



庄乐南, 研究员, 博士生导师。2011年博士毕业于中国科学院上海生物化学和细胞生物学研究所, 2013年赴美国国立卫生研究院(NIH)糖尿病消化与肾病研究所(NIDDK)从事表观遗传与代谢疾病相关研究, 2018年赴美国德州大学西南医学中心(UTSW)从事表观遗传与肌肉和心脏疾病相关研究。目前担任浙江大学动物科学学院动物医学系副主任, *Life*、*Medicine*、*Journal of Veterinary and Marine Research*等多种学术期刊的编委或学术编辑, 中国畜牧兽医学会生理生化学分会及动物遗传育种学分会理事。主要利用基因编辑猪模型研究心血管代谢与疾病的表观遗传学与转录调控机制。主持国家自然科学基金项目2项, 国家重点研发计划课题1项, 浙江大学校长专项前沿基础研究计划1项。在*Nature*、*Circulation*、*Nature Communications*、*Biomaterials*、*JCI*、*PNAS*等国际高水平期刊上发表学术论文30余篇。

肺动脉高压动物模型及其在药物研究中的应用进展

俞佳慧¹, 巩倩¹, 庄乐南^{1,2,3}

(1. 浙江大学动物科学学院动物医学系, 杭州 310058; 2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院心内科, 浙江省心血管介入与再生修复研究重点实验室, 杭州 310016; 3. 浙江大学动物科学学院动物遗传育种与繁殖研究所, 杭州 310058)

[摘要] 肺动脉高压是一种由肺血管重构引起血管阻力增大的临床综合征, 若不治疗将导致右心衰竭, 甚至死亡。目前关于肺动脉高压的病理机制尚未明确, 且临床治疗方法未能有效改善预后或降低死亡率。为了深入研究肺动脉高压的发病机制并开发更加安全有效的药物, 建立合适的疾病动物模型在临床前研究中必不可少。本文概述了肺动脉高压的病理特征, 并总结了各类肺动脉高压动物模型, 同时阐述了近5年内肺动脉高压动物模型在3种治疗途径及相关药物研究中的应用进展, 以期对肺动脉高压动物模型的选择和研究应用提供参考。

[关键词] 肺动脉高压; 动物模型; 药物评估

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)04-0381-17



Animal Models of Pulmonary Arterial Hypertension and Their Application in Drug Research

YU Jiahui¹, GONG Qian¹, ZHUANG Lenan^{1,2,3}

(1. Department of Veterinary Medicine, College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Cardiology, Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Key Laboratory of Cardiovascular Intervention and Regeneration Medicine of Zhejiang Province, Hangzhou 310016, China; 3. Institute of Animal Genetics, Breeding and Reproduction, College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Correspondence to: ZHUANG Lenan (ORCID: 0000-0001-9561-8396), E-mail: zhuangln@zju.edu.cn

[ABSTRACT] Pulmonary arterial hypertension is a clinical syndrome characterized by pulmonary vascular remodeling causing increased vascular resistance, which will lead to right heart failure and even death if left untreated. The pathogenesis of pulmonary arterial hypertension has not yet been clarified, and clinical treatments have not been effective in improving prognosis or reducing mortality. To investigate the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension and to develop and evaluate more effective and safer drug treatments, establishing related animal disease models is very important. This paper outlines the pathological characteristics of pulmonary arterial hypertension and summarizes the various types of

[基金项目] 国家重点研发计划发育编程及其代谢调节重点专项“重大人类发育性疾病猪模型的建立及发病机理研究”(2021YFA0805902); 国家自然科学基金项目“Txlnb通过调控Parkin促进心肌细胞线粒体自噬与稳态维持的机制研究”(32270884)

[第一作者] 俞佳慧(2001—),女,本科生,专业方向:动物医学专业。E-mail: 3190101359@zju.edu.cn

[通信作者] 庄乐南(1983—),男,博士,研究员,研究方向:心血管疾病。E-mail: zhuangln@zju.edu.cn。ORCID: 0000-0001-9561-8396

animal models of pulmonary arterial hypertension, as well as describes the progress of the application of these models in three therapeutic pathways and related drug research in the past five years, with a view to providing a reference for the selection of animal models of pulmonary arterial hypertension and research applications.

[Key words] Pulmonary arterial hypertension; Animal models; Drug evaluation

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一种以肺血管过度收缩和重构为特征的临床综合征^[1]。由肺动脉内皮细胞 (pulmonary artery endothelial cells, PAECs)、肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary artery smooth muscle cells, PASMCs) 和成纤维细胞增生以及炎症细胞过度浸润等因素引起的肺血管重构^[2], 将导致肺血管阻力和肺动脉压力异常升高; 如不及时治疗, 右心室后负荷持续增加会引发右心衰竭而致死^[1]。PAH 是一种特别严重的渐进性疾病, 其动脉病变的程度使 PAH 区别于肺高压 (pulmonary hypertension, PH)^[3]。近年来, 探寻 PAH 的病理机制和治疗靶点一直是该研究领域的热点。

研究指出, PAH 的分子机制涉及血管活性物质失衡、细胞增殖与血管重构、内皮修复与血管生成、炎症反应、血栓形成等多个方面^[1]。在高通量测序技术的迅速发展下, 许多与 PAH 相关的致病基因, 如骨形态发生蛋白受体 2 (bone morphogenetic protein receptor II, *BMPR2*)、激活素受体 II 型样蛋白 1 (activin receptor type II-like 1, *ACVRL1*, 也称为 *ALK1*)、内皮糖蛋白 (endoglin, *ENG*)、母亲抗十肽同源物 9 (mothers against decapentaplegic homolog 9, *SMAD9*)、钾亚家族 K 成员 3 (potassium subfamily K member 3, *KCNK3*) 等得以被发现^[4], 但引发 PAH 的机制仍未能被完全揭示。尽管药物治疗在一定程度上改善了患者的症状并减缓了疾病的恶化, 但 PAH 仍然无法从根本上被治愈^[2,5,8-9]。目前针对 PAH 的药物治疗主要是联合应用靶向治疗血管内皮紊乱的特异性药物^[5-7], 但尚无法逆转血管重构^[2]。因此, 深入了解 PAH 的病理改变和发病机制对开发和优化治疗策略具有指导性意义。

在研究 PAH 病理机制、发现新型治疗靶点的过程中, PAH 疾病动物模型发挥着重要作用^[2], 但值得注意的是, 尚没有一种模型能够充分模拟临床重度 PAH 的病理特征^[1,3,10]。因此, 开发更加理想的 PAH 疾病动物模型将会是推进 PAH 病理学研究和治疗评估的关键。本文旨在通过总结并比较多种 PAH 动物模型的特

点及其在药物研究方面中发挥的作用, 为 PAH 疾病动物模型的构建及其在药物评估中的应用提供参考与指导。

1 PAH 的病理特征

PAH 是一种毛细血管前型 PH, 其特征是肺毛细血管前动脉阻力增加导致肺动脉压升高^[2,7]。PAH 的病理学特征包括肺小动脉的内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞过度增殖, 血管重构, 炎症细胞浸润等^[6], 进一步引起丛状病变、内膜增生以及血管肌化^[11], 这些严重的特异性血管病变主要出现在重度 PAH 患者中。肺小动脉内的细胞异常增殖会引发血管重构, 加之炎症细胞浸润, 使得肺毛细血管近端肺动脉发生闭塞, 综合血管收缩、原位血栓形成等因素^[3], 引起肺血管阻力和肺动脉压力增加, 从而极大地增加了右心室后负荷, 导致右心室代偿性肥大和右心衰竭^[4]。虽然 PAH 的病理学机制非常复杂, 涉及多种方面, 如内皮功能紊乱、平滑肌细胞增生、血管炎症、免疫失调等, 但最终都会引起血管的过度收缩以及肺血管细胞表型向抗凋亡、促增殖的方向改变^[5]。

内皮损伤是肺血管炎和阻塞性肺血管重构的初始触发因素, 组织学研究显示病变的肺血管存在内膜增生、中膜肥大、外膜增厚以及 PAECs 凋亡增加、PASMCs 增殖和抵抗凋亡等特征^[10]。在 PAH 中, 肺血管内皮功能紊乱不仅代表着血管舒张功能受损, 从而引发血管过度收缩, 同时也代表着血管生成和修复机制受损, 后者在血管重构中起着关键作用^[2], 但其原因和潜在机制仍未完全清楚。Humbert 等^[2]指出, 深入了解肺内皮细胞通信的转变将有利于更好地理解 PAH 的发病机制。在肺血管内皮细胞通讯中, 内皮素 (endothelin, ET)、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、前列腺素 (prostaglandin, PGI) 相关的信号通路具有调节血管收缩舒张的功能, 因此血管扩张剂成为近几十年来用于治疗 PAH 的主要药物, 用以恢复失调的内皮信号通路, 调节过度收缩的血管, 从而减缓 PAH 的恶化

速度。

2 PAH动物模型

2.1 单因素病理损伤动物模型

2.1.1 野百合碱诱导的PAH动物模型

野百合碱 (monocrotaline, MCT) 是来源于植物大托叶猪屎豆 (*Crotalaria spectabilis*) 的生物碱, 以能够引起肝毒性和PAH闻名^[10]。在肝脏中, MCT经细胞色素P450酶代谢后形成野百合碱吡咯 (monocrotaline pyrrole, MCTP), 引发肺血管内皮损伤^[10], 但目前关于MCT/MCTP如何引起肺血管内皮损伤的机制尚不明确^[9]。近期Xiao等^[12]证明了MCT能够聚集并激活肺动脉内皮细胞的钙敏感受体 (calcium-sensing receptor, CaSR), 这可能是MCT引起内皮损伤的重要机制。由于MCT引起的反应在不同的物种、品种品系以及细胞色素P450酶中存在差异^[3], 目前构建MCT诱导PAH的动物主要是Sprague Dawley (SD) 大鼠, 构建方法通常是采用单次皮下注射或腹腔注射MCT (60~80 mg/kg)^[10]。

MCT诱导的PAH动物模型具有可重复性强、成本低、无需复杂操作的优点, 能够较好地帮助人们理解肺血管重构的过程和病理生理学变化^[10]。目前该模型已广泛应用于研究突变基因在PAH中的影响、肺血管细胞 (包括PAECs和PASCs) 增殖与凋亡机制的调控以及基因治疗与细胞治疗等^[10]。Maarman等^[10]指出在MCT诱导的动物模型中, TGF- β -SMAD和BMPR2信号通路引起的损伤特点与人类PAH一致。在研究葛根素-V对PAH的疗效时, Chen等^[13]利用SD大鼠构建的MCT诱导型PAH动物模型表现出BMPR2/SMAD信号下调的特征, 证实了文献^[10]的观点。Su等^[14]则在该动物模型的肺组织中观察到长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) *H19*高表达, 并指出敲除lncRNA *H19*基因能够通过减缓PASCs增殖速度, 对PAH模型中的肺血管细胞起到保护作用。近期Omura等^[15]则利用SD大鼠构建MCT诱导的PAH动物模型来模拟右心室衰竭的发展过程, 发现lncRNA *H19*可作为阻止适应性右心室血管重构发展的治疗靶点。

炎症反应作为一种介导PAH血管重构的触发因素, 在PAH患者和实验性PAH动物模型中发挥了关键作用, 此外, 由病毒感染和血吸虫感染引发的PAH均与炎症反应相关^[1]。Schermyly等^[1]指出炎症细胞因子与趋化因子在PAH发生发展中具有重要作用: 在PAH患者体内检测到细胞因子循环水平增加, 其中白

细胞介素 (interleukin, IL) -6水平的升高会抑制BMPR2表达, 增加PAH的易感性; 趋化因子则会在患者肺部募集炎症细胞, 这些细胞可能会持续释放炎症介质和生长因子, 促使血管重构的形成, 但目前研究尚未阐明炎症是如何诱发PAH的。在MCT诱导的PAH动物模型中, 发现巨噬细胞、树突细胞、肥大细胞与IL-6、IL-1等在肺血管重构早期均起到了重要作用^[10], 提示该模型可以用于探究炎症反应在PAH中的关键作用和致病机制, 是炎症介导的良好PAH模型^[16]。另外值得关注的是, Yamazato等^[17]利用自体骨髓干细胞经气管内注射改善了MCT诱导的SD大鼠模型的肺血管重构和肺部炎症, 指出干细胞治疗或可以通过恢复或替代损伤的肺血管细胞来达到治疗PAH的目的^[10], 该研究为开展PAH相关的细胞治疗提供了新策略。

MCT诱导的PAH动物模型被认为是一种急性毒性模型, 除了MCT及其代谢产物的肺毒性^[18]外, 该模型的PAH表型通过实验干预或者药物治疗几乎可以被逆转, 这一点与人类PAH病理特征并不符合^[3], 因此在药物评价中使用MCT诱导的大鼠模型有一定局限性。

2.1.2 慢性低氧诱导的PAH动物模型

慢性低氧 (chronic hypoxia, CHP) 诱导的动物模型与MCT诱导的动物模型均为经典的PAH动物模型^[3], 在PAH研究中已应用了相当长的时间, 能帮助人们更好地理解PAH的发展过程, 为目前的PAH治疗奠定了基础^[19]。CHP能够引起啮齿类动物肺血管收缩, 持续性CHP暴露的环境会导致近端和远端肺血管的肌化程度增加, 导致肺血管阻力升高^[19]; 低氧还会诱导早期肺血管的炎症反应, 趋化因子早于炎症细胞 (主要是单核) 出现, 并且血管周围出现持续的炎症细胞浸润^[3]; 此外CHP诱导的模型造模成本低、方法简便、实验可预测性和可重复性强, 常被应用于研究PAH, 该模型还是评估基因编辑小鼠PAH易感性的重要工具^[19-20]。

许多物种在缺氧时会产生上述类似的病理变化, 但物种间对CHP的反应具有差异性, 这种差异同样受到动物年龄的影响, 处于肺快速成熟阶段的年轻个体往往更易感^[3]。在物种的选择上, Stenmark等^[3]指出暴露于CHP下的小鼠尽管出现了肺动脉压力升高, 但只有最小的肺动脉出现重构, 病变严重程度远不及大鼠; 而且CHP诱导在SD大鼠中具有明显促进增殖基因

表达上调和凋亡相关基因表达下调的现象,而在小鼠中并没有出现这些变化^[3]。有趣的是,不同品种的大鼠对CHP的反应也存在明显差异。在常见的两个品种中,SD大鼠要比Wistar大鼠表现出更严重的PAH症状,如右心室重量与肺血管阻力明显增加;而Fischer大鼠则在很大程度上对CHP耐受^[20]。因此,CHP诱导PAH模型选用SD大鼠进行造模比较合适。

CHP诱导的大鼠模型会出现血管重构、高血压以及右心室肥厚(right ventricle hypertrophy, RVH)^[9]的特征,但该模型并不会出现不可逆的内膜纤维化、丛状病变以及右心衰竭,并且其低氧性肺结构的改变涉及低氧以外的更多因素^[3,9-10]。CHP诱导的动物模型相比于人类PAH在血管上的病变具有较为温和的表型,被视为是第三类PH的模型^[10]。因此,CHP诱导的动物模型并不能充分复制人类PAH患者的肺血管损伤^[10],但在研究较不严重的第三类PH时该模型能发挥更好的作用^[20]。

值得一提的是,Fawn-hooded (FH)大鼠作为一种对低氧极为敏感的大鼠品种,其特征是具有遗传性血小板储存障碍,血小板对血清素的摄取不足;FH大鼠的肺部发育不全,从出生起到成年都会伴随着肺泡逐渐减少;此外其1号染色体的异常破坏了线粒体活性氧-缺氧诱导因子 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)-钾离子通道通路,从而引发PAH^[3,10]。FH大鼠在4周龄时便会发展出轻度PAH,CHP暴露会加剧其严重程度^[3]。FH大鼠被认为可以模拟PAH模型状态^[21],其病理特征与人类PAH接近,如FH大鼠的PASMCs也具有血管收缩和增生性特征,血小板异常以及血管对血清素的收缩反应增强等。FH大鼠模型在阐述PAH发生过程中PASMCs促增殖/抗凋亡表型的改变以及验证Warburg假说方面发挥重要作用^[10]。Rehman等^[22]在FH大鼠模型中观察到超氧化物歧化酶-2 (superoxide dismutase-2, SOD-2)的下调,以及HIF-1 α 和丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDK)的激活,认为调控SOD-2、HIF-1 α 和PDK可能是新的治疗靶点。近年来,Archer等^[23]利用FH大鼠进行体内研究发现,线粒体SOD-2的表观遗传缺陷可通过损害氧化还原信号,刺激PASMCs形成促增殖、抗凋亡表型,启动并维持可遗传的PAH,而DNA甲基转移酶抑制剂能够逆转FH大鼠的PAH,提示SOD-2可作为PAH表观遗传成分提供新的治疗靶点。Piao等^[24]则利用FH大鼠发现FOXO1介导PDK-4

上调,并导致生物能量障碍与右心室功能障碍,而慢性口服二氯乙酸盐具有抑制PDK-4上调的治疗效益。由于PASMCs过度增殖和抗凋亡的表型转变导致了类癌的出现,Boucherat等^[25]对应激状态下恶性生长和增殖直接相关的分子伴侣90 (heat shock protein 90, HSP90)展开研究,阐释HSP90在PAH-PASMCs中能起到抗应激的保护作用,促进PASMCs增殖和抵抗凋亡以及血管重构,并测试了抑制剂Gamitrinib的治疗潜力。虽然FH大鼠模型在研究与PAH代谢相关的机制与药物评估方面具有一定的优势,但FH大鼠会发展出在人类PAH患者上并不常见的系统性高血压,这点需要引起注意^[3]。

2.1.3 分流手术诱导的PAH动物模型

PAH是先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)左向右分流型的常见并发症^[26]。在PAH的分类中,先天性心脏病相关的PAH (PAH associated with congenital heart disease, CHD-PAH)是一种被广泛研究的亚型^[6]。CHD-PAH患者如不及时治疗,持续性地暴露于高血流量与高血压下会导致阻塞性肺小动脉病,甚至引发艾森曼格综合征^[3]。Stenmark等^[3]指出分流型PAH可在大动物与啮齿类动物中得到较好的模拟。目前采用外科手术进行体内分流是构建模型的主要手段,主要分为体肺分流(systemic-to-pulmonary shunt, SPS)型与动静脉分流(arteriovenous shunt, AVS)型两种。SPS模型可以通过外科手术对小型猪的主动脉干-肺动脉^[27-28]、SD大鼠的左颈总动脉-左颈外静脉^[29-30]等进行吻合而构建;AVS模型则多采用啮齿类动物腹主动脉-下腔静脉吻合^[28-32]的方法,其中Zhang等^[26]首次构建了动静脉分流诱导PAH的C57BL/6J小鼠模型。

分流手术诱导的PAH动物模型利用大小动脉或动静脉之间的压力差制造肺部的高血流量,使得肺动脉压力持续性升高,从而引起肺血管重构。然而关于高肺血流量是如何诱导产生PAH的分子机制,目前尚未明确。有研究利用SD大鼠构建AVS模型,指出钙激活氯通道(calcium-activated chloride channel, CACC)是分流诱导模型形成PAH的潜在治疗靶点^[31]。近期Shang等^[33]和Liu等^[34]则利用SD大鼠的AVS模型,探讨了Anoctamin-1 (也称跨膜成员16A, transmembrane member 16A, TMEM16A)在分流型PAH中对PASMCs增殖的调控作用,后者则进一步提出p38MAPK/ERK信号通路也参与其中。

最近有研究表明,炭疽毒素受体2 (anthrax toxin receptor 2, ANTXR2)^[35]、毛细血管形态发生基因 (capillary morphogenesis gene 2, CMG2)^[30] 的缺失会加剧SPS诱导的血管重构,C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白9 (C1q/TNF-related protein 9, CTRP9) 能够调节血管内皮的炎症反应与内皮功能紊乱,从而改善肺血管重构和血管狭窄^[36]。这些研究发现不仅为分流手术诱导的PAH模型应用开拓了新的方向,更为CHD-PAH提供了新的治疗途径。在一项关于分流手术诱导产生PAH仔猪模型的研究中,Wang等^[27]通过改良Blalock-Taussing分流手术,构建了自左侧无名动脉至肺动脉的大白仔猪模型,术后3个月观察到明显的病理变化,包括肺动脉中膜增厚、内膜纤维化和RVH。总的来说,分流手术模型是目前应用于大动物诱导PAH的主要方法,能帮助人们更好地理解高肺血流量导致PAH的病理生理过程和潜在机制,为更有效地治疗CHD-PAH提供新方法。

肺动脉环缩 (pulmonary arterial banding, PAB) 诱导的大鼠模型以进行性肺动脉狭窄和RVH为特征,目前尚无报道称该模型具有PAH或血管重构的病理变化。但值得注意的是,PAB诱导后SD大鼠出现了由于压力超负荷导致的RVH,这有利于研究与开发实现心脏保护的新型疗法,在优化PAH辅助性治疗中具有重要意义^[10]。

肺动脉狭窄伴随着肺血管阻力和肺动脉压力的渐进性升高,从而引起右心室发生结构和功能的改变,早期以向心性肥厚、收缩力增强和维持心输出量为特征的右心室代偿阶段表现为右心室重构,但右心室适应能力有限,不可避免地会过渡到失代偿阶段,从而引发死亡^[37]。然而导致这两种阶段转化的机制尚未明确^[8]。右心室功能是临床上PAH患者预后和生存的主要决定因素^[8],目前已批准的药物主要是治疗肺动脉血管过度收缩,尽管肺循环血流动力学状况有所改善,但右心室功能持续受损的患者预后依然很差。Shimauchi等^[37]研究认为,PAB模型具备右心室对压力超负荷反应的优势,能够不影响肺血管的情况下研究潜在治疗RVH的方法,并发现聚腺苷二磷酸核糖聚合酶1 (poly adenosine diphosphate-ribose polymerase 1, PARP1) 和丙酮酸激酶肌肉同工酶2 (pyruvate kinase muscle isozyme 2, PKM2) 的表达上调是右心室失代偿的共同特征,因此,靶向PARP1/PKM2信号可能是一个维持PAH中右心室功能的有效途径。在确定LncRNA

H19作为右心室衰竭的生物标志物研究中,Omura等^[15]同样构建了PAB模型来探讨H19抑制剂GapmeR的效用,以观察PAB右心衰竭模型中H19表达的变化,以及抑制H19对心脏的保护作用。Akazawa等^[38]通过比较MCT诱导、Sugen5416 (一种血管内皮生长因子受体2抑制剂) 和低氧双重诱导、PAB诱导模型的右心室病理生理变化,发现PAB模型能够产生由右心室机械压力超负荷引起的适应性右心室重构。因此,PAB模型可用于研究在独立于肺血管系统病理影响的条件下,右心室压力超负荷时右心室功能障碍的病理机制,以及评估心脏保护治疗的效果。

表1详细归纳了常见的几种单因素病理损伤PAH模型的特征,包括各种模型的构建方式、优势以及局限性。

2.2 多因素病理损伤动物模型

许多研究表明,单一因素造成的病理损伤模型并不能模拟严重的PAH^[3,10,39],尤其是典型的MCT诱导模型和CHP诱导模型^[7]被认为仅能模拟PAH早期轻/中度病理变化^[10]。然而患者在被诊断出PAH时多数已处于具有严重血管病变特征 (如新生内膜形成和丛样病变) 的晚期^[3],这些病变在单因素病理损伤模型中很少也很难被观察到,其原因可能是啮齿类动物在进展到重度PAH发生前就已经死亡。因此,为了模拟更加符合临床PAH病理变化的严重程度,在单因素病理损伤模型的基础上,研究人员通过叠加不同的损伤因素加剧肺动脉的损伤,从而构建出具有严重PAH病理特征的多因素病理损伤模型。下文主要介绍近年来应用较多的模型及相关研究。

2.2.1 MCT-左全肺切除术诱导的PAH动物模型

单纯的全肺切除术 (pneumonectomy, PNT) 通常是指通过结扎肺门处的肺动脉、肺静脉和支气管后切除单侧 (一般是左侧) 全肺的手术,在术后无其他损伤的情况下虽然会增加肺动脉血流量,但仅导致肺动脉压力小幅度上升,并不会引起严重的血管重构和PAH,这种情况在人类和动物模型中没有差异,人类临床数据显示单侧PNT后尽管肺动脉压力会有小幅度上升,但若对侧肺部正常,患者能够建立持久的良好耐受^[3,39]。当PNT合并MCT/MCTP时,PNT带来的肺动脉血流变化和压力小幅度增加却足以诱导远端肺动脉的内膜重构^[3]。而在啮齿动物中PNT通常在左肺进行,因为其左肺只有1个肺叶,而右肺有4个肺叶,如果切除右肺,将无法弥补呼吸功能不全^[4]。由于过高

表1 常见的单因素病理损伤肺动脉高压动物模型的特点归纳

Table 1 Summary of characteristics of single pathological injury-induced pulmonary arterial hypertension (PAH) models

模型类型 Model type	动物 Animal	构建方式 Establishment method	优点 Advantage	局限性 Limitation	疾病类型 Disease type
野百合碱 Monocrotaline (MCT)	SD大鼠	单次皮下注射/腹腔注射 MCT (60 ~ 80 mg/kg)。造模时间为3 ~ 4周	操作简便,可重复,成本低。mPAP升高、PVR升高、右心室肥大、中膜肥厚,主要用于炎症相关的PAH研究 ^[16]	实验性治疗效果过度改善(出现逆转);倾向死于MCT综合征(肺间质水肿、心肌炎、肝小静脉闭塞症),病理终点与人类肺高压无关;无严重的血管闭塞性病变(丛状病变和内膜增生);疾病进展为死亡的时间可能太短,无法形成代偿机制	PAH (Group 1)
慢性低氧 Chronic hypoxia	SD、FH大鼠	低压氧舱10%供氧量或者380 mmHg低压环境暴露。造模时间为3 ~ 4周	可重复性好,造模时间3 ~ 4周,FH大鼠可诱导重度肺高压	无严重的血管闭塞性病变(丛状病变和内膜增生);该模型在常氧下可逆;低氧舱设备昂贵;对低氧的反应受动物年龄影响;低氧肺结构的改变受多种因素影响(不仅是低氧);属于轻/中度肺高压,与低氧所致的肺高压相关(第三类肺高压)	肺部疾病/低氧所致的肺高压 (Group 3)
分流手术 Shunt surgery	SD大鼠/仔猪	SPS型主动脉-肺动脉吻合术 ^[39] ;AVS型腹主动脉-下腔静脉分流手术 ^[32] 。造模时间:大鼠3 ~ 4周,仔猪3月以上 ^[27]	可模拟先天性心脏病相关的PAH病理变化,大动物模型具有独特优势	手术操作复杂,造模技术难度大;动物术后死亡率较高;难以确定增加的血流量,手术风险高,并发症多;大动物饲养成本高;造模时间相对较长	CHD-PAH (Group 1)
肺动脉环缩手术 Pulmonary arterial banding	SD大鼠	通过左侧开胸从主动脉分离肺动脉,并沿肺动脉放置18号针头,针头和肺动脉周围紧紧捆绑一根丝线,将针取出以产生与针直径成正比的固定肺动脉收缩 ^[38] 。造模时间约5周	不影响肺血管情况下产生右心室重构和功能障碍	操作较复杂,技术要求较高;可作为右心衰竭模型,但不会出现肺血管重构和PAH;动物术后死亡率相对高	右心衰竭(PAH晚期症状)

注: mPAP, 平均肺动脉压力; PVR, 肺血管阻力; SPS, 体肺分流; AVS, 动静脉分流; CHD-PAH, 先天性心脏病相关的PAH。
Note: mPAP, mean pulmonary artery pressure; PVR, pulmonary vascular resistance; SPS, systemic-to-pulmonary shunt; AVS, arteriovenous shunt; CHD-PAH, PAH associated with congenital heart disease.

剂量 (300 mg/kg) 的 MCT 会造成严重的肝毒性, Lanchant 等^[40] 预先以左肺切除术处理SD大鼠, 然后给予低剂量 (50 ~ 60 mg/kg) 的 MCT, 发现可以引起肺部选择性而非全身性的血管损伤, 因此左肺切除术合并低剂量 MCT 被认为是一种较为稳健的造模方法。在 PNT-MCT 模型中, 90% 以上的手术动物均发生了新生内膜重构^[41]。Katz 等^[41] 和 Bissierier 等^[42] 详细阐述了利用该手术造模的操作方法。研究表明, 在 MCT 损伤内皮的情况下, 手术产生的剪切应力 (shear

stress) 可能是新生内膜形成的主要原因^[3,29], 因此在术后1周, 使用 MCT 进行二次 “hit” 诱导内皮损伤将产生严重的肺动脉病变。但关于该模型形成新生内膜的分子机制尚不清楚, Yan 等^[43] 指出 HIF-1 α 可能是该模型中造成新生内膜形成的关键因子。

研究发现 PNT-MCT 诱导模型经转谷氨酰胺酶 2 (transglutaminase 2, TG2) 抑制剂干预后, PI3K/Akt 信号通路可能在抑制肺血管重构中起到重要作用, 这为进一步探索 PAH 相关的病理机制提供了新的视角^[44]。

Medarametla 等^[45]利用 PNT-MCT 诱导模型研究发现, 相比于选择性抑制 α 受体的伊马替尼 (Imatinib), 吸入血小板衍生生长因子受体 (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR) α/β 非选择性抑制剂 PK10453 更具有治疗价值。此后 Sitapara 等^[46]也用该模型研究发现, PDGFR α/β 抑制剂 GB002 可有效地预防 PAH 进展和病理性肺重构, 该药物目前已进入临床开发阶段。Bisserier 等^[47]则利用该模型发现联合肌浆/内质网 Ca^{2+} ATP 酶 2a (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase 2a, SERCA2a) 基因转移技术与信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 抑制剂的方法可通过限制 STAT3 活性来恢复 *BMPR2* 的表达, 为治疗重度 PAH 提供了新的潜在干预措施。研究指出, PNT-MCT 诱导模型创造了与 PAH 临床相关的病理条件, 可作为药物、细胞、基因、蛋白质递送的平台, 还能有助于研究对侧肺组织代偿性生长的机制, 以及开发治疗右心室衰竭的方法等^[41]。

2.2.2 MCT-分流(shunt)诱导的 PAH 动物模型

近年来, 对 PAH 病理生理的研究重点逐渐转向血管重构的机制。肺血管重构具有不同阶段, 表现为早期中膜肥厚、后期新生内膜病变和肺小血管进行性闭塞^[48]。肺血流量增加被认为是肺血管重构发生发展的重要触发因素^[41]。通过在腹主动脉和腔静脉之间建立分流可以诱导肺血流量增加, 尽管左侧 PNT 或 SPS 均能增加肺血流量, 但 PNT 会引起剩余肺代偿性生长并激活适应性通路, 而 SPS 中吻合肺动脉会造成医源性肺血管损伤, 两者均混淆了肺血流量增高的概念, 因此构建 MCT-shunt 高肺血流量模型应采用 AVS 手术^[48]。

在 Lewis 或 Wistar 大鼠注射 MCT (60 mg/kg) 引起内皮损伤后, 通过实施腹主动脉-下腔静脉分流手术增加肺血流量, 从而诱发实验性重度 PAH^[48], 该方法创建了一个模拟人类进行性重度 PAH 的 MCT-shunt 动物模型。MCT-shunt 诱导的动物模型具有不同的疾病阶段, Lewis 或 Wistar 大鼠诱导后 1 周正常非肌化血管开始形成肌性中膜层, 3 周出现新生内膜病变, 4~5 周发生右心衰竭并死于后遗症^[48], 该特征使得 MCT-shunt 模型在研究疾病进展过程中不同阶段的特征和不同干预手段的效果方面具有极大的利用价值。Ven der Feen 等^[48-50]使用 Lewis 和 Wistar 大鼠构建该模型, 指出 BET 抑制剂 RVX208 在 PAH 啮齿类动物模型中可逆

转血管重构, 改善肺血流动力学; 同时指出细胞衰老会损害 PAH 的可逆性, 认为血流动力学卸载 (hemodynamic unloading, HU) 可逆转 CHD-PAH, 并提出抗衰老药物 ABT263 是 PAH 终末期治疗的新方向^[51]。此外, 近年来有研究者利用 SD 大鼠构建 MCT-shunt 诱导的动物模型, 分别指出 Nestin 可能增强 Wnt/ β -catenin 信号通路^[52], 圆柱瘤病去泛素化酶 (deubiquitinase cylindromatosis, CYLD) 可能调节 p38/ERK 信号通路^[53], 凝胶转化蛋白可能增强 TGF- β 1 信号通路^[54], Synemin 联丝蛋白表达^[55]可促进 PSMCs 表型转化、增殖和迁移, 而钙周期素结合蛋白/Siah-1 相互作用蛋白 (calcyclin-binding protein/Siah-1-interacting protein, CasyBP/SIP) 可改善 PSMCs 的功能紊乱^[56], 这些结果均为后续开发和研究治疗 CHD-PAH 的药物提供了可借鉴的数据。

2.2.3 Sugen5416-低氧 (Sugen-hypoxia, SuHx) 诱导的 PAH 动物模型

血管表皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及其受体在 PAH 患者的丛状病变中表达, 这说明在 PAH 的病理变化中 VEGF 发挥一定作用, 但其精确的作用机制尚存在争议^[1]。在 SD 大鼠体内, 抑制 VEGF 受体 (VEGF receptor, VEGFR) 将导致肺间质细胞凋亡和肺气肿形成; 然而当结合 CHP 时, 大鼠会出现重度 PAH, 并伴有血管增生性病变^[1]。Taraseviciene-Stewart 等^[57]将 CHP 暴露与 VEGFR2 拮抗剂 Sugen5416 联合, 构建了具有严重的肺血管重构、丛状病变以及右心室衰竭的 SD 大鼠模型。不同于 CHP 模型的是, 该模型的病理变化在恢复至常氧状态时并不可逆。构建 SuHx 诱导的动物模型的常用方法是对 SD 大鼠采用单次皮下注射 Sugen5416 (20 mg/kg) 后进行 3~4 周的低氧 (10% 氧气) 暴露, 再恢复到常氧环境 3~5 周^[58]; 对小鼠 (通常是 8 周龄) 也用同样的剂量注射, 但方法是连续 5 周暴露在低氧条件下, 每周进行一次 Sugen5416 注射。Dignam 等^[20]指出 VEGFR2 在内皮细胞中发挥着促存活的作用, 血管重构的触发因素可能是 Sugen5416 诱导 PAECs 选择性死亡。VEGFR 被 Sugen5416 阻断后引起 PAECs 凋亡, CHP 暴露可进一步刺激具有抵抗凋亡表型的 PAECs 大量增殖, 从而形成类似于丛状病变的血管闭塞性病变^[3]。

相较于上述两种需要采取复杂手术的多因素病理损伤模型来说, SuHx 诱导的动物模型的操作较简单。

SuHx 诱导的动物模型比 CHP 诱导的动物模型呈现出的 PAH 病变更为稳定, 并能够模拟重度 PAH 的病理特征, 同时 Sugen5416 仅局限于影响肺部^[3], 因此该模型是目前应用较为广泛的多因素病理损伤模型。在研究 PAH 相关的病理机制方面, Hurst 等^[58] 利用雄性 SD 大鼠构建了 SuHx 模型, 发现并确定了骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 在疾病中的作用机制, 证明了抗 TNF- α 的免疫治疗可逆转疾病进展, 恢复正常的 BMP/Notch 信号通路。Wu 等^[59] 使用 C57BL/6J 小鼠构建 SuHx 模型, 观察到泛素特异性蛋白酶 15 (ubiquitin-specific protease 15, USP15) 的上调, 并在该模型中敲低 USP15 基因表达以揭示 USP15 在 PAH 进展中的调节作用。同样地, Shen 等^[60] 利用 C57BL/6 小鼠建立该模型, 并发现癌蛋白鼠双微体-2 (murine double minute 2, MDM2) 在其肺组织中水平升高, 指出 MDM2 通过泛素化血管紧张素转化酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) 参与了 ACE2 的翻译后修饰和 PAH 的发生。

加深对 PAH 病理机制的理解有助于疾病治疗领域的发展, 近年来许多基于 SuHx 诱导动物模型的研究不断发现潜在的新型治疗药物以及治疗策略。研究人员在 SuHx 诱导的啮齿类动物模型中发现, 血管紧张素 II 受体阻滞剂/脑啡肽酶抑制剂 Sacubitril/Valsartan^[61]、青蒿素及其衍生物^[62]、烟酸^[63] 均可延缓 PAH 进展。同样, 新型治疗策略的研究也在不断更新与发展, 例如有研究指出髓系细胞糖酵解关键酶 *PFKFB3* 基因的抑制或敲除可以减轻或避免 SuHx 诱导 C57BL/6J 小鼠形成 PAH^[64], 靶向 HIF2 α 异源二聚化可降低 SuHx 诱导 SD 大鼠的肺血管血流动力学和肺血管重构^[65], 激活中小电导 Ca²⁺ 激活的 K⁺ 通道 (IK/SK) 可降低 SuHx 诱导 C57BL/6J 小鼠的肺动脉压力^[66] 等, 这都说明了 SuHx 诱导动物模型在研究 PAH 的病理机制、开发新型药物和创新治疗策略中具有重要的使用价值。

值得注意的是, 在 SuHx 模型中, 啮齿类动物品种与品系的选择对模型构建具有较大的影响。研究指出小鼠发生 PAH 必须要连续 3 周给予 Sugen (每周 1 次)^[20], 其原因可能是小鼠比大鼠对 Sugen 的代谢能力更强。Fischer 大鼠在 SuHx 条件下 7~8 周会迅速出现 RV 衰竭, 其死亡率接近 100%, 而 SD 大鼠可以存活 13 周^[20]。Suen 等^[67] 研究指出 Fischer 大鼠对右心室后负荷增加的适应能力较低, 其高死亡率可能与血管生成、

代谢以及先天免疫的基因调节有关。

表 2 详细归纳了几种常见的多因素病理损伤模型的特征, 其中列举了各类模型匹配的动物物种、构建方式、优点以及局限性, 还补充了目前研究应用较少但构建方式较为简单的 MCT-低氧模型^[68]。

2.3 基因工程动物模型

自 2000 年在家族性 PAH 中发现 *BMPR2* 杂合种系突变是其主要的分子遗传基础^[69] 以来, 随着高通量测序方法不断发展以及基因编辑技术的广泛普及, 许多研究开始关注 PAH 的分子遗传机制。在这些研究中, 常利用 C57BL/6 小鼠来构建 PAH 基因工程模型, 以研究其病因机制, 开发新型治疗策略。近年来, 也有研究开始关注利用大鼠等动物模型构建基因工程模型, 以求获得更加符合 PAH 病理变化的新型动物模型。

前述各种病理损伤因素导致的 PAH 动物模型主要是模拟了在外界环境伤害下继发的 PAH, 而在一些家族遗传性 PAH 或特发性 PAH 患者中, 相关基因产生的突变或表达失调是非常重要的内源性因素, 往往会在外源性因素 (如炎症、低氧等) 刺激下引起发病。基因编辑技术作为研究工具对探究 PAH 病因学发生机制具有重要意义。目前已有的基因工程 PAH 动物模型主要聚焦于基因敲除或者条件性敲除的 PAH 动物模型, 以及条件性基因过表达的 PAH 动物模型。

2.3.1 基因敲除的 PAH 模型

目前已发现 16 种以上基因突变与 PAH 的发生发展存在关联^[4], 其中 *BMPR2* 杂合突变导致的功能缺失最常见, 发生在 53%~86% 的家族性 PAH 和 14%~35% 的特发性 PAH 患者中, 提示 *BMPR2* 信号通路在 PAH 发病机制中具有重要作用^[70]。此外, Lau 等^[5] 指出携带有 *BMPR2* 突变的女性 PAH 患者疾病外显率是男性的 3 倍, 但同时男性 PAH 患者显示出更差的生存率, 可能与男性患者的右心室适应性有关。研究表明, 遗传性 PAH 患者中 *BMPR2* 单倍体不足是其主要的分子机制^[4,71], 这为构建 *BMPR2* 等位基因杂合子突变的小鼠模型提供了前提条件。2004 年 Beppu 等^[72] 建立了 *BMPR2* 第 4 和第 5 外显子缺失 (*BMPR2*^{-/-}) 的 C57BL/6 小鼠模型, 该模型在基础状态下仅表现轻度 PAH, 且缺乏 RVH 的特征。随后 Long 等^[73] 构建了导致内源性 *BMPR2* 第 899 位氨基酸 (R899X) 发生突变的 *BMPR2*^{+R899X} 基因敲入 C57BL/6 小鼠模型, 尽管该模型依旧缺乏 RVH, 但是能自发形成年龄相关的 PAH。

表2 常见的多因素病理损伤肺动脉高压动物模型的特点归纳

Table 2 Summary of characteristics of multifactorial pathological injury- induced pulmonary arterial hypertension (PAH) models

模型类型 Model type	动物 Animal	构建方式 Establishment method	优点 Advantage	局限性 Limitation	疾病类型 Disease type
野百合碱-全肺切除术 MCT- PNT	SD大鼠 ^[41-42]	左侧全肺切除术 ^[38] ,术后1周皮下注射MCT (60 mg/kg)	可模拟重度PAH,具有新生内膜形成和丛状病变的病理特点	操作较复杂,造模难度大,动物死亡率高;可能出现血管周围增生性病变	PAH (Group 1)
野百合碱-分流 MCT-shunt	Lewis/Wistar ^[48] 、SD大鼠 ^[52]	MCT诱导处理后采用主动脉腔静脉分流 ^[32]	触发疾病的病理生理,具有新生内膜病变与右心室衰竭的特征;具有阶段性进行性病理变化	手术难度大、风险高,术后死亡率高、并发症多;大动物饲养成本高;无法实现体内分流关闭	CHD-PAH (Group 1)
Sugen5416 - 低氧 Sugen5416-hypoxia	SD大鼠	单次皮下注射Sugen (20 mg/kg) 后进行3~4周低氧暴露 (10% 氧气),再恢复常氧3~5周	可诱导重度PAH,出现丛样病变和右心室衰竭;该模型置于常氧后不会出现逆转;病变器官局限于肺部	血管周围未出现炎性细胞 (巨噬/单核细胞) 浸润;仅少数基因的表达与人类患者肺部变化相同;物种间 (大鼠和小鼠)、品系间 (Fischer大鼠和SD大鼠) 实验性PAH的差异较大	PAH (Group 1)
野百合碱 - 低氧 MCT-hypoxia	SD大鼠	单次皮下注射MCT (60 mg/kg) 后暴露于低氧环境中3~4周左右	操作简单,造模时间较短;出现重度PAH的组织学病理特征;具有炎性反应 (巨噬细胞浸润)、血栓形成的特点 ^[68]	物种间造模效果差异较大,目前主要选择SD大鼠;目前研究应用较少	PAH (Group 1)

注: MCT, 野百合碱; PNT, 全肺切除术; CHD-PAH, 先天性心脏病相关的肺动脉高压。
Note: MCT, monocrotaline; PNT, pneumonectomy; CHD-PAH, pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease.

Boucherat 等^[19]指出 *BMPR2*^{+/-}小鼠在长期低氧、脂氧合酶介导或脂多糖引发的炎症、IL和慢性5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 输注等应激条件下更容易发生PAH, 这些结果验证了 *BMPR2* 杂合突变在携带者中的不完全外显率 (10%~20%), 证实了杂合 *BMPR2* 突变本身不足以触发疾病, 需要结合更加复杂的环境因素和遗传背景才能解释PAH的临床表现^[3]。

鉴于大鼠作为模式生物对研究PAH发展比小鼠具有更敏感的优势, 加之近年来基因编辑技术的快速发展, Hautefort 等^[74]利用锌指核酸酶法构建了新型 *BMPR2* 突变 (第1个外显子单等位基因缺失71 bp) 的SD大鼠模型, 发现该模型能够自发形成与年龄相关的PAH, 具有与人类相似的低外显率以及关键细胞和分子功能障碍。在另一项研究中, Tian 等^[75]通过腺病毒表达全长的人5-脂氧化酶 (5-lipoxygenase, 5-LOX) 来介导 *BMPR2*^{+/-}大鼠模型的肺部炎症, 发现原本表型沉默的 *BMPR2*^{+/-}大鼠出现了内膜病变和重度PAH, 该研究解释了环境损伤会诱发 *BMPR2* 突变潜在的破坏力。

综上所述, *BMPR2* 基因敲除模型对研究PAH分子机制和遗传病因具有重要价值。最近一项研究表明, 在单核细胞谱系特异性 *BMPR2* 敲除的小鼠模型中, 促炎细胞因子显著增加且炎性细胞浸润明显, 提示巨噬细胞的 *BMPR2* 功能失调会通过增加促炎细胞因子来影响肺血管重构和血管细胞表型转化^[76]。而 Long 等^[73]则利用其创新的 *BMPR2*^{+R899X} 以及 MCT 和 SuHx 诱导的小鼠模型发现, 体内递送 BMP9 能够逆转小鼠 PAH 病变, 认为 BMP9 会抑制多种 PAH 相关药物诱导的内皮通透性, 提出可以将 BMP 配体作为 PAH 治疗的新靶点。Theilmann 等^[77]利用内皮选择性 *BMPR2* 敲除 C57BL/6J 小鼠模型 (*BMPR2*^{EC-/-}) 进一步研究 BMP9 治疗的机制, 发现 *BMPR2* 缺失会逆转内皮细胞对 BMP9 的反应, 引起异常增殖。

除了 *BMPR2* 基因敲除模型外, 与 PAH 相关的其他基因 (通常涉及 TGF- β 家族和 BMP 信号通路) 突变的小鼠模型在近 5 年来更倾向于功能基因组学的研究应用。Boucherat 等^[19]总结指出, 并非全部 *Alk1*^{+/-}、*Eng*^{+/-}、*Cav-1*^{+/-}小鼠都能够表现出 PAH 的迹象 (包括右心室收缩压显著升高、RVH 以及外周动脉重塑相关

的病理变化)。但这些致病基因相关的动物模型对深入研究PAH发病机制具有重要的作用。Morena等^[78]研究发现, *Cav-1*^{-/-}小鼠(C57BL/6J)模型的动脉僵硬度增加, 这一结果进一步拓展了人们对PAH动脉重构中*Cav-1*作用的认识。近年来通过全外显子测序筛查发现, *KCNK3*基因在遗传性或特发性PAH患者中存在功能缺失^[79,19]。Lambert等^[79]利用成簇的规律间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)/CRISPR相关蛋白核酸酶9(CRISPR-associated nuclease 9, Cas9)技术敲除了*KCNK3*基因的第三个外显子, 首次构建了*KCNK3*突变的SD大鼠模型, 该模型可随年龄增长出现自发性PAH, 且在MCT或CHP诱导下发生严重的PAH病理变化。在另一项研究*KCNK3*突变导致PAH的报告中, 研究者将*KCNK3*^{flox/flox}小鼠与Ubiquitin-Cre/Ert2小鼠杂交得到*KCNK3*条件性敲除小鼠模型, 并将其暴露于低氧、代谢饮食和低剂量脂多糖条件下, 发现*KCNK3*功能缺失能够通过改变免疫功能、引发炎症反应来影响血管张力等各种生理过程^[80], 这使人们对该基因功能缺失在PAH发病机制中发挥着什么样的作用有了更深的理解。

此外, 许多研究将目光聚焦于其他能够引起PAH的基因敲除动物模型的构建, 以用于针对性地研究各种药物的治疗效果和安全性评估。内皮素受体B(endothelin B receptor, *ET_B*)基因缺陷大鼠经过低压低氧暴露后可出现严重的PAH, 有助于开发内皮素受体拮抗剂(如波生坦)及其安全性评估^[10]; 载脂蛋白E(apolipoprotein-E, *ApoE*)基因敲除小鼠可用于研究脂联素在治疗肺血管重构和血管张力方面具有的潜在作用, 可能解释胰岛素抵抗或者肥胖与PAH之间的关系^[10]; 血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, *VIP*)基因敲除小鼠可自发出现重度PAH, 支持了外源性VIP治疗PAH的概念, 对全面表征VIP类似物(如阿肽地尔)的疗效具有很大的帮助^[10]。

近年来, 一些新的基因敲除模型也为探索PAH的病理机制和治疗策略提供了新视角。Tu等^[81]构建*BMP9*^{-/-}小鼠(C57BL/6)模型以研究BMP9在PAH中的作用, 发现选择性抑制BMP9对实验性PAH具有部分保护作用, 这在一定程度上补充了Long等的研究结果。Bouvard等^[82]通过比较*BMP9*和*BMP10*基因单敲除和双敲除小鼠(C57BL/6)模型研究两者在心血管稳态和PAH中的作用, 发现*BMP9*参与CHP诱导的肺血

管重构, 而*BMP10*在CHP诱导的C57BL/6小鼠心脏重构中发挥着作用。近期, Zhang等^[83]构建了一种全新的基因双敲除模型——对线粒体脱乙酰酶Sirt3和解偶联蛋白Ucp2进行双基因敲除的C57BL/6小鼠模型, 该模型表现出类似人类自发性重度PAH, 具有其他PAH模型不具备的人类疾病特征, 可用于研究与代谢相关的PAH病理机制。基因双敲除或者联合敲除模型丰富了基因敲除模型的类型, 为开发PAH动物模型提供了一种新的思路。

2.3.2 基因过表达的PAH动物模型

在PAH相关的基因过表达动物模型中, 较早构建应用的是S100A4/*Mst-1*小鼠模型^[3,10], S100A4/*Mts-1*是钙结合蛋白家族中的一种促转移蛋白, 其功能包括调节细胞增殖、分化、凋亡以及细胞骨架动力学作用, 此模型出现新生内膜增厚和丛状病变的PAH血管变化特征, 且在小鼠中表现出明显的性别差异^[84,10]。在人类PAH中, 女性发病风险更高, 研究显示62%~80%的PAH患者为女性, 但目前关于性激素对PAH的影响或解释PAH性别差异的机制尚未完全清楚^[5]。Maarman等^[10]指出不同于雄性小鼠, 过表达S100A4/*Mst-1*的雌性小鼠表现出丛状病变、远端肺小动脉*Mst-1*蛋白增加与右心室收缩压增加, 因此该模型可被用于研究性别差异与PAH发病的潜在关系。除此之外也有人利用该模型研究S100A4/*Mts-1*引发肺血管重构的潜在机制和病毒感染相关的PAH^[10,21]。

血清素转运体(5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT)过表达转基因小鼠(C57BL/6)模型在CHP条件下出现RVH和肺血管重构^[21,10], 引起了人们对5-HTT抑制剂治疗PAH的兴趣^[10]。尽管该模型并未表现出严重的PAH或组织学变化^[21], 但仍旧为人们研究5-HTT通路的作用机制及新型药物的疗效提供了可供选择的平台。Maarman等^[10]指出许多5-HT受体拮抗剂在离体细胞和动物模型中被证明具有一定的疗效, 并强调了同时靶向5-HT转运体和受体可能为PAH提供新的治疗方案。2022年PH协会国际学术会议上, Robert Frantz指出5-HTT通路将会是PAH治疗的可能途径, 并且作用于该通路的外周色氨酸羟化酶1抑制剂Rodatristat已进入临床Ⅱ期试验研究^[51]。

血管生成素-1(angiopoietin-1, ANG-1)过表达Fischer大鼠模型表现出明显的平均肺动脉压上升、小动脉中膜变厚和血管闭塞, 使得人们关注血管生成失调和血管重构的病理特征, 有利于进一步研究ANG-1

在PAH中的作用^[10]。Schermyly等^[1]指出,血管生成失调与内皮修复障碍可能与PAH病理机制相关,此外,内皮祖细胞、血管生成因子、促血管生成治疗等已然成为新的研究热点。

IL-6主要由T细胞和巨噬细胞产生,可发挥促炎作用并调节造血、免疫和肿瘤发生过程。IL-6水平升高可能与PAH的严重程度和死亡率相关^[10]。Steiner等^[3]利用非特异性过表达IL-6转基因小鼠,研究了常氧和慢性低氧条件下IL-6在肺血管疾病发病机制中的作用,发现该模型小鼠的右心室收缩压升高,出现RVH,伴有血管病变,远端动脉血管中还出现了伴有炎症的增生性小动脉病变,但并未发现丛状病变。该模型反映了IL-6在促进肺血管重构形成方面的作用,提示IL-6可能与激活内皮细胞过度增殖和抗凋亡蛋白表达的信号通路相关。因此有人尝试使用IL-6受体拮抗剂托珠单抗治疗PAH^[10]。IL-6过表达模型不仅有助于PAH病程中IL-6功能的探究,更有利于PAH治疗中抗炎疗法的发展^[10]。

近期的一些研究构建了其他基因过表达模型,这些模型均有利于推动PAH病理机制和疾病治疗的发展。例如MSX1是一种在胚胎发育过程中表达的转录因子,病理条件下MSX1过表达会引起细胞去分化或凋亡。West等^[85]建立了约4倍过表达MSX1的转基因小鼠模型,将该小鼠暴露于CHP下,发现肺血管病变程度成倍增加,同时MSX1过表达在低氧条件下会加剧肺血管的丢失,这为开展靶向肺血管重构和血管生成失调的治疗途径提供了新的思路,而MSX1在肺血管中的作用机制有待进一步研究。Xue等^[86]构建了内皮细胞特异性过表达亲环素A(cyclophilin A, CYP A)的转基因小鼠,历时3个月观察到了PAH表型,发现细胞外CYP A能够通过刺激内皮细胞凋亡、氧化还原应激和炎性反应等引起PAH,提出抑制细胞外CYP A分泌是新的治疗方法。随后将该模型进一步创新,与ROSA^{mT/mG}小鼠交配得到能够细胞特异性地表达绿色荧光蛋白的CYP A过表达小鼠,该模型中绿色荧光蛋白能够表达并定位于所有内皮细胞来源的细胞,以用于谱系追踪显示肺内皮细胞中间充质标志物的表达;研究指出CYP A(尤其是乙酰化形式)通过增加内皮间质转化,细胞因子释放,内皮细胞迁移、增殖和线粒体功能障碍等机制促进PAH^[87]。这些研究结果不仅为PAH分子机制探讨开辟了新的视角,更拓展了PAH模型构建和应用的新思路。

3 PAH动物模型在药物研究中的应用

目前的PAH治疗策略主要是针对肺血管系统中功能失调的信号通路。在PAH中,内皮功能紊乱会影响ET-1、PGI₂与NO信号通路的正常运作^[8]。已有5类针对这3条内皮信号通路功能失调的药物获得FDA批准上市^[5],包括内皮素受体拮抗剂(endothelin receptor antagonists, ERAs)、磷酸二酯酶5型(phosphodiesterase type 5, PDE5)抑制剂、可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylate cyclase, sGC)刺激剂、前列环素类似物、前列环素IP受体激动剂^[5,8-9,88]。这些血管扩张剂的功效主要是抑制ET-1通路、刺激NO-cGMP通路或者增强PGI₂对受体的作用^[9],从而纠正内皮功能紊乱。在药物研究方面,MCT诱导的PAH动物模型已用于研究多种药物(包括ERAs、前列环素类似物、PDE5抑制剂、他汀类药物、Rho激酶抑制剂等^[9-10])对实验性PAH的预防和治疗作用,是目前研究PAH最常用的动物模型;SuHx诱导的PAH模型具有不可逆的重度PAH病理特征和血管闭塞性病变^[19],在评估PGI₂途径相关药物治疗以及新型抗血管重构药物的疗效中发挥着重要作用。

3.1 内皮素途径

PAECs分泌的ET-1作用于PASMCs上的内皮素受体A(endothelin A receptor, ET_A)与ET_B,ET_A可引起血管收缩并促进PASMCs增殖,ET_B则使血管扩张并抑制PASMCs增殖;位于内皮细胞上的ET_B还能局部清除ET-1,促进NO与PGI₂释放,从而舒张血管^[5-6]。ERAs主要作用于ET_A与ET_B,分为双重内皮素受体拮抗剂(如波生坦Bosenta、马西替坦Macitentan)与选择性ET_A受体拮抗剂(如安贝生坦Ambrisentan)^[5,8-9,88]。

近年来,ERAs逐渐从理论转向临床,已经是较为成熟的PAH治疗药物^[8,88]。Kim等^[89]根据马西替坦能够降低晚期PAH患者发病率和死亡率的结论,利用MCT诱导的PAH大鼠进行研究,发现使用马西替坦能够明显改善早期实验性PAH的血流动力学以及组织病理学变化,包括显著降低了右心室收缩末期/舒张末期容积、肺动脉收缩压、收缩末期压力容积关系等,同时减轻了右心室肥大、心脏和肺部肌纤维化,右心室/(左心室+室间隔)重量比和肺重量都更接近正常小鼠,说明马西替坦的早期治疗对PAH也具有较好的疗效。Lee等^[90]则利用MCT诱导的PAH大鼠模型评估了安

贝生坦在分子水平层面的作用效果,发现低剂量的安贝生坦能够抑制MCT诱导的PAH大鼠肺组织中ET-1和ET_A的水平,并提高内皮型一氧化氮合酶(endothelial isoform of nitric oxide synthase, eNOS)的水平,指出需要进一步研究确定安贝生坦的最佳剂量以及评估其在低剂量治疗中的剂量依赖效应。Noveli等^[91]利用MCT诱导的PAH大鼠模型首次比较了注射Rho激酶抑制剂Y-27632和马西替坦的药效差异,发现Y-27632对改善RV收缩压、RV和肺小动脉重构的积极影响比马西替坦更明显,但其主要的局限性在于外周血管舒张作用显著,可能会导致过度的降压效果。在另一项研究中,MCT和SuHx诱导的PAH大鼠模型被用于评估波生坦和缬沙坦LCZ696联合治疗的效果,发现对实验性PAH的血管重构具有保护作用^[92]。最近,一种新合成的内皮素受体拮抗剂派珀生坦(Pipersentan)也被报道可有效对抗ET-1对PASMCs增殖、迁移的影响,并有效改善MCT和CHP诱导大鼠的RVH和PAH^[93]。内皮素受体拮抗剂从基础理论研究转向临床应用的过程中,PAH动物模型,尤其是MCT诱导的大鼠模型发挥了非常重要的作用。

3.2 NO途径

在PAECs中,eNOS催化精氨酸合成瓜氨酸和NO,后者作用于PASMCs的sGC(NO受体),从而生成第二信使cGMP,传递血管扩张和抑制PASMCs增殖的信号,而PDE5会降解cGMP为GMP^[8]。sGC刺激剂(利奥西呱 Riociguat)使得sGC能够独立于NO释放cGMP,PDE5抑制剂(西地那非 Sildenafil、他达拉非 Tadalafil、伐地那非 Vardenafil)能够抑制PDE5降解为cGMP,从而舒张过度收缩的肺动脉^[8,88]。Velasova等^[94]指出,利奥西呱可使MCT诱导的实验性PAH大鼠体内血清素相关基因和肾损伤标志物的表达正常化。然而Xu等^[95]利用低压CHP诱导的大鼠模型研究发现,利奥西呱的治疗效果甚微,提示利奥西呱可能在治疗低氧损伤诱导的PH上效果不如马西替坦、Selexipag等药物,但具体的原因尚未被阐明。此外,一项关于联合PDE5抑制剂洛地那非(Lodenafil)和人脐带间充质干细胞治疗的研究在SuHx诱导的大鼠模型中展开,该联合治疗策略逆转了SuHx诱导大鼠模型中的RVH以及间质细胞浸润,被认为是一种潜在的PAH治疗策略^[96]。

3.3 前列腺素途径

PGI₂自PAECs释放后作用于PASMCs的IP受体,

IP受体可促进腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)合成第二信使cAMP,从而引起血管舒张并抑制PASMCs增殖。主要的PGI₂类似物包括依前列醇(Epoprostenol)、伊洛前列素(Iloprost)与曲前列尼儿(Treprostinil)^[88],而IP受体激动剂Selexipag是一种对IP受体具有高度选择性的新型PAH治疗药物^[5]。

研究针对PGI₂途径的药物时主要选择SuHx诱导的PAH大鼠模型,该模型可表现出一种慢性严重PAH的病理特征,有利于评估该类药物对重度PAH的治疗效果。2018年Chaudhary等^[97]指出曲前列尼儿可通过降低血管阻力、改善心脏结构和功能对SuHx诱导的大鼠发挥治疗作用,但无法改善血管重构。2022年Vanderpool等^[98]利用SuHx大鼠模型进一步验证实验性PAH对PGI₂的潜在反应,该研究强调了曲前列尼儿能够逆转RVH和功能障碍,并进一步阐明了曲前列尼儿对心肺功能的改善作用,为未来研究PGI₂及其类似物激活心肌特异性保护途径打开了新大门。由于PGI₂类似物会引起腿痛等不良反应,Morrison等^[99]利用SuHx诱导的大鼠模型研究发现,相比传统的PGI₂类似物,服用Selexipag可能可以减轻PAH患者的腿痛,Selexipag是更适合临床投入使用的PAH治疗药物。近期一项研究同样利用SuHx诱导的大鼠模型,验证了Selexipag用于治疗重度实验性PAH时对RVH和右心室衰竭的积极作用^[100]。除此之外,SuHx诱导的PAH大鼠模型还被用于比较长效吸入性肺血管扩张剂前药(treprostinil palmitil, TP)、吸入和静脉注射曲前列尼儿和口服Selexipag的疗效,最终发现TP干粉在抑制该模型的病理生理变化方面优于后两者^[101],这为创新临床药物开发提供了新见解。

4 总结与展望

为了更好地探究PAH的发病机制和病理变化,许多动物模型经过设计和检验得以构建,并在PAH的病理特征、分子机制以及治疗方案的研究中发挥了非常重要的作用。虽然目前还没有能够完全模拟人类PAH的临床前动物模型,但恰当地利用典型和新型的PAH动物模型能够极大地帮助我们寻找分子靶点和观察表型转化的过程。MCT诱导的大鼠模型是典型的炎症介导的PAH模型,CHP诱导的大鼠模型更适合研究轻度慢性肺部疾病相关的PH,FH大鼠是唯一能够自发形成PAH的动物类型;SuHx诱导的大鼠模型则被认为是一种更适合研究闭塞性PAH的模型,其具有与人类

PAH相似的重度病变特征。鉴于右心衰竭是PAH的主要致死原因, PAB诱导的大鼠模型是评估右心衰竭的理想模型, 可有效避免低氧、VEGF抑制剂和MCT毒性对右心室的潜在影响。需要注意的是, 啮齿动物的品系差异会对模型构建的效果产生影响, 如在SuHx诱导下, SD大鼠具有良好的生存能力, Fischer大鼠能反映右心室适应后负荷增加的特征, 而Lewis大鼠则并不适合使用该方法^[16]。此外, 雌性动物通常对低氧和MCT诱导并不敏感, 但在基因工程模型中却表现出比雄性更加复杂和严重的症状^[16]。

在药物研究的应用上, MCT和SuHx诱导的大鼠模型是多数PAH研究选择的动物模型, MCT诱导的PAH模型与内皮毒性相关, 以肺部炎症为标志; 而SuHx诱导的PAH模型以肺血管增生病变为特征, 在应用时应考虑到MCT的毒性作用以及注射Sugen的大鼠品系^[16]。需要指出的是, 如果首要目标是研究导致右心衰竭的分子机制或者是评估保护心脏的新方法, 应优先考虑MCT或PAB诱导的模型^[19]。目前关于PAH的治疗方法和策略在不断更新与创新, 其中涉及表观遗传学、细胞衰老以及肠道微生物群治疗等方面^[51], 同时新型药物和治疗方法也在陆续出现, 如索他韦尔(Sotatercept)、吸入式Seralutinib、高剂量的马西替坦联合拉林帕、BET抑制剂、衰老药物、肠道菌群移植等^[51], 在正式进入临床试验前, 这些新型治疗均需要利用合适的动物模型进行药效评估和安全性研究。

目前针对PAH的治疗方法是利用血管扩张剂改善肺动脉压力的升高, 但逆转血管重构和改善右心室功能障碍依旧是较大的治疗难题。由于基因突变或表达失调能调控肺血管细胞增生和抗凋亡, 从而参与PAH发病, 因此开发安全有效的基因治疗方法以恢复或下调致病基因的表达可作为一种重要的新型PAH治疗策略; 此外, 沉默致病基因、表达治疗性蛋白或使用基因编辑技术为这种疾病提供了新的治疗范式^[102]。Rai等^[102]指出基因治疗发展过程中, 关键是解决转染方法的效率和安全性问题, 其综合分析了非病毒输送系统与病毒传递系统在PH治疗应用方面的情况, 并指出基于纳米颗粒和腺相关载体给药的方式是目前具有较好前景的基因治疗递送方法。Bisserier等^[11]研究指出, 气管内递送腺相关病毒血清型1的肺靶向 $SIN3a$ 基因治疗可能是治疗PAH的新策略, 该方法可以通过 $SIN3a$ 上调 $BMPR2$ 表达, 从而恢复实验性PAH动物模型中 $BMPR2$ 的表达, 减弱肺血管和右心室重构。另有研究表明, 再生细胞疗法、基因治疗以及表观遗传药

物将会为PAH治疗提供新的视角^[103], 而以内皮祖细胞、间充质细胞以及诱导多能干细胞为主的干细胞疗法能够修复内皮损伤和内皮功能紊乱, 治疗远端肺动脉病变; $BMPR2$ 、 $SERCA2a$ 、 $PGIS$ 、 $IL-10$ 、 $ANG-1$ 等相关的基因治疗^[102-103]通过调控基因表达来恢复相关通路信号分子的功能; BET抑制剂、DNA甲基转移酶抑制剂、组蛋白脱乙酰酶抑制剂^[103]等表观遗传药物在临床前研究中显示出良好的效果, 有待临床转化医学的进一步研究。这些新的治疗策略与药物均具有较好的临床应用前景与价值, 是未来人类攻克PAH进程中非常重要的方面。

选择合适的PAH模型是开展研究的关键, 不仅要考虑造模方法引起的病理改变和发病机制, 还要考虑不同动物种类和性别对造模方法的不同反应。动物模型的选择应以研究目的为依据, 有效地组合典型和新型造模手段。在条件允许的情况下, 在多个模型中开展测试将极大地提高临床转化成功率, 同时可采用人类患者的肺组织细胞进行体外研究, 以弥补动物模型与人类患者之间的差距。在新型特异性药物的开发治疗与评估策略中, 比如三联药物治疗策略、基因治疗(递送系统安全性评估)、干细胞治疗、肺动脉去神经支配、特异性药物(Rho 激酶抑制剂、 $ANG-1$ 抑制剂、弹性蛋白酶抑制剂等)方面, 如何合理应用和优化这些实验性PAH动物模型以得到可靠有效的研究结论, 将成为未来研究PAH机制和治疗时需要首先攻克的问题之一。

[作者贡献 Author Contribution]

俞佳慧查找及筛选相关文献, 撰写初稿并修改;
巩倩参与文稿修订, 给予修改意见;
庄乐南审核文稿并给予指导。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] SCHERMULY R T, GHOFRANI H A, WILKINS M R, et al. Mechanisms of disease: pulmonary arterial hypertension[J]. Nat Rev Cardiol, 2011, 8(8): 443-455. DOI: 10.1038/nrcardio.2011.87.
- [2] HUMBERT M, GUIGNABERT C, BONNET S, et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives[J]. Eur Respir J, 2019, 53(1): 1801887. DOI: 10.1183/13993003.01887-2018.
- [3] STENMARK K R, MEYRICK B, GALIE N, et al. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 297(6): L1013-L1032. DOI: 10.1152/

- ajplung.00217.2009.
- [4] SOUTHGATE L, MACHADO R D, GRÄF S, et al. Molecular genetic framework underlying pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(2): 85-95. DOI: 10.1038/s41569-019-0242-x.
 - [5] LAU E M T, GIANNOULATOU E, CELERMAJER D S, et al. Epidemiology and treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(10): 603-614. DOI: 10.1038/nrcardio.2017.84.
 - [6] HASSOUN P M. Pulmonary arterial hypertension[J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(25):2361-2376. DOI: 10.1056/NEJMra2000348.
 - [7] RUOPP N F, COCKRILL B A. Diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension: a review[J]. *JAMA*, 2022, 327(14):1379-1391. DOI: 10.1001/jama.2022.4402.
 - [8] HUETSCH J C, SURESH K, BERNIER M, et al. Update on novel targets and potential treatment avenues in pulmonary hypertension[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 311(5):L811-L831. DOI: 10.1152/ajplung.00302.2016.
 - [9] SZTUKA K, JASIŃSKA-STROSCHIN M. Animal models of pulmonary arterial hypertension: a systematic review and meta-analysis of data from 6126 animals[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 125(Pt B):201-214. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.08.003.
 - [10] MAARMAN G, LECOUR S, BUTROUS G, et al. A comprehensive review: the evolution of animal models in pulmonary hypertension research; are we there yet?[J]. *Pulm Circ*, 2013, 3(4):739-756. DOI: 10.1086/674770.
 - [11] BISSERIER M, MATHIALAGAN P, ZHANG S H, et al. Regulation of the methylation and expression levels of the *BMPT2* gene by SIN3a as a novel therapeutic mechanism in pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2021, 144(1): 52-73. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047978.
 - [12] XIAO R, SU Y, FENG T, et al. Monocrotaline induces endothelial injury and pulmonary hypertension by targeting the extracellular calcium-sensing receptor[J]. *J Am Heart Assoc*, 2017, 6(4):e004865. DOI: 10.1161/JAHA.116.004865.
 - [13] CHEN D, ZHANG H F, YUAN T Y, et al. Puerarin-V prevents the progression of hypoxia- and monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rodent models[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(9): 2325-2339. DOI: 10.1038/s41401-022-00865-y.
 - [14] SU H, XU X L, YAN C, et al. LncRNA H19 promotes the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells through AT1R via sponging let-7b in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *Respir Res*, 2018, 19(1):254. DOI: 10.1186/s12931-018-0956-z.
 - [15] OMURA J, HABBOUT K, SHIMAUCHI T, et al. Identification of long noncoding RNA H19 as a new biomarker and therapeutic target in right ventricular failure in pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2020, 142(15): 1464-1484. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047626.
 - [16] WU X H, MA J L, DING D, et al. Experimental animal models of pulmonary hypertension: development and challenges[J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(3): 207-216. DOI: 10.1002/ame2.12220.
 - [17] YAMAZATO Y, YAMAZATO M, ISHIDA A, et al. Intratracheal administration of autologous bone marrow-derived cells ameliorates monocrotaline-induced pulmonary vessel remodeling and lung inflammation in rats[J]. *Lung*, 2018, 196(2):147-155. DOI: 10.1007/s00408-017-0075-5.
 - [18] CARMAN B L, PREDESCU D N, MACHADO R, et al. Plexiform arteriopathy in rodent models of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(6): 1133-1144. DOI: 10.1016/j.ajpath.2019.02.005.
 - [19] DIGNAM J P, SCOTT T E, KEMP-HARPER B K, et al. Animal models of pulmonary hypertension: getting to the heart of the problem[J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179(5): 811-837. DOI: 10.1111/bph.15444.
 - [20] BOUCHERAT O, AGRAWAL V, LAWRIE A, et al. The latest in animal models of pulmonary hypertension and right ventricular failure[J]. *Circ Res*, 2022, 130(9): 1466-1486. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319971.
 - [21] RYAN J, BLOCH K, ARCHER S L. Rodent models of pulmonary hypertension: harmonisation with the world health organisation's categorisation of human PH[J]. *Int J Clin Pract Suppl*, 2011(172):15-34. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2011.02710.x.
 - [22] REHMAN J, ARCHER S L. A proposed mitochondrial-metabolic mechanism for initiation and maintenance of pulmonary arterial hypertension in fawn-hooded rats: the Warburg model of pulmonary arterial hypertension[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 661: 171-185. DOI:10.1007/978-1-60761-500-2_11.
 - [23] ARCHER S L, MARSBOOM G, KIM G H, et al. Epigenetic attenuation of mitochondrial superoxide dismutase 2 in pulmonary arterial hypertension: a basis for excessive cell proliferation and a new therapeutic target[J]. *Circulation*, 2010, 121(24): 2661-2671. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.916098.
 - [24] PIAO L, SIDHU V K, FANG Y H, et al. FOXO1-mediated upregulation of pyruvate dehydrogenase kinase-4 (PDK4) decreases glucose oxidation and impairs right ventricular function in pulmonary hypertension: therapeutic benefits of dichloroacetate[J]. *J Mol Med*, 2013, 91(3): 333-346. DOI: 10.1007/s00109-012-0982-0.
 - [25] BOUCHERAT O, PETERLINI T, BOURGEOIS A, et al. Mitochondrial HSP90 accumulation promotes vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(1): 90-103. DOI: 10.1164/rccm.201708-1751OC.
 - [26] ZHANG M J, FENG Z Y, HUANG R, et al. Characteristics of pulmonary vascular remodeling in a novel model of shunt-associated pulmonary arterial hypertension[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:1624-1632. DOI: 10.12659/msm.905654.
 - [27] WANG L P, GUO L L, ZHU L M, et al. Characteristics of pulmonary vascular remodeling in a porcine model of shunt-associated pulmonary arterial hypertension[J]. *Pediatr Cardiol*, 2020, 41(4):669-676. DOI: 10.1007/s00246-019-02275-0.
 - [28] JIANG Y Y, HE G W. Early diagnostic features of left-to-right shunt-induced pulmonary arterial hypertension in piglets[J]. *Ann Thorac Surg*, 2018, 106(5): 1396-1405. DOI: 10.1016/j.athoracsurg.2018.05.052.
 - [29] MENG L K, TENG X, LIU Y, et al. Vital roles of gremlin-1 in pulmonary arterial hypertension induced by systemic-to-pulmonary shunts[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(15):e016586. DOI: 10.1161/jaha.120.016586.
 - [30] MENG L K, YUAN W, CHI H J, et al. Genetic deletion of CMG2 exacerbates systemic-to-pulmonary shunt-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *FASEB J*, 2021, 35(4): e21421. DOI: 10.1096/fj.202000299R.

- [31] WANG K, CHEN C S, MA J F, et al. Contribution of calcium-activated chloride channel to elevated pulmonary artery pressure in pulmonary arterial hypertension induced by high pulmonary blood flow[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(1): 146-154.
- [32] GARCIA R, DIEBOLD S. Simple, rapid, and effective method of producing aortocaval shunts in the rat[J]. *Cardiovasc Res*, 1990, 24(5):430-432. DOI: 10.1093/cvr/24.5.430.
- [33] SHANG L F, WANG K, LIU D L, et al. TMEM16A regulates the cell cycle of pulmonary artery smooth muscle cells in high-flow-induced pulmonary arterial hypertension rat model[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(5): 3275-3281. DOI: 10.3892/etm.2020.8589.
- [34] LIU D L, WANG K, SU D Y, et al. TMEM16A regulates pulmonary arterial smooth muscle cells proliferation via p38MAPK/ERK pathway in high pulmonary blood flow-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *J Vasc Res*, 2020, 58(1):27-37. DOI: 10.1159/000511267.
- [35] LIU X Y, MENG L K, YUAN W, et al. Evidence for ANTXR2 as a therapeutic target on systemic-to-pulmonary shunt induced pulmonary arterial hypertension[J]. *Eur Heart J*, 2019, 40 (Suppl_1):ehz746.0733. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz746.0733.
- [36] GUAN H, YANG X F, SHI T, et al. CTRP9 mitigates the progression of arteriovenous shunt-induced pulmonary artery hypertension in rats[J]. *Cardiovasc Ther*, 2021, 2021: 4971300. DOI: 10.1155/2021/4971300.
- [37] SHIMAUCHI T, BOUCHERAT O, YOKOKAWA T, et al. PARP1-PKM2 axis mediates right ventricular failure associated with pulmonary arterial hypertension[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2022, 7(4):384-403. DOI: 10.1016/j.jacbts.2022.01.005.
- [38] AKAZAWA Y, OKUMURA K, ISHII R, et al. Pulmonary artery banding is a relevant model to study the right ventricular remodeling and dysfunction that occurs in pulmonary arterial hypertension[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2020, 129(2): 238-246. DOI: 10.1152/jappphysiol.00148.2020.
- [39] MENG L K, LIU X Y, ZHENG Z, et al. Original rat model of high kinetic unilateral pulmonary hypertension surgically induced by combined surgery[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2013, 146 (5):1220-1226.e1. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2013.01.018.
- [40] LACHANT D J, MEOLI D F, HAIGHT D, et al. Low dose monocrotaline causes a selective pulmonary vascular lesion in male and female pneumonectomized rats[J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44(1):51-61. DOI: 10.1080/01902148.2017.1422157.
- [41] KATZ M G, FARGNOLI A S, GUBARA S M, et al. The left pneumonectomy combined with monocrotaline or sugen as a model of pulmonary hypertension in rats[J]. *J Vis Exp*, 2019 (145):10.3791/59050. DOI: 10.3791/59050.
- [42] BISSERIER M, BOUCHERAT O, BONNET S, et al. Intra-airway gene delivery for pulmonary hypertension in rodent models [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2573:263-278. DOI: 10.1007/978-1-0716-2707-5_20.
- [43] YAN J, SHEN Y, WANG Y, et al. Increased expression of hypoxia-inducible factor-1 α in proliferating neointimal lesions in a rat model of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Med Sci*, 2013, 345(2):121-128. DOI: 10.1097/MAJ.0b013e31824cf5a2.
- [44] DUAN Y, WANG T, WU S S, et al. The role of the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway in the pulmonary vascular remodeling of pulmonary arterial hypertension in rats[J]. *ScienceAsia*, 2023, 49(1): 56. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2023.130.
- [45] MEDARAMETLA V, FESTIN S, SUGARRAGCHAA C, et al. PK10453, a nonselective platelet-derived growth factor receptor inhibitor, prevents the progression of pulmonary arterial hypertension[J]. *Pulm Circ*, 2014, 4(1): 82-102. DOI: 10.1086/674881.
- [46] SITAPARA R, SLEE D, SALTER-CID L, et al. Abstract 12947: *In vivo* efficacy of a novel, inhaled Pdgfra/b inhibitor, Gb002, in the rat monocrotaline and pneumonectomy model of pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2019, 140 (Suppl_1): A12947. DOI:10.1161/circ.140.suppl_1.12947.
- [47] BISSERIER M, KATZ M G, BUENO-BETI C, et al. Combination therapy with STAT3 inhibitor enhances SERCA2a-induced BMPR2 expression and inhibits pulmonary arterial hypertension[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17):9105. DOI: 10.3390/ijms22179105.
- [48] VAN DER FEEN D E, WEIJ M, SMIT-VAN OOSTEN A, et al. Shunt surgery, right heart catheterization, and vascular morphometry in a rat model for flow-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *J Vis Exp*, 2017(120): 55065. DOI: 10.3791/55065.
- [49] VAN DER FEEN D E, KURAKULA K, TREMBLAY E, et al. Multicenter preclinical validation of BET inhibition for the treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(7):910-920. DOI: 10.1164/rccm.201812-2275OC.
- [50] VAN DER FEEN D E, BOSSERS G P L, HAGDORN Q A J, et al. Cellular senescence impairs the reversibility of pulmonary arterial hypertension[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(554): eaaw4974. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaw4974.
- [51] ALAMRI A K, SHELBURNE N J, MAYEUX J D, et al. Pulmonary hypertension association's 2022 international conference scientific Sessions overview[J]. *Pulm Circ*, 2023, 13(1):e12182. DOI: 10.1002/pul2.12182.
- [52] ZHOU J J, LI H, QIAN Y L, et al. Nestin represents a potential marker of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 149:41-53. DOI: 10.1016/j.jmcc.2020.09.005.
- [53] ZHOU J J, LI H, LI L, et al. CYLD mediates human pulmonary artery smooth muscle cell dysfunction in congenital heart disease-associated pulmonary arterial hypertension[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(9):6297-6311. DOI: 10.1002/jcp.30298.
- [54] ZHOU J J, YANG J, LI L, et al. Transgelin exacerbates pulmonary artery smooth muscle cell dysfunction in shunt-related pulmonary arterial hypertension[J]. *ESC Heart Fail*, 2022, 9(5):3407-3417. DOI: 10.1002/ehf2.14080.
- [55] ZHOU J J. Synemin promotes pulmonary artery smooth muscle cell phenotypic switch in shunt-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *ESC Heart Fail*, 2022, 9(5):3221-3231. DOI: 10.1002/ehf2.14048.
- [56] ZHOU J J, LI F R, YANG Y C. Protective effects of calcyclin-binding protein against pulmonary vascular remodeling in flow-associated pulmonary arterial hypertension[J]. *Respir Res*, 2022, 23(1):223. DOI: 10.1186/s12931-022-02137-z.
- [57] TARASEVICIENE-STEWART L, KASAHARA Y, ALGER L, et al. Inhibition of the VEGF receptor 2 combined with chronic

- hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension[J/OL]. *FASEB J*, 2001, 15(2): 427-438. DOI:10.1096/fj.00-0343com.
- [58] HURST L A, DUNMORE B J, LONG L, et al. TNF α drives pulmonary arterial hypertension by suppressing the BMP type-II receptor and altering NOTCH signalling[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14079. DOI: 10.1038/ncomms14079.
- [59] WU Z H, ZHU L, NIE X R, et al. USP15 promotes pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension in a YAP1/TAZ-dependent manner[J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(1):183-195. DOI: 10.1038/s12276-022-00920-y.
- [60] SHEN H, ZHANG J, WANG C, et al. MDM2-mediated ubiquitination of angiotensin-converting enzyme 2 contributes to the development of pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2020, 142(12): 1190-1204. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048191.
- [61] CLEMENTS R T, VANG A, FERNANDEZ-NICOLAS A, et al. Treatment of pulmonary hypertension with angiotensin II receptor blocker and neprilysin inhibitor sacubitril/valsartan [J]. *Circ Heart Fail*, 2019, 12(11): e005819. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.005819.
- [62] BAO C L, HE Q, WANG H, et al. Artemisinin and its derivate alleviate pulmonary hypertension and vasoconstriction in rodent models[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:2782429. DOI: 10.1155/2022/2782429.
- [63] JIA D L, BAI P Y, WAN N F, et al. Niacin attenuates pulmonary hypertension through H-PGDS in macrophages[J]. *Circ Res*, 2020, 127(10):1323-1336. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316784.
- [64] WANG L N, ZHANG X Y, CAO Y P, et al. Mice with a specific deficiency of Pfkfb3 in myeloid cells are protected from hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(5):1055-1072. DOI: 10.1111/bph.15339.
- [65] MACIAS D, MOORE S, CROSBY A, et al. Targeting HIF2 α -ARNT hetero-dimerisation as a novel therapeutic strategy for pulmonary arterial hypertension[J]. *Eur Respir J*, 2021, 57(3):1902061. DOI: 10.1183/13993003.02061-2019.
- [66] DANEVA Z, CHEN Y L, TA H Q, et al. Endothelial IK and SK channel activation decreases pulmonary arterial pressure and vascular remodeling in pulmonary hypertension[J]. *Pulm Circ*, 2023, 13(1):e12186. DOI: 10.1002/pul2.12186.
- [67] SUEN C M, CHAUDHARY K R, DENG Y P, et al. Fischer rats exhibit maladaptive structural and molecular right ventricular remodelling in severe pulmonary hypertension: a genetically prone model for right heart failure[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(4):788-799. DOI: 10.1093/cvr/cvy258.
- [68] MORIMATSU Y, SAKASHITA N, KOMOHARA Y, et al. Development and characterization of an animal model of severe pulmonary arterial hypertension[J]. *J Vasc Res*, 2012, 49(1):33-42. DOI: 10.1159/000329594.
- [69] INTERNATIONAL PPH CONSORTIUM, LANE K B, MACHADO R D, et al. Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension[J]. *Nat Genet*, 2000, 26(1):81-84. DOI: 10.1038/79226.
- [70] DANNEWITZ PROSEDA S, ALI M K, SPIEKERKOEETTER E. Novel advances in modifying BMPR2 signaling in PAH[J]. *Genes*, 2020, 12(1):8. DOI: 10.3390/genes12010008.
- [71] MACHADO R D, PAUCIULO M W, THOMSON J R, et al. BMPR2 haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension[J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 68(1):92-102. DOI: 10.1086/316947.
- [72] BEPPU H, ICHINOSE F, KAWAI N, et al. BMPR-II heterozygous mice have mild pulmonary hypertension and an impaired pulmonary vascular remodeling response to prolonged hypoxia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287(6): L1241-L1247. DOI: 10.1152/ajplung.00239.2004.
- [73] LONG L, ORMISTON M L, YANG X D, et al. Selective enhancement of endothelial BMPR-II with BMP9 reverses pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Med*, 2015, 21(7):777-785. DOI: 10.1038/nm.3877.
- [74] HAUTEFORT A, MENDES-FERREIRA P, SABOURIN J, et al. Bmpr2 mutant rats develop pulmonary and cardiac characteristics of pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2019, 139(7): 932-948. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033744.
- [75] TIAN W, JIANG X G, SUNG Y K, et al. Phenotypically silent bone morphogenetic protein receptor 2 mutations predispose rats to inflammation-induced pulmonary arterial hypertension by enhancing the risk for neointimal transformation[J]. *Circulation*, 2019, 140(17): 1409-1425. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040629.
- [76] WEST J D, CHEN X P, PING L, et al. Adverse effects of BMPR2 suppression in macrophages in animal models of pulmonary hypertension[J]. *Pulm Circ*, 2019, 10(1): 2045894019856483. DOI: 10.1177/2045894019856483.
- [77] THEILMANN A L, HAWKE L G, HILTON L R, et al. Endothelial BMPR2 loss drives a proliferative response to BMP (bone morphogenetic protein) 9 via prolonged canonical signaling [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(11): 2605-2618. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313357.
- [78] MORENO J, ESCOBEDO D, CALHOUN C, et al. Arterial wall stiffening in caveolin-1 deficiency-induced pulmonary artery hypertension in mice[J]. *Exp Mech*, 2021, 61(1):217-228. DOI: 10.1007/s11340-020-00666-6.
- [79] LAMBERT M, CAPUANO V, BOET A, et al. Characterization of Kcnk3-mutated rat, a novel model of pulmonary hypertension [J]. *Circ Res*, 2019, 125(7): 678-695. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.314793.
- [80] WEST J D, AUSTIN E D, RIZZI E M, et al. KCNK3 mutation causes altered immune function in pulmonary arterial hypertension patients and mouse models[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9):5014. DOI: 10.3390/ijms22095014.
- [81] TU L, DESROCHES-CASTAN A, MALLETT C, et al. Selective BMP-9 inhibition partially protects against experimental pulmonary hypertension[J]. *Circ Res*, 2019, 124(6): 846-855. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313356.
- [82] BOUVARD C, TU L, ROSSI M, et al. Different cardiovascular and pulmonary phenotypes for single- and double-knock-out mice deficient in BMP9 and BMP10[J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(7):1805-1820. DOI: 10.1093/cvr/cvab187.
- [83] ZHANG Y N, ZERVOPOULOS S D, BOUKOURIS A E, et al. SNPs for genes encoding the mitochondrial proteins Sirtuin3 and uncoupling protein 2 are associated with disease severity, type 2 diabetes, and outcomes in patients with pulmonary arterial hypertension and this is recapitulated in a new mouse model lacking both genes[J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10(23):e020451. DOI: 10.1161/JAHA.120.020451.
- [84] DEMPSIE Y, NILSEN M, WHITE K, et al. Development of

- pulmonary arterial hypertension in mice over-expressing S100A4/Mts1 is specific to females[J]. *Respir Res*, 2011, 12(1): 159. DOI: 10.1186/1465-9921-12-159.
- [85] WEST J, RATHINASABAPATHY A, CHEN X P, et al. Overexpression of Mx1 in mouse lung leads to loss of pulmonary vessels following vascular hypoxic injury[J]. *Cells*, 2021, 10(9):2306. DOI: 10.3390/cells10092306.
- [86] XUE C, SOWDEN M, BERK B C. Extracellular cyclophilin A, especially acetylated, causes pulmonary hypertension by stimulating endothelial apoptosis, redox stress, and inflammation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(6): 1138-1146. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309212.
- [87] XUE C, SENCHANTHISAI S, SOWDEN M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition and inflammation play key roles in cyclophilin A-induced pulmonary arterial hypertension[J]. *Hypertension*, 2020, 76(4): 1113-1123. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14013.
- [88] GALIÈ N, HUMBERT M, VACHIERY J L, et al. 2015 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the joint task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): endorsed by: association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT)[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(1):67-119. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv317.
- [89] KIM K H, KIM H K, CHAN S Y, et al. Hemodynamic and histopathologic benefits of early treatment with macitentan in a rat model of pulmonary arterial hypertension[J]. *Korean Circ J*, 2018, 48(9):839-853. DOI: 10.4070/kcj.2017.0394.
- [90] LEE H, YEOM A, KIM K C, et al. Effect of ambrisentan therapy on the expression of endothelin receptor, endothelial nitric oxide synthase and NADPH oxidase 4 in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension rat model[J]. *Korean Circ J*, 2019, 49(9):866-876. DOI: 10.4070/kcj.2019.0006.
- [91] NOVELLI D, FUMAGALLI F, STASZEWSKY L, et al. Monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension: time-course of injury and comparative evaluation of macitentan and Y-27632, a Rho kinase inhibitor[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 865: 172777. DOI: 10.1016/j.ejphar. 2019. 172777.
- [92] CHAUMAIS M C, DJESSAS M R A, THUILLET R, et al. Additive protective effects of sacubitril/valsartan and bosentan on vascular remodelling in experimental pulmonary hypertension[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(5): 1391-1401. DOI: 10.1093/cvr/cvaa200.
- [93] ZHANG Z Y, LIU C L, BAI Y Y, et al. Pipersentan: a *de novo* synthetic endothelin receptor antagonist that inhibits monocrotaline- and hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 920222. DOI: 10.3389/fphar. 2022.920222.
- [94] VELASOVA E, LELKOVA K, VETESKOVA J, et al. Riociguat normalizes altered lung expression of serotonin-related genes and renal damage markers in experimental pulmonary hypertension[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(Suppl2): ehac544.1922. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac544.1922.
- [95] XU X, LI H L, WEI Q X, et al. Novel targets in a high-altitude pulmonary hypertension rat model based on RNA-seq and proteomics[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 742436. DOI: 10.3389/fmed.2021.742436.
- [96] SILVA M M C D, ALENCAR A K N, SILVA J S D, et al. Therapeutic benefit of the association of Iodanafil with mesenchymal stem cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension in rats[J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2120. DOI: 10.3390/cells9092120.
- [97] CHAUDHARY K R, DENG Y P, SUEN C M, et al. Efficacy of treprostinil in the SU5416-hypoxia model of severe pulmonary arterial hypertension: haemodynamic benefits are not associated with improvements in arterial remodelling[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(20): 3976-3989. DOI: 10.1111/bph.14472.
- [98] VANDERPOOL R R, GORELOVA A, MA Y R, et al. Reversal of right ventricular hypertrophy and dysfunction by prostacyclin in a rat model of severe pulmonary arterial hypertension[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(10):5426. DOI: 10.3390/ijms23105426.
- [99] MORRISON K, HAAG F, ERNST R, et al. Selective prostacyclin receptor agonist selexipag, in contrast to prostacyclin analogs, does not evoke paradoxical vasoconstriction of the rat femoral artery[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 365(3):727-733. DOI: 10.1124/jpet.117.246058.
- [100] HONDA Y, KOSUGI K, FUCHIKAMI C, et al. The selective PGI2 receptor agonist selexipag ameliorates Sugen 5416/hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension in rats[J]. *PLoS One*, 2020, 15(10):e0240692. DOI: 10.1371/journal.pone.0240692.
- [101] CORBOZ M R, PLAUNT A J, MALININ V S, et al. Assessment of inhaled treprostinil palmitil, inhaled and intravenous treprostinil, and oral selexipag in a sugen/hypoxia rat model of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2022, 383(1):103-116. DOI: 10.1124/jpet.122.001174.
- [102] RAI N, SHIHAN M, SEEGER W, et al. Genetic delivery and gene therapy in pulmonary hypertension[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3):1179. DOI: 10.3390/ijms22031179.
- [103] BISSERIER M, PRADHAN N, HADRI L. Current and emerging therapeutic approaches to pulmonary hypertension[J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2020, 21(2): 163-179. DOI: 10.31083/j.rcm.2020.02.597.

(收稿日期:2023-04-07 修回日期:2023-05-28)

(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,吴昊晟)

[引用本文]

俞佳慧, 巩倩, 庄乐南. 肺动脉高压动物模型及其在药物研究中的应用进展[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(4): 381-397. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.048.

YU J H, GONG Q, ZHUANG L N. Animal models of pulmonary arterial hypertension and their application in drug research[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2023, 43(4): 381-397. DOI: 10.12300/j.issn. 1674-5817.2023.048.