

大鼠高血流性肺动脉高压模型建立及病理生理改变

赵科研¹, 李红岩¹, 王辉山¹, 佟昌慈², 张玉彪², 施琳², 侯明晓¹

(1. 沈阳军区总医院心血管外科, 沈阳 110840; 2. 沈阳军区总医院全军重症(战)创伤中心实验室, 沈阳 110840)

【摘要】 目的 建立大鼠颈总动脉与颈外静脉吻合高血流性肺动脉高压模型。**方法** 健康雄性SD大鼠45只分为分流组、结扎组和假手术组($n=15$)。12周后检查大鼠一般状态;超声心动图观察心脏情况、心排量及分流通畅情况;右心导管检查右心室收缩压,抽血气分析计算肺循环/体循环血流量比值(Q_p/Q_s);右心室肥厚指数;肺组织HE染色及弹力纤维EVG染色。统计数据采用SPSS 16.0软件,对各组数据进行单因素方差分析。**结果** 各组体重增加未见明显差异,吻合通畅率84.6%。分流组大鼠心脏明显增大,与假手术组、结扎组相比心排量明显增加[(309.8 ± 33.1) mL/min·kg比(245.6 ± 31.9) mL/min·kg, (240.8 ± 30.9) mL/min·kg相比, $P < 0.05$];分流组 Q_p/Q_s 为 2.16 ± 0.38 ,右心室收缩压增加至(35.8 ± 4.9) mmHg。分流组右心室肥厚指数 0.3263 ± 0.0342 ,比其它两组增加明显。与假手术组相比,分流组肺动脉中膜厚度明显增加[(22.3 ± 1.7)%比(10.6 ± 1.7)%, $P < 0.05$]。**结论** 大鼠颈总动脉与颈外静脉吻合法可以建立良好的高肺血流肺动脉高压模型。

【关键词】 高血压;肺性;模型;动物;大鼠;超声心动图

【中图分类号】 R-33;R541.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 09-0033-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.009.007

Establishment and pathophysiological changes of a rat model of increased blood flow-induced pulmonary arterial hypertension by anastomosis of the left common carotid artery to left external jugular vein

ZHAO Ke-yan¹, LI Hong-yan¹, WANG Hui-shan¹, TONG Chang-ci², ZHANG Yu-biao², SHI lin², HOU Ming-xiao¹

(1. Department of Cardiovascular Surgery, General Hospital of Shenyang Military District, Shenyang 110840, China;

2. Laboratory of Rescue Center of Severe Wound and Trauma, PLA, Shenyang 110840)

【Abstract】 Objective To establish a rat model of increased blood flow-induced pulmonary arterial hypertension generated by anastomosis of the left common carotid artery to left external jugular vein. **Methods** 45 male SD rats were divided into three groups: the shunt group, the ligation group and the sham group. At twelve weeks after the procedure, the general status of the rats was observed. Heart conditions, cardiac output and shunt patency were measured by echocardiography. Right ventricular systolic pressure (RVSP) and Q_p/Q_s were checked by catheterization. Right ventricular hypertrophy index (RVHI) was calculated and lung tissues were examined by pathology using hematoxylin-eosin and elastin Van Gieson staining. All data were analyzed statistically by one-way ANOVA test using SPSS 16.0. **Results** There was no significant difference in body weight gains between the groups. The patency rate of shunt was 84.6%. The heart was enlarged in the group shunt. Cardiac output increased significantly in the shunt group than that in the other two groups [(309.8 ± 33.1) mL/min·kg vs. (245.6 ± 31.9) mL/min·kg, (240.8 ± 30.9) mL/min·kg, respectively, $P <$

【基金项目】 辽宁省科技计划资助项目(编号:2012225014);中国博士后科研基金(编号:2013M542471)。

【作者简介】 赵科研(1975-),男,研究方向:瓣膜病及肺动脉高压的治疗。E-mail: zhaokeyan0088@163.com。

【通讯作者】 侯明晓(1963-),男,研究方向:危重病诊疗及心血管外科。E-mail: houmx188@163.com。

0.05]。In the shunt group Q_p/Q_s was 2.16 ± 0.38 and RVSP increased to (35.8 ± 4.9) mmHg, RVHI was 0.3263 ± 0.0342 , significantly higher than that of the other groups. The pulmonary arteriolar wall was evidently thickened in contrast to that in the sham group [$(22.3 \pm 1.7)\%$ vs. $(10.6 \pm 1.7)\%$, $P < 0.05$]. **Conclusions** Anastomosis of the left common carotid artery to left external jugular vein can successfully establish pulmonary arterial hypertension model induced by high blood flow in rats.

【Key words】 Hypertension, pulmonary artery; Animal model; Rat; Echocardiography

肺动脉高压 (pulmonary artery hypertension, PAH) 是难治性疾病, 常晚期发现, 预后极差^[1]。在先天性心脏病中常见, 主要为左向右分流导致肺血流明显增加, 高血流和 (或) 高压导致内皮细胞稳定性破坏, 从而导致肺血管重构, 其严重程度影响着先心病患儿的治愈程度以及后期的生活质量, 高流量诱导的肺高压患者具有明显的围手术期死亡率和心脏手术较低的长期存活率^[2,3]。建立良好的 PAH 模型是研究 PAH 的发病机制及临床治疗的基础。在大鼠实验中, 常采用腹主动脉腔静脉穿刺分流法^[4], 分流量及血流动力学检测困难; 本研究采用左侧颈总动脉和颈外静脉吻合方法建立模型, 采用超声、心导管及病理生理检查证实。

1 材料和方法

1.1 实验动物及实验环境

成年雄性 Sprague Dawley 大鼠 45 只, 体重 (180 ~ 250) g, 周龄 (6 ~ 8) 周, 购自沈阳军区总医院实验动物中心【SCXK (辽) 2010 - 0001】, 于沈阳军区总医院动物实验中心饲养, 使用合格证号【SYXK (军) 2012 - 0003】], 食物及水由动物实验中心提供, 确保不含会对本实验结果引起干扰的成分。

1.2 主要仪器

全自动显微镜数码摄像系统 (Olympus, 日本), LEICA 病理切片机 (德国), 多功能病理图象分析仪 (同济), BL - 420S 生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司), Vevo 2100 成像系统 (VisualSonics 公司, 加拿大), Vivid Dimension 7 系统和 10 S-transducer Healthcare 探头 (GE 公司, 美国)。

1.3 方法

1.3.1 实验动物的分组和模型建立: 实验大鼠随机分为 3 组 (每组 $n = 15$): 分流组、结扎组和假手术组。测量体重, 记录并麻醉, 腹腔注射戊巴比妥 25 mg/kg 行全身麻醉, 四肢及头部固定于小手术台面。颈部纵行切口, 约 1.5 cm , 分离左颈外静脉及左颈总动脉, 骨骼化, 6-0 Prolene 线结扎远心端, 近心端无创血管夹钳夹; 生理盐水冲洗近心端至无血栓, 11

-0 无创线间断端端吻合, 撤除血管夹, 可发现颈外静脉近心端立刻充盈膨起, 出现同心率同样的搏动, 吻合通畅 (图 1A)。术后腹膜下注射肝素 25 U (0.2 mL) 抗凝, 术前给予青霉素 $100\,000 \text{ U}$ 预防感染。结扎组: 充分游离左颈外静脉及左颈总动脉, 近远端分别做结扎, 并切断, 防止再通, 不做吻合术; 假手术组: 单纯分离两支血管, 不做吻合及结扎。12 周后再次麻醉行血流动力学检测时检查血管吻合通畅率 (图 1B)。饲养过程中注意观察各组大鼠一般情况, 包括精神状态、进食、活动、有无感染以及死亡情况。

1.3.2 超声检查: 模型建立 12 周后, 大鼠麻醉后先行超声检查, 心脏超声采用 Vivid Dimension 7 系统和 10 S-transducer Healthcare 探头, 观察左、右室腔内径以及主动脉直径 (胸骨旁左室长轴); 计算心排量: 脉冲 Doppler 肺动脉血流在心底肺动脉长轴切面获得, 计算 Doppler 信号心跳持续时间、平均测量 5 个连续心跳就能算出每搏变化的平均值, 每搏容积通过 $\text{主动脉直径}^2 \times 3.14 \times \text{velocity time integral (VTI)} / 4$, 每搏量乘以心率, 因该分流过主动脉和肺动脉血流量基本一致, 只是到全身的体循环流量较肺循环流量降低, 可以用此法估算心排量; 吻合口血管超声采用 Vevo 2100 成像系统, 检测测定分流口流速及通畅性。

1.3.3 右心导管检查: 12 周后测定右心室收缩压 (right ventricular systolic pressure, RVSP) 动物再次麻醉: 再次全身麻醉, 右心 PE 微导管 (自制) 测右心室收缩压 (BL - 420S 系统, 由右颈外静脉切口插入, 直至显示屏上出现典型的心室压力波形, 说明进入右心室。右心室抽血做血气分析; 然后控制好导管, 稳定一段时间后, 记录压力波形并保存, 拔除测压管。测压完毕后, 股静脉、腹主动脉分别穿刺抽血各 0.3 mL 做血气分析

1.3.4 组织病理学观察: 12 周后心脏剪下测量心室质量, 计算右心室质量与左心室加室间隔质量比值。肺组织采用 4% 多聚甲醛溶液以 $20 \text{ cm H}_2\text{O}$ 压力充满气道, 并浸泡固定进行病理学检查。肺组织

固定于中性甲醛溶液中 48 h 后取材, Leica 自动组织脱水机内进行组织脱水、透明、浸蜡, 石蜡包埋, 切片厚约 4 μm , 采用 HE 染色和弹力纤维染色, 光学显微镜观察肺组织血管、肺泡。每个肺组织标本取 5 支肺泡水平肺小动脉, 弹力纤维染色图片采用光镜观察, 采集图像后采用软件分析, 计算肺小动脉(每只动物 20 根, 直径在 50 ~ 150 μm 之间)的中膜厚度 WT 和血管的外径 ED。计算中膜厚度百分比: $\text{WT}\% = (2 \times \text{WT}/\text{ED}) \times 100\%$ 。

1.3.5 统计学方法: 实验结束后, 将各自结果统计绘制表格, 用 $\bar{x} \pm s$ 来表示计量资料, 采用 SPSS 16.0 将各组数据进行科学的统计和分析, 采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 时, 实验数据的差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

分流组从麻醉到结束的平均为 (58.4 $\pm$ 12) min, 结扎组手术操作时间较短, 结扎两血管平均用时约 20 min 为保证对照, 结扎组及假手术组均等待到 60 min 左右。分流组死亡率为 13.3% (2/15), 结扎组死亡率为 6.7% (1/15), 假手术组无动物死亡。分流组大鼠 1 只死于颈总动脉血管夹脱落大出血死亡, 一只术后 2 d 死亡(考虑吻合口出血); 结扎组 1 只死于颈总动脉损伤出血。死亡的大鼠排除于实验。

各组大鼠 12 周时 13 只有 10 只开始精神状态

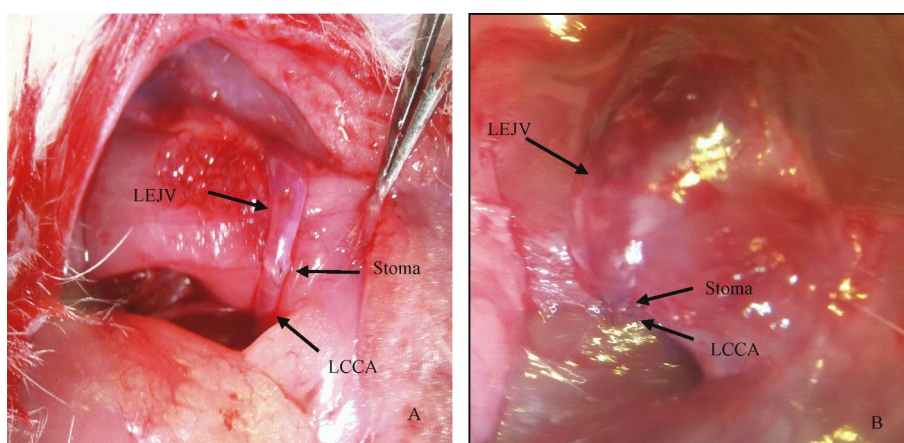
差, 活动减少, 被毛松软, 体毛干枯, 但未表现明显体重下降, 分流组体重增加 (219.9 $\pm$ 42.1) g, 结扎组体重增加 (227.0 $\pm$ 37.2) g, 假手术组体重增加 (216.0 $\pm$ 40.3) g, 统计学计算未见明显差异, 无肢体偏瘫等表现(表 1)。

在分流术后 12 周, 大鼠麻醉后沿原颈部切口解剖左侧颈动静脉及吻合口, 周围可见皮下及纤维组织粘连, 动静脉搏动明显, 与心跳频率一致, 颈总动脉未见管径明显变化, 而与其吻合连接的颈外静脉及颈静脉明显膨大, 直径可增粗到原直径 3 ~ 5 倍(图 1B)。在分流组, 1 只大鼠分流不通畅, 1 只闭塞, 通畅率为 84.6% (11/13), 这两只排除于实验, 不进行统计分析及其它研究。

2.2 血流动力学检测结果

BL-420 S 系统测量大鼠右心室压力, 测得的 RVSP 数值结果: 分流组的 12 周后右心室收缩压力 (35.8 $\pm$ 4.9) mmHg 明显高于结扎组 (25.6 $\pm$ 2.9) mmHg 和假手术组 (25.1 $\pm$ 3.7) mmHg, 统计学差异明显 ($P < 0.05$), 结扎组略高于假手术组, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。

根据静脉血(下腔静脉血)、动脉血(腹主动脉血)和混合静脉血(右心室血)计算肺循环血流量(Q_p)和体循环血流量(Q_s)比值: (动脉血饱和度 - 静脉血饱和度)/(动脉血饱和度 - 混合静脉血饱和度)。根据上述方法计算分流组 Q_p/Q_s 为 2.16 $\pm$ 0.38。



注: A: 吻合后即刻; B: 吻合后 12 周; LCCA: 左颈总动脉; LEJV: 左颈外静脉; Stoma: 吻合口

图 1 左侧颈总动脉与颈外静脉吻合术后即刻和 12 周后显微镜下观察

Note. A: Immediately after anastomosis; B: Twelve weeks after anastomosis;

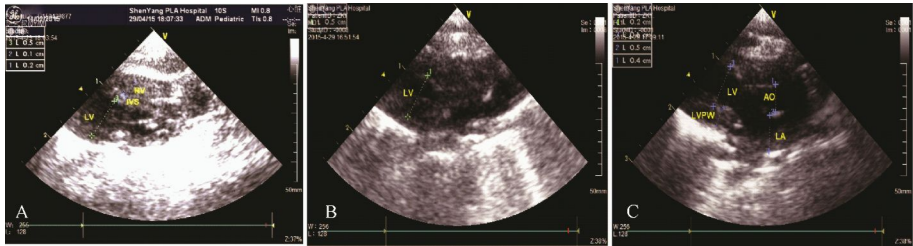
LCCA: Left common carotid artery; LEJV: Left external jugular vein; Stoma: Anastomosis

Fig. 1 Microscopic performance immediately and twelve weeks after anastomosis of the left common carotid artery and left external jugular vein

表 1 各组大鼠一般数据
Tab. 1 The characteristics of rats in all groups

指标 Items	假手术组 Sham group	结扎组 Ligation group	分流组 Shunt group
例数 Number	15	14	11
体重增加(g) Body weight gain	216.0 ± 40.3	227.7 ± 37.2	219.9 ± 42.1 [△]
血流动力学 Haemodynamics			
右心室压力(mmHg) RVSP	25.1 ± 3.7	25.6 ± 2.9	35.8 ± 4.9 [*]
心排量 Cardiac output (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	245.6 ± 31.9	240.8 ± 30.9	309.8 ± 33.1 [*]
肺循环/体循环血流比 Qp/Qs	—	—	2.16 ± 0.38
病理 Pathology			
右心室肥厚指数 RV hypertrophy index	0.2507 ± 0.0264	0.2620 ± 0.0364	0.3263 ± 0.0342 [*]
肺动脉中膜厚度(%) Percent of pulmonary medial wall thickness	10.6 ± 1.7	11.1 ± 1.5	22.3 ± 1.7 [*]

注: * 差异显著; [△] 差异不显著;
Note. * Significant difference; [△] Nonsignificant difference



注: A:假手术组; B:结扎组; C:分流组; LV:左心室; LVPW:左心室后壁; AO:主动脉; LA:左心房; PA:肺动脉
图 2 术后 12 周时超声观察

Note. A: Sham; B: Ligation; C: Shunt; LV: Left ventricle; LVPW: Left ventricular posterior wall;
AO: Aorta; LA: Left atrium; PA: Pulmonary artery

Fig. 2 Ultrasonic appearance at 12 weeks after surgery

2.3 超声检查结果

分流 12 周时,心脏明显增大,主要是左心室、右心室心腔明显扩大,左心室合并肥厚(图 2)。根据心底肺动脉切长轴切面测得肺动脉瓣环直径,连续五次心跳计算平均心率,每次心跳 VTI,五次平均取平均数,计算 CO。假手术组心排量(245.6 ± 31.9) mL/min·kg 与结扎组(240.8 ± 30.9) mL/min·kg 明显低于分流组心排量(309.8 ± 33.1) mL/min·kg,差异具有统计学意义,而假手术组和结扎组差异无统计学(表 1)。

2.4 病理学检测

分流 12 周时,右心室肥厚指数分流组(0.3263 ± 0.0342)较假手术组(0.2507 ± 0.0264)及结扎组(0.2620 ± 0.0364)也明显增加(表 1),差异具有统

计学意义。
HE 染色结果:假手术组及结扎组肺动脉管壁菲薄,内皮细胞扁平连续,细胞分布均匀,大小厚薄较一致;而分流组肺小动脉壁增厚伴玻璃样变,管腔狭窄较重,肺组织较多炎性细胞浸润,以淋巴细胞为主,小血管壁正常结构丧失,有纤维素样渗出,管周有淋巴细胞浸润,肺泡壁毛细血管淤血,肺间质增厚(图 3,见文后彩插 2)
弹力纤维染色(EVG 染色) 结扎组及假手术组肺动脉管壁菲薄,肺小动脉弹力纤维呈蓝黑色(花边样),肌纤维呈黄色,胶原纤维呈红色呈深棕色,大鼠在颈总动脉与颈外静脉分流 12 周后出现中层增厚,管腔呈狭窄。中膜厚度百分比(22.3 ± 1.7)%,较结扎组(11.1 ± 1.5)%和 Sham 组(10.6

$\pm 1.7\%$) 均明显增加 ($P < 0.01$) (图 4, 见文后彩插 2)。

3 讨论

分流法可以模拟先天性心脏病如动脉导管未闭、室间隔缺损、房间隔缺损等常伴有大量左向右血液分流^[5], 由于肺血流量显著增加, 超过肺血管代偿扩张限度, 肺血管床容积相对不足, 将直接导致肺动脉压力增高, 可用于先天性心脏病肺动脉高压研究。对于小动物来说, 制作房间隔、室间隔和动脉导管未闭的模型都非常困难且不稳定, 我们的实验采用左侧颈总动脉与颈外静脉吻合建立分流, 不进入胸腔及腹腔, 创伤小, 分流组大鼠的 12 周后右心室收缩压力 (35.8 ± 4.9) mmHg 明显高于结扎组 (25.6 ± 2.9) mmHg 和假手术组 (25.1 ± 3.7) mmHg, 统计学差异明显, 肺组织病理形态出现了典型的病理变化, 肺小动脉壁增厚, 管腔狭窄较重, 形成了明显的肺动脉高压, 即高血流性肺动脉高压。

颈总动脉到颈外静脉分流模型特殊的病理生理: (1) 分流处为大动脉分支与大静脉吻合, 分流的速度快, 与房间隔缺损类似, 单纯靠高血流量导致肺动脉高压, 没有像室间隔和动脉导管未闭一样有直接的高压力传导到肺动脉, 形成肺动脉高压没有那么快, Q_p/Q_s 为 2.16 ± 0.38 , 能够导致慢性肺动脉高压; (2) 左心排量右心排量相等并同时增加; 正是因为分流处位于主动脉瓣后和静脉处, 各心腔血流量均增加, 左心及右心排量均明显增加并相等; 房间隔缺损左心室心排量因左心房的分流明显降低, 右心室的心排量明显增加; 室间隔缺损左心室和右心室心排量明显增加, 右心房血流减少; 动脉导管未闭左心排量明显增加; 因此该分流显示心室质量明显增加, 右心室与左心室和室间隔质量比增加略缓慢, 需要在长时间才能显现; (3) 与外周的动静脉瘘病理相似, 但因为是主动脉及大静脉的分流, 靠近心脏近所以导致心脏和肺的变化会较动静脉瘘快。我们以前的研究采用野百合碱诱导肺动脉高压, 在 3~4 周便可以形成明显的肺动脉高压 (47.2 ± 10.5) mmHg^[6], 主要为肺动脉毒性损伤所致, 分流模型则较好的模拟的高血流导致的肺高压。

心排量及肺体循环血流量比例计算。对于本实验, 大鼠的心排量采用特殊的方法计算, 采用通过肺动脉瓣血流积分 $\times$ 肺动脉瓣环面积 $\times$ 心率, 是非常好的方法, 能够评估出心排量, 因为大鼠心

率快, 且受呼吸影响, 采用二维法或 Simpson 法难以准确计算; 大鼠肺循环体循环血流比采用动脉、静脉及混合静脉血氧饱和度含量检测, 较准确估算 Q_p/Q_s 。

本实验通过动静脉吻合方法建立小动物分流模型通畅率高, 与传统的穿刺法及导管结扎法相比方法确实, 可重复性好; 该法从理论上就比穿刺法好, 分流组 13 只有 11 只吻合通畅, 通畅率 84.7%, 分流血流经主动脉分流到颈外静脉到左前腔静脉, 最后到右心房、右心室, 分流的驱动力较房间隔缺损大, 导致颈静脉明显增粗, 直径可达正常时的 3~5 倍。穿刺法一般多采用下腔静脉-腹主动脉^[7], 血管直径 1mm 左右, 采用穿刺针从下腔静脉侧向腹主动脉穿过, 形成两者之间的瘘, 采用生物胶进行封闭, 我们尝试过, 失败之处主要以下几点: (1) 易出血, 静脉入口、出口及动脉入口难于止血; (2) 局部易形成大血肿; (3) 瘘口大小不易控制、会变化, 分流量不好控制; 采用导管法, 即多采用自制导管, 将两端楔入血管结扎^[8], 小动脉处外有导管限制, 从理论上讲不如直接吻合通畅率高。

另外, 对于左侧颈总动脉结扎对大鼠的影响, 从我们的观察来看, 大鼠没有肢体僵直、打转或偏瘫, 体重和存活率与正常大鼠相似, 这与其它研究观察相似。对兔和大鼠来说, 无论结扎左侧, 还是右侧颈总动脉, 均不会影响正常生存, 与正常动物相比, 其生长状态没有差异, 这就意味着这两类动物的大脑基底动脉环显然存在着良好的交通吻合。双侧颈总动脉结扎后, 仅靠两条椎动脉供血, 已远远不能满足脑供血^[9]。至于大鼠的行为功能可能还是有所影响, 我们没有进行进一步的研究, 但对大鼠的心血管血流动力学和病理生理影响小, 这与其它研究相似^[10]。

我们首次采用大鼠左侧颈总动脉吻合颈外建立高肺血流动物模型, 并且详细测量讨论该模型病理生理, 对于先心病高肺血流 PAH 研究具有重要意义。

参考文献:

- [1] Grünig E, Eichstaedt CA, Benjamin N, et al. Pulmonary hypertension: possible genetic causes and therapeutic options [J]. Herz, 2015, 40(3): 457-470.
- [2] Nour S, Dai G, Carbognani D, et al. Intrapulmonary shear stress enhancement: a new therapeutic approach in pulmonary arterial hypertension [J]. Pediatr Cardiol, 2012, 33(8): 1332-1342.

- [3] Mathew R, Gewitz MH. Pulmonary hypertension in infancy and childhood [J]. *Heart Dis*, 2000, 2: 362–368.
- [4] Lam CF, Peterson TE, Croatt AJ, et al. Functional adaptation and remodeling of pulmonary artery in flow-induced pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(6): H2334–H2341.
- [5] Wei L, Zhao Q, Chen A, et al. Establishment of hemodynamic pulmonary hypertension after total resection of right lung in rats [J]. *Clinical Med J China*, 2007, 14(4): 482–484.
- [6] Zhao K, Wang H, Hou M, et al. Preventive effects of different number of mesenchymal stem cells transplantation on lung injury in rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2012, 22(1): 34–38.
- [7] Rungtatscher A, Hallström S, Linardi D, et al. S-nitroso human serum albumin attenuates pulmonary hypertension, improves right ventricular-arterial coupling, and reduces oxidative stress in a chronic right ventricle volume overload model [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2015, 34(3): 479–488.
- [8] Liu C, Yan Z, Fang C, et al. Establishment and comparison of two reliable hyperkinetic pulmonary hypertension models in rabbits [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 148(5): 2353–2359.
- [9] 张留保, 陈进贵, 刘平, 等. 不同动物颈总动脉结扎后存活率比较 [J]. *解剖科学进展*, 1997, 3(3): 277.
- [10] 张辉, 郑荣琴. 超声观察单侧颈总动脉结扎前后心血管指标变化的实验研究 [J]. *生物医学工程与临床*, 2012, 16(4): 322–326.

[修回日期] 2015-07-25

(上接第 13 页)

- [12] Newson MJ, Roberts EM, Pope GR, et al. The effects of apelin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis neuroendocrine function are mediated through corticotrophin-releasing factor- and vasopressin-dependent mechanisms [J]. *J Endocrinol*, 2009, 202(1): 123–129.
- [13] 傅惠英, 寿旗扬, 蔡月琴, 等. 盐酸奥芬米洛对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴功能的影响 [J]. *甘肃中医学院学报*, 2013, 30(2): 1–4.
- [14] 张琰, 邓树泳, 马娜, 等. 肾阳虚动物模型的现代研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(3): 838–841.
- [15] 施玉华, 马正立, 汪丽亚, 等. 中药复方对小鼠氢化考的松模型肝切片的组织学与组织化学研究 [J]. *中医杂志*, 1983, (5): 382–385.
- [16] 彭成. 补肾壮阳液的药理研究 [J]. *中药药理与临床*, 1994, (特): 17.
- [17] 施玉华. 动物模型在中医药理论形态学研究中的应用 [D]. 北京: 全国中医药动物模型研讨会论文集汇编. 1993: 48.
- [18] 沈自尹. 中医肾的古今论 [J]. *中医杂志* 1997, (5): 48.
- [19] 谢启文, 王高峰, 王淑芬, 等. 现代神经内分泌学. 上海: 上海医科大学出版社, 1999: 351–355.
- [20] Chrousos GP, Gold PW. The concept of stress and stress system disorder [J]. *JAMM*, 1992, 267: 1244–1252.

[修回日期] 2015-07-25

(上接第 17 页)

- in pristane nephropathy [J]. *J Autoimmun*, 2010, 35(4): 291–298.
- [17] Sano H, Takai O, Harata N, et al. Binding properties of human anti-DNA antibodies to cloned human DNA fragments [J]. *Scand J Immunol*, 1989, 30(1): 51–63.
- [18] Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA [J]. *Nature*, 2000, 408: 740–745.
- [19] Wagner H. The immunobiology of the TLR9 subfamily [J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(7): 381–386.
- [20] Shi Z, Cai Z, Sanchez A, et al. A novel Toll-like receptor that recognizes vesicular stomatitis virus [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(6): 4517–4524.
- [21] Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 709–716.
- [22] Means TK, Latz E, Hayashi F, et al. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9 [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 407–417.

[修回日期] 2015-07-25