

A β 化学诱导阿尔兹海默症模型

1. A β 肽制备

A β 1-42溶于六氟异丙醇，离心，干燥形成A β 膜，使用时37°C孵育7天形成寡聚体，硫黄素T荧光法或圆二色性光谱验证 β 折叠结构

2. 麻醉与固定

1.腹腔注射戊巴比妥钠（80 mg/kg）
2.固定于立体定位仪，保持颅骨水平（前囟与后囟高度差 \leq 0.1 mm）

3. 确定注射坐标

暴露前囟，侧脑室注射：前囟后0.8 mm，中线旁1.5 mm，深度2.5 mm；海马CA1区注射：前囟后2.0–3.0 mm，旁开2.0 mm，深度2.8–3.0 mm

4. 进针灌注

缓慢注入A β 1-42（5 μ g/ μ L，总剂量8 μ g），速度0.5 μ L/min；留针5分钟

5. 封闭缝合

骨蜡封闭颅骨孔，缝合头皮，庆大霉素冲洗创口，腹腔注射头孢曲松（50 mg/kg \times 3天）

6. 模型验证

Morris水迷宫、Y迷宫、新物体识别、免疫组化、Elisa

常见问题解析

1. 高剂量A β 或注射过快引发强烈炎症反应，导致胶质细胞过度激活，干扰AD特异性病理判断怎么办？

①优化剂量起始剂量，逐步递增至有效剂量；②设置含二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide, DMSO）的生理盐水对照组，排除溶剂炎症效应。

2. A β 局部聚集与组织损伤是什么原因？

①单点注射高浓度A β （>200 μ M）导致局部渗透压失衡，引发组织水肿和机械压迫；②A β 寡聚体自发聚集成原纤维（直径>50 nm），阻塞微血管并诱发缺血性坏死；③A β 激活小胶质细胞释放MMP-9，降解细胞外基质，扩大组织损伤范围。

3. 动物存活率低是什么原因？

①未清除的结缔组织（厚度>50 μ m）缠绕钻头，导致钻头偏移并撕裂硬脑膜，可用3 % H₂O₂棉球擦拭颅骨表面30秒溶解筋膜或显微镊清理残留纤维；②钻头穿透颅骨（小鼠颅骨厚度0.2-0.3 mm）后继续深入>0.5 mm或速度过快，直接损伤皮层血管（如矢状窦）导致脑出血。

4. 行为学缺陷不明显是什么原因？

①动物年龄轻（<6月龄突触储备足），选用老年小鼠（>12月龄），神经元易损性更高；②A β 毒性不足，联合应激（如水迷宫前强迫游泳）放大认知缺陷；③测试过早，可延长A β 1-42模型至10-14天；

参考文献

- [1] Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, et al. Correlative memory deficits, A β elevation, and amyloid plaques in transgenic mice [J]. Science, 1996, 274:99-102.
- [2] Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes [J]. Acta. Neuropathology, 1991, 82:239-59.