

· 综 述 ·

脑皮质发育障碍动物模型的构建方法研究进展

张建松 综述 田春雷 刘彦廷 审校

【关键词】 癫痫;质发育障碍;动物模型
【文章编号】 1009-153X(2020)07-0491-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 742.8

皮质发育障碍(malformation of cortical development, MCD)是皮质结构异常病变的总称,代表一系列病理性异常,包括局灶性皮质发育不良(focal cortical dysplasia, FCD)、异位症和结节性硬化症复合体的块状病变,以及弥漫性畸形等,其所引起的癫痫往往是药物难治性癫痫^[1,2]。MCD 的治疗目前较为有效的方法是手术,但是对于致病灶位于功能区或者病变广泛者,手术效果较差^[3]。因此,为了更进一步了解 MCD 与癫痫的相关性,学者们利用化学或物理的操作方法制作了各种动物模型,模拟不同的人类病理。本文就 MCD 的动物模型加以综述。

1 甲基氧化偶氮甲醇 (methylazoxymethanol, MAM)模型

该模型的制作方法是将 MAM 注射入孕鼠的腹腔,待孕鼠分娩后,观察仔鼠的皮质发育情况,以此建立仔鼠 MAM 模型^[1]。1968 年,Spatz 等^[2]首先将 MAM 乙酸盐注射到怀孕大鼠子宫,从而建立最初的 MAM 模型。如今,MAM 模型的广泛制作使得其功能逐渐的明朗化。MAM 模型主要模拟的是脑室周围结节性异位,例如,Singh^[3]详细地记录了模型所产生的海马畸形,发现这与患有抗药性局灶性癫痫的人类脑室周围结节性异位相似。另外,MAM 模型对神经胶质细胞的发育有着显著的影响。MAM 是一种有效的细胞毒性剂,其具有抗有丝分裂作用。Noctor 等^[4]证实在胚胎发生期间注射 MAM 能在新皮质中产生扭曲的放射状神经胶质细胞,这种对早期皮质发育的干扰可以导致放射状神经胶质细胞过早分化成星形胶质细胞。MAM 模型还可直接影响神经元的迁移。Abbah 等^[5]发现在 MAM 处理后,神经

元的迁移速度和探索行为显着降低。最后,MAM 模型还可导致异常神经元的生成。Colacitti 等^[6]运用该模型方法观察到了异型/肥大的神经元。这与 MCD 病人病理改变极其相似。因此,MAM 模型的病理学数据清楚地证明了 MAM 处理的动物的海马和新皮质的病理改变以及 MAM 对神经胶质细胞和神经元的影响。这些改变和影响能够模仿严重癫痫病人所表现的脑室周围结节性异位的病理。因此众多学者认为该模型能够模拟人 MCD 的病理性改变。但是值得注意的是,目前无详细研究表明该模型中是否存在自发性癫痫发作,同样也无详细研究表明抗惊厥药是否有效,因此需要进一步研究。

2 脑皮质冷冻(低温)模型

该模型通过对新生出生的大鼠进行低温麻醉后用冷钢针冷冻脑组织或者对孕鼠进行子宫壁外液氮探针冷冻鼠胚胎脑皮层的操作而使仔鼠皮质发育出现障碍,从而依此制作出冷冻(低温)动物模型^[7]。有别于 MAM 模型,冷冻(低温)模型主要再现的是局灶性异位和脑裂畸形;该模型可以很容易地建立并重现与癫痫发作相关的某些类型的人类神经元迁移障碍的病理学,例如多发性微血管、局灶性异位、皮质发育不良或皮质裂隙;其中,对于典型的局灶性皮质障碍的诱导,当在出生后的最初 24 h 期间诱导时,可以获得最佳的可重复结果^[8,9]。此外,冷冻(低温)模型除了再现上述病理改变外,有学者运用冷冻损伤模型制作创伤性脑损伤或脑水肿的模型,阐述冷冻(低温)模型与脑水肿之间的联系^[10-12]。冷冻(低温)模型具有自发性癫痫发作的倾向^[13-15]。因此,无论是局灶性异位还是脑裂、脑损伤或脑水肿等,冷冻病变模型产生的病理学类似于人类报道的 MCD。但 MCD 的严重程度和类型与冻结病变的数量和持续时间直接相关,表明在不同发育阶段的不同严重程度的诱导可诱发不同的畸形^[7],因此,使用该模型进

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2020.07.027
作者单位:443003 湖北宜昌,三峡大学第一临床学院/宜昌市中心人民医院神经外科(张建松、田春雷、刘彦廷)

行科学研究时应格外注意冷冻病变的数量和冷冻的持续时间。另外,关于自发性癫痫发作需要补充的是,虽然冷冻(低温)模型具有自发性癫痫发作的倾向,但是,冷冻模型是否能在体内产生自发性癫痫发作仍不清楚,尚需要进一步的探索。

3 子宫内照射模型

该模型是通过对孕鼠进行射线照射,待孕鼠分娩后给予仔鼠戊巴比妥处理,之后将仔鼠处死,从而对仔鼠皮质进行组织学研究而构成的模型。对于该模型方法的详细描述,通常是将 E17 的怀孕大鼠暴露于 145~225 cGy 的 γ 辐射,并且后代用于实验^[16]。起初,该模型并不是用来研究 MCD,而是用于研究大鼠暴露于辐射中对早期大脑发育的影响^[17],但随着技术的进步,发现照射模型同样可以模拟人类 MCD 的病理变化。相较于其他 MCD 模型,子宫内照射模型主要诱导的是小胶质细胞和异位症。Roper^[18]运用该模型发现胎儿大鼠暴露于外部 γ 射线照射会产生弥漫性 MCD 和神经元异位,因此在小胶质细胞和异位症的产生方面,子宫照射模型更具优势。但需要关注的是,射线照射模型在制作的过程中受影响的因素较多,不同因素往往导致不同的结果。Kellinghaus 等^[19]发现较低剂量(例如 100 cGy)诱导产生的病理变化较小,甚至可能无明显变化。但 Lent 等^[20]用较高剂量(例如 300 cGy)则引起严重的畸形,例如没有胼胝体等。另一方面,照射模型表明在不同胚胎阶段给予大鼠照射可以产生不同的皮质畸形^[21]。Ferrer^[22]在 E14 上用单剂量 200 cGy 照射引起较大的皮质异位细胞簇,在 E15、E17 或 E19 照射后可以观察到大脑皮层的分割,通过 E16 照射可以产生四层微脑回,所以在构建照射模型时,需要充分考虑剂量、胚胎发育等因素,以便构建出适合研究的模型。最后,在自发性癫痫发作方面,照射模型同冷冻(低温)模型类似,当用体外电生理学方法研究时,子宫内照射模型有着显著的过度兴奋。在大鼠中,E17 的中剂量辐射产生局灶性皮质畸形,其可以产生自发性癫痫发作。有学者用荷包牡丹碱处理时,暴露于胚胎照射的成年大鼠的新皮质切片显示出比对照更强的癫痫样活性^[18,23]。但是对于发育不良本身或畸形的周围区域是否存在过度兴奋和癫痫发作的触发区仍有待进一步研究。

4 卡莫司汀注射模型

卡莫司汀,又名 1,3-二氯乙烯-亚硝基脲(1-3-

bis-chloroethyl-nitrosurea, BCNU),故该模型又称 BCNU 模型。BCNU 模型类似于 MAM 模型的制作方法,给予孕鼠腹腔注射 BCNU,待孕鼠分娩后观察仔鼠的皮质发育情况,从而构建仔鼠皮质发育障碍模型^[24]。同上述各模型相比,BCNU 模型主要诱导产生层状解体,异位和巨细胞神经元。Benardete 和 Kriegstein^[25]发现向 E15 妊娠大鼠腹腔注 BCNU 后,仔鼠产生皮质发育不良,包括层状解体,巨细胞神经元,神经元异位等。何选丽等^[24]构建的 BCNU 模型观察到仔鼠生长发育缓慢、日常活动能力差,病理改变同样表现为层状结构紊乱、皮质以及海马神经元异位。因此,BCNU 模型可以用来模拟人类 MCD 的病理学。同样,BCNU 模型在自发性癫痫方面也有较强倾向,在暴露于荷包牡丹碱甲基碘的皮质切片中,与对照相比,BCNU 处理组显示出更多数量的自发和诱发的癫痫样网络放电,但 BCNU 模型仍需要更详细地表征,而且,同冷冻(低温)模型一样,BCNU 模型在体内条件下是否可以观察到自发性癫痫发作也仍需要深入研究。该模型是国内研究较广泛的模型,主要具有操作简单,BCNU 易购买,病理改变较明显等优势,因此是值得学者运用的模型。

综上所述,诸多 MCD 的动物模型,分别从各个方面模拟人类 MCD。随着科学技术的进步,相信还会有更多的方法出现。然而,大多数这些动物模型在模拟人类 MCD 的全部病理和临床特征方面存在显著限制,并且显然需要为未来开发更完善的实验方法和 MCD 模型。鉴于 MCD 的啮齿动物模型的局限性,因此,在不同的动物模型中仍需要继续努力以更精确地模拟人类 MCD 的病理损伤。另一方面,正常动物皮层和人类皮层之间总体结构的差异较明显,特别是啮齿类动物的正常大脑皮层,那么是否可以考虑运用大脑皮层接近人类大脑皮层的动物呢?

【参考文献】

- [1] Castro PA, Cooper EC, Lowenstein DH, *et al.* Hippocampal heterotopia lack functional Kv4.2 potassium channels in the methylazoxymethanol model of cortical malformations and epilepsy [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(17):6626-34.
- [2] Spatz M, Laqueur GL. Transplacental chemical induction of microencephaly in two strains of rats [J]. *J Proc Soc Exp Biol Med*, 1968, 129(3): 705-710.
- [3] Singh SC. Ectopic neurones in the hippocampus of the post-natal rat exposed to methylazoxymethanol during foetal

- development [J]. *Acta Neuropathol*, 1977, 40(2): 111-116.
- [4] Noctor SC, Palmer SL, Hasling T, *et al*. Interference with the development of early generated neocortex results in disruption of radial glia and abnormal formation of neocortical layers [J]. *Cereb Cortex*, 1999, 9(2): 121-136.
- [5] Abbah J, Juliano SL. Altered migratory behavior of interneurons in a model of cortical dysplasia: the influence of elevated GABAA activity [J]. *Cereb Cortex*, 2014, 24(9): 2297-2308.
- [6] Colacitti C, Sancini G, Debiassi S, *et al*. Prenatal methylazoxymethanol treatment in rats produces brain abnormalities with morphological similarities to human developmental brain dysgeneses [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1999, 58(1): 92-106.
- [7] Rosen GD, Galaburda AM. Single cause, polymorphic neuronal migration disorders: an animal model [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2000, 42(10): 652-62.
- [8] Dvorak K, Feit J. Migration of neuroblasts through partial necrosis of the cerebral cortex in newborn rats—contribution to the problems of morphological development and developmental period of cerebral microgyria. Histological and autoradiographical study [J]. *Acta Neuropathol*, 1977, 38(3): 203-212.
- [9] Dvorak K, Feit J, Jurankova Z. Experimentally induced focal microgyria and status verrucosus deformis in rats—pathogenesis and interrelation: histological and autoradiographical study [J]. *Acta Neuropathol*, 1978, 44(2): 121-129.
- [10] Stoffel M, Rinecker M, Plesnila N, *et al*. Role of nitric oxide in the secondary expansion of a cortical brain lesion from cold injury [J]. *J Neurotrauma*, 2001, 18(4): 425-434.
- [11] Murakami K, Kondo T, Yang G, *et al*. Cold injury in mice: a model to study mechanisms of brain edema and neuronal apoptosis [J]. *Prog Neurobiol*, 1999, 57(3): 289-299.
- [12] Chan PH, Longar S, Fishman RA. Protective effects of liposome-entrapped superoxide dismutase on posttraumatic brain edema [J]. *Ann Neurol*, 1987, 21(6): 540-547.
- [13] Scantlebury MH, Ouellet PL, Psarropoulou C, *et al*. Freeze lesion-induced focal cortical dysplasia predisposes to atypical hyperthermic seizures in the immature rat [J]. *Epilepsia*, 2004, 45(6): 592-600.
- [14] Takase K, Shiget H, Suzuki SO, *et al*. Prenatal freeze lesioning produces epileptogenic focal cortical dysplasia [J]. *Epilepsia*, 2008, 49(6): 997-1010.
- [15] Hablitz JJ, DeFazio T. Excitability changes in freeze-induced neocortical microgyria [J]. *Epilepsy Res*, 1998, 32(1-2): 75-82.
- [16] Kondo S, Najm I, Kunieda T, *et al*. Electroencephalographic characterization of an adult rat model of radiation-induced cortical dysplasia [J]. *Epilepsia*, 2001, 42(10): 1221-1227.
- [17] Mcgrath JJ, Riggs HE, Schwarz HP. Malformation of the adult brain (albino rat) resulting from prenatal irradiation [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1956, 15(4): 432-467.
- [18] Roper SN. In utero irradiation of rats as a model of human cerebrocortical dysgenesis: a review [J]. *Epilepsy Res*, 1998, 32(1-2): 63-74.
- [19] Kellinghaus C, Kunieda T, Ying Z, *et al*. Severity of histopathologic abnormalities and in vivo epileptogenicity in the in utero radiation model of rats is dose dependent [J]. *Epilepsia*, 2004, 45(6): 583-591.
- [20] Lent R, Schmidt SL. Dose-dependent occurrence of the aberrant longitudinal bundle in the brains of mice born acallosal after prenatal gamma irradiation [J]. *Brain Res*, 1986, 390(1): 127-132.
- [21] Ferrer I, Xumetra A, Santamaria J. Cerebral malformation induced by prenatal X-irradiation: an autoradiographic and Golgi study [J]. *J Anat*, 1984, 138(Pt1): 81-93.
- [22] Ferrer I. Experimentally induced cortical malformations in rats [J]. *Childs Nerv Syst*, 1993, 9(7): 403-407.
- [23] Roper SN, King MA, Abraham LA, *et al*. Disinhibited in vitro neocortical slices containing experimentally induced cortical dysplasia demonstrate hyperexcitability [J]. *Epilepsy Res*, 1997, 26(3): 443-449.
- [24] 何选丽, 晏勇, 马勋泰, 等. 卡莫司汀诱导大鼠皮质发育障碍模型的研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2007, 17: 1729-1731.
- [25] Benardete EA, Kriegstein AR. Increased excitability and decreased sensitivity to GABA in an animal model of dysplastic cortex [J]. *Epilepsia*, 2002, 43(9): 970-982.

(2018-12-01 收稿, 2018-12-17 修回)