

# 外科诱导的唇腭裂动物模型

许悦综述 陈振琦, 钱玉芬审校

(上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔正畸科 上海 200011)

[摘要] 外科诱导的动物模型作为唇腭裂研究常用的实验方法之一, 常应用于对该疾病临床治疗方面的科研工作, 选择合适的动物模型对于实验结果的可靠性和外推至人类的适用性十分重要。本文对已应用于动物实验的唇腭裂模型进行了分类和回顾, 并根据标准缺损的定义列出常用外科诱导的唇腭裂动物模型, 包括灵长类动物以及大鼠、猫、犬和兔等, 介绍其具体的手术方法和特点。横向评价各种实验动物的优缺点, 总结实验动物的选择原则, 使科研工作者在今后实验动物的选择上更有针对性。

[关键词] 唇腭裂; 动物模型; 外科诱导

[中图分类号] R 782.2 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2010.04.026

**Surgical-induced animal models of lip and palate cleft** XU Yue, CHEN Zhen-qi, QIAN Yu-fen. (Dept. of Orthodontics, The Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200011, China)

[Abstract] The surgical-induced animal models are always used as experimental animals in the research of clinical therapeutics of lip and palate cleft disease. Choosing appropriate animal model is important for obtaining a reliable result which can be applicable to human beings. The present paper introduced and classified several surgical-induced animal models of lip and palate cleft as critical size defect, such as primate animal, rat, cat, dog, and rabbit, listed the methods of operation to create a lip and palate cleft model, the advantages and disadvantages, the principles of choosing an appropriate animal model, which helped the researchers to choose the experimental animal more targeted.

[Key words] lip and palate cleft; animal model; surgical-induced

唇腭裂畸形是最常见的先天性发育畸形之一。由于其发病率相对较高且严重影响到患者的生存质量, 故一直是全球范围内健康保障系统中的一个重要研究课题。

本文将对外科诱导的唇腭裂动物模型作一综述。

## 1 唇腭裂动物模型的分类

应用于唇腭裂的动物模型从来源上大致可以分为先天性唇腭裂动物模型和外科手术诱导的唇腭裂动物模型。前者是采用给予妊娠时期母体动物以致畸剂的方法来诱导胎儿或产后幼仔的先天性唇腭裂, 或者由特定种系的动物自然产出先天性唇腭裂的幼仔; 后者则是指采用外科手术的方法在唇、牙槽嵴、硬腭或软腭上人为的形成 1 条

裂隙, 以模拟唇腭裂畸形<sup>[1]</sup>。

先天性唇腭裂动物模型多用于唇腭裂的胚胎学和病因学研究。但由于其模型的建立耗时、费用高, 胚胎易发生流产而难以正常存活, 而且又存在新生的腭裂动物喂养困难, 形成的裂隙大小和解剖可变性大等诸多因素, 因此尚未见先天性唇腭裂动物模型用于动物实验的报道。

与先天性唇腭裂动物模型相比较, 外科手术诱导的唇腭裂动物模型具有较高的一致性、可重复性和可适用性。因此, 采用外科手术建立唇腭裂模型是一种适宜且经济的方法, 现已广泛应用于各种唇腭裂修补术式和颌面发育等方面的研究。

## 2 外科手术诱导的唇腭裂动物模型的历史

追溯用于唇腭裂研究动物模型的发展历史, 自 1950 年起, Harvold 就在恒河猴的牙槽嵴和硬腭上通过手术的方法建立了唇腭裂的模型, 之后又有科学家对其进行了不断改良。这些灵长类动

[收稿日期] 2009-09-22; [修回日期] 2010-04-20

[作者简介] 许悦(1985—), 女, 上海人, 硕士

[通讯作者] 陈振琦, Tel: 021-23271699

物模型最大的优点是其在颅骨的形态上与人类更为接近,缺点是经费高、不易大量样本的开展实验。从 1978 年起,比格犬开始为研究者所用并成功制造出了不会发生自愈的上颌骨缺损模型,后来兔、猫和啮齿类动物等根据研究目的不同也纷纷被用作唇腭裂模型的实验动物,而且有数据支持某些动物的骨形成速度与人类接近,较灵长类动物更适合作为唇腭裂畸形的动物模型。

由于人类颅骨的血供来源相对较少,所以即使是颅骨上的小缺损都难以自愈。而对于动物来说,其自愈能力较人类更为强大。早期的很多动物模型都发生了骨创自发愈合的现象,从而对实验结果产生了影响。基于此原因, Schmitz 等<sup>[2]</sup>明确了骨缺损动物模型的要求:在特定种属的动物和特定的骨上,所造的骨缺损最小且终生不会自愈,即标准缺损(critical size defect, CSD)。

### 3 动物模型的建立

以下笔者总结列出了一些国内外学者对于外科手术诱导的唇腭裂动物模型比较成熟,并经证实不会发生自愈的造裂方法以供参考。

#### 3.1 灵长类动物

作为唇腭裂的动物模型,灵长类动物是最先应用于造裂实验的动物,由 Harvold 于 1950 年在恒河猴的牙槽嵴和硬腭上作了 2 mm 的骨缺损,并加用辅助装置使缺损边缘的骨吸收,最终达到一个稳定的骨缺损模型。之后, Chierici 等<sup>[3]</sup>改良了造裂法,拔除恒河猴 2 颗切牙并保留鼻底黏膜的完整性,也制造出了 3 mm 宽的上颌骨缺损。

但由于灵长类动物的使用限制太多,CSD 标准提出后鲜有人再用灵长类动物作为唇腭裂的动物模型,因此也缺乏相关的数据报道。

#### 3.2 犬

犬也是较早被引入作为唇腭裂动物模型动物。国内外关于比格犬的唇腭裂模型已经比较成熟,其人造裂隙位于切牙与尖牙之间,在去除了 5 mm 宽的条形骨组织以及邻近的口腔和鼻底黏膜后,形成了单侧牙槽嵴和硬腭裂。研究者经过 X 线检验和组织切片都证实了模型的稳定性<sup>[4]</sup>。

单纯腭裂具体的手术方法是距腭中缝 2 mm 处人为去除约 5 mm 宽的骨组织,同时将鼻底黏膜与同侧口腔黏膜缝合,覆盖骨面缺损处,并使之与对侧骨面分隔开来。术后 34 周后处死,可见缺损并未自愈,模型稳定<sup>[5]</sup>。

#### 3.3 大白鼠

大白鼠的优点是:1)大白鼠具有生长周期短;2)12 周后大部分生长指标趋于稳定;3)抗疾病、抗干扰能力强;4)个体差异小,组间可比性强;5)来源容易,易于饲养;6)适用于大样本研究,是国内外应用最多的实验动物之一。

具体的造裂方法是先切除腭正中前至切牙孔后缘,后达硬腭后缘,宽度为整个上腭宽度的 1/4,平均宽度为 1.1 mm、长度 7 mm 的矢状条形黏骨膜,再用涡轮机钻在相应范围形成骨缺损,同时切除相应的鼻黏膜,使口鼻相通,形成人造腭裂。术后 10 周随访,未出现自行修复,因此可以认为是比较稳定的腭裂模型<sup>[6]</sup>。

也有国外的研究人员建立了上颌骨缺损来模拟牙槽嵴裂,其位置定于大鼠上颌切牙至颧弓间的牙槽骨,用涡轮机制备出平均大小为长 7 mm、宽 4 mm、深 3 mm 的缺损,与鼻腔相通(术中应注意使用止血剂以防窒息)。经过 12 周的跟踪随访,通过切片和 Micro CT 检查均显示造裂区没有发生自发性愈合,符合 CSD 的要求<sup>[7]</sup>。

#### 3.4 猫

Siegel 等<sup>[8]</sup>的研究发现,在颅颌面骨的生长类型和趋势方面,猫与人类的相似度甚至超过了大猩猩和恒河猴等灵长类动物,其鼻腔长度在矢状方向上的增长率也与人类接近。而且与犬和山羊等其他动物相比较,猫的上颌骨更短、更小,牙弓形态更接近于人类。猫上颌骨的前部还有一段天然的无牙区,便于造裂。可见,猫是非常适宜唇腭裂模型的实验动物之一<sup>[9]</sup>。

造裂的具体手术方法和区域是去除第三上切牙远中至上犬齿近中唇腭侧的黏膜,用涡轮机去除其下的牙槽嵴和腭部的骨组织,造成一个直达鼻底、长约 6 mm 的裂隙。厚约 3 mm 的牙槽骨以及此区域内的黏膜和骨膜都被全层去除。经过 10 周后处死动物,切片后发现断端没有骨性融合,因此可视为合格的唇腭裂模型<sup>[9]</sup>。

国内也有学者做过单纯腭裂的模型,即在腭中线旁侧 1~2 mm 处和距腭中线 7~8 mm 处分别由硬腭后缘至双侧第一磨牙近中牙尖连线水平平行骨切开,继而在骨切开线头侧端作 7~8 mm 的冠状骨切开,连接 2 侧骨切开线,用剥离子将游离的骨片去除。将其下暴露的鼻腔黏膜与硬腭黏膜缝合,形成硬腭黏骨膜-骨-鼻腔黏膜全层洞穿性的缺损。6 周的随访观察后发现,腭部洞穿性

缺损形态清晰,掀开软组织下方可见骨缺损并未自行修复,达到了长期稳定的骨缺损畸形的效果。

### 3.5 兔

对实验动物模型来说,兔的生长速度较快,可以缩短随访时间,较快得到实验结果。虽然兔在颅骨形态和牙齿排列上与人类的差异较大,但仍不影响其作为唇腭裂模型的使用<sup>[10]</sup>。Bardach 等<sup>[11]</sup>曾将兔和犬的唇腭裂模型进行了比较,得出这 2 种动物在人造唇腭裂缺损后其颅面骨的发育异常程度相似的结论。因此,兔完全可以被选为唇腭裂的动物模型。

el-Bokle 等<sup>[12]</sup>所建造的永久性牙槽嵴裂模型是拔除了中切牙和侧切牙后,从鼻底到牙槽嵴的高度垂直向后作一 10 mm 宽的骨缺损,修整缺损边缘尖锐的骨后,切开鼻底黏膜,将其于腭侧的黏膜边对边缝合。6 周后经过 X 线和组织切片确认造裂区未发生自发性愈合。

## 4 动物模型的选择

随着科学研究的逐步深入,可被选择的动物模型越来越丰富,但同时也引出了这样一个问题:如何为自己的实验选择合适的动物模型?笔者认为,在实验动物的选择上,伦理、经费、饲养、可获得性和易操作性等都是最基本的考虑因素<sup>[11]</sup>;其次,根据不同的实验目的和方法,动物的选择也要因地制宜。大型动物由于与人类颅骨的解剖形态更为接近,因此在研究生物力学方面的优势是毋庸置疑的,但其限制性也同样明显,如观察周期长、样本量小、标本组织采集和加工困难等;而小型动物在这些方面的优势就很明显,但同样的,其可能遇到实验中某些辅助装置大小与实验动物不匹配和操作不便等诸多困难。因此,在决定实验动物前一定要全局考虑、综合评判,以选出最适宜的动物作为实验动物。基本原则是:1)被选择的动物模型必须有正确、客观和科学的理论依据;2)并不是种系接近人类的动物就是最适宜的动物;3)实验动物的生长模式是需要考虑的先决条件;4)研究颌面部不同区域的唇腭裂可能有不同的动物成为最适模型,不可一概而论<sup>[8]</sup>。

选择了合适的动物后,对于人造裂仍有几点细节需要考虑:1)动物的年龄和性别的选择;2)造裂区位置的选择,与前后牙齿的关系;3)是否保留骨膜;4)造裂区大小的选择和一致性的确定。

随着唇腭裂疾病的研究越来越深入地开展,相信必将有更多、各方面更完善的唇腭裂动物模型被研究者所开发和利用,一起推动对该疾病的治疗和防范。

## 5 参考文献

- [1] 王志勇,石冰.应用于唇腭裂研究的动物模型[J].国外医学口腔医学分册,2001,28(5):280-283.
- [2] Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions [J]. Clin Orthop Relat Res, 1986, 205:299-308.
- [3] Chierici G, Harvold EP, Dawson WJ. Primate experiments on facial asymmetry[J]. J Dent Res, 1970, 49(4):847-851.
- [4] Kawamoto T, Motohashi N, Kitamura A, et al. A histological study on experimental tooth movement into bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in beagle dogs[J]. Cleft Palate Craniofac J, 2002, 39(4):439-448.
- [5] Wang Y, Shi B, Li Y, et al. Comparative study of maxillary growth and occlusal outcome after autogenous rib grafting in complete cleft palate defect [J]. J Craniofac Surg, 2006, 17(1):68-79.
- [6] 王予江,董永青,戴群,等.早期植骨修复腭裂对上颌骨生长影响的实验研究[J].上海口腔医学,2005,14(1):37-41.
- [7] Nguyen PD, Lin CD, Allori AC, et al. Establishment of a critical-sized alveolar defect in the rat: A model for human gingivoperiosteoplasty [J]. Plast Reconstr Surg, 2009, 123(3):817-825.
- [8] Siegel MI, Mooney MP. Appropriate animal models for craniofacial biology[J]. Cleft Palate J, 1990, 27(1):18-25.
- [9] Liao LS, Tan Z, Zheng Q, et al. Animal experimental study on repairing alveolar clefts by using rectilinear distraction osteogenesis[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2009, 62(12):1573-1579.
- [10] Djasim UM, Hekking-Weijma JM, Wolvius EB, et al. Rabbits as a model for research into craniofacial distraction osteogenesis[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2008, 46(8):620-624.
- [11] Bardach J, Kelly KM. Role of animal models in experimental studies of craniofacial growth following cleft lip and palate repair[J]. Cleft Palate J, 1988, 25(2):103-113.
- [12] el-Bokle D, Smith SJ, Germane N, et al. New technique for creating permanent experimental alveolar clefts in a rabbit model[J]. Cleft Palate Craniofac J, 1993, 30(6):542-547.