

大鼠和兔颈动脉再狭窄模型比较

苏海霞, 盛 净

(上海第二医科大学附属第九人民医院老年科, 上海市 200011)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血管成形术后再狭窄; 球囊损伤; 再狭窄; 平滑肌细胞; 大鼠; 兔
 [摘要] 目的 为选择更理想的再狭窄动物模型, 对大鼠和兔颈动脉再狭窄模型的组织病理变化进行比较。方法 采用球囊导管损伤法剥脱大鼠和兔的一侧颈总动脉内膜, 术后一周取损伤血管进行病理组织切片和 HE 染色。结果 兔颈总动脉球囊损伤后的主要变化是平滑肌细胞迁移和血液细胞粘附, 平滑肌细胞增殖尚不明显; 而大鼠球囊损伤后的主要变化是血管壁细胞大量增殖, α actin 免疫组织化学分析显示增殖的细胞为平滑肌细胞。结论 研究抑制再狭窄发生机制中平滑肌细胞增殖时, 大鼠颈总动脉球囊损伤动物模型更合适。
 [中图分类号] R363 [文献标识码] A

Comparison of Rat and Rabbit Carotid Restenosis Model

SU Hai Xia, and SHENG Jing

(Department of Geriatrics, The 9th Shanghai Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200011, China)

[KEY WORDS] Restenosis; Smooth Muscle Cell; Rats; Rabbits; Balloon Injury; Animal Model

[ABSTRACT] **Aim** Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty was one of the main clinic problems at present. A successful restenosis animal model was essential for its solution. So the rat and rabbit carotid restenosis models were built and compared to select more practical ones. **Methods** Balloon catheter was used to injure one of rats' and rabbits' carotids. One week later the treated carotids were cutted, sliced and HE stained. Rat carotid wall cells were cultured in vitro and analysed with α actin immunohistochemistry. **Results** The main histopathologic changes of rabbit carotids after balloon injury were smooth muscle transfer and blood cells adhesion. While the main change of rat's was cell proliferation, and α actin immunohistochemistry analysis confirmed the cell was smooth muscle cell. **Conclusions** Rat restenosis model was more practical for study of smooth muscle cell proliferation associated diseases, such as restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty.

平滑肌细胞增殖是经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)后再狭窄的主要病理基础, 抑制平滑肌细胞增殖是目前许多研究再狭窄治疗方法的主要机理, 为创建理想的平滑肌细胞增殖动物模型, 我们对大鼠和兔颈总动脉球囊损伤后的组织病理变化进行了初步比较和分析。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

SD 雄性大鼠 6 只, 体重 300~350 g; 新西兰兔 6 只, 体重 2~3 kg。

1.2 球囊损伤过程

2.5% 戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔内注射麻醉, 颈部正中切口, 暴露一侧颈总动脉并分离至颈内外

动脉分叉处, 在颈内动脉起始处及颈总动脉近心端距动脉分叉 1.5~2.0 cm 处用动脉夹临时夹闭, 自颈外动脉穿刺进入球囊导管, 扩张球囊来回拖拉剥脱内皮, 退出导管, 结扎颈外动脉, 松开动脉夹恢复血流; 关闭手术切口, 动物送动物房继续喂养; 一周后处死动物, 取双侧颈总动脉血管进行石蜡包埋、切片、HE 染色镜检。

1.3 细胞的体外培养

无菌条件下分离并取出大鼠损伤颈总动脉, 立即放入预先准备好的无菌 4℃ PBS 中, 反复清洗血管内的血凝块及外膜异物, 剥除血管外膜, 剪成 1 mm³ 大小组织块, 均匀地铺于无菌培养皿底部, 加入细胞培养液后置入 5% CO₂、37℃ 饱和湿度孵育箱中培养, 大约 3~7 天内可见细胞自组织块爬出。

1.4 α actin 免疫组织化学检测

0.25% 胰蛋白酶常温消化使细胞悬浮, 然后接种于盖玻片上进行细胞爬片培养, 5 天后取出玻片进行 α actin 免疫组织化学检测。95% 丙酮固定, 0.25% TritonX-100、5% DMSO-PBS、0.75% H₂O₂-PBS 消除非特异因素, 绵羊血清封闭非特异性抗原, 滴加

[收稿日期] 2004-08-31 [修回日期] 2005-01-17

[作者简介] 苏海霞, 硕士, 主治医师, 主要从事老年冠心病研究, E-mail 为 songsum9@sina.com。盛净, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事老年高血压冠心病研究。

一抗 4℃ 过夜, 加生物素化二抗, DAB 显色, 苏木精细胞核衬染, 迅速过盐酸-酒精分化, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 树胶封片, 光镜观察。

2 结果

2.1 兔颈总动脉组织病理切片和 HE 染色

球囊剥脱内皮后, 首先是血小板和炎性细胞粘附, 紧接着是平滑肌细胞向内膜迁移并分泌细胞外基质, 上述物质共同组成新生内膜, 血管壁增厚达正常的 2 倍。损伤后一周内, 尚未观察到明显的平滑肌细胞增殖(图 1, Figure 1)。

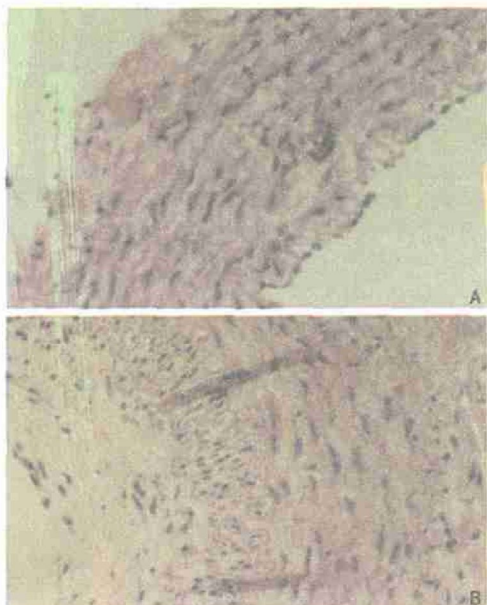


图 1. 正常及损伤后兔颈动脉组织形态学 A 为正常兔颈总动脉 (HE × 100), B 为损伤后 1 周兔颈总动脉 (HE × 200)。

Figure 1. Histologic section of rabbit carotid before and after balloon injury

2.2 大鼠颈总动脉组织病理切片和 HE 染色

球囊剥脱内皮后, 未见明显炎性细胞粘附和血栓形成(不排除已经脱落), 发生的显著变化是中膜平滑肌细胞的旺盛增殖, 新生内膜和中膜连成一体, 血管壁的主要细胞成分是平滑肌细胞, 一周内血管壁增厚达正常的 3~4 倍(图 2, Figure 2)。

2.3 细胞学和免疫细胞化学检测

组织块法可以成功地培养大鼠血管壁细胞, α -actin 免疫组织化学检测显示胞浆内有大量含阳性沉淀颗粒的纤维样物质(图 3, Figure 3)。

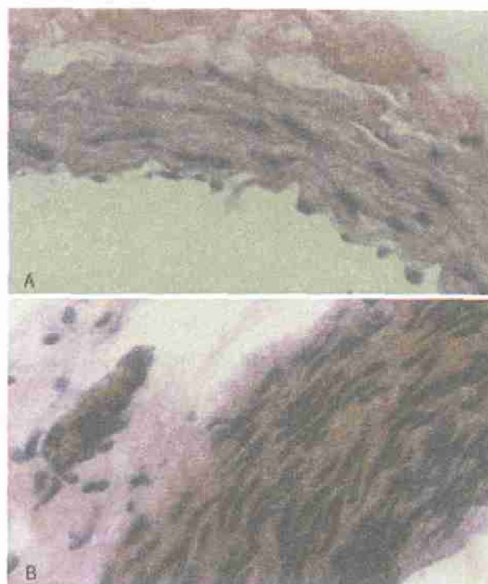


图 2. 正常及损伤后大鼠颈动脉组织形态学 A 为正常大鼠颈总动脉 (HE × 100), B 为损伤后 1 周大鼠颈总动脉 (HE × 200)。

Figure 2. Histologic section of rat carotid before and after balloon injury



图 3. 大鼠损伤后颈动脉壁细胞体外培养及鉴定结果 A 为大鼠颈动脉壁细胞原代培养 (HE × 100), B 为 α -actin 免疫细胞化学检测结果 (HE × 400)。

Figure 3. Culture and identification of rat carotid cell after balloon injury

3 讨论

经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄主要由三个方面所造成: 损伤引起的平滑肌细胞过度增殖, 血管重塑所致的结构紊乱, 损伤部位血栓形成以及随之而来的血栓机化。安放支架和给予抗凝药物可以对后两者引起的再狭窄起到抑制作用, 但是平滑肌细胞的过度增殖所造成的再狭窄仍是临床面临的棘手问题^[1]。

目前在国内, 研究再狭窄的动物模型仍然以大动物为主, 如狗、猪、家兔, 这些动物的血管粗大, 容易操作, 大多选择事先行内皮损伤加高胆固醇喂养, 待血管粥样硬化形成后再行经皮腔内冠状动脉成形术, 造成再狭窄模型^[2]。但上述过程复杂, 需较多人力物力, 耗时长, 影响因素多, 存在很多不完善因素, 而国外研究选择大鼠更为普遍^[3]。

研究表明, 家兔单纯行颈总动脉球囊损伤后, 早期主要病理改变是血栓形成, 中晚期为血管平滑肌细胞由中层移行到内膜并增殖伴基质增多^[4]。与兔不同, 大鼠颈总动脉球囊损伤后动脉壁平滑肌细胞

大量增殖, 中膜、内膜增殖指数分别于 4 天、9 天达到峰值, 动脉壁大部分细胞 α actin 免疫细胞化学检测阳性^[5]。本研究结果与上述报道一致。

本实验对新西兰大白兔和 SD 大鼠颈总动脉行球囊损伤后比较血管壁的组织学变化发现, 兔的血管反应主要为血栓形成和平滑肌细胞迁移, 大鼠的血管反应主要为血管壁细胞增殖, α actin 免疫组织化学分析显示增殖的细胞为平滑肌细胞。由此作者认为, 进一步研究抑制再狭窄发生机制中平滑肌细胞增殖时, 大鼠颈总动脉球囊损伤动物模型更合适。

[参考文献]

- [1] 韦立新. 经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的病理学机制. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8 (1): 1-3
 - [2] 向定成, 侯友贤, 何建新. 血管成形术后后装机 192Ir 内照射对后期血管重塑的影响. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11 (2): 123-125
 - [3] Stephen MS, Denis deB, Edward RM. The intima: Soil for atherosclerosis and restenosis. *Cir Res*, 1995, 77: 445-465
 - [4] 李永秋, 徐明, 姚绍鑫. 实验性家兔颈总动脉球囊扩张动脉狭窄动物模型的建立. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11 (3): 263-266
 - [5] 蒲庆华, 时德, 赵渝. 大鼠颈总动脉再狭窄模型的建立及其病理机制的初步研究. 重庆医科大学学报, 2002, 27 (4): 396-399
- (此文编辑 文玉珊)

•读者•作者•编者•

中国动脉硬化杂志编辑部 关于 E-mail 投稿的要求及注意事项

由于网络的发展, E-mail 投稿已为越来越多的期刊编辑部采用, 本刊也不例外。与传统信函邮寄投稿相比较, E-mail 投稿具有快捷、方便、直观等特点, 且费用低廉。然而, 在接受 E-mail 投稿过程中我们发现, 稿件文本不一, 格式各异。有些甚至直接将文章放在书写窗口内, 经过传输, 文章早已面目全非, 又没有纸打印稿作对照, 不知文章里写了些什么, 编辑部收到这些稿件, 只能废除。尤其是当今病毒肆虐, 新的病毒层出不穷, 一不小心染上病毒, 整个文件就会被删除。为规范 E-mail 投稿, 确保其安全性, 本刊编辑部特作如下规定:

1、E-mail 投稿时, 必须把文章作为附件发送, 严禁将文章放在 E-mail 书写窗口内。

2、附件中的文章应为 Word 格式。书写时, 进入 Word 界面后, 应首先设置页面规格, 参数如下: 纸型为 A4; ④页边距上为 2.2 mm, 下为 2.0 mm, 左为 2.2 mm, 右为 2.2 mm; ④文档网络为每行 45 个汉字, 每页 42 行; 字体为中文宋体、常规、五号。然后点击选择其它参数, 如“单倍行距”、“两端对齐”、“页面显示”等。

3、插图粘贴于正文相应位置中, 表格直接在正文中绘制; 标题与注释直接写于正文相应位置, 严禁以文本框形式插入。

4、E-mail 投稿时, 科研基金资助项目批准书的复印件和单位介绍信这两件不要扫描放入 E-mail 内, 请另用信函形式邮寄编辑部, 以方便存档。

5、请在 E-mail 附件内写明联系方式。