

鼠动脉粥样硬化模型的建立

郭延松, 杨军珂 综述, 吴宗贵 审校

(中国人民解放军第二军医大学长征医院心内科, 上海市 200003)

[关键词] 病理学; 建立大鼠动脉粥样硬化模型; 综述; 脂质浸润; 内膜损伤

[摘要] 动脉粥样硬化的形成是多因素引起的。从动脉粥样硬化主要的发病机制出发, 介绍了多种动脉粥样硬化大鼠和小鼠模型建立的具体方法, 并比较了它们的优缺点。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

建立合适的动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)动物模型是研究动脉粥样硬化发病机制及其治疗的重要条件。在常用的实验动物中家兔不易自发性产生As, 但它对高脂饮食特别敏感, 故有人将它作为As模型, 但它产生的损伤更类似于黄瘤病, 而不象人的As; 鸡可产生自发性As, 但主要形成脂质条纹, 且它的局部解剖学与人不同, 也限制了它的应用; 猴和猪的系统发育和饮食结构类似于人, 可产生自发性As, 是研究As的理想实验动物, 但由于其购买和维持费用昂贵, 难以作为模型广泛使用。鼠虽具有抗As特性, 但由于鼠应用广泛、易获得和易饲养, 人们还是不断摸索建立鼠的As模型, 现就此作一综述。

1 大鼠模型

1.1 脂质浸润

脂质浸润学说认为As的发生与脂质代谢失常密切相关, 其本质是动脉壁对从血浆侵入的脂质的反应。因此大多数As模型建立在高胆固醇食物(1%~5%胆固醇+0.5%胆酸)基础上, 但单纯高胆固醇饮食只能产生脂质沉积, 无法产生真正意义的As。抑制甲状腺功能可明显提高血脂水平, Wissler等^[1]在高胆固醇食物基础上给予抗甲状腺药物导致大鼠高脂血症, 并有早期As表现。Patek等^[2]发现垂体摘除术后大鼠通过抑制甲状腺功能也能达到致早期As的目的, 但高胆固醇+抗甲状腺药物应用的大鼠仍无法形成成熟斑块。

1.2 钙超载

文献[3]报道, 健康冠状动脉壁钙含量处于低水平; 而在脂质条纹期钙含量增加13倍; 纤维斑块期钙含量较正常增加24倍; 到晚期的复合斑块期钙含量达到健康冠状动脉的80倍, 故有人考虑从钙超载的角度来建立As模型。单纯大剂量维生素D₂应用无法形成As, Wilgram^[4]应用维生素D₂给大鼠连续灌胃4天, 1.5%胆固醇+0.5%胆酸+0.2%丙

基硫氧嘧啶食物, 6周后出现明显As, 说明大剂量维生素D₂可造成大鼠动脉中层的严重损伤和钙化。Jellinek等^[5]认为脂肪乳包含大豆提取物、中链甘油三酯、磷脂和甘油, 较胆固醇更易形成As模型, 前者只需8天就能使血管产生As样损伤, 后者则需几个月。

1.3 内膜损伤

损伤反应学说认为As的形成是动脉对内膜损伤的反应, 故有人从该角度出发建立As模型。最多见的是直接机械损伤内膜。Joan等^[6]将球囊导管自颈外动脉进入胸主动脉, 以生理盐水充盈球囊, 向外拉至颈外动脉, 再进入胸主动脉, 重复3次, 高胆固醇喂食8周后, 可出现明显As表现; Fishman等^[7]和张磊等^[8]利用血管空气干燥术建立模型, 先分离颈动脉, 两端以动脉夹阻断血流, 头皮针尽可能与血管纵轴方向平行穿刺阻断血管的两端, 冲洗出血液, 接上流量250 ml/min的气流, 历时5 min造成内膜干燥, 然后注入生理盐水, 放开动脉夹恢复血流, 高胆固醇喂食数周后, 可出现明显As表现。前者造成内皮细胞的即刻剥脱, 且造成较严重的弹力板及中膜损伤, 后者并不立即造成内膜剥脱, 也不造成弹力板及中膜损伤, 而是通过造成内皮细胞功能障碍和变性, 于24~48 h内内皮脱落。由于对急性冠状动脉综合征研究的需要, 必须建立粥样斑块破裂模型, 现主要应用于家兔, 可以借鉴于大鼠模型。Rekhter等^[9]将球囊导管置于被球囊损伤的胸主动脉内膜处, 高脂喂养可使粥样斑块覆盖于球囊上, 充盈球囊, 即可致斑块破裂, 这样不仅建立斑块破裂模型, 还可以通过测量最大充盈压比较斑块的相对稳定性, 同时可以通过球囊导管的另一通道注入实验药物, 比较药物疗效。Abela等^[10]先用高胆固醇饮食喂食家兔建立As模型, 后用鲁塞尔蛙蛇毒腹腔注射, 半小时后静脉注射组胺, 触发兔As斑块破裂和血栓形成。

1.4 免疫刺激

由于As的发病机制有免疫因素的存在, 有人从免疫的角度来探讨As模型。Moazed等^[11]和Campbell等^[12]采用载脂蛋白E^{-/-}(载脂蛋白E基因敲除或缺失)小鼠鼻内接种 3×10^7 单位肺炎衣原体, 数周后重复接种, 可产生As改变; Joseph^[13]通过导管将 $(1 \sim 6) \times 10^6$ 单位肺炎衣原体以4个大气压接种于腹主动脉管壁上, 正常饮食8周后可见As, 不过

[收稿日期] 2002-06-13 [修回日期] 2002-10-30

[作者简介] 郭延松, 男, 1971年出生, 福建省福清人, 博士, 主要从事冠心病的研究, E-mail: ysgou1234@sina.com。杨军珂, 男, 1970年出生, 汉族, 河南省洛阳人, 博士, 主要从事冠心病的研究。吴宗贵, 男, 1952年出生, 汉族, 江西省人, 教授, 博士研究生导师。

该模型是建立在兔上; Castellanos 等^[14]以卵白蛋白皮下注射使大鼠致敏,再腹腔注射 2.5 mg/kg 卵白蛋白一周内 5 次,无论有无高胆固醇饮食,都可以使主动脉产生 As; Bruning 等^[15]和 Span 等^[16]以巨细胞病毒感染使大鼠血管产生 As。临床上还有一些移植性 As 模型,如冠状动脉搭桥术和心脏移植术后所致的血管粥样硬化,常由于慢性排斥反应所致,先发生在中小动脉,后扩展到整个动脉系统,与通常所称的 As (局灶性和不对称性)相比,移植性 As 呈普遍性。由于移植手术的开展普遍性,对该类型 As 的研究逐渐增多,建立合适的模型十分必要。Ari 等^[17]将大鼠降主动脉约 1.5 cm 切下作为移植,移植到另一只大鼠的腹主动脉上,一端接于肾主动脉上,另一端接于肾主动脉分叉之下,分别于 10、20、30、60、90、120、150、180 和 360 天后检查该动脉,发现该模型类似于人实质性器官(如心脏和肾脏)移植后的血管 As 改变,可作为模型应用。文献[18~20]分别建立了大鼠心脏移植和主动脉移植后动脉粥样硬化模型,均获得成功。家兔的其它免疫刺激模型也可借鉴, Lin 等^[21]应用牛痘病毒 4 接种家兔,同时高胆固醇喂食,可产生明显 As 模型。Kleindienst 等^[22]接种热休克蛋白于家兔,也可产生 As 模型。

1.5 其它途径

Sasaki 等^[23]在高胆固醇饲养+球囊血管去内膜的基础上,提高血压的不稳定性可产生明显的 As 模型,将大鼠分 5 组(对照组、高胆固醇组、高胆固醇+去内膜组、高胆固醇+去内膜+一侧肾动脉结扎组和高胆固醇+去内膜+主动脉窦剥除组),6 周后处死动物,对照组和高胆固醇组未发现 As 改变,高胆固醇+去内膜组为轻度的内膜增厚和平滑肌细胞增殖,高胆固醇+去内膜+一侧肾动脉结扎组出现典型的 As 斑块和明显钙化表现,高胆固醇+去内膜+主动脉窦剥除组为轻度到中度的粥样斑块。丙烯酰胺使脂质过氧化、OH 根产生和谷胱甘肽耗竭, Misra 等^[24]利用丙烯酰胺具有很强的特异的心血管毒性,建立 As 模型。以丙烯酰胺每天 100 mg/kg 管饲 10 天,大鼠主动脉即可出现内膜下血管平滑肌细胞增殖,类似于人 As 的早期纤维斑块。

2 小鼠模型

以小鼠作为模型时常采用纯系小鼠。Jean 等^[25]以 C57BL/6J 纯系小鼠高胆固醇喂 10~20 周可产生动脉脂质条纹,再喂 15 周可产生动脉纤维斑块;杨小毅等^[26]取 C57BL/6J 纯系小鼠 2% 胆固醇喂 16 周,在主动脉瓣膜、冠状动脉等部位形成典型的含有大量泡沫细胞的动脉粥样硬化斑块; Roberts 等^[27]应用 C57BL/6J 纯系小鼠喂 4.5% 胆固醇+27% 可可油,15 周后出现明显 As 表现; Campbell 等^[12]采用载脂蛋白 E^{-/-} (载脂蛋白 E 基因敲除或缺失)小鼠鼻内接种肺炎衣原体可产生 As 改变; Russell 等^[28]采用 JCR:LA 小鼠建立 As 模型,该小鼠是一种肥胖基因合并品系,它具有肥胖、胰岛素抵抗和高脂等特点,能产生自发性 As。

综上所述,从动脉硬化的发病机制出发,建立鼠动脉硬化模型可获得成功,只不过在模型形成的时间和动脉硬化的程度上有所不同。但如何在较短时间内建立典型成熟的动

脉粥样硬化斑块模型还有待于更深入的研究比较。

[参考文献]

- [1] Wissler RW, Eilert ML, Schroeder MA, Cohen L. Production of lipomatous and atheromatous arterial lesions in the albino rat. *Arch Pathol*, 1954, **57**: 333
- [2] Patek PR, Bernick S, Ershoff BH, Wells A. Induction of atherosclerosis by cholesterol feeding in the hypophysectomized rat. *Am J Pathol*, 1963, **42**: 137
- [3] Fleckenstein KN, Kehel L, Bouayadi FE, Fdhill H, Amarti A, Saidi A, et al. New model of atherosclerosis in insulin resistant sand rats: hypercholesterolemia combined with D₂ vitamin. *Atherosclerosis*, 2000, **150**: 55-61
- [4] Wilgram GF. Dietary method for induction of atherosclerosis, coronary occlusion and myocardial infarcts in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1958, **99**: 496
- [5] Jellinek H, Harsing J, Fuzcesi SZ. A new model for arteriosclerosis, an electron microscopy study of the lesions induced by i. v. administered fat. *Atherosclerosis*, 1982, **43**: 7-18
- [6] Joen RS, Ching HW, Yi CC, Hsiao G, Lin CH. Mechanisms in the inhibition of neointimal hyperplasia with triflavin in a rat model of balloon angioplasty. *J Lab Clin Med*, 2001, **13** (4): 270-277
- [7] Fishman JA, Graeme BR, Morris JK, Lin K. Endothelial regeneration in the rat carotid artery and the significance of endothelial denudation in the pathogenesis of myointimal thickening. *Lab Invest*, 1975, **32**: 339-351
- [8] 张磊, 陈国荣, 郑荣远, 王群姬, 谢淑萍, 王拥军. 高脂饲料加空气干燥术建立兔颈动脉粥样硬化模型. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **9** (2): 155-158
- [9] Rekhter MD, Hicks GW, Brammer DW, Work CW, Kim JS, Gordon D, et al. Minimal model that mimics atherosclerotic plaque rupture. *Circ Res*, 1998, **83**: 705-713
- [10] Abela GS, Picon PD, Friedl SE, Gebara OC, Miyamoto A, Federman M, et al. Triggering of plaque disruption and arterial thrombosis in an atherosclerotic rabbit model. *Circulation*, 1995, **91**: 776-784
- [11] Moazed TC, Kuo CC, Grayston JF, Campbell LA. Murine models of chlamydia pneumoniae infection and atherosclerosis. *J Infect Dis*, 1997, **175**: 883-890
- [12] Campbell LA, Blessing E, Rosenfeld M, Lin T, Kuo C. Mouse models of c. pneumoniae infection and atherosclerosis. *J Infect Dis*, 2000, **181** (3): S508-513
- [13] Joseph BM. Chlamydia pneumoniae-induced atherosclerosis in a rabbit model. *J Infect Dis*, 2000, **181** (3): S505-507
- [14] Castellanos E, Sueishi K, Tanaka K, Ishii Y. Ultrastructural studies of rat arteriosclerosis induced by stimulation of the immune system with ovalbumin. *Acta Pathol JPN*, 1991, **41** (2): 113-121
- [15] Bruning JH, Persoons M, Lemstrom K, Stals FS, De Clercq E, Bruggeman CA. Enhancement of transplantation-associated atherosclerosis by CMV, which can be prevented by antiviral therapy in the form of HPMP. *Transpl Int*, 1994, **7** (Suppl 1S3): 65-70
- [16] Span AH, Grauls G, Bosman F, van Boven CP, Bruggeman CA. Cytomegalovirus infection induces vascular injury in the rat. *Atherosclerosis*, 1992, **93** (1-2): 41-52
- [17] Ari M, Sinikka T, Jorma H. Chronic rejection in rat aortic allografts. *Arterioscler Thromb*, 1991, **11** (3): 671-680
- [18] Menemander A, Tiisala S, Paavonen T, Halttunen J, Hayry P. Chronic rejection of rat aortic allograft, Administration of cyclosporin induces accelerated allograft arteriosclerosis. *Transpl Int*, 1991, **4** (3): 173-179
- [19] Cramer DV, Chapman FA, Wu GD, Harnaha JB, Qian SQ, Makowka L. Cardiac transplantation in the rat, Alteration of the severity of donor graft arteriosclerosis by modulation of the host immune response. *Transplantation*, 1990, **50** (4): 554-558
- [20] Menemander A, Tiisala S, Halttunen J, Yilmaz S, Paavonen T, Hayry P. Chronic rejection in rat aortic allografts. An experimental model for transplant arteriosclerosis. *Arterioscler Thromb*, 1991, **11** (3): 671-680
- [21] Lin TM, Jiang MJ, Eng HL, Shi GY, Lai LC, Huang BJ, et al. Experimental infection with bovine herpesvirus-4 enhances atherosclerotic process in rabbits. *Lab Invest*, 2000, **80** (1): 3-11
- [22] Kleindienst R, Schett G, Amberger A, Seitz CS, Michaelis D, Metzler B, et al. Atherosclerosis as an autoimmune condition. *Isr J Med Sci*, 1995, **31** (10): 596-599

- [23] Sasaki S, Yoneda Y, Fujita H, Uchida A, Takenaka K, Takesako T, et al. Association of blood pressure variability with induction of atherosclerosis in cholesterol-fed rats. *Am J Hypertens*, 1994, **7**: 453-459
- [24] Misra P, Srivastava SK, Singhal SS, Awasthi S, Awasthi YC, Boor PJ. Glutathione *S*-transferase is localized in smooth muscle cells of rat aorta and is induced in an experimental model of atherosclerosis. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1995, **133**: 27-33
- [25] Jean L, Stewart P, John L. Pathology of atherosclerosis in cholesterol-fed, susceptible mice. *Atherosclerosis*, 1991, **90**: 211-218
- [26] 杨小毅, 杨永宗, 谭健苗, 袁中华, 万载阳. 一种纯系小鼠动脉粥样硬化病理模型的建立. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4** (1): 54-57
- [27] Roberts A, Thompson JS. Genetic factors in the development of atheroma and on serum total cholesterol levels in inbred mice and their hybrids. *Prog Biochem Pharmacol*, 1977, **13**: 298
- [28] Russell JC, Koeslag DG, Amy RM, Dolphin PJ. Independence of myocardial disease in the JCR:LA-corpulent rat on plasma cholesterol concentration. *Clin Invest Med*, 1991, **14** (4): 288-295
- (此文编辑 朱雯霞)