

盐敏感性高血压小鼠模型的建立

姚 玎¹, 周 晶¹, 严国锋¹, 王会阳¹, 汪雅荻², 马政文¹

(1. 上海交通大学医学院实验动物科学部, 上海 200025; 2. 上海市格致中学, 上海 200001)

[摘要] 目的 建立盐敏感性高血压小鼠模型, 用降压药硝苯地平验证模型的有效性。方法 采用 C57BL/6J 小鼠为研究对象, 分别设定常规饲料饲喂的正常组、高盐饲料饲喂的高盐组和高盐饲料饲喂后给予硝苯地平的干预组。采用无创血压测量系统测量各组小鼠的血压变化情况; 采用血液生化分析仪测定小鼠血清的肝功能、肾功能、血脂、血糖和离子等生化指标; 通过苏木精-伊红染色观察小鼠肝、肾和颈动脉的组织学变化。结果 与正常组小鼠血压相比, 高盐组小鼠的收缩压和舒张压均显著升高 (均 $P < 0.01$), 而干预组小鼠血压显著下降 (均 $P < 0.01$)。与正常组相比, 高盐组小鼠的肝功能指标天冬氨酸转氨酶、碱性磷酸酶、白蛋白、血清总蛋白和直接胆红素水平, 以及血脂指标胆固醇、肾功能指标尿酸、钙离子和镁离子水平都有显著变化 (均 $P < 0.05$), 而干预组则逐步恢复。组织病理学显示, 高盐组小鼠的肝和肾都有不同程度的损伤。结论 高盐饮食可成功建立盐敏感性高血压小鼠模型, 硝苯地平可有效降低模型小鼠的血压。

[关键词] 盐敏感性高血压; 硝苯地平; 降压药; 小鼠模型

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)04-0314-08

高血压病是心脑血管疾病的主要危险因素之一。流行病学报告提示, 高血压病在中国的发生率正逐年提高。《中国心血管病报告 2017》概要^[1]指出, 中国临床诊断为高血压病的总人口已经达到 2.7 亿。以往研究^[2-4]表明, 相对高盐摄入可以引起人的血压升高, 此类高血压通常被定义为盐敏感性高血压 (salt-sensitive hypertension, SSHT)。SSHT 是临床常见的高血压, 51% 的高血压患者具有盐敏感性, 正常人群也有 26% 的盐敏感者。SSHT 是由遗传与环境因素长期相互作用所致的疾病, 其患病率具有个体差异性和种

族特异性。SSHT 是中国人群高血压的常见类型, 这类患者的血压不易控制, 且并发症严重^[2]。2005 年 SSHT 被美国高血压学会列为高血压早期靶器官损害标志^[5]。2009 年世界高血压联盟把世界高血压日的主题定为“盐与高血压”^[3], 可见 SSHT 越来越引起人们的重视。

目前, 大多数 SSHT 研究主要集中于临床调查和回顾性研究, 缺少用合适的动物模型对其病理过程及机制进行深入的基础性研究。而且现有的 SSHT 动物模型是 Dahl 盐敏感大鼠^[6-9], 通过肾脏切除同时辅以高盐饲喂的方法来获得, 该模型起病急, 短期内会全部死亡, 与临床病程不符。因此, 建立一个稳定的 SSHT 动物模型是亟待解决的问题。本实验采用单纯高盐饲喂构建 SSHT 的 C57BL/6J 小鼠模型, 并用治疗 SSHT 的药物硝苯地平治疗该模型小鼠, 观察其血压改善情况; 同时结合血液生化指标和组织病理学检查结果, 判断该模型是否成功建立, 以期为 SSHT 研究提供合适、稳定的动物模型。

[收稿日期] 2019-07-17

[基金项目] 上海市自然科学基金(18ZR1437800)

[作者简介] 姚 玎(1985—), 男, 实验师, 研究方向: 实验动物与比较医学。E-mail: yaod@shsmu.edu.cn

[通信作者] 马政文(1972—), 女, 副研究员, 研究方向: 实验动物与比较医学。

E-mail: mazhengwen@shsmu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级6周龄雌性C57BL/6J小鼠,共39只,购自上海灵畅生物科技有限公司[SCXK(沪)2018-0003],饲养于SPF级环境设施[SYXK(沪)2018-0027]。

1.2 主要试剂和仪器

高盐饲料(含8% NaCl)购自上海普路腾生物科技有限公司,正常饲料(含0.4% NaCl)购自江苏省协同医药生物工程有限责任公司,硝苯地平药粉果冻购自睿迪生物科技(深圳)有限公司,苏木精染色液和伊红染色液购自珠海贝索生物技术有限公司。小动物无创血压测量系统为美国Kent Scientific Corporation公司产品,全自动生化分析仪为美国Thermo Fisher Scientific公司产品(型号Konelab 20),石蜡切片机为德国Leica公司产品(型号#2235)。

1.3 构建C57BL/6J小鼠SSHT模型

将一部分C57BL/6J小鼠(18只)从6周龄开始饲喂高盐饲料8周,用CODA™无创血压测量系统测量小鼠血压^[6-8]。之后换成正常饲料饲喂,并根据人临床硝苯地平使用剂量(10 mg/次,1日3次)进行换算,每日给予小鼠硝苯地平约5 mg/kg,即饲喂相应规格的硝苯地平药粉制成的果冻,替代饮用水。干预治疗至少1周后,再次测量血压,比较高盐饲喂及硝苯地平用药后的血压变化。每只小鼠的血压测量10~30次(20~30 min),取平均值。饲喂高盐饲料8周后小鼠血压明显升高,再经硝苯地平用药1周后血压明显下降,视为SSHT造模成功。

1.4 检测SSHT模型小鼠的血清生化指标及组织病理改变

另一部分C57BL/6J小鼠随机分为3组:(1)正常组(5只),喂食正常饲料;(2)高盐组(8只),从6周龄开始喂食高盐饲料8周,建立SSHT的小鼠模型;(3)干预组(8只),从6周龄开始喂食高盐饲料8周,然后换成正常饲料,并给予硝苯地平药粉制成的果冻(与1.3节中第一批动物使用规格相同),替代饮用水,干预治疗至少1周。

1.4.1 血清生化指标检测 分组喂食实验结束后将小鼠麻醉,心脏采血,3 000 r/min离心15 min,分离血清,用全自动生化分析仪检测各项生化指标。肝功能指标包括天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酰转肽酶(glutamyl transpeptidase, GGT)、白蛋白(albumin, ALB)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、血清总蛋白(total serum protein, TP)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)和总胆红素(total bilirubin, TBIL)。肾功能指标包括血清尿素(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, CREA)、尿酸(uric acid, UA)和尿素。血脂指标包括三酰甘油(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, CHOL)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-CHOL)。另外还检测了血糖、钙离子、镁离子和磷含量。

1.4.2 肝脏、肾脏和颈动脉的组织病理学检查 麻醉后解剖小鼠,取其肝脏、肾脏和颈动脉,于质量分数为4%的多聚甲醛溶液中固定,4~5 d后梯度乙醇溶液脱水,二甲苯透明,石蜡包埋、切片(每张切片厚3 μm),然后进行苏木精-伊红(HE)染色,在光学显微镜下观察并计数肾小球数目变化。

1.5 统计学方法

所有检测结果数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,并采用Prism 7.0统计学软件进行单因素方差分析、卡方检验和独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功建立C57BL/6J小鼠SSHT模型

经过8周高盐饲料喂养后,C57BL/6J小鼠的收缩压为(149.19 ± 1.98) mmHg,舒张压为(116.19 ± 3.26) mmHg,均明显高于小鼠正常血压(均 $P < 0.01$)。硝苯地平干预1周后,小鼠收缩压降低为(133.62 ± 2.32) mmHg,舒

张压降低为 (94.91 ± 2.98) mmHg, 已接近小鼠正常血压, 与干预前相比差异有统计学意义 (均 $P < 0.01$)。结果表明 C57BL/6J 小鼠 SSHT 模型建立成功。

2.2 SSHT 模型小鼠血清生化指标改变

3 组 C57BL/6J 小鼠的血清生化指标检测结果如表 1 所示。SSHT 小鼠模型的多个肝功能指标 (如 AST、ALP、ALB、TP 和 DBIL) 较正常组相比均发生了明显变化 (均 $P < 0.05$), 用硝苯地平干预后则有所恢复。高盐组与正常组相比, 血糖水平没有显著变化, 用硝苯地平干预后血糖水平略有下降, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。血脂指标方面, 高盐组的 HDL 和 CHOL 水平较正常组均显著升高 (均 $P < 0.05$), 用硝苯地平干预后都有所下降, 其中 CHOL 与高盐组相比下降明显 ($P < 0.05$), 而 TG 和 LDL-CHOL

在各组中差异没有统计学意义 (均 $P > 0.05$)。肾功能指标方面, 高盐组的 UA 水平显著升高 ($P < 0.001$), 硝苯地平干预后明显降低 ($P < 0.05$); 而高盐组的 BUN 和尿素水平略有升高。另外, 高盐组的钙离子水平显著升高 ($P < 0.05$), 而镁离子水平在用硝苯地平干预后较高盐组明显下降 ($P < 0.05$)。

2.3 SSHT 模型小鼠组织病理改变

2.3.1 肝脏的病理学变化 各组小鼠肝表面覆以结缔组织肝被膜, 以中央静脉为中心的肝小叶与相邻肝小叶的分界并不明显 (图 1A、C 和 E)。中央静脉周围是由肝细胞组成的肝板和肝板间的肝血窦, 肝血窦在肝板间相互连通成网状; 肝板大致呈放射状, 由单排肝细胞组成, 肝细胞较大, 核圆居中, 有的有双核, 正常组和干预组的肝板分布均匀。图 1B、D 和 F 显示相邻肝小

表 1 各组小鼠血清的生化指标变化

Table 1 The changes of serum biochemical indexes in each group of mice

		$(\bar{x} \pm s)$		
生化指标		正常组(n=5)	高盐组(n=8)	干预组(n=8)
肝功能	AST $z/(U \cdot L^{-1})$	248.51 $\pm$ 32.17	123.15 $\pm$ 4.23**	185.67 $\pm$ 19.14
	ALP $z/(U \cdot L^{-1})$	59.43 $\pm$ 3.95	45.68 $\pm$ 3.17*	48.35 $\pm$ 2.98
	ALT $z/(U \cdot L^{-1})$	37.40 $\pm$ 4.73	43.45 $\pm$ 3.41	44.66 $\pm$ 4.94
	GGT $z/(U \cdot L^{-1})$	0.36 $\pm$ 0.86	0.05 $\pm$ 1.19	1.22 $\pm$ 0.53
	ALB $\rho/(g \cdot L^{-1})$	27.99 $\pm$ 0.83	31.04 $\pm$ 0.80*	26.51 $\pm$ 0.25##
	CHE $z/(U \cdot L^{-1})$	5 311.78 $\pm$ 587.81	5 324.99 $\pm$ 157.07	4 625.22 $\pm$ 105.57
	TP $\rho/(g \cdot L^{-1})$	46.42 $\pm$ 1.24	54.35 $\pm$ 1.37**	48.13 $\pm$ 0.63##
	DBIL $c/(\mu mol \cdot L^{-1})$	1.34 $\pm$ 0.27	0.53 $\pm$ 0.05**	0.59 $\pm$ 0.07#
血糖	TBIL $c/(\mu mol \cdot L^{-1})$	2.96 $\pm$ 0.46	1.78 $\pm$ 0.32	1.47 $\pm$ 0.27
	GLU $c/(mmol \cdot L^{-1})$	518.06 $\pm$ 38.63	514.46 $\pm$ 33.49	446.33 $\pm$ 34.67
血脂	TG $c/(mmol \cdot L^{-1})$	1.41 $\pm$ 0.16	1.45 $\pm$ 0.19	1.30 $\pm$ 0.20
	HDL $c/(mmol \cdot L^{-1})$	0.96 $\pm$ 0.17	1.57 $\pm$ 0.04**	1.31 $\pm$ 0.07
	LDL-CHOL $c/(mmol \cdot L^{-1})$	0.14 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01
	CHOL $c/(mmol \cdot L^{-1})$	2.36 $\pm$ 0.30	3.48 $\pm$ 0.11**	2.69 $\pm$ 0.15#
肾功能	BUN $c/(mmol \cdot L^{-1})$	9.59 $\pm$ 0.71	11.05 $\pm$ 1.14	10.20 $\pm$ 0.81
	CREA $c/(\mu mol \cdot L^{-1})$	60.60 $\pm$ 8.11	51.65 $\pm$ 7.35	61.06 $\pm$ 7.14
	UA $c/(\mu mol \cdot L^{-1})$	153.76 $\pm$ 19.69	288.51 $\pm$ 68.92**	216.13 $\pm$ 8.93#
	UREA $c/(mmol \cdot L^{-1})$	14.08 $\pm$ 0.88	15.17 $\pm$ 0.91	14.55 $\pm$ 1.11
离子	Ca $c/(mmol \cdot L^{-1})$	2.34 $\pm$ 0.03	2.50 $\pm$ 0.05*	2.40 $\pm$ 0.04
	Mg $c/(mmol \cdot L^{-1})$	1.34 $\pm$ 0.07	1.35 $\pm$ 0.05	1.14 $\pm$ 0.03#
血清磷	$c/(mmol \cdot L^{-1})$	1.69 $\pm$ 0.16	1.81 $\pm$ 0.14	1.67 $\pm$ 0.10

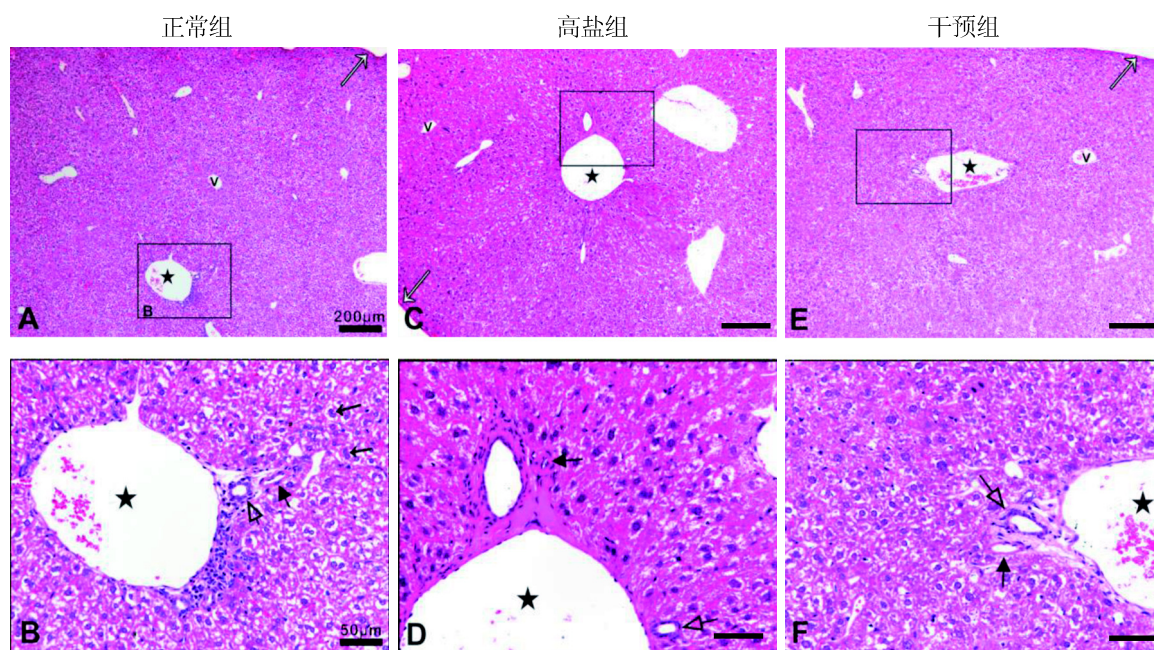
注: AST 为天冬氨酸转氨酶, ALP 为碱性磷酸酶, ALT 为丙氨酸转氨酶, GGT 为谷氨酰转肽酶, ALB 为白蛋白, CHE 为胆碱酯酶, TP 为血清总蛋白, DBIL 为直接胆红素, TBIL 为总胆红素, BUN 为血清尿素, CREA 为肌酐, UA 为尿酸, UREA 为尿素, TG 为三酰甘油, CHOL 为胆固醇, HDL 为高密度脂蛋白, LDL-CHOL 为低密度脂蛋白胆固醇, GLU 为血糖。高盐组与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 干预组与高盐组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

叶之间的门管区, 此处结缔组织略多, 其中有小叶间静脉、小叶间动脉和小叶间胆管的断面。高盐组中部分小鼠的肝板分布不均, 组织疏松, 肝细胞肿胀或融合 (图 2)。

2.3.2 肾脏的病理学变化 各组小鼠的肾表面覆以被膜。正常组的肾脏横断面组织致密、清晰 (图 3A~D)。肾的浅部为肾皮质, 许多球形肾小体 (肾小球) 分布其中; 深部实质为肾髓质,

由十多个肾锥体组成。图 3C 显示了正常肾小球及其周围的多个肾小管断面, 图 3C 小窗中显示了单层扁平上皮组成的肾小囊及血管球与肾小囊之间的囊腔, 囊腔内含有从血管球滤出的原尿。

高盐组小鼠肾被膜部分不完整 (图 3E); 肾髓质组织疏松, 组织间隙较大, 甚至缺损; 肾小球数目减少, 与正常组相比差异有统计学意义 (75 vs 109 个/肾横截面, $P < 0.001$); 血管球与肾

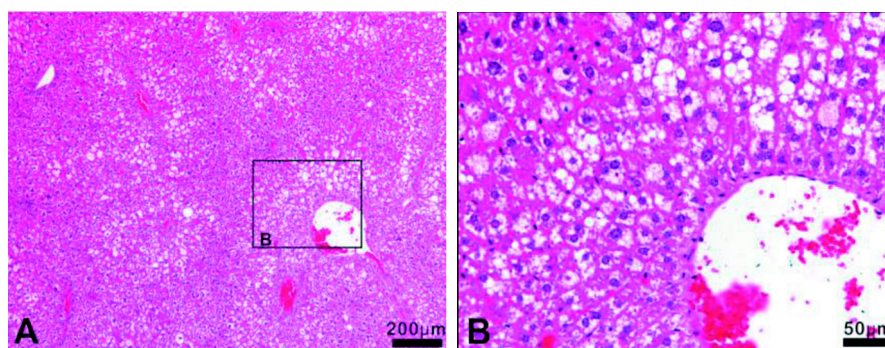


图中 V 示中央静脉, ⤴ 示肝被膜, ★ 示小叶间静脉, ⬆ 示小叶间动脉, ⬇ 示小叶间胆管, ↑ 示双核肝细胞。

B、D、F (标尺 50 μm) 分别是 A、C、E (标尺 200 μm) 中黑框区域的放大图。

图 1 各组小鼠肝脏的病理变化(HE 染色)

Figure 1 The pathological changes in liver of mice in each group (HE staining)



B 是 A 中黑框区域的放大图。A 和 B 图的标尺大小分别为 200 μm 和 50 μm。

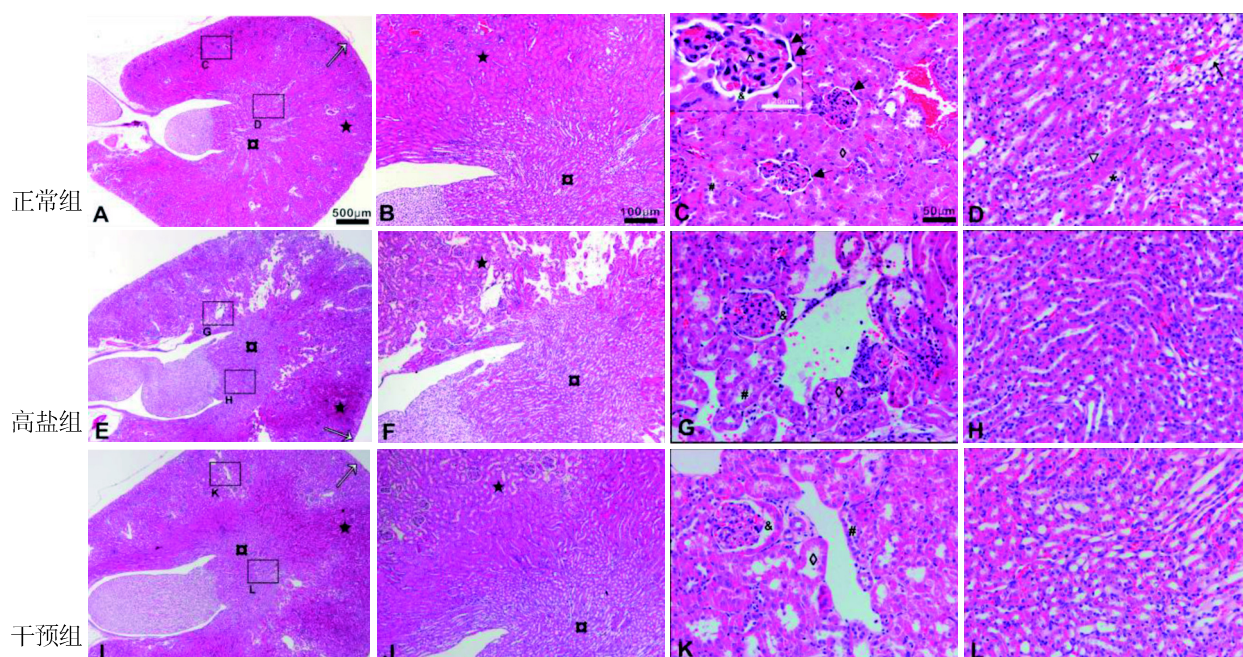
图 2 高盐组部分小鼠肝脏的病理变化(HE 染色)

Figure 2 The pathological changes in liver of some mice in high-salt diet group (HE staining)

小囊之间的囊腔变大(图3G);远曲小管和近曲小管的管径变大;肾锥体结构不清(图3E)。

干预组小鼠肾被膜完整(图3I);肾髓质较为有序、紧致,组织间隙缩小;肾小球数目有所恢复;血管球与肾小囊之间的囊腔较大(图3K);远曲小管和近曲小管的管径较大;肾锥体结构不清,但是较高盐组略清晰(图3I)。

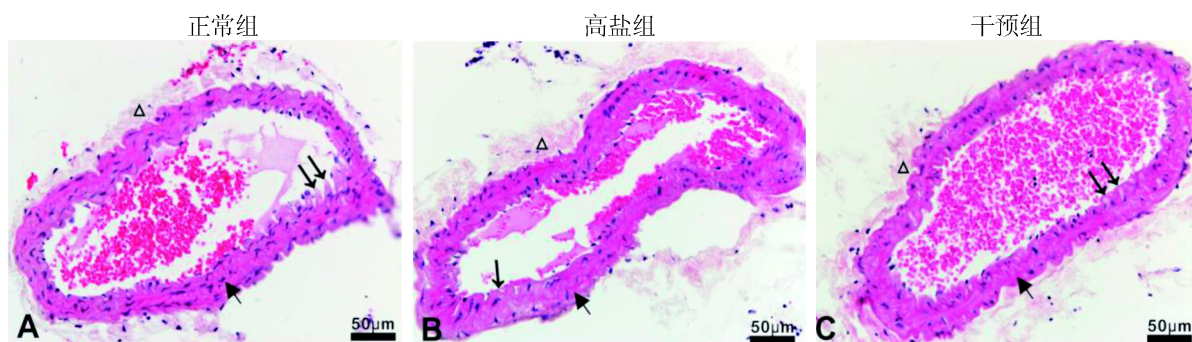
2.3.3 小鼠颈动脉的病理学变化 各组小鼠的颈动脉,大多管壁较厚,管腔圆而规则,管腔内有红细胞聚集(图4)。管壁分为3层:内膜薄,内皮下层含少量弹性纤维,与中膜无明显分界;中膜厚,主要由数层波浪状弹性膜组成;外膜较厚,为疏松结缔组织染色浅。高盐组颈动脉部分管壁塌陷,中膜部分欠紧致清晰。



图中示被膜,★示肾皮质,示肾髓质,示肾小囊,示血管球,&示囊腔,#示远曲小管,示近曲小管,示远端小管直部,示集合小管,示远端小管细段。C~D、G~H和K~L分别是A、E、I中黑框区域的放大图,比例尺大小分别为50 μm和500 μm;B、F和J的比例尺大小为100 μm。

图3 各组小鼠肾脏的病理变化(HE染色)

Figure 3 The pathological changes in kidney of mice in each group (HE staining)



图中示内膜,示中膜,示外膜。比例尺大小为50 μm。

图4 各组小鼠颈动脉的病理变化(横断面, HE染色)

Figure 4 The pathological changes in carotid artery of mice in each group (cross section, HE staining)

3 讨论

本实验采用 C57BL/6J 小鼠, 通过饲喂高盐饲料 8 周探讨构建 SSHT 小鼠模型的可行性。

目前, 用于心血管疾病研究的啮齿类动物模型主要集中于大鼠, 其中 4 种极具代表性^[6]: 自发性高血压大鼠及其对照品系 WKY; Dahl 盐敏感大鼠及其对照品系 SS-13BN 大鼠。Dahl 盐敏感大鼠在饲喂高盐饲料 (含 8% NaCl) 3~4 周后, 表现为爆发性高血压和显著的血管及肾脏损伤, 8 周内大鼠全部死亡, 因此该模型大鼠被用于肾衰竭、舒张性心力衰竭和高血压基因分析等体内研究^[6-9]。然而, SSHT 是一种病程长的慢性疾病, Dahl 盐敏感大鼠的超急性病理过程与人的 SSHT 病程不符, 而且该品系培育成功后一直保存在美国 Wisconsin 医学院, 对于在国内开展 SSHT 研究有一定的限制性。正常小鼠的收缩压为 113 (95~125) mmHg, 舒张压为 81 (67~90) mmHg^[10]。本研究所使用的 C57BL/6J 小鼠在饲喂高盐饲料 (含 8% NaCl) 8 周后, 表现出整体性高血压 (收缩压、舒张压分别是正常小鼠的 1.3 和 1.4 倍) 以及一定程度的肾脏损伤和肾小球减少 (C57BL/6J 小鼠肾小球减少 31.2%, Dahl 盐敏感大鼠肾小球减少 15.0%^[6]), 但是并没有出现 8 周内死亡现象, 比 Dahl 盐敏感大鼠发病缓和、病程较长; 另外, 用钙拮抗剂硝苯地平干预能有效降低血压至正常范围, 并使各项指标及病理趋于正常。这个病程发展和治疗方案与临床高肾素型 (非调节型) SSHT 患者的病程及治疗更为相似^[6]。目前, SSHT 小鼠模型尚未见报道, 本研究首次建立高盐喂食 C57BL/6J 小鼠的高血压模型, 将有利于 SSHT 机制的深入研究。

本实验选用常用的钙拮抗剂硝苯地平作为治疗小鼠高盐性高血压的药物^[11], 其优势是高钠摄入不影响降压疗效, 有助于对抗盐介导的细胞内离子改变和升压反应, 可以使肾血流量和肾小球滤过率升高, 肾血管阻力降低, 肾小管钠重吸收减少, 产生利钠和利尿作用^[12]。

生化指标检测结果显示, 高盐组小鼠的 ALB 和 TP 水平升高, TBIL 和 DBIL 水平降低, 说明肝脏代谢蛋白量减少, 分泌和排泄功能下降, 提

示肝脏有损伤或纤维化。HE 染色检测组织病理学变化, 发现部分高盐组小鼠的肝板分布不均, 组织疏松, 肝细胞肿胀或融合, 提示高盐摄入可能导致轻度的肝损伤或炎性反应。用硝苯地平干预小鼠的各项生化指标和病理结构都趋于正常, 提示硝苯地平有缓解作用。由于以往未见到 SSHT 有肝损伤的报道, 因此本研究结果尚需要进一步证实。

另外, 高盐组的 CHOL 和 TG 水平较正常组显著升高, 用硝苯地平干预可降低 CHOL 和 TG 水平, 甚至使其恢复至正常值, 说明高盐摄入除了导致高血压外, 还可能会导致肥胖, 而硝苯地平能缓解血脂的升高。研究表明, 肥胖人群大多具有盐敏感性, 血压对盐摄入的反应增强^[13]。肥胖患者的血浆醛固酮水平偏高, 高盐摄入会激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统, 导致血管舒张功能降低、血管平滑肌增殖及心肌细胞纤维化等, 进而影响血压; 而在膳食诱导的肥胖小鼠中, 硝苯地平作为钙拮抗剂, 除了能降低血压外, 还能改善缺血引起的血管重建^[14-15]。

高盐摄入导致 SSHT, 主要通过钠离子转运机制、交感神经激活、肾脏排钠损伤及炎症反应、肾素-血管紧张素-醛固酮系统、内皮功能损伤和内分泌等机制产生^[2-3, 9, 12]。除此以外, 高盐摄入可以独立于血压升高的作用还包括: (1) 引起肾功能降低、盐负荷时尿排钠反应延迟^[2]、钠-钾泵 ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶) 活性降低、 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交换增加^[12]; (2) 直接造成某些靶器官的损伤 (如心、脑、肾血管损伤)^[6, 16-17]、肾小球硬化并减少、肾小管上皮间质化和肾脏纤维化^[2, 6, 18]。本研究中发现, 高盐组肾皮质组织疏松、间隙较大, 甚至缺损; 肾小球减少; 血管球与肾小囊之间的囊腔变大; 远曲小管和近曲小管的管径变大; 肾锥体结构不清。其中, 组织间隙变大和囊腔变大可能是高盐导致肾排钠功能下降引起的, 结合肾功能指标 BUN 和血清钙水平上升, 说明肾小球滤过率降低; 而肾小管管径变大说明肾小管钠重吸收可能增加。这些病理改变提示肾脏有实质性损伤, 而钙离子拮抗剂硝苯地平干预可以部分恢复这些改变。另外, 虽然高盐组的 UA 水平升高, 但是肾脏病理学检测未见

到有明显的炎性反应,需进一步通过检测炎症因子白细胞介素6、白细胞介素1 β 和肿瘤坏死因子 α 等的表达来加以证实。

本研究发现,含8%氯化钠的高盐饲料饲养可诱导C57BL/6J小鼠高血压,同时肝功能指标ALT、ALB和TP水平升高,DBIL水平降低,结合病理学检测结果提示肝脏有轻度损伤;血脂指标CHOL和TG水平升高,说明高盐摄入还可能导致肥胖;肾功能指标BUN和CREA水平上升,结合肾脏病理学检测结果,提示肾小球滤过率降低,而且肾小管钠重吸收可能增加,从而导致肾脏有实质性损伤。以上发现的生化指标和病理学改变,在使用硝苯地平干预后均有所恢复,表明硝苯地平在缓解血压升高的同时,能缓解高盐摄入导致的靶器官损伤。因此,短期高盐引起的高血压和肝肾病理改变,可能是一个可以通过药物改善的可逆病理过程。然而,本实验仍存在一定不足,例如已有文献显示可利用CRISPR/Cas9技术并采用同源重组的方式构建一种合并高血脂和诱导型高血压的新型小鼠模型,相比于本研究构建的小鼠模型具有更可靠的稳定性,且同时具有高血脂和高血压两种生理学特征,能更加全面研究人类高血压发病情况^[19]。今后本课题组将在方法学上进行改进,结合分子生物学技术构建均一性和稳定性更佳的小鼠模型。

综上所述,本研究成功建立了C57BL/6J小鼠SSHT模型,模拟了SSHT在临床上的慢性病程,可为临床筛选对SSHT敏感的药物以及研发新药提供重要的实验基础。

参考文献:

- [1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2017》概要[J].中国循环杂志,2018,33(1):1-8.
- [2] 范贵娟,徐瑞.敏感性高血压的研究进展[J].心血管病学进展,2016,37(4):364-367.
- [3] 张婷婷,蒋希成,吴鑫宇,等.盐敏感性高血压的现代研究进展[J].世界中西医结合杂志,2018,13(9):1329-1332.
- [4] 梁思聪,陈思娇,祝之明.盐敏感性高血压与膳食功能因子[J].中国医科大学学报,2018,47(2):167-170.
- [5] Smith SC, Feldman TE, Hirshfeld JW, et al. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association task force on practice guidelines (ACC/AHA/SCAI writing committee to update the 2001 guideline for percutaneous coronary intervention) [J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 47(1):e1-e121.
- [6] 康峰,张海峰,王珑.四种啮齿类实验动物模型品系的介绍[J].实验动物科学,2013,30(4):62-64.
- [7] Rapp JP, Dene H. Development and characteristics of inbred strains of Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats[J]. Hypertension, 1985, 7(3 Pt 1):340-349.
- [8] Calhoun DA, Wyss JM, Oparil S. High NaCl diet enhances arterial baroreceptor reflex in NaCl-sensitive spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertension, 1991, 17(3):363-368.
- [9] Nakazawa Y, Inoue S, Nakamura Y, et al. High-salt diet promotes crystal deposition through hypertension in Dahl salt-sensitive rat model[J]. Int J Urol, 2019, 26(8):839-846.
- [10] 秦川,张连峰,魏泓,等.实验动物学[M].北京:人民卫生出版社,2010:425.
- [11] 王彩冰,黄丽娟,晋玲,等.白花九里明提取液对小鼠不同时间段血压、心率影响[J].中国中医基础医学杂志,2015,21(4):457-458, 466.
- [12] 罗怡,陈明.盐敏感性高血压研究进展[J].心血管病学进展,2013,34(5):644-647.
- [13] 侯丽萍.苯磺酸左旋氨氯地平联合二甲双胍治疗盐敏感性肥胖型轻中度高血压的疗效[J].中国老年学杂志,2012,32(19):4119-4121.
- [14] 罗冬梅(译).在膳食诱导的肥胖小鼠中硝苯地平改善缺血引起的血管重建过程[J].中华高血压杂志,2012,20(6):598.
- [15] Kimura T, Nakamura K, Miyoshi T, et al. Inhibitory effects of tofogliflozin on cardiac hypertrophy in Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats fed a high-fat diet[J]. Int Heart J, 2019, 60(3):728-735.
- [16] 牟建军,刘治全.盐敏感性高血压药物治疗选择[J].中华高血压杂志,2012,20(3):216-218.
- [17] Frame AA, Puleo F, Kim K, et al. Sympathetic regulation of the NCC in norepinephrine-evoked salt-sensitive hypertension in Sprague-Dawley rats[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2019, 317(6):F1623-F1636.
- [18] 汪洋,牟建军,褚超,等.高盐饮食对Dahl盐敏感性大鼠肾小管上皮向间质转化和肾脏纤维化的影响[J].中国病理生理杂志,2016,32(8):1524-1525.
- [19] 马晓燕,陈虹,杨国丽,等.一种合并高血脂和诱导型高血压的新型小鼠模型的构建与鉴定[J].中国分子心脏病学杂志,2019,19(4):3020-3024.

Establishment of Salt-sensitive Hypertension Model in C57BL/6J Mice

YAO Ding¹, ZHOU Jing¹, YAN Guofeng¹, WANG Huiyang¹, WANG Yadi², MA Zhengwen¹
(1. Department of Laboratory Animal Science, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine,
Shanghai 200025, China; 2. Gezhi High School of Shanghai, Shanghai 200001, China)

[Abstract] **Objective** To establish a mouse model of salt-sensitive hypertension, and to verify the effectiveness of the model using by nifedipine, an antihypertensive drug. **Methods** C57BL/6J mice were divided into the normal control group, high-salt diet group and high-salt diet with nifedipine group. The blood pressure change of mice was measured by non-invasive blood pressure system (CODA system). The biochemical indexes of liver function, renal function, blood lipid, blood sugar and ions were measured by the blood biochemical analyzer, and the histological changes of the liver, kidney and carotid artery were observed after hematoxylin-eosin staining. **Results** Compared with the normal mice, the systolic and diastolic blood pressure in the high-salt diet group increased significantly (both $P < 0.01$), and those in the high-salt diet with nifedipine group decreased significantly (both $P < 0.01$), and there were statistically significant differences. The liver function indexes (aspartate transaminase, alkaline phosphatase, albumin, total serum protein, and direct bilirubin), blood lipid index (cholesterol), renal function index (uric acid) and ionic levels (Ca, Mg) in high-salt diet group were significantly different from the control group, and those in the high-salt diet with nifedipine group were gradually recovered after nifedipine intervention. The pathological histology showed that the liver and kidney of the high-salt diet group had different degrees of injury. **Conclusion** High-salt diet can successfully establish a mice model of salt-sensitive hypertension, and nifedipine can effectively lower the blood pressure of the model mice.

[Key words] Salt-sensitive hypertension; Nifedipine; Hypotensor; Mouse model