

多发性肌炎模型的制作

曹建¹, 方琪², 董万利², 蔡秀英²

(1.南通大学附属海安医院 神经内科,江苏海安 226600; 2.苏州大学附属第一医院 神经内科,江苏苏州 215006)

摘要:目的 研究多发性肌炎模型的制作方法。方法 采用豚鼠的骨骼肌匀浆加完全弗氏佐剂多次免疫SD大鼠制成多发性肌炎模型,观察其临床表现、肌电图、肌酶、肌肉病理和肌肉磁共振的改变。结果 多发性肌炎模型在临床表现、肌电图、肌酶、肌肉病理和肌肉磁共振等方面的变化与人类的多发性肌炎相类似。结论 该造模方法可模拟多发性肌炎的特征,是研究多发性肌炎的一个重要方法。

关键词:多发性肌炎; 完全弗氏佐剂; 大鼠; 免疫

中图分类号:R593.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-0399(2008)03-0418-03

The Methods of Inducing Polymyositis Animal Model

CAO Jian¹, FANG Qi², DONG Wan-li², CAI Xiu-ying²

(1.Dept of Neurology,Hai'an Hospital Affiliated to Nantong University,Jiangsu Hai'an 226600, China;

2.Dept of Neurology,the First Hospital Affiliated to Suzhou University,Jiangsu Suzhou 215006,China)

Abstract: Objective To investigate the methods of inducing polymyositis(PM) animal model. **Methods** In order to develop a induce PM animal model in purified guinea pia muscle myosin mixed with complete Freund adjuvant was injected subcutaneously to SD rats many times and the results of the clinical finding,the EMG,the pathologic changes and the muscular MRI changes in SD rats was assessed. **Results** The PM animal models were similar to the human in clinical findings, the EMG,the pathologic changes,the muscular MRI changes and so on. **Conclusion** The animal model is similar to the human PM,it is an ideal animal model to investigate PM.

Key words:polymyositis; complete Freund adjuvant; rat; immune

多发性肌炎(polymyositis,PM)是一种比较常见的神经肌肉疾病之一。制作PM动物模型可研究人类PM的发病机制、病理改变,从而为寻找有效的治疗方法提供理论依据。本研究采用豚鼠骨骼肌的肌匀浆加完全弗氏佐剂多次免疫SD大鼠,制成PM模型,观察PM大鼠在临床表现、血清肌酶(LDH、CK、AST)、肌电图(EMG)、肌肉病理及肌肉磁共振(MRI)的表现。

1 材料与方

1.1 实验动物及分组

40只雄性SD大鼠(苏州大学实验动物中心提供),体质量200~220g,行动活跃,食欲佳,均处于健康状态,随机分为2组,实验组32只,对照组8只。健康豚鼠1只,体质量500g左右。

1.2 试剂和仪器

完全弗氏佐剂10ml/支,购自Sigma公司;BCA法蛋白定量试剂盒,购自长沙赢润生物技术有限公司。托盘天平,刀式匀浆机,-20℃超低温冰箱,Viking IVD肌电图机,Vitros250型全自动生化分析仪,意大利产ESAOTE 0.2T永磁型磁共振机,光学显微镜。

1.3 模型制作

1.3.1 肌匀浆的制备 使用空气栓塞法处死豚鼠,消毒条件下取豚鼠后肢的骨骼肌,剔除神经、血管、筋膜等组织,剪碎后放入预冷的磷酸缓冲液中(pH7.2)30min,冰水浴中用刀式匀浆机17000r/min制成糊状,用生理盐水稀释后用4层粗纱布过滤,5000r/min离心后取上清液。该上清液用BCA蛋白定量法测得蛋白含量为32mg/ml,用双蒸水稀

佐剂反复多次免疫大鼠,成功地制作出PM动物模型。参考国内的部分文献报道,我们将抗原(肌匀浆)的浓度增加,结果从第3周开始大鼠就出现临床症状,且制模成功率大大提高,而对照组无一发病。表明肌匀浆蛋白在PM模型中起了决定性的作用,但是骨骼肌组织引起自身免疫反应的具体成分还不清楚,可能与肌球蛋白有关^[3-5]。单纯的完全弗氏佐剂并不能造成肌炎模型,这也为多次实验所证实。

人类PM为骨骼肌的特发性炎症,临床表现为四肢近端乏力、肌肉疼痛、肌肉萎缩和血清肌酶的升高;肌电图呈肌源性损害:时限缩短、波幅降低、多相波增加;肌肉病理表现为骨骼肌细胞的变性、坏死,炎症细胞的浸润。本实验中,实验组大鼠的临床表现与人类PM的临床表现类似,血清肌酶明显升高(最高达正常值的20多倍),双下肢的肌电图也表明为肌源性损害,肌肉活检也证实炎性病变。但肌肉活检创伤大,且受检查部位的影响可出现假阴性,故不能作为动态观察的指标。依靠双下肢肌电图和病理表现可帮助我们判断病变是多发的而不是局限的。但本实验组肌电图的检查在麻醉状态下操作,难以记录到肌肉轻收缩时的肌电,其诊断价值有待商榷。

人类PM受累肌群的MRI主要有两种改变,即T2WI呈高信号,T1WI呈等低信号或T2WI与T1WI均呈高信号,前者提示炎症水肿样病变,后者提示脂肪替代样病变^[6]。本组PM模型T1WI呈等信号,T2WI呈高信号改变,边缘不清,证明病变处于炎症期。但本组所选模型肌肉MRI的阳性率较低(25%),可能与发病时间较短有关,有待进一步研

究。MRI检查安全无辐射,无痛苦,能够区别肌肉的炎症水肿样病变和脂肪病变,具有较高的特异性和敏感性,可应用于PM的临床诊断,并对指导临床进行肌活检的定位具有较大价值。

国内文献一般使用的肌匀浆蛋白浓度是3~6 mg/ml,4~6周后造模成功。本组32只大鼠制模均成功,无一死亡,提示所使用的抗原浓度安全;并且发病早,第3周就出现临床症状,可较早筛选模型;血清肌酶的升高程度也比国内其他报道要明显。这可能与本实验所用的肌匀浆蛋白浓度较高有关;另外,实验过程中尽量做到无菌操作和良好的实验环境也是实验成功的重要保证。

参考文献:

- [1] 李彬,刘江波,郭德玉,等. 双侧颈总动脉结扎大鼠行为学研究[J]. 中国实验动物学杂志,2000,10(1):15-18.
- [2] Takashi Kojima, Naoyuki Tanuma. Myosin-induced autoimmune polymyositis in the rat[J]. Journal of Neurological Science,1997,151(3):141-148.
- [3] 赵红东,陈祖舜,沈鸣九. 实验性肌炎动物模型制作的研究[J]. 临床神经病学杂志,2000,13(5):275-277.
- [4] 袁国强,吴以岭,王旭丹,等. 实验性自身免疫性肌炎动物模型制作的研究[J]. 北京中医药大学学报,2004,27(5):45-47.
- [5] Nemto H, Bhopale MK, Constantinescu CS, et al. Skeletal muscle myosin is the autoantigen for experimental autoimmune myositis[J]. Exp Mol Pathol, 2003, 74(4):238-243.
- [6] 郑贤应,慕容慎行,李银官,等. 磁共振成像在多发性肌炎、皮肌炎诊断中的应用[J]. 中华神经科杂志,2003,36(6):433-435.

(上接第378页)

BjcuL (a lectin from the venom of the snake bothrops jararacussu) on adhesion and growth of tumor and endothelial cells[J]. Toxicon, 2001, 39 (10):1471-1476.

- [5] 张黎明,杨光,陈志龙. 眼镜蛇毒素抗关节炎作用实验研究[J]. 中国药理学通报,2001,17(5):597.
- [6] 沈镇亚,欧阳忠,倪斌,等. 眼镜蛇毒素与全身照射在非协调行异种心脏抑制排斥中作用的研究[J]. 上海免疫学杂志,2001,21(2):90-92.
- [7] 叶勇,姚广涛,阮叶萍,等. 江浙蝮蛇毒镇痛组分的中枢作用机制研究[J]. Chin Pharm J, 2005,40(2):102-105.
- [8] Zhang HL, Han R, Chen ZX, et al. Opiate and acetyl-

choine-independent analgesic actions of crotoxin isolated from crotalus durissus terrificus venom[J]. Toxicon, 2006, 48(2):175-182.

- [9] Chen R, Robinson SE. The effect of cholinergic manipulations on the analgesic response to cobrotoxin in mice[J]. Life Sci, 1990, 41(21): 1949-1954.
- [10] Chen Zhi-xin, Zhang Hui-ling, Gu Zhen-lun, et al. A long-form-neurotoxin from cobra venom produce potent opioid-independent analgesia[J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27(4): 402-408.
- [11] Weigel R, Krauss JK. Center median-parafascicular complex and pain control[J]. Stereotact Funct Neurosurg, 2004, 82(2-3): 115-126.