

## • 实验研究 Experiment research •

## 家兔腹主动脉易损斑块模型制作的实验研究

曹海利, 于熙滢, 白 彬

【摘要】 目的 建立家兔腹主动脉易损斑块模型。方法 选取 30 只雄性纯种新西兰大白兔, 随机分为 3 组: 球囊损伤 + 高脂喂养组、高脂喂养组及普通饲料喂养组。饲养 12 周后分别给予中国斑点蝥蛇毒和组胺药物触发, 诱发斑块破裂及血栓形成。结果 内膜损伤 + 高脂喂养组存活的 8 只兔中有 10 处病变狭窄程度超过 50%, 并且脂质核心较大、纤维帽厚度小于 65  $\mu\text{m}$ , 判定以上 10 处病变为易损斑块。高脂喂养组中的 9 只仅 3 处可判定为易损斑块; 普通饲料喂养组中未见易损斑块。结论 高脂喂养后行腹主动脉球囊损伤制作兔易损斑块模型是切实可行的方法。

【关键词】 腹主动脉; 易损斑块; 球囊; 动脉粥样硬化

中图分类号: R543.1 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2009)-11-0856-05

**Preparation of vulnerable plaques in abdominal aorta: an experimental study in rabbits** CAO Hai-li, YU Xi-ying, BAI Bin. Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China

【Abstract】 **Objective** To establish an animal model of vulnerable plaque in abdominal aorta by pharmacological triggering of atherosclerosis in rabbits. **Methods** Thirty New Zealand white rabbits were randomly and equally divided into 3 groups: group A, receiving balloon injury together with high lipid diet; group B, receiving high lipid diet only, and group C, receiving regular diet only. After feeding for 12 weeks, all the rabbits in three groups underwent pharmacological triggering with Chinese Russell's viper venom (CRVV) and histamine to induce the rupture of the plaque and the formation of thrombosis. **Results** In 8 survival rabbits of group A, ten lesions with the stenotic degree over 50% were found, which had large lipid core with the thickness of fibrous cap being thinner than 65  $\mu\text{m}$ , by which these ten lesions were judged as vulnerable plaques. In 9 rabbits of group B, only 3 vulnerable plaques could be determined, while no single vulnerable plaque could be identified in the rabbits of group C. **Conclusion** For establishing an animal model of vulnerable plaque in abdominal aorta in rabbits, balloon injury combined with high lipid diet is a feasible and reliable method. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 856-860)

【Key words】 abdominal aorta; vulnerable plaque; balloon; atherosclerosis

易损斑块(vulnerable plaque)是急性冠脉综合征(ACS)的病理基础已成为共识。易损斑块指易导致血栓形成或能快速发展成为相关病变的所有斑块<sup>[1,2]</sup>。因此建立一个良好的动物模型来识别易损斑块,及时采取干预措施,对预防心脏不良事件的发生尤为重要。然而,由于缺乏研究不稳定斑块及其破裂的理想动物模型,对研究动脉粥样硬化斑块破裂、血栓形成的分子生物学机制较为困难。本实验采用喂养高脂饲料与动脉内膜球囊损伤术相结合的方法建立兔腹主动脉粥样硬化的模型,并在此基

础上应用药物触发造成斑块破裂及血栓形成,为动脉粥样硬化的基础和临床研究创造了一个良好的技术平台。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物分组 健康雄性新西兰大白兔 30 只,体重 2.5 ~ 3.0 kg,8 月龄以上,由哈尔滨医科大学附属第二医院实验动物中心提供。

将兔单笼喂养普通饲料 1 周,空腹取每只兔耳缘静脉血测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL),血脂水平差异大者不用

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院放射介入科(曹海利、白 彬);心内科(于熙滢)

通信作者:白 彬

作实验。随机平均分成 3 组:球囊损伤 + 高脂喂养组、高脂喂养组和普通饲料喂养组,每组各 10 只。

### 1.1.2 实验器材

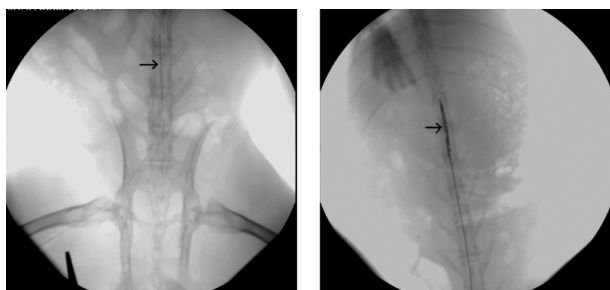
1.1.2.1 球囊导管和附件:球囊 (2.75 ~ 3.0)mm × 15 mm (Coridis 公司),0.014 英寸 × 195 cm ATW PTCA 引导钢丝,仪器 Olympus AU1000 全自动生化分析仪。Philips 2000 plusDSA 造影机。

1.1.2.2 药品及试剂 中国斑点蝰蛇毒 (Chinese Russell's viper venom, CRVV) 购自广州蛇毒研究所,组胺购自 Sigma 化学试剂公司,CD68 单抗购自北京中杉试剂公司,胆固醇为武汉亚法生物技术拓展公司进口分装。血清 TC、TG 试剂为英国 Randox 公司产品,LDL 试剂为日本第一化学公司产品。检测试剂盒英国朗道公司 TC、TG 生化试剂盒。日本第一化学株式会社 LDL 生化试剂盒。

## 1.2 方法

1.2.1 动物喂养 每天均先给予高脂饲料(由普通颗粒饲料 + 1.0%胆固醇 + 10%猪油 + 15%蛋黄粉组成) 每只 130 ~ 150 g/d。自由饮水,喂养 12 周。

1.2.2 腹主动脉球囊损伤术 用水合氯醛 (3 ml/kg) 经耳缘静脉麻醉动物,并固定于兔专用实验手术台上。选择右侧股动脉明显搏动处备皮,局部消毒、铺无菌巾,沿股动脉走行方向切开皮肤,分离皮下组织及肌肉,钝性分离右股动脉。直视下以 5 ml 注射器针头作为穿刺针,行股动脉穿刺术。穿刺成功后,在 DSA 手术室透视下,经穿刺针送入 0.014 英寸导丝,沿导丝把内径为 2.75 mm、长为 15 mm 的球囊导管送入腹主动脉起始处,用泛影葡胺 0.4 ml 充盈球囊回拉至髂总动脉(图 1),反复回拉 3 次,造成腹主动脉内膜损伤。以感觉回拉有阻力时表明球囊直径与血管吻合,如球囊较小,则换用较原球囊大 0.5 mm 的球囊。然后退出球囊及导丝,压迫血管止血,缝合手术切口。术后每日肌肉注射青霉素 20 万 u 预防感染。



a 穿刺成功后送入球囊导管至腹主动脉起始处(箭头示未充盈的球囊) b 球囊至腹主动脉起始处充盈,回拉至髂总动脉(箭头示充盈的球囊)

图 1 腹主动脉内膜损伤操作

1.2.3 药物触发 3 组实验兔参照 Constantinides 和 Chakravarti 提供的方法:为诱发形成易损斑块(斑块破裂和血栓形成),处死动物前分别给予 2 次药物触发,方法是处死动物前 48 h 给予 CRVV 0.15 mg/kg 腹膜下注射,30 min 后经耳缘静脉注射组胺 0.02 mg/kg;处死动物前 24 h 再次给予 CRVV 和组胺,剂量同前。

1.2.4 观察指标与检测方法 血脂检测分别于实验开始、12 周末经耳缘静脉取血标本在日本 Olympus AU 1000 全自动生化分析仪上测定 TC、TG、LDL 的量。

### 1.2.5 病理标本的留取

1.2.5.1 标本大体形态观察:耳缘静脉注射过量 3% 戊巴比妥钠处死实验兔,处死前静脉推注肝素 10 u/kg 抗凝。开腹取出腹主动脉全长,纵行切开,生理盐水冲洗干净后,观察斑块破裂和血栓形成情况,斑块破裂以局部有血栓形成为依据,未见血栓形成不诊断为斑块破裂。然后以 4% 甲醛固定,HE 染色整条腹主动脉,进行病理切片后经生物病理图像分析系统处理,计算机计算脂纹脂斑厚度,内、中膜厚度,内膜及中膜面积。

1.2.5.2 免疫组化检查:选取整条腹主动脉,置于 4% 甲醛固定 48 h,常规石蜡包埋,血管横断面作 4  $\mu$ m 连续切片,分别做 HE 染色及巨噬细胞的免疫化学染色。应用 CD68 抗体分别测定斑块破裂与未破裂部位的巨噬细胞的局部表达。从 HE 染色片上随机选取 5 个视野,图像分析仪测定内膜及中膜厚度,内膜及中膜面积,并计算内膜:中膜厚度比,内膜:中膜面积比。免疫组化染色采用 S-P 法、DAB 显色,棕黄色颗粒状产物为阳性标记,具体步骤参照试剂盒说明书进行。免疫组化染色均设替代对照(以 PBS 代替一抗)。

## 1.3 统计学处理

测量数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。符合正态分布的计量资料两组间比较采用成组  $t$  检验,不符合正态分布的计量资料采用卡方检验。组内各观察点间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。所有数据用 SPSS16.0 软件统计。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

球囊损伤 + 高脂组实验兔因麻醉意外死亡 1 只,球囊损伤术后死亡 1 只。高脂喂养组因腹泻死亡 1 只,普通饲料喂养组全部存活。

## 2.2 血脂变化情况

各组动物血脂变化见表 1。与实验前比较可见高脂喂饲 12 周后, 高脂组 TC 升高至 29.639 ~ 30.571 mmol/L, TG 升高至 2.014 ~ 5.676 mmol/L, LDL 升高 20.297 ~ 23.533 mmol/L。高脂饲料 + 内膜损伤组的 TC 升高至 29.961 ~ 30.423 mmol/L, TG

升高至 2.054 ~ 5.452 mmol/L, LDL 升高至 19.673 ~ 22.193 mmol/L, 高脂组与球囊损伤 + 高脂组, 两组 0 周与 12 周的血脂各项相比, 均有了明显变化 ( $P < 0.05$ ), 但高脂组与球囊损伤 + 高脂组组间相比, 血脂无明显差异 ( $P > 0.05$ )。

## 2.3 斑块和血栓形成情况

表 1 3 组实验兔不同方法饲养后血脂水平

分 组	TC		TG		LDL	
	实验前	实验3个月后	实验前	实验3个月后	实验前	实验3个月后
普通饲料喂养组	2.014 ± 0.437	2.009 ± 0.312	1.058 ± 0.382	1.063 ± 0.457	0.758 ± 0.235	0.785 ± 0.312
高脂喂养组	2.027 ± 0.557	30.105 ± 0.466*	1.090 ± 0.417	3.845 ± 1.831*	0.681 ± 0.341	21.915 ± 1.618*
球囊损伤 + 高脂组	2.080 ± 0.366	30.192 ± 0.231*	1.076 ± 0.216	3.753 ± 1.699*	0.784 ± 0.253	20.933 ± 1.260*

\*与普通饲料组相比  $P < 0.05$

正常对照组内膜光滑, 无斑块形成。喂养高脂饲料的两组动物均出现动脉粥样硬化斑块, 腹主动脉管壁有大量黄白色脂样物向管腔突出, 并连成片状。高脂 + 球囊损伤组存活的 8 只中有 10 处病变狭窄程度超过 50%, 并且脂质核心较大、纤维帽厚度小于 65  $\mu\text{m}$ 。高脂喂养组中的 9 只仅 3 处可判定为易损斑块。

## 2.4 病理形态学观察

HE 染色光镜下观察, 正常对照组兔的动脉内皮细胞完整, 单层紧贴内弹力板, 中层平滑肌细胞 (smooth muscle cell, SMC) 排列整齐, 呈长型或椭圆形, 胞质呈嗜酸性红染, 无明显脂质沉积。高脂组动脉内皮细胞均完全脱落, 多数血管可见粥样斑块。粥样斑块表面有纤维组织覆盖, 内膜下脂质泡沫细胞、SMC 增生明显, 中层 SMC 排列紊乱, 胞质嗜酸性的 SMC 减少。代之以大量胞质淡染和充满脂质空泡的泡沫细胞, 并经内弹力膜向斑块部位游走。高脂+内膜损伤组部分斑块中有新生血管, 血栓形成处斑块纤维帽明显变薄且连续性中断, 血栓富含血小板、纤维蛋白原及红细胞, 内膜显著增厚, 斑块隆起明显, 内含大量的炎性细胞如巨噬细胞、淋巴细胞等。多数血管可见粥样斑块或纤维斑块, 可见 4 处斑块内出血。粥样斑块表面有纤维组织覆盖, 弹力纤维崩解、断裂、溶解, 胶原增生 (图 2)。

## 2.5 面积比值

高脂 + 球囊损伤组 12 周时内膜有明显增厚, 形成了明显的斑块。高脂组和高脂+球囊损伤组 12 周时斑块厚度, 内中膜厚度比值经行单因素方差分

析, 差异有统计学意义。

## 2.6 免疫组化分析

巨噬细胞是 AS 斑块的主要组成细胞, 鼠抗兔巨噬细胞单克隆抗体 RAM11 (mouse anti-rabbit macrophage) 染色阳性信号为细胞膜上的棕黄色颗粒, 大量存在的巨噬细胞多位于内膜斑块的中下部分。与对照组相比, 高脂+球囊损伤组巨噬细胞的数量明显增多, 破裂部位的阳性巨噬细胞数较未破裂处增多, 血栓部位聚集有较多的阳性细胞 (图 2)。

## 3 讨论

冠心病和脑卒中是严重危害人类健康的常见病和多发病, 其病理基础是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)。制作动物模型是为研究疾病发生、发展、治疗提供一个平台。建立动脉粥样硬化动物模型所用的动物有鼠、兔、猪、狗、猴等<sup>[3,4]</sup>。大鼠、兔等是研究报道建立 AS 模型选用较多的动物。兔作为 AS 的模型动物比较起来有许多特点: 容易获得, 价格便宜, 操作简单等<sup>[5]</sup>。Forster 等<sup>[6]</sup>及 Haunstette 等<sup>[7]</sup>分别在基础病理学与病理生理学方面就兔与人类动脉粥样硬化斑块作出了比较研究, 发现兔的斑块与人的斑块具有一定的相似性。1961 年 Constantinides 和 Chakravarti 通过鲁塞尔蝰蛇毒和组胺触发粥样硬化斑块, 成功建立了药物诱发斑块破裂的动物模型。成功建立 AS 斑块破裂的动物模型可以为更好地探索不稳定性斑块破裂的分子生物学机制提供适宜的研究对象, 具有十分重要的意义。但兔动脉粥样硬化动物模型多定位在胸主动

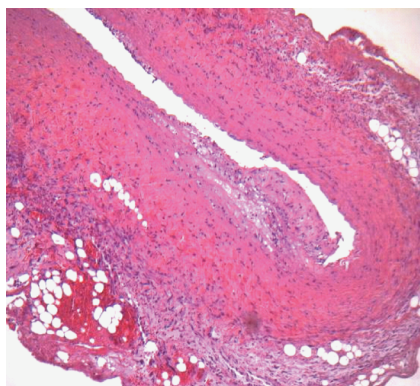
表 2 3 组实验兔血管斑块、内中膜比较结果

( $\bar{x} \pm s$ )

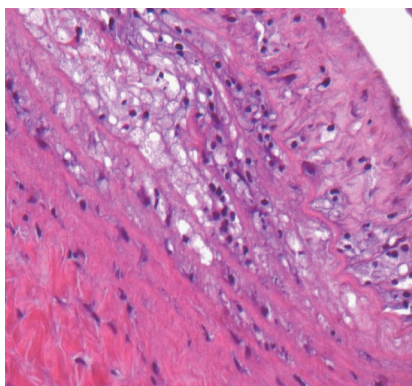
分 组	斑块直径 ( $\mu\text{m}$ )	斑块厚度 ( $\mu\text{m}$ )	内中膜厚度 ( $\mu\text{m}$ )	斑块厚度/内中膜厚度 (%)
球囊损伤 + 高脂组	924 ± 256	535.385 ± 113.698	514.79 ± 109.87	98.75 ± 27.99
高脂喂养组	516 ± 208	238.729 ± 75.358	415.74 ± 78.45	57.98 ± 9.35

与球囊损伤 + 高脂组比较,  $P < 0.05$

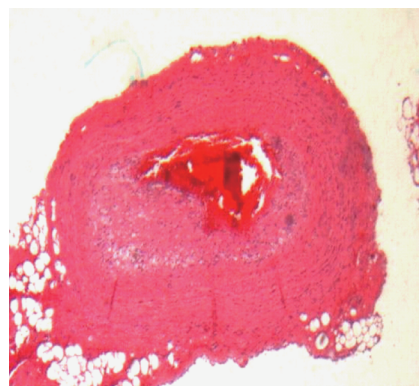




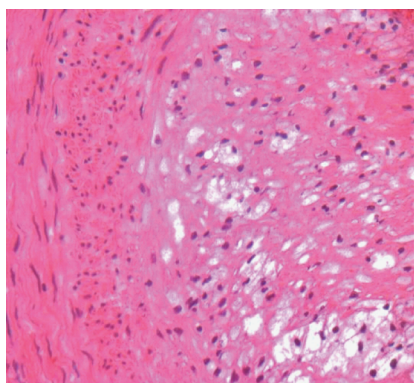
**a** 高脂组动脉内皮细胞均完全脱落, 血管内可见粥样斑块。粥样斑块表面有纤维组织覆盖



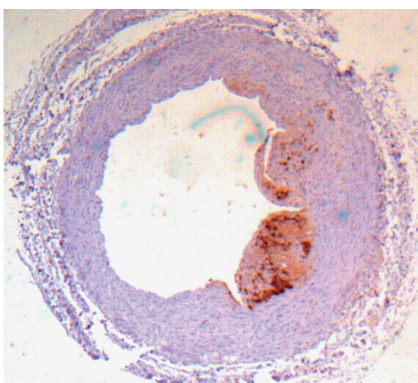
**b** 高脂组内膜下脂质泡沫细胞、SMC 增生明显, 中层 SMC 排列紊乱, 胞质嗜酸性的 SMC 减少



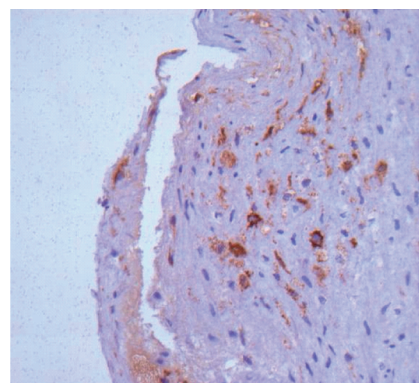
**c** 内膜损伤组内膜显著增厚, 斑块隆起明显, 内含大量的炎性细胞如巨噬细胞、淋巴细胞等



**d** 内膜损伤组粥样斑块表面有纤维组织覆盖, 弹力纤维崩解、断裂、溶解, 胶原增生



**e** RAM-11(巨噬细胞)免疫组织化学染色, 棕色颗粒为阳性细胞



**f** 球囊损伤 + 高脂组可见内皮下有大量巨噬细胞浸润

**图 2** 内膜损伤组血管内膜的改变

脉、主动脉弓等处。本实验用新西兰大白兔, AS 定位在腹主动脉, 建模相对简单。本实验研究发现, 通过球囊损伤后高脂喂养可以成功建立 AS 的动物模型并用药物触发造成斑块破裂及血栓形成<sup>[7-8]</sup>, 这与人类的急性心脑血管事件在应激情况下的发生发展过程极为相似。我们采取了延长高脂饲料喂养时间, 内膜损伤术的手段, 于 12 周成功建立兔腹主动脉 AS 易损斑块模型。对喂饲高脂膳食 12 周后的大白兔模型进行了生化检测、病理形态学检测和免疫组化检测, TC、LDL 明显升高, 呈高胆固醇血症特征, 说明大白兔诱导动脉粥样硬化斑块模型是成功的和理想的。同时, 免疫组化研究结果表明巨噬细胞源性泡沫细胞是 AS 斑块中主要的细胞类型。这对 AS 的各方面的研究提供了一个很好的信息。

建立该动物模型主要注意球囊的扩张程度及球囊的反复牵拉速度。如果球囊扩张较大, 牵拉球囊速度过快则兔的腹主动脉容易破裂。而球囊扩张不够及牵拉速度过慢则不能充分损伤内膜。经过多次实验最后确定球囊内注入泛影葡胺 0.4 ml 时为最佳损伤压力, 感觉牵拉时球囊端轻 ~ 中度阻力后, 缓慢拉出约 6.0 cm 左右, 速率为 10 cm/s, 即整

个牵拉过程约在 2 s 内完成。蝥蛇毒是一种内源性促凝剂, 可以激活凝血因子 V 和 X, 同时对内皮细胞具有毒性作用, 能够促进血栓形成, 从而对斑块破裂具有很好的观察作用<sup>[9]</sup>。组胺在体内转变为去甲肾上腺素, 具有收缩血管的作用, 通过对斑块局部挤压造成斑块破裂<sup>[10]</sup>。在已建立的 AS 斑块的兔模型基础上, 应用药物触发后能够促使斑块破裂及血栓形成。此模型的建立为研究 AS 提供适宜的对象。本实验的病理研究表明所诱导产生的斑块成分与人类斑块有一定相似性, 包括斑块的纤维帽、钙化、脂核等。病理结果说明早期的斑块主要为泡沫细胞, 而纤维斑块期脂核形成后, 其中心主要成分为胆固醇和含固体结晶或液晶态的胆固醇脂。同时发现破裂斑块处的巨噬细胞数明显增多, 充分说明斑块破裂与炎症反应密切相关, 较薄的纤维帽是斑块不稳定的重要因素之一<sup>[11]</sup>。本研究发现所形成的血栓均为白色血栓, 病理检查显示斑块内富含纤维蛋白原和炎性细胞, 与促凝剂及血管暂时痉挛产生的红色血栓明显不同。

本实验方法建立的 AS 狭窄模型有以下特点:

①选用我国多见, 容易饲养的新西兰大白兔。②符



合动脉粥样硬化形成的损伤及脂质浸润学说,模拟了人 AS 的形成过程,还最大限度地体现了临床上内皮损伤和血栓形成、脂质沉积等形成粥样硬化斑块狭窄的病理特征。③造模时间短,内皮剥脱后 12 周即可制成模型,所形成的狭窄范围局限,且狭窄程度一致。④实用性强,既适合抗 AS 药物干预作用的研究,也可在直视下从胸主动脉插入导管进行各项检查研究。总之,本实验研究结果,说明采用高脂+内膜损伤的方式来制作动脉粥样硬化斑块的模型是可行的、实用的,能为进一步研究提供一个较好实验动物模型。

#### [参考文献]

- [1] Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II [J]. *Circulation*, 2003, 108: 1772 - 1778.
- [2] Shiomi M, Ito T, Yamada S, et al. Correlation of vulnerable coronary plaques to sudden cardiac events. Lessons from a myocardial infarction-prone animal model (the WHHLMI rabbit) [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2004, 11: 184 - 189.
- [3] Johnson JL, Jackson CL. Atherosclerotic plaque rupture in the apolipoprotein E knockout mouse [J]. *Atherosclerosis*, 2001, 154: 399 - 406.
- [4] 靳亚非, 郑振声, 马 虹, 等. 体外反搏慢性实验对高脂饲养

猪动脉粥样硬化斑块形成的干预作用[J]. *介入放射学杂志*, 2003, 12: S139.

- [5] Yanni AE. The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research [J]. *Lab Anim*, 2004, 38: 246 - 256.
- [6] Forster BA, Weinberg PD. Changes with age in the influence of endogenous nitric oxide on transport properties of the rabbit aortic wall near branches [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 1361 - 1368.
- [7] Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease [J]. *Circ Res*, 1998, 82: 1111 - 1129.
- [8] Yamashita A, Furukoji E, Marutsuka K, et al. Increased vascular wall thrombogenicity combined with reduced blood flow promotes occlusive thrombus formation in rabbit femoral artery [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 2420 - 2424.
- [9] Chen WQ, Zhang Y, Zhang M, et al. Establishing an animal model of unstable atherosclerotic plaques [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2004, 117: 1293 - 1298.
- [10] Phinikaridou A, Hallock KJ, Qiao Y, et al. A robust rabbit model of human atherosclerosis and atherothrombosis [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50: 787 - 797.
- [11] Shiomi M, Fan J. Unstable coronary plaques and cardiac events in myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: questions and quandaries [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2008, 19: 631 - 636.

(收稿日期:2009-03-31)

## ·病例报告 Case report·

### 应用弹簧栓封闭胸主动脉夹层动脉瘤肋间动脉破口一例

张 强, 李京雨, 路军良, 徐力扬, 刘 涛

【关键词】 胸主动脉夹层瘤; 破裂口; 弹簧栓; 介入治疗

中图分类号: R543.1 文献标志码: D 文章编号: 1008-794X(2009)-11-0860-02

**Sealing off the intercostal artery tear due to thoracic aortic dissection by using coils: report of one case** ZHANG Qiang, LI Jing-yu, LU Jun-liang, XU Li-yang, LIU Tao. *Department of Radiology, General Hospital of Beijing Military Area Command, Beijing 100700, China* (*J Intervent Radiol*, 2009, 18: 860-861)

【Key words】 thoracic aortic dissection; tear; coil; interventional therapy

#### 临床资料

患者男, 50 岁。因患 DeBakey I 型主动脉夹层动脉瘤行“升主动脉加全主动脉弓置换加支架象鼻术”治疗, 术后 8 个

月复查胸腹部 CTA 显示胸主动脉下段左侧有一不规则片状影, 与胸主动脉真腔有一细小连接, 腹腔干、肠系膜上动脉和双肾动脉起自真腔。经股动脉插管 DSA 造影显示 Th 11 椎体水平胸主动脉下段左侧可见动脉期出现团状对比剂。选择性左 Th11 肋间动脉造影显示其开口处见对比剂喷射状外溢, 形成一

作者单位: 100700 解放军北京军区总医院放射科

通信作者: 张 强 Email: zhangq1964@sina.com

# 家兔腹主动脉易损斑块模型制作的实验研究

作者：[曹海利](#), [于熙滢](#), [白彬](#), [CAO Hai-li](#), [YU Xi-ying](#), [BAI Bin](#)  
作者单位：[曹海利, 白彬, CAO Hai-li, BAI Bin \(哈尔滨医科大学附属第二医院放射介入科, 150086\)](#), [于熙滢, YU Xi-ying \(哈尔滨医科大学附属第二医院心内科, 150086\)](#)  
刊名：[介入放射学杂志](#) [ISTIC](#) [PKU](#)  
英文刊名：[JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)  
年, 卷(期): 2009, 18(11)  
被引用次数: 0次

## 参考文献(11条)

1. [Naghavi M, Libby P, Falk E From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II](#) 2003
2. [Shiomi M, Ito T, Yamada S Correlation of vulnerable coronary plaques to sudden cardiac events. Lessons from a myocardial infarction-prone animal model \(the WHHLMI rabbit\)](#) 2004
3. [Johnson JL, Jackson CL Atherosclerotic plaque rupture in the apolipoprotein E knockout mouse](#) 2001
4. [靳亚非, 郑振声, 马虹 体外反搏慢性实验对高脂饲养猪动脉粥样硬化斑块形成的干预作用](#) 2003(12)
5. [Yanni AE The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research](#) 2004
6. [Forster BA, Weinberg PD Changes with age in the influence of endogenous nitric oxide on transport properties of the rabbit aortic wall near branches](#) 1997
7. [Haunstetter A, Izumo S Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease](#) 1998
8. [Yamashita A, Furokiji E, Marutsuka K Increased vascular wall thrombogenicity combined with reduced blood flow promotes occlusive thrombus formation in rabbit femoral artery](#) 2004
9. [Chen WQ, Zhang Y, Zhang M Establishing an animal model of unstable atherosclerotic plaques](#) 2004
10. [Phinikaridou A, Hallock KJ, Qiao Y A robust rabbit model of human atherosclerosis and atherothrombosis](#) 2009
11. [Shiomi M, Fan J Unstable coronary plaques and cardiac events in myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: questions and quandaries](#) 2008

## 相似文献(10条)

1. 期刊论文 [陈路, 方红城, 苏又苏, 吴京兰, 陈菲, 张志杰, 高德宏, 李明华 核磁共振成像对兔腹主动脉易损斑块的诊断价值 - 实用心脑血管病杂志](#) 2010, 18(6)  
目的 探讨核磁共振成像(MRI)对兔腹主动脉易损斑块(VP)的诊断价值. 方法 20只雄性新西兰大白兔给以球囊拉伤腹主动脉+高脂饮食8周, 建立兔腹主动脉VP模型. 15只兔成功建立VP模型后分别进行MRI扫描和病理组织学检查. 结果 与病理切片相对应的90组MRI图像, 发现斑块52处, 其中VP36处, 纤维性斑块16处; 与病理组织学比较, MRI识别兔动脉粥样硬化易损斑块的敏感性和特异性分别为83. 8%和90. 6%. 结论 MRI对识别兔腹主动脉易损斑块有较好的价值.
2. 期刊论文 [方红城, 苏又苏, 吴京兰, 陈路, 方叶青, 谢培益, 陈菲, 高得宏, 李明华 兔腹主动脉易损斑块模型的建立及其血管内超声特征 - 广东医学](#) 2009, 30(12)  
目的 建立兔腹主动脉易损斑块(VP)模型并探讨其血管内超声(IVUS)影像学特征. 方法 20只雄性新西兰大白兔经球囊扩张损伤腹主动脉, 高脂喂养8周后行IVUS检查和病理组织学检查. 结果 15只兔子成功建立VP模型, 病理切片发现斑块54处, 其中37层(68. 5%)为VP. 经IVUS检查, VP处斑块面积、管腔狭窄率、偏心指数均明显高于纤维性斑块( $P<0. 05$ ). VP阳性重构的比例显著高于纤维性斑块(71. 8% vs 16. 7%,  $P<0. 01$ ). 与病理组织学比较, IVUS识别VP的敏感性和特异性分别为86. 5%和88. 7%. 结论 球囊扩张+高脂饮食方法可成功建立兔腹主动脉VP模型, IVUS对识别VP有较好的价值, VP的IVUS特征为偏心狭窄和阳性重构.
3. 学位论文 [张蕾 动脉粥样硬化易损斑块发生机制、检测方法和干预措施的研究](#) 2008

### 背景

近年研究证明, 动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)斑块破裂是急性心血管事件的主要病因. 一般认为, 具有薄纤维帽, 脂质核心及大量激活巨噬细胞的斑块不稳定, 易于破裂. 易损斑块的早期识别和干预对于急性心血管事件的预防具有十分重要的意义. 研究动脉粥样硬化斑块不稳定性的因素, 促使易损斑块向稳定方向转变, 是预防心脑血管事件的重要方法. 易损斑块发生发展机制及防治的研究均依赖于理想的动物模型, 然而, 迄今尚无国内外公认的易损斑块动物模型.

在以前研究中, 我们曾利用夹闭富含AS斑块的兔腹主动脉两端10分钟的方法局部转染外源性野生型p53基因, 成功地建立了易损斑块的动物模型, 为研究易损斑块的机制提供了较好的实验模型. 然而, p53诱导斑块破裂的具体机制仍不明确, 且此模型尚存在以下不足, 需进一步改进: (1) 腹主动脉局部结扎可导致部分脏器缺血及再灌注损伤, 因而造成相对较高的死亡率; (2) 携带p53基因的腺病毒仅与内皮细胞接触10分钟, 转染效率难以控制; (3) 在松开结扎的腹主动脉后, 含有携带p53基因的腺病毒悬液将进入随血液循环进入全身器官, 产生一定的副作用. 因此本实验中, 我们进一步改良了此模型, 并试图阐明外源性野生型p53基因诱导AS斑块易损的机制.

### 目的:

(1) 建立类似于人类动脉粥样硬化易损斑块、易于检测并适于观察药物疗效的动物模型; (2) 明确p53基因斑块内注射导致斑块不稳定性增高的机制.

### 方法:

1. 模型的建立: 3月龄纯种新西兰雄性大白兔40只, 给予球囊损伤腹主动脉后, 高脂饲料(1%胆固醇)喂养10周, 随后所有实验兔均改为普通饲料喂养6周. 然后实验兔被随机分为A组( $n=16$ )、B组( $n=16$ )和C组( $n=8$ )℃组作为斑块验证组于16周末被处死. 实验16周时, 分别向A组和B组实验兔腹主动脉最大斑块内注射携带人野生型p53基因(Ad5-CMV. p53)和lac Z基因(Ad5-CMV. lac Z)的复制缺陷型重组腺病毒. 斑块内注射方法如下: 麻醉动物, 打开腹腔, 暴露腹主动脉. 在血管内超声探头的引导下, 于髂总动脉以上、胸主动脉以下的血管段中的最大斑块作为拟注射斑块. 吸取滴度为 $8 \times 10^9$  pfu/ml的Ad5-CMV. p53或Ad5-CMV. lac Z悬液50  $\mu$  L分别注射入相应斑块. 转染后1天, 分别处死A、B组实验兔各3只, 以观察病毒转染效率. 转染2周后, 参照Constantinides等的方法对A、B组实验兔分别进行药物触发: 中国斑点蝥蛇毒(Chinese Russell's viper venom, CRVV) 0. 15mg/kg腹膜下注射, 30min后耳缘静脉注射组胺0. 02mg/kg, 于处死动物前24h和48h给予两次药物触发.

2. 血液生化指标及炎症因子的检测: 实验兔分别于实验开始、10周及16周末处死动物前作血液生化检查. 禁食12h以上, 测量体重后, 经耳缘静脉抽取空腹血, 留取自凝血清检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)及高密度脂蛋白(HDL-C). 同时采用ELISA法测定血清高敏C反应蛋白(hs-CRP), 单核细胞趋化蛋白1(MCP-1), 可溶性细胞间粘附分子(sICAM-1), 可溶性血管细胞粘附分子(sVCAM-1)及氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)的浓度.



3. 组织病理学及免疫组织化学染色检查:

应用β-半乳糖苷酶原位染色试剂盒使5μm冰冻切片lac Z显色, 油红O使脂质染色; 采用原位末端脱氧核苷酸转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)检测测定斑块内细胞凋亡情况。常規苏木素-伊红(H&E)染色, 同时进行天狼猩红及Masson染色使胶原及平滑肌细胞显色, 应用RAM-H及α-actin抗体分别测定检测斑块内巨噬细胞、平滑肌细胞的分布情况, 应用P53及TNFα抗体检测斑块内P53及TNFα表达水平。连续切片H&E染色发现纤维帽断裂并腔内血栓形成诊断为斑块破裂。应用Image-Pro Plus 5.0图像分析系统测量病变部位斑块的纤维帽厚度、血管内膜-中层厚度(intima-media thickness, IMT), 并计算纤维帽厚度/内膜-中层厚度的比值。4. 统计学分析所有定量资料用mean±SD表示, 并用one-sample Kolmogorov-Smirnov test评价定量资料是否呈正态分布。连续性变量组间比较用非配对t-检验, 多组间比较用单因素方差分析。斑块破裂率采用Fisher's exact test。所有连续性变量均与斑块破裂进行相关分析, 然后阳性变量进入二分类logistic回归模型分析影响斑块破裂的独立危险因素。同时, 应用线性回归分析评价凋亡和炎性因子hs-CRP、MCP-1、sICAM-1、sVCAM-1和ox-LDL的关系。双尾p<0.05被认为有显著性差异。数据用SPSS 13.0软件分析。

结果:

1. 实验动物一般情况实验过程中, 所有实验兔在球囊拉伤及腹部手术后均恢复良好, 无并发症出现。

2. 三组实验兔生化指标及炎性因子检测建模前后实验兔血脂各项指标比较除HDL以外均有显著性差异, 其中TC和LDL-C升高最为显著, 普通饮食6周后, 血脂水平下降(P<0.01), 但三组间比较差异无统计学意义(P>0.05)。

基因转染前(基础状态、10周末及16周末), 三组间hs-CRP、MCP-1、sICAM-1、sVCAM-1及ox-LDL水平无明显差异(p>0.05); 而18周末, A组hs-CRP、MCP-1、sICAM-1、sVCAM-1及ox-LDL水平明显高于B组(p<0.01)。

3. 血管内超声(IVUS)检查在球囊拉伤+高脂饮食10周后, 所有实验兔均可见低回声脂质斑块; p53转染前IVUS未见斑块破裂及血栓形成。血管壁局部凹陷处为Ad5-CMV.p53或Ad5-CMV.lac Z注射部位。

4. 斑块内凋亡细胞的检测p53转染后1天, TUNEL染色显示Ad5-CMV.lac Z处理组凋亡率为1.87±0.17%, 而Ad5-CMV.p53处理组凋亡率为10.99±0.78%。转染后14天, Ad5-CMV.p53及Ad5-CMV.lac Z处理组凋亡率分别变为2.71±0.42%和0.97±0.13%。与A组相比, 在转染后1天和14天, B组斑块细胞凋亡率明显降低, 有显著性差异。C组凋亡细胞较少约0.15±0.07%, 且多分布于脂质核心内。

5. 腹主动脉斑块局部有效转染腺病毒为评价基因转染有效性和表达时间, 测定了转染Ad5-CMV.lac Z斑块冰冻切片的β-半乳糖苷酶活性。转染后1天, 在斑块核心及纤维帽处可检测到大量的蓝色颗粒, 在转染后14天仍可检测到β-半乳糖苷酶阳性表达。在Ad5-CMV.p53处理组, p53阳性细胞主要分布于斑块表层平滑肌丰富的区域。在Ad5-CMV.p53转染后1天, p53阳性细胞表达较多, 且主要分布于内膜, 转染14天后, p53阳性表达较少。在Ad5-CMV.lac Z处理组和斑块验证组斑块内未见有p53阳性表达。

6. 病理学检查药物触发后, A组有10只实验兔发现有斑块破裂, 破裂率为76.9%; B组有3只实验兔出现斑块破裂, 破裂率为23.1%; C组无斑块破裂, 破裂率为0%。与其他两组相比, Ad5-CMV.p53处理组斑块纤维帽明显变薄, 且偏振光显微镜下天狼猩红染色、Masson染色及α-actin免疫组化结果显示A组斑块内及纤维帽平滑肌细胞明显减少, 胶原含量降低。纤维帽变薄导致纤维帽/内膜厚度比值明显减小。同时研究还发现转染p53的斑块内有大量染色阳性RAM-11(巨噬细胞)聚集, 主要集中于内膜近管腔面的数层细胞内及外膜处, 而Ad5-CMV.lac Z处理组和斑块验证组斑块内仅有少量散在的巨噬细胞。

统计结果发现hs-CRP、MCP-1、sVCAM-1、sICAM-1、ox-LDL及凋亡率与斑块破裂呈正相关(r值分别为0.758, 0.681, 0.663, 0.579, 0.590, 0.603, p<0.01), 而血脂(包括TC、LDL-C、TG和HDL-C)均与斑块破裂无明显相关。建立logistic回归模型, 发现只有血清hs-CRP水平是斑块破裂的独立危险因素(OR=1.314, 95%CI: 1.041~1.657, p=0.021), 表明在斑块破裂过程中, 炎症发挥着比细胞凋亡更为重要的作用。应用线性回归方程分析显示炎性因子hs-CRP、MCP-1、sVCAM-1、sICAM-1、ox-LDL和凋亡率之间存在正相关关系(r分别为0.761, 0.557, 0.616, 0.734和0.691, p<0.01)。

结论:

(1)利用超声引导斑块内注射技术经血管外膜在兔腹主动脉AS斑块局部注射Ad5-CMV.p53, 药物诱发斑块破裂率达76.9%, 成功建立易损斑块的动物模型; 该模型靶向性高, 可准确控制转染剂量, 转染效率高, 斑块破裂率高, 而致死率低。

(2)凋亡、炎症和氧化应激与p53基因致AS斑块易损过程密切相关, 其中, 凋亡可能是p53致斑块的易损的诱发因素, 而由炎症细胞、炎性因子、平滑肌细胞和胶原合成、降解构成的炎症-胶原代谢调节网络失衡是p53导致斑块不稳定性增加的分子机制, 纤维帽变薄是斑块不稳定性增加的主要病理学机制。

4. 期刊论文 [冯向飞, 盛漳, 陈朝婷, FENG Xiang-Fei, SHENG Jing, CHEN Chao-Ting 普伐他汀对兔腹主动脉易损斑块内细胞凋亡影响的研究 - 中国老年学杂志2006, 26\(6\)](#)

目的探讨普伐他汀对兔动脉粥样硬化易损斑块内细胞凋亡的影响。方法新西兰大白兔30只, 随机分为三组, 均通过动脉内膜损伤术加高脂饮食形成动脉粥样硬化斑块。术后一组给予高脂饮食(对照组), 另一组给予高脂饮食加普伐他汀(普伐他汀1组, P1组), 第三组术后2个月内给予高脂饮食, 第3个月起加普伐他汀(普伐他汀2组, P2组), 三组均通过超声检测斑块形成情况, 测量中膜厚度(IMT)。饲养4个月后退死兔子, 取易损斑块, 通过TUNEL法检测斑块细胞凋亡情况。结果兔腹主动脉IMT逐渐增厚, 术后1个月后普伐他汀组明显小于高脂饮食组(P<0.01); 细胞凋亡在高脂饮食组中的表达, 集中在脂核区和纤维帽区, 明显高于其他两区(P<0.01, P<0.01); 普伐他汀组凋亡细胞主要在脂核区, 明显大于其他三区(P<0.01); 两组比较细胞凋亡在纤维帽区, 普伐他汀2组明显小于高脂饮食组(P<0.01)。结论IMT与动脉粥样硬化程度高度相关, 普伐他汀能通过减少纤维帽区的细胞凋亡而稳定斑块。

5. 学位论文 [林晖莉 血红素氧化酶—1抑制红细胞导致的斑块不稳定性的机制研究 2007](#)

目的

- (1)建立类似于人类动脉粥样硬化斑块内出血的动物模型;
- (2)利用斑块内出血模型阐明斑块内出血与斑块稳定性之间的定性、定量关系;
- (3)明确斑块内出血后斑块不稳定性增高的机制。

方法

1. 动物模型

20只新西兰雄性大白兔来自山东农科院动物中心。斑块内出血兔模型是在已报道的模型基础上建立的。喂养含1%胆固醇2%猪油的高脂饲料一周后, 20只新西兰大白兔全部接受球囊损伤后, 继续喂养高脂饲料9周, 此后喂养正常饮食。第18周, 所有动物随机分为两组(50只P1组, n=10; 100μL组, n=10), 常规麻醉下暴露腹主动脉, 血管内超声(IVUS)(Galaxy, Boston Scientific Corporation, USA)检查斑块的形态和面积狭窄率, 在每只兔子腹主动脉上选择三个形态大小相似的腹主动脉斑块, 50μL组中的每只兔子的三个斑块分别注射入50μL自身洗涤红细胞或50μL生理盐水或不进行注射, 而100μL组中的每只兔子的三个斑块分别注射入100μL自身洗涤的红细胞或100μL的生理盐水或不进行注射。三种斑块的位置用髂腰肌腱线和髂动脉分叉的距离共同定位。第24周, 血管内超声再次检查后斑块的形态和面积狭窄率后分离腹主动脉。注射红细胞生理盐水或不进行注射的斑块(RBC斑块、NS斑块、空白斑块)被分别保存以备组织学和分子生物学检查。2. 血清脂质在实验的开始、第10周(高脂饮食结束)、第18周(斑块内注射时间点), 给动物抽血, 置于肝素管中检测血清总胆固醇(TC), TC浓度用胆固醇酯酶和胆固醇氧化酶测定。

3. IVUS检查在实验的第18周, 血管内超声检查腹主动脉的形态和斑块面积狭窄率, 每一腹主动脉选出三个形态大小相似的斑块被分别注射红细胞、生理盐水或不注射, 注射过程中血管内超声监测保证斑块内注射的准确性。第24周, 血管内超声再次检查腹主动脉斑块的形态和面积狭窄率的变化。

每个血管内超声的操作都按标准程序进行。血管内超声使用血管内图像系统, 机械探头于导管中(3.2F, 40MHz)旋转产生横截面图像。图像帧频32f/sec, 纵向横向分辨率分别为150μm和360μm, 回撤速度0.5mm/sec。平均狭窄率是在每一腹主动脉十个等距点的横截面上的狭窄率平均值, 按以下公式计算: 狭窄率=外弹力膜面积/内膜腔面积/外弹力膜面积。

4. 组织学和免疫组化染色于4%福尔马林中固定腹主动脉。组织部分用石蜡包埋, 切成5μm切片进行HE染色、Movat五色染色、Perls染色(检测铁)或免疫组化染色。部分组织做成6μm的冰冻切片用油红O染色来观察脂质含量。

5. 免疫组化染色用以往所述的标准程序进行。简单地说, 就是内源性过氧化物酶活性用3%过氧化氢抑制后, 5%(v/v)的山羊血清封闭, 加入一抗4℃过夜。PBS洗涤后, 加入二抗37℃30分钟。加入含0.02%(wt/vol)H2O2、过氧化物酶底物DAB(ZSBI0, Beijing, CHINA)的0.1%(wt/vol)PBS的显色剂, 阳性反应区呈棕色, 最后HE复染, 即用PBS取代一抗作为阴性对照。所用的一抗: 抗巨噬细胞单克隆抗体(RAM11)(Lab VisionNeomakers, USA)稀释1:400来检测巨噬细胞; 生物素化异凝集素B4(GSL-B4)(Vector, USA)稀释至10μg/mL检测红细胞膜。

5. 实时定量反转录多聚酶链反应(RT-PCR)用Trizol试剂抽提总RNA。用M-MLV反转录系统进行(Promega, Madison, USA)和oligo(dT)(16)引物进行总RNA的反转录, RNA纯度用分光光度计测定。采用实时定量RT-PCR检测MCP-1 mRNA的表达水平。所用的引物和探针序列: GAPDH, Sense: GAA CGG GAA ACT CAC TGG CAT; Antisense: CCT TCT TGA TGT CGT CAT ACT TAG; probe CTC CAG GCG GCA GGT CAG GTC CAC, GenBank accession: No.AB231852, 退火温度(TA): 600℃, MCP-1, Sense: TCA TAG CAG TCGCT TCA GC; Antisense: GTG TGT TCT TGG GTT GTG GAA TA; probeCTT GCC CAG CCA GAT GCC GTG AAT, GenBank accession: No.M57440, 退火温度: 58℃。

6. 数据统计学分析所有数据用mean±SD表示。两组血浆和红细胞脂质、MDA、SOD用单因素方差分析。斑块破裂率采用Chi-Square test分析。不同斑块采用随机区组设计的方差分析。组间比较采用非配对t-test, 前后斑块狭窄率比较采用配对t-test。双尾P<0.05被认为有显著性差异。数据用SPSS 13.0软件分析。

结果

1. 血清脂质、红细胞膜胆固醇和红细胞膜MDA、SOD10周动脉粥样硬化饮食后血浆TC, TG, LDL和HDL水平明显提高(P<0.05), 8周正常饮食后下降至基线水平。然而, 10周高胆固醇饮食后红细胞膜胆固醇仍保持于高水平尽管血浆脂质水平已随着饮食变化下降。红细胞膜的MDA和SOD的变化与红细胞膜胆固醇的变化一致(表1)。

2. IVUS检查RBC斑块、NS斑块或空白斑块的PB%无显著差异(P>0.05)(分别是40.21±9.15, 39.11±8.07和41.21±12.32, 所有P>0.05)。但是, 第24周时的总PB%低于18周时的总PB%(39.11±8.09 vs 42.55±9.38, P<0.05)。第24周时, 对照组的总PB%高于hemin组(45.75±11.23 vs 36.21±10.12, P<0.05)。

3. 组织学和免疫组化HE染色显示红细胞斑块的纤维帽(12.93±6.12μm and 19.55±5.46μm)比NS(41.40±13.01μm and 42.77±11.34μm)或空白斑块的(41.26±11.71μm and44.12±6.07μm)薄(P<0.05), NS和空白斑块间无显著差异(P>0.05)。但是hemin和对照组间无显著差异(P>0.05)。在对照组中, 红细胞斑块的破裂率高于NS或空白斑块(53.6%vs.21.4%或25.0%, 所有P<0.05)。但在hemin组中, 三种斑块的破裂率无显著差异(RBC斑块26.9%, NS斑块19.2%和空白斑块19.2%, 所有P>0.05)。Hemin组中红细胞斑块的破裂率低于对照组(26.9% vs.53.6%, P<0.05), 而NS和空白斑块的破裂率两组间无显著差异(对照和hemin组的NS斑块中分别为21.4%和19.2%; 对照和hemin组的空白斑块中分别为25.0%和19.2%, 所有P>0.05)。NS和空白斑块中未见GSL-B4和Perls染色的阳性染色。两组的红细胞斑块这两种染色的阳性率也无显著差异(0.09±0.020 vs.0.099±0.016在GSL-B4染色中; 0.075±0.011 vs.0.066±0.019在Perls染色中, 所有P>0.05)。

Movat五色染色显示NS和空白斑块中少有胆固醇结晶, 而红细胞斑块中可见大量的胆固醇结晶、脂质沉积和泡沫细胞。红细胞斑块的脂质含量(0.54±0.06和0.58±0.07, 分别于hemin和对照组中)明显高于NS的(0.23±0.07和0.27±0.05, 分别于hemin和对照组中)或空白斑块的(0.29±0.04和0.22±0.05, 分别于hemin和对照组中)(所有P<0.05), 而两组中的NS或

空白斑块的脂质含量无显著差异(所有P>0.05)。这三种斑块的脂质含量在两组间均无显著差异(P>0.05)。

免疫组化中,两组中的红细胞斑块的巨噬细胞阳性染色均强于NS或空白斑块(P<0.05)。它在对照组中也强于hemin组(P<0.05)。抗-NF- $\kappa$ B,抗-MMP-9的免疫染色结果与抗巨噬细胞的免疫染色相似,除了抗-MMP-9的免疫染色在hemin和对照组间无显著差异。红细胞斑块中的HO-1阳性染色强于NS或空白斑块的(P<0.05),在hemin组中它也强于对照组。

4. 实时定量反转录多聚酶链反应(RT-PCR)HO-1 mRNA在红细胞斑块中的表达明显高于NS或空白斑块,在hemin组中的表达也高于对照组(所有P<0.05)。

两组的红细胞斑块的MCP-1, MMP-9和IVCAM-1相对。mRNA表达均高于NS或空白斑块的(所有P<0.05)。Hemin组中的MCP-1和IVCAM-1相对mRNA表达低于对照组(所有P<0.05)。相反,两组的红细胞斑块的TIMP-1 mRNA相对表达均低于NS或空白斑块的(所有P<0.05)。

结论

- (1) 斑块内出血后斑块内脂质含量增高、氧化应激水平增高、炎症细胞浸润、纤维帽变薄可能是红细胞致斑块不稳定性增高的原因;
- (2) HO-1可减少内出血斑块的破裂率,对内出血斑块有保护作用;
- (3) HO-1的作用可能是通过抑制斑块内氧化应激水平、降低斑块内炎症因子的表达,抑制斑块内的炎症实现的。

6. 期刊论文 [吴京兰, 苏又苏, 方红城, 王执兵, 谢培益, 陈少源, 沈毕先, 高德宏, 陈胜基, 郭芬芬, WU Jing-lan, SU You-su, FANG Hong-cheng,](#)

[WANG Zhi-bing, XIE Pei-yi, CHEN Shao-yuan, SHEN Bi-xian, GAO De-hong, CHEN Sheng-ji, GUO Fen-fen](#) [磁共振成像技术识别兔腹主动脉易损斑块的实验研究 - 中国心血管杂志2009, 14 \(6\)](#)

目的 探讨磁共振成像(MRI)识别动脉粥样斑块性质的价值. 方法 制作兔腹主动脉易损斑块模型,对兔腹主动脉分别采用MRI扫描,血管内超声(IVUS)检查和病理学检查. 结果 成功建立兔腹主动脉易损斑块模型. MR图像T1WI、T2WI、PDWI序列中易损斑块呈高信号, FSE-PDWZ脂肪抑制信号消失, SE T1WI增强扫描可见斑块略有强化; 稳定斑块的影像学表现为斑块厚度增大, 以等信号居多, 增强扫描后斑块强化明显; 与病理切片结果符合率较高, 与IVUS的结果相近. 结论 MRI可以检测兔腹主动脉粥样斑块并进行定性分析.

7. 学位论文 [陈良](#) [复方丹参滴丸、美托洛尔、卡维地洛和氨氯地平对动脉粥样硬化斑块消退和稳定作用的研究](#) 2006

背景:冠心病是严重危害人类健康的常见病和多发病,其病理基础是动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)。研究表明AS是一个稳定期和不稳定期交替的非线性过程,这一过程取决于斑块的易损性。易损斑块(Vulnerable Plaque)可导致斑块破裂和血栓形成,临床上表现为急性冠状动脉综合征(Acute Coronary Syndrome, ACS)。因此,对于动脉粥样硬化早期诊断、稳定和消退斑块具有重要的临床意义。

已经证实AS是一个多种致病因素导致的血管壁发生级联反应的慢性炎症过程。炎症因子标志物对ACS的诊断作用引起了国内外许多学者的关注,如:高敏C反应蛋白(hsC-RP)、细胞间黏附因子-1(ICAM-1)、细胞血管间黏附因子-1(VCAM-1)、基质金属蛋白酶(MMPs)等。晚近,关于妊娠相关血浆蛋白A(PAPP-A)的研究发现,PAPP-A与斑块的炎性活动存在相关性,有可能作为斑块炎性活动的重要评价指标。

以往的研究表明,他汀类和ACEI类药物具有稳定斑块的作用。近年来,随着临床研究结果的公布 $\beta$ -受体阻滞剂和钙拮抗剂对动脉粥样硬化斑块的消退作用引起很多学者关注,但是具体作用机制尚不完全清楚。研究证实中药复方丹参滴丸可以影响脂质的代谢,但其对动脉粥样硬化斑块稳定和消退的作用机制尚需进一步研究。因此,本研究拟将复方丹参滴丸、美托洛尔、卡维地洛和氨氯地平用于兔动脉粥样硬化模型中,观察这些药物对斑块稳定和消退的疗效并探讨其分子生物学机制。

目的:

1. 观察复方丹参滴丸、美托洛尔、卡维地洛、氨氯地平对动脉粥样硬化斑块的消退和稳定作用并探讨其分子生物学机制。
2. 探讨新型炎性因子PAPP-A在预测动脉粥样硬化易损斑块中的作用。

研究方法:

1. 模型的建立:60只雄性新西兰纯种大白兔,应用球囊损伤腹主动脉,高胆固醇(1%)饲养12周。12周末,随机分成六组,分别为小剂量复方丹参滴丸组(5粒/天/只)、大剂量复方丹参滴丸组(10粒/天/只)、美托洛尔组(25毫克/天/只)、卡维地洛组(15毫克/天/只)、氨氯地平组(5毫克/天/只)、自然消退组,同时改为普通饮食。24周末各组分别在腹主动脉动脉粥样硬化斑块处转染100  $\mu$ l 2.245 $\times$ 10<sup>6</sup> 9 $\times$ pfu/ml的Ad-p53重组载体。25周末,给予各组实验兔中国斑点蝥蛇毒(Chinese Russell's viper venom, CRVV)以及组胺进行药物触发,以促进斑块破裂。

2. 血液生化指标及炎性因子的检测:各组实验兔分别于实验开始、12周末和24周末,于清晨空腹称重后,经腹壁静脉采血,检测总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。于实验开始、12周末和25周末测量血液中一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)的水平。应用酶联免疫吸附法(ELISA)测定hsC-RP、PAPP-A的水平。

3. 高频超声检查:各组实验兔分别于实验开始、12周末和25周末应用体表超声检测腹主动脉收缩期内径(Ds)、内膜-中层厚度(IMT)、腹主动脉血流峰值速度(Vp)、血流剪切率(SR)和声学密度(AIIC%)。

4. 血管内超声检查:各组实验兔分别于24周末和处死前应用血管内超声技术测量血管外弹力膜面积(EEMA)、管腔面积(LA)和斑块面积(PA),同时根据PA和EEMA计算管腔面积狭窄百分比(LAS%)。

5. 组织病理学检测:观察基因转染部位斑块破裂及血栓形成的发生率,测量易损斑块处血管重构情况。利用HE和油红O染色,观察斑块的形态学特征,镜下测量纤维帽及内膜的厚度;masson染色观察斑块内部胶原纤维分布状况;

应用妊娠血浆相关蛋白A(PAPP-A)、细胞间黏附因子-1(ICAM-1)、细胞血管间黏附因子-1(VCAM-1)、基质金属蛋白酶-1(MMP-1)、金属蛋白酶组织抑制物(TIMP-1)的单克隆抗体、RAM11单克隆抗体和 $\alpha$ -actin单克隆抗体对腹主动脉粥样硬化斑块进行组织免疫组化化学染色,以明确斑块处各个炎性因子的表达以及巨嗜细胞和平滑肌激动蛋白的分布情况。电镜观察斑块内皮细胞和平滑肌细胞的结构。

6. 实时定量PCR技术:检测各组实验兔腹主动脉粥样硬化斑块处VCAM-1、ICAM-1、MMP-1和TIMP-1的mRNA表达水平。

7. 免疫印迹(Western blot)技术:检测各组实验兔腹主动脉粥样硬化斑块处VCAM-1、ICAM-1、MMP-1和TIMP-1的蛋白质表达情况。

8. 斑块易损性的危险性分析: Logistic回归分析对斑块破裂组和未破裂组的体重、血清学指标、体表超声指标、AD值、IVUS测定等指标分析进行多变量Logistic回归分析,以筛选斑块易损性的预测指标。

9. 统计学分析: 所有数据均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS13.0分析软件,计量资料采用t检验及方差分析,三组以上均数有显著性差异时,采用两两比较q检验;变量之间的相关关系采用直线回归相关分析,以P<0.05为有统计学意义。

结果:

1. 模型的建立:60只新西兰大白兔经过球囊拉伤以及高脂饮食(1%)12周后,共有8只动物意外死亡。有52只新西兰大白兔进入药物干预阶段,小剂量复方丹参滴丸组有9只,大剂量复方丹参滴丸组9只,卡维地洛组9只,美托洛尔组8只,氨氯地平组9只,自然消退组8只。24周末,各组实验兔的存活情况为:小剂量复方丹参滴丸组8只,大剂量复方丹参滴丸组9只,卡维地洛组7只,美托洛尔组8只,氨氯地平组8只,自然消退组7只。死亡原因分别为:麻醉意外、腹泻、感染或者原因不明。

2. 各组实验兔体重:12周末实验兔体重比基础状态增加(P<0.01),24周末各组体重与12周末比较差异无统计学意义(P>0.05)。

3. 血脂水平:与自然消退组比较,氨氯地平组、大剂量复方丹参滴丸组、卡维地洛组和美托洛尔组TC和LDL-C显著降低(P<0.05),小剂量复方丹参滴丸组有降低趋势,未达到统计学意义;TG降低仅氨氯地平组降低达到统计学差异(P<0.05);大剂量复方丹参滴丸组和氨氯地平组HDL-C升高达到统计学意义(P<0.05),美托洛尔组HDL-C降低达到统计学意义(P<0.01)。

4. 血液指标:与自然消退组相比较,各治疗组hsC-RP和MDA都有不同程度降低(P<0.05);SOD和NO各组都有不同程度的升高(P<0.05),其中以大剂量复方丹参滴丸组最为明显。

5. 体表超声:与自然消退组比较,各治疗组仅有小剂量复方丹参滴丸组IMT未达到统计学意义的降低(P>0.05),降低幅度由大到小依次为氨氯地平组、卡维地洛组、大剂量复方丹参滴丸组、美托洛尔组、小剂量复方丹参滴丸组和自然消退组;美托洛尔组和卡维地洛组Vp降低达到统计学意义(P<0.01);AIIC%各组升高均达到统计学意义(P<0.05),以美托洛尔组升高最明显;SR仅美托洛尔组降低达到统计学意义(P<0.05),而复方丹参滴丸组由增加的趋势,其中小剂量复方丹参滴丸组达到统计学意义(P<0.05)。

6. 血管内超声:与自然消退组比较,各治疗组LAS%明显下降(P<0.05)。药物触发后,自然消退组斑块破裂4例,破裂率57%;小剂量丹参滴丸组破裂3例,破裂率37%;大剂量丹参滴丸组2例,破裂率22%;美托洛尔组2例,破裂率25%,氨氯地平组2例,破裂率25%;卡维地洛组1例,破裂率14%。

7. 病理学结果:与自然消退组比较,各治疗组ICAM-1、VCAM-1、MMP-1、TIMP-1和RAM11的表达均减少,而 $\alpha$ -actin的表达增加;各治疗组油红O着色比自然消退组浅;与自然消退组比较,各个治疗组纤维帽的厚度都有不同程度的升高(P<0.05)由大到小依次为美托洛尔组、大剂量复方丹参滴丸组、小剂量复方丹参滴丸组、氨氯地平组、卡维地洛组和自然消退组;内中膜厚度不同程度的减少(P<0.05)。

8. 实时定量PCR检测:与自然消退组比较,各治疗组ICAM-1、VCAM-1、MMP-1、TIMP-1的mRNA表达都有不同程度的减少(P<0.01)。

9. 免疫印迹(Western blot)检测:与自然消退组比较,各治疗组ICAM-1、VCAM-1、MMP-1、TIMP-1都有不同程度的减少。

10. PAPP-A相关性分析: PAPP-A与血液hsC-RP、血管内超声LAS%以及腹主动脉IMT相关,其相关系数R<sup>2</sup>分别为0.424、0.112和0.339,其P值均小于0.01。

11. 斑块易损性的危险性分析: Logistic回归结果显示IVUS测定PA,血清指标PAPP-A和hsC-RP,以及斑块的IMT与斑块破裂关系密切,是预测斑块易损性的重要指标。

结论

1. 在动脉粥样硬化斑块兔模型中,氨氯地平、美托洛尔、卡维地洛和复方丹参滴丸可以起到稳定和消退斑块的作用,以氨氯地平作用最佳。

2. 斑块内脂质的减少、巨嗜细胞分布减少、抑制氧化应激和炎症因子的表达是四种药物消退兔动脉粥样硬化斑块的主要机制;调节脂质代谢、抑制炎性反应、减少血流速度、调节血流剪切率是药物稳定实验兔动脉粥样硬化斑块的主要机制。

3. 复方丹参滴丸主要通过调节血脂、抑制氧化应激和炎症因子的表达稳定和消退动脉粥样硬化斑块。美托洛尔和卡维地洛主要通过降低血流剪切率、巨嗜细胞分布减少和调节炎症因子的表达稳定和消退动脉粥样硬化斑块。氨氯地平作用较广泛,调节血脂、减少巨嗜细胞的分布、抑制氧化应激和炎症因子的表达。

4. 高频超声检查可作为动态观察动脉粥样硬化斑块的变化、识别斑块破裂的可靠性方法。

5. PAPP-A与IMT、hsC-RP以及LAS%相关,可以作为动脉粥样硬化斑块不稳定性的检测指标之一。

8. 期刊论文 [方红城, 苏又苏, 庞红, 吴京兰, 付剑云, 谢培益, 陈菲, 李明华, FANG Hongcheng, SU Yousu, PANG Hong, WU Jinglan, FU Jianyun,](#)



有较好的价值。

#### 9. 学位论文 [尚德师 化湿泄浊汤干预实验动物易损斑块及其联合基础治疗不稳定性心绞痛的研究](#) 2008

目的: 通过临床研究来观察化湿泄浊汤合用辛伐他汀治疗痰阻型不稳定性心绞痛的临床疗效, 通过实验研究来观察化湿泄浊汤干预腹主动脉易损斑块的疗效, 从降低炎症因子角度来探讨化湿泄浊汤的作用机制。

方法:

1、临床研究: 60例痰阻型不稳定性心绞痛患者随机分为实验组(30例)、对照组(30例), 分别采用辛伐他汀加化湿泄浊汤和单用辛伐他汀治疗8周, 观察心绞痛疗效、心电图疗效、中医证候疗效、综合疗效以及血脂、hs-CRP、IL-6、TNF- $\alpha$  等指标的变化。

2、实验研究: 30只新西兰雄性纯种大白兔随机分为空白组7只(不造模, 一直普通饲料喂养), 余下23只造模后随机分为中药组8只、西药组8只、NS组7只(造模后予以高脂饲料喂养), 模型采用高脂胆固醇饮食喂养加球囊损伤腹主动脉方法, 造模后中药组、西药组、NS组、空白组分别灌胃化湿泄浊汤、辛伐他汀、NS、NS 8周, 观察血脂、腹主动脉易损斑块病理以及斑块内CRP含量等指标的变化。

结果:

1、临床研究:

(1)化湿泄浊汤合用辛伐他汀治疗痰阻型不稳定性心绞痛患者, 综合有效率为83.33%, 明显优于单用辛伐他汀, 综合有效率为66.67% ( $P<0.01$ )。

(2)化湿泄浊汤合用辛伐他汀能够明显缓解心绞痛症状、停减UAP患者使用硝酸甘油剂量、改善UAP患者心电图的缺血程度, 提高中医证候疗效和综合疗效, 疗效优于单用辛伐他汀(均 $P<0.05$ )。

(3)化湿泄浊汤合用辛伐他汀能够显著降低UAP患者的TC、TG、LDL-C、动脉硬化指数、hs-CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ , 升高HDL-C, 疗效显著优于单用辛伐他汀组(均 $P<0.01$ )。

(4)化湿泄浊汤合用辛伐他汀、辛伐他汀均不影响UAP患者的血、尿、粪常规、肝肾功能、心肌酶谱( $P>0.05$ )。

2、实验研究: 与NS组相比, 化湿泄浊汤明显降低动物易损斑块内CRP含量( $P<0.05$ ), 病理检查结果显示易损斑块明显减少( $P<0.05$ )。

结论: 化湿泄浊汤合用辛伐他汀可明显改善痰阻型不稳定性心绞痛的临床症状, 化湿泄浊汤能够改善实验动物动脉粥样硬化的程度, 机制可能与调节血脂、降低炎症因子有关。

#### 10. 期刊论文 [刘军妮, 徐冬玲, 杜始萌, 蒋卫东, 王欣, 董兆强, 陈良, 胡晓波, 王光允, 许复郁, 赵敬杰, 郝琳, 王群, 鹿庆华, LIU Jun-ni, XU Dong-](#)

[ling, DU Yi-meng, JIANG Wei-dong, WANG Xin, DONG Zhao-qiang, CHEN Liang, HU Xiao-bo, WANG Guang-yun, XU Fu-yu, ZHAO Jing-jie, HAO](#)

[Lin, WANG Qun, LU Qing-hua 脂蛋白相关磷脂酶A<sub>2</sub>与兔易损斑块的相关性研究](#) - [中国病理生理杂志](#)2010, 26(4)

目的: 建立易损斑块动物模型, 观察探讨脂蛋白相关磷脂酶A<sub>2</sub>(Lp-PLA<sub>2</sub>)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)、基质金属蛋白酶(MMP-9)在易损斑块中的表达规律。方法: 实验新西兰雄兔48只随机分为对照组、稳定斑块组、p53基因组和p53+药物组。对照组假手术后普通饲料喂养; 稳定斑块组、p53基因和p53+药物组行腹主动脉球囊拉伤后高脂喂养12周, p53基因和p53+药物组于10周末行腹主动脉斑块形成处转染人野生型p53基因重组腺病毒载体, p53+药物组于12周末给与中国圆斑蝥蛇毒和组胺药物触发斑块破裂。4组兔于实验第1 d和处死前检测Lp-PLA<sub>2</sub>、hs-CRP、MMP-9、HDL、LDL、VLDL血清指标, 处死后取腹主动脉斑块处病理标本并做局部原位杂交、免疫组织化学分析。结果: 稳定斑块组、p53基因组和p53基因+药物触发组血清Lp-PLA<sub>2</sub>、MMP-9第12周末明显高于对照组和实验第1 d ( $P<0.05$ ); p53基因组和p53基因+药物触发组血清Lp-PLA<sub>2</sub>及hs-CRP水平明显高于对照组和稳定斑块组, 差别显著 ( $P<0.05$ ); p53基因+药物触发组与p53基因组比较血清Lp-PLA<sub>2</sub>、hs-CRP、MMP-9水平平均差别明显 ( $P<0.05$ )。第12周末, 病理结果显示4组兔分别为正常动脉血管、稳定粥样硬化斑块、易损斑块、破裂斑块模型, 在p53基因组和p53基因+药物触发组纤维帽厚度明显低于稳定斑块组 ( $P<0.05$ ); p53基因+药物触发组斑块破裂、血栓形成明显高于p53基因组, 血清Lp-PLA<sub>2</sub>与斑块纤维帽厚度呈明显负相关性 ( $r=-0.710$ ,  $P<0.01$ ), hs-CRP、MMP-9与纤维帽厚度无明显相关关系 ( $P>0.05$ )。结论: 在已建立的动脉粥样硬化动物易损斑块模型上, 动脉血清与组织Lp-PLA<sub>2</sub>、hs-CRP、MMP-9的表达规律表明, Lp-PLA<sub>2</sub>与斑块的不稳定性相关性好, 结合hs-CRP、MMP-9检测可更好阐释斑块的性质; 为发现易损斑块并预测斑块稳定性提供了基础实验依据。

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfxszz200911016.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfxszz200911016.aspx)

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: 8c911cfb-693c-445f-b0c4-9df7017491cb

下载时间: 2010年9月20日