

许佳欢, 别亚男, 陈千晴, 等. 两种造模方法建立小鼠先兆子痫模型比较研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(1): 34-41.
Xu JH, Bie YN, Chen QQ, et al. A comparative study of the establishment of mouse pre-eclampsia models [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(1): 34-41.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.01.005

两种造模方法建立小鼠先兆子痫模型比较研究

许佳欢¹, 别亚男², 陈千晴¹, 陈柏羽¹, 欧宝芳¹, 谢水林^{3*}, 吴少瑜^{1*}

(1. 南方医科大学药学院, 广州 510515; 2. 广东药科大学生命科学与生物制药学院, 广州 511436;
3. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广州 510006)

【摘要】 目的 对比分析小鼠先兆子痫 (pre-eclampsia, PE) 模型两种造模方法的差异, 为不同类型先兆子痫动物模型的选择提供参考。**方法** 将 24 只 CD-1 孕鼠随机分成 4 组: 脂多糖对照组、脂多糖组、雷西莫特 (R848) 对照组、R848 组, 每组 6 只。脂多糖对照组和脂多糖组于妊娠第 13、14、15、16、17 天分别尾静脉注射生理盐水或 LPS (4 mg/kg); R848 对照组和 R848 组于妊娠第 13、15、17 天分别腹腔注射 R848 溶剂 (5% DMSO+40% PEG300+5% Tween-80+50% saline) 或 R848 (10 mg/kg); 同时于妊娠第 12、14、16、18 天测量尾动脉收缩压; 给药后于妊娠第 18 天解剖, 进行尿蛋白/尿肌酐检测、抗血管生成因子检测及 HE 染色。**结果** 与对照组相比, 两种造模方法均出现妊娠期高血压 (LPS 组的妊娠第 14、16、18 天的血压分别为: (142.16±4.81) mmHg、(144.07±2.91) mmHg 和 (143.31±4.61) mmHg; R848 组的妊娠第 14、16、18 天的血压分别为: (154.00±5.29) mmHg、(147.44±3.24) mmHg 和 (140.77±2.00) mmHg); 尿蛋白/尿肌酐检测结果显示, LPS 模型组比值升高 ($P<0.05$), R848 组无统计学差异 ($P>0.05$); 血清抗血管生成因子检测结果显示, 与对照组相比, 脂多糖组 sFlt-1 和 sEng 表达量无统计学差异 ($P>0.05$), R848 组血清内 sFlt-1 和 sEng 表达量均升高 ($P<0.01$); HE 结果显示, 与对照组相比, R848 组出现孕鼠胎盘血管慢性损伤, 合体滋养层广泛增生。**结论** 两种造模方法均能使孕鼠出现高血压、胎儿生长受限、内皮功能障碍等 PE 症状。腹腔注射 R848 造模法较尾静脉注射 LPS 法对动物的损伤程度更严重, 且给药方式为腹腔注射, 操作简单。

【关键词】 先兆子痫; 脂多糖; 雷西莫特; 动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 01-0034-08

A comparative study of the establishment of mouse pre-eclampsia models

XU Jiahuan¹, BIE Yanan², CHEN Qianqing¹, CHEN Baiyu¹, OU Baofang¹, XIE Shuilin^{3*}, WU Shaoyu^{1*}

(1. School of Pharmacy, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China. 2. School of Life Science and Biopharmaceuticals, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 511436. 3. School of Bioscience and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006)

【Abstract】 Objective To compare and analyze differences between two modeling method of mouse pre-eclampsia (PE), and to provide a reference to select different types of PE animal models. **Methods** Overall, 24 CD-1 pregnant mice were randomly divided into LPS control, LPS, R848 control and R848 groups with six mice in each group. Saline or LPS (4 mg/kg) was injected intravenously via the tail vein into mice in LPS control or LPS groups on days 13~17 of

【基金项目】 大型模式动物研发平台的建设及产业化项目 (2120197000014); 广东省医学科学技术研究基金项目 (A2020449); 广东省联合培养研究生示范基地项目 (粤教研函[2017]15 号)。

【作者简介】 许佳欢 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 干细胞与转化医学。E-mail: xujiahuan1209@163.com

【通信作者】 吴少瑜 (1980—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 具有抗肿瘤作用的新化合物筛选和机制研究。
E-mail: wushaoyu1980@126.com

谢水林 (1980—), 男, 实验师, 研究方向: 实验动物学。E-mail: xsl@scut.edu.cn * 共同通信作者

pregnancy. R848 solvent or R848 (10 mg/kg) was injected intraperitoneally into mice of R848 control and R848 groups on days 13, 15 and 17 of pregnancy. Systolic blood pressure of the tail artery was measured on days 12, 14, 16 and 18 of pregnancy. The mice were dissected on day 18 of pregnancy, followed by urine protein/creatinine detection, anti-vascular generation factor detection, and HE staining. **Results** Compared with the control group, gestational hypertension occurred in both modeling method. Blood pressure on days 14, 16 and 18 of pregnancy in the LPS group was (142.16±4.81), (144.07±2.91), and (143.31±4.61) mmHg, respectively. Blood pressure on days 14, 16 and 18 of pregnancy in the R848 group was (154.00±5.29), (147.44±3.24) and (140.77±2.00) mmHg, respectively. Urine protein/urine creatinine tests showed that the ratio was increased in the LPS model group ($P<0.05$), but there was no statistical difference in the R848 group ($P>0.05$). Compared with the corresponding control group, there was no significant difference in sFlt-1 or sEng expression in the lipopolysaccharide group ($P>0.05$), whereas sFlt-1 and sEng expression was increased in the R848 group ($P<0.01$). Compared with the control group, the R848 group had chronic injury of placental blood vessels, and extensive hyperplasia of syncytiotrophoblasts in pregnant mice. **Conclusions** Both modeling method induce symptoms of PE in pregnant mice, such as hypertension, fetal growth restriction, and endothelial dysfunction. However, the damage caused by the R848 modeling method is more serious and its advantage is a simple operation.

【Keywords】 preeclampsia; lipopolysaccharide; Resiquimod; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

先兆子痫 (pre-eclampsia, PE) 是一种累及多器官的妊娠相关疾病,其发病机制是不同程度的胎盘灌注不良引起可溶性因子释放,导致母体血管内皮损伤,从而致使高血压和多器官功能障碍^[1-2]。PE 引起的胎盘损伤可导致胎儿生长受限、流产以及死胎死产。PE 是孕产妇围产期死亡主要原因之一。2019 年全球疾病负担报告显示,每年约有 1800 万妇女患有妊娠高血压疾病,约 27 800 名孕产妇死亡^[3]。在过去的二十年中,先兆子痫的预防治疗取得了重大进展,主要包括孕前咨询、围产期血压控制和并发症管理、胎儿及时分娩和产后监测等^[4]。但除分娩外,没有其他更有效的靶向性治疗方案,目前也缺乏特效药物延缓疾病进展。因此,建立 PE 动物模型,对揭示其相关分子机制和探索有效的靶向治疗方案提供理论和实验依据。

小鼠模型因与人类的高度同源性以及相似的循环系统,在 PE 研究中被广泛使用和接受^[5]。模拟小鼠 PE 样症状的方法包括手术操作、近交系交配、外源性药物诱导以及构建转基因动物模型等^[6]。其中外源性药物主要是通过干扰免疫系统从而诱导 PE 的发生。先天模式识别受体家族 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 的激活会诱发妊娠依赖性高血压、肾功能不全、内皮功能障碍和胎盘损伤^[7]。在本研究中,我们使用不同的 TLR 激动剂诱导 PE,并评估 TLR4 激动剂脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)^[8] 和 TLR7/8 激动剂雷西莫特 (Resiquimod, R848)^[9] 在构建 PE 模型方面的异同点。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 CD-1 小鼠 12 只,8~12 周龄,体重 30~40 g; SPF 级雌性 CD-1 小鼠 24 只,8~12 周龄,体重 20~40 g; 购于浙江维通利华实验动物技术有限公司 [SCXK(浙)2019-0001], 饲养于广州华腾生物科技有限公司 [SYXK(粤)2020-0237]。所有动物实验均经广州华腾生物科技有限公司伦理委员会审核并批准 (HTSW211214), 严格遵守 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

脂多糖 (上海麦克林生化科技有限公司, L861706); 雷西莫特 (MedChemExpress, 144875-48-9); 小鼠 ELISA 试剂盒 (soluble FMS-like tyrosine kinase 1, sFlt-1, ml002064; soluble endothelial factor, sEng, ml002193) (上海酶联生物科技有限公司); 异氟烷 (深圳市瑞沃德生命科技有限公司, R510-22)。大小鼠无创尾动脉血压测量分析系统 (ZS-Z, 北京众实科技有限公司); 全自动生化分析仪 (Thermo Indiko Plus)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组与造模处理

孕鼠的获得: 将 24 只雌性小鼠与 12 只雄性小鼠按雌雄 2:1 的比例合笼饲养过夜; 在第 2 天 9:00 检查雌性小鼠的阴道栓, 若见阴道栓定义为妊娠第 0 天 (记为 E0)。

动物分组与造模处理: 将 24 只孕鼠随机分为 4 组: 脂多糖对照组、脂多糖组、R848 对照组、R848

组,每组 6 只。脂多糖对照组于妊娠第 13、14、15、16、17 天(E13、E14、E15、E16、E17)尾静脉注射 200 μ L 生理盐水;脂多糖组于妊娠第 13、14、15、16、17 天尾静脉注射 40 μ g/kg LPS;R848 对照组于妊娠第 13、15、17 天腹腔注射 200 μ L R848 溶剂(5% DMSO+40% PEG300+5% Tween-80+50% saline);R848 组于妊娠第 13、15、17 天按 10 mg/kg 的剂量腹腔注射 R848。

1.3.2 孕鼠无创血压测量

分别在妊娠第 12、14、16、18 天(E12、E14、E16、E18)上午 8:00~11:00,使用尾动脉血压监测仪测量孕鼠血压,每只孕鼠测量 3 次,结果取均值。

1.3.3 孕鼠尿蛋白/尿肌酐比值测定

收集孕鼠妊娠第 17 天 17:00~妊娠第 18 天 8:00 的尿液,使用全自动生化分析仪测定尿蛋白与尿肌酐含量。

1.3.4 ELISA 检测孕鼠血清 sFlt-1 和 sEng 水平

在妊娠第 18 天,采用眼眶静脉采血收集各组孕鼠血液于促凝管中,4℃ 静置 30 min 后,3000 r/min 离心 10 min 收集上清。根据试剂盒说明书检测血清中 sFlt-1 和 sEng 的含量。

1.3.5 HE 染色

在妊娠第 18 天,采用眼眶取血后,使用 10 mL 异氟烷过量麻醉处死孕鼠,开腹取出子宫,剥离胎盘,剖出胎鼠进行计数与称重。收集孕鼠的胎盘组织、子宫,于 10% 甲醛固定、乙醇脱水,经石蜡包埋、连续切片(厚度 4 μ m)后按常规步骤进行 HE 染色,观察各组织的病理改变。

1.4 统计学方法

实验数据采用 IBM SPSS 20 进行统计分析。采用 GraphPad Prism 7 软件进行绘图。对正态分布或近似正态分布的计量资料使用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)进行统计描述。多组比较采用单因素方差分析,

组间两两比较采用 LSD 法或 Tamhane's T^2 法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

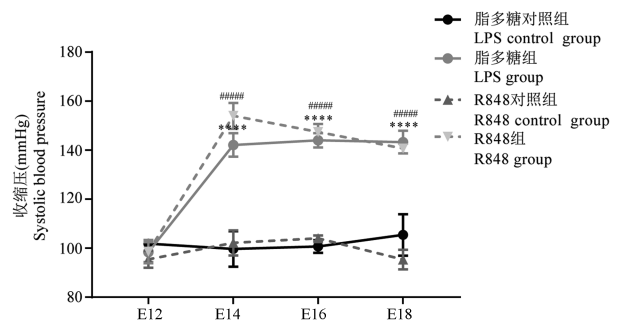
2 结果

2.1 各组孕鼠尾动脉收缩压比较

于妊娠第 13 天开始给予相应药物后,LPS 对照组与 R848 对照组相比,尾动脉收缩压水平无统计学差异($P>0.05$)。与 LPS 对照组相比,LPS 组尾动脉收缩压水平显著升高($P<0.0001$)。与 R848 对照组相比,R848 组尾动脉收缩压水平显著升高($P<0.0001$)(图 1、表 1)。LPS 组和 R848 组均出现孕鼠妊娠期高血压。

2.2 各组孕鼠尿蛋白/尿肌酐比值比较

使用终点法测定孕鼠尿蛋白,氧化酶法测定孕鼠尿肌酐,求得比值后发现,与 LPS 对照组相比,LPS 组比值升高($P<0.05$)。R848 组与 R848 对照组无统计学差异($P>0.05$)(图 2)。



注:与 LPS 对照组相比, **** $P<0.0001$;与 R848 对照组相比, #### $P<0.0001$ 。

图 1 四组孕鼠妊娠第 12、14、16、18 天尾动脉收缩压($n=6$)

Note. Compared with LPS control group, **** $P<0.0001$. Compared with R848 control group, #### $P<0.0001$.

Figure 1 The systolic blood pressure of caudal artery of pregnant mice in four groups on the 12th, 14th, 16th and 18th day of pregnancy

表 1 各组孕鼠尾动脉收缩压(mmHg, $n=6$)

Table 1 The systolic blood pressure of the tail artery of pregnant mice in each group

组别 Groups	E12	E14	E16	E18
LPS 对照组 LPS control group	98.17 $\pm$ 7.49	99.73 $\pm$ 7.24	100.74 $\pm$ 2.58	105.44 $\pm$ 8.46
LPS 组 LPS group	97.05 $\pm$ 10.96	142.16 $\pm$ 4.81****	144.07 $\pm$ 2.91****	143.31 $\pm$ 4.61****
R848 对照组 R848 control group	93.75 $\pm$ 4.24	102.17 $\pm$ 5.10	104.08 $\pm$ 1.16	95.38 $\pm$ 4.00
R848 组 R848 group	101.47 $\pm$ 6.88	154.00 $\pm$ 5.29####	147.44 $\pm$ 3.24####	140.77 $\pm$ 2.00####

注:与 LPS 对照组相比, **** $P<0.0001$;与 R848 对照组相比, #### $P<0.0001$ 。

Note. Compared with LPS control group, **** $P<0.0001$. Compared with R848 control group, #### $P<0.0001$.

2.3 各组孕鼠胎鼠情况比较

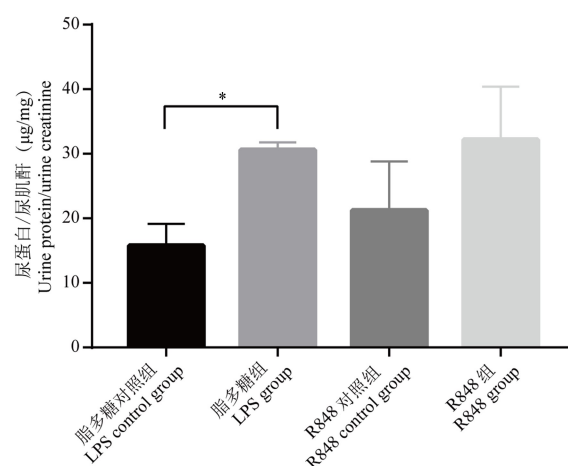
经过统计分析(图 3A),各组胎鼠数量无统计学差异($P>0.05$)(图 3B)。LPS 对照组与 R848 对照组胎鼠体重无统计学差异($P>0.05$),但与 LPS 对照组相比,LPS 组的胎鼠体重略有下降($P<0.05$)。与 R848 对照组相比,R848 组胎鼠体重显著下降($P<0.0001$)(图 3C)。提示 LPS 和 R848 诱导的先兆子痫模型会影响胚胎的发育。

2.4 各组孕鼠血清中 sFlt-1 和 sEng 的表达量

ELISA 检测结果显示(图 4),与 R848 对照组相比,LPS 对照组的各因子表达量无统计学差异($P>0.05$)。LPS 组与 LPS 对照组相比,sFlt-1 和 sEng 的表达无统计学差异($P>0.05$)。R848 组相比较于 R848 对照组,sFlt-1 和 sEng 的表达升高($P<0.01$)。

2.5 病理学变化

HE 染色结果显示(图 5),LPS 对照组和 R848 对照组的胎盘中迷路可见大量血窦,血窦大小正常,血窦周围见大量合体滋养层、细胞滋养层,细胞形态正常。LPS 组胎盘组织与 LPS 对照组相比无

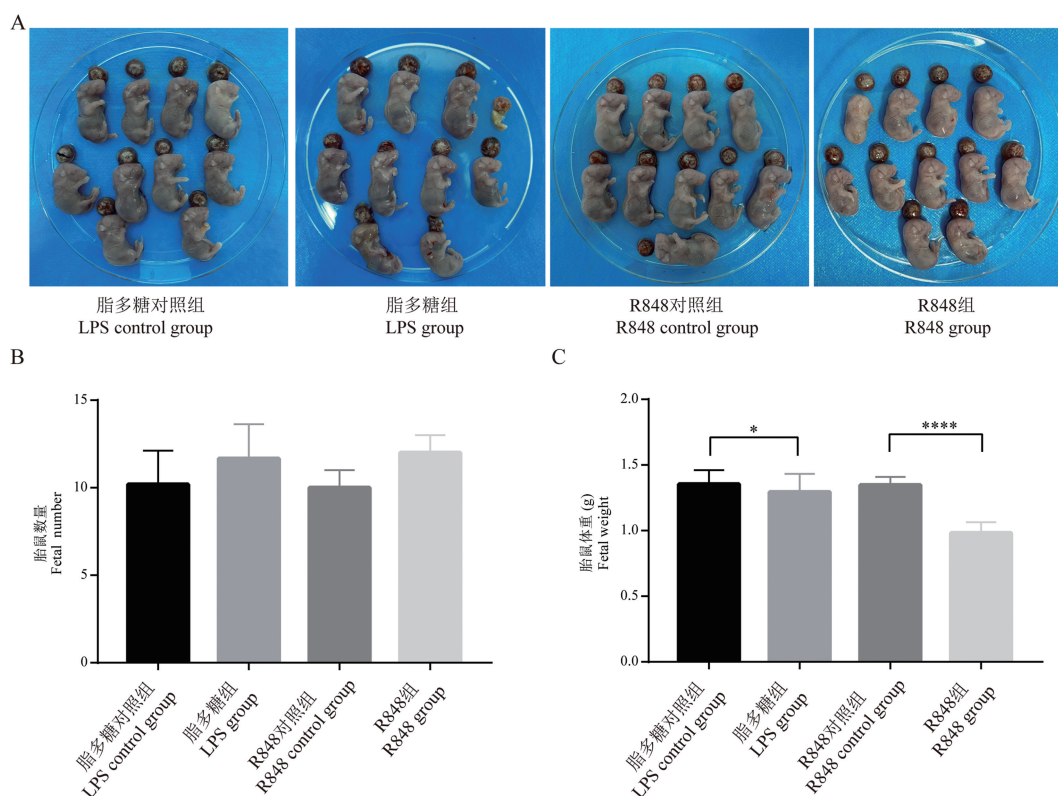


注:与同期相应组别比, * $P<0.05$ 。

图 2 四组孕鼠尿蛋白/尿肌酐结果($n=6$)

Note. Compared with the corresponding groups in the same period, * $P<0.05$.

Figure 2 Results of urinary protein/creatinine of pregnant mice in four groups

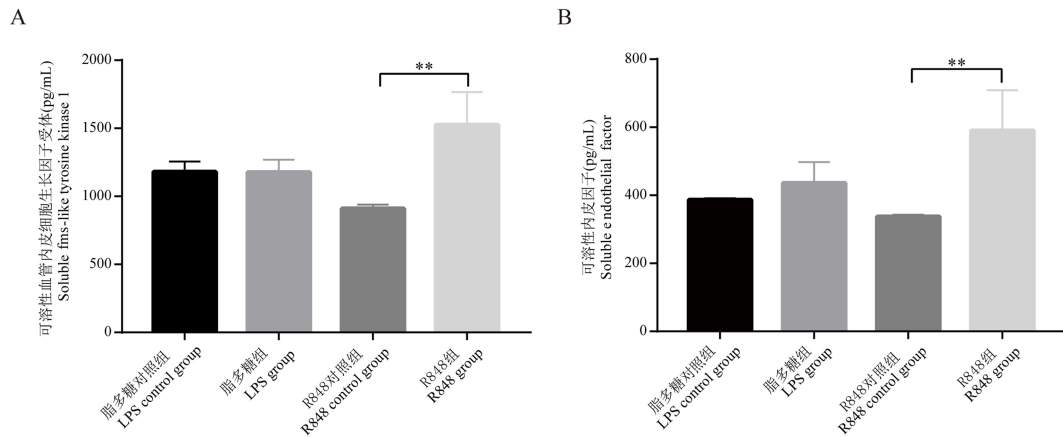


注:A:胎鼠大体观察结果;B:胎鼠数量;C:胎鼠体重。与同期相应组别比, * $P<0.05$, **** $P<0.0001$ 。

图 3 四组孕鼠胎鼠大体观察、数量及体重结果($n=6$)

Note. A, General observation results of pregnant mice. B, Number of pregnant mice. C, Pregnant mice weight. Compared with the corresponding groups in the same period, * $P<0.05$, **** $P<0.0001$.

Figure 3 Results of gross observation, number and weight of pregnant mice in four groups

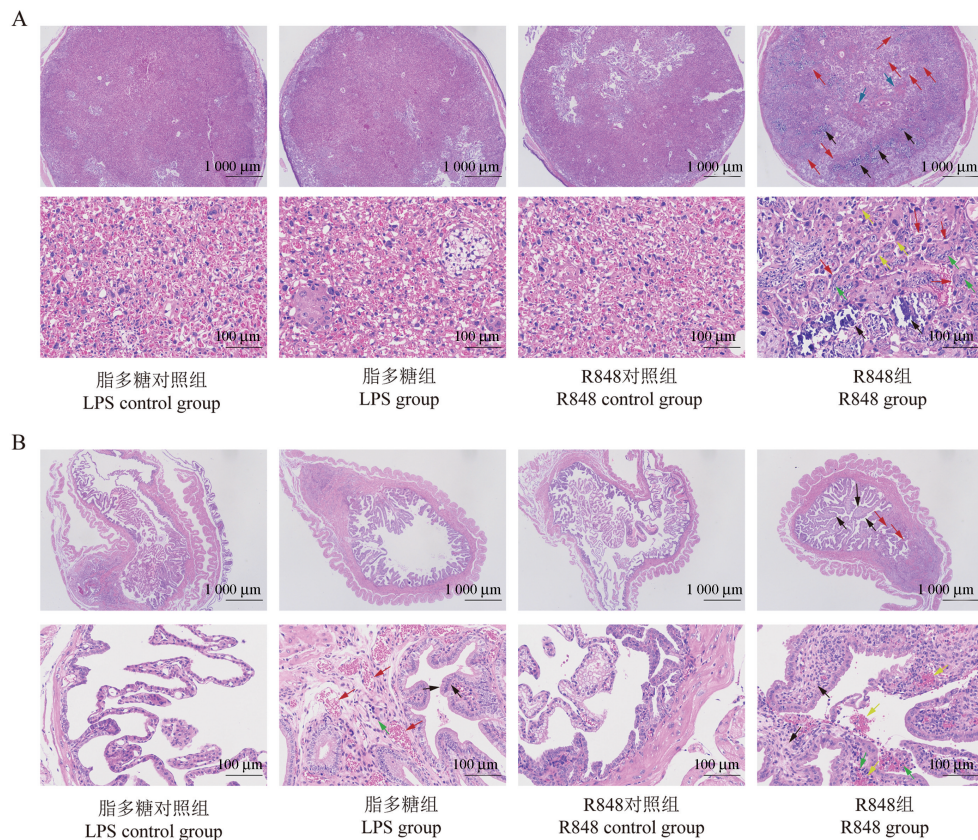


注:A:可溶性血管内皮细胞生长因子受体(sFlt-1)表达水平;B:可溶性内皮因子(sEng)表达水平。与同期相应组别比, ** $P < 0.01$ 。

图4 各组孕鼠血清中 sFlt-1 和 sEng 的表达水平结果($n=3$)

Note. A, Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) expression level. B, Soluble endothelial factor (sEng) expression level. Compared with the corresponding groups in the same period, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Results of sFlt-1 and sEng expression level in serum of pregnant mice in four groups



注:A:胎盘;黑色箭头:蓝紫色钙盐;红色箭头:合体胞滋养层增生;黄色箭头:红细胞;蓝色箭头:胞核;绿色箭头:细胞钙化;B:子宫;黑色箭头:上皮层结缔组织;红色箭头:血管扩张;黄色箭头:红细胞;绿色箭头:炎性细胞浸润。

图5 四组孕鼠胎盘、子宫 HE 染色

Note. A, Placenta. Black arrows, Blue-purple calcium salts. Red arrows, Syncytiotrophoblast hyperplasia. Yellow arrows, Red blood cells. Blue arrows, Nuclei. Green arrows, Cell calcification. B, Uterus. Red arrows, Vasodilation. Yellow arrows, Red blood cells. Green arrows, Inflammatory cell infiltration.

Figure 5 HE staining of placenta and uterus of four groups of pregnant mice

明显差异。而 R848 组的全部孕鼠出现严重的胎盘病变:胎盘组织迷路可见大量蓝紫色钙盐沉积,合体滋养层广泛增生并伴有大量钙化,可见细胞灶状坏死,滋养层内血窦数量明显减少。

此外,子宫 HE 染色结果显示,LPS 对照和 R848 对照组子宫的黏膜层见大量绒毛样结构,上皮完整,上皮细胞胞质丰富,形态正常,固有层见较多毛细血管,管腔大小正常。与 LPS 对照组比较,LPS 组 2/3 孕鼠的子宫的黏膜层绒毛轻度水肿,大量毛细血管增生及充血扩张,伴少量炎性细胞浸润。与 R848 对照组比较,R848 组全部孕鼠的子宫的黏膜上皮高度水肿,绒毛明显增厚,固有层结缔组织增生明显,毛细血管增生及淤血扩张,组织内可见小范围轻度出血,伴少量炎性细胞浸润。

3 讨论

先兆子痫是一种多系统妊娠特异性疾病,其发病机制主要涉及两个阶段:胎盘异常和母体综合征的发展^[10]。因此构建合适的动物模型有助于更好地了解其发病机制和寻找有效的治疗方法。小鼠胎盘在结构上类似于人类胎盘,具有高度的功能保护^[11]。目前,构建小鼠 PE 模型的方法主要有:(1)使用手术诱导法,降低胎盘灌注压^[12]。此方法产生类似于伴有胎儿生长受限的晚发性 PE 病理效应。由于手术是在胎盘发育后进行的,不影响螺旋动脉正常重塑,一般用于胎盘缺血和胎盘功能不全的研究;(2)近交系交配:雄性 DBA/2 近交系小鼠与 CBA/J 近亲繁殖^[13],此方法可引起半异体胎盘的免疫排斥反应,及主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)与母体不相容性导致流产;(3)基因编辑:storkhead box 1 过表达^[14]、吡啶胺 2,3-双加氧酶敲除^[15],此方法使用传统的转基因技术调控与 PE 相关基因的表达,同时影响胎盘和胎儿,因此必须考虑胎儿基因组改变对病理或表型的影响;(4)外源性药物诱导:血管紧张素 II 型 1 受体^[16]、TLR 激动剂^[17]、L-NAME (ng-nitro-L-arginine methyl ester, 硝基-L-Arg-甲基酯)^[18],这些药物中的绝大多数调节免疫系统,通常在胎盘发育发生后引入,模拟晚发性 PE 的慢性炎症状态;(5)全身性腺病毒感染和滋养层特异性转基因方法^[19],全身性腺病毒感染因其肝中靶基因的腺病毒摄取和错误表达可导致母体假病毒性肝炎,产生与 PE 无关联性的其他症状。滋养层特异性慢病毒转基

因方法仅在胎盘的滋养层部分表达靶基因,可避免产生脱靶或继发性效应。上述造模方法可产生 PE 部分或全部特征,及一些与人类 PE 临床不具相关性的辅助表型,但由于存在发病机制和功能活性的差异以及病理进程的不一致,仍需建立更可靠的 PE 动物模型进行验证以提高向人类转化效率。

LPS 是一种细菌内毒素,作用于细胞膜表面的 Toll 样受体 4^[20]。LPS 给药是常用的 PE 造模方法。在免疫细胞中,LPS 可以触发促炎细胞因子的释放和活性氧的产生^[21]。Li 等^[8]于妊娠 7.5~17.5 d 在 CD-1 小鼠中注射 LPS,随后观察到血压升高,胎盘胎儿血管面积、滋养层侵袭和螺旋动脉重塑减少,纤维蛋白沉积和肾小球肿胀的肾损伤。

TLR7 和 TLR8 通过与内体或吞噬体中的配体结合来识别细胞内信号^[22]。与正常孕妇相比,PE 患者的胎盘中合体滋养细胞和细胞滋养细胞中的 TLR7 和 TLR8 表达增加。研究发现,用 TLR7/8 激动剂诱导的 PE 小鼠,其滋养层细胞的 TLR7 和 TLR8 的蛋白质水平增加,出现高血压、蛋白尿、炎症和胎盘功能障碍的表征^[9]。

在本研究中,与相对应的对照组相比,LPS 模型组和 R848 模型组均出现了妊娠期高血压(收缩压 ≥ 140 mmHg/舒张压 ≥ 90 mmHg)。尿蛋白/尿肌酐结果显示,LPS 组出现蛋白尿,但 R848 组并没有出现蛋白尿,这可能与 TLR8 在小鼠中抑制 TLR7 的介导作用有关,从而对肾有保护作用^[23]。尽管如此,胎盘 TLR7/8 的过度激活可诱发妊娠依赖性高血压和内皮功能障碍。本研究发现,LPS 组和 R848 组的胎儿体重低于相应对照组($P < 0.05$),这表明胎儿生长受限。与此同时,HE 染色结果表明,LPS 组和 R848 组子宫均出现少量炎性细胞浸润,且 R848 组胎盘组织可见灶状坏死。因此,本研究成功地构建了使用 TLR4 激动剂 LPS 和 TLR7/8 激动剂 R848 诱导的 PE 动物模型。

在先兆子痫中,胎盘分泌的过量 sFlt-1,通过结合局部和循环血液中的血管生成蛋白(vascular endothelial growth factor, VEGF)和胎盘生长因子(placental growth factor, PlGF),抑制其传导,从而导致内皮细胞功能障碍^[24]。抗血管生成蛋白 sEng 是一种胎盘衍生的可溶性转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 共受体,抑制 TGF- β 1 与其受体和下游信号传导的结合,引起 TGF- β 信号传导失调^[25]。sEng 在先兆子痫患者血清中的表达量与

疾病严重程度呈正相关。在妊娠大鼠中,相比于单独使用,sEng 和 sFlt-1 的联用产生先兆子痫的体征和症状更严重^[26]。这与我们的实验结果相一致,sEng 和 sFlt-1 表达量升高的 R848 模型组比 sEng 和 sFlt-1 含量无统计学差异的 LPS 模型组的先兆子痫表征更严重,如胎儿体重下降更明显、胎盘严重病变。

综上所述,LPS 和 R848 均能构建出与人类 PE 病理相似(新发高血压或伴有蛋白尿、胎盘功能障碍以及其他器官功能障碍等^[6])的 PE 动物模型。LPS 在妊娠和非妊娠动物中都可诱导全身炎症,其机制为慢性炎症状态的持续激活,这表明 LPS 引起的表型可能不是妊娠特异性的^[27]。根据胎盘 HE 染色结果表明,R848 构建的 PE 模型表征更为严重,且给药方式为腹腔注射,操作简单。同时,在 R848 模型小鼠循环中发生了抗血管生成与促血管生成的不平衡:与对照组相比,R848 组小鼠血清的 sFlt-1 和 sEng 表达上升,暗示 TLR7/8 介导的炎症免疫反应可能通过调节 sFlt-1 和 sEng 的表达从而抑制母胎界面的血管生成,参与 PE 的发生发展^[28-29]。因此,针对 TLR7/8 开发的 ssRNA 或者小分子抑制剂可能通过促进新生血管的生成阻断 PE 的进展。

本研究建立的 TLR7/8 诱导的 PE 样小鼠模型是较为新颖且有相关数据支持的模型^[30]。该模型不仅具有妊娠期特有的高血压以及合并胎儿生长受限等不良妊娠结局的 PE 样表型,而且具有类似人类 PE 胎盘滋养细胞侵袭不足的病理特征。进一步提示了母胎界面 TLR7 信号通路异常在 PE 发病过程中的重要作用,并为研究 PE 的发病机制提供了一个合适的动物模型。

参考文献:

- [1] Abbasi J. Cell-free RNA in maternal plasma predicts preeclampsia [J]. JAMA, 2022, 327(6): 517.
- [2] Chappell LC, Cluver CA, Kingdom J, et al. Pre-eclampsia [J]. Lancet, 2021, 398(10297): 341-354.
- [3] Wang W, Xie X, Yuan T, et al. Epidemiological trends of maternal hypertensive disorders of pregnancy at the global, regional, and national levels: a population-based study [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2021, 21(1): 364.
- [4] Ashworth D, Battersby C, Green M, et al. Which antihypertensive treatment is better for mild to moderate hypertension in pregnancy? [J] BMC, 2022, 376: e066333.
- [5] 何岑盈, 谢莹莺, 徐梦婷. 关于建立子痫前期大鼠小鼠模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 110-116.
- [6] Waker CA, Kaufman MR, Brown TL. Current state of preeclampsia mouse models: approaches, relevance, and standardization [J]. Front Physiol, 2021, 12: 681632.
- [7] Afkham A, Eghbal-Fard S, Heydarlou H, et al. Toll-like receptors signaling network in pre-eclampsia: an updated review [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3): 2229-2240.
- [8] Li G, Ma L, Lin L, et al. The intervention effect of aspirin on a lipopolysaccharide-induced preeclampsia-like mouse model by inhibiting the nuclear factor- κ B pathway [J]. Biol Reprod, 2018, 99(2): 422-432.
- [9] Chatterjee P, Weaver LE, Doersch KM, et al. Placental toll-like receptor 3 and toll-like receptor 7/8 activation contributes to preeclampsia in humans and mice [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41884.
- [10] Phipps EA, Thadhani R, Benzing T, et al. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies [J]. Nat Rev Nephrol, 2019, 15(5): 275-289.
- [11] Silva JF, Serakides R. Intrauterine trophoblast migration: a comparative view of humans and rodents [J]. Cell Adh Migr, 2016, 10(1-2): 88-110.
- [12] 黄文亭, 曾子纯, 王冬菊, 等. 改良减少子宫血流灌注法建立子痫前期大鼠模型 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(6): 776-780.
- [13] Ahmed A, Singh J, Khan Y, et al. A new mouse model to explore therapies for preeclampsia [J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13663.
- [14] Doridot L, Passet B, Méhats C, et al. Preeclampsia-like symptoms induced in mice by fetoplacental expression of STOX1 are reversed by aspirin treatment [J]. Hypertension, 2013, 61(3): 662-668.
- [15] Broekhuizen M, Klein T, Hitzerd E, et al. L-Tryptophan-Induced vasodilation is enhanced in preeclampsia: studies on its uptake and metabolism in the human placenta [J]. Hypertension, 2020, 76(1): 184-194.
- [16] Xia Y, Kellems RE. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies and hypertension: preeclampsia and beyond [J]. Circ Res, 2013, 113(1): 78-87.
- [17] Afkham A, Eghbal-Fard S, Heydarlou H, et al. Toll-like receptors signaling network in pre-eclampsia: an updated review [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3): 2229-2240.
- [18] 朴慧娟. 针刺颈段夹脊穴对 L-NAME 诱导的高血压大鼠降压效应及其机理研究 [D]. 延边: 延边大学, 2021.
- [19] Albers RE, Kaufman MR, Natale BV, et al. Trophoblast-specific expression of HIF-1 α results in preeclampsia-like symptoms and fetal growth restriction [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 2742.
- [20] Heinrich MA, Mangia M, Prakash J. Impact of endotoxins on bioengineered tissues and models [J]. Trends Biotechnol, 2022, 40(5): 532-534.
- [21] Sheller-Miller S, Radnaa E, Yoo J, et al. Exosomal delivery of

- NF- κ B inhibitor delays LPS-induced preterm birth and modulates fetal immune cell profile in mouse models [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(4): eabd3865.
- [22] Huppertsberg A, Kaps L, Zhong Z, et al. Squaric ester-based, pH-degradable nanogels: modular nanocarriers for safe, systemic administration of toll-like receptor 7/8 agonistic immune modulators [J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(26): 9872–9883.
- [23] Demaria O, Pagni PP, Traub S, et al. TLR8 deficiency leads to autoimmunity in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(10): 3651–3662.
- [24] 于颖, 路鸿艳. 血管内皮生长因子失衡及补体沉积与先兆子痫的相关性研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(4): 70–76.
- [25] Maynard S, Epstein FH, Karumanchi SA. Preeclampsia and angiogenic imbalance [J]. *Annu Rev Med*, 2008, 59(1): 61–78.
- [26] Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia [J]. *Nat Med*, 2006, 12(6): 642–649.
- [27] Zhou J, Miao H, Li X, et al. Curcumin inhibits placental inflammation to ameliorate LPS-induced adverse pregnancy outcomes in mice via upregulation of phosphorylated Akt [J]. *Inflamm Res*, 2017, 66(2): 177–185.
- [28] Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: The role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2011, 123: 2856–2869.
- [29] Opichka MA, Rappelt MW, Gutterman DD, et al. Vascular dysfunction in preeclampsia [J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3055.
- [30] Chiasson VL, Chatterjee P, Hatahet M, et al. Placental expanded (PLX) cell treatment ameliorates preeclampsia induced by TLR3 or TLR7 activation in mice [J]. *Hypertension*, 2013, 62(1): A545.
- [收稿日期] 2022-03-01

小鼠背侧导水管周围灰质在先天胁迫下逃跑和僵立的不同编码特征

鼠类为了躲避天敌常常表现出逃跑(flight)或僵立(freezing)的先天防御行为,该行为的产生与中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)有关。目前,背侧 PAG(dorsal PAG, dPAG)对这两种防御行为的神经编码机制尚需要进一步研究。

该研究采用模拟天敌迫近的 Looming 和模拟天敌掠过的 sweeping 两种视觉刺激范式诱导 C57BL/6 小鼠先天性防御行为,并将 4×4 的微电极阵列植入 dPAG 记录小鼠产生两种防御行为的神经信号,从胞外动作电位(spike)和局部场电位(local field potential, LFP)中分别提取和分析两种防御行为的神经编码特征。结果表明,dPAG 在 C57 小鼠逃跑和僵立时神经放电模式和编码特征不同;逃跑行为比僵立行为的时间延迟更短,逃跑时 dPAG 的 Spike 发放率显著升高,而僵立行为的则显著下降;此外,两种防御行为的 dPAG 神经动作电位放电序列的峰峰间隔(Inter Spike Interval, ISI)分布差异主要表现在 2~10 ms 内,且逃跑行为高于僵立行为。两种防御行为 dPAG 的 LFP 差异主要集中在 theta 频带,其中逃跑行为 8~10 Hz,而僵立行为则在 6~8 Hz。同步似然算法构建脑功能网络表明,逃跑和僵立时 dPAG theta 频带的脑功能网络连接密度显著增强。综上所述,该研究揭示了视觉诱导的恐惧情绪在小鼠防御运动行为调制中发挥关键作用。Looming 刺激模拟天敌迫近,诱发小鼠强烈的恐惧应激产生潜意识快速逃跑行为;而 Sweeping 刺激模拟天敌掠过,刺激相对较弱可能诱发僵立行,揭示了小鼠 dPAG 在先天恐惧范式中诱发逃跑和僵立行为的神经编码机制,证实了恐惧核团在哺乳动物行为调控中的发挥重要作用。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Models and Experimental Medicine*, 2022, 5(6):491–501; <https://doi.org/10.1002/ame2.12276>)