

徐雁云,潘永明,黄俊杰,等. 西藏小型猪颈动脉粥样硬化模型的建立及评价研究 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(3): 287-295.

Xu YY, Pan YM, Huang JJ, et al. Establishment and disease characteristics of a carotid atherosclerosis model in Tibet mini-pigs [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(3): 287-295.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.03.002

西藏小型猪颈动脉粥样硬化模型的建立及评价研究

徐雁云¹,潘永明²,黄俊杰²,屠海焯¹,郁晨¹,陈民利^{2*},徐孝平^{2*}

(1. 浙江中医药大学药学院,杭州 310053;2. 浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究所,杭州 310053)

【摘要】 目的 采用高脂饮食联合左侧颈动脉球囊损伤术建立西藏小型猪颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)模型,观察西藏小型猪 CAS 模型的血液生化、影像学及病理学特点。**方法** 10 只雄性西藏小型猪随机分为两组,正常组饲喂正常饲料,模型组持续饲喂高脂饲料且 2 周后进行左侧颈动脉球囊损伤术,造模周期为 12 周。分别在高脂饲喂前(-2 周)、球囊损伤(0 周)及术后 2 周、6 周、10 周检测其体重和血液生化等指标,并在术后 10 周进行超声、血流多普勒、血管造影等影像学观测。动物安乐死后取左侧颈动脉进行 HE、Masson 和油红“O”染色,观察其形态、炎症、纤维化和脂质沉积等情况,分析西藏小型猪的病变特点。**结果** 西藏小型猪 CAS 模型的多项血液生化指标与临床相似;影像学结果显示 CAS 模型左颈动脉血管显著狭窄且阻力增大,导致血流速度减小;病理观察有明显炎症细胞浸润、胶原纤维增生、血管壁增厚和脂质沉积等,与临床表现近似。**结论** 西藏小型猪 CAS 模型与临床特点相似,模型易感且稳定,是适用于研究 CAS 的良好的理想模型。

【关键词】 西藏小型猪;颈动脉粥样硬化;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2023) 03-0287-09

Establishment and disease characteristics of a carotid atherosclerosis model in Tibet mini-pigs

XU Yanyun¹, PAN Yongming², HUANG Junjie², TU Haiye¹, YU Chen¹,
CHEN Minli^{2*}, XU Xiaoping^{2*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China.

2. Laboratory Animal Research Center/Institute of Comparative Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053)

Corresponding author: CHEN Minli. E-mail:cmli991@zcmu.edu.cn; XU Xiaoping. E-mail:xyp@zcmu.edu.cn

【Abstract】 Objective By combining a high fat diet with balloon injury to the left carotid artery, a carotid atherosclerosis (CAS) model in Tibetan miniature pigs was established, and hematobiochemical, imaging, and pathological features of the CAS model were analyzed. **Methods** Ten male Tibetan miniature pigs were randomly divided into two groups, one of which received a normal diet, whereas the other had an balloon injury to the left carotid artery after 2 weeks while being fed a high fat diet. The modeling period was 12 weeks. Body weight and blood biochemical indexes were measured before high fat feeding (-2 weeks) and balloon injury (0 weeks) and after 2, 6, and 10 weeks. Ultrasound, Doppler flow imaging, and angiography were performed at 10 weeks after the operation. To investigate morphology, inflammation, fibrosis, and lipid deposition, and lesion characteristics of Tibetan mini-pigs, the left carotid artery of the

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(31970514),浙江省公益技术研究计划(LGD20C040004)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (31970514), Zhejiang Public Welfare Technology Research Program(LGD20C040004)。

【作者简介】徐雁云(1998—),女,在读硕士生,研究方向:实验动物与比较药理。Email: xuyanyun_123@163.com

【通信作者】陈民利(1963—),女,教授,博士生导师,研究方向:实验动物与比较医学。Email: cmli991@zcmu.edu.cn;

徐孝平(1978—),男,高级实验师,研究方向:实验动物与比较医学。Email: xyp@zcmu.edu.cn。

* 共同通信作者

animals was stained with HE, Masson, and oil red O after euthanasia. **Results** Numerous blood biochemical parameters in the CAS model were similar to the clinical parameters. Imaging findings revealed significant narrowing and increased resistance of the left carotid artery in the CAS model. Resulting in reduced blood flow velocity. Pathological observations revealed significant inflammatory cell infiltration, collagen fiber proliferation, vessel wall thickening, and lipid deposition, which were similar to clinical manifestations. **Conclusions** The CAS model in Tibet miniature pig is an ideal model to investigate CAS because it is sensitive, stable, and resembles clinical aspects.

【Keywords】 Tibetan mini-pig; carotid atherosclerosis; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

心血管疾病是威胁全球人类健康的头号杀手,动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是众多心血管疾病的病理基础,也是根本原因,如冠心病、脑梗死等。AS 是一种进行性慢性炎症和代谢性疾病,其特征是血管内壁的脂质沉积、局灶性内膜增厚、平滑肌细胞增殖和斑块形成^[1],进而影响各种大、中动脉,是心脏病和脑中风的主要原因^[2-3]。颈动脉位于体表,相较于脑动脉和冠状动脉等血管,颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)斑块经超声检查即可被发现,进而可推测其它动脉的状况,CAS 斑块被称为全身 AS 的“窗口”。但由于 CAS 病因复杂,其致病机制仍未明了,因此,建立 CAS 模型对后续疾病机制等研究至关重要。

与其他实验动物相比,猪的饮食、心血管系统、脂代谢与人类极为类似,其在生理结构尺寸以及高危动脉粥样硬化病变的遗传表达和发展等方面具有不可替代的优势,适用于临床心血管疾病机制研究以及药物研发,但目前 CAS 模型中研究甚少^[4-6]。课题组前期研究发现,与其他小型猪相比,西藏小型猪在高脂环境下易形成 AS 且病变严重,具有脂质蓄积、斑块成熟的特点,表现为明显的慢性炎症、脂质紊乱、中心性肥胖、胰岛素抵抗,其病变特征与临床相似,是用于研究 AS 的良好动物模型^[7-8]。因此,本文采用高脂诱导加球囊损伤的经典方法致西藏小型猪 CAS 模型,通过血脂检测、影像学 and 病理学技术观察其病症特点,为西藏小型猪在 CAS 中的研究应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

品种品系:西藏小型猪,级别:普通级,性别:雄性,体重:6.0 ~ 12.0 kg,月龄:5 ~ 6 个月,数量:10 只,购自东莞松山湖明珠实验动物科技有限公司【SCXK(粤)2017-0030】,合格证编号:4441050

0000286。西藏小型猪饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心普通环境设施中【SYXK(浙)2018-0012】,室温(22 ± 2)℃,相对湿度 40% ~ 70%。所有饲养和操作均经过浙江中医药大学实验动物管理与伦理委员会审查并批准(IACUC:20191021-11)。

1.1.2 主要试剂与仪器

油红“O”粉末(SIGMA-ALDRICH 公司,美国);总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白-胆固醇、高密度脂蛋白-胆固醇试剂盒均购自美康生物科技股份有限公司。球囊导管(泰尔茂医疗,型号:DC = RB4040EHW 4.0 × 40 mm,中国);麻醉呼吸机(Summit 公司,型号:Hallowell EMC 2000,美国);全自动生化分析仪(日立公司,型号:3110,日本);半自动石蜡切片机(Leica 公司,型号:RM2245,德国);自动染色机(Leica 公司,型号:Autostainer XL,德国);Nana Zoomer 数字切片扫描仪(滨松公司,型号:2.0 RS 日本);数字化彩色超声诊断仪(飞依诺科技有限公司,型号:M50,中国);高频移动式 C 形臂 X 射线机(南京普爱医疗设备股份有限公司,型号:PLX 7000,中国)。

1.2 方法

1.2.1 分组与造模

10 只西藏小型猪适应性饲养后,随机分为两组,正常组(NC)和颈动脉粥样硬化组(模型组,CAS),每组 5 只。NC 组饲喂基础饲料,连续 12 周;CAS 组饲喂高脂饲料(1.5%胆固醇、15%起酥油、10%蛋黄粉、0.5%胆碱、73%基础饲料),饲喂量为每天 2.5%体重,均分为两次给予,2 周后行左侧颈总动脉球囊损伤术并继续饲喂高脂饲料 10 周。手术方法如下:动物禁食不禁水 12 h 后,给予 4 mg/kg 布洛芬进行术前镇痛,然后肌肉注射 0.05 mg/kg 阿托品和耳缘静脉注射 2 mg/kg 丙泊酚注射液进行诱导麻醉,随后进行气管插管维持麻醉,通过耳缘静脉注射 500 IU/kg 肝素钠以防术中急性血栓形成。颈部皮肤剃毛消毒后,纵向皮肤切口约 6 cm,分离

左侧颈总动脉(left common carotid artery, LCCA)并充分暴露,分别用动脉夹临时夹闭 LCCA 近心端和颈内动脉(internal carotid artery, ICA)起始段,行颈外动脉(external carotid artery, ECA)穿刺术,然后在 0.014 F 微导丝的引导下,将球囊导管插入 LCCA 中,球囊内充以生理盐水至 10 个大气压(atmosphere, atm),牵拉旋转导管,回抽球囊内液体至 0 atm 后回抽导管,损伤长度为 5 cm,重复 3 次,以建立颈总动脉损伤模型,损伤结束后取出球囊导管,结扎 ECA,恢复血流并缝合切口。

1.2.2 一般观察与血脂检测

实验期间观察小型猪的精神、行为、饮食、四肢、站立姿势、粪便和尿液等一般情况;并定期称量小型猪的空腹体重。分别在饲喂高脂时(-2)周,球囊损伤术 0、2、6、10 周,禁食不禁水 12 h 后取前腔静脉肝素抗凝血,分离血浆,在全自动生化仪上测定血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triacylglycerol, TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)含量的变化,并计算动脉粥样硬化指数(atherosclerosis index, AI),即 $TC-HDL-C/HDL-C$ 。

1.2.3 B 超检测与分析

球囊损伤术后 10 周时,行颈动脉超声检查;按常规麻醉后,颈部皮肤备皮,在超声探头上涂抹偶联剂,通过超声诊断依颈动脉方向探测颈总动脉的长轴切面,显示颈总动脉的管腔内径、内中膜厚度(intima-media thickness, IMT)、狭窄程度等,用彩色多普勒图像显示颈总动脉内血流情况,用脉冲多普勒测量血流速度,利用回声强度不同和彩色多普勒来观察是否存在斑块及其大小与性状。测定指标包括:IMT、收缩期最高血流速度(peak systolic velocity, PSV)、舒张末期血流速度(end diastolic velocity, EDV)、血管阻力指数(resistance Index, RI)、狭窄率。血管阻力指数和狭窄率的计算公式分别为 $RI=(\text{收缩期流速}-\text{舒张期流速})/\text{收缩期流速}$, $\text{狭窄率}=(\text{血管最大内径}-\text{狭窄部血管径})/\text{血管最大内径}$ 。

1.2.4 血管造影

各组动物安乐死前,将小型猪麻醉后对其行左侧颈动脉血管造影术。颈部皮肤备皮后,无菌铺巾,分离左侧颈总动脉,用 22 G 留置针穿刺颈总动脉并固定留置针,根据高频移动式 C 形臂 X 射线机

定位,并在数字血管造影(digital subtraction angiography, DSA)模式下,向留置针内注射碘海醇溶液 2 mL,进行颈总动脉血管造影观察,然后用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量血管狭窄率,即 $1-(\text{最狭窄处管径}/\text{正常血管管径})\times 100\%$ 。

1.2.5 颈总动脉粥样硬化病变分析

行安死术后,取各组左侧颈总动脉血管,浸入 4%中性甲醛中固定,石蜡包埋,切片厚度为 4 μm ,行苏木素-伊红染色,封片。数字切片扫描仪扫描病理切片,采用 NDP.view 2 软件测量血管 IMT、管腔面积(lumen area, LA)、内弹性层面积(internal elastic layer area, IELA)、外弹性层面积(external elastic layer area, EELA)、新内膜面积(new intimal area, NIA)、中膜面积(media area, MA), $NIA=IELA-LA$, $MA=EELA-IELA$,并计算新内膜面积/中膜面积(NIA/MA)和新内膜面积/内弹性层面积($NIA/IELA$)的比值。另外,取切片进行 Masson 染色,用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析胶原纤维的百分率。

1.2.6 颈总动脉血管脂质沉积分析

取新鲜的颈总动脉血管进行冰冻切片,切片厚度为 8 μm ,于 60%异丙醇中放置 5 min 后,用新过滤的油红“O”染色 10 min,60%异丙醇分化 5 min,水洗 5 min,苏木素染色 10 min,水洗返蓝,封片剂封片,用数字切片扫描仪扫描病理切片,用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析脂质沉积情况。

1.3 统计学分析

所有数据用平均数 \pm 标准误差($\bar{x} \pm s\bar{x}$)表示,用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学处理,两两比较采用 Mann-Whitney test 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

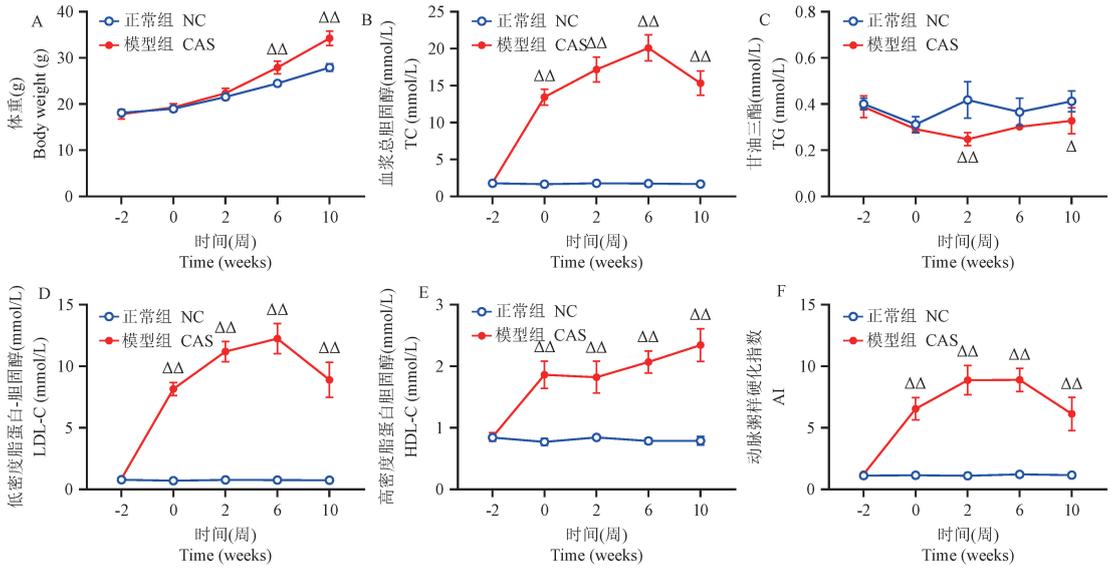
2 结果

2.1 CAS 模型体重与血脂变化

与正常组比,CAS 模型组在术后 6 周、10 周时体重明显增加($P < 0.01$),另外,高脂饲喂后 CAS 模型组血浆 TC、LDL-C、HDL-C 水平以及 AI 指数均显著升高($P < 0.01$);而血浆 TG 含量在术后 2 周和 10 周时均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)(图 1)。

2.2 B 超检测颈动脉血管 IMT 和血管狭窄率

图 2 颈动脉血管二维灰阶超声成像结果显示,与 NC 组比,CAS 模型组左侧颈动脉血管 IMT 显著增加($P < 0.01$),且有明显斑块沉积;CAS 模型组左侧颈动脉血管狭窄率明显升高($P < 0.01$)。

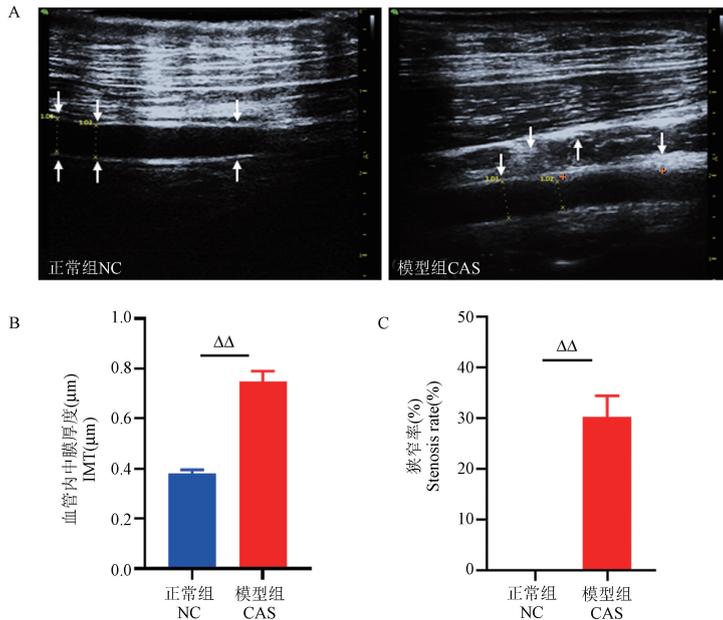


注:A:各组体重变化情况;B:各组血浆 TC 含量变化情况;C:各组血浆 TG 含量变化情况;D:各组血浆 LDL-C 含量变化情况;E:各组血浆 HDL-C 含量变化情况;F:各组 AI 变化情况;与 NC 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。(下同)

图 1 西藏小型猪 CAS 模型体重及血液生化变化($n = 5$)

Note. A. Changes of body weight in each group. B. Changes of plasma TC content in each group. C. Changes of plasma TG content in each group. D. Changes of plasma LDL-C content in each group. E. Changes of plasma HDL-C content in each group. F. Changes of AI in each group. Compared with the NC group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 1 Changes of body weight and blood biochemical parameters in the CAS model of Tibetan mini-pigs($n = 5$)



注:A:各组左侧颈动脉血管二维灰阶超声成像代表图,白色箭头表示内中膜,红色“+”表示斑块,黄色 D1 表示正常管径,黄色 D2 表示狭窄处管径;B:各组左侧颈动脉血管内中膜厚度;C:各组左侧颈动脉血管狭窄率定量分析结果。

图 2 颈动脉血管内中膜厚度和血管狭窄率($n = 5$)

Note. A. Representative two-dimensional gray-scale ultrasound imaging images of the left carotid vessels in each group, with white arrows indicating the intima, red “+” indicating plaque, yellow D1 indicating normal vessel diameter, and yellow D2 indicating vessel diameter at the stenosis. B. Intima-media thickness of the left carotid vessels in each group. C. Results of quantitative analysis of the stenosis rate of the left carotid vessels in each group.

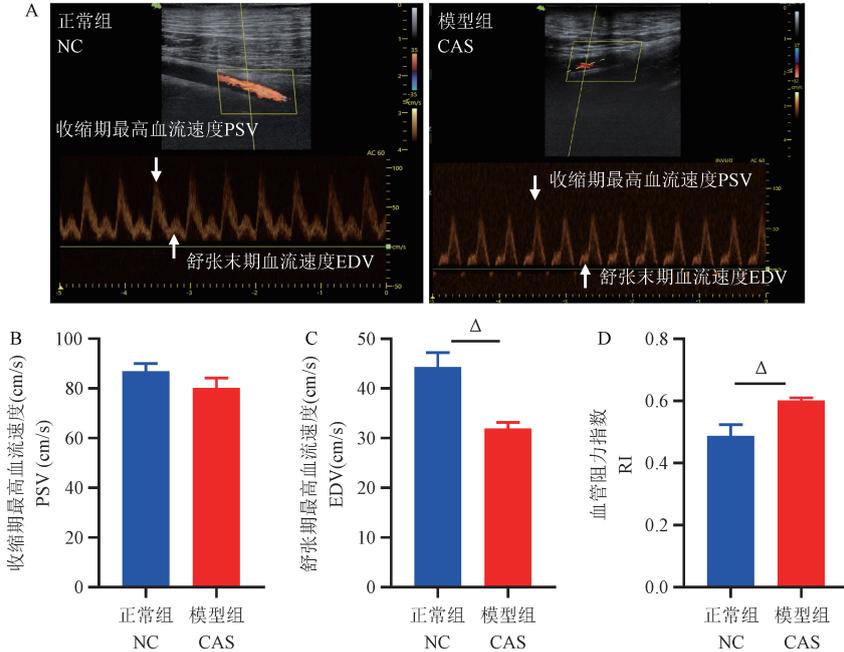
Figure 2 Intima-media thickness and stenosis rate in carotid vessels($n = 5$)

2.3 B 超检测左侧颈动脉血流和血管阻力

图 3 颈动脉血管多普勒超声成像结果显示:与 NC 组比较,CAS 模型组左侧颈动脉血管 PSV 变化不明显($P > 0.05$),而 EDV 显著降低($P < 0.05$)和 RI 显著升高($P < 0.05$)。

2.4 血管造影观察颈动脉的狭窄率

图 4 左侧颈动脉血管造影结果显示,NC 组左侧颈总动脉血管壁光滑,血管充盈,形态未见异常,CAS 组可见血管壁毛糙、管腔不规则、狭窄或中断等 AS 的形态学改变。定量分析表明,CAS 组血管

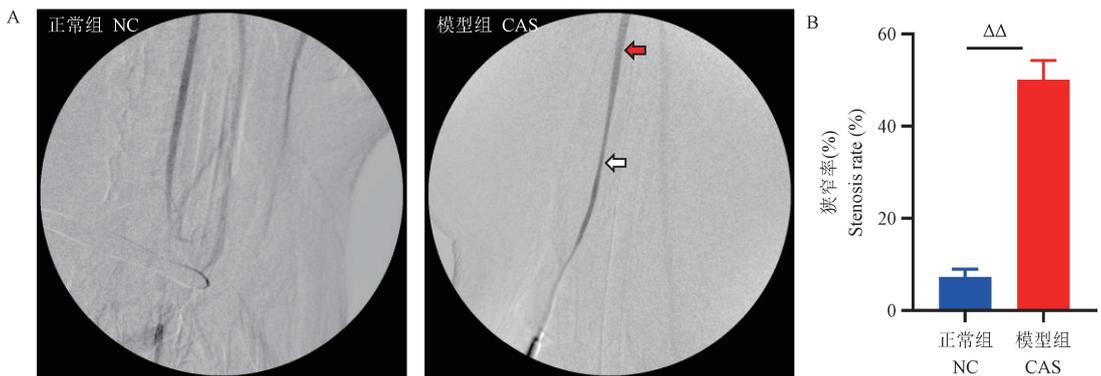


注:A:各组左侧颈动脉血管的多普勒超声成像代表图,PSV 箭头表示收缩期最高血流速度,EDV 箭头表示舒张末期血流速度;B:各组左侧颈动脉血管收缩期最高血流速度定量分析结果;C:各组左侧颈动脉血管舒张末期血流速度定量分析结果;D:各组血管阻力指数定量分析结果。

图 3 颈动脉血流和血管阻力($n = 5$)

Note. A. Representative Doppler ultrasonography images of the left carotid vessels in each group, with PSV arrows indicating maximum systolic flow velocity and EDV arrows indicating end-diastolic flow velocity. B. Results of quantitative analysis of maximum systolic flow velocity in the left carotid vessels in each group. C. Results of quantitative analysis of end-diastolic flow velocity in the left carotid vessels in each group. D. Results of quantitative analysis of vascular resistance index in each group.

Figure 3 Carotid blood flow and vascular resistance($n = 5$)



注:A:各组左侧颈动脉血管造影代表图,白色箭头表示狭窄处,红色箭头表示正常处;B:各组左侧颈动脉血管狭窄率定量分析结果。

图 4 颈动脉血管造影结果($n = 5$)

Note. A. Representative left carotid angiograms of each group, with white arrows indicating stenosis and red arrows indicating normal. B. Results of quantitative analysis of left carotid stenosis rate in each group.

Figure 4 Carotid artery angiography results($n = 5$)

狭窄率明显高于 NC 组 ($P < 0.01$)。

2.5 病理组织学观察

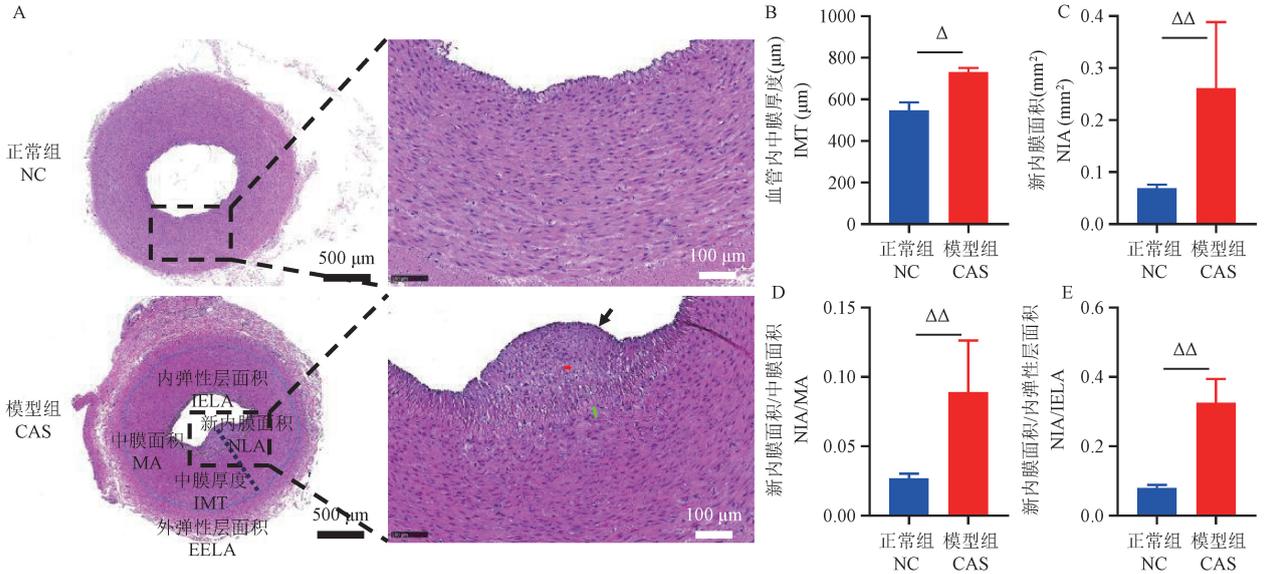
2.5.1 HE 染色结果

NC 组左侧颈动脉血管内、中膜结构清晰,未见明显异常;CAS 组可见左侧颈动脉血管内膜明显增生、巨噬细胞等炎性细胞浸润、平滑肌细胞向内膜迁移、胶原纤维增生和泡沫细胞生成增多,同时部分弹力纤维被破坏,并有明显的粥样斑块形成。定

量分析显示,CAS 模型组 IMT、NIA、NIA/MA 和 NIA/IELA 比值均显著高于 NC 组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图 5。

2.5.2 Masson 染色结果

Masson 染色结果如图 6 显示,NC 组左侧颈动脉血管胶原纤维主要沉积在血管外膜层和少量的中膜层中;而 CAS 组左侧颈动脉血管胶原纤维沉积在中、内膜层中明显增加。定量分析显示,与 NC 组

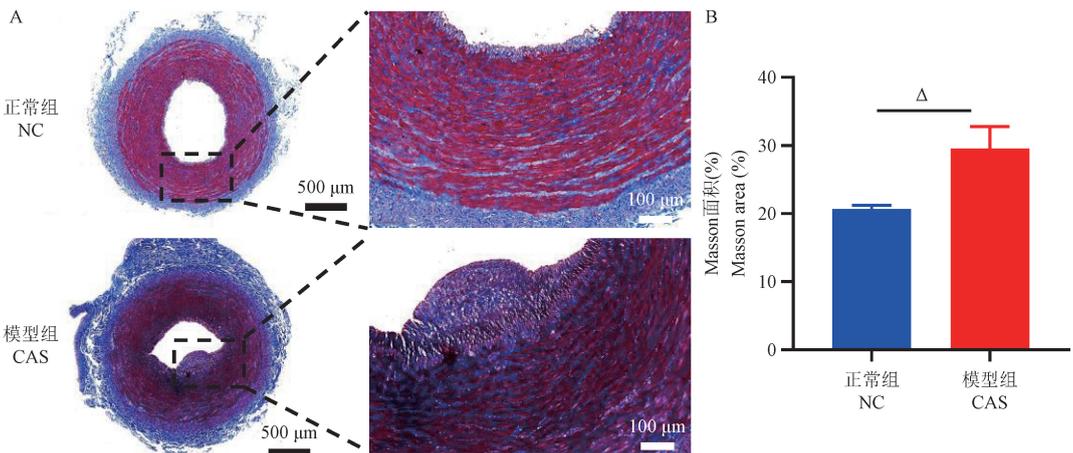


注:A:各组颈动脉血管 HE 染色代表图;绿色箭头表示内弹力纤维,红色箭头表示泡沫细胞,黑色箭头表示 AS 病变;B:血管内中膜厚度;C:新内膜面积;D:新内膜面积/中膜面积;E:新内膜面积/内弹性层面积。

图 5 CAS 模型颈动脉 HE 染色结果 ($n = 5$)

Note. A. Representative HE stained images of each group of carotid vessels. Green arrows indicate internal elastic fibers, red arrows indicate foam cells, black arrows indicate AS lesions. B. IMT. C. NIA. D. NIA/MA. E. NIA/IELA.

Figure 5 HE staining results of carotid artery in CAS model ($n = 5$)



注:A:各组左侧颈动脉血管 Masson 染色代表图,蓝色显示为胶原纤维沉积;B:Masson 染色左侧颈动脉血管定量结果。

图 6 CAS 模型颈动脉 Masson 染色结果 ($n = 5$)

Note. A. Representative images of Masson staining of left carotid vessels in each group, collagen fibril deposition is shown in blue. B. Quantitative results of Masson staining of left carotid vessels.

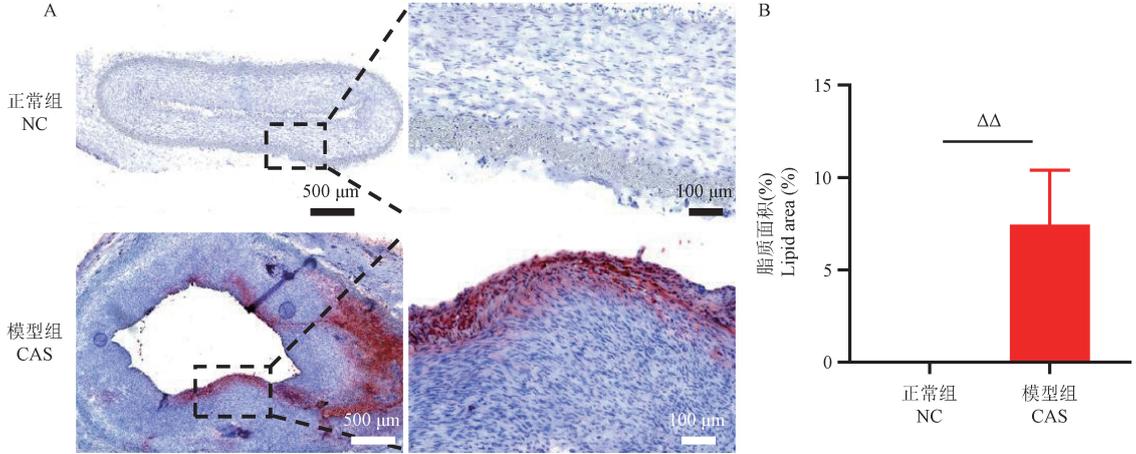
Figure 6 Masson staining results of carotid artery in CAS model ($n = 5$)

比, CAS 组血管胶原纤维沉积显著增加 ($P < 0.05$)。

2.5.3 油红“O”染色结果

左侧颈动脉血管油红“O”染色结果如图 7 所

示, NC 组左侧颈动脉血管未见脂质沉积, CAS 组左侧颈动脉血管中、内膜层中脂质沉积明显增加。定量分析显示, 与 NC 组比较, CAS 组血管脂质沉积显著增加 ($P < 0.01$)。



注: A: 各组左侧颈动脉血管油红“O”染色脂质沉积代表图; B: 油红“O”染色左侧颈动脉血管定量结果。

图 7 CAS 模型颈动脉油红“O”染色结果 ($n = 5$)

Note. A. Representative image of oil-red “O” staining of lipid deposition in the left carotid vessels of each group. B. Oil-red “O” staining of the left carotid vessels for quantitative results.

Figure 7 Results of oil red “O” staining of carotid artery in CAS model ($n = 5$)

3 讨论

随着对动脉粥样硬化发病机制研究的不断深入,越来越多的证据支持“脂质浸润学说”和“内皮损伤学说”是 AS 过程的起始理论。血管内皮功能障碍和大量的脂质(尤其是胆固醇)进入动脉壁并局部沉积聚集,引起局部巨噬细胞吞噬脂质和平滑肌细胞的增殖和迁移,这些都是 AS 发生的重要事件^[9]。

尽管目前各种 ApoE^{-/-}小鼠、LDL^{-/-}小鼠等基因敲除鼠已成为研究 AS 的常规模型^[10]。然而,其血管的大小、血流动力学因素、脂质成分等与人类存在较大差异。与之相比,猪的血压和心率、血液生化、脂质成分等指标与人类较为相似,同时猪的血管大小也与人类非常相似,故是研究人类疾病良好的生物反应器。西藏小型猪是我国完成实验动物化的一种小型猪新品系,具有体型小,饲养管理方便等优点。本研究首先以食饵性饲喂的方式导致西藏小型猪机体血脂紊乱,同时采用颈动脉球囊损伤术可引起内皮损伤,促进内皮功能紊乱,引起血管内膜的通透性和完整性功能障碍;且血脂紊乱和血管内皮损伤对 CAS 形成可相互影响,利于缩短 CAS 的造模时间。另外球囊损伤术可模拟临床经

皮腔内血管成形术(percutaneous transluminal angioplasty, PTA)的过程,其形成的斑块成分与人类斑块极为相似。因此,基于此造模方法,西藏小型猪在造模 12 周的时间内可形成 CAS 模型,具有斑块定位明确,存活率高,效果好的优势,提示该动物模型与人类颈动脉粥样硬化的病理生理条件相似,可能是一个合适的研究对象。

高脂血症在颈动脉粥样硬化发展中起重要作用,LDL-C 促进斑块形成,刺激血管平滑肌的增殖,并与炎症和脂质积累有关^[11-12]。本研究发现,西藏小型猪 CAS 模型血浆 TC 和 LDL 水平和 AI 指数均明显升高,同时在颈动脉的组织学观察中发现颈动脉血管有炎性细胞浸润、泡沫细胞增多、胶原纤维明显增生、脂质沉积,可见明显的斑块形成,与临床病理特征相符^[13]。HE 染色下平滑肌细胞有向内膜迁移的趋势且血管内膜增生, Khatana 等^[14]认为这与 ox-LDL 有着密切联系。这些均表明西藏小型猪 CAS 模型的病理特点与人类相似。然而, CAS 西藏小型猪的 TG 与正常组相比有所降低,这可能与小型猪品系、饲料成分和造模时间等因素有关。研究发现西藏小型猪对 TG 敏感,但代谢能力差,高脂诱导早期 TG 主要沉积于肝,在外周血中升高不明显,但其具体原因有待进一步探讨^[8,15]。

另外,颈动脉位于体表易被探查,超声是检测 CAS 最常用的无创方法,可以直观地显示颈动脉血管以及血流情况,是目前诊断 CAS 的首选。西藏小型猪 CAS 模型的超声结果显示有多处不规则斑块形成,且颈动脉中内膜厚度(CIMT)和血管狭窄率显著增加。CIMT 被认为是预测斑块进展的指标,代表全身 AS 情况^[16]。据临床统计,CIMT 的增加均伴随着冠心病、卒中的风险增加,另有多项研究发现 CIMT 还与高血压、糖尿病等心血管疾病密切相关^[17-19]。多普勒超声探测到颈动脉内收缩期最高血流速度、舒张末期血流速度均降低,反之血管阻力显著升高,可见 CAS 小型猪颈动脉狭窄率增加的影响血流运输,与临床 AS 影像学特征一致。此外,本实验还通过数字血管造影技术将血管可视化,DSA 是 CAS 诊断的金标准。应用 DSA 可以更加清晰直观地看到血管狭窄程度及其具体位置以及斑块的严重程度。本研究结果显示,CAS 模型组动物血管壁毛糙、管腔不规则、狭窄或中断,颈动脉狭窄率达 36% ~ 55%,属于轻中度狭窄程度。有报道称,并非所有有症状的 CAS 斑块均伴有血管高度狭窄,狭窄<70%的病变中也可包含不稳定的斑块,也可引起斑块破裂,将 CAS 斑块的高度血栓性坏死核心暴露于血流中,引起急性血栓形成或发送远端栓塞,导致脑梗死^[20]。同时猪颈动脉的较大尺寸允许直接应用成像技术,因此,西藏小型猪 CAS 模型的建立,为今后临床影像学设备的评估、诊断提供较好的应用价值,可用于检测患者的易损斑块。随着 CAS 诊断技术的不断提高,可以将影像学发现与 CAS 形成和斑块破裂联系起来。更有意义的是,血管支架与 CAS 斑块之间的相互作用也可以在该模型中进行评估,以提供生物材料应用的有效性和安全性评价。

本研究所建立的 CAS 西藏小型猪模型观察到狭窄率达 36% ~ 55%,适用于模拟临床轻中度狭窄,可适当延长造模时间,观察是否能导致斑块不稳定,进一步观察是否会导致急性心血管事件。其次,临床 CAS 多发于颈内和颈外动脉分叉的位置,本实验的病变位置有一定差异,有待改进。

综上所述,西藏小型猪 CAS 模型与临床特点相似,模型易感且稳定,是研究 CAS 的理想模型,这为西藏小型猪在 CAS 发生发展机制的研究和防治药物研发以及医疗器械评价中的应用提供了奠定了基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Taleb S. Inflammation in atherosclerosis [J]. Arch Cardiovasc Dis, 2016, 109(12): 708-715.
- [2] Libby P, Bornfeldt KE, Tall AR. Atherosclerosis: successes, surprises, and future challenges [J]. Circ Res, 2016, 118(4): 531-534.
- [3] Bos D, Arshi B, van den Bouhuijsen QJA, et al. Atherosclerotic carotid plaque composition and incident stroke and coronary events [J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(11): 1426-1435.
- [4] Hamamdžić D, Wilensky RL. Porcine models of accelerated coronary atherosclerosis: role of diabetes mellitus and hypercholesterolemia [J]. J Diabetes Res, 2013, 2013: 761415.
- [5] Yang Q, Xu Y, Shen L, et al. Guanxinning tablet attenuates coronary atherosclerosis via regulating the gut microbiota and their metabolites in Tibetan minipigs induced by a high-fat diet [J]. J Immunol Res, 2022, 2022: 7128230.
- [6] Pan Y, Yu C, Huang J, et al. Bioinformatics analysis of vascular RNA-seq data revealed hub genes and pathways in a novel Tibetan minipig atherosclerosis model induced by a high fat/cholesterol diet [J]. Lipids Health Dis, 2020, 19(1): 54.
- [7] 陈民利. 西藏小型猪和五指山小型猪的生理特点及其动脉粥样硬化的发病特征比较研究 [J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(5): 325-328.
Chen ML. Comparative study on physiological characteristics and atherosclerosis of Tibet minipig and Wuzhishan minipig [J]. Lab Anim Comp Med, 2018, 38(5): 325-328.
- [8] 郁晨, 刘志华, 潘永明, 等. 高脂环境下五指山小型猪和西藏小型猪冠心病相关血脂和炎症易感基因的表达 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 1-10.
Yu C, Liu ZH, Pan YM, et al. Expression of coronary artery disease-related blood lipid and inflammatory susceptibility genes in Wuzhishan minipigs and Tibetan minipigs under a high-fat diet environment [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(5): 1-10.
- [9] Goldschmidt-Clermont PJ, Creager MA, Losordo DW, et al. Atherosclerosis 2005: recent discoveries and novel hypotheses [J]. Circulation, 2005, 112(21): 3348-3353.
- [10] Tannock LR, King VL. Animal models of atherosclerosis: more than mice [J]. Atherosclerosis, 2010, 212(1): 32-33.
- [11] Zhang Z, Zhang M, Li Y, et al. Simvastatin inhibits the additive activation of ERK1/2 and proliferation of rat vascular smooth muscle cells induced by combined mechanical stress and oxLDL through LOX-1 pathway [J]. Cell Signal, 2013, 25(1): 332-340.
- [12] Zhang L, Jia YH, Zhao XS, et al. Trichosanatine alleviates oxidized low-density lipoprotein induced endothelial cells injury via inhibiting the LOX-1/p38 MAPK pathway [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(12): 5455-5464.
- [13] Libby P. The changing landscape of atherosclerosis [J]. Nature, 2021, 592(7855): 524-533.
- [14] Khatana C, Saini NK, Chakrabarti S, et al. Mechanistic insights

- into the oxidized low-density lipoprotein-induced atherosclerosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 5245308.
- [15] 陈亮, 潘永明, 朱科燕, 等. 五指山小型猪、西藏小型猪和巴马小型猪对外源性脂肪的敏感性观察 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(6): 12-16.
Chen L, Pan YM, Zhu KY, et al. Observation on the sensitivity of Wuzhishan, Tibetan and *Bama* minipigs to exogenous fats [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(6): 12-16.
- [16] Brunelli N, Altamura C, Costa CM, et al. Carotid artery plaque progression: proposal of a new predictive score and role of carotid intima-media thickness [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(2): 758.
- [17] 李俊清, 刘丽君, 鲍海龙, 等. 颈动脉粥样硬化与冠心病关系的研究进展 [J]. *中国医药*, 2022, 17(9): 1418-1422.
Li JQ, Liu LJ, Bao HL, et al. Research progress on the relationship between carotid atherosclerosis and coronary atherosclerotic heart disease [J]. *Chin Med*, 2022, 17(9): 1418-1422.
- [18] Takase H, Sugiura T, Murai S, et al. Carotid intima-media thickness is a novel predictor of new onset of hypertension in normotensive subjects [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(31): e7710.
- [19] Lorenz MW, Price JF, Robertson C, et al. Carotid intima-media thickness progression and risk of vascular events in people with diabetes: results from the PROG-IMT collaboration [J]. *Diabetes Care*, 2015, 38(10): 1921-1929.
- [20] Shi ZS, Feng L, He X, et al. Vulnerable plaque in a Swine model of carotid atherosclerosis [J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2009, 30(3): 469-472.

[收稿日期] 2022-10-28

中和外周循环的 IL1 β 可减缓慢病毒感染 OPTN^{E478G} 肌萎缩侧索硬化症小鼠模型的进展

肌萎缩侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 是一种不可逆的神经退行性疾病, 大部分患者一旦发病, 仅有 3 ~ 5 年存活期, 且目前没有安全有效的延缓该疾病进展的药物。因此, 迫切需要开发一种基于症状的治疗方法, 以提高 ALS 患者的生存率并改善他们的生活质量。据报道, 炎症状态, 尤其是白细胞介素 1 β (IL1 β) 升高, 在 ALS 进展中起关键作用。本研究通过中和外周循环 IL1 β 可减缓 ALS 小鼠模型的进展。

通过将携带 OPTN^{E478G} (视神经蛋白, ALS 患者的一种突变) 的慢病毒微量注射到小鼠的运动皮层内制备 ALS 小鼠模型。先前的研究发现, ALS 小鼠模型中 IL1 β 分泌显著升高。本文通过尾静脉注射抗 IL1 β 抗体中和外周循环 IL1 β , ELISA 和 RT-PCR 检测到 IL1 β 的蛋白和基因表达水平降低, TUNEL 检测到神经细胞死亡, MAP2 和 CASP3 的免疫荧光染色发现神经元细胞凋亡, GFAP 染色发现星形胶质细胞的数量减少。在旋转杆试验、握力试验、平衡木试验和足迹试验中, 发现抗 IL1 β 治疗后的 ALS 小鼠肌肉力量和运动功能增强。

该模型显示神经炎症可加快 ALS 的进展。同时, ALS 小鼠表现出神经炎症和 IL1 β 分泌升高。中和外周循环 IL1 β 后, ALS 小鼠表现出神经细胞的死亡和星形胶质细胞增生减少, 肌肉力量和运动能力得到改善。综上所述, 阻断 IL1 β 是减缓 ALS 进展的有效策略。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊 (*Animal Models and Experimental Medicine*, 2023, 6(1): 18-25, <https://doi.org/10.1002/ame2.12297>)。