

焦昆,张静,孟霞,等.应用三维时间飞跃法磁共振血管成像(3D-TOF-MRA)技术观察长爪沙鼠脑动脉的方法初探[J].中国比较医学杂志,2024,34(11):68-74.

Jiao K, Zhang J, Meng X, et al. Preliminary study of three-dimensional time-of-flight magnetic resonance angiography for observing cerebral arteries in Mongolian gerbils [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(11): 68-74.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.11.009

应用三维时间飞跃法磁共振血管成像(3D-TOF-MRA)技术观察长爪沙鼠脑动脉的方法初探

焦 昆¹, 张 静^{1,2}, 孟 霞¹, 王战京³, 雷建锋³, 陈柏安^{1,2*}, 卢 静^{1,2*}

(1.首都医科大学实验动物部,北京 100069;2.首都医科大学基础医学院实验动物学系,北京 100069;
3.首都医科大学中心实验室,北京 100069)

【摘要】 目的 探究通过 3D-TOF-MRA 方法确认长爪沙鼠实验前条件的可行性。**方法** 使用 7.0 T MRI 扫描仪对长爪沙鼠脑动脉进行扫描,扫描数据采用 RadiAnt DICOM Viewer 软件进行后续处理;采用乳胶灌注法对影像学结果进行验证与比较;通过 MIMICS 软件对长爪沙鼠及大鼠的后交通支及周围脑血管进行三维重建;使用此方法筛选血管发育异常的长爪沙鼠个体验证本方法的应用效果。**结果** 3D-TOF-MRA 技术可以有效地观察到活体长爪沙鼠脑动脉;3D-TOF-MRA 技术观察长爪沙鼠脑主要动脉血管的准确性较高,并且能观察组织内部血管,但对于较细血管分支的观察效果不如乳胶灌注法;3D-TOF-MRA 技术所得数据可以用于血管的三维重建;3D-TOF-MRA 技术应用于长爪沙鼠脑动脉结构异常个体的筛选具有较好效果。**结论** 3D-TOF-MRA 技术可以应用于活体长爪沙鼠脑动脉的结构观察及相关研究。

【关键词】 核磁共振;血管成像;长爪沙鼠;脑;动脉

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 11-0068-07

Preliminary study of three-dimensional time-of-flight magnetic resonance angiography for observing cerebral arteries in Mongolian gerbils

JIAO Kun¹, ZHANG Jing^{1,2}, MENG Xia¹, WANG Zhanjing³, LEI Jianfeng³, CHEN Baian^{1,2*}, LU Jing^{1,2*}

(1. Department of Laboratory Animal, Capital Medical University, Beijing 100069, China.

2. Department of Experimental Zoology, School of Basic Medicine, Capital Medical

University, Beijing 100069. 3. Core Facility Center, Capital Medical University, Beijing 100069)

【Abstract】 Objective To explore the feasibility of confirming pre experimental conditions in Mongolian gerbils using three-dimensional time-of-flight magnetic resonance angiography (3D-TOF-MRA). **Methods** The cerebral arteries in Mongolian gerbils were imaged using a 7.0 T magnetic resonance imaging scanner and the data were processed using

[基金项目] 国家重点研发计划(2021YFF0702805)。

[作者简介] 焦昆(1986—),男,高级实验师,研究方向:人类疾病动物模型及比较医学研究。E-mail:jiaokun122@126.com

[通信作者] 陈柏安(1984—),男,博士,教授,研究方向:阿尔茨海默病动物模型研制、基础及转化医学研究。

E-mail:baianchen@ccmu.edu.cn

卢静(1969—),女,博士,教授,研究方向:神经退行性疾病模型的研制和比较医学研究。E-mail:lujing@ccmu.edu.cn

* 共同通信作者

RadiAnt DICOM Viewer software. The imaging result were then validated and compared using the latex perfusion method, and 3D reconstruction of the posterior communicating branch and surrounding cerebral blood vessels were performed using analytical software. Finally, we attempted to use this method to screen for abnormal vascular development in Mongolian gerbils, to verify the effectiveness of this method. **Results** 3D-TOF-MRA effectively demonstrated the cerebral arteries in live Mongolian gerbils. The technique showed high accuracy for observing the main cerebral arteries in Mongolian gerbils, but its ability to show finer vascular branches was not as good as the latex perfusion method. The data obtained using 3D-TOF-MRA could be used for 3D reconstruction of blood vessels, and the technology could be applied to screen for abnormal arterial structures in Mongolian gerbils. **Conclusions** 3D-TOF-MRA technology can be applied for the structural observation and related research of the cerebral arteries in live Mongolian gerbils.

[Keywords] magnetic resonance imaging; vascular imaging; Mongolian gerbils; cerebral; artery
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

脑缺血是指血液供应无法满足脑组织代谢所需,进而引起一系列症状的综合征。严重的脑缺血会导致大脑功能永久性损伤,甚至是死亡。脑缺血相关疾病包括缺血性卒中、慢性脑供血不足等。其中,卒中是我国成人致死、致残的首位病因。随着社会人口老龄化及城镇化进程的加速,脑卒中的流行趋势明显,疾病负担日益增加^[1]。因此,对于脑缺血相关疾病的研究非常重要。

长爪沙鼠种群中存在部分个体缺乏颈动脉系与椎-基底动脉系之间的后交通支,阻断颈总动脉很容易造成其脑缺血,被公认为是建立脑缺血模型的理想动物,对于研究脑缺血相关疾病的发病机制及治疗措施具有重要意义^[2-4]。但正因为其脑部动脉血管发育异常存在不确定性,从而影响了造模成功率及后续研究结果的可靠性。如果能找到在造模前检测长爪沙鼠脑部血管结构的技术手段,将显著提高造模成功率并增强实验结果的可靠性。但是,目前已有的对于长爪沙鼠脑血管的观察方法多采用取材后灌注的方法,缺乏对活体动物脑血管的检测方法,阻碍了长爪沙鼠在脑缺血及相关疾病研究中的应用。三维时间飞跃法磁共振血管成像(three dimensional time-of-flight magnetic resonance angiograms, 3D-TOF-MRA)是一种无创性的血管检查技术,其优点是不注射造影剂即可使血管显影,特别是在临床血管相关疾病的检查中被广泛使用^[5-6]。本研究尝试采用 3D-TOF-MRA 方法对长爪沙鼠脑动脉血管进行观察,为将来长爪沙鼠脑血管相关疾病动物模型影像学的观察和评价提供新方法思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级的健康长爪沙鼠 10 只,雌雄各半,2~3

月龄,体重(60±10)g,来源于首都医科大学实验动物部[SCXK(京)2022-0013]。SPF 级的健康 SD 大鼠 6 只,雌雄各半,3 周龄,体重(60±10)g,由北京市维通利华实验动物有限公司提供[SCXK(京)2021-0006]。实验动物饲养在首都医科大学实验动物设施内[SYXK(京)2021-0030]。实验动物饲养和实验过程中严格遵守实验动物使用的 3R 原则并给予人道的关怀,实验方案获得首都医科大学动物实验及实验动物福利委员会批准(AEEI-2021-312)。

1.2 主要试剂与仪器

异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,批号:2023110301);天然乳胶液(深圳市吉田化工有限公司,货号:H0103);浓缩广告画颜料(上海马利画材股份有限公司,货号:NO. 95);0.9%氯化钠注射液(山东齐都药业有限公司,批号:11B23082308);氨水(北京益利精细化学品有限公司,批号:20221110);组织固定液(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号:GP230930111101)。输液器(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司,批号:20231011A);MRI 扫描仪(德国布鲁克 Bruker 公司,型号:Bruker Pharma Scan 7.0T);大鼠头部表面线圈(德国布鲁克 Bruker 公司,型号:1H Rat Head RF Surface coils(T20010V3));小动物麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,型号:R500IE);注射泵(深圳麦科田生物医疗技术股份有限公司,型号:SYS-50VET)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物磁共振扫描前准备

将实验动物放置于透明诱导麻醉盒中,采用 4%异氟烷诱导麻醉,观察动物状态,当动物保持安静后,立即取出并迅速放置于扫描床上佩戴呼吸面

罩,1.5%异氟烷维持麻醉。动物在成像期间注意保温。

1.3.2 磁共振扫描参数设定

序列选择 T2WI 成像,参数:视野 = 3.00 cm×3.00 cm,矩阵 = 256×256,重复时间 = 3000 ms,回波时间 = 45 ms,翻转角度 = 180°,像层厚 = 1.0 mm,层间距 = 1.0 mm,采集时间 = 8 min 24 s,重复次数 = 4。血管造影成像序列选择 FLASH 3D 成像,参数:视野 = 3.50 cm×3.50 cm×3.00 cm,矩阵 = 256×256×128,重复时间 = 15 ms,回波时间 = 2.5 ms,翻转角度 = 20°,采集时间 = 12 min 17 s,重复次数 = 2。

1.3.3 图像数据处理

长爪沙鼠脑动脉扫描数据采用 RadiAnt DICOM Viewer 软件进行处理分析,窗位和窗宽设定为 12 200 和 24 400。将影像学 DICOM 数据导入医学影像控制软件(materialise's interactive medical image control system,MIMICS,版本:V20)中,进行血管三维重建显示其构筑。

1.3.4 乳胶灌注

动物采用 4%异氟烷诱导麻醉,1.5%异氟烷维持麻醉。待动物麻醉后迅速打开其胸腔暴露心脏。将输液器针头从左心室刺入心脏同时剪开右心耳,快速灌注 0.9%氯化钠注射液进行血管冲洗。待血管冲洗干净后,使用注射泵以 1 mL/min 的速度缓慢

灌注红色乳胶染料约每只 4 mL。将脑组织从颅骨中小心剥离,脑组织放入组织固定液中进行充分固定,约 24 h 后进行观察。

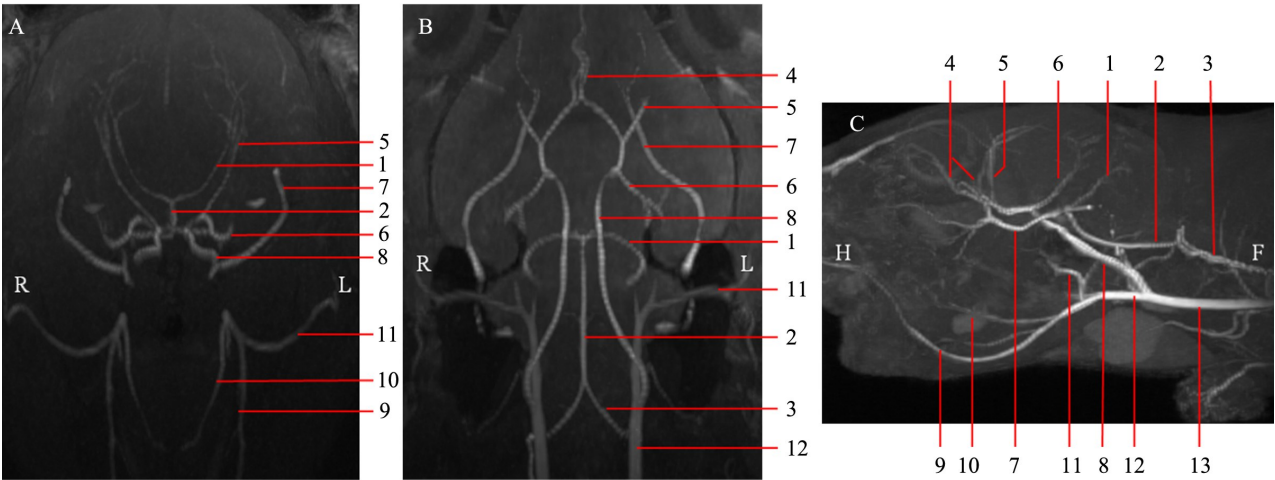
1.4 统计学方法

实验数据使用 SPSS 22.0 统计软件进行处理,采用两独立样本秩和检验对数据进行分析,数据描述采用中位数(四分位间距),统计量报告 Z 值和 P 值。当 P<0.05 认为具有显著性差异。

2 结果

2.1 3D-TOF-MRA 显示脑动脉

为直观地反映长爪沙鼠脑部动脉走行和血管间相对位置,分别截取横断面、冠状面和矢状面 3 个脑动脉图像(如图 1)。通过图像可以看到,长爪沙鼠头部动脉血管主要包括颈动脉系和椎-基底动脉系,而颅脑内血液主要由颈内动脉和基底动脉供应。颈内动脉首先在颅脑外发出翼腭动脉,随后进入颅脑后发出大脑后动脉、大脑中动脉和大脑前动脉。其中,左右两侧大脑前动脉相互交叉,随后向前和后上方分别发出分支。大脑中动脉发出后绕过大脑下缘从大脑中部向后上走行并发出分支。大脑后动脉发出后绕过大脑下缘从侧后向上走行并发出分支。颅脑外左右两侧各有一条椎动脉汇合形成基底动脉,基底动脉在小脑前缘向前上方走



注:A:横断面;B:冠状面;C:矢状面;1:小脑上动脉;2:基底动脉;3:椎动脉;4:大脑前动脉;5:大脑中动脉;6:大脑后动脉;7:翼腭动脉;8:颈内动脉;9:颌外动脉;10:舌动脉;11:枕动脉;12:颈外动脉;13:颈总动脉;R:右侧;L:左侧;H:头侧;F:足侧。

图1 长爪沙鼠脑动脉 MRA 图像

Note. A, Axial image. B, Coronal image. C, Sagittal image. 1, Superior cerebellar artery. 2, Basilar artery. 3, Vertebral artery. 4, Anterior cerebral artery. 5, Middle cerebral artery. 6, Posterior cerebral artery. 7, Pterygopalatine artery. 8, Internal carotid artery. 9, External maxillary artery. 10, Lingual artery. 11, Occipital artery. 12, External carotid artery. 13, Common carotid artery. R, Right. L, Left. H, Head. F, Feet.

Figure 1 MRA images of cerebral arteries in Mongolian gerbils

行并发出两个小脑上动脉分支。另外,从图中可看到,颈外动脉向前走行,主要发出枕动脉、舌动脉和颌外动脉等分支。

2.2 乳胶灌注方法观察脑动脉

为了评价和比较 3D-TOF-MRA 法对长爪沙鼠脑血管的观察效果,我们还采用乳胶灌注法对长爪沙鼠脑动脉进行了观察(如图 2)。从图中可以看到,3D-TOF-MRA 法能够观察到的大脑前动脉向后上方走行的分支,但是在乳胶灌注法中无法看到。另外,我们对两种方法能显示的血管最大分支级数

进行了比较。其中,对于大脑前动脉血管分支的观察,两种方法无差异。对于大脑中动脉的观察乳胶灌注法和 3D-TOF-MRA 法可以观察到最高分支级数分别为 4 级和 2 级,具有显著性差异(如表 1)。对大脑后动脉的观察乳胶灌注法和 3D-TOF-MRA 法可以观察到最高分支级数分别为 3 级和 2 级,同样具有显著性差异。

2.3 3D-TOF-MRA 方法比较长爪沙鼠和大鼠后交通支

后交通支作为大脑后动脉和小脑上动脉的连

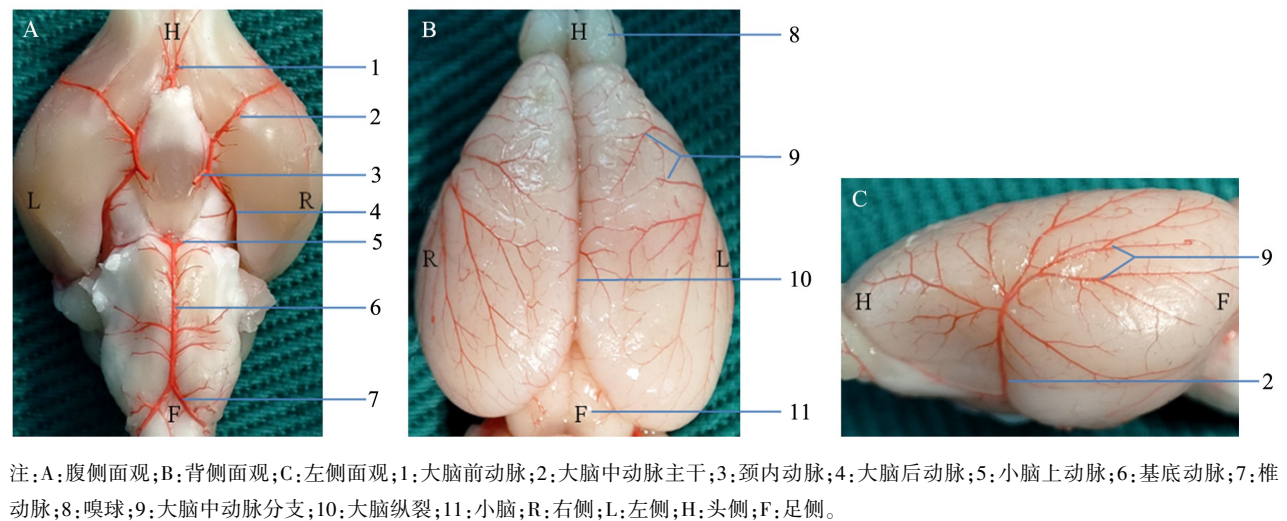


图 2 长爪沙鼠脑动脉乳胶灌注结果

Figure 2 Latex perfusion results of cerebral arteries in Mongolian gerbils

表 1 两种方法观察不同动脉的效果比较
Table 1 Comparison of two methods for observing arteries

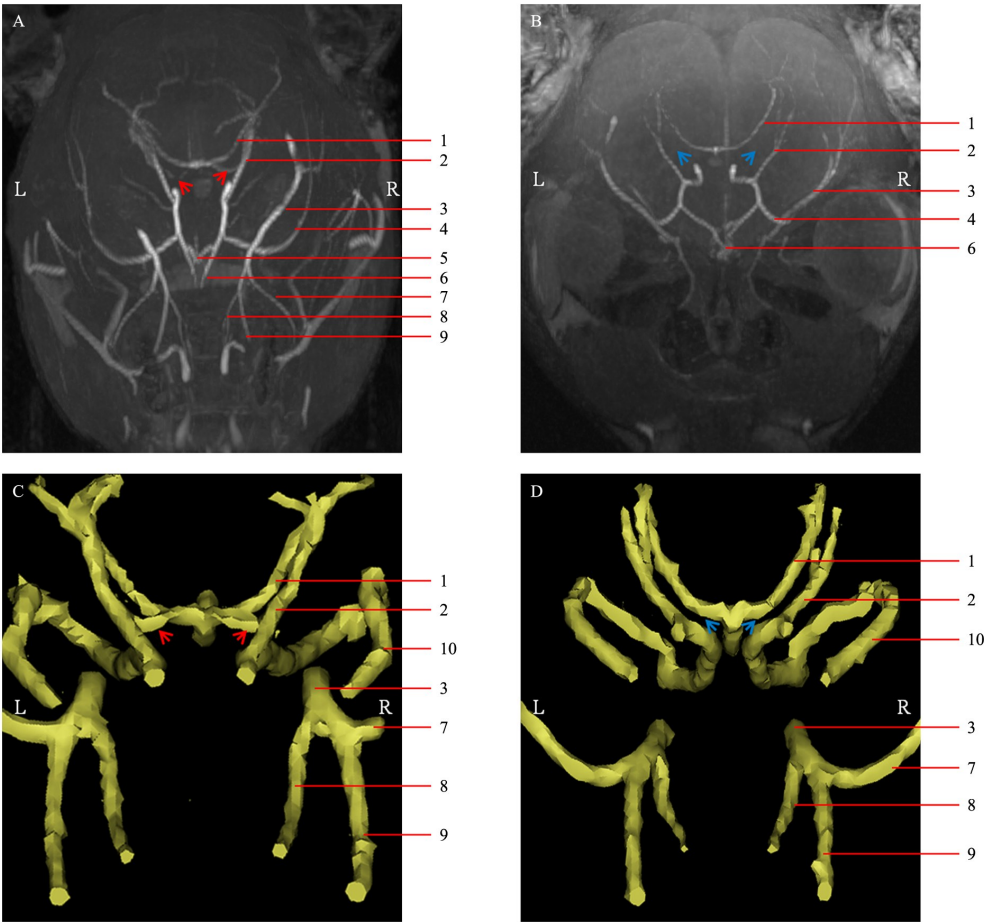
动脉 Arteries	观察方法 Methods	中位数(四分位间距) Median (Interquartile range)	Z	P
大脑前动脉 Anterior cerebral artery	三维时间飞跃法磁共振血管成像 3D-TOF-MRA	1(1, 1.25)	-1.304	0.315
	乳胶灌注法 Latex perfusion	1.5(1, 2)		
大脑中动脉 Middle cerebral artery	三维时间飞跃法磁共振血管成像 3D-TOF-MRA	2(1, 2)	-3.713	0.000
	乳胶灌注法 Latex perfusion	4(3.25, 4)		
大脑后动脉 Posterior cerebral artery	三维时间飞跃法磁共振血管成像 3D-TOF-MRA	2(1, 2)	-3.744	0.000
	乳胶灌注法 Latex perfusion	3(3, 3.75)		

接血管,在脑部缺血代偿机制中起到重要作用,以往研究中认为部分长爪沙鼠存在后交通支缺失的现象^[2-3]。本实验所用长爪沙鼠通过 3D-TOF-MRA 法均未观察到后交通支,这也与乳胶灌注法结果一致。为了进一步证实 3D-TOF-MRA 法观察后交通支的效果,我们选用与长爪沙鼠体重相似的幼年大鼠进行了验证。结果显示,3D-TOF-MRA 法可以清晰地观察到大鼠后交通支(如图 3A、3B)。为了更直观地反映后交通支在大脑后动脉和小脑上动脉之间的位置关系,我们使用 MIMICS V20 软件进行

了局部动脉的三维重建(如图 3C、3D)。

2.4 3D-TOF-MRA 方法对长爪沙鼠脑动脉异常结构的观察

通过 3D-TOF-MRA 方法,我们尝试观察长爪沙鼠脑动脉发育异常的情况。如图 4 所示,我们共采集了 10 只长爪沙鼠的脑动脉影像数据,发现存在单侧大脑前动脉狭窄的动物 1 只,存在单侧大脑后动脉缺失的动物 1 只,存在单侧椎动脉缺失的动物 1 只。以上结果提示,此方法可以有效地筛查出存在大脑主要动脉狭窄或缺失等发育异常的动物。

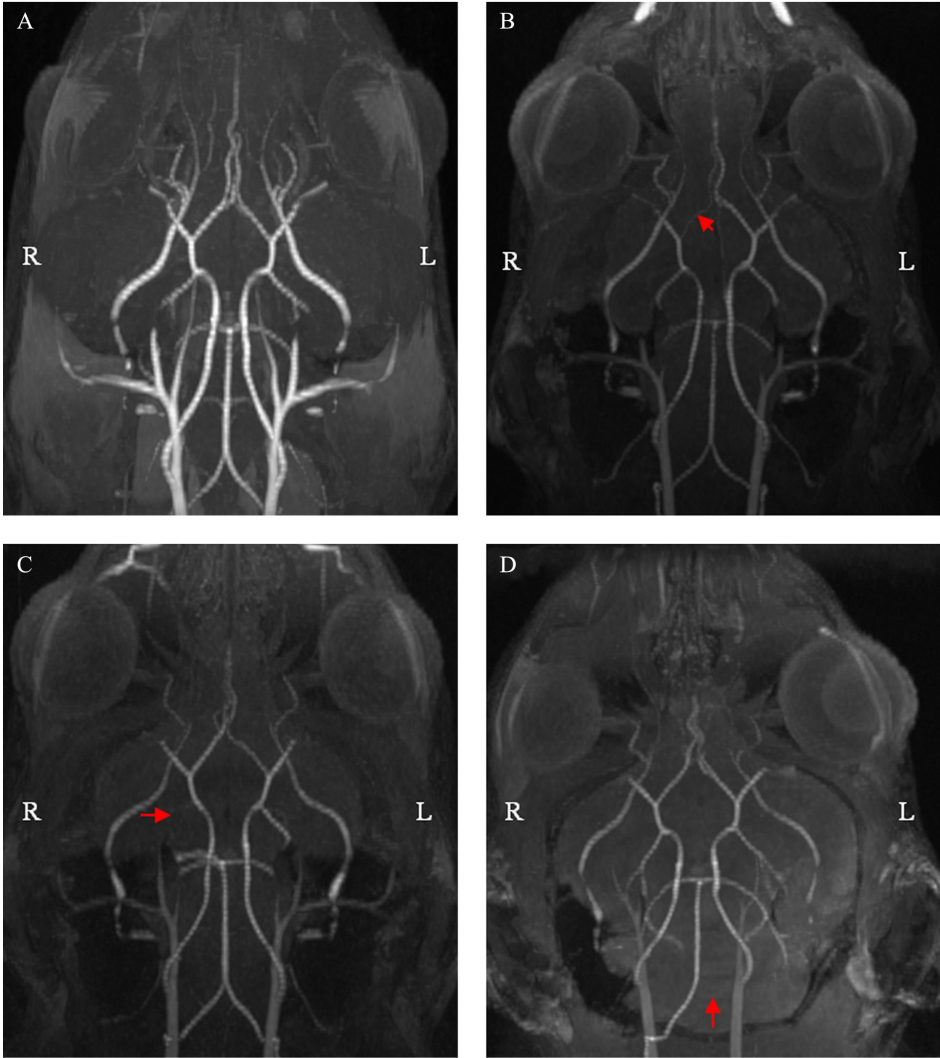


注:A:大鼠脑动脉;B:长爪沙鼠脑动脉;C:大鼠脑动脉三维重建图;D:长爪沙鼠脑动脉三维重建图;1:小脑上动脉;2:大脑后动脉;3:颈外动脉;4:大脑中动脉;5:前交通支;6:大脑前动脉;7:枕动脉;8:舌动脉;9:颌外动脉;10:翼腭动脉;R:右侧;L:左侧;H:头侧;F:足侧;图中红色箭头所示为大鼠后交通动脉位置,蓝色箭头标所示为长爪沙鼠后交通支缺失位置。

图3 脑动脉 MRA 图像及三维重建图

Note. A, Rat cerebral artery. B, Mongolian gerbil cerebral artery. C, 3D reconstruction of rat cerebral arteries. D, 3D reconstruction of cerebral arteries in Mongolian gerbils. 1, Superior cerebellar artery. 2, Posterior cerebral artery. 3, External carotid artery. 4, Middle cerebral artery. 5, Anterior communicating artery. 6, Anterior cerebral arteries. 7, Occipital artery. 8, Lingual artery. 9, External maxillary artery. 10, Pterygopalatine artery. R, Right. L, Left. H, Head. F, Feet. The red arrow indicates the location of the posterior communicating artery in rats, while the blue arrow indicates the location of the missing posterior communicating artery in Mongolian gerbils.

Figure 3 MRA images and 3D reconstruction of cerebral arteries



注：A：脑动脉正常结构图；B：大脑前动脉狭窄；C：大脑后动脉缺失；D：椎动脉缺失。图中红色箭头所示为缺失位置；R：右侧；L：左侧。

图 4 长爪沙鼠脑动脉结构发育异常 MRA 图像

Note. A, Normal structure of cerebral arteries. B, Stenosis of the anterior cerebral artery. C, Lack of posterior cerebral artery. D, Lack of vertebral artery. The red arrow indicates the missing position. R, Right. L, Left.

Figure 4 MRA images of abnormal development of cerebral artery structure in Mongolian gerbils

3 讨论

作为重要的实验动物资源,长爪沙鼠在行为学异常和癫痫等中枢神经系统疾病研究,特别是在脑血管相关疾病研究中被广泛应用^[7]。已有研究对于长爪沙鼠脑动脉的观察多采用染料灌注后取材观察的方法。该方法虽然能够较好的对组织表面的血管进行观察,但无法在保证动物存活的前提下使用,且无法观察到组织内部的血管,因此该方法在实际研究工作中的应用具有一定局限性^[2,8]。

3D-TOF-MRA 是一种用于反映血管的解剖形态的扫描技术,因其具备成像简单、无辐射等优点,在临床中被广泛用于脑血管检查及脑血管疾病筛

查^[9-10]。在基础研究中,3D-TOF-MRA 技术已经被用于大鼠脑血管相关的研究中,并取得了较好的效果^[11-12]。本研究结果提示,3D-TOF-MRA 技术能够较好地观察长爪沙鼠脑部主要血管的结构与走行,并能及时发现其动脉血管的结构异常。最后,对两种方法的优点与不足进行了比较(见表 2)。

总之,认为 3D-TOF-MRA 技术可以用于活体长爪沙鼠脑血管结构的观察,并有助于提升长爪沙鼠在脑缺血相关疾病预防及治疗研究中的应用前景。因此,本方法具有较好的推广价值。但还存在不足之处,受条件所限,本方法对于较细的动脉分支观察效果还存在不足,后续可以通过改进仪器设备或技术参数的方法来提高观察效果。

表 2 两种血管观察方法特点比较

Table 2 Comparison of the characteristics of two vascular observation methods

方法 Methods	优点 Advantages	不足 Defects
乳胶灌注法 Latex perfusion	1. 较细血管显示效果好 2. 操作简单 1. It can show thinner vascular branches 2. Simple operation	1. 无法进行在体检测 2. 无法在不借助繁复的脑透明化技术的前提下观察脑组织内部血管 1. It can't be used <i>in vivo</i> 2. It is impossible to observe the blood vessels inside brain tissue without the complicated transparency Technology
三维时间飞跃法磁共振血管成像 3D-TOF-MRA	1. 可进行在体检测 2. 可观察脑组织内部血管 1. It can be used <i>in vivo</i> 2. It can be used to observe the blood vessels inside brain tissue	1. 对较细血管显示效果较差 2. 需要 MRI 扫描仪 1. Thinner vessel branches cannot be clearly displayed 2. Need an MRI scanner

参考文献:

[1] 王陇德.《中国脑卒中防治报告 2020》概要 [J]. 中国脑血管病杂志, 2022, 19(2):136-144.
WANG L D. Brief report on stroke prevention and treatment in China, 2020 [J]. Chin J Cerebrovasc Dis, 2022, 19(2):136-144.

[2] DU X Y, ZHU X D, DONG G, et al. Characteristics of circle of Willis variations in the Mongolian gerbil and a newly established ischemia-prone gerbil group [J]. ILAR J, 2011, 52(1): E1-E7.

[3] WU Y, HU C, LI Z, et al. Development of a new cerebral ischemia reperfusion model of Mongolian gerbils and standardized evaluation system [J]. Anim Model Exp Med, 2024, 7(1): 48-55.

[4] LI Y, ZHANG J. Anim models of stroke [J]. Anim Model Exp Med, 2021, 4(3): 204-219.

[5] 刘子航, 李世星, 王月, 等. 通过 3D-TOF-MRA 分析 Willis 环形态改变与颅内动脉瘤的研究进展 [J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26(1): 38-39.
LIU Z H, LI S X, WANG Y, et al. Progress in the study of morphological changes of Willis ring and intracranial aneurysms by 3D-TOF-MRA [J]. Chin Med Device Inf, 2020, 26(1): 38-39.

[6] 孙宏, 张秀玲, 王智宝. 3D-TOF-MRA 对椎-基底动脉病变的诊断价值 [J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2023, 21(4): 22-24.
SUN H, ZHANG X L, WANG Z B. Value of 3.0T high-field magnetic resonance 3D-TOF-MRA on the identification of intracranial Vertebral Basilar lesions [J]. Chin J CT MRI, 2023, 21(4): 22-24.

[7] CURNOW E, WANG Y. New animal models for understanding FMRP functions and FXS pathology [J]. Cells, 2022, 11(10): 1628.

[8] KUCHINKA J, NOWAK E, SZCZURKOWSKI A, et al. Arteries supplying the base of the brain in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) [J]. Pol J Vet Sci, 2008, 11(4): 295-299.

[9] 孙沙沙, 徐贤, 崔龙彪, 等. 多模态磁共振成像在认知功能障碍中的研究进展 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2023, 25(5): 555-557.
SUN S S, XU X, CUI L B, et al. Research progress of multimodal magnetic resonance imaging in cognitive dysfunction [J]. Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis, 2023, 25(5): 555-557.

[10] 张天翼, 董璟. 磁共振血管成像(MRA)在缺血性脑血管疾病患者诊断中的应用效果 [J]. 贵州医药, 2023, 47(12): 1971-1972.
ZHANG T Y, DONG J. Application of magnetic resonance angiography (MRA) in the diagnosis of ischemic cerebrovascular disease [J]. Guizhou Med J, 2023, 47(12): 1971-1972.

[11] 雷建锋, 赵媛媛, 王战京, 等. 超高磁场下大鼠脑血管成像技术应用 [J]. 现代仪器与医疗, 2020, 26(2): 49-52.
LEI J F, ZHAO Y Y, WANG Z J, et al. Application of cerebrovascular imaging technology in rats under ultra-high magnetic field [J]. Mod Instrum Med Treat, 2020, 26(2): 49-52.

[12] 张建, 雷建锋, 邹海艳, 等. 磁共振成像在脑缺血基础研究中的应用 [J]. 医学综述, 2019, 25(16): 3253-3258.
ZHANG J, LEI J F, ZOU H Y, et al. Application of magnetic resonance imaging in basic research of cerebral ischemia [J]. Medical Rev, 2019, 25(16): 3253-3258.

[收稿日期] 2024-06-18