

B6.129P2-Apoe^{tm1Unc}

品系编号：GAP2015

品系简称：Apoe

品系特点：

Apoe 敲除的纯合子小鼠血浆胆固醇总量水平显著升高，且与性别、年龄无关。3 月龄可在近端大动脉发现脂肪纹，脂肪纹会随着年龄增长，同时脂质减少、细胞变得更细长，具有典型的动脉粥样硬化病变过程。适度增加的甘油三酯水平已经在 C57BL/6 X 129 混合背景小鼠中显现出来。已证明年老的 Apoe 缺陷小鼠（大于 17 个月）脑部出现晶状胆固醇结晶，脂质滴和泡沫细胞中出现黄瘤，脉络丛和腹侧穹中也有小黄瘤。有研究表明 Apoe 缺陷鼠对应激有选择性反应，学习与记忆受损，长期增强效应改变，突触受损。

遗传学信息：

遗传背景：C57BL/6J

品系类型：基因敲除

相关基因：Apoe

饲养信息：

配繁策略：

Homozygote x Homozygote

配繁特性：

当维持种群时，一般可以纯合子进行保种。

基因型鉴定方案：

1) 鉴定引物：

| 引物名称 | 序列 (5'-3') | 引物类型 |
|-----------|-------------------------------|------------|
| GAP2015-1 | GCC TAG CCG AGG GAG AGC CG | 共同-forward |
| GAP2015-2 | TGT GAC TTG GGA GCT CTG CAG C | 野生-reverse |

GAP2015-3 GCC GCC CCG ACT GCA TCT

转基因-reverse

2) PCR 反应体系及扩增程序:

反应程序

扩增程序

| 组分 | 终浓度 | 步骤 | 温度(°C) | 时间 | 说明 |
|----------------------|-----------|----|--------|----|----------------|
| ddH ₂ O | | 1 | 94.0 | -- | |
| Kapa 2G HS buffer | 1.30 X | 2 | 94.0 | -- | |
| MgCl ₂ | 2.60 mM | 3 | 65.0 | -- | 每循环降 0.5°C |
| dNTP KAPA | 0.26 mM | 4 | 68.0 | -- | |
| GAP1002-1 | 0.50 μM | 5 | | -- | 2-4 步重复 10 个循环 |
| GAP1002-2 | 0.50 μM | 6 | 94.0 | -- | |
| GAP1002-3 | 0.50 μM | 7 | 60.0 | -- | |
| 甘油 | 6.50 % | 8 | 72.0 | -- | |
| Kapa 2G HS taq polym | 0.03 U/μl | 9 | | -- | 6-8 步重复 28 个循环 |
| Dye | 1.0 X | 10 | 72.0 | -- | |
| DNA | | 11 | 10.0 | -- | 保持 |

3) 预期结果:

| 基因型 | 预期结果 |
|-----|------------------|
| 纯合子 | ~245 bp |
| 杂合子 | ~155 bp 和~245 bp |
| 野生型 | ~155 bp |

应用领域:

1. 糖尿病和肥胖研究: 非糖尿病性肥胖 (饮食诱导的)
2. 神经生物学研究: 阿尔兹海默氏病, 行为和听力缺陷, 神经变性
3. 心血管研究: 动脉粥样硬化, 血胆固醇过高

表型分析:

1. 死亡率

短暂的寿命: 到18个月的时候会有35%死亡 (MGI ref ID J73202)

2. 心血管系统模型

主动脉形态异常: 1) 在突变体主动脉壁内皮型一氧化氮合酶会明显的减少; 2) 细胞连接处Cx43的减少表明出现严重干扰

血流速度异常:与野生型的小鼠有最高的血流速度相比,麻醉之后的纯合子小鼠血流速度明显的提高。正常体重下麻醉或不麻醉情况下心率、峰值加速度或射血时间方面没有太大变化但是,这种纯合子小鼠在主动脉弓加速度提示增加外周波反射方面有选择性

血管生理学异常:1) 脉搏波传播速度在4个月时没有明显提高;2) 脉搏波传播速度在13个月时有明显提高;3) 血脑屏障功能异常;4) 血管舒张减少;5) 血管炎症;6) 肾动脉血管形态异常;7) 螺旋模块化动脉形态学异常

动脉粥样硬化:1) 加速粥样硬化病变,在大动脉根和冠状动脉处有大量的动脉硬化瘤与丰富的胆固醇晶体,中性脂肪,而细胞外基质减少;2) 在13个月的时候,纯合子小鼠的动脉粥样硬化病变从颈动脉、心脏和主动脉扩展到肾动脉和髂分叉;3) 病变最严重的是近端主动脉和颈动脉的分叉,颈动脉近端病变相对少一点;4) 正常的运动并不能减少该纯合小鼠粥样硬化病变的形成,如图所示,通过比较久坐小鼠和运动小鼠;5) 24周的时候,纯合子小鼠使用正常的饮食在主动脉窦和升主动脉表现出明显的动脉硬化;6) 当给小鼠使用胆固醇高的食物时在主动脉窦和升主动脉的动脉瘤的数目明显高于正常饮食的小鼠;7) 服用粥样硬化饮食的小鼠的动脉粥样斑块比正常饮食的小鼠大很多;8) 在4个月的时候小鼠的主动脉弓和胸主动脉上覆盖了23%的斑块,到13个月大的时候会覆盖61%的斑块;9) 内膜增厚,泡沫细胞积聚,胶原层变薄;10) 弹性薄层易碎;11) 在突变体的主动脉粥样硬化中观察内膜病变;12) 在雄性和雌性小鼠的主动脉胃小弯中可以观察到主要的病变,在主动脉的分支中观察到较小的病变;13) 在雄性和雌性的突变体中病变占了约14 - 16%的总主动脉弓面积;14) 在主动脉瓣叶观察到主动脉窦的病变;病变约占了27%的总主动脉的区域

易患动脉粥样硬化:1) 食用胆固醇高的纯合子敲除小鼠的动脉粥样硬化的严重程度是食用正常饮食的纯合子敲除小鼠的2倍,是C57BL / 6 J控制小鼠的99倍;2) 食用高脂肪、高胆固醇的饮食,突变体表现出中度到重度主动脉和颈动脉动脉粥样硬化

心脏肥厚:在13个月,纯合子敲除小鼠相对于野生型老鼠增加了59%心脏重量

全身血管阻力下降:在麻醉下,纯合子小鼠外周血管阻力显著降、血压正常

肾小球毛细血管扩张:有时,伴随着相邻肾小球毛细血管不断的膨胀(“微动脉瘤”)肾小球膜会溶解

肾小球毛细血管血栓形成:1) 在36周时有大约50%的老鼠的肾小球毛细血管腔中填满了脂肪;2) 这种像血栓一样的结构通常与相邻的泡沫细胞分层出现在肾小球膜

心输出量增加:在麻醉下,这种模型小鼠血流升高表明高的心输出量

心搏量增加:在麻醉下,这种模型小鼠似乎表现出明显增加的心输出量

心脏重量增加:在13个月,这种模型小鼠相对于野生型老鼠心脏重量增加23%

肾微动脉瘤:有时,伴随着相邻肾小球毛细血管不断的膨胀(“微动脉瘤”)肾小球膜会溶解

血管狭窄:食用动脉粥样硬化饮食的小鼠比正常饮食的小鼠血管显著变细

螺旋模块化的动脉狭窄:相对于正常饮食的小鼠,食用了动脉粥样硬化饮食的小鼠的耳蜗里的螺旋状动脉粥样硬化管腔明显变窄

3. 肌肉表征

血管舒张减少:以同龄C57BL / 6 J小鼠为对照鼠,食用正常或粥样硬化饮食

的模型小鼠用乙酰胆碱作用后在主动脉环都表现出严重受损的内皮依赖性松弛

肌肉放松受损：1) 13个月龄时，在血管中对乙酰胆碱的放松反应下降；2) 对乙酰胆碱的反应明显降低

4. 稳态/代谢表型

循环胆固醇水平异常：1) HDL比例降低；2) HDL/LDL比例降低；3) 循环HDL胆固醇降低

循环胆固醇升高：1) 随着年龄的增加，突变体小鼠在10 - 12周大时总胆固醇水平增加4倍，在29周时增加13倍；2) 与基因型相同但不运动的小鼠相比起来，每天游泳15-60分钟的纯合子和野生型敲除小鼠总胆固醇量没有明显变化；3) 使用正常饮食的纯合子小鼠与C57BL/6J对照鼠比起来，脂质中的总的胆固醇的含量明显升高；4) 使用动脉硬化饮食的敲除小鼠比正常饮食的小鼠的胆固醇含量明显高很多；5) 在24周和26周的时候胆固醇含量升高了5倍；6) 血液中的胆固醇含量比正常的高了70倍；7) 食用高脂肪食物的正常小鼠血液中胆固醇含量高了4倍，食用高脂肪食物的这种敲除小鼠血液中胆固醇含量高了20倍；8) 在24周的时候胆固醇含量明显提高；突变体诱导慢性抗宿主病(cGVH)红斑狼疮(SLE)的程度跟apoe null相当

LDL含量提高：1) 正常饮食下，这种小鼠的LDL含量比正常小鼠的高很多；2) 食用动脉硬化饮食的敲除小鼠比正常饮食的敲除小鼠LDL含量高很多

VLDL含量提高：1) 正常饮食下，这种小鼠的VLDL含量比正常小鼠的高很多；2) 食用动脉硬化饮食的敲除小鼠比正常饮食的敲除小鼠VLDL含量高很多

同型半胱氨酸水平循环异常：脂质里的半胱氨酸水平降低

酶或辅酶活性异常：胆固醇合成的HMG酶活性在年老的这种敲除小鼠中降低到60%，在野生型的小鼠中降低到30%

循环谷氨酸含量降低

循环甘油三酯含量降低

肾小球毛细血管血栓形成：1) 在36周时有50%的小鼠的肾小球毛细血管腔充满了脂肪滴；2) 这种像血栓一样的结构通常与相邻的泡沫细胞分层出现在肾小球膜

高血脂：这种敲除小鼠在正常饮食和动脉硬化饮食条件下都会出现高血脂症，但是，HDL胆固醇含量、体重、血糖跟普通小鼠没什么变化

循环的甘油三酯含量提高：1) 10-12周的这种小鼠血浆里的甘油三酯含量是正常小鼠的两倍；2) 正常饮食下，这种小鼠的甘油三酯含量比正常小鼠的高很多；3) 食用动脉硬化饮食的敲除小鼠比正常饮食的敲除小鼠甘油三酯含量高很多

黄瘤：1) 11分之一食用正常饮食的年老小鼠会出现黄色瘤；2) 在肩膀和颈间的脂肪中和细胞外基质中会爆发黄色瘤

5. 生长、大小表型

身体变短：在1月和3月的时候鼻子到尾部的长度比正常的短

体重变低：13个月时，体重比正常的小鼠降低了22%

更易增长体重：3个月时比正常小鼠低很多，但是在8个月的时候就一样了

6. 造血系统表型

B细胞活性异常：脾细胞表现出克隆的B细胞活性，MHC II, Fas, CD86表达增多，CD21, CD22, 与 CD23表达降低

T细胞数量异常

T细胞数量增多：1) 阳性CD4 T细胞数量异常；2) 脂质条纹中发现集群的CD4+细胞；3) 正常饮食下，Th2和Th1的比值从4.4提高到了11.4，食用动脉硬化条件下，Th2和Th1的比值达到了20.9；4) 辅助性的T细胞数量提高；5) 卵泡B细胞数量降低：跟对照组相比降低了

血比容降低：1) 在13个月的时候，没有麻醉的这种敲除小鼠与野生型的小鼠相比血比容稍微但不能忽视的降低了11%，但是收缩压还是不变的；2) 边缘区B细胞数降低；3) 通过cGVH诱导系统性红斑狼疮，诱导水平比正常的小鼠低；4) B细胞数增加：新生成的B细胞数明显增加，边缘区B细胞数提高；5) 脾重量提高：胸腺重量保持不变

7. 细胞表型

B细胞活性异常：脾细胞表现出克隆的B细胞活性，MHC II, Fas, CD86表达增多，CD21, CD22和CD23表达降低

氧化应激：在血胆固醇过多的突变体小鼠中规律的运动未能减少内源性氧化剂负载和线粒体损伤相反，正常胆固醇小鼠通过定期的运动能减少线粒体损伤和氧化剂负载并且增SOD2和腺嘌呤核苷转运蛋白活性

8. 听力/前庭/耳表型

耳蜗形态学异常：突变耳蜗内皮细胞一氧化氮合酶明显降低

基膜形态异常：纯合子小鼠显示出硬化和萎缩性基膜

血管纹形态学异常：食用动脉硬化食物时，这种敲除小鼠表现出耳蜗血管纹硬化和萎缩

耳蜗内毛细胞变性：在24周的时候，食用正常饮食的纯合子小鼠在耳蜗基转处内毛细胞几乎全没，在中转处内毛细胞也有少量消失。食用动脉粥样硬化饮食会导致纯合子小鼠在耳蜗基转处内毛细胞丢失加重

耳蜗外毛细胞变性：在24周的时候，食用正常饮食的纯合子小鼠在耳蜗基转处外毛细胞几乎全无，在中转处外毛细胞也有少量消失。食用动脉粥样硬化饮食会导致纯合子小鼠在耳蜗基转处外毛细胞丢失加重

螺旋式器官退化：在24周的时候，食用正常饮食的纯合子小鼠在耳蜗基转处螺旋器官严重退化，在中转处还是正常的。食用动脉粥样硬化饮食会加重纯合子小鼠螺旋器官退化，有一些小鼠在基转处出现少量退化

耳聋：1) 跟正常的C57BL/6J小鼠相比，食用正常饮食时，会出现高频率的听力丢失；2) 正常饮食和高脂肪饮食纯合子小鼠动脉粥样硬化斑块面积的主动脉、血液中总胆固醇水平分别与ABR阈值16kHz和8kHz具有一个高的正相关关系。

听觉脑干反应阈值增加或缺失：1) 在10周大的时候，食用正常饮食的小鼠比C57BL/6J对照鼠具有更高的ABR阈值，32 kHz有更高的听力丢失，在24周的时候，在所有刺激测试下出现更严重的听力丢失；2) 食用动脉粥样硬化饮食的纯合子小鼠比正常饮食的小鼠出现更严重的听力丢失

9. 神经系统表型

血脑屏障系统异常：大量的血清蛋白质渗入到坐骨神经、脊髓和小脑中，也会偶尔有血清蛋白质渗入到皮质和皮质下，这些表明血脑屏障和血液神经屏障受损

耳蜗神经节变性：在24周的时候，正常饮食的纯合子小鼠在耳蜗的基转处出现较少的螺旋神经节细胞；动脉硬化饮食可以诱导神经节细胞变少

耳蜗内毛细胞变性：在24周的时候，食用正常饮食的纯合子小鼠在耳蜗基转处内毛细胞几乎全无，在中转处内毛细胞也有少量消失；食用动脉粥样硬化饮食

会导致纯合子小鼠在耳蜗基转处内毛细胞丢失加重

耳蜗外毛细胞变性：在24周的时候，食用正常饮食的纯合子小鼠在耳蜗基转处外毛细胞几乎全无，在中转处外毛细胞也有少量消失；食用动脉粥样硬化饮食会导致纯合子小鼠在耳蜗基转处外毛细胞丢失加重

10. 免疫系统表型

免疫系统表型异常：1) B细胞活性异常；2) 脾细胞表现出克隆的B细胞活性，MHC II, Fas, CD86表达增多，CD21, CD22, 与CD23表达降低；3) 免疫血清蛋白质生理学异常

干扰素分泌减少：食用高胆固醇时产量减少

免疫球蛋白水平升高：1) cGVH诱导的SLE突变小鼠的免疫球蛋白水平比野生型对照和没有经诱导的小鼠高很多；2) IgM水平升高；3) IgM应对破伤风类毒素的反应明显比对照组强；4) IV过敏性反应易感性降低；5) 抗原特异性延迟超敏反应降低

自身抗体水平提高：cGVH-SLE诱导后，跟野生型或apoe-null控制组小鼠比起来，体内抗氧化的低密度脂蛋白, IgG、IgM、抗心磷脂抗体增加

反核抗原抗体水平增加：1) cGVH-SLE诱导后，跟野生型对照和没有经诱导的小鼠相比起来抗染色质抗体都增加；2) 抗双链DNA抗体水平增加；3) cGVH-SLE诱导后，跟野生型对照和没有经诱导的小鼠相比起来抗双链DNA抗体都增加

容易患系统性红斑狼疮

血管炎症：在粥样硬化病变中主动脉显示出巨噬细胞和T细胞外渗

11. 行为/神经表型

空间学习异常：1) 在莫里斯迷宫测试找到平台潜伏期长；2) 获取目标圆的时间比对照组长

趋触性增加：1) 莫里斯迷宫测试趋触性增加

肾/尿系统表型

肾动脉血管形态异常：1) 小动脉的血管极显示一个“泡沫”变性的平滑肌细胞；2) 肾小球形态异常；3) 肾小球丛区扩大；4) 肾小球数量增大；5) 肾小球毛细血管扩张，有时伴随着相邻肾小球毛细血管不断的膨胀（“微动脉瘤”）；6) 肾小球膜会溶解；7) 肾小球系膜基质扩大；8) 肾小球基质逐步增加，到24周的时候非常明显，与之相关的还有层粘连蛋白和胶原IV的积累

肾小球毛细血管血栓形成：1) 在36周时有50%的小鼠的肾小球毛细血管腔充满了脂肪滴；2) 这种像血栓一样的结构通常与相邻的泡沫细胞分层出现在肾小球膜

肾小球膜溶解：在24周的时候不会，到36周的时候有时会溶解，单对照组都不会

肾小球脂沉积症：1) 肾小球系膜和肾小球内毛细血管腔中有泡沫细胞；2) 在小动脉壁的血管里有脂质沉积；3) 在36周时有50%的小鼠的肾小球毛细血管腔充满了脂肪滴

肾微动脉瘤：有时，肾小球膜会溶解时相邻肾小球毛细血管会不断的膨胀（“微动脉瘤”）

12. 肝胆系统表型

肝形态异常：1) 对照组小鼠食用高脂肪食物时血清丙氨酸转氨酶（肝脏损伤标志）没有明显变化；2) 肝脏摄取LDL的量变成了两倍

13. 视觉、眼睛表型

眼部电检查异常：1) A和b波段的暗适应视网膜电图隐含期增长；2) A和b波段的暗适应视网膜电图波振幅衰减；3) 视网膜内核层形态异常；4) 高胆固醇的饮食下细胞核周围有空泡形成；5) 薄的视网膜内核层；6) 细胞数量下降；7) 薄的视网膜外核层；8) 细胞数量下降

14. 味道、嗅觉表型

嗅觉受损：1) 对水敏感，对异戊醇不是太敏感，而对照组对异戊醇有强烈的敏感；2) 虽然在视觉上发现球更迅速，但是找到埋藏的球体是比较慢的；3) 品尝香兰素奎宁潜伏期增长

15. 骨架表型

骨架结构异常
骨密度提高
椎骨体骨密度提高
骨体积组织体积比增加
骨小梁数量提高
在椎体和胫骨骨密质厚度提高
骨架表型异常
成骨细胞表型异常
骨形成率增加

16. 呼吸系统表型

肺迟滞现象异常：肺迟滞现象比对照组提高了很多百分点
肺体积异常：3个月时跟对照组差不多大，但是到8个月大时是对照组的2.5倍
肺泡形态学异常：3个月大时肺泡变少但是更大，表面积更小
呼吸道阻力升高：在3个月大的时候气流阻力增大，但是到8个月的时候又不大了
肺顺应性提高：在8个月的时候，动态和静态的顺应性大大增强

17. 皮肤表型

皮肤损害：主要在肩膀和背部的脂质和细胞外区域基质中逐步出现喷发性黄瘤的皮肤损伤

ApoE 小鼠与 Ldlr 小鼠模型对比

| 表型 | ApoE KO 小鼠 | Ldlr KO 小鼠 |
|---------|----------------------------------|---------------------------|
| 高胆固醇血症 | ~400mg/dl; 是对照的 5 倍以上 | ~200-275mg/dl;是对照的 2-3 以上 |
| VLDL | 大幅度升高 | 适度升高 |
| IDL/LDL | 适度升高 | 大幅度升高 |
| HDL | 降低 | 适度升高 |
| 自发斑块 | 3 月龄：近端主动脉出现脂质条纹 8 月龄：主动脉出现斑块 | 无 |
| 饮食诱导斑块 | 动脉粥样饮食条件下 14 周出现大量大型斑块 | 高胆固醇饮食下 12 周出现中等斑块 |

| | | |
|--------|--------------|------------------|
| 自发损伤 | 6月龄时出现 | 无 |
| 饮食诱导损伤 | 与摄入的胆固醇含量呈正比 | 主动脉出现脂质条纹 |
| 其他 | 空间学习能力异常 | 高胆固醇饮食下出现代谢紊乱综合症 |

参考文献:

1. Piedrahita JA., et al., 1992. Generation of mice carrying a mutant apolipoprotein E gene inactivated by gene targeting in embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 89 :4471-5.
2. <https://www.jax.org/strain/002052>