

心肌梗死动物模型研究的最新进展

孙慧君¹, 范江霖²

(1. 大连医科大学药理学教研室, 辽宁省大连市 116027; 2. 日本筑波大学基础医学系心血管病研究室, 日本筑波市 305-8575)

[关键词] 病理学与病理生理学; 心肌梗死动物模型; 综述; 冠状动脉粥样硬化; 不稳定斑块; 家族性高脂血症

[摘要] 心肌梗死是发达国家的主要致死因素之一, 在我国随着生活习惯的改变及胆固醇摄取量的增加而增加。但对心肌梗死的研究及治疗因为没有合适的动物模型一直受到很大的限制。心肌梗死动物模型的研制及开发不但可以研究心肌梗死的发病机制以预防心肌梗死的发生, 也将为制定新的治疗方案用于治疗心肌梗死提供理论依据。本文将回顾这一方面的国际进展情况, 特别是将我们最近研制成功的自发型心肌梗死家兔模型作一重点介绍。此种家兔血中胆固醇水平明显升高, 心电图发现心肌梗死的典型征象。病理组织学分析表明, 此种家兔心肌梗死病变为陈旧性心肌梗死病变伴急性梗死病变, 与人类心肌梗死相似。导致心肌梗死病变部位的冠状动脉呈严重的粥样硬化, 狭窄程度达 90% 以上, 且有些斑块为不稳定性斑块。这些结果表明此种家兔可以作为人类心肌梗死的一种合适动物模型。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

心肌梗死是发达国家的主要致死因素之一, 在我国也随着生活习惯的改变及胆固醇摄取量的增加而不断增加。研究心肌梗死发生的机制, 不但可以预防心肌梗死的发生, 也将为制定新的治疗方案用于治疗心肌梗死提供理论依据。但心肌梗死的研究及治疗由于没有合适的动物模型一直受到很大限制。因此就迫切地需要研制出一种与人类心肌梗死非常相似的动物模型。至目前为止, 已有许多动物模型被报道, 本文将回顾这一方面的研究进展情况, 特别是将我们最近研制成功的自发型心肌梗死家兔模型作一重点介绍。

1 已报道的心肌梗死动物模型

已经报道的心肌梗死动物模型可以根据动物种类及制造方法不同分为以下几种: 首先是小鼠心肌梗死模型。小鼠体型较小, 容易造成转基因或基因敲除, 目前已有报道载脂蛋白 E 基因敲除小鼠在同时敲除内皮素 1 受体, 或 NO 分解酶及清道夫受体时会出现类似心肌梗死病变^[1-3]。此种小鼠的特点是具有严重的高脂血症及动脉粥样硬化。但小鼠的脂代谢类型与人类不同, 另外, 小鼠体型较小, 使得一些外科手术及治疗措施的研究无法进行及运用, 也是这种模型的缺点。其次是用大鼠、家兔、羊、犬及猪等中大型动物建立的心肌梗死动物模型。其主要方法是人工阻塞左冠状动脉, 使动物造成急性或慢性心肌缺血及梗死; 包括冠状动脉结扎或夹闭术^[4-11]及冠状动脉阻塞术^[12-15]。此种模型实验周期短, 可以观察梗死后再灌注对心肌细胞的损伤。但此种动物模

型手术操作过程复杂, 创伤大, 心肌周围组织的切开也影响心肌梗死后的重建。另外, 此种动物模型并无血脂升高及冠状动脉粥样硬化病变, 因此, 与人类由冠状动脉粥样硬化引起的心肌梗死差别较大, 临床相关性较小。猪、羊及犬体型较大, 饲养条件苛刻也是用这些大动物研制心肌梗死模型的缺点。用结扎羊无名动脉及其对角分支方法建立起来的心肌梗死模型, 与上述结扎冠状动脉方法建立起来的模型具有相同的特点^[16]。也有报道用血管造影术在家兔旋动脉处放置导管形成的环的方法, 以建立起胸腔闭合型心肌梗死动物模型^[17], 避免了手术创伤及心肌周围组织切开对梗死后重建的影响。也有人用剖开犬的左冠状动脉放置血管夹的方法, 通过产生人工狭窄建立心肌梗死模型, 此种模型的优点是可以精确控制狭窄的程度^[18]。用化学药物诱导方法建立大鼠心肌梗死模型的方法也曾有报道, 与冠状动脉阻塞方法类似^[19]。Nakamura^[20]曾报道用过猪 (Göttingen male miniature swine) 建立的心肌梗死模型与人类由冠状动脉痉挛引起的变异型心肌梗死极其相似, 方法是对病灶部位进行内皮细胞剥脱, 中度高脂血症及 X 线辐射。此种模型心肌梗死的发生机制主要是由痉挛部位中膜平滑肌细胞在组胺及 5 羟色胺作用下产生的过度收缩引起的, 内膜依赖性的舒张障碍作用较小。综上所述, 虽然有很多上述心肌梗死模型报道, 但据我们所知, 至目前为止, 与人类心肌梗死模型极其相似的自发性心肌梗死模型特别是由冠状动脉粥样硬化引起的心肌梗死模型还未曾建立起来, 本文将重点介绍由我们实验室新近研制成功的自发性心肌梗死家兔模型。

2 自发性心肌梗死动物模型的创建

日本神户大学 Watanabe 等^[21]人在 1980 年首次报道了遗传性高脂血症 (Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, WHHL) 家兔。此种家兔具有先天性 LDL 受体缺损的特点

[收稿日期] 2003-07-18 [修回日期] 2004-12-16

[作者简介] 孙慧君, 医学博士, 副教授, 主要研究方向为心血管药理学, 现工作于大连医科大学药理学教研室, E-mail 为 sunhuijun@163.net。范江霖, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管病理学, 现工作于日本筑波大学基础医学系, E-mail 为 jfan@md.tsukuba.ac.jp。

(LDL 基因编码蛋白的半胱氨酸结合区的基因先天性缺损),因此,血中胆固醇不能被肝脏代谢,会出现自发性高脂血症及动脉粥样硬化,成为人类家族性高脂血症的良好的动物模型。在原始 WHHL 家兔模型的基础上,Shiomi 等^[22]又研制成功了可以产生高度冠状动脉粥样硬化倾向 (coronary-prone) 的 WHHL 家兔。自 1994 年开始,又与我们合作通过系列选择性繁育 WHHL 家兔,建立了产生自发性心肌梗死的家兔模型,命名为遗传性高脂血症心肌梗死 (WHHL myocardial infarction, WHHLMi) 家兔,并证明 WHHLMi 家兔将成为研究心肌梗死的重要实验手段。自发性心肌梗死家兔模型的建立是采用具有冠状动脉粥样硬化倾向的 WHHL 家兔进行的。选择性繁育条件包括: ①心肌梗死的产生; ②冠状动脉粥样硬化斑块中含有丰富的巨噬细胞; ③冠状动脉的狭窄程度大于亲代家兔的平均值加上标准误; ④12 月龄时血中总胆固醇水平 > 21 mmol/L, 24 月龄时血中总胆固醇水平 > 18 mmol/L。在 6 年繁育里,共获得了 5 至 7 代种系。

3 遗传性高脂血症心肌梗死家兔的特征

3.1 血清脂质水平、冠状动脉狭窄程度及心肌梗死发生率

选择性繁育后 WHHLMi 家兔的血清甘油三酯无明显变化,但总胆固醇是对照 WHHL 家兔的 1.4 倍,11~35 月龄的 WHHLMi 家兔的冠状动脉狭窄程度也明显增加,为对照组的 1.6 倍。WHHL 对照组家兔冠状动脉管腔内因粥样硬化斑块引起狭窄程度达 90% 以上的仅为 21%,在 WHHLMi 家兔中却已达 90% 以上。WHHLMi 家兔从 11 月龄开始就出现在无任何症状前提下突然死亡的情况。组织学分析表明 35 月龄以上家兔的死亡 97% 是由于心肌梗死造成的,且在发生率,病变分布及病变大小上无性别差异。

3.2 遗传性高脂血症心肌梗死家兔的心肌梗死病理特征

遗传性高脂血症心肌梗死 (WHHLMi) 家兔心肌病变广泛分布于左心室、右心室及室间隔。在很多的 WHHLMi 家兔中,可以见到慢性心肌梗死的陈旧性梗死病变,并伴有新发病变 (复合型心肌梗死)。新发心肌梗死病变包括充血、心肌细胞嗜酸性变性和中性粒细胞浸润等急性心肌梗死特征。这些病变存在于心内膜区心肌纤维化附近。在陈旧性病变中,有很明显的钙化和心内膜下的梗死,而这经常会在人类的陈旧性心肌梗死中见到,另外在右后区及室间隔部位有心肌细胞死亡及纤维化。而在外侧壁会观察到左室壁变薄及穿壁梗死病变。

3.3 引起心肌梗死的冠状动脉近端的粥样硬化斑块的特征

动脉粥样硬化病变在所有的引起心肌梗死的冠状动脉中均可以见到,最严重的病变见于冠状动脉分支的左旋支 (LCX),其次为左中隔动脉 (LSP)、左前降支 (LAD) 和右冠状动脉 (RCA)。在冠状动脉左旋支,73% 的切片发现管腔狭窄程度为 90% 以上,且均为进展性病变。另外,管腔狭窄程度 70% 以上的发生率在冠状动脉左旋支、左前降支及左中隔动脉分别为 97.2%、54.7% 及 59.2%。这些现象表明在冠状动脉中观察到的一系列进展性硬化斑块与上述心肌梗死病

变有关。

冠状动脉左旋支 (LCX) 的粥样硬化斑块含有丰富的泡沫细胞及细胞外基质,造成严重的管腔狭窄及同心性阻塞。典型病变经常在大分支中观察到,且为动脉粥样硬化复合病变,很多病变中可以观察到钙化和斑块内出血。在有些病变中,斑块表层发现非常脆弱的征象,上面覆盖着一个很薄的帽状结构,在其下面是大量的巨噬细胞、脂质灶及钙沉积,平滑肌细胞却很少,构成 WHHLMi 家兔病变的典型特征。但在 WHHLMi 家兔的冠状动脉斑块中尚未检测到典型的斑块破裂或血栓形成,说明斑块破裂还需要其他因素参与。

3.4 遗传性高脂血症心肌梗死家兔的心电图特点

遗传性高脂血症心肌梗死 (WHHLMi) 家兔死亡前的心电图监测结果呈现典型的人类急性心肌梗死心电图变化,如 ST 段抬高。

4 今后的展望

心肌梗死是发达国家中引起死亡的主要心血管病之一,在我国的发病率也逐年增高。因此创建一种与人类心肌梗死极其相似的动物模型以研究心肌梗死的发病机制,开发新的治疗手段及药物也变得越来越重要。我们通过选择性繁育具有冠状动脉粥样硬化倾向的 WHHL 家兔成功地获得了自发性心肌梗死的家兔模型 (WHHLMi 家兔)。WHHLMi 家兔的心肌病变与人类冠心病相似,很多冠状动脉粥样硬化斑块呈现几乎破裂的征象。缺点是虽然我们观察到了大量的斑块内出血、钙沉积及巨噬细胞富集引起的管腔堵塞,但我们并没有真正检测到破裂及管腔内血栓。因此我们正考虑通过研究斑块的稳定性及引入一些其他的危险因子 [基质金属蛋白酶,组织因子和脂蛋白 (a)] 的方法在 WHHLMi 家兔中产生斑块破裂或急性冠状动脉综合征,以希望在不久的将来可以建立起更加接近人类心肌梗死的动物模型。

[参考文献]

- [1] Carlijiuri G, Levy B, Pernow J, Thoren P, Hansson GK. Myocardial infarction mediated by endothelin receptor signaling in hypercholesterolemic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 6 920-924
- [2] Kuhlencordt PJ, Gyuko R, Han F, Scherrer-Crosbie M, Aretz TH, Hajjari R, et al. Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/endothelial nitric oxide synthase double knockout mice. *Circulation*, 2001, **104**: 448-454
- [3] Braun A, Trigatti BL, Post MJ, Sato K, Simons M, Edelberg JM, et al. Loss of SR-BI expression leads to the early onset of occlusive atherosclerotic coronary artery disease, spontaneous myocardial infarction, severe cardiac dysfunction, and premature death in apolipoprotein E-deficient mice. *Circ Res*, 2002, **90**: 270-276
- [4] El-Sabban ME, Hassan KA, Birbari AE, Bitar KM, Bikhazi AB. Angiotensin II binding and extracellular matrix remodeling in a rat model of myocardial infarction. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2000, **1**: 369-378
- [5] Shyu KG, Wang MT, Wang BW, Chang CC, Leu JG, Kuan P, et al. Intramyocardial injection of naked DNA encoding HIF-1 alpha/VP16 hybrid to enhance angiogenesis in an acute myocardial infarction model in the rat. *Cardiovasc Res*, 2002, **54**: 576-583
- [6] Bollanoe E, Bergh CH, Kjellstrom C, Omerovic, E, Kujacic V, Caidahl K, et al. Growth hormone alone or combined with metoprolol preserves cardiac function after myocardial infarction in rats. *Eur J Heart Fail*, 2001,

- 3: 651-660
- [7] Matsusaka T, Hasebe N, Jin YT, Kawabe J, Kikuchi K. Magnesium reduces myocardial infarct size via enhancement of adenosine mechanism in rabbits. *Cardiovasc Res*, 2002, **54**: 568-575
- [8] Tevaearai HT, Walton HB, Eclhart AD, Keys JR, Koch WJ. Heterotopic transplantation as a model to study functional recovery of unloaded failing hearts. *J Thorac Surg*, 2002, **124**: 149-156
- [9] Yoshihisa T, Paul H, Bart M, Eric V, Veerle L, Marleen L, et al. Ischemic preconditioning reduces unloaded myocardial oxygen consumption in an in vivo sheep model. *Cardiovasc Res*, 2002, **55**: 633-641
- [10] Domenech R, Macho P, Schwarze H, Sanchez G. Exercise induces early and late myocardial preconditioning in dogs. *Cardiovasc Res*, 2002, **55**: 561-566
- [11] Valverde ER, Quinteiro RA, Arini PD, Bertran GC, Biagetti MO. Beat-to-beat repolarization variability measured by T wave spectral variance index in chronic infarcted animals. *Ann Noninvas Electrocardiol*, 2002, **7**: 319-325
- [12] Basso C, Thiene G, Della Barbera M, Angelini A, Kirchgang M, Lliceto S. Endothelin A-receptor antagonist administration immediately after experimental myocardial infarction with reperfusion does not affect scar healing in dogs. *Cardiovasc Res*, 2002, **55**: 113-121
- [13] Auchapach JA, Ge ZD, Wan TC, Moore J, Gross GJ. The A3 adenosine receptor agonist IB-MECA reduces myocardial ischemia/reperfusion injury in dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, (April 10, 2003). 10.1152/ajpheart.01001.2002
- [14] Spears JR, Henney C, Preecevi P, Xu R, Li L, Brereton GJ. Aqueous oxygen hyperbaric reperfusion in a porcine model of myocardial infarction. *J Invasive Cardiol*, 2002, **14**: 160-166
- [15] Laguens R, Cabeza Meckert P, Vera Janavel G, Del Valle H, Lascano E, Negroni J, et al. Entrance in mitosis of adult cardiomyocytes in ischemic pig hearts after plasmid-mediated rhVEGF165 gene transfer. *Gene Ther*, 2002, **9**: 1676-681
- [16] Kim WG, Park JJ, Oh SI. Chronic heart failure model with sequential ligation of the homonymous artery and its diagonal branch in the sheep. *Asaio J*, 2001, **47**: 667-672
- [17] Edwards R, Yousef Z, Rakhit R, Wright M, Rosenthal E, Redwood. A model of closed chest regional myocardial infarction in the rabbit: a clinically relevant in vivo assay system of post-infarction remodeling. *Basic Res Cardiol*, 2002, **97**: 374-383
- [18] VanHimbergen DJ, Jaber SF, Koenig SC, Abul Kashem M, BhaskerRao B, Spence PA. A new technique to create an artificial stenosis in the native LAD using a hemoclip. *J Invest Surg*, 2000, **13**(1): 7-13
- [19] Arteaga de Murphy C, Ferrer-flores G, Villanueva-Sanchez O, Murphy-Stack E, Pedrsza-Lopez M, Melendez-Alafort L, et al. ^{99m}Tc-glucarate for detection of isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Int J Pharm*, 2002, **233**(1): 29-34
- [20] Nakamura M. Our animal model of coronary spasm: my personal view. *J Atheroscler Thromb*, 2000, **6**(1): 1-12
- [21] Watanabe Y. Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit). *Atherosclerosis*, 1980, **36**: 261-268
- [22] Shiomi M, Ito T, Yamada S, Kawashima S, Fan JL. Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, in press
- (此文编辑 胡必利)