



尾吊模拟失重对大鼠、小鼠多种器官系统的影响

魏洪鑫^{1,2} 宁钧宇^{1,2}

(1.北京市疾病预防控制中心/北京市预防医学研究中心,食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室,北京 100013)

(2.首都医科大学公共卫生学院,北京 100069)

摘要:近年来利用尾部悬吊的方法,构建模拟失重状态的动物模型常用于研究失重对生理的影响。本文主要综述了该模型对啮齿类动物(大鼠、小鼠)多种器官系统的影响,以期对其他学者的后续研究提供新的思路和方法。

关键词:模拟失重;尾吊模型;小鼠;大鼠

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)06-0064-05

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.06.013

航天飞行过程中,航天员处于一种异于地面的特殊环境中,包括失重、低氧、宇宙射线辐射、震动、噪声等因素,都可能对航天员的健康造成影响。因此航天医学的重要内容之一就是研究太空特异因素对各器官系统的影响及机制,并提出保护措施^[1]。在开展航天医学研究过程中,恰当的模型对于研究各种有害因素的影响效果及其机制具有重要意义,本文主要聚焦于失重模型的研究应用。

受条件限制,研究者们常常在地面构建失重模型,从而针对太空失重环境对机体各器官系统的影响进行研究。除猕猴头低位卧床及小规模经过伦理学审查且无创性的人体实验以外,操作简单且经济实用的啮齿类动物(大鼠、小鼠)尾部悬吊(简称尾吊)模型是国际公认的地面模拟失重的实验模型^[2]。啮齿类动物的尾吊模型构建主要采用美国国家航空航天局(NASA)认可的 Wronski 和 Morey-Holton 报道的方法^[3],即用胶布缠绕模型动物尾部的中上端,借助细绳等工具将其悬挂在尾吊笼中,使后肢离开笼底 1 cm,前肢可以触地,尾吊状态下动物仍然可以自由饮水、进食。利用尾吊的方法,构建模拟失重的实验是近年来的研究热点,以下简要综述该模型对啮齿类动物(大鼠、小鼠)多种器官系统的影响,以期对其他学者的后续研究提供新的思路和方法。

1 尾吊模拟失重对骨骼及肌肉的影响

骨主要由细胞和基质组成,骨细胞又包括间充质细胞、骨祖细胞、成骨细胞和破骨细胞。它的功能是运动、支持和保护身体,并容纳骨髓造血,储存矿物质。骨骼和附着于其上的骨骼肌,共同构成身体中重要的承重器官,所以骨骼和肌肉是受尾吊影响大的器官之一。

1.1 尾吊对骨生长的影响

尾吊实验会导致小鼠干骺端骨丢失,股骨生长受到抑制^[4]。在尾吊模型中破骨细胞数量增加且活性增加,尾吊组椎体骨质呈现疏松样改变,骨小梁间隙明显增大^[5]。对尾吊组进行骨密度测试后,发现尾吊组的 BMD(Bone Mineral Density 骨密度)显著减低^[6]。对实验动物的骨结构进行三维重建之后,尾吊组的 SMI(Structure Model Index 结构模型指数)>正常组 SMI^[7]。即尾吊组的股骨超微结构发生变化的程度更大。

以股骨为代表的长管状骨重建包括两个方面:破骨细胞对旧骨的吸收和成骨细胞分化形成新的骨质。首先破骨细胞迁移吸附在旧骨表面,并分泌酸性物质溶解矿物质、分泌蛋白酶消化骨基质,形成骨吸收陷窝,随后成骨细胞迁移至骨吸收的部位,分泌骨基质,并进一步分化为成熟的骨细胞,最后矿化成

收稿日期:2019-04-22

作者简介:魏洪鑫(1995—),女,研究生在读,研究方向:公共卫生.E-mail:1716146909@qq.com

通信作者:宁钧宇(1973—),男,副研究员,副教授,研究方向:毒理学.E-mail:njy_med@hotmail.com

新骨^[8]。研究表明,骨组织中产生的自由基能够促进破骨细胞的生成^[9-10],进而加速骨细胞的成熟。大量的局部细胞因子,如 IL-1, IL-6, TNF- α , 白三烯和 PGE2 等都与骨丢失有关^[11]。对尾吊后的小鼠的血清学进行测定发现, I 型胶原 N 末端肽 (NTX), 环磷酸胺 (CTX), 成骨多肽 (OG), I 型胶原 C 端前肽 (PICP) 提高^[4], 表明尾吊改变了骨骼的生长方式, 使破骨细胞大量的生成。骨碱性磷酸酶 (BLAP) 和抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 是骨吸收很好的指标。有研究显示, 尾吊组 BLAP 和 TRAP 的数值均升高^[12], 这提示在尾吊模型中, 骨转换率增强, 骨吸收大于骨沉积, 造成骨量负平衡。

1.2 肌梭形态的改变

肌梭 (muscle spindle) 是分布于骨骼肌中感受牵张刺激的本体感受器, 主要感受骨骼肌的长度和肌纤维伸缩的变化, 所以在尾吊模拟失重的实验中, 骨骼肌组织中的肌梭结构为最先受累的器官。

Zhu 等^[13]学者的研究显示, 尾吊实验 7 d 后大鼠比目鱼肌中的肌梭梭囊明显迂曲, 梭囊直径明显减小; 尾吊 14 d 后肌梭内纤维直径明显减小, 且在 7~14 d 时减小的幅度最大; 14 d 后肌梭赤道部神经纤维淡染, 末梢出现轻微的溶解、断裂; 尾吊 21 d 后肌梭内神经末梢的密度明显减小, 赤道部神经纤维出现断裂、溶解; 28 d 后神经末梢呈严重退行性改变, 出现断裂, 迂曲。

失重性肌萎缩是目前在航天医学领域探索的关键问题之一, 其重要的特点是, 抗重力肌萎缩的程度大于非抗重力肌, 慢肌萎缩的程度比快肌严重^[14]。有学者提出, 模拟失重状态下肌梭结构和功能活动的改变是失重性肌萎缩发生的重要原因之一^[15], 即在失重条件下, 由于重力的减弱或消失, 肌梭受到的刺激减少, 肌梭传向中枢的神经冲动减少, 随着失重时间的延长, 梭内肌纤维的代谢、结构发生变化, 传向中枢神经系统的冲动会进一步减少, 反射性地引起肌紧张降低, 肌肉的活动量减少, 最终导致失重性肌萎缩。

失重条件对肌梭超微结构也会产生影响, 主要包括线粒体结构的改变^[16], 肌节损害^[17], 肌梭钙改变^[18], 梭内肌纤维 MHC 改变^[19]。线粒体结构的改变主要表现为梭内肌纤维反应糖酵解活性的 mATP 酶和琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性增加。肌节的损害主要表现为 Z 线模糊不清, 排列紊乱, 部分溶解消失, 肌质网终池高度扩张^[20]。梭内肌纤维 MHC 的

激活正常顺序为 MHC I $\rightarrow$ MHC II a $\rightarrow$ MHC $\rightarrow$ MHC II b 亚型转化, 肌肉萎缩会导致骨组织内的 α B 晶体蛋白表达减少^[21], 导致对紧张型 MHC 单克隆抗体的免疫原性减弱, 与 MHC 亚型转变有关的 α B 晶体蛋白和微管蛋白萎缩的比目鱼肌出现最明显的萎缩。

2 尾吊模拟失重对学习记忆能力的影响

学习和记忆是大脑重要的功能之一, 学习是神经系统接受外界环境变化获得新行为、经验的过程, 记忆是学习后经验的保持和再现^[22]。国内外很多的研究表明, 尾吊会对学习和记忆能力产生负面影响。

Zhang 等^[23]学者对老鼠进行了穿梭箱测试, 在该测试中, 设置一台计算机对老鼠的主动回避和被动回避次数进行评估, 主动回避次数的多少反映学习记忆能力。实验结果显示, 在尾吊 14 d、21 d、28 d 之后, 大鼠的主动回避次数有显著下降, 分别降低 26.8%、43.1%、41.5%。Sun 等^[24]人的研究发现, 尾吊后的小鼠对 Y-迷宫实验的准确性降低且反应时间明显延长, 这说明尾吊实验对小鼠的认知功能有很大的影响。Wu^[25]学者的研究显示, 尾吊后跳台和水迷宫实验的成绩都明显下降, 提示尾吊模型能够影响小鼠的学习和记忆功能。对尾吊后的小鼠进行血清学测定, 发现 ROS 和 MDA 的水平上升^[26], 8-OHdG 的水平显著下降^[27], 这提示在尾吊过程中模型动物长期暴露于氧化应激的环境, 造成了 DNA 损伤和神经元破坏, 从而影响了学习和记忆功能。

尾吊模拟失重的模型对海马组织的影响是目前研究的热点, Wang 等^[28]学者着重对尾吊后对大鼠海马体中的蛋白表达进行分析, 结果同样提示局部组织发生氧化应激反应。对海马体中蛋白组学进行分析, 与对照组相比, 尾吊组中的蛋白质有显著的差异, PRDX-6 (氧化蛋白) 和 DJ-1 (肽酶 C56 蛋白家族之一) 的水平增加, 谷氨酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶的水平均下降, 二者通过谷氨酸-谷氨酰胺循环和苹果酸-天冬氨酸循环对细胞能量代谢和神经递质的合成有影响, 所以长期的尾吊会造成大鼠学习和记忆能力的下降。据 Ranjan 等^[29]的研究发现, 尾吊 14 d 后的小鼠大海马区出现明显改变, CA1 和神经元的数目明显减少。对海马组织中的氧化应激的

标志物进行检测时发现,丙二醛(MDA)和过氧化氢(H_2O_2)的水平增加,超氧化物歧化酶(SOD)水平下降^[30],提示海马组织中的氧化应激过程也被激活,大脑中不同脑区的 AP-1 和 NF-KB 也明显增加^[31],提示模式动物氧化应激的细胞信号通路受到明显影响。

3 尾吊模拟失重对心血管系统的影响

尾吊会改变实验动物的正常体位,让体液和血液异常聚集在头部,中心静脉压升高,从而在生理上引起血液动力负荷下降,代谢需求量降低和神经内分泌等一系列的变化,这些改变将导致心肌细胞适应性改变,包括胚胎基因启动,代谢水平下降和心肌重构^[32],最终导致心功能的下降。

实验表明尾吊模型能够引起小鼠心律不齐,心脏泵功能下降^[33]。研究显示,大鼠尾吊 21 d 后,出现心室质量减少,室间隔质量减少^[34]。Liu 等^[35]学者在研究中采用小鼠尾吊实验,结果显示小鼠心排量(CO)、射血分数(EF)、心脏质量指数(BW/HW)均出现下降,提示小鼠心功能下降,左心室后壁厚度(LVPWD)和左心室舒张末期容积(LVEDV)也出现下降,观察发现胶原纤维颗粒变性和炎性细胞浸润,提示出现心肌细胞萎缩。

总结尾吊模型对心血管系统影响的机制发现,尾吊模拟失重实验可以减少心脏乳头肌细胞的横截面积,而不是诱导萎缩性心肌细胞的凋亡,这表明尾吊主要是通过造成肌浆蛋白质丢失而引起心肌萎缩的。大部分蛋白质的丢失主要是由泛素-蛋白酶体途径或自噬溶酶体途径降解的。Liu 等的研究显示^[35],尾吊实验的动物自噬过度活跃,抑制自噬过程可有效逆转尾吊引起的心脏收缩功能下降,提示在尾吊模型中,尾吊实验的蛋白质丢失主要是通过自噬-溶酶体途径介导的。

4 尾吊模拟失重对其它系统的影响

尾吊模拟失重对机体的影响是系统性的,除特定的器官系统受到影响外,内环境的稳态等方面也会受到失重的影响。

尾吊模拟失重还会影响免疫功能,7 d 尾吊实验表明,小鼠的抗原呈递细胞较初始状态比有一定的提升^[36],巨噬细胞的活性也显著增强,Th1、Th2

等细胞免疫功能具有抑制作用^[37]。

此外,尾吊模拟失重实验还会对雌激素水平产生影响^[38]。这与 GDF-9 基因的表达有关^[39],还与 PCNA 基因的表达受到抑制有关。

尾吊实验对小鼠的消化系统还会产生影响,会破坏肠黏膜屏障的保护功能^[40],并通过调节肠道微生物来降低自身免疫性疾病的发生率^[41]。

尾吊实验还能够引起大鼠视神经超微结构改变、功能减退及视网膜细胞损伤^[42]。

综上所述,尾吊模拟失重模型对全身多个器官系统均有不同程度的影响,提示我们在进行失重研究时,应首先考虑实验方法对模型动物的影响是否会干扰实验结果。除应用啮齿类动物的实验模型,在地面模拟失重研究中,非人灵长类动物模型也有应用。其中,猕猴头低位卧床实验是国际上公认的研究失重环境对神经组织影响的实验模型,因此在实验设计阶段需要综合考虑各种因素,选择最恰当且权威的实验模型对机制进行研究。

参考文献

- [1] Grimm D, Wehland M, Pietsch J, *et al.* Growing Tissues in Real and Simulated Microgravity: New Methods for Tissue Engineering [J]. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2014, **20**(6): 555-566.
- [2] Frigeri A, Iacobas D A, Iacobas S, *et al.* Effect of microgravity on gene expression in mouse brain. [J]. *Experimental Brain Research*, 2008, **191**(3): 289-300.
- [3] Wronski T J, Morey-Holton E R. Skeletal response to simulated weightlessness: a comparison of suspension techniques [J]. *Aviat Space Environ Med*, 1987, **58**(1): 63-68.
- [4] David V, Laroche N, Boudignon B, *et al.* Noninvasive In Vivo Monitoring of Bone Architecture Alterations in Hindlimb-Unloaded Female Rats Using Novel Three-Dimensional Microcomputed Tomography [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2003, **18**(9): 1622-1631.
- [5] 张恒, 任宁涛, 李洁, 等. 模拟失重状态下雌性大鼠骨质疏松模型骨结构及性能变化研究 [J]. *中国骨与关节杂志*, 2015, (1): 61-66.
- [6] Tomohiro M, Takeya O, Hideki I, *et al.* Effects of joint immobilization and hindlimb unloading on collagen fibers of soleus muscles in rats [J]. *Journal of Physical Therapy Science*, 2017, **29**(7): 1192-1195.
- [7] Jacon P U M, Tami S G C, Chacon C R, *et al.* Model of hindlimb unloading in adult female rats: Characterizing bone physicochemical, microstructural, and biomechanical properties [J]. *PLOS ONE*, 2017, **12**(12): e0189121.

- [8] Kanis J A, McCloskey E V, Johansson H, *et al.* European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women [J]. *Osteoporos Int*, 2013, **24** (11): 23-57
- [9] Garrett I R, Boyce B F, Oreffo R O, *et al.* Oxygen-derived Free Radicals Stimulate Osteoclastic Bone Resorption in Rodent Bone In Vitro and In Vivo [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1990, **85** (3): 632-639.
- [10] Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, *et al.* Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats [J]. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 1995, **66** (5): 473-475.
- [11] Smith B J, Lucas E A, Turner R T, *et al.* Vitamin E Provides Protection for Bone in Mature Hindlimb Unloaded Male Rats [J]. *Calcified Tissue International*, 2005, **76** (4): 272-279.
- [12] 张恒, 任宁涛, 李洁, 等. 模拟失重状态下雌性大鼠骨质疏松模型骨结构及性能变化研究 [J]. *中国骨与关节杂志*, 2015, (1): 61-66.
- [13] Zhu Y J, Wu S D, Fan X L, *et al.* Effects of Hindlimb-unloading on Diameter of Intrafusal Fibers and Capsule at Equatorial Region of Rat Soleus Muscle Spindle [J]. *Hangtian Yixue Yu Yixue Gongcheng/Space Medicine and Medical Engineering*, 2006, **19** (4): 273-276.
- [14] Fitts R H, Trappe S W, Costill D L, *et al.* Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres [J]. *Journal of Physiology*, 2010, **588** (18): 3567-3592.
- [15] 赵雪红, 樊小力, 模拟失重条件下肌梭的改变与肌肉萎缩关系的研究进展 [J]. *生理学报*, 2013, **65** (1): 96-100.
- [16] Wu S, Fan X, Tang B, *et al.* Effects of simulated weightlessness on ultrastructure of soleus muscle spindle in rats [J]. *Space medicine & medical engineering*, 2002; **15** (1): 32-35.
- [17] Zhao X H, Fan X L, Song X A, *et al.* Influence of 14-day hind limb unloading on isolated muscle spindle activity in rats [J]. *Journal of Muscle Research And Cell Motility*, 2010, **31** (3): 155-161.
- [18] Zhu Y, Fan X, Li X, *et al.* Effect of hindlimb unloading on resting intracellular calcium in intrafusal fibers and ramp-and-hold stretches evoked responsiveness of soleus muscle spindles in conscious rats [J]. *Neuroscience Letters*, 2008, **442** (3): 169-173.
- [19] Walro J M, Kucera J, *et al.* Why adult mammalian intrafusal and extrafusal fibers contain different myosin heavy-chain isoforms [J]. *Trends in Neurosciences*, 1999, **22** (4): 180-184.
- [20] Gioux M, Petit J. Effects of immobilizing the cat peroneus longus muscle on the activity of its own spindles [J]. *Journal of Applied Physiology*, 1993, **75** (6): 2629-2635.
- [21] Jee H, Sakurai T, Lim J Y, *et al.* Changes in α B-crystallin, tubulin, and MHC isoforms by hindlimb unloading show different expression patterns in various hindlimb muscles [J]. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 2014, **18** (2): 161-168.
- [22] 童庆, 吴晓军, 张盼红, 等. 建立小鼠学习记忆损伤模型的方法学研究 [J]. *实验动物科学*, 2019, **36** (02): 25-30.
- [23] Zhang Y, Wang Q, Chen H, *et al.* Involvement of Cholinergic Dysfunction and Oxidative Damage in the Effects of Simulated Weightlessness on Learning and Memory in Rats [J]. *BioMed Research International*, 2018, **2018**: 1-11.
- [24] Sun X Q, Xu Z P, Zhang S, *et al.* Simulated weightlessness aggravates hypergravity-induced impairment of learning and memory and neuronal apoptosis in rats [J]. *Behavioural Brain Research*, 2009, **199** (2): 197-202.
- [25] Wu D W. Effects of tail suspension on learning and memory function of mice [J]. *Space Medicine & Medical Engineering*, 2000, **13** (4): 244-248.
- [26] Abbasimaleki S, Mousavi Z. Hydroethanolic extract of *Carthamus tinctorius* induces antidepressant-like effects: modulation by dopaminergic and serotonergic systems in tail suspension test in mice. [J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2017, **20** (9): 1063-1073.
- [27] Danielewicz J, Trenk A, Hess G. Imipramine ameliorates early life stress-induced alterations in synaptic plasticity in the rat lateral amygdala [J]. *Behavioural Brain Research*, 2017, **317** (Complete): 319-326.
- [28] Wang Y, Javed I, Liu Y, *et al.* Effect of Prolonged Simulated Microgravity on Metabolic Proteins in Rat Hippocampus: Steps Toward Safe Space Travel [J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, **15** (1): 29-37.
- [29] Ranjan A, Behari J, Mallick B N. Cytomorphometric Changes in Hippocampal CA1 Neurons Exposed to Simulated Microgravity Using Rats as Model [J]. *Frontiers in Neurology*, 2014, (5): 77.
- [30] Wang T, Chen H, Lü K, *et al.* Activation of HIF-1 α and its downstream targets in rat hippocampus after long-term simulated microgravity exposure [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, **485** (3): 591-597.
- [31] Wang Y, Iqbal J, Liu Y, *et al.* Effects of simulated microgravity on the expression of presynaptic proteins distorting the GABA/glutamate equilibrium-A proteomics approach [J]. *Proteomics*, 2015, **15** (22): 3883-3891.
- [32] 李程飞, 王永春, 石菲, 等. 失重对血管和血管内皮细胞影响的研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2017, **38** (1): 64-67.
- [33] Bigard A X, Serrurier B, Mérino D, *et al.* Structural and biochemical properties of the rat myocardium after 21 days of head-down suspension [J]. *Aviat Space Environ Med*, 1994, **65** (9): 829-834.
- [34] Respress J L, Gershovich P M, Tiannan W, *et al.* Long-term simulated microgravity causes cardiac RyR2 phosphorylation and arrhythmias in mice [J]. *International Journal of Cardiology*, 2014, **176** (3): 994-1000.
- [35] Liu H, Xie Q, Xin B M, *et al.* Inhibition of autophagy recovers cardiac dysfunction and atrophy in response to tail-suspension [J]. *Life Sci*, 2015, **121**: 1-9.
- [36] Mao X, Chen Z, Luo Q, *et al.* Simulated microgravity inhibits the migration of mesenchymal stem cells by remodeling actin

- cytoskeleton and increasing cell stiffness [J]. Cytotechnology, 2016, **68**(6):2235-2243.
- [37] 宋锦苹 张洪玉 钟萍,等.尾吊、噪声及两因素复合对小鼠免疫功能的影响及柘木多糖的防护作用[J]. 航天医学与医学工程, 2013, **26**(6):459-462.
- [38] Yang Y, Qu C, Liang S, *et al.* Estrogen inhibits the overgrowth of *Escherichia coli* in the rat intestine under simulated microgravity[J]. Mol Med Rep, 2018,**17**(2):2313-2320.
- [39] Zhang S, Zheng D, Wu Y, *et al.* Simulated Microgravity Using a Rotary Culture System Compromises the In Vitro Development of Mouse Preantral Follicles [J]. Plos One, 2016, **11**(3):e0151062.
- [40] Jin M, Zhang H, Zhao K, *et al.* Responses of Intestinal Mucosal Barrier Functions of Rats to Simulated Weightlessness [J]. Frontiers in Physiology, 2018, (9):729.
- [41] Bao H, Sun L, Zhu Y, *et al.* Lentinan produces a robust antidepressant-like effect via enhancing the prefrontal Dectin-1/AMPA receptor signaling pathway [J]. Behavioural Brain Research, 2017, **317**:263-271.
- [42] Zhao H W, Zhao J, Hu L N, *et al.* Effect of long-term weightlessness on retina and optic nerve in tail-suspension rats [J]. Int J Ophthalmol, 2016, **9**(6):825-830.

The Effect of Simulated Weightlessness by Tail-suspension on Organs

WEI Hongxin^{1,2}, NING Junyu^{1,2}

(1. *Beijing Centers for disease prevention and control/Beijing Research Center for Prevention Medicine, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China*)

(2. *Capital Medical University, Beijing 100069, China*)

Abstract: Tail-suspension was used to construct a simulated weightlessness model in recent years. This method has been widely utilized in studying the effect of weightlessness on human body. In this review, we focus on the effect of this model on various organs and systems. We hope to provide new ideas and method for the other peers.

Key words: simulated weightlessness; tail-suspension; mice; rats