

総説 創薬における薬理学の役割

創薬のための新しい病態モデル

中島 光好, 梅村 和夫, 滝口 祥令

はじめに

医薬品の開発は、化学合成、抽出、遺伝子組み替えなどにより化学物質を作ることから始まる。しかし、医薬品として認められるのはその内ごくわずかである。

医薬品は患者に効果が見られなくてはならない。しかし、医薬品候補物質をすぐさま患者に投与することは許されない。動物実験が必須である。動物実験で数多くの候補物質がフルイにかけられ、消えていく。このフルイが優れたものでなくては、よい薬を見逃したり、余りよくない薬を残して、無駄をすることになる。それを避けるためにはヒトの病態に最も近い動物病態モデルを作製することにある。現在まで数多くの病態モデルが作られたが、まだまだ、十分完全に満足すべきものは得られてはいない。

病態モデルの作製方法としては、遺伝子操作によるもの、自然発症によるもの、動物に操作を加えて病態を作るものなど色々ある。循環系薬物の分野でも、遺伝子操作によるものとして、つくば高血圧マウス(1)がある。このモデルはマウスの遺伝子に人のアンジオテンシノーゲンとレニンの遺伝子を挿入し、過剰に発現させ、高アンジオテンシン血症による高血圧を惹起させたものである。今後、レニン-アンジオテンシン系の生理的役割の検討に有用であると思われる。自然発症モデルとしては、WHHL ウサギ(2)がある。高脂血症や動脈硬化の病態の解明や医薬品の開発に大いに貢献してきた。さらに、モノクロタリンを投与することによりできる肺高血圧症モデル(3)、心筋梗塞モデル、心肥大モデル、血栓モデルなどがある。

近年、高齢化社会と共に血栓症疾患の増加は著しい。その治療薬、予防薬の開発は緊急の課題である。ここで、新しく我々の教室で開発した血栓症動物モデルに重点をあて記述した。

1. 血栓形成の原理

血栓作製過程において、我々は光増感反応を利用して、光増感反応の原理は、特定波長に対して選択的感受性を有する物質(光増感剤)に特定波長の光を照射することにより、励起状態とし、その物質自身が直接的、あるいは他の分子にエネルギーをわたすことにより間接的に活性種を生成させることである。今回、この原理を利用し、光増感剤として色素であるローズベンガルを用い、540 nm の波長の緑色光をローズベンガルに照射すると、ローズベンガルが励起状態になり、その励起状態のエネルギーを酸素に移すことで活性酸素種が生成される。この生成された活性酸素種はほとんどが一重項酸素である(4, 5)。活性酸素種による生体内標的分子としては脂質、核酸、酵素、タンパク質が重要である。特に、細胞膜の脂質中に局在する高度不飽和脂肪酸は活性酸素により過酸化脂質になり、直接的あるいは間接的に生体膜に障害を引き起こす。つまり、ローズベンガルを静脈内に投与し、選択的、局所的に緑色光を照射し、局所の血管で活性酸素種を発生させる。その活性酸素種は、血管内皮細胞を障害し、血小板を活性化させ、血栓形成を引き起こす(6~8)。

我々はこの光増感反応を利用して作成した血栓モデルを PIT (Photochemically Induced Thrombosis) モデルと省略して呼んでいる。

II. PIT モデルの応用範囲

マウスなどの小動物からラット、ウサギ、ネコ、イヌなど大動物にいたるまで色々な動物に応用できるが、更に大腿動脈に限らず冠動脈、腸間動脈、口腔粘膜血管、また動脈にだけでなく静脈までに適用できる。とりあえず論文に発表済みのモデルを下記に示す。

- ・大腿動脈血栓モデル (ラット, モルモット)(9~13)
- ・冠動脈血栓モデル (ラット)(14)
- ・内耳微小循環障害モデル (ラット)(13, 15~18)
- ・前下小脳動脈血栓モデル (ラット)(19~20)
- ・中大脳動脈血栓モデル (ラット)(9, 21)

この PIT モデルの特徴をまとめると次の如くである。

1) 動脈血栓の特徴を有している。

先に述べたように光増感剤であるローズベンガルに緑色光を照射し活性酸素種を発生させ、その活性酸素種が血管内皮細胞を障害し、そこに活性化された血小板が粘着、凝集し、血栓を形成する。これは、血小板豊富な動脈血栓の特徴を有している。

2) 簡便で再現性がよい。

血管に緑色光を照射するだけで血栓形成が可能であり、たいへん簡便である。さらに、緑色光の光度とローズベンガルの用量を調整することで再現性のよい血栓形成が可能である。

3) 微小循環まで幅広く応用できる。組織下の血管床にも血栓作成が可能である。

緑色光を絞ることで微小循環に選択的に血栓形成が可能である。また、緑色光を骨などの上から照射しても、その下にある血管床に血栓形成が可能である。

この PIT モデルの説明としてラットの大腿動脈血栓モデルを用いた場合を取り上げる。

Wistar 雄性ラット(250-280 g)を使用し、ペントバルビタール (50 mg/kg, i.p.) 麻酔下到大腿動脈を露出し、超音波ドップラー血流計のプロローベを大腿動脈にかけ、血流を測定する。反対側の大腿静脈にローズベンガル (10 mg/kg) 投与用のカニューレを留置する。大腿動脈にかけた血流計のプロローベの中枢側に直径 3 mm の緑色光を照射する。緑色光は浜松ホトニクス社製(血栓モデル作成用光源, L4887)のキセノン光源に、540 nm にピークのあるグリーンフィルターと熱吸収フィルターを装着し、直径 3 mm のファイバーにて誘導した。

図 1 は典型的な大腿動脈血流の記録であるが、緑色光照射下に、ローズベンガルを投与すると、約 5 分後に血流は完全停止する。

血流停止後の大腿動脈の光学顕微鏡所見を図 2 に示した。動脈内は血栓にて完全閉塞し、照射側には、フィブリン塊が充満している。そのフィブリン塊に赤血球が取り込まれて、血栓を形成している像がみられる。

透過電子顕微鏡所見を図 3 に示す。図 3 a は、緑色光のみを大腿動脈に照射したものであるが、血管内皮細胞にはなんの障害も認められない。図 3 b は緑色光照射下にローズベンガル投与 3 分後であるが、内皮細胞(矢印)

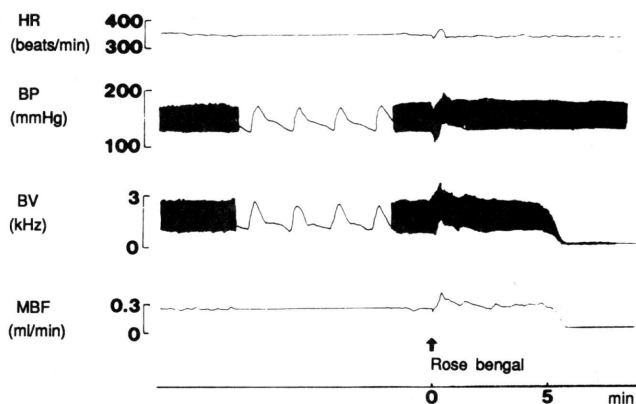


Fig. 1 A typical tracing of heart rate (HR), blood pressure (BP), blood velocity (BV) and mean blood flow (MBF). Photo-illumination was irradiated and rose bengal (10 mg/kg, arrow heads) was injected-intravenously.

は内弾性板より剥離し、さらに、投与5分後では、血管内皮細胞(EC)が剥離し、血管内に露出した内弾性板(BL)に活性化された血小板(P)が粘着している像がみられる(図3c)。そして、時間が進むと、血管内皮細胞は完全に内弾性板から剥がれ、そこにさらに多くの血小板が粘着、凝集している(図3d)。

また、走査電子顕微鏡所見を図4に示す。図4aは、緑色光のみを大腿動脈に照射したものであるが、血管内皮細胞は整然と並んでおり、なんら障害は認められない。図4bは血栓形成後の大腿動脈である。血管内に充満していた血栓を洗い流して、血管内側壁を観察した。血管内側壁には多数の活性化された血小板が偽足を出し、粘着、凝集している像がみられる。

このことから、この方法による動脈血栓は血管内皮細胞の障害により、血小板が活性化され、血管内側壁に血小板が粘着、凝集し、フィブリン塊がそれを覆い、血管が閉塞するもので、この血栓は、臨床での動脈血栓症の像とよく似ている。

この様な特徴を有するPITをラット中大脳動脈に適用した。このモデルについてふれる。

長寿社会を迎え、老人性痴呆、脳血栓症、脳循環障害による脳疾患患者が増えることが予想され、それらの疾患の予防薬や治療薬の開発が期待されている。そのため

には、適当な病態モデルが必要である。中大脳動脈閉塞による脳梗塞モデルは今までにいろいろなものが報告されてきた。たとえば、中大脳動脈を直接結紮(22, 23)したり、電気焼灼(24)したり、切断(25)するものや、血管内に糸(26)を挿入したり血栓を注入し閉塞するモデル(27)が報告されている。しかし、操作が難しく、再現性が薄く、再開通、再閉塞がみられないなど、脳血栓症における予防薬や血栓溶解薬の評価法としては不満足である。そこで、ラット中大脳動脈 PIT モデルを作製し、薬効評価に応用した。

Ⅲ. ラット中大脳動脈血栓モデル作製法

Wistar 系雄性ラット (250-280 g) を使用し、ペントバルビタール (50 mg/kg, i.p.) 麻酔下 に左眼窩上部から後部にかけて、皮膚切開を入れる。皮膚を翻転し、眼球を摘出する。側頭筋を一部切断し分け、側頭下窩の頭蓋底を直視下におく。手術用顕微鏡下に下顎神経孔の直前に手術用のドリルで骨を削り、長径約4 mm の楕円形の窓を作成する。硬膜を傷つけないように骨片を除き中大脳動脈の本幹を手術用顕微鏡下におく。大腿静脈にローズベンガルや薬物の投与用のカニューレを留置する。

直径3 mm のファイバーを頭蓋底の窓におき、緑色

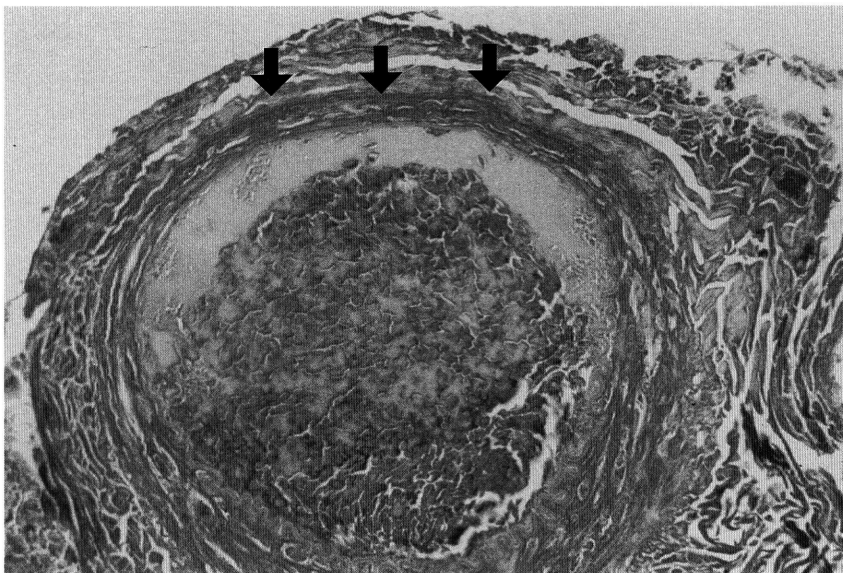


Fig. 2 Micrograph of transverse section of the completely occluded femoral artery. Amorphous materials are seen at the irradiated site of the artery (arrow head) ($\times 150$).

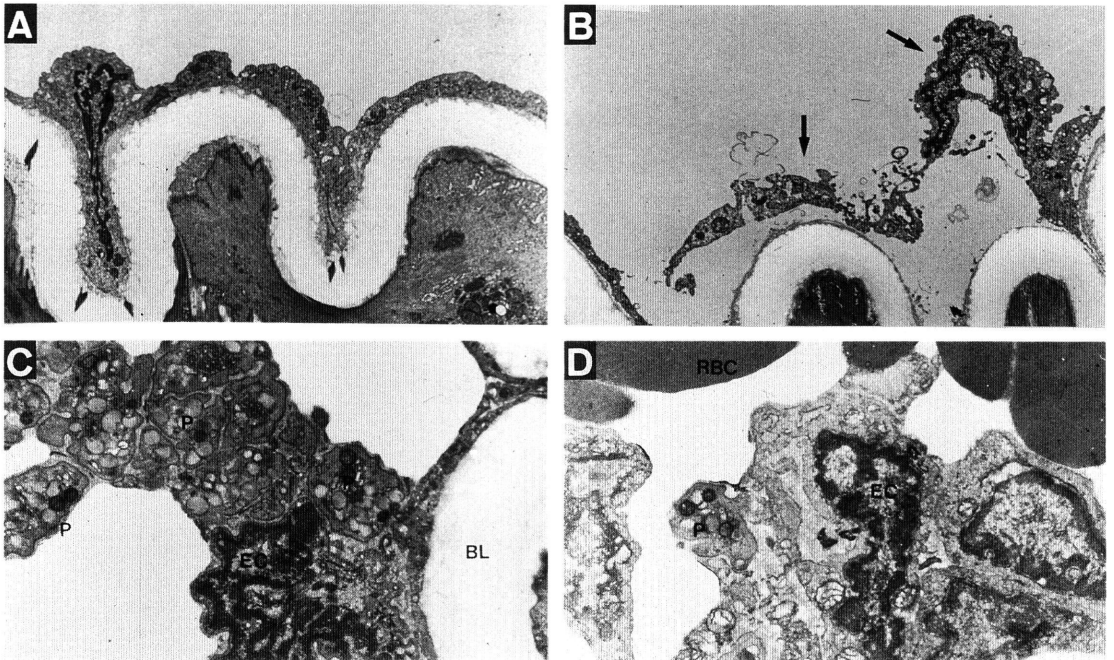


Fig. 3 A: Apparently intact endothelial cells exposed only to green light without any injection of rose bengal ($\times 12000$). B: The endothelial cells are detached from the basal lamina (arrow heads) ($\times 12000$). C: 5 min after the injection. Endothelial cell (EC) detachment is more apparent and the detached endothelium is swollen with a dilated endoplasmic reticulum. Activated platelets (P) appear in close proximity to or are adherent to the detached surface and accumulate at that site. BL: the elastic membrane. D: Rouleaux-formation of erythrocytes (RBC) is evident over the massive aggregation of platelets. Some endothelial cells (EC) are torn out and completely detached.

光を中大脳動脈に照射する。そして、ローズベンガル (20 mg/kg) を静脈内投与すると、約6分後に、血栓にて中大脳動脈の完全閉塞が顕微鏡下に観察される。照射は10分間行い、手術創を閉じる。ローズベンガル投与のみ、あるいは緑色光照射のみでは手術用顕微鏡下に、中大脳動脈になんら変化は観察されない。

IV. 中大脳動脈血栓の組織学的検討

中大脳動脈の血栓形成を確認するため、次の実験を行った。緑色光照射下にローズベンガル投与10分後に、ペントバルビタール麻酔下に、経心臓的に脳を、生理的食塩液で還流し、その後、10%ホルムアルデヒドで還流固定する。脳を摘出し、10%ホルマリンで固定し、血栓を光学顕微鏡下に観察する。また、他の動物で走査電子顕微鏡の検討のために、2%グルタルアルデヒドにて還流固定する。

図5は光学顕微鏡所見であるが、中大脳動脈の管腔内はフィブリン様物質で充満しており、一部赤血球が見られる。走査電顕像では管腔内に血小板豊富な血栓像がみられる(図6)。

このことから、中大脳動脈においても大腿動脈同様に血管内皮細胞障害により血小板豊富な血栓形成が起き(6~8)、大腿動脈よりも中大脳動脈のほうが組織学的には血小板豊富な血栓像を呈していることが分かる。

V. 中大脳動脈 PIT モデルの特徴

1) 血栓による閉塞である。

血管内皮細胞障害による動脈血栓による中大脳動脈の閉塞であるので、血栓形成の予防効果や血栓溶解薬の評価モデルとして、有用である。

2) 簡便で、再現性がよい。

頭蓋底に窓をつくり、そこから緑色光を照射するだけ

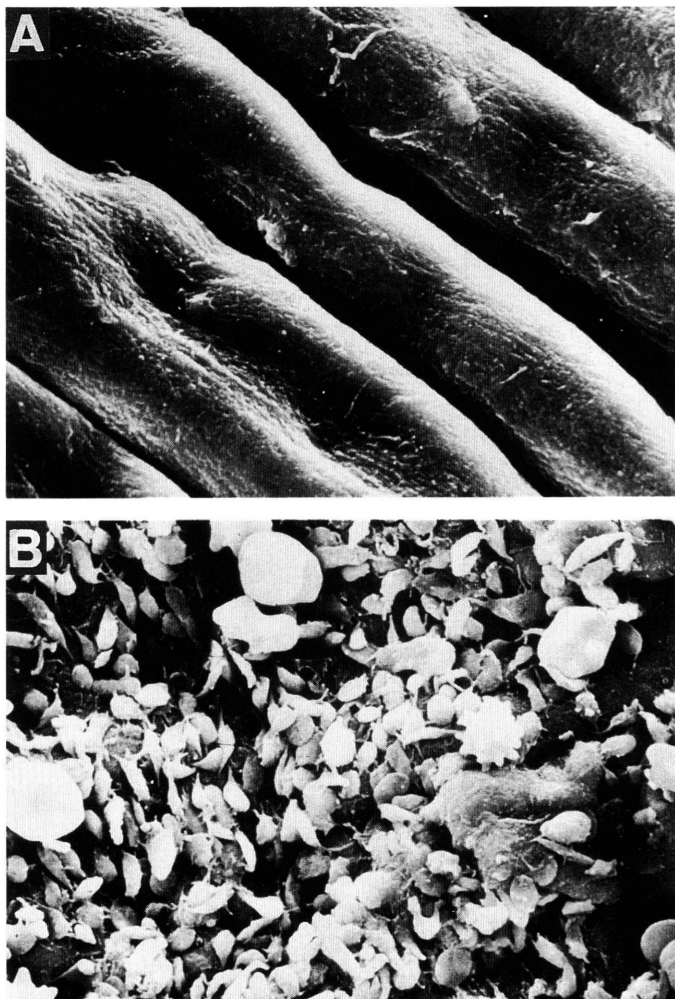


Fig. 4 A: Apparently intact luminal surface exposed only to green light without any injection of rose bengal ($\times 6300$). B: When the packed lumen was rinsed with saline before fixing with glutaraldehyde, platelets with pseudopods are shown to adhere to the swollen endothelial cells ($\times 31500$).

で、中大脳動脈に血栓が誘導でき、手術操作は簡便である。血栓形成時間や中大脳動脈閉塞による脳梗塞面積の再現性はかなりよい。

3) 硬膜に傷をつけないので、手術侵襲が少なく、慢性実験も可能である。

硬膜を切開せずに、緑色光を照射するだけで血栓が誘導できるので、手術侵襲が少なく、さらに、硬膜切開時の出血やその後の感染などがなく、慢性実験が可能である。

VI. 脳梗塞面積の測定

24時間後にペントバルビタール麻酔下に脳を取り出し、マイクロスライサーにて前頭部より、横断面で1 mm

厚のスライスを作成した。トリフェニールテトラゾリウムクロライド (TTC) にて染色し、脳梗塞の面積を測定した。染色したそれぞれのスライスを、ポラロイドカメラで撮影し、コンピューターでそれぞれのスライスの脳の総横断面積における梗塞の割合を計算した。

図7はそれぞれのスライスをポラロイドカメラにて撮影したものであるが、左中大脳動脈領域の皮質に梗塞が認められ、線条体の一部にも梗塞が広がっている。

図8は10匹のラットにおけるそれぞれのスライスでの梗塞面積の割合を示したものである。総梗塞面積は約16%でそれぞれの動物の梗塞面積のばらつきはかなり小さく、再現性がよい。

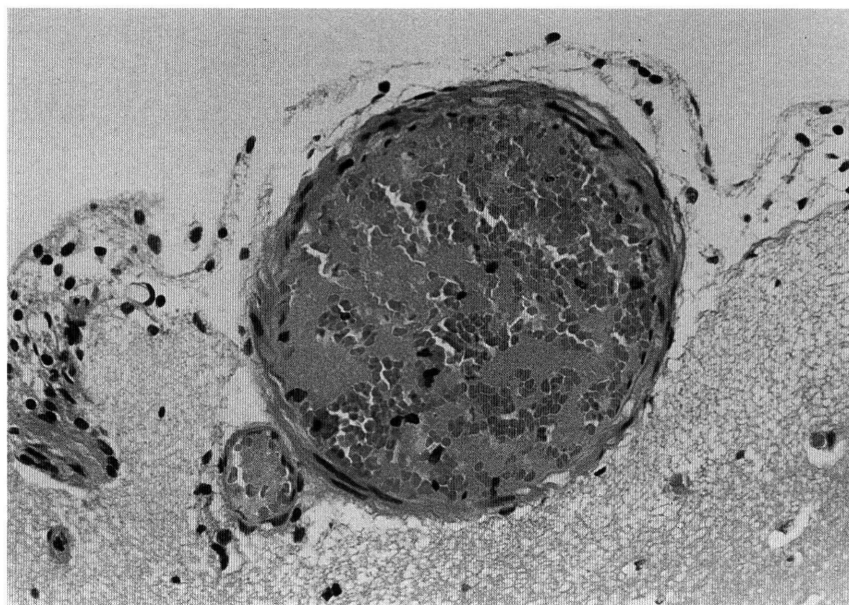


Fig. 5 Histological observation. Transluminal thrombus was massive and consisted of numerous red blood cells and amorphous materials, such as fibrin nets and platelets. Hematoxylin and eosin ($\times 300$).



Fig. 6 Scanning electron micrography of the middle cerebral artery. The lumen is packed with numerous platelets.

VII. 血栓溶解薬の評価

中大脳動脈に血栓形成30分後に modified tissue-type plasminogen activator (tPA) を単回静脈投与した。tPA 投与後、手術用顕微鏡下に中大脳動脈の再

開通の有無を観察した。今回使用したtPAはSUN9216で天然型 tPA と比べ、finger domainとgrowth factor domain が除かれ、さらに117番目糖鎖を置換した構造を有しており、血中消失半減期は天然型 tPA に比べ、延長している(28)。

tPA 投与後60分間、中大脳動脈の再開通の有無を観察し、その後、術創を閉めた。24時間後に脳を摘出し、TTC にて脳を染色し梗塞面積を測定した。

図9は梗塞面積を示したものであるが、tPA 投与後60分以内に再開通の認められたものは、24時間後の梗塞面積は有意に小さくなっている。さらに、図10はtPA投与から再開通までの時間と24時間後の梗塞面積との関係を示したものである。梗塞面積は90分までは再開通までに要した時間とよい相関を示しており、中大脳動脈閉塞後90分以内にtPAにて再開通しなければ、24時間後の梗塞面積を小さくすることが難しいという結果であった。

まとめ

薬物の開発には、より臨床に近い動物病態モデルの開発が必須である。さらに、病態モデルにより病因やいろいろな薬物の作用機序を明らかにすることができる。よ

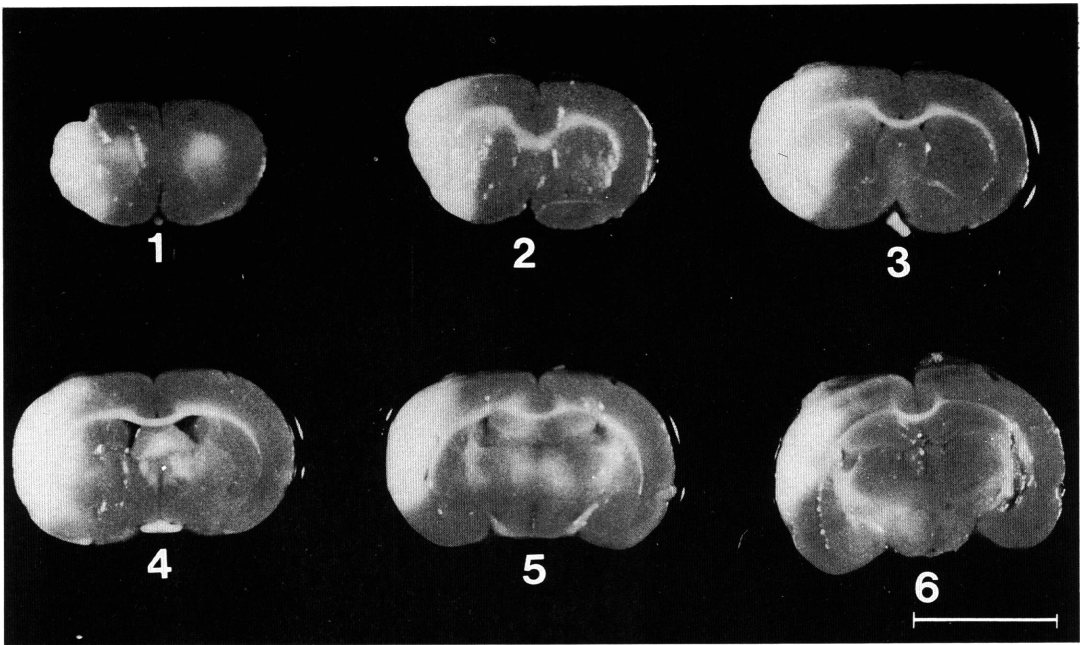


Fig. 7 A typical photograph of cerebral infarction stained with triphenyltetrazolium chloride 24 hr after the occlusion of the MCA in control animals. Each section was cut coronally in 1-mm-thick slices from the frontal lobe. The left dorsolateral frontoparietal cortex and the left dorsolateral portion of the striatum were consistently infarcted. The bar indicates 10 mm. The order of numbers represents the position from the frontal lobe.

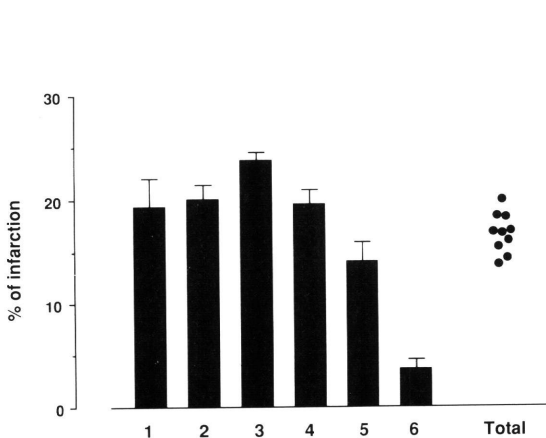


Fig. 8 Size of cerebral infarction in 10 animals 24 hr after the operation. Data are expressed as the mean \pm S.E. The number shows the position of the slice. Total: areas of infarction in 6 slices were calculated.

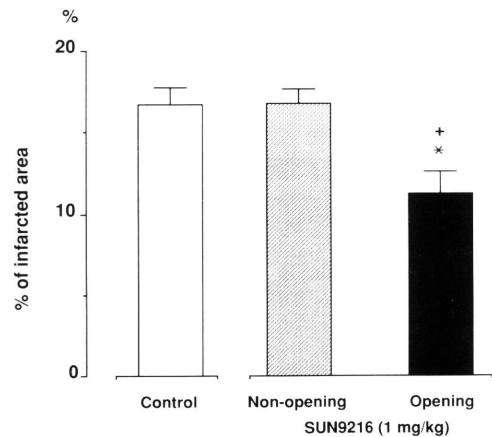


Fig. 9 Size of the cerebral infarction 24 hr after the occlusion of MCA in animals treated with SUN9216. Data are expressed as the mean \pm S.E. * $P < 0.05$, v.s. animals treated with saline, + $P < 0.05$, v.s. animals without the reopening of MCA occlusion.

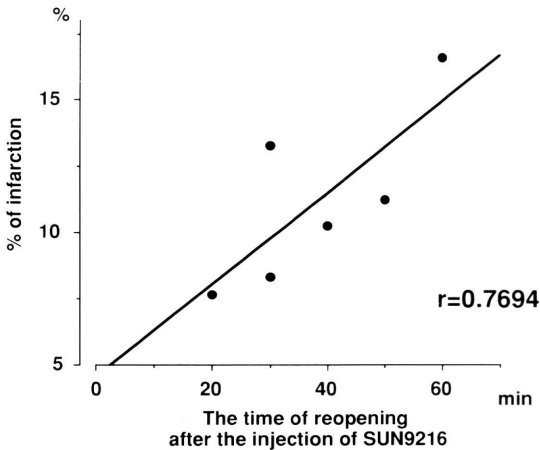


Fig. 10 The correlation between the area of the cerebral infarction 24 hr after the occlusion of the MCA and the time of the reopening of MCA occlusion.

りよい病態モデルの開発が益々望まれるところである。

文 献

- 1) Fukamizu, A., Sugiyama, K., Takimoto, E., Sugiyama, F., Seo, M.S., Takahashi, S., Hatae, T., Kajiyama, N., Yagami, K. and Murakami, K.: Chimeric renin-angiotensin system demonstrates sustained increase in blood pressure of transgenic mice carrying both renin and human angiotensinogenes. *J. Biol. Chem.*, in press (1993)
- 2) Shiomi, M., Ito, T., Shiraishi, M. and Watanabe, Y.: Inheritability of arteriosclerosis and the role of lipoproteins as risk related to coronary atherosclerosis are different from those related to aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis* **96**, 43~52 (1992)
- 3) Miyauchi, T., Yorikane, R. and Goto, K.: Rats with pulmonary hypertension induced by monocrotaline, a plant pyrrolizidine alkaloid. *Japan. J. Pharmacol.* **61**, Supp. I, 37P (1993)
- 4) Lee, P.C. and Rodgers, M.A.J.: Laser flash photokinetic studies of rose bengal sensitized photodynamic interactions of nucleotides and DNA. *Photochem. Photobiol.* **45**, 79~86 (1987)
- 5) Kukreja, R.C., Kearns, A.A., Zweier, J.L., Kuppasany, P. and Hess, M.L.: Singlet oxygen interaction with Ca^{2+} -ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circ. Res.* **69**, 1003~1014 (1991)
- 6) Matsuno, H., Uematsu, T., Umemura, K., Asai, Y., Muranaka, Y. and Nakashima, M.: Simple and reproducible cerebral thrombosis model in rats due to the photochemical reaction and effect of a novel tPA (SUN9216) using the model. *J. Pharmacol. Methods*, in press (1993)
- 7) Watson, W.D., Dietrich, W.D., Busto, R., Watchel, M.S. and Ginsberg, M.D.: Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann. Neurol.* **17**, 497~504 (1985)
- 8) Dietrich, W.D., Watson, B.D., Busto, R., Ginsberg, M.D. and Bethea, J.R.: Photochemically induced cerebral infarction. 1. Early microvascular alterations. *Acta Neuropathol. (Berlin)* **72**, 315~325 (1987)
- 9) Matsuno, H., Uematsu, T., Nagashima, S. and Nakashima, M.: Photochemically induced thrombosis model in rat femoral artery and evaluation of effects of heparin and tissue-type plasminogen activator with use of this model. *J. Pharmacol. Methods* **25**, 303~318 (1991)
- 10) Matsuno, H., Uematsu, T., Umemura, K., Takiguchi, Y., Wada, K. and Nakashima, M.: Effects of vapiprost, a novel thromboxane receptor antagonist, on thrombus formation and vascular potency after thrombolysis by tissue-type plasminogen activator. *Br. J. Pharmacol.* **106**, 533~538 (1992)
- 11) Takiguchi, Y., Wada, K. and Nakashima, M.: Comparison of the inhibitory effects of the TXA2 receptor antagonist, vapiprost, and other antiplatelet possible role of TXA2. *Thromb. Haemostas.* **68**, 460~463 (1992)
- 12) Hirata, Y., Takiguchi, Y., Wada, K., Matsuno, H., Umemura, K., Uematsu, T. and Nakashima, M.: Roles of platelet-activating factor, thromboxane A2, ADP and thrombin in thrombogenesis of the guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.* **231**, 421~425 (1993)
- 13) Umemura, K., Kohno, Y., Matsuno, H., Uematsu, T. and Nakashima, M.: A new model for photochemically induced thrombosis in the inner ear microcirculation and the use of hearing loss as a measure for microcirculatory disorders. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol.* **248**, 105~108 (1990)
- 14) Fukuchi, M., Uematsu, T., Araki, S. and Nakashima, M.: Photochemically induced thrombosis of the rat coronary artery and functional evaluation of thrombus formation by occurrence of ventricular arrhythmias: effects of aspirin and a thromboxane A2 synthetase inhibitor on thrombus formation. *Arch. Pharmacol.* **346**, 550~554 (1992)
- 15) Kohno, Y., Umemura, K., Asai, Y., Uematsu, T. and Nakashima, M.: A new model of equilibrium dysfunction induced by photochemical damage to the inner ear microcirculation. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol.* **249**, 283~286 (1992)

- 16) Umemura, K., Asai, Y., Hirata, Y., Uematsu, T. and Nakashima, M.: Effect of ibudilast in inner ear's microcirculation thrombosis. *Japan. J. Pharmacol.* **61**, 75~79 (1993)
- 17) Umemura, K., Asai, Y., Kohno, Y., Uematsu, T. and Nakashima, M.: Role of thromboxane A2 in rat inner ear's microcirculation disorder. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol.* (in press)
- 18) 梅村和夫, 浅井美洋, 水田邦博, 中島光好, 野末道彦: 内耳微小循環障害によるラット難聴モデル. *耳鼻臨床 補* **60**, 151~154 (1992)
- 19) Asai, Y., Umemura, K., Kohno, Y., Matsuno, H., Uematsu, T., Nakashima, M. and Nozue, M.: An animal model of hearing disturbance due to the inner ear ischemia caused by the photochemically induced thrombotic occlusion of the rat anterior inferior cerebellar artery (AICA). *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol.* (in press)
- 20) 浅井美洋, 梅村和夫, 中島光好, 野末道彦: 前下小脳動脈血栓によるラット難聴モデル. *耳鼻臨床 補* **60**, 155~159 (1992)
- 21) Umemura, K., Wada, K., Uematsu, T. and Nakashima, M.: Evaluation of the combination of tissue-type plasminogen activator, SUN9216, and a thromboxane A2 receptor antagonist, vapiprost in rat middle cerebral artery thrombosis model. *Stroke* (in press)
- 22) Tamura, A., Graham, D.I., McCulloch, J. and Teasdale, G.M.: Focal cerebral ischemia in the rat: 1. description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**, 53~60 (1981)
- 23) Coyle, P.: Middle cerebral artery occlusion in the young rat. *Stroke* **13**, 855~859 (1982)
- 24) Del Zoppo, G.J., Copeland, B.R., Harker, L.A., Waltz, T.A., Zyroff, J., Hanson, S.R. and Battenberg, E.: Experimental acute thrombotic stroke in baboons. *Stroke* **17**, 1254~1265 (1986)
- 25) Brint, S., Jacewicz, M., Kissling, M., Tanabe, T. and Pulsinelli, W.: Focal brain ischemia in the rat: Methods for reproducible cortical infarction using tandem occlusion of the distal middle cerebral and ipsilateral common carotid artery. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **8**, 474~485 (1988)
- 26) Longa, E.Z., Weinstein, P.R., Carlson, S. and Cummins, R.: Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* **20**, 84~91 (1989)
- 27) Phillips, D.A., Davis, M.A. and Fisher, M.: Selective embolization and clot dissolution in the internal carotid artery circulation of the rabbit: An improved model. *Am. J. Neuroradiol.* **9**, 899~902 (1988)
- 28) Larsen, G.R., Timony, G.A., Horgan, P.G., Barone, K.M., Henson, K.S., Angus, L.B. and Stoudemire, J.B.: Protein engineering of novel plasminogen activators with increased thrombolytic potency in rabbits relative to activase. *J. Biol. Chem.* **266**, 8156~8161 (1991)

Abstract—New animal models for drug discovery research: Focus on cardiovascular diseases. Mitsuyoshi NAKASHIMA, Kazuo UMEMURA and Yoshiharu TAKIGUCHI (Department of Pharmacology, Hamamatsu University School of Medicine, 3600 Handa-cho, Hamamatsu 431-31, Japan).

Folia pharmacol. japon. **102**, 191~199 (1993)

Development of novel drugs relies on research to discover new drugs. Testing and evaluating new drugs on human subjects are usually impossible because of ethical concerns. Therefore, for drug discovery research, it is essential to establish animal models of human diseases. Numerous animal models have been developed and used in drug discovery and evaluation studies. Such animal models have had important roles in developing new drugs as well as understanding the etiologies of diseases. In the field of cardiovascular drugs, several interesting animal models are currently in use. These include, transgenic mice carrying both human renin and human angiotensinogen genes, Watanabe's heritable hyperlipidemic rabbits, rats with pulmonary hypertension induced by monocrotaline, myocardial infarction model, cardiac hypertrophy model and photochemical thrombosis models. It is envisaged that for drug discovery and development, the search for more physiological animal models will continue in the future.