次要作用。

2 实验动物选择

2.1 啮齿类动物和小型动物

小型的啮齿类实验动物,如大鼠和小鼠,能够巧妙地运用分子生物学技术,将数量众多的动物归类和并期望更快的愈合率。此外,小鼠还可进行更为特殊的基因敲除研究。无胸腺小鼠和大鼠能够接种人类的细胞、细胞因子和组织。近亲繁殖的小鼠和大鼠则更广泛地被用来进行非时间约束性的组织学研究。大鼠和小鼠的颅骨损伤已被广泛的应用于骨折愈合,同时也适用于一些特殊研究(如骨窗,连续监视以及组织取样研究等)^[10-18]。啮齿类动物临界损伤的模型一直是一个热点话题,包括生长因子,局部用药和短肽等一些因素的实验。这类实验模型最主要的就是如何诱发细胞膜修复,这与软骨内骨折修复过程的相关性很差。而在骨干系统中,临界尺寸的损伤则是无法修复愈合的。它们通常无法卸除,而且和骨折愈合联系甚微。评估它们时通常会借助于 X 线、断层 CT、组织学和各种各样生物力学测验的使用。

啮齿类动物已经被设计成各种各样的实验模型广泛应用于骨愈合的研究。例如,被设计成化学诱导卵巢切除术(它可以在 3 个月内产生骨质疏松症),化学诱导性糖尿病,暴露于尼古丁,吸烟,化疗,COX-2 抑制剂,基因敲除和骨髓炎等等。

2.1.1 小鼠

可以利用小鼠进行最精密的基因操纵研究,例如特定的、具有条件性的“基因敲除”研究。当考虑到移植物免疫排斥反应时,裸鼠是实验最理想的选择,其较小的体型会使外科手术更具有挑战性,并且可以促进在技术层面上内固定模式的评价由使用大鼠逐步转向由使用小鼠。通常来说,在以大鼠为实验模型进行分析的研究中使用小鼠,可以使分析更加切实可行。

2.1.2 大鼠

大鼠是最常用的动物实验模型。无胸腺大鼠可

以应用于移植研究。相对于小鼠来说,在进行外科手术和结果分析时,例如进行生物力学测试,大鼠实验模型具有更好的可预知性、更直观的解剖学结构以及更好的实际价值。虽然生物力学测试也可以使用小鼠进行,但这将会是很困难的,而且结果的标准差也会很大。

2.1.3 兔

在骨折愈合的研究中新西兰兔是最常用的兔类实验模型。由于与啮齿类动物相比,兔子的关节体积更大,因此在很多的生物力学和软骨研究中兔类被广泛的应用。大多数的兔类骨折研究被应用于开放性骨折模型。

2.2 高级动物

与啮齿类动物相比,高等哺乳动物和非人类灵长类动物能够更有效的模拟人类的一些特征,特别是就骨折的固定和生物力学方面而言。相对较大的体积能够使外科手术和生物力学的分析更加容易。它们已经被用来解决了诸多关于机械力学、骨传导性和骨诱导性的问题。它们也曾被用来测定药物的有效剂量,但并不是一种筛选工具。在大型动物中进行生物力学的测验,要远比在小型动物中进行生物力学的测验更为普遍。

2.2.1 犬

从狗的类型看,控制它们是相对容易的。在研究中犬类动物的社会接受程度在世界各地有很大的不同。大量的犬类骨折研究运用于开放型骨折。值得注意的是,由于在一些地区对犬类动物的使用缺乏广泛的社会认可,对它们的使用常常是局限的。

2.2.2 绵羊和山羊

所有的绵羊模型都只能被应用于开放性骨折研究。与小型动物实验模型相比,羊类动物实验模型的缺点或许就是较高的花费。由于这两种动物都是反刍型动物,在使用时要注意它们的特殊情况,因为它们的体积还要考虑圈养问题。也应对麻醉和腹部的定位予以特殊处理。处于全麻状态(不考虑定位问题)时,胃内容物的返流应尽量避免。小型反刍动物麻醉时,24 h 内应禁食任何固体食物。

3 骨折实验动物的应用

3.1 闭合性骨折

闭合性骨折所致的骨形态改变和粉碎性骨折的发生率较小。Bonnarens 等^[19]发明了一种断头台式诱导闭合模型,这使动物模型的软骨内骨化具有相当的可再生能力,并已经广泛地应用于大鼠股骨模

型中。

3.2 开放性骨折

余昶等^[20]通过对 48 只雄性 SD 大鼠随机分为开放组与闭合组进行比较开放截骨模型与闭合骨折模型的骨折愈合过程,得出结论,即开放截骨模型造模过程软组织损伤较重,与闭合骨折模型相比,开放截骨模型影响骨折愈合的夹杂因素较多,近中期骨折愈合明显滞后,不适合用于近中期骨折愈合的研究。

3.3 固定

骨折固定的方法影响骨折愈合的速度。髓内固定包括克氏针(硬质的或是软质的)、螺钉、金属线或接骨板。固定装置可以是金属的,也可以是聚乙烯的。固定器可以分散应力或者引起不稳定性。高堂成等^[21]通过以两种不同内固定器治疗兔肱骨骨干骨折,得出镍钛合金材料的天鹅型形状记忆接骨器较动力加压接骨板有更优越的临床效果,即在愈合过程中无外生骨痂,无局部骨质疏松。

3.4 间隙

间隙大会延迟愈合,并且需要药物的支持。张元平等^[22]进行的兔股骨缺损实验中指出,一个长骨骨缺损的临界值,超过该值的长骨缺损即被认为是无法自行愈合(此缺损即间隙)。在没有间隙的情况下,如果有充分的连接和位置对接,骨折愈合将会加速以致无法对生长因素的影响做出评价。

3.5 基因治疗

基因治疗已逐步进入骨折治疗的领域,同时有关于体内对体外模式之间的转染对比研究、持续期间和基因标志已经逐渐成为测试模式。叶俊材等^[23]综述中认为,基因治疗骨折愈合与组织工程结合前景良好,利用转基因技术对骨组织工程中的种子细胞进行改造,在体内表达更具生物活性的生长因子结合生物支架治疗骨折愈合的研究将提高组织工程效率,其研究前景良好。张建军等^[24]认为,生长因子在骨折愈合中起着重要的作用。应用生长因子或其基因疗法有望成为一种骨折治疗的重要方法,特别是应用能诱导未分化间质细胞定向分化为成骨细胞的骨形态发生蛋白的基因治疗,具有应用价值。

4 总结

骨折愈合临床前模型在认识骨折愈合的生理学上起到了非常重要的作用,并且在正常的骨折愈合过程中,为评估诸多影响因素及其作用提供了有效

的方法。很明显,存在一个与问题的提出相关联的动物选择模式。在涉及基因操控等研究时,老鼠被越来越多的使用。大鼠模型也同样具有高效性。兔和羊、狗等较大的动物能够应用于更加可行的生物力学研究中。在向更高级的动物种群使用的过程中,非人类灵长类动物提供了迈向临床试验的最后一步过程。目前,在关于骨折愈合的临床前远期研究中,有着相当数目的先进的动物模型可供使用。通过选择已经被准确定义的既有动物模型,我们便可将注意力集中于正在被研究的特殊的生物学的问题。同样的,我们也可以尝试着去寻找一种新的、更有特点的动物模型。无论如何,在应用一种动物模型解决现有的问题之前,将会经过大量实验进行特征表述和测验。无论这一动物模型是既有的还是创新的,选择能够正确可靠的呈现生物学特性的动物模型对研究的整体是十分重要的。

【参 考 文 献】

- [1] Sevitt S. Bone repair and fracture healing in man. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1981. 35-51, 64-107.
- [2] Rhinelander FW, Phillips RS, Street WM, et al. Microangiography in bone healing. II. Displaced closed fractures. J Bone Joint Surg Am, 1968;50:643-662.
- [3] Bostrom MP, Lane JM, Berberian WS, et al. Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing. J Orthop Res, 1995;13:357-367.
- [4] Chakkalakal DA, Strates BS, Mashoof AA, et al. Repair of segmental bone defects in the rat: an experimental model of human fracture healing. Bone, 1999;25:321-332.
- [5] Kawaguchi H, Kurokawa T, Hanada K, et al. Stimulation of fracture repair by recombinant human basic fibroblast growth factor in normal and streptozotocin-diabetic rats. Endocrinology, 1994, 135:774-781.
- [6] Boström K, Watson KE, Horn S, et al. Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest, 1993, 91:1800-1809.
- [7] Brighton CT, Krebs AG. Oxygen tension of nonunion of fractured femurs in the rabbit. Surg Gynecol Obstet, 1972, 135:379-385.
- [8] Brighton CT, Heppenstall RB. Oxygen tension in zones of the epiphyseal plate, the metaphysis and diaphysis. An *in vitro* and *in vivo* study in rats and rabbits. J Bone Joint Surg Am, 1971, 53: 719-728.
- [9] Brighton CT, Krebs AG. Oxygen tension of healing fractures in the rabbit. J Bone Joint Surg Am, 1972, 54:323-332.
- [10] Aalami OO, Nacamuli RP, Lenton KA, et al. Applications of a mouse model of calvarial healing: differences in regenerative abilities of juveniles and adults. Plast Reconstr Surg, 2004, 114: 713-720.

(下转第 780 页)

(上接第 793 页)

- [11] Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Important of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *J Craniofac Surg*, 1998, 9: 310-316.
- [12] Zhang X, Kuroda S, Carpenter D, et al. Craniosynostosis in transgenic mice overexpression *Nell-1*. *J Clin Invest*, 2002, 110: 861-870.
- [13] Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*, 1986, 205: 299-308.
- [14] Schmitz JP, Schwartz Z, Hollinger JO, et al. Characterization of rat calvarial nonunion defects. *Acta Anat (Basel)*, 1990, 138: 185-192.
- [15] Perlyn CA, Morriss-Kay G, Darvann T, et al. A model for the pharmacological treatment of Crouzon syndrome. *Neurosurgery*, 2006, 59: 210-215.
- [16] Kanou M, Ueno T, Kagawa T, et al. Osteogenic potential of primed periosteum graft in the rat calvarial model. *Ann Plast Surg*, 2005, 54: 71-78.
- [17] Hyun SJ, Han DK, Choi SH, et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2, -4 and -7 on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol*, 2005, 76: 1667-1674.
- [18] Develioğlu H, Saraydin SU, Bolayir G, et al. Assessment of the effect of a biphasic ceramic on bone response in a rat calvarial defect model. *J Biomed Mater Res A*, 2006, 77: 627-631.
- [19] Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a standard closed fracture in laboratory animal bone. *J Orthop Res*, 1984, 2: 97-101.
- [20] 余昶, 董启榕, 周晓中. 两种大鼠股骨骨折模型愈合的比较. *苏州大学学报(医学版)*, 2008, 28(1): 4-6.
- [21] 高堂成, 康庆林, 张春才. 上肢骨干骨折内固定实验动物模型的建立. *中国骨伤*, 2004, 17(5): 267-269.
- [22] 张元平, 崔继秀, 裴国献, 等. 兔股骨缺损模型的建立. *中国临床康复*, 2006, 10(5): 87-89.
- [23] 叶俊材, 张俐. 基因治疗在骨折愈合中的研究. *中国中医骨伤科杂志*, 2003, 11(6): 54-58.
- [24] 张建军, 李兵仓. 骨折愈合的现代研究与局部基因治疗. *创伤外科杂志*, 2003, 5(3): 230-232.

(收稿日期: 2010-03-15)