

动脉粥样硬化斑块磁共振成像动物模型

叶鹏飞¹ 郭应坤¹ 张怡² 沈梦婷² 李湘² 陈林¹ 徐婷¹ 文凌仪¹

(1. 四川大学华西第二医院放射科 出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室, 四川 成都 610041; 2. 四川大学华西医院放射科, 四川 成都 610041)

【摘要】 动脉粥样硬化是严重威胁人体健康的心血管疾病, 通过建立粥样硬化斑块动物模型, 研究探索动脉粥样硬化的病理生理变化, 对临床诊疗有重要价值。磁共振成像可无创评价全身大动脉粥样硬化斑块, 是评价动脉粥样硬化斑块形态、成份及稳定性的有效影像技术。现将有关兔、猪及鼠动脉粥样硬化斑块动物模型的构建及磁共振成像进行综述, 归纳总结不同方法的优势和劣势, 为以后研究提供参考。

【关键词】 动脉粥样硬化; 磁共振成像; 动物模型

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.08.014

Animal Models for Magnetic Resonance Imaging of Atherosclerotic Plaque

YE Pengfei¹, GUO Yingkun¹, ZHANG Yi², SHEN Mengting², LI Xiang², CHEN Lin¹, XU Ting¹, WEN Lingyi¹

(1. Department of Radiology, West China Second Hospital, Sichuan University, Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children, Ministry of Education, Chengdu 610041, Sichuan, China; 2. Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China)

【Abstract】 Atherosclerosis is a cardiovascular disease which seriously threatens public health. Understanding the pathophysiology of atherosclerosis by establishment of atherosclerotic plaque animal models is of great value for clinical diagnosis and treatment. Magnetic resonance imaging (MRI) enables non-invasively assessing the morphology, composition and stability of atherosclerotic plaques. The construction and MRI of animal models of atherosclerotic plaques in rabbits, pigs and mice were reviewed. The advantages and disadvantages of different methods are summarized to provide references for future studies.

【Key words】 Atherosclerosis; Magnetic resonance imaging; Animal model

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是严重威胁人体健康的心血管疾病, 也是导致脑卒中、冠心病及肢体功能丧失的主要原因^[1], 更是导致全球死亡人数最多的疾病^[2]。磁共振成像可无创评价全身大动脉 AS 斑块, 已广泛应用于临床和基础研究, 目前世界各国的研究者构建了大量 AS 斑块动物模型, 并利用磁共振成像对 AS 的病因、发病机制、并发症及治疗进行研究^[3]。磁共振成像无电离辐射, 软组织对比度高, 空间分辨率高, 是评价 AS 斑块形态、成份及稳定性强有力的影像技术^[4], 并且可以引入磁共振对比剂增加敏感性^[5], 是无创评价 AS 斑块最佳的检查方法。现通过查阅国内外的相关文献, 将有关 AS 斑块动物模型的构建及磁共振成像进行综述, 归纳总结了不同方法的优势和劣势, 为以后研究提供参考。

1 猪

猪的心脏解剖结构、血流动力学、脂蛋白代谢机制、血小板聚集机制及血生化指标与人类十分相似, 形成斑块的病理过程也与人类相似, 形成斑块的敏感性较高, 选用猪是构建 AS 斑块比较理想的模型^[6]。但是大多数种属的猪是大型动物, 体重较大, 不利于搬运, 经费投入较高, 限制了研究者对猪的选择, 并且超高场强磁共振扫描仪的孔径较小, 限制了 AS 斑块猪的应用。国内外学者已用小型猪构建了大量 AS 模型^[7], 巴马小型猪是目前最常用的小型猪 AS 模型^[8]。小型猪具有饲养方便、体积小、易管理及经费投入较少的优点, 能较多地应用于 AS 的相关研究中, 满足了更多 AS 基础和临床的研究需求^[9]。

球囊损伤动脉内膜是最早用于构建小型猪 AS 模

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81971586); 四川省应用基础研究项目 (2019YJ0087)

通信作者: 文凌仪, E-mail: lizzievane@126.com

型的方法,通过介入手术将大于血管直径 10%~30% 的球囊扩张目标血管,达到损伤动脉内膜的目的^[10],再联合高脂饲料喂养。球囊损伤动脉内膜的方法,不但可以选择 AS 斑块形成的部位,而且缩短了 AS 斑块形成的时间^[11],该方法加快了实验进度,节约了人力物力,成为国内外科研人员常用的一种建模方法。董莉等^[12]通过球囊损伤猪腹主动脉,再联合高脂饲料喂养,成功构建了小型猪腹主动脉 AS 斑块,采用黑血动态增强磁共振成像技术检测早期 AS 斑块炎性反应的特征,定量测量早期 AS 斑块炎性反应的影像指标,提供了一种无创检测早期 AS 斑块的方法。

2 兔

在中等体型动物中,兔的体型大小适中,能较容易进入中高场强磁共振仪磁体中,并且可以使用兔子专用线圈,从而顺利采集兔颈总动脉和主动脉各个序列的图像。兔颈总动脉和主动脉与人类动脉解剖结构相似,常规应用于人颈动脉的序列经过序列优化可以应用于兔颈动脉的磁共振扫描。兔的脂蛋白代谢与人类比较相似,对胆固醇的敏感性较高,能吸收外源性胆固醇,在较短时间内血胆固醇升高明显,经过高胆固醇饲料喂养后,较容易形成 AS 斑块。因此兔成为了最广泛应用于构建 AS 斑块动物模型^[13]。

Masley 等^[14]通过高脂饲料单纯喂养家兔,在 1931 年成功构建了第一只 AS 斑块的家兔模型,为人类对 AS 的探索迈出了一大步,初步提供了家兔与人类 AS 斑块相似性和差异性的第一手资料。Xu 等^[15]通过高脂饮食喂养兔 12 周,成功构建了颈动脉 AS 斑块模型,采用超声、高分辨率磁共振成像 (high-resolution magnetic resonance imaging, HR-MRI)、正电子发射断层扫描/计算机断层扫描 (positron emission tomography/computed tomography, PET/CT) 对该模型进行颈动脉诊断效果评价。根据 AS 的发病机制自身免疫学说,AS 由堆积在血管壁的脂蛋白、T 淋巴细胞及其产生的抗体诱发,巨噬细胞、T 淋巴细胞和肥大细胞在 AS 斑块形成的各个时期发挥重要作用,炎症及氧化应激影响斑块的稳定性^[16],因此可从自身免疫学说的方向来构建 AS 模型。如使用牛血清白蛋白、卵清白蛋白、EB 病毒及巨细胞病毒等诱导自身免疫反应,从而诱发 AS 疾病的发生。唐曦等^[17]经兔肌肉注射胎牛血清白蛋白进行血管免疫损伤,再用高脂饲料喂养,成功构建了兔 AS 斑块模型。Perevozchikov 等^[18]在 1993 年利用靶向基因编辑技术,将人载脂蛋白 A-I 基因插入家兔的基因片段中,培育出了具有人载脂蛋白 A-I 的转基因兔,利用基因工程开创了兔 AS

斑块模型的新思路。

3 鼠

鼠类属于小型动物,具有以下优点:(1)基因背景清晰,个体差异较小;(2)繁殖速度较快,容易获得,成本低廉;(3)生存能力强,饲养及管理方便;(4)发病周期较短,因此在基础和临床的试验中得到了广泛应用^[7]。但是在磁共振扫描方面,鼠类属于小型动物,血管结构及其生理功能同人类存在较大差异,动脉管腔十分细小、内膜非常薄、弹性蛋白含量少,通过中低场强的磁共振扫描仪来评价 AS 斑块具有一定困难,需要采用动物专用超高场强磁共振扫描仪进行扫描,在 7.0T 及以上磁场强度时,平面分辨率为 100 μm ^[19]。Weinreb 等^[19]通过 Bruker 9.4T 动物专用磁共振仪,分析了载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 基因敲除小鼠腹主动脉 AS 斑块,对斑块进行了脂质和纤维的测量,提供了连续监测小鼠 AS 斑块模型演变的无创方法。

鼠类缺乏胆固醇酯转运蛋白^[20],与人类的血脂谱存在很大差异,其体内的代谢方式和状态也与人类不相同,对 AS 斑块的形成存在极大抗性^[21],高脂饲料单纯喂养很难构建 AS 斑块模型。随着基因工程技术的发展及有效应用,通过基因工程敲除特定基因培育出转基因鼠,构建转基因鼠 AS 斑块模型可成为未来发展的方向。转基因小鼠清除血浆中的低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白、乳糜微滴能力受损,从而导致小鼠高胆固醇血症^[22],约于 3 月龄就能在主动脉形成脂肪纹,并且随着小鼠年龄的增长而逐渐严重。应用于临床的转基因鼠有多种,主要包括 ApoE^{-/-}小鼠及改良品系、低密度脂蛋白基因敲除小鼠及改良品系等^[23-24]。

孙明霞等^[25]使用 ApoE 基因敲除雄性小鼠,成功构建了小鼠 AS 斑块模型,分别于注药前及注药后 0.5 h、2 h 进行普通和增强磁共振横断位扫描,在磁共振 T2 加权像图像上表现为动脉管壁增厚,信号不均匀增高,在活体 ApoE 基因敲除小鼠上检测 AS 斑块的分布及信号变化,磁共振普通和增强扫描可作为 AS 发生和发展的监测指标。

4 磁共振成像

HR-MRI 能以较高的分辨率显示 AS 斑块的数量、形态、成分、表面情况以及血管腔情况^[26],分析斑块的成分、分型,推测斑块的稳定性,早期检出易损斑块,具有很高的敏感性和特异性^[27],是无创评价 AS 斑块形态、成份及稳定性的强有力的检查方法。目前,临床上常用的 HR-MRI 成像序列包括磁共振 T1 加权像、磁共振 T2 加权像、质子密度加权像、三维时间飞跃法

及磁共振增强扫描。磁共振 T1 加权像对出血和钙化较为敏感;磁共振 T2 加权像对斑块性质的检查较敏感;质子密度加权像对血管壁的厚度测量是最准确的,较好地显示血管壁及管腔结构,是斑块及管腔直径测量的最佳序列;三维时间飞跃法对检测斑块的敏感性较高,具有空间分辨率高和扫描时间短的优点,对中快速血流敏感,可对动脉狭窄处斑块进行定位;磁共振增强扫描能很好地显示斑块内新生血管、腔内形态和溃疡,能较好地显示不强化的脂质核及强化的纤维帽^[28]。由于斑块形态和成分复杂,需多个序列联合诊断,以提高检测的敏感性和特异性。

综上所述,AS 磁共振成像动物模型的选取,不但要从动物的种属、体型大小、生活习性、饲养难易程度、生长周期及疾病耐受能力等多方面进行考虑,而且还要从磁共振仪磁体和线圈尺寸进行考虑。选择接近动物体型的线圈尺寸,减小被检测物中心与线圈电流分布的距离来增加射频场强度,提高图像质量^[29]。磁共振磁体场强越高,组织分辨率越高,成像序列越全面,但是磁体孔径越小,可容纳的动物体型越小。构建的 AS 模型不但与人类十分相似,而且不同种属动物的特点要符合磁共振扫描的特点,根据 AS 的发病机制选择不同的建模方法,并且要与具体的研究目的、方法及内容相结合,将有助于学者们对 AS 斑块的发生发展、发病机制、综合治疗及临床决策进行更全面深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, et al. Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e528.
- [2] World Health Organization. The top 10 causes of death [EB/OL]. (2020-12-09). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- [3] Lee YT, Lin HY, Chan YW, et al. Mouse models of atherosclerosis: a historical perspective and recent advances [J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 12.
- [4] Hossaini Nasr S, Tonson A, El-Dakdouki M, et al. Effects of nanoprobe morphology on cellular binding and inflammatory responses: hyaluronan-conjugated magnetic nanoworms for magnetic resonance imaging of atherosclerotic plaques [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(14): 11495-11507.
- [5] Gao Z, Ma T, Zhao E, et al. Small is smarter; nano MRI contrast agents—advantages and recent achievements [J]. *Small*, 2016, 12(5): 556-576.
- [6] Zhao Y, Xiang L, Liu Y, et al. Atherosclerosis induced by a high-cholesterol and high-fat diet in the inbred strain of the Wuzhishan miniature pig [J]. *Animal Biotechnol*, 2018, 29(2): 110-118.
- [7] Emini Veseli B, Perrotta P, de Meyer GRA, et al. Animal models of atherosclerosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 816: 3-13.
- [8] Fang B, Ren X, Wang Y, et al. Apolipoprotein E deficiency accelerates atherosclerosis development in miniature pigs [J]. *Dis Models Mech*, 2018, 11(10): dmm036632.
- [9] Pennesi ME, Neuringer M, Courtney RJ. Animal models of age related macular degeneration [J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(4): 487-509.
- [10] Ogita M, Miyauchi K, Onishi A, et al. Development of accelerated coronary atherosclerosis model using low density lipoprotein receptor knock-out swine with balloon injury [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0163055.
- [11] Thim T, Hagensen MK, Drouet L, et al. Familial hypercholesterolaemic downsized pig with human-like coronary atherosclerosis: a model for preclinical studies [J]. *EuroIntervention*, 2010, 6(2): 261-268.
- [12] 董莉, 申强, 郭森, 等. 黑血动态增强磁共振成像技术对早期动脉粥样硬化炎症反应的可行性研究 [J]. *心肺血管病杂志*, 2019, 38(8): 874-878.
- [13] Fatemeh RK, Gangadaran S, Li C, et al. Animal models of atherosclerosis [J]. *World J Clin Cases*, 2014, 2(5): 126-132.
- [14] Masley S, Kenney JJ, Novick JS. Optimal diets to prevent heart disease [J]. *JAMA*, 2003, 289(12): 1510.
- [15] Xu L, Wang R, Liu H, et al. Comparison of the diagnostic performances of ultrasound, high-resolution magnetic resonance imaging, and positron emission tomography/computed tomography in a rabbit carotid vulnerable plaque atherosclerosis model [J]. *J Ultrasound Med*, 2020, 39(11): 2201-2209.
- [16] Spartalis M, Spartalis E, Athanasiou A, et al. The role of the endothelium in premature atherosclerosis: molecular mechanisms [J]. *Curr Med Chem*, 2020, 27(7): 1041-1051.
- [17] 唐曦, 杨松, 苟博, 等. 高脂喂养联合免疫损伤建立兔动脉粥样硬化模型及评价 [J]. *中国医药导报*, 2016, 13(18): 21-24.
- [18] Perevozchikov AP, Vaisman BL, Sorokin AV, et al. Study of the effect of the cDNA for the human A-I gene in transgenic rabbits: modeling the neurological syndrome of human Tangier disease [J]. *Mol Biol (Mosk)*, 1993, 27(1): 24-37.
- [19] Weinreb DB, Aguinaldo JG, Feig JE, et al. Non-invasive MRI of mouse models of atherosclerosis [J]. *NMR Biomed*, 2007, 20(3): 256-264.
- [20] Hatters DM, Peters-Libeu CA, Weisgraber KH. Apolipoprotein E structure: insights into function [J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31(8): 445-454.
- [21] 杨梅, 周建光, 曹海涛, 等. 实验动物动脉粥样硬化模型的建立与评价 [J]. *医疗装备*, 2010, 23(6): 35-37.
- [22] Tani M, Matera R, Horvath KV, et al. The influence of apoE-deficiency and LDL-receptor-deficiency on the HDL subpopulation profile in mice and in humans [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 233(1): 39-44.
- [23] Burke AC, Huff MW. Regression of atherosclerosis: lessons learned from genetically modified mouse models [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2018, 29(2): 87-94.
- [24] Liao J, Liu X, Gao M, et al. Dyslipidemia, steatohepatitis and atherogenesis in lipodystrophic ApoE deficient mice with Scipin deletion [J]. *Gene*, 2018, 648: 82-88.
- [25] 孙明霞, 冯越, 谢敏. 靶向 USPIO 分子探针联合 MR 监测动脉粥样硬化细胞间黏附分子-1 变化 [J]. *心脑血管病学防治*, 2020, 20(4): 348-351.
- [26] Choi YJ, Jung SC, Lee DH. Vessel wall imaging of the intracranial and cervical carotid arteries [J]. *J Stroke*, 2015, 17(3): 238-255.
- [27] Xu WH, Li ML, Niu JW, et al. Intracranial artery atherosclerosis and lumen dilation in cerebral small-vessel diseases: a high-resolution MRI Study [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(4): 364-367.
- [28] Wasserman BA, Smith WI, Trout HH 3rd, et al. Carotid artery atherosclerosis: in vivo morphologic characterization with gadolinium-enhanced double-oblique MR imaging initial results [J]. *Radiology*, 2002, 223(2): 566-573.
- [29] 徐永峰. 超高场磁共振成像射频线圈技术及实时监控系统的研究 [D]. 中国科学技术大学, 2017.

收稿日期: 2020-12-26