刘鹏,王广新,苏国海.兔动脉粥样硬化模型建立方法的研究进展[J].中国比较医学杂志,2021,31(4):150-154.
Liu P, Wang GX, Su GH. Research progress of establishing atherosclerosis model in rabbits [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(4): 150-154.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.04.022

兔动脉粥样硬化模型建立方法的研究进展

刘鹏,王广新,苏国海*

(山东第一医科大学附属中心医院心血管内科,济南 250013)

【摘要】兔与灵长类动物具有相似的进化历史,具有与人类相似的血管形态特征。另外,兔是对胆固醇超载十分敏感的动物物种,进食含高胆固醇饲料后,短时间内可形成高胆固醇血症,所以在快速、简洁地建立动脉粥样硬化(AS)模型方面,兔具有独特的优势。至今有多种建立兔AS动物模型的方法,除传统的高脂饲料喂养方法外,还包括股动脉球囊拉伤联合高脂饲料喂养以及CRISPR/Cas9基因编辑技术等新兴建模方法的出现。本文对近些年常用及新兴兔AS模型的建立方法及其优缺点进行综述。

【关键词】兔;动脉粥样硬化;高脂血症;动物模型

【中图分类号】R-33 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1671-7856(2021)04-0150-05

Research progress of establishing atherosclerosis model in rabbits

LIU Peng, WANG Guangxin, SU Guohai*

(Department of Cardiovascular Medicine, Shandong First Medical University Central Hospital, Jinan 250013, China)

【Abstract】Rabbits and primates have similar evolutionary history and vascular morphological characteristics similar to humans. In addition, rabbits are very sensitive to cholesterol overload. After eating a high cholesterol diet, hypercholesterolemia can be formed in a short time. Therefore, rabbits have unique advantages to establish atherosclerosis models rapidly and concisely. Many method establish rabbit as animal models, including the traditional high-fat diet feeding method, the femoral artery balloon injury combined with high-fat diet feeding, CRISPR/Cas9 gene editing technology and other emerging modeling method. In this paper, we review the establishment method and advantages and disadvantages of rabbit as models commonly used and emerging in recent years

【Keywords】rabbit; atherosclerosis; hyperlipidemia; animal model

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种慢性炎症性疾病,是大多数心血管疾病的病理基础。而冠状动脉粥样硬化斑块的不稳定和破裂是发生急性冠状动脉事件和猝死的最重要原因,所以心血管疾病早已成为威胁人类健康的头号杀手^[1]。目前,AS的发生机制尚未完全阐明,为了更好地研究AS,需借助与临床相似的AS动物模型,以此来研究其

病理发生机制及诊疗等。以兔建立的AS模型,有助于进一步研究AS发病机制,也有助于研发治疗AS的新方法和新药物。

1 选择兔建立AS模型的优势及评价标准

利用动物模型来研究人类AS的机制已经有很长的历史。1908年,俄罗斯医生Ignatowski和实验

【基金项目】国家科技重大专项课题(2020ZX09201025)。

【作者简介】刘鹏,硕士研究生,研究方向:动脉粥样硬化。E-mail:1206014819@qq.com

【通信作者】苏国海,博士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向:动脉粥样硬化。E-mail:suguohai65@163.com

病理学家 Anitschkow 用牛奶、肉和蛋等高胆固醇食物喂养兔子后,观察到主动脉内存在大量透明细胞(现在称为泡沫细胞)积聚的内膜损伤,这是最先建立的兔 AS 模型^[2]。历经一个多世纪的发展,越来越多的学者认为,建立一种与人类相似的实验性 AS 动物模型对 AS 的研究具有十分重要的作用。常用于构建 AS 模型的动物有小型猪、大鼠、小鼠、兔、非人灵长类动物等。兔有独特的脂质代谢系统,这有助于研究人的脂质代谢。其次,兔 AS 的病理演化,从早期病变到晚期病变与人类相似^[3]。与大鼠相比,兔具有与人类相似的脂肪蛋白特征,并表达血浆胆固醇酯转移蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)^[3]。可以增加 AS 易感性和循环游离脂肪酸,这也是兔是对胆固醇最敏感的原因^[4]。除此之外,成年兔的体重比成年大鼠重约 10 倍,因此兔子的脉管系统使得外科实验的研究成为可能。例如支架和导管等介入治疗研究^[5]中的冠状动脉插管以及结扎兔前降支结扎制备心肌梗死模型等。与猪相比,兔 AS 造模周期较短且花费较低,可选择性明显优于小型猪 AS 模型^[6]。

目前,一般选择血脂水平测定作为 AS 模型是否建立成功的指标,这些指标主要包括总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、极低密度脂蛋白(VLDL)等^[7]。病理形态学检查主要观察是否有内膜增厚及斑块表面纤维帽改变等。除此之外,多种成像系统(包括超声波、磁共振成像和正电子发射断层扫描)已被用于量化实验性 AS 的大小或表征病变成分。

2 用于建立 AS 模型的兔品种

目前用于建立兔 AS 模型的有日本大耳白兔、新西兰白兔、青紫蓝兔、中国本兔四个品种,均属于封闭群动物,其中,前两者常用于建立兔 AS 模型,后两者在文献中少有涉及^[8]。日本大耳兔的优点在于兔耳大,耳缘静脉血管清晰,便于重复取血及注射,如果采用小牛血清白蛋白或脂多糖等静脉注射法来建立兔 AS 模型,日本大耳兔是一种理想的实验用兔。新西兰白兔是目前用于心血管研究最常用的兔模型,与其它品系的兔相比,选育后的新西兰白兔具有生长速度快、饲料报酬高、繁殖性能优良、适应性能好、抗病力强、遗传性能稳定等特点。而青紫蓝兔和中国本兔因体型偏小、生长速度缓慢,可选择性较差。

3 兔 AS 模型的建立方法

3.1 喂养法建立兔 AS 模型

兔在脂肪代谢方面与人类有相似之处,且血浆中富含的 CETP 在 AS 发生和发展中起重要作用。兔可以在肝中只合成对外源性胆固醇加快转运的载脂蛋白 B,这就是兔可以短时间内仅通过单纯喂养高脂饲料就形成高胆固醇血症的最大优点,从而有利于兔 AS 模型的制备。

3.1.1 单纯高脂饲料喂养法兔

张梦云等^[9]选择高脂兔饲料(含 1%胆固醇,7.5%蛋黄粉,8%猪油,0.5%胆酸钠,0.1%丙硫氧嘧啶和 81%普通兔饲料)喂养 4 周后发现兔高脂喂养组 TC、LDL-C、HDL-C、VLDL 分别为对照组的 17.7、29.2、4.2、25.8 倍,病理显示 83%的兔模型存在早期 AS,证明造模成功。因为该方法造模操作过程简单,人工及外界因素干预少,而且成本相对低。近年来,有学者研究相关的非编码 RNA,均采用了单纯高脂饲养的办法进行兔 AS 造模。缺点:造模时间相对较长,一些不稳定因素容易干扰造模的结果^[10-12]。例如,兔的个体差异会影响到高脂的实际摄入量。另外,腹泻、食欲下降等个体因素可能会导致造模失败。

3.1.2 静脉注射脂多糖联合高脂饲料法

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性细菌细胞壁外壁的组成成分,也是内毒素的一种,是可以引起严重全身炎症反应的外源性物质之一,内皮细胞的损伤和 LPS 有着密切关系。而 AS 形成过程中的始动环节就是内皮细胞的损伤和功能的改变^[13]。王县委等^[14]采用静脉注射脂多糖联合高脂饲料的方法,在相同实验条件下,通过兔耳缘静脉注射不同剂量(100、200、1 000、2 000 ng/kg)的高纯级脂多糖引起发热性炎症反应,同时联合高脂饲料喂养建立兔 AS 模型。在造模的第 5 周时,血脂检测已达到高血脂水平,病理形态学显示有粥样坏死斑块形成,说明静脉注射 LPS 配合高脂饲料成功建立兔 AS 模型。Yang 等^[15]在研究药物抗动脉粥样硬化作用与降血脂、减少泡沫细胞数量和内皮细胞损伤中选择了该建模方法。这种利用炎症反应建立兔 AS 的优点在于:可以在较短时间内成功建立与人类 AS 病理形态学特点相似的兔 AS 模型,用于今后 AS 中炎症信号通路的研究。这种方法建立兔 AS 模型的缺点:容易在注射后引起兔的感染性休克,甚至导致死亡。

3.1.3 皮下注射 L-蛋氨酸法

由于高同型半胱氨酸血症 (HHcy) 是 AS 形成的一个独立危险因素,因此高同型半胱氨酸所致的 AS 越来越受到重视^[16]。王晓萍等^[17]采用 L-蛋氨酸皮下注射法建立 HHcy 兔 AS 模型,结果发现 L-蛋氨酸皮下注射 80 mg/(kg·d)4 周可建立 HHcy 模型,12 周时动脉粥样硬化表现明显。本方法建立兔 AS 模型的最大优点:克服了单纯高脂喂养法建立 AS 动物模型的不稳定性及周期长的缺点,另外,相对于注射脂肪乳和 LPS,这种建立方法大大降低了因人工干预而导致的兔死亡率。整个操作过程简单,且 L-蛋氨酸相对容易获取,易于推广。皮下注射 L-蛋氨酸能建立特殊的兔 Hhcy-AS 模型,对进一步探索 HHcy 与 AS 之间的联系,以及今后诊疗 AS 患者伴 HHcy 都能起到十分关键的作用。

3.1.4 静脉注射小牛血清白蛋白法

李琳等^[18]在喂养高脂饲料的基础上,喂养第 1 周初兔耳缘静脉一次性注射 250 mg/kg 的牛血清白蛋白,10 周后进行血脂水平的测定和标本的采集。结果发现模型兔 TC、TG、LDL 和 HDL 水平均明显升高,病理检查发现内膜增厚,纤维帽薄在斑块表面形成,斑块坏死,视野内平滑肌细胞稀少,呈现典型的动脉粥样硬化斑块,证明兔 AS 模型建立成功。近年来,唐云等^[19]在中医药在 AS 中的研究中均采用了此种建模方法,时间短、成活率高、模型稳定、可控性好是该方法建立 AS 模型的优点。

3.2 机械损伤建立兔 AS 模型

3.2.1 动脉球囊拉伤联合高脂喂养法

球囊拉伤加高脂饲料喂养建立颈、腹主、髂 AS 模型广泛应用于 AS 的研究,模型建立方法也日趋成熟。球囊拉伤建立过程:实验兔术前 12 h 禁食,不禁水。以 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉麻醉,从耳缘静脉给予肝素 200 U/kg,仰面固定^[20]。颈动脉球囊拉伤在正中切开皮肤 5.0 cm 左右,暴露右侧颈总动脉后,远心端结扎,近心端用线提起,距颈内外动脉分叉点 0.5 cm 约 45 度角 V 形剪开颈外动脉,逆行插入球囊(直径为 2.5 mm×1.0 mm)约 5 cm,再连接压力泵,注入肝素生理盐水,加压 2 个大气压,自近心端缓慢回拉,反复 3 次后撤出导管即可。股动脉拉伤是经右侧股动脉远端置入 2.5 mm×20.0 mm 球囊至股动脉近端,加压 8~10 个大气压,然后拉动球囊由近端向远端剥脱血管内皮,最后抽出球囊即可。球囊拉伤联合高脂饮食建立 AS 模型的优点:内皮细胞经外力损伤诱发的 AS 病变损伤接近于人 AS 病变的发生发展过程,易于确定损伤病变部位,方便取材,成为目前建立兔 AS 模型最常选用

的方法。缺点:血管内径与球囊内径较难匹配,兔血管直径相对较小,如多次穿刺失败容易导致血管痉挛或闭塞。

3.2.2 动脉球囊拉伤联合免疫注射法

兔的 AS 病变可以通过单独喂食高胆固醇饮食或结合动脉球囊损伤而容易诱发。与其他动物相比,兔对高胆固醇饮食敏感,可迅速发展为高胆固醇血症。张晓奇等^[21]通过超声结合病理,来评价斑块数量、大小、回声情况,以及制备病理切片,在 HE 染色及油红 O 染色下观察其组织形态学变化及脂肪浸润情况。发现高脂喂养加腹主动脉球囊拉伤术加注射小牛血清白蛋白比传统的高脂喂养加腹主动脉球囊拉伤所建立的 AS 模型,更稳定、更高效。这种方法最明显的优势在于:可以在相对短的时间内建立 AS 模型,形成腹主动脉的动脉粥样斑块。

3.2.3 机械损伤联合维生素 D 法

维生素 D 可通过损伤动脉壁来诱发 AS 形成,如平滑肌细胞增殖形成增生性纤维斑块。李跃华等^[22]运用球囊拉丝损伤腹主动脉内膜后,除每日的基础饲料外,再给实验兔每日每只加 1.5 g 胆固醇,到术后的第 11、12 周给实验兔皮下注射维生素 D50 万 IU/kg,术后 13 周取材,结果显示,皮下注射维生素 D 的实验兔 AS 病变脂质条纹面积和纤维斑块面积的百分比分别为 9.64% 和 1.56%,证明可成功建立 AS 斑块模型。机械损伤联合维生素 D 注射建立 AS 模型的优点:可以模拟人体病理状态下血管内钙化的病理生理改变,对于进一步研究药物治疗血管内钙化起到独特的优势。弊端是操作过程中,注射维生素 D 可能导致斑块内大范围、不均匀钙化,容易导致实验兔的死亡。

3.2.4 温控气体损伤与液氮冷冻损伤法

动脉粥样硬化易损斑块研究对急性心肌梗死、急性脑梗死等急性心脑血管疾病的治疗与预防都具有重要临床意义,但现今缺乏供研究的优质动物模型,但现在研究易损斑块的实验中,通常选用温控气体损伤法和液氮冷冻损伤两种办法。路怀志等^[23]利用恒定低温气体损伤兔颈动脉内膜,再结合高脂饮食 12 周后发现,温控气体损伤组取材后病理下可见薄的纤维帽,内膜有巨噬细胞及泡沫细胞浸润,斑块出现裂隙,局部小血栓形成,形成典型的易损斑块,说明利用温控气体造模可以形成 AS 模型。程卫平^[24]通过实施液氮冷冻损伤,然后饲养高脂饲料 8 周,再行液氮冻伤诱发斑块破裂试验后,病理下

发现兔子均有斑块或闭塞性血栓形成。李枚娟等^[25]等人进一步确定了兔 AS 易损斑块模型的建立方法,其优点在于:损伤血管可控,方法快速、廉价、可重复,而且大大降低了实验兔的死亡率,未来在 AS 易损斑块研究中必然起到十分重要的作用。

3.3 其它方法建立兔 AS 模型

3.3.1 空气干燥法

王琮等^[26]采用颈总动脉内膜空气干燥法建立 AS 模型,暴露右侧颈总动脉后,动脉夹夹闭血管近心端及远心端后,用 4 号头皮针沿血管长轴穿刺,生理盐水冲管后通气(120 mL/min)5 min,随后再次往管腔内注入生理盐水,松开动脉夹,按压止血。待出血停止后,缝合皮肤。4 周后实验病理结果显示颈动脉可见内膜不规则增厚,证明建模成功。上述方法建立兔 AS 模型的优点在于:可以在最短时间内、在指定部位明确预定的斑块,但是最大的缺点是:操作过程中,大大增加了实验兔的死亡率。

3.3.2 基因敲除法

兔的脂质代谢特点十分接近于人体,因兔体内低密度脂蛋白含量高,且兔的肝不能编码载脂蛋白 B48mRNA,只能合成载脂蛋白 B100,这些都成为选择建立兔 AS 基因模型的优势所在。因此选兔作为制作 ApoE^{-/-}动物 AS 模型的研究对象,也能更好地研究 Apo E 在 AS 中的作用^[27]。而利用基因编辑技术,敲除载脂蛋白 E(ApoE)后,就可以建立稳定遗传的动物模型^[28]。现国内,袁婷婷等^[29]借助近几年新兴的 CRISPR/Cas9 基因编辑技术,编辑新西兰兔的 ApoE 基因,并经 PCR、TA 克隆、Sanger 测序、Western blot 和血脂检测鉴定 ApoE 靶向敲除验证,已经成功建立 F₀ 代 ApoE^{-/-}模型兔,且可稳定遗传。相对于传统的 ZENS、TALEN 等基因编辑技术,CRISPR/Cas9 基因编辑技术具有操作简单、敲除效率高、多位点同时进行等优点^[30]。Yuan 等^[31]人利用多 sgRNAs 引导的 CRISPR/Cas9 系统对兔胚胎 LDLR 和 ApoE 基因进行编辑,成功建立了低密度脂蛋白受体(LDLR)和/或载脂蛋白(ApoE)基因大片段缺失的兔敲除(KO)模型。Lu 等^[32]利用 CRISPR/Cas9 系统编辑低密度脂蛋白受体(LDLR)外显子 7,成功建立了在正常饮食下自发地引起高胆固醇血症和动脉粥样硬化的 LDLR-KO 模型兔,这在将来研究 AS 以及家族性高脂血症都起到了十分重要的作用。

除了上述的基因编辑技术,渡边遗传性高胆固醇血症(WHHL)兔,现也常用于 AS 研究。WHHL 兔是 1973 年发现的一个突变体,现已证明,WHHL

兔体内 VLDL 残留物和 LDL 不会被肝中 LDLR 缺陷的肝细胞摄取,因此 WHHL 兔体内保持 LDL 等脂蛋白形式存在的高水平血浆胆固醇血症,且该品系相比日本大白兔的血清胆固醇和甘油三酯水平,升高约 8~14 倍,除此之外,通过近亲交配可以持续传代高脂血症性状的品系。随着科学的进步,通过 CRISPR/Cas9 基因编辑建立的 LDLR-KO 以及 WHHL 兔会越来越多的应用到 AS 疾病研究中,将会在心脑血管疾病研究中大放光彩。

4 展望

目前可用于建立 AS 模型的动物主要有兔、鼠、猪和猴等,但没有任何一种动物模型是完美的。兔是草食性动物,因此通过高脂饲养形成的 AS 斑块纤维帽、脂质坏死核心等典型病理变化与人体存在一定的差异。但是凭借着对外源性胆固醇较高的吸收率,以及对高脂血症的较低清除力,学者们依旧偏向于选兔来建立 AS 模型。多年来,国内外报道了很多兔 AS 模型的建立方法,但大多数都是建立在高脂喂养和机械损伤的基础上。除此之外,还有静脉注射维生素 D、小牛血清白蛋白等方法。机械损伤联合高脂喂养建立 AS 模型虽然应用广泛,但可能会出现黄瘤病样斑块等问题。

随着基因编辑技术的崛起,相比鼠更接近与人类亲缘关系(基于 DNA 序列分析)的兔,相信也会越来越多的应用生物医学领域中。像 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术的慢慢兴起,可以对兔基因组进行更有效和精确的编辑,以复制人类疾病建立模型,加快心脑血管等疾病的研究,应用前景也更加广阔。

AS 的发病机制和病理生理尚未完全阐明,将动物模型的研究应用推广到人类自身仍有许多困难。人体 AS 斑块形成绝非炎症刺激、自身免疫反应等任何一种单一因素所导致。未来精准医学的道路上,应将遗传、饮食、外界刺激等影响因素结合起来,建立最接近人体病理生理演变的兔 AS 模型,并将兔 AS 模型建立与临床药物试验和治疗有机结合,才能对人类 AS 研究奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] Bos D, Arshi B, van den Bouwhuisen QJA, et al. Atherosclerotic carotid plaque composition and incident stroke and coronary events [J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(11): 1426-3145.
- [2] Fan J, Chen Y, Yan H, et al. Principles and applications of rabbit models for atherosclerosis research [J]. J Atheroscler Thromb, 2018, 25(3): 213-220.

- [3] Ference BA, Kastelein JJP, Ginsberg HN, et al. Association of genetic variants related to cetyl esters and statins with lipoprotein levels and cardiovascular risk [J]. *JAMA*, 2017, 318(10): 947-956.
- [4] Petheo GL, Kerekes A, Mihalfy M, et al. Disruption of the NADPH Oxidase 5 gene aggravates atherosclerosis in rabbits [J]. *Circ Res*, 2021, 120: 318611.
- [5] Kokozidou M, Katsargyris A, Verhoeven ELG, et al. Vascular access animal models used in research [J]. *Ann Anat*, 2019, 225: 65-75.
- [6] Bellino FL. Nonprimate animal models of menopause: workshop report [J]. *Menopause*, 2000, 7(1): 14-24.
- [7] Fan J, Kitajima S, Watanabe T, et al. Rabbit models for the study of human atherosclerosis: from pathophysiological mechanisms to translational medicine [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 146: 104-119.
- [8] 曹媛, 贾连群, 宋囡, 等. 基于 PCR Array 技术探讨化痰祛瘀方对 AS 家兔小肠组织线粒体能量代谢相关基因的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(9): 4376-4379.
- [9] 张梦云, 严光, 方文祥, 等. 高脂饲养兔和豚鼠建立动脉粥样硬化模型比较 [J]. *中国临床保健杂志*, 2015, 18(5): 503-506, 561.
- [10] Zhang F, Zhang R, Zhang X, et al. Comprehensive analysis of circRNA expression pattern and circRNA-miRNA-mRNA network in the pathogenesis of atherosclerosis in rabbits [J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(9): 2266-2283.
- [11] Baumgartner C, Brandl J, Munch G, et al. Rabbit models to study atherosclerosis and its complications - Transgenic vascular protein expression *in vivo* [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2016, 121(2): 131-141.
- [12] Chung DJ, Wu YL, Yang MY, et al. Nelumbo nucifera leaf polyphenol extract and gallic acid inhibit TNF- α -induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration involving the regulation of miR-21, miR-143 and miR-145 [J]. *Food Funct*, 2020, 11(10): 8602-8611.
- [13] Yao Y, Li B, Liu C, et al. Reduced plasma kallistatin is associated with the severity of coronary artery disease, and kallistatin treatment attenuates atherosclerotic plaque formation in mice [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(21): e009562.
- [14] 王县委, 桑文凤, 裴强, 等. 静脉注射脂多糖联合高脂饲料建立兔动脉粥样硬化模型 [J]. *新乡医学院学报*, 2013, 30(12): 948-950, 954.
- [15] Yang JX, Wu S, Huang XL, et al. Hypolipidemic activity and antiatherosclerotic effect of polysaccharide of polygonatum sibiricum in rabbit model and related cellular mechanisms [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 391065.
- [16] McCully KS. Homocysteine metabolism, atherosclerosis, and diseases of aging [J]. *Compr Physiol*, 2015, 6(1): 471-505.
- [17] 王晓萍, 周明旺, 颜春鲁, 等. 高同型半胱氨酸血症兔致动脉粥样硬化的实验研究 [J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(12): 59-62.
- [18] 李琳, 窦健霖, 楚天舒, 等. 高脂饲料喂养加静脉注射小牛血清白蛋白建立兔动脉粥样硬化模型 [J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(20): 3690-3693.
- [19] 唐云, 张建影, 易琼, 等. 心痛泰对动脉粥样硬化兔血清 IL-1, TNF- α 及主动脉 MPO 表达的影响 [J]. *中医药导报*, 2020, 26(14): 13-16.
- [20] 王萧, 董浩然, 麦细焕, 等. 主动脉瓣关闭不全法建立新西兰兔心衰模型 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(2): 127-131.
- [21] 张晓奇, 孙月, 杨寒凝, 等. 超声结合病理评估多种制备兔腹主动脉粥样硬化斑块模型方法 [J]. *中国超声医学杂志*, 2020, 36(1): 73-76.
- [22] 李跃华, 陆建平, 张亚明, 等. 兔动脉粥样硬化模型的建立及其 MR 检测 [J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2006, 4(1): 34-35, 51, 65.
- [23] 路怀志, 杜大勇, 柳杨, 等. 温控气体损伤建立兔动脉粥样硬化易损斑块模型 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(2): 132-136.
- [24] 程卫平. 兔颈动脉内膜剥脱术后动脉内膜修复的实验研究 [D]. 泰安: 泰山医学院, 2014.
- [25] 李枚娟, 林杉懿, 王预立, 等. 应用液氮损伤建立兔动脉粥样硬化易损斑块模型的研究 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(3): 343-345.
- [26] 王琮, 陈筱雪, 杨少玲, 等. 套环法和空气干燥法建立兔颈动脉粥样硬化斑块模型的分析 [J]. *实验动物与比较医学*, 2019, 39(3): 208-212.
- [27] Plazyo O, Hao W, Jin JP. The absence of calponin 2 in rabbits suggests caution in choosing animal models [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 42.
- [28] Yang D, Xu J, Zhu T, et al. Effective gene targeting in rabbits using RNA-guided Cas9 nucleases [J]. *J Mol Cell Biol*, 2014, 6(1): 97-99.
- [29] 袁婷婷, 周敏雅, 卢瑶瑶, 等. 利用 CRISPR/Cas9 技术制备 ApoE^{-/-}兔 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 658-665.
- [30] Song Y, Sui T, Zhang Y, et al. Genetic deletion of a short fragment of glucokinase in rabbit by CRISPR/Cas9 leading to hyperglycemia and other typical features seen in MODY-2 [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(16): 3265-3277.
- [31] Yuan T, Zhong Y, Wang Y, et al. Generation of hyperlipidemic rabbit models using multiple sgRNAs targeted CRISPR/Cas9 gene editing system [J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 69.
- [32] Lu R, Yuan T, Wang Y, et al. Spontaneous severe hypercholesterolemia and atherosclerosis lesions in rabbits with deficiency of low-density lipoprotein receptor (LDLR) on exon 7 [J]. *EBioMedicine*, 2018, 36: 29-38.

[收稿日期] 2020-09-09