

SHRSP 大鼠的脑肾病理学变化

方厚华 仇志华

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

【摘要】 SHRSP 大鼠是脑卒中自发性高血压模型动物,是从 SHR 大鼠中通过选择交配,再经继代近亲繁殖培育而成的。SHRSP 大鼠的脑卒中发病率达 90% 以上,表现为脑出血或脑梗塞,病灶周围脑血管管壁增厚并有玻璃样变性。血浆高血压蛋白酶原活性升高,相对分子质量变大,血压升高是促使脑卒中发生和发展的前提。经 HFC 负荷试验,血液中总胆固醇升高 5.9~9.7 倍,肾病加重,出现肾小球泡沫细胞。高血压症状持续的时间越长这种细胞出现的频率越高,高血压造成的肾毛细血管损伤加大了脂质的通透性,而高血脂是促进肾病变发展的重要因素。泡沫细胞好发于正在硬化的肾小球,这种选择性分布的特点人与大鼠是一致的,故有可能作为本病的模型使用。

【关键词】 大鼠;近交 SHR;脑出血;肾变病;泡沫细胞;动物/模型

【中图分类号】 Q95-33;R544.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2003)02-0121-04

Pathological Changes of the Brain and Kidney of SHRSP Rat

FANG Hou-hua, QIU Zhi-hua

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

【Abstract】 SHRSP rat is the model animal for spontaneously hypertension and stroke, and is cultivated through selective mating and secondary inbred. The incidence of cerebral apoplexy is higher than 90%, and the animals would display cerebral hemorrhage or cerebral infarction, the peri-focus blood vessel walls thickening and in hyaline degeneration, increased renin activity and molecular weight. And raised blood pressure is a prerequisite to cerebral apoplexy occurrence and development. The HFC burden test showed 5.9-9.7 times higher concentration of total cholesterol, severe nephrosis and appearance of renal glomerulus foam cells. The foam cells rose with hypertension continuation. The permeability of lipid rose as the capillary of kidney was damaged following hypertension, and hyperlipemia facilitated the development of nephrosis. The sclerosis of renal glomerulus was accompanied with increased foam cells, whose characteristic of the distribution patterns of human and rat was identical. It is suggested that SHRSP rat can be used as the model for human disease.

【Key words】 Rats, Inbred SHR; Cerebral Hemorrhage; Nephrosis; Foam Cells; Animals/Models

1 SHRSP 大鼠的培育经过和一般性状

SHRSP 大鼠(Stroke-Prone Spontaneously hypertensive Rat)是脑卒中易发性高血压症模型动物,最早是由 Okamoto 等培育成功的。他在对 SHR 大鼠进行分离时发现其脑卒中的发病率不及 10%,但这个品系中某些亚系动物却容易发生脑卒中,同窝动物的

发病率和死亡年龄相近。他认为本病与遗传因素有关,遂通过选择交配分离出易发脑卒中的大鼠,即从适宜作为脑卒中模型的 SHR 品系中挑选出具有繁殖能力的年轻的大鼠进行交配,其子代鼠也在年轻时进行互配,对继代培养的大鼠进行终生观察,保留因脑卒中死亡的大鼠的子代鼠,剔除未发生脑卒中大鼠的所有后代。Okamoto 等从自发高血压症大鼠(SHR)A 系中选择 3 组雌雄大鼠配对繁殖,对数千对大鼠生产的数万只仔鼠进行长期观察,进行继代兄妹交配,F6 以后,脑卒中的患病率即达 80%,F10

以后患病率上升到 90% ,1973 年命名为 SHRSP 大鼠,在美国的 Cleveland 高血压学会首次做了报告^[1]。

SHRSP 大鼠通常在出生后 1 个月左右开始测量血压,每周至少一次。测定血压的同时称量体重。SHRSP 大鼠在 1.5~2 月龄时血压就已超过了 150 mmHg,2.5 个月前达到 200 mmHg。雄性大鼠的血压上升比雌性的快,在年轻时期就发生了高血压症。血压急剧上升是诱发脑卒中的主要原因。

SHRSP 大鼠体重增长率比其母体大鼠 SHR 稍差,这或许是因为 SHRSP 大鼠交配是尽可能地选择在年轻体重较轻的时候进行的。其寿命也比 SHR 大鼠短,雄性平均为 230 d,雌性平均为 346 d。死亡前数日乃至数月,动物会有兴奋、过敏、狂暴的表现,运动不灵活,四肢尤其是某一前肢出现抬肢运动,步行困难,呈衰弱病态,表情淡漠、昏睡、尿失禁、食欲亢进,甚至有啃咬肢体的表现。

2 SHRSP 大鼠的脑组织变化

SHRSP 大鼠在出生 80 d 前后即可发生脑卒中,出现脑出血或脑梗塞,也有二者兼有的,多发于大脑后部、顶部以及前部的皮质层和皮质下层,下丘脑、中脑、脊髓等部位的较少见。病灶有一侧性的,也有双侧性的;可能是单一的病灶,也可能是多个病灶的复合,病变区大小不一,严重者占脑半球的大部分区域。此时在病灶的周围或软膜动脉会有某种程度的管壁增厚和玻璃样变性。特别严重的还有血管的坏死和细小动脉瘤的形成,常可见到脑血管的栓塞。在出现这些变化之前,脑血管的弯曲度和血管的通透性变大。除脑外,肾、睾丸以及其他脏器中的血管也发生坏死性病变和由此引起的实质性退行性病变^[9]。

SHRSP 大鼠年轻时期的血浆高血压蛋白酶原(renin)的活性与 WKY(Wistar-Kyoto)大鼠没有大的差别,相对分子质量约为 40 000,也与 WKY 大鼠的相近。但随着年龄的增长,血压达到 240 mmHg 以上时,其高血压蛋白酶原活性则为 WKY 大鼠的 2~5 倍,相对分子质量也上升到 50 000 多,当血压上升到 250 mmHg 以上时,其则达到 60 000 多,肾高血压蛋白酶原的活性也增强,而且其也有着随之变大的趋向作用。如从年轻时起就进行食盐负荷试验(以 1% 的食盐为日常饮用水或用 10% 食盐饲料饲喂动物)会促进血压上升的速度,从而使脑卒中和由此继发的其他病变提前出现^[2]。

如前所述,动物年轻时血压的异常升高是导致脑卒中的主要原因。SHR 大鼠的血压是受遗传因素影响的。在 SHRSP 大鼠和 C 系 SHR 大鼠之间联体生活(parabiosis)实验中,还不能证明与体液因子有关。另外,人易发生脑病变的部位有如下一些特点:①在大脑的中、大型动脉和前大脑动脉或后大脑动脉的分枝境界区域内血管分布较少;②到达这些部位的主要的长动脉枝从主干开始形成逆行性分枝。这些生理特点是促进脑卒中发生的局部因素。和人相比,大鼠容易发生脑卒中的部位更多。

另有把呈高度肥胖的 Zucker fatty(ZF)大鼠的 Ob-R 基因转入 SHRSP 大鼠的报道^[2]。

3 SHRSP 大鼠的肾小球泡沫细胞的变化

近些年又有许多研究发现 SHRSP 大鼠在脑血管以外的各个脏器中还有高血压性坏死性血管病变,表现最为集中的是肾脏。从 5 个月龄开始肾小球和细小动脉就有了硬化病变。日本的田中等^[3]为了证明高血压和高血脂对肾小球的泡沫细胞(foam cells)发生的影响,使用经高脂肪负荷实验 4 周的 SHRSP 来研究脂肪在肾小体的沉积情况。

动脉粥样硬化的初期出现的泡沫细胞灶是由浸润动脉内皮下层的单核细胞形成的。在有肾病综合征和全身脂质代谢障碍表现的疾病中,肾小球也会有泡沫细胞的出现,一般认为它来源于肾小球系膜细胞(mesangium cell)或血液中的单核细胞^[4,5]。近年,对脂质代谢异常促肾小球损伤的重要性被阐释清楚了。肾小球硬化和动脉硬化在病理学变化上极为类似^[6]。动脉硬化的发生和发展受高血压和高血脂引起的血管内皮细胞损伤的影响^[7],在高血压状态下肾小球出现和动脉管壁硬化特别相似的病变。

3.1 SHRSP 大鼠肾脏的病理组织学变化

田中等^[2]分别使用 2 个月(12 只)、6 个月(18 只)和 9 个月龄(23 只)的雄性 SHRSP 大鼠,给以高脂肪饲料(2% 胆固醇、0.5% 胆汁酸、7% 猪油、0.2% 甲基硫脲嘧啶,以下简称 HFC)或市售的普通饲料(CE-2),共饲育 4 周。实验期间隔周测定动物体重和收缩期血压。在实验结束时对 2 个月龄组和 9 个月龄组的动物血浆脂质进行测定,包括:总胆固醇、HDL-胆固醇、三酸甘油酯等。另取一部分肾脏组织用 2.5% 戊二醛进行前固定,再用 1% 的锇酸(osmium)进行后固定,经乙醇系列脱水后再用环氧树脂 812 包埋,制作超薄切片,用醋酸铀和醋酸铅进行二重染色,用电子显微镜(JEM-100SX)观察。剩余的肾

组织用甲醛固定,石蜡包埋,切片用 HE、PAS、旺吉逊和胶体铁染色后进行组织学检查。

结果观察到,HFC 组的大鼠在负荷试验初期,任一周龄的体重都比对照组(普通食物组)的高。负荷试验的后半期体重却呈逐渐减轻的趋势。对照组的动物血压在 2 个月龄时,收缩压就超过 200 mmHg,3 个月龄时达到 238 mmHg,7 个月龄和 10 个月龄时分别上升到 276 mmHg 和 257 mmHg。而 HFC 组动物,脂质负荷试验期间的血压比对照组稍低。但其 2 月龄组和 9 月龄组的动物血浆脂质有明显变化:总胆固醇比同月龄对照组的分别高出 9.7 和 5.9 倍,9 月龄时的 HDL-胆固醇却又比对照组低 47%。对照组的总胆固醇也会随着年龄的增长而稍有升高,增长的胆固醇大部分是 HDL-胆固醇。

对照组的 2 月龄动物没有显著变化,6 月龄动物有小动脉增殖性中膜肥厚和血管坏死,肾小球硬化,这可能是引发高血压的病因。9 月龄组的动物这些变化变得明显,出现肾小球肿大和肾小球泡沫细胞。而 HFC 组动物的表现比这严重得多。在 6 个月和 9 个月的动物中,硬化的肾小球中有很多的泡沫细胞出现。泡沫细胞内有大量被钼酸染黑的脂肪滴。病变的肾小球多出现在皮质旁髓部,在皮质表层则几乎看不到。含有泡沫细胞的肾小球对胶体铁的染色反应能力降低。

电镜下观察,脂肪滴明显蓄积而使泡沫化的细胞增多,以致很难确定其在肾小球内的位置或细胞的由来。同时,初期的泡沫细胞存在于膨大了的肾小球膜细胞中,出现不整形核、粗面小胞体和带有一层膜的脂肪滴。

3.2 肾小球泡沫细胞与血压的关系

把组织切片上出现的带有泡沫细胞的肾小球的数量作为泡沫细胞的出现频率,以 1~4 个者为 +,5~9 个者为 ++,10 个以上者为 +++。9 个月龄试验组中几乎所有的大鼠都可见 +~+++ 的肾小球泡沫细胞。越是血压高的个体泡沫细胞出现的频率越高。

嘌呤霉素氨基核苷(puromycin aminonucleoside, PAN)可致大鼠肾小球损伤,使脂质在肾小体硬化部位沉着^[8]。给胆固醇负荷试验的大鼠投与 PAN,肾小球泡沫细胞增多。在高血脂状态下肾小球血管受损部位的脂质沉着增多。但还不能证实肾小球泡沫细胞的出现与高血压性肾小球损害之间的关系。高脂肪食物负荷试验发现,高血压状态持续时间越长的动物其肾小球泡沫细胞越多。而在血压刚开始上

升的 2 月龄组动物中,HFC 负荷试验使血中的胆固醇明显升高,但在肾小球上观察不到泡沫细胞。以普通食物饲喂的大鼠 9 个月龄时高血压性血管损伤已很明显,并有泡沫细胞。

根据以上结果分析,高血压状态持续时间长的 SHRSP 大鼠,因其肾小球毛细血管内压升高和输入小动脉的血管损伤,而致肾小球毛细血管损伤。在这一状态下再发生高脂血症时,即使象脂质那样的大分子物质也能很容易地通过肾小球屏障,侵入到肾小球系膜。继之,脂质的一部分和基质糖蛋白结合,或通过肾小球系膜细胞表面上的受体进入到细胞内部。含有泡沫细胞的肾小球胶体铁染色性降低,所以认为进入肾小球系膜基质的脂质还可能与带阴性电荷的物质——糖蛋白结合。肾小球系膜细胞与动脉平滑肌类似,在肾小球中也能观察到类似动脉硬化的现象。因此脂质在肾小球的沉积除了脂质在肾小球系膜沉积亢进外,还有脂质代谢机能降低的原因^[10]。电子显微镜观察,初期泡沫细胞存在于膨大了的肾小球系膜细胞领域里,从其形态学特征认为其来源于肾小球系膜细胞。但显著泡沫化的细胞则很难确定其来源。豚鼠的胆固醇负荷试验中可见,随着肾小球硬化症的出现肾小球内单核细胞也增多^[11]。在粥样动脉硬化灶出现的泡沫细胞至少在初期病变时候血液中单核细胞是来自于巨噬细胞,大鼠有百分之几的肾小球系膜细胞是来自于骨髓的单核细胞。推论 HFC 负荷试验产生的明显的泡沫化细胞多数是来自于单核细胞。

泡沫细胞好发于正在硬化的肾小球。这种选择性分布人和大鼠是相一致的。在没有血管病变的 2 个月组的大鼠中,尽管 HFC 试验时血中的胆固醇含量明显升高,肾小球内也没有泡沫细胞出现。因此,很难把脂质代谢异常与肾小球泡沫细胞的发生相联系。首先,持续的高血压状态引起肾小球毛细血管的损伤,脂质在肾小球的损伤部位沉着后随着病变的发展形成泡沫细胞,高脂血症又使更多的泡沫细胞出现在肾小球上。

以上结果说明,在高脂肪食物负荷试验 SHRSP 大鼠中出现的肾小球泡沫细胞,与其说与高脂血症有关,倒不如说是由持续的高血压状态导致的肾小球血管损伤引起的,其后肾小球泡沫细胞灶的发展和粥样硬化泡沫细胞灶的发展一样,高脂血症成为促其发展的一个重要因素。

参 考 文 献

[1] Okamoto K, Yamori Y, Nagaoka A. Establishment of the stroke-prone

- spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ Res*, 1974, 1: 143-153
- [2] 家森幸男, 池田克己. SHRSP, Zucker コンジエニツク系统的开发. *医学のあゆみ*, 2001, 196: 246-247
- [3] 田中雅弘, 齐藤直广, 玉木太郎, 等. 脑卒中易发性自然发病高血压ラット (SHRSP) にみらわる系球体泡沫細胞にかんする研究. *Exp Anim*, 1993, 42: 203-209
- [4] Norimatu M, Dot K, tagaki S, et al. Glomerular lipodosis in syrian hamster of the APA strain. *Lab Anim*, 1990, 24: 48-52
- [5] Watanabe T, Hattori F. An experimental study on the origin of foam cells in glomerulonephritis. *Acta Pathol Jpn*, 1982, 32: 371-383
- [6] Diamond JR. Focal and segmental glomerulosclerosis: analogies to atherosclerosis. *Kidney Int*, 1988, 33: 917-924
- [7] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: an update. *N Engl J Med*, 1986, 314: 488-500
- [8] Grond J, Weening JJ, Elema AJ. Glomerular sclerosis in nephrotic rats. Comparison of the long-term effects of adriamycin and aminonucleoside. *Lab Invest*, 1984, 51: 277-285
- [9] 冈本耕造. 脑卒中モデル動物. 脑卒中易发性 SHRSP の生成とその応用. *综合臨床*, 1978, 27: 63-70
- [10] Couser WG, Stilmant MM. Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the aging rat. *Lab Invest*, 1975, 33: 491-501
- [11] Al-Shebeb T, Frohlich J, Magil AB. Glomerular disease in hypercholesterolemic guinea pigs: A pathogenetic study. *Kidney Int*, 1988, 33: 498-507

〔收稿日期〕2001-12-30



肝纤维化动物模型的研究概况

曾林 王慧芳 综述 窦如海¹ 审校

(济南军区总医院动物实验中心, 济南 250031)

【中图分类号】R-575 【文献标识码】B 【文章编号】1671-7856(2003)02-0124-01

慢性肝病大多数都有肝纤维化, 其中 25%~40% 最终发展成肝硬化乃至肝癌。阻断肝纤维化成为慢性肝病治疗中一个关键问题。建立肝纤维化动物模型是肝病研究中的一项重要课题。

1 四氯化碳中毒性肝纤维化动物模型

①用 40% CCl₄ 油溶液, 按 2 ml/kg 体重的剂量, 予 Wistar 大鼠腹腔注射, 每周 2 次, 共 8 周。该模型制作方法简单, 肝纤维化病变过程可靠。②用 40%~50% CCl₄ 油溶液, 按每百克体重 0.3 ml 的剂量, 大鼠皮下注射, 每周 2 次。第 2 周开始, 隔日以 20%~30% 乙醇 1 ml 灌胃。饲混有 0.5% 胆固醇低胆碱饲料, 连续 8 周。该模型适合肝硬化发生发展过程的动态研究。③用 50% CCl₄ 溶液, 按每百克体重 0.12 ml, 腹腔内注射杂种犬, 间隔 3~4 天注射 1 次, 每周注射 2 次, 共注射 4 周。另加营养控制。此模型可以观察动物肝纤维化过程中糖、脂肪、蛋白质、色素等代谢障碍。

2 异种动物血清诱导肝纤维化动物模型

①将人血清白蛋白或牛血清白蛋白用生理盐水稀释, 与等量的不完全福氏佐剂乳化, 大鼠皮下多点注射, 每次注射白蛋白 4 mg, 共 4 次。然后尾静脉攻击注射白蛋白。本模型与慢性肝炎所致的肝纤维化在发病机制上更加接近, 有利于

从免疫学角度探讨发病机理及评价药物。

3 乙醇诱导肝纤维化动物模型

①用 40% 乙醇, 按 2.0 ml/100 g 体重的剂量, 给大鼠灌胃, 每周 2 次。持续 29 周。此模型可用于乙醇中毒性肝病的发病机制和预后判断的研究。②用 60% 乙醇, 按 1.5 ml/100g 体重的剂量, 给大鼠灌胃, 每日 2 次。低脂饮食, 自由饮水。造模 6 个月。该模型肝纤维化进程具有可控制性。

4 二甲基亚硝氨诱导肝纤维化动物模型

SD 大鼠按 10 mg/kg 体重的剂量, 给予 1% 二甲基亚硝氨 (DMA) 生理盐水稀释液, 腹腔注射共 10 次。第 1 周连续 3 次, 第 2、3、4 周各 1 次, 第 6、7 周各连续 2 次, 共 8 周。本模型造模周期短, 多用于药物抗肝纤维化研究。

5 复合因素致肝纤维化模型

①用 60% CCl₄ 溶液, SD 大鼠下腹部皮下注射, 首次剂量 0.5 ml/100g, 以后每隔 3 d~4 d 注射 1 次, 剂量为 0.3 ml/100g, 以 10% 乙醇代水为唯一饮料自由饮用。共 6 周。该模型能反映早期肝脏损伤和肝组织病变的过程。②用人白蛋白使 Wistar 大鼠致敏后, 从尾静脉注射人白蛋白攻击, 从每只 4 mg 开始, 每周每只增加 0.5 mg, 每周 2 次, 共 8 周。腹腔注射含 0.15 ml 四氯化碳的花生油 0.5 ml, 每周 2 次, 共 8 周。该模型成功率高, 与人的肝纤维化接近。

〔收稿日期〕2002-08-05

¹ 山东省实验动物中心, 济南 250002