

# 老年性痴呆疾病模型的建立

赵保胜<sup>1</sup>, 徐瞰海<sup>2\*</sup>

(1. 北京中医药大学科研实验中心; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

**[摘要]** 整理近年来老年性痴呆(alzheimer's disease, AD)动物模型相关资料,介绍 AD 模型的建立方法:物理的损伤方法建立 AD 模型、化学损伤建立 AD 模型、多因素综合致病模型、转基因 AD 动物、自然衰老 AD 动物等。通过文献整理发现,AD 模型建立方法多样,每一动物或细胞模型都各有其优缺点,且建模机制不同,研究者应根据个人研究需要选择和建立合适的 AD 动物及细胞模型。

**[关键词]** 老年性痴呆;动物模型;细胞模型

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)06-0274-03

## Methods for Model Establishment of Alzheimer's Disease

ZHAO Bao-sheng<sup>1</sup>, XU Tun-hai<sup>2\*</sup>

(1. Experimental Center of Scientific Research, 2. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** The alzheimer disease (AD) pathological models were collected to provide new ideas and methods, including main methods for establishing AD model, i. e. the physical methods, the chemical methods the multi-factors methods, transgenic AD model and natural aging AD model. From the data, we realized that there were many kinds of methods for AD establishment. Each model either at whole animal level or at cellular level has its advantages and disadvantages, with different underline mechanisms. Researchers should select the suitable method according to the need of their experiments.

**[Key words]** alzheimer disease; animal model; cellular model

**[收稿日期]** 20101109(013)

**[通讯作者]** \* 徐瞰海, Tel:010-64286247, E-mail:thxu@yahoo.com

- [54] 江苏省卫生厅. 江苏省中药饮片炮制规范[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1992. [M]. 1977.
- [55] 云南省卫生厅. 云南省中药饮片炮炙规范[M]. 1974. [62] 甘肃省食品药品监督管理局. 甘肃中药炮制规范[M]. 兰州:甘肃省人民出版社,1979.
- [56] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药炮制规范[M]. 1985. [63] 黑龙江省卫生厅. 黑龙江中药炮制规范[M]. 1975.
- [57] 宁夏回族自治区卫生厅. 宁夏中药炮制规范[M]. 1981. [64] 辽宁省卫生厅. 辽宁中药炮制规范[M]. 1975.
- [58] 青海省卫生厅. 青海中药炮制规范[M]. 1982. [65] 湖北省革命委员会卫生厅. 湖北中药炮制规范[M]. 武汉:湖北人民出版社,1979.
- [59] 安徽省卫生厅. 安徽中药炮制规范[M]. 1980. [66] 上海市卫生局. 上海市中药成药制剂规范[M]. 上海:上海科学技术出版社,1965.
- [60] 陕西省革命委员会科技局. 陕西中药炮制规范[M]. 1975. [责任编辑 邹晓翠]
- [61] 内蒙古自治区卫生厅. 内蒙古中药炮制规范

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110127.1114.012.html>

老年性痴呆又称阿尔茨海默病(alzheimer disease, AD),是一种以记忆认知功能障碍为首要临床表现,并进行性加重的神经变性疾病。该病主要表现为颞叶、额叶、顶叶大脑皮质的弥漫性萎缩,双侧海马的萎缩尤为突出<sup>[1]</sup>。

AD病理模型的建立是研究AD的基础。回顾对AD模型的研究,国内外有多种实验方法,根据研究对象的不同,可将其分为两大类:整体动物模型与细胞模型。本文就AD病理模型的建立方法进行综述。

## 1 动物模型

**1.1 慢性缺血性痴呆模型** 慢性缺血性痴呆模型是通过结扎老年大鼠的双侧颈总动脉和一侧椎动脉或者一侧锁骨下动脉,脑长期供血不足而致脑损害,这些脑损害与AD的临床表现和病理改变有一定相似性<sup>[2]</sup>,但死亡率相对较高,有时能难控制建模程度。另外应该注意的是,该方法用老年鼠建模成功率较高,青年鼠只表现为一过性痴呆症状,不利于药效学评价研究。

**1.2 铝元素中毒模型** 铝的体内蓄积可产生毒性作用。1965年Klatzo和Terry等提出铝中毒可能与AD发病有关,因为铝中毒病人脑中可见神经纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT<sup>[3]</sup>)。1973年Crapper等人发现铝具有神经毒素样作用,可致神经纤维变性<sup>[4]</sup>。给小鼠口服氯化铝 $0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重可出现大脑重量减轻,学习记忆减退表现<sup>[5]</sup>。研究表明,氯化铝 $100\text{ }\mu\text{g}$ 脑内注射可以引起 $\beta$ -淀粉样肽在脑内沉积和 $\beta$ -淀粉样前体蛋白在神经元的过度表达<sup>[6]</sup>。但该模型的NFT与AD病人有一定差异,造模周期相对较长,不适用于NFT相关机理研究。

**1.3 损害海马通路的AD动物模型** 切断隔海马通路以破坏胆碱能及非胆碱能纤维传入,导致实验动物行为及神经化学方面的缺损,造成动物空间定向和记忆障碍及胆碱能神经元的丢失。该模型可模拟AD前脑胆碱能系统的损害,适用于前脑胆碱能系统选择性损害对AD的记忆减退与认识障碍的临床症状的关系研究,拟胆碱药物治疗AD的药物筛选、疗效评价和作用机制的研究以及神经营养因子脑室投递治疗AD的研究等<sup>[7]</sup>。但该方法手术难度较大,易于损害周围脑组织,故此方法已很少使用。

**1.4  $A\beta$ 脑内注射模型** 老年斑(senile plaques, SP)是AD的重要病理学改变之一, $A\beta$ 是SP的主要成分,而 $A\beta$ 脑内沉积在AD发病中起重要作用。海马内单点注射或多点注射 $A\beta\ 0.5\text{ nmol}$ 或 $5\text{ }\mu\text{g}$ 可产生与AD相似的行为障碍和记忆缺损症状,并出现 $A\beta$ 沉积<sup>[8-9]</sup>。此模型可迅速建立学习记忆障碍模型,与学习记忆相关海马脑区锥体细胞丢失明显且局限,且可通过调整 $A\beta$ 注射量来控制模型的行为与组织病变程度,也为后期的细胞定位移植治疗模型提供适宜的模型条件<sup>[10]</sup>。该方法可模拟人类AD疾病的部分特征病理改变,但不能模拟AD渐进性的病理学改变。

**1.5 冈田酸(okadaic acid, OA)慢性损害AD模型** OA是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸化酶的特异性抑制剂,长期脑室

投递可引起动物的记忆严重缺失,同时导致脑内 $A\beta$ 淀粉样沉积斑块形成以及NFT样磷酸化Tau蛋白出现。大鼠侧脑室注射OA $588\text{ }\mu\text{g}$ 可脑组织脂质过氧化酶与过氧化脂质明显增高<sup>[11]</sup>。该方法能同时复制出AD二大标志性病理改变——SP和NFT,该模型具有明显的优势,可用于AD发病机制研究、 $A\beta$ ,Tau蛋白代谢异常与AD病理关系及其相互作用研究等。

**1.6 东莨菪碱皮下注射致AD动物模型** AD患者脑内乙酰胆碱含量普遍偏低,这可能是形成AD的主要原因之一。东莨菪碱为乙酰胆碱阻滞剂,可阻断乙酰胆碱的作用。研究表明,小鼠皮下注射东莨菪碱 $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重可引起动物记忆力下降、认知障碍、脑内SOD,MDA含量异常等一系列症状及病理变化<sup>[12-13]</sup>。目前,东莨菪碱皮下注射建立AD模型因其方法简便,操作性强,已广泛用于AD相关疾病的研究工作中。

**1.7 转基因型AD动物模型** 近年来,转基因模型AD动物模型发展迅速。App基因是编码淀粉样蛋白的基因,在体内能释放出 $A\beta$ , $A\beta$ 在患者脑内大量沉积,进而导致AD的发病。基于此,1995年美国Athena Neuro Sciences Inc and Eli Lilly & Co.公司将人体异常App的基因插入小鼠胚胎细胞建立了AD动物模型,即转移基因小鼠。鉴于AD是多基因遗传疾病,病因涉及到多个基因的参与,诸如PS-1,PS-2,App,载脂蛋白E基因(ApoE),A-巨球蛋白基因等,研究者们开始构建两基因甚至三基因突变的小鼠模型<sup>[14]</sup>。鉴于AD发病为多因素共同致病,因此,在选择转基因AD动物模型时,应尽量选择多基因突变模型,以便更好的复制临床AD模型。

**1.8 自然衰老及快速老化型AD动物模型** AD是一个与年龄相关的衰老性疾病,选择自然衰老的大鼠,更符合衰老因素在AD发病过程中的重要作用<sup>[15]</sup>。通过行为筛选方式选择带有认知和记忆严重缺失的个体,它们的行为损害与AD患者认知损害相类似,同时还可能出现某些相应的脑组织病理改变<sup>[16-17]</sup>,是研究AD较好的动物模型。另外,从日本引进的快速老化型SAMP8小鼠,因其在相对较短的时间内即可出现衰老症状,实验周期较短,且其发病过程与人类AD发病极为接近,是较好的AD动物模型。

**1.9 多因素综合刺激致AD模型** 为尽可能完全地模拟、复制出AD的主要病理、生化、神经递质及行为等方面特征性变化,用多种因素综合刺激建立AD模型的方法逐渐形成。如有研究<sup>[18]</sup>先用皮下注射D-半乳糖( $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,连续6周)制作亚急性衰老大鼠模型,然后双侧脑内基底核定向注射鹅膏蕈酸 $5\text{ }\mu\text{g}$ ,则动物脑内出现SP、NFT和磷酸化tau蛋白异常增高等多重AD病理表现,这些表现与临床AD患者脑组织病理改变最为接近,是研究AD的最佳模型,但方法复杂,所需时间亦较长,从而影响了其在实验研究中的应用。

## 2 离体动物模型

要从细胞、分子水平研究AD的发病机制,首先要建立

AD 体外细胞模型。根据目前公认的 AD 发病机制,已成功建立了多种细胞模型。如用 OA 刺激体外培养的 NG108-15 细胞或 SH-SY5Y 细胞,可引起细胞 tau 蛋白磷酸化<sup>[19-20]</sup>,用 A $\beta$  刺激 NG108-15 细胞,可引起细胞凋亡、乙酰胆碱等神经递质释放减少等病理变化<sup>[20-21]</sup>。用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用于 SH-SY5Y 细胞,可使细胞形成发生改变,细胞存活率下降,LDH 漏出率增加等病理变化<sup>[22]</sup>。另外还有用叠氮钠刺激法、缺氧法建立 AD 体外细胞模型的方法等<sup>[23]</sup>。

总之,AD 的病理模型有多种类型,每一种模型都在一定的程度上或某些方面模拟了 AD 的症状和病理改变。每种方法各自具有自己的适用范围和作用,又各有优势与不足。因此,研究者必须熟悉 AD 的基本病理改变和临床表现,了解各种模型的原理和特点,根据自己的实验目的选择合适的模型。近年来,AD 动物模型的研究进展非常迅速,随着我们对 AD 发病的细胞分子机制认识的不断深入,新的动物模型将继续出现。现有动物模型也将不断得到改进,而 AD 动物模型制作和研究的进展,又将进一步促进我们对 AD 的发病机制的了解和推动其药物治疗研究的进步。

### [参考文献]

[1] 陈霞,张振馨,黄觉斌,等. 经影像学支持的阿尔茨海默病与血管性痴呆的临床比较研究[J]. 中华神经科杂志, 2004, 50(2): 109.

[2] 王晋平,赵贞. 血管性痴呆动物模型研究进展[J]. 山西中医学院学报, 2008, 9(5): 60.

[3] Klatzo I, Wisniewski H, Streicher E. Experimental production of neurofibrillary degeneration [J]. J Neuropath Exp Neurol, 1965, 24: 187.

[4] Carpper D G, Krishnan S S, Dakton A J. Brain aluminum distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration [J]. Science, 1973, 180 (4085): 511.

[5] 黄敬耀,周瑾,魏海,等. 复方二精灵抗老年性痴呆的药理实验研究[J]. 江西医学院学报, 2001, 41(2): 53.

[6] 方芳,晏勇,冯占辉,等. A $\beta$ <sub>1-40</sub> 和铝联合注入大鼠侧脑室内致老年性痴呆模型的实验研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2007, 14(6): 339.

[7] 隋承光,尹元琴,任常山. Alzheimer 病动物模型的构建及其分子病理学的变化[J]. 中国老年学杂志, 2005, 25(9): 1069.

[8] Hob A, Nitta A, Nadai M, et al. Dysfunction of cholinergic and dopaminergic neuronal systems in beta-amyloid protein-infused rats [J]. J Neurochem, 1996, 66 (3): 1113.

[9] 王雅琼,闫福岭,鲁国. A $\beta$ <sub>25-35</sub> 杏仁核注射对大鼠海马 tau 蛋白磷酸化和 AchE 的影响[J]. 实用神经疾

病杂志, 2005, 8(4): 34.

[10] 徐如祥. 阿尔茨海默病的分子机制与神经干细胞移植治疗[J]. 老年医学与保健, 2004, 10 (3): 177.

[11] 黄丽亚,罗洪斌,张宏,等. 头顶一颗珠对岗田酸致阿尔茨海默病大鼠脑组织抗氧化酶和过氧化脂质的影响[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(18): 1771.

[12] 张峰,张继国,王丽华,等. 黄精多糖对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍的改善作用[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16 (36): 5410.

[13] 范郁山,陈芒华. 浅刺调督法对老年性痴呆模型行为学的影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10 (5): 117.

[14] Oddo S, Caccamo A, Shepherd J D, et al. Triple transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A $\beta$  and synaptic dysfunction [J]. Neuron, 2003, 39 (3): 409.

[15] Rosenzweig E S, Barnes C A. Impact of aging on hippocampal function: Plasticity, network dynamics, and cognition [J]. Prog Neurobiol, 2003, 69(3): 143.

[16] Donald L P, Sangram S S. Cellular and molecular biology of Alzheimer's disease and animal models [J]. Ann Rev Med, 1994, 45: 435.

[17] 李浩,刘剑刚,姚明江,等. 还脑益聪方对老龄认知障碍大鼠脂质代谢和海马内质网 A $\beta$  相关结合蛋白表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15 (5): 354.

[18] 李亚明,朱粹青,林水森,等. 老年性痴呆大鼠模型建立的研究 [J]. 老年医学与保健, 2001, 7 (4): 214.

[19] 许盈,刘荣芳,徐剑文,等. 冈田酸诱导 NG108-15 细胞 tau 蛋白过度磷酸化过程中 PTEN 蛋白水平的变化[J]. 海峡药学, 2007, 19(10): 15.

[20] 吴蕾,陈云波,王奇,等. 人参皂苷对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 蛋白诱导的老年性痴呆体外模型 NG108-15 神经元细胞凋亡的抑制作用[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24 (2): 126.

[21] 黄忠仕,张树球,农嵩,等. 二苯乙烯苷含药血清作用于老年性痴呆细胞模型的最佳条件筛选[J]. 右江民族医学院学报, 2009(3): 343.

[22] 孙向红,刘洪玲,耿美玉. 海康灵含药血清在体外对 SH-SY5Y 神经细胞损伤的保护作用[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(19): 1465.

[23] 张兰,李林,班立勤,等. 叠氮钠对 SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞线粒体跨膜电位的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2000, 22(5): 436.

[责任编辑 邹晓翠]