

猕猴全结肠内镜检查方法与观察

黄志寅¹, 张琼英¹, 王玉芳¹, 冯哲¹, 赵旭东², 吕龙宝², 陈文雄²,
唐川君¹, 龚慧¹, 胡兵¹, 唐承薇¹, 谭庆华¹

(1. 四川大学 华西医院 消化内科, 成都 610041; 2. 中国科学院昆明动物研究所实验动物中心, 昆明 650223)

【摘要】 腹泻是猕猴常见肠道症状, 相关肠道病变资料多源于猕猴尸检, 尚无成功肠镜检查报告。本文旨在建立猕猴全结肠内镜检查方法及获得猕猴全结肠内镜图像。8 只猕猴无 >2 月的慢性腹泻史, 管喂芒硝后, 结肠清洁度符合内镜观察需求。采用电子消化内镜对猕猴全结肠进行观察, 操作时间约 10~20 min/只。4 只动物结肠无明显异常病变, 仅部分结构与人类有轻微差异。在 4 只 <1 d 轻泻的猕猴中, 内镜观察到结肠小片糜烂及溃疡, 其中 1 只存在明显狭窄。术中及术后 1 周均无动物死亡。本文建立的猕猴全结肠内镜检查安全有效, 对及时诊治猕猴结肠炎、评估药物干预疗效及提供优质实验动物具有重要意义。

【关键词】 猕猴; 结肠内镜; 结肠清洁度; 内镜结肠图像; 腹泻

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 04-0068-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 04. 012

Performance and colonoscopic observation in macaques

HUANG Zhi-yin¹, ZHANG Qiong-ying¹, WANG Yu-fang¹, FENG Zhe¹, ZHAO Xu-dong²,
LV Long-bao², CHEN Wen-xiong², TANG Chuan-jun¹, GONG Hui¹, HU Bing¹, TANG Chen-wei¹, TAN Qing-hua¹
(Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China.
2. China Academy of Sciences Kunming Institute of Zoology, Kunming 650223)

【Abstract】 Diarrhea is a common intestinal symptom in macaque. The corresponding intestinal lesions of macaque are mainly described at autopsy but less observed by colonoscopy. The aim of this study was to develop a colonoscopic technique and to obtain endoscopic images of the entire colon in macaques. Eight healthy adult macaques (5 males and 3 females) without diarrhea for 2 months, were fed Glauber's salt through nasogastric tubes. The colon cleanliness was well matched to the endoscopic observation of macaque colon. The procedure took 10 - 20 min for each animal. There was no obvious abnormality in the colon of four animals except some slight differences of mucosal structure from that of human beings. Small pieces of erosion and ulcer in the colons were observed in four macaques which presented mild diarrhea for less than 1 day, while a severe stenosis was observed in one of those four macaques. No animal died during and one week after the endoscopic procedure. Colonoscopy may safely performed in macaques. The images taken by colonoscopy may be important to establish diagnosis and treatment of colitis in macaques in time and to evaluate the efficacy of drug intervention as well. This technique is also helpful to provide qualified macaques for scientific researches.

【Key words】 Macaque; Colonoscopy; Colon cleanliness; Endoscopic image, colon; Diarrhea

[基金项目] 国家自然科学基金国家(地区)合作与交流项目 GZ1065。

[作者简介] 黄志寅,男,医师,本科,研究方向: 消化系统疾病。

[通讯作者] 谭庆华,男,教授,博士,研究方向: 消化系统疾病。

结肠炎是猕猴的常见疾病,其腹泻症状与肠道病变并不完全相符,部分有腹泻猕猴的结肠黏膜不一定出现糜烂、溃疡等病变,甚至正常,而无腹泻症状猕猴的肠黏膜也不一定完全正常。结肠内镜检查在诊治各种人类结肠病变中发挥了非常重要的作用。

本研究旨在建立猕猴全结肠内镜检查方法,并观察猕猴结肠的内镜下形态,为猕猴消化道疾病诊治及合格动物模型建立,提供先进可靠的方法。

1 材料和方法

1.1 受试动物

成年猕猴 8 只,雄性 5 只,雌性 3 只,体重为 4 ~ 5 kg,由中国科学院昆明动物研究所灵长类研究中心提供,实验动物生产许可证:SCXK(颠)K2013-0005。所有动物检疫均合格,无大于 2 月的慢性腹泻史,其中 4 只动物轻泻小于 1 d,另 4 只无腹泻症状。8 只动物营养状态均中等。实验动物使用许可证:SYXK(颠)K2013-0012。

1.2 内镜设备及相关药物

胃镜 GIF-Q260J(日本, Olympus 公司),图像采集设备 IMH-20(日本, Olympus 公司),全自动内镜消毒机(日本, Olympus 公司)。胃镜及全自动内镜消毒机专用于动物检查。复方氯胺酮(100 mg/支,江苏恒瑞医药股份有限公司),硫酸钠($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$,芒硝,四川川眉芒硝有限责任公司),肠道准备前以 0.2 g/mL 浓度溶于饮用纯净水。肠镜检查在昆明动物研究所灵长类研究中心内完成肠道准备。

猕猴禁食 12 h,肠镜检查前 3 h 通过胃管注入芒硝溶液 50 mL(0.2 g/mL),此后每半小时管喂 50 mL 纯净水,管喂水总量 150 mL(图 1)。待猕猴排泄粪便呈清水样后,即可开始肠镜检查。将镜下观察肠道粪水情况分为 3 个等级:I 级,全肠道无粪渣,只有少量清澈的液体;II 级,肠腔内有少量粪渣及或大量黄色粪水,经吸引器能吸尽,不影响镜下粘膜观察及治疗;III 级,肠腔内有大量粪渣或块状大便,经吸引器不能吸尽,不能完成全结肠检查^[1]。I 级和 II 级视为肠道准备清洁,III 级视为不洁。

1.3 结肠内镜操作方法

术前采用全自动消毒机对内镜及其附件常规消毒备用。对猕猴采用复方氯胺酮(6 mg/kg)肌内注射麻醉,待猕猴肌肉松弛,睫毛反射消失后,将动

物左侧卧位置于检查台上。检查者立于猕猴右侧,单人操作^[2]。内镜前端用石蜡油润滑后,通过肛门进入猕猴肠道,依次通过直肠、乙状结肠、降结肠、横结肠、升结肠,回盲部,最终到达末段回肠。检查全程录像、采集图片。肠道内镜检查结束后,将动物放回笼内,待其自然苏醒。

2 结果

2.1 猕猴肠道准备

8 只猕猴管喂芒硝及纯净饮用水后,未发生呕吐及误呛。管喂芒硝后猕猴首次排大便时间为(40 ± 10) min;3 h 时,大便均呈清水样,无动物因严重脱水需要补液治疗。内镜观察,5 只猕猴肠道残余粪水量为 I 级,另 3 只则为 II 级。均能完成全结肠检查。

2.2 结肠内镜检查

使用胃镜(GIF-Q260J)单人操作,通过短缩肠管方法,完成猕猴的全结肠内镜检查。操作方法基本与人体内检查相同,因猕猴乙状结肠长度(平均 16 cm)^[3]明显短于人类乙状结肠,因此在乙状结肠无需反复旋镜短缩,找准肠腔走形保持肠镜轴位,徐徐进镜即可。在进镜约 60 ~ 70 cm 即可到达回盲部,将镜身前端调整至回盲瓣的前唇和后唇之间,轻轻上打螺旋,分开前后唇进入末段回肠。每只猕猴全程肠镜操作时间约 10 ~ 20 min;肠道残余粪水量为 II 级者,体重较轻的猕猴,操作时间较长。

2.3 猕猴内镜下的正常结肠形态

内镜观察到 4 只动物的结肠无明显异常病变,其中 1 只动物镜检前有小于 1 d 的轻泻。当内镜到达回盲部时,内镜下测量全结肠长度约为 60 ~ 70 cm。直肠呈细管状,肠壁光滑,未见与人类相似的亨氏瓣(图 1)。乙状结肠长度在内镜下测量约 10 cm,管腔狭窄弯曲,无半月皱襞(图 1)。

降结肠为全结肠中长度最长的一段肠管,内镜下测量约为 30 cm,其半月皱襞细而矮(图 2)。横结肠腔管径较大,游离度较大,半月皱襞高而厚,以结肠带附着部位为顶点呈三角形(图 2)。结肠肝曲及脾曲均可见到蓝紫色肝脏及脾脏透见像。升结肠管腔由远端向近端逐渐变宽,高而厚的皱襞呈正三角形(图 2)。

盲肠是猕猴全结肠管腔最粗大部分,其管腔直径(4 cm)约乙状结肠及直肠的 3 倍,呈类圆锥形。与人类不同的是,盲肠尖端未见阑尾孔。回盲瓣位

于盲肠侧壁上,与人类略有差异的是,扁圆形的开口由前后唇围成(图3)。内镜通过回盲瓣开口进入末段回肠,在窄带光谱成像技术(narrow band imaging, NBI)下,可见小肠绒毛样上皮结构,未见 Peyer 淋巴结(图3)。

2.4 猕猴结肠炎的内镜下表现

在4只轻泻小于1d的猕猴中,内镜检查发现直肠至横结肠有散在分布的糜烂病灶,长径约0.3 cm~0.6 cm/个,触之易出血(图4)。其中1只动物除上述病变外,肠道残余粪水量为II级,因节段黏膜水肿,进镜困难,升结肠存在明显狭窄,镜身不能通过,未能抵达回盲部。

2.5 猕猴全结肠内镜检查安全性

8只猕猴在肠镜检查期间处于良好的麻醉状态,未追加复方氯胺酮剂量。心肺功能正常,气道无阻塞。进镜及退镜过程中可有少许黏膜擦伤及

出血,无穿孔及大量出血。内镜检查结束至动物苏醒平均约(14±4)min。术后1h,动物开始进食。术后1周内,动物进食、大便及活动无明显异常。

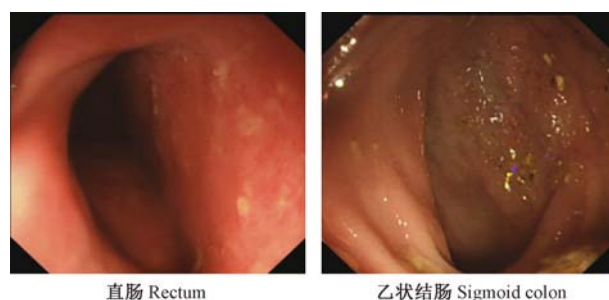


图1 内镜下观察的猕猴直肠与乙状结肠

Fig.1 Endoscopic appearance of the rectum and sigmoid colon of a macaque



图2 内镜下观察的猕猴降结肠、横结肠与升结肠

Fig.2 Endoscopic appearance of the descending, transverse and ascending colon of a macaque

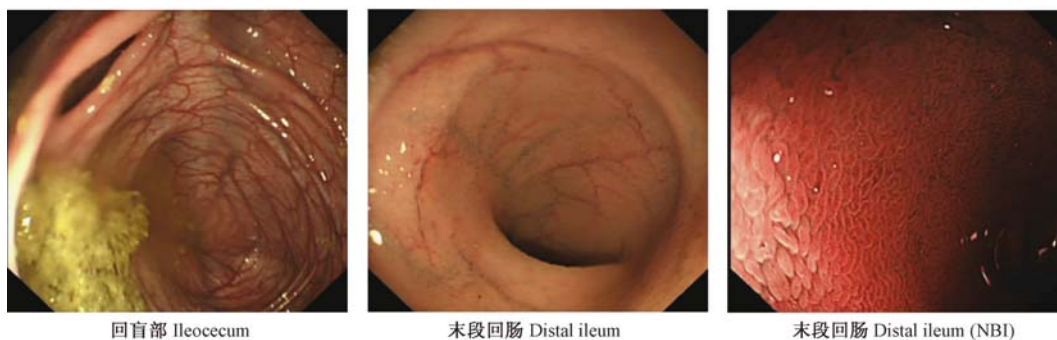


图3 内镜下观察的猕猴回盲部与末段回肠

Fig.3 Endoscopic appearance of the ileocecum, distal segment of ileum and narrow-band imaging of the distal segment of ileum of a macaque

3 讨论

猕猴作为非人灵长类动物,遗传物质与人类非常接近,而且数量较多,分布较广。作为人类的实

验替代品是最理想的实验动物。近年来国内外应用猕猴建立了如 AIDS 等各种动物模型^[4],进行神经生理学、疫苗制备、转基因研究、血液学、病毒学、免疫学、肿瘤学等生物医学研究,优质的实验动物



图 4 内镜下观察的猕猴结肠病变

Fig. 4 Colon alterations of macaques observed by colonoscopy

需求日益增加^[5]。然而,不明原因慢性腹泻在大型灵长类研究基地的年发病率高达 5%,占腹泻猕猴的 25%^[6],对非人灵长类动物模型建立及药物代谢研究都极为不利。迄今为止,多数文献的数据来自猕猴死后尸检^[7],难以适应该病的及时诊治、前瞻性科学研究等需求。肠镜对于人类结直肠疾病诊治发挥了重大作用,虽有文献探讨过猕猴肠镜检查的方法及效果,但因没有成功洗肠,观察困难,实验动物均在肠镜后死亡^[8],建立猕猴肠镜检查方法因此具有重要意义。

清洁肠道是进行内镜检查前的一项重要工作。猕猴与人不同,难以主动饮入洗肠液,这是以往文献中肠镜前洗肠困难的原因。本研究采用管喂洗肠液,插管操作简便易行,所有动物未出现呕吐、反流误吸、窒息、以及上消化道出血等症状。芒硝作为我国传统中药,主要成分是 $\text{NaSO}_4 \cdot a\text{SO}_2\text{O}$ 。口服后其硫酸根不易为肠道吸收,在肠腔形成高渗状态,使肠腔水分增加造成机械性刺激,促进肠蠕动而起导泻作用^[9]。本研究表明,给猕猴管喂芒硝,肠道清洁程度基本达到 I~II 级,效果好、无明显不良反应。

与以往猕猴肠镜检查不同的是,本研究采用 GIF-Q260J 胃镜而非肠镜,镜身硬度适宜于小个体型的操作。当遇到肠腔狭窄时,GIF-Q260J 胃镜不能通过,提示今后应准备鼻胃镜,以应对类似情况。由于猕猴个体较小,也许对用鼻胃镜检查结肠更为恰当,但尚需进一步尝试与总结操作经验。

猕猴与人同属灵长类,内镜下的结肠结构存在一些差异。人类的结肠带在乙状结肠与直肠移行部消失,结肠带使结肠壁形成袋状,腔内可见半月皱襞及亨氏瓣。直肠的 3 个亨氏瓣对于在直肠内判断腹膜翻转部位及与乙状结肠交界部位具有重要作用。猕猴直肠未见亨氏瓣、乙状结肠无半月皱襞,提示猕猴的结肠带可能在降结肠远端消失。

阑尾一直被认为是人类进化过程中退化的一个器官。但近年的研究表明,阑尾与机体的系列免疫功能有关,在维持肠道健康方面具有重要作用。阑尾被认为是肠道共生菌的贮存地,当肠内共生菌群失衡时,贮存于阑尾的共生菌将迅速予以补充,促进肠道正常菌群恢复。阑尾切除术后患者中,溃疡性结肠炎发生率明显降低^[10]。我们在猕猴肠镜检查中未发现猕猴有阑尾。以往猕猴大体解剖时,也未发现猕猴有阑尾^[3]。这是否与猕猴虽可反复发生结肠炎,但却难以进展为炎症性肠病有关?如果缺少阑尾对炎症性肠病的发生是保护性因素,猕猴的肠黏膜免疫值得深入研究。通过肠镜在末段回肠进行检查并活检,可能是重要的研究手段。本文所建立的猕猴肠镜检查方法因此更显必要。

总之,肠镜检查对于了解猕猴肠道病变是一种行之有效而安全的方法。能够在不处死实验动物的情况下,完成全结肠及部分末段回肠的观察,取得活体组织标本。也可在治疗后反复进行结肠镜检查,观察治疗效果。

参考文献:

- [1] 宁俊容. 中药芒硝洗肠法与甘露醇洗肠法在肠镜诊疗前肠道准备中的临床研究 [J]. 中国实用医药. 2012,7: 125.
- [2] 岩男泰,寺井毅. 图解大肠镜单人操作法 [M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2008:41-49.
- [3] 叶智彰,彭燕章,张耀平. 猕猴解剖 [M]. 北京:科学出版社,1985:148-152.
- [4] Ortiz AM, Klase ZA, DiNapoli SR, et al. IL-21 and probiotic therapy improve Th17 frequencies, microbial translocation, and microbiome in ARV-treated, SIV-infected macaques [M]. Mucosal Immunol. 2015; doi: 10.1038/mi.2015.75.
- [5] 鄧琦,陈永昌,陈学进. 猕猴在生物医学研究中的应用 [J]. 上海实验动物科学,2003,23: 59-62.
- [6] Ardeshtir A, Oslund KL, Ventimiglia F, et al. Idiopathic microscopic colitis of rhesus macaques: quantitative assessment of colonic mucosa [J]. Anat Rec (Hoboken),2013,296: 1169-1179.
- [7] 罗其胜,王庆玲,李松珍,等. 猕猴疾病尸检材料的分析 [J]. 中国兽医科技. 1989,2: 42.
- [8] 张虹雨,范晓娜,黄敏,等. 猕猴结肠镜下活检组织病理学观察 [J]. 中国比较医学杂志. 2010;20: 67.
- [9] 王霞,许行. 不同药物用于老年患者结肠镜检查前肠道准备的临床观察 [J]. 中华保健医学杂志. 2008,10: 357-358.
- [10] Sahami S, Kooij IA, Meijer SL, et al. The link between the appendix and ulcerative colitis: clinical relevance and potential immunological mechanisms [J]. Am J Gastroenterol. 2015; doi: 10.1038/ajg.2015.301.

[修回日期]2015-12-12