

# 树鼩反复肝活检技术\*

班克臣 杨 春 黄国华 罗小玲 苏建家

(广西肿瘤防治研究所 南宁 530021)

**摘要** 本文报道在利用树鼩建立感染人乙型肝炎病毒(HBV)模型,以及进行 HBV 和(或)黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 诱癌实验研究中,摸索出的反复对树鼩肝活检技术。对 76 只树鼩进行 363 例(次)肝切手术,其中有 49 只树鼩每只反复肝活检 6 次,有 16 只每只反复肝活检 7 次。相邻两次手术间隔为 2 个月。没有 1 例因手术而死亡。亦未发现严重的术后并发症。肝活检所获取的标本可以进行多项检查。表明该技术是对树鼩进行动态肝活检的既安全又简便的方法。

**关键词** 树鼩 肝活检 麻醉

树鼩科(Tupaiidae)被一些动物学家归为灵长类动物,近几十年来,利用其开展的研究涉及

---

\* 该文受国家自然科学基金资助(批文号:39260033);

第一作者介绍:班克臣,男,32岁,助理研究员,硕士;

收稿日期:1996-12-17,修回日期:1997-04-17

到生命医学的各个领域,如利用树鼩诱发肿瘤实验,建立动脉粥样硬化模型,胆石症模型,进行甲和乙型肝炎、及其它病毒感染的研究等<sup>[1]</sup>。但树鼩肝活检技术作为获取其肝组织标本,以观察其肝脏病理变化过程的重要方法,迄今,未见介绍。

为适应应用树鼩进行长期慢性实验研究的需要,1992-1996年进行研究,现将摸索出的简单可靠肝切及抽血技术介绍如下:

## 1 材料及方法

**1.1 动物** 从昆明生物制品研究所购进捕获的野生树鼩,滇西亚种(*Tupaia belangeri chinensis*)。单只关养于30cm×20cm×20cm的不锈钢铁丝笼子中,通过活塞型自动供水系统给予自由饮用自来水。温度控制在15-24℃、湿度40%-60%。每天清洁及喂广西肿瘤研究所病理室自制的膨化饲料两次,一次牛奶及水果。

动物共76只,雌性42只,雄性34只。随机分四组:A组13只,为对照组;B组12只,为感染人乙型肝炎病毒(HBV)组;C组20只,为黄曲霉毒素B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)诱癌组;D组21只,为感染HBV+喂AFB<sub>1</sub>诱癌组。体重为145.79±3.39g(10.52-202.4g)。其中C、D两组喂AFB<sub>1</sub>的剂量为150μg/Kg/d,节假日除外。B、D两组为注射人HBV病毒后血清中出现HBsAg、HBeAg、抗-HBc的任一阳性者。

**1.2 手术方法** 手术器材用开腹切肝术包及普通清创缝合包;用肌肉注射氯胺酮麻醉。所有树鼩不论个体大小均用10mg氯胺酮(Ketamin,上海市新冈制药厂,批号:900304),在大腿外侧作肌肉注射(即麻醉剂量在50mg/Kg-100mg/Kg范围);将麻醉后的树鼩置于手术台,平卧,固定四肢,然后腹部脱毛,消毒,盖上消毒有孔方巾,无菌操作。沿腹部正中切口,开腹。用拇指及食指同时轻轻挤压树鼩,两侧腹部,暴露肝脏中叶,用眼科剪剪取中叶边缘约0.8cm×0.4cm×0.4cm的肝组织,剪取的标本立即放入液氮或其它固定液保存。切缘无需缝

合或其它处理(其中第五次肝活检时剪取约1.1cm×0.5cm×0.5cm,切除后用大小与切缘相当的吸收性明胶海绵止血)。把肝送回腹腔后先连续缝合腹膜及腹壁肌层,然后间断缝合皮肤,最后用75%酒精消毒切口,术后动物放回笼子。

## 2 结果

对76只树鼩进行363例(次)肝切手术。其中有49只反复肝活检了6次,有16只反复肝活检7次。相邻两次肝活检间隔均为2个月。无1例因肝活检而死亡。只有17只因抽血、肝癌或其它与肝活检无关的疾病死亡。

被试动物一律用10mg氯胺酮作肌注麻醉,除3例(次)麻醉深度不够需每只补腹腔注射5mg外均达到手术要求,并未发现严重的术后并发症。术后当天食量减少,第二天后动物的行为没发现异常。

肝切所获得的组织的大小可做多项检查,如:HE染色、免疫组化、原位分子杂交等;少数动物多次肝切后其切缘被大网膜包裹而发生粘连,然而剪除粘连后,不影响该次及下次肝切;从开始麻醉到肝切后缝合完毕,一般要20-25min;切口一般在1-2周内完全愈合。没发现有切口感染及化脓等现象。

## 3 讨论

迄今,尚未发现专门介绍对树鼩肝活检的文章。有报道对黑猩猩的肝活检技术<sup>[2]</sup>,但反复肝切的次数较少,且黑猩猩与树鼩不同(如体重差别很大)。常用肝穿刺活检方法获取动物的肝组织标本<sup>[3]</sup>,但肝穿所得的组织太少,不能作多项检查,且不能对肝脏做直接的大体观察。本文发现有些动物在诱癌后期肝脏表面有针尖、芝麻或米粒大的白色结节,便有目的地切取这些结节进行检查,这是肝穿刺所办不到的,同时,树鼩体型较小,肝穿刺难度较大。

据报道,有些土拨鼠多次肝活检后,出现肝脏与大网膜、腹膜粘连而未能切取组织,或出现呼吸抑制,或再次注射麻醉药仍未达到手术要

求而放弃肝切手术<sup>[4]</sup>。我们也发现在第二次肝切后,有少数动物肝切缘与大网膜粘连,但剥离后,并不影响当次及下次肝切手术。前人在同1只土拨鼠中最多肝活检了3次,两次手术间隔最短6个月,而我们最多达7次,相邻两次手术间隔只有2个月。说明这种粘连不影响树鼩肝活检。

肝切所获得的组织标本可进行多项检查,且手术无需专门器械,操作简便,所需时间短死亡率低,表明该技术安全、有效。

所试动物不论轻重,一律用10mg氯胺酮麻醉,除3例(次)麻醉深度不够外都达到了手术要求,表明氯胺酮的安全范围较广,不必每次手术前都称重,简化了手术准备过程,节约了时间。

手术中均未用任何抗生素,也未发现因切口化脓感染而影响切口愈合或因细菌感染而死亡者,提示只要严格按照无菌操作,树鼩肝活检

手术可不使用抗生素。

第五次肝活检从肝中叶切取了约1.1cm×0.5cm×0.5cm的肝标本,42例手术中无1例死亡,且不影响下次肝切。说明用此方法切取稍大的树鼩肝标本也是安全可靠的。

随着树鼩人工驯养繁殖研究的进展,树鼩将实验动物化。树鼩作为实验动物将越来越被广泛应用。掌握了树鼩肝活检技术,可为今后利用其开展肝组织的研究提供一种可行的方法。

### 参 考 文 献

- 1 彭燕章,叶智影,邹如金等编著.树鼩生物学.昆明:云南科技出版社,第1版.1991.175-1813.
- 2 Nolan, T. E. and P. A. Conti. Liver wedge biopsy in chimpanzees (*Pan troglodytes*) using an automatic stapling device. *Lab. Anim. Sci.* 1980, **30**:578-580.
- 3 陈天培,潘振叶,马冬林.绒猴研究IV——普通绒猴的肝穿刺活检.上海实验动物科学,1986, **6**(3):152-153.
- 4 Margund Mrozek, Bernd Lehr and Uwe Zillmann. *et al.* A technique for serial liver biopsies in the woodchuck (*Marmota monax*). *J. Exp. Anim. sci.*, 1994/1995, **37**:34-41.