

关于动脉粥样硬化斑块破裂的动物模型

许金鹏¹ 摘译, 王绿娅² 审校

(首都医科大学附属安贞医院 1. 心内科; 2. 动脉粥样硬化研究室, 北京市 100029)

脑血管和心血管的急性闭塞, 常常是由于“易损斑块 (vulnerable plaque)” (不稳定斑块——编者注) 的破裂, 进而诱发血栓形成引起。易损斑块含有一个富含脂质的核心, 但只有一层薄薄的纤维帽 (fibrous cap) 将脂核与动脉管腔隔开。斑块破裂是一个多因素参与的过程, 血栓可以发生在斑块的溃疡部位, 不一定要纤维帽完全破裂。所以寻找合适的动脉粥样硬化 (As) 动物模型, 用于研究易损斑块发生发展的机制变得十分重要和迫切。

1 动脉粥样硬化和斑块破裂的动物模型

人类的斑块破裂及伴发的血栓闭塞是一个漫长而又复

杂的病理生理过程, 不可能被其他动物模型完全重现。理想的斑块破裂动物模型应当具备以下特点: ①动物模型 As 过程在组织学上应该与人类相同; ②动物模型的 As 斑块应与人类具有相同的破裂易损性; ③导致动物模型斑块易损破裂的因素应当尽可能与人类相同; ④动物模型的斑块破裂无需人为处理; ⑤斑块破裂后应伴有血小板聚集血栓形成; ⑥动物模型对药物治疗的反应具有在人体上重现的可能性; ⑦作为动物模型的物种应容易获得且饲养费低廉, 斑块破裂应在合理的时间框架内重复发生。

2 非小鼠动脉粥样硬化模型

(下转第 444 页)

(上接第 440 页)

兔是素食动物,要产生富含脂质的 As 病变,必须饲以含大量脂肪和胆固醇的高脂饮食,兔的 As 病变只与人的病变表面上相似,其病变中的脂类量和巨噬细胞量远比人类大。

白卡尔诺鸽的 As 病变在组织学和超微结构上与人类更加相似。然而,与人类不同,它们对 As 的易感性决定于动脉管壁本身的性质。在其体内胆固醇水平正常,而且缺乏其它的危险因素,因此它们的病变应该完全归因于遗传因素。

高胆固醇饮食情况下,灵长类动物,包括黑猩猩、松鼠猴、吼猴、恒河猴和猕猴,可以发展成与人类相同的 As。但其价格高昂,而且许多都是受保护的物种。因此,目前一般只限于 As 复杂因素的研究,例如精神压力的影响。

猪是目前最有用而易得的 As 动物模型之一。在正常饮食下猪也会产生 As。当饲以高胆固醇饮食时,其血浆胆固醇水平升高,而且会发生与人类相同的 As 病变。白比利时猪在应激时也可以出现猝死。但是,猪的饲养费用高且很难饲养。

狗与鼠通常不发生 As,仅当它产的饮食经过特别调整后才会发生 As。近些年来,人们制备了一些转基因小鼠模型,并产生了与人类相似的 As 病变。

3 斑块小的动物模型为什么总不完美?

小鼠有一套与人类截然不同的脂类处理体系,其胆固醇大部分被转运入一些 HDL 类颗粒。另外,小鼠的体重大约是 25 g,是人类平均体重的 3 000 分之一。小鼠的细胞与人类大小基本相同,这就意味着相同部位切片包含的细胞数相

差 3 000 倍。

小鼠的动脉内皮层与内皮弹力层直接相连,中层只有极少几层平滑肌细胞。其 As 病变常常在弹力层上,动脉中层重塑和动脉瘤在小鼠很普遍。另外,小鼠的斑块溃疡和纤维帽完全破裂之间没有明显界限。在小鼠模型中,尽管可以见到经典的只有一层单层纤维的偏心病变,但是多个坏互核心的病变也很常见。这些病变的存裂与人类斑块的存裂并不相似,这限制了小鼠模型应用于人类斑块破裂机制的研究。

去除载脂蛋白 E 基因敲除小鼠的清道夫受体可以减少病变的 60%。然而,在载脂蛋白 E3 莱顿小鼠 As 模型中,灭活清道夫受体增大了病变。对于这两种不同的结论,可能与载脂蛋白 E 调节巨噬细胞胆固醇的释放有关。

小鼠染色体链上存在基因异质性,可能引起在不同基因背景下的鼠给予相同基因处理后,表型会有很大的不同。C57BL/6 基因背景的载脂蛋白 E 敲除小鼠产生的病变范围,是 FVB 基因背景小鼠病变范围的 7 倍。这个问题理想的解决办法是,选择同种基基因链的小鼠仅仅改变其目标基因。另一种方法是通过同系繁殖制造一种共有的基因链,除了染色体含目标基因外其他部分都与对照组相同。但是这两种方法既费时又费钱。

4 斑块不稳定和斑块破裂的动物模型

最近报道几种动物模型可以模仿人类斑块破裂特征。唯一非小鼠斑块破裂模型是 Rekhater 于 1998 年设计的,用于评价斑块机械性强度和易损特性,而非用该模型来探讨易损斑块发展的病理生理机制。

(下转第 448 页)

(上接第 444 页)

使用镊子夹伤小鼠的主动脉可以造成血栓形成, 提供了载脂蛋白 E 基因敲除小鼠 As 模型斑块破裂的第一个间接证据。最近, Rosenfeld 小组报道, 使用大剂量的辛代他汀[50 mg/(kg·d)] 处理 30 周龄的载脂蛋白 E 缺陷型小鼠, 可以减少头臂动脉病变的出血和钙化。为辛代他汀对于进展的 As 病变具有稳定作用提供证据。

最近 Bristol 使用一种少见的 C57BL/6J129SvJ 混合基因背景的载脂蛋白 E 基因敲除型小鼠为动物模型, 饲以高脂饮食 14 个月。许多出现了 As 斑块破裂, 而且在头臂动脉和右颈总动脉的交界处出现管腔内血栓。但是, 在有斑块破裂和无破裂组猝死发生率无差别。

5 目前可用的斑块不稳定和斑块破裂的动物模型

目前尚无理想的斑块破裂模型。Rekhter 的兔模型和 p53 硅胶圈载脂蛋白 E 基因敲除小鼠模型都需要进行大胆处理创造斑块破裂的证据, 只能向我们提供有关斑块破裂病理生理方面的简单信息, 仅限于研究斑块破裂的机械过程。目前在载脂蛋白 E 基因敲除小鼠中, 斑块破裂都发生于高周龄高脂高胆固醇饮食的小鼠, 这些模型都面临着非议。Rosenfeld 的模型中, 斑块破裂的证据是间接的, 而且破裂特异地发生在头臂动脉。Bristol 的实验中, 斑块破裂也集中发生在头臂动脉, 并且只发生在高周龄和长期饲以高脂饮食的小鼠。两者都未有确切的证据表明在斑块破裂部位形成血栓, 这是一个非常重要的缺陷, 因为人类心脑血管疾病并非

由于动脉破裂, 而是由于富含血小板和纤维蛋白的血栓形成阻塞血管造成。

Bristol 的模型发生的死亡与斑块破裂并不相关。Rosenfeld 和 Bristol 的模型同时具有其他的缺点: 需要花费一年多时间饲养小鼠, 而且斑块破裂的发生率是易变的。

6 结论, 对未来的指导

人类 As 的发生是多年复杂因素作用的结果, 制作此类动物模型具有相当大的困难。而复制血栓闭塞事件就更加具有挑战性了。人类的血栓和斑块破裂事件是互相联系, 相互依存。为什么闭塞的血栓发生在特定时间的特殊部位, 成为疾病的结局, 它包含许多偶然随机的成分。有这么多缺陷, 动物模型还可靠吗? 回答是不肯定的。现存模型对探索 As 发生的某些特点, 特别对揭示特定基因的功能有一定帮助。他们对调查斑块的某些独立特性, 如纤维帽厚度和机械稳定性的相关性, 也有一定帮助。但是, 它们对于模仿 As 的并发症例如斑块破裂和血栓形成帮助不大。因为过程参与的复杂性, 所以并不确定能找到一种模仿 As 并发症的合适模型, 特别是可考虑作为模型的物种很少。因此, 在这些动物身上进行的稳定斑块的治疗实验有严重的局限性, 效果需要在人体得到确认。

(摘译自 Paul Cullen, Roberta Baetta, Stefano Bellosa, Franco Bernini, et al. Rupture of the Atherosclerotic Plaque Does a Good Animal Model Exist? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23: 535-542)

(此文编辑 胡必利)