

自发性脑出血动物模型选择及临床前药物试验指南 (2024年版)

中国研究型医院学会医学动物实验专家委员会

[摘要] 自发性脑出血 (spontaneous intracerebral hemorrhage, sICH) 是最常见和致死性最高的卒中类型, 其特征是脑实质的自发性出血, 目前尚无有效的防治方法。现有的 sICH 动物模型可以概括为三大类: (1) 诱导性脑出血模型, 主要有自体血注入、胶原酶注射、微气球充盈、高血糖诱导的 sICH 血肿扩大模型; (2) 自发性高血压脑出血模型, 主要有易卒中自发性高血压大鼠和易卒中肾血管性高血压大鼠模型; (3) 基因修饰模型, 主要有高血压脑出血转基因模型、脑淀粉样血管病转基因模型、脑动静脉畸形病变相关基因修饰模型、脑海绵状血管畸形相关基因修饰模型及胶原蛋白相关基因修饰模型。这些模型不仅帮助我们了解 sICH 的发病机制、探索预防或治疗的方法, 也可用于临床前药物试验, 促进 sICH 新药研发工作。本指南系统总结了 sICH 的发病机制, 详细介绍了不同种属建模动物的优劣性、不同 sICH 动物模型的建模原理和方法、建模技术细节、模拟的病理生理机制及其临床相关性以及 sICH 动物模型神经行为评价技术, 并比较了各种 sICH 模型的优缺点及其适用的研究范围, 最后重点概括了 sICH 相关的临床前药物试验设计要点。

[关键词] 自发性脑出血; 卒中; 动物模型; 临床前药物试验

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)01-0003-28



Guidelines for the Selection of Animal Models and Preclinical Drug Trials for Spontaneous Intracerebral Hemorrhage (2024 Edition)

Committee of Experts on Medical Animal Experiments, Chinese Research Hospital Association

Correspondence to: ZHANG Huabiao (ORCID: 0009-0002-1094-0891), E-mail: zhanghuabiao@yeah.net;

HE Gang (ORCID: 0009-0005-5102-6264), E-mail: hegangdoctor@126.com;

HAN Xinwei (ORCID: 0000-0003-4407-4864), E-mail: hanxinwei2006@163.com;

LI Yingjun (ORCID: 0009-0003-5971-6599), E-mail: bjthst@163.com

[ABSTRACT] Spontaneous intracerebral hemorrhage (sICH), the most prevalent and lethal subtype of stroke, is characterized by spontaneous hemorrhage in the brain parenchyma. Presently, there are no effective methods for preventing and treating sICH. The existing sICH animal models can be broadly categorized into three classes: (1) induced intracerebral hemorrhage models, including autologous blood injection model, collagenase injection model, microballoon inflation model, and hyperglycemia-induced sICH hematoma expansion model; (2) spontaneous hypertensive intracerebral hemorrhage models mainly include stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRsp) and stroke-prone renovascular hypertensive rats (RHRsp); (3) gene-modified models encompassing transgenic hypertensive intracerebral hemorrhage, transgenic cerebral amyloid angiopathy, arteriovenous malformation-related, cerebral cavernous malformation-related and collagen-related genetically modified animal models for sICH.

[通信作者] 张化彪 (1969—), 男, 博士, 副主任医师, 副教授, 研究方向: 神经病学和介入神经放射学的临床、教学和科研。E-mail: zhanghuabiao@yeah.net。ORCID: 0009-0002-1094-0891;

何 纲 (1966—), 男, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向: 中西医结合脑血管病基础和临床研究。E-mail: hegangdoctor@126.com。ORCID: 0009-0005-5102-6264;

韩新巍 (1958—), 男, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向: 各类疾病的影像学诊断与介入放射学理论和临床, E-mail: hanxinwei2006@163.com。ORCID: 0000-0003-4407-4864;

李英俊 (1974—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 病理学与病理生理学。E-mail: bjthst@163.com。ORCID: 0009-0003-5971-6599

These models contribute not only to unraveling the pathogenesis of sICH and exploring preventive or therapeutic interventions, but also serve as invaluable tools for conducting preclinical drug trials to advance novel treatments. This guide comprehensively reviews sICH pathogenesis, delineates the superiority and inferiority of different species of modeling animals, explains the modeling principles and techniques for various sICH animal models, elucidates the technical details of animal model production, summarizes the pathophysiological mechanism simulated by the models and their clinical relevance, outlines the neurobehavioral evaluation methodologies for sICH animal models, compares the advantages and disadvantages of various models, and suggests their applicable research areas. Additionally, it underscores critical considerations in the design of preclinical drug trials for sICH.

[Key words] Spontaneous intracerebral hemorrhage; Stroke; Animal models; Preclinical drug trials

目次

1 流行病学与病因学.....	4	4.3.3 脑动静脉畸形相关基因修饰模型	13
2 病理学表现.....	6	4.3.4 脑海绵状血管畸形相关基因修饰模型	14
3 细胞病理生理学机制	7	4.3.5 胶原蛋白相关基因修饰模型	14
4 动物模型	9	4.3.6 各种基因修饰模型对比	14
4.1 诱导性模型	9	4.4 动物模型神经行为评价技术	14
4.1.1 胶原酶诱导模型	9	5 临床前药物试验设计要点	17
4.1.2 自体血注入模型	10	5.1 实验合法合规	17
4.1.3 微气球充盈模型	11	5.2 动物种属选择	17
4.1.4 高血糖诱导脑出血后血肿扩大模型	11	5.3 动物模型选择	17
4.2 自发性高血压脑出血模型	11	5.4 药物安全性和有效性评估	17
4.3 基因修饰模型	12	5.5 药物剂量探索和优化	20
4.3.1 高血压脑出血转基因模型	12	5.6 给药途径和方法确定	20
4.3.2 脑淀粉样血管病转基因模型	12	5.7 药效学实验设计和数据分析方法	21
		5.8 实验伦理和动物福利	21

自发性脑出血 (spontaneous intracerebral hemorrhage, sICH) 是最常见和致死性最高的卒中类型^[1]。在全球每年新发的1 500万卒中患者中, sICH占美国、欧洲和澳大利亚全部卒中的10%~15%, 占亚洲卒中的20%~30%^[2]; sICH在中国的占比则更高, 例如湖南长沙地区可达到55.4%^[3]。虽然目前针对sICH已普遍实施早期外科手术和ICU管理措施, 但仍不能有效地避免其较高的致残率和死亡率, 30 d死亡率可达40%^[4], 仅20%的幸存患者可在6个月内恢复到生活自理^[5]。因此, 通过动物模型深入研究和阐明sICH的关键机制、寻找sICH防治新靶点, 具有十分重要的临床意义^[6]。

目前, 卒中临床前研究面临的最大挑战是临床转化困难, 大量对动物模型有效的治疗药物在临床试验中却未得到阳性结果^[7]。其中的原因很复杂, 而且在动物模型制备技术的成熟度、模型的标准化和多样性、模型评价指标的选择、实验条件的控制、模型的临床

相关性等方面均存在缺陷, 大多数临床试验也未能遵循多中心随机双盲原则等, 这些都可能导致临床前研究结果与临床试验结果的不一致。鉴于此, 中国研究型医院学会医学动物实验专家委员会经过长期酝酿和多次深入讨论, 组织中国60余家科研院校的100多位基础和临床研究专家共同参与制订本指南。指南将重点介绍: (1) 不同种属建模动物的优劣性、不同sICH模型的建模原理和方法、建模技术细节、模拟的病理生理机制及其临床相关性、神经行为学评价技术、各种模型的优缺点及其适用的研究范围; (2) sICH临床前药物试验的设计要点。希望本指南能作为sICH临床前动物模型选择和药物评价研究的指导, 以促进我国脑卒中基础研究成果的转化应用。

1 流行病学与病因学

高血压是sICH最常见的危险因素。70%的sICH由高血压引起, 降低血压可明显降低sICH的发病率。其

治疗途径包括：(1) 急性期措施的控制血压、应用维生素K拮抗剂和外科手术清除颅内血肿等；(2) 长期措施的个体化最佳降压目标、新型抗凝药物的应用和创伤更小的外科手术等^[8]。在sICH患者血压 $\geq 140/90$ mmHg状态下，发病后6个月再出血的部位及其比例分别是：脑叶出血42%，深部实质出血50%，小脑出血8%^[8]。血压降低程度和神经功能获益之间存在一定关系。sICH后1 h内中度(22.8 mmHg)降低收缩压，90 d后反映神经功能的改良的Rankin量表(modified Rankin scale, mRS)评分明显好转；大幅度(60 mmHg)降低收缩压并不能带来神经功能改善和获益^[9]。在急性sICH动物模型中，血压增高程度与炎症因子和双重内皮缩血管素-1/血管内皮生长因子信号多肽受体(the dual endothelin-1/vascular endothelial growth factor signal-peptide receptor, DEspR)在外周血中性粒细胞和单核细胞中的表达水平呈正相关，当血压较高时DEspR表达水平也较高，对调节神经炎症反应有重要意义^[10]。因此，阻断DEspR表达、减少次级损伤因子DEspR⁺CD11b⁺免疫类型可降低高血压所致sICH的死亡率，提高患者生存率，减少神经功能损伤^[11]。给予高盐和N(ω)-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐(nomega-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride, L-NAME)饮食后，人类肾素(renin)和血管紧张素原(angiotensinogen)过表达(R⁺/A⁺)转基因小鼠的动脉血压呈进展性升高，在10 d后出现sICH^[12]，该模型优于胶原酶注射模型。不足之处是出血量过少和出血时间不确定，导致针对sICH的治疗时间窗太短^[13]。

平滑肌细胞变性导致局部小血管破裂，与颅内深部自发性sICH相关，但某些进展性平滑肌细胞变性导致的小血管病却很少发生深部sICH。胶原酶IV(collagen type IV, Col4) $\alpha 1$ 和Col4 $\alpha 2$ 形成的异三聚体对血管基质膜和功能有重要作用，两种基因突变可引起脑血管微出血和致命性sICH^[14]。其机制可能是：通过增加小鼠Notch3活性而使转化片段(translational segment, TS)过度激活，导致上游滋养小动脉血管内压增加，促使平滑肌细胞缺失的小动脉破裂，从而引起sICH^[15]。体外研究显示，磷酸化细胞外信号调节蛋白激酶1(phospho-extracellular signal regulated kinase 1, p-ERK1)/基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)轴与低血清尿酸水平诱导的弹性蛋白变性密切相关，p-ERK1/MMP-2阻断剂和生理浓度的尿酸具有sICH后神经保护功能。其机制

可能是，上调p-ERK1/MMP-2轴减轻了脑血管中平滑肌细胞-弹性蛋白收缩单位的破坏^[16]。

脑淀粉样血管病是除高血压性穿支动脉病变之外导致sICH的另一种小血管病^[17]。80%的脑淀粉样血管病都是散发性的，也有以遗传形式存在的。在70岁以上的sICH患者中，20%为脑淀粉样血管病相关性脑出血^[18]。脑淀粉样血管病源性sICH的临床病理特征包括：皮层微出血灶(cortical microbleeds, CMB)、皮层浅表铁沉积(cortical superficial siderosis, cSS)、凸面蛛网膜下腔出血(convexal subarachnoid hemorrhage, cSAH)和脑叶sICH。既往有脑叶sICH的脑淀粉样血管病患者，每年出血再发率为8.9%；伴发cSAH的脑淀粉样血管病的患者，每年脑叶出血再发率达到19%^[19]，而cSS则是脑淀粉样血管病独有的且与更高sICH复发率密切相关的神经影像标志物^[20]。脑淀粉样血管病相关的短暂性、局灶性神经事件(transient focal neurological episode, TFNE)是脑叶sICH及其致死的高危因素，尤其当运动系统TFNE被误诊为短暂性脑缺血发作(transient ischemia attack, TIA)且错误应用抗栓药物治疗时更容易导致sICH。因此做好精确诊断、避免误诊和误治非常重要^[21]。作为脑淀粉样血管病的生物学标志物，载脂蛋白E(apolipoprotein E, ApoE)基因亚型ApoE $\epsilon 4$ 和脑淀粉样血管病关系密切。脑淀粉样血管病源性sICH的高危遗传因素ApoE $\epsilon 2$ 增加了血管的脆性，与sICH临床后果的严重程度密切相关。在ApoE等位基因不同的脑淀粉样血管病诱导的sICH中，影像学上的生物标志物也有不同表现，如ApoE $\epsilon 2/\epsilon 4$ 两个等位基因和脑淀粉样血管病的电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)标志物，手指样突起(finger-like projections, FLP)有选择性的密切关系^[22]。

口服抗凝药物可使sICH的风险增加7~10倍。与传统抗凝药物如华法林、普通肝素和其他维生素K拮抗剂(vitamin K antagonist, VKA)相比，新型直接口服抗凝剂(direct oral anticoagulation, DOAC)可明显降低sICH风险^[23]。与华法林相比，达比加群减少sICH风险约60%，阿哌沙班减少约57%，依度沙班减少约56%，利伐沙班减少约41%^[24]。与传统抗凝药物低分子肝素相比，阿哌沙班、依度沙班、利伐沙班的sICH风险相似；与阿司匹林相比，达比加群和阿哌沙班有相似的sICH风险，而利伐沙班则增加sICH风险。在脑卒中的二级预防过程中，DOAC可以使华法林导

致的sICH风险减少46%^[25]。虽然DOAC或抗血小板药物可减少sICH导致的心血管事件发生,但同时也增加sICH风险,获益与风险共存^[26]。在发生脑微出血的小鼠中,华法林可引起致命的sICH。虽然DOAC增加了微出血风险,但不引发长期的认知功能障碍^[27]。目前尚不清楚抗凝药物是否通过加重患者已有的微出血而引起sICH。

脑血管畸形包括海绵状血管畸形和脑动静脉畸形,是继发性sICH的主要原因。目前国际上没有明确的脑海绵状血管畸形最佳监测策略,一般需要经过一段临床观察期和放射影像监测期之后,才能给予明确的治疗;随着脑海绵状血管畸形的增大,sICH风险也逐渐增加,引起的临床症状也越来越严重^[28]。大多数脑海绵状血管畸形是散发的,家族性脑海绵状血管畸形是一种罕见的常染色体显性疾病,其发病与*KRIT1*、*CCM2*和*PDCD10*基因突变有关,利用这些基因突变可制作脑海绵状血管畸形动物模型^[29]。*RASA1*基因突变和家族性脑海绵状血管畸形的严重程度及其表型密切相关,而*EPHB4*基因则不参与此类相关性^[30]。家族性脑海绵状血管畸形源性sICH的再次出血风险高,风险分层管理与脑海绵状血管畸形的神经损伤程度具有一致性^[31]。脑部动静脉畸形的畸形血管团破裂引起sICH,其年发病率在2%~4%,在某些特定条件下达到34%左右,可引起严重的神经功能缺损^[32]。通过对畸形血管团基因测序,发现5种上调的差异表达基因,*HMOX*、*PLA2G7*、*FUCA1*、*ACP5*和*IFI30*,涉及了导致脑动静脉畸形破裂的炎症过程和细胞外基质的表达;另有5种下调的差异表达基因,包括*TNFSF18*、*CCL4L1*、*TPH1*、*PKHD1L1*和*TMEM235*与细胞黏附和肌纤维组装相关,可通过影响炎症和血管强度导致脑动静脉畸形破裂^[33]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)过度表达可促进脑动静脉畸形形成,*Ras*对VEGF的生理功能有重要作用。在内皮细胞上可控*Ras*过度活化小鼠模型中,可出现脑动静脉畸形和sICH^[34]。在人类脑动静脉畸形内皮细胞上,可观察到参与*Ras*/丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的基因突变,如*Kras*^[35]。

高胆固醇血症(hypercholesterolemia)可增加发生心血管病的风险。不同范围的胆固醇对sICH发生风险有不同影响。低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) < 1.82 mmol/L和较低

的甘油三酯水平增加女性sICH风险^[36]。当血脂水平在如下范围内,sICH呈强烈的自限性:胆固醇4.90~5.10 mmol/L、高密度脂蛋白1.12~1.33 mmol/L(男性2.55~2.76 mmol/L)、甘油三酯5.33~5.82 mmol/L。当血脂水平高于或低于该范围时,sICH失去自限性,出现更多和更严重的sICH^[37]。与高血压性sICH的严重程度类似,高脂血症可加剧sICH后炎性反应。使用他汀类药物降血脂和稳定斑块不增加颅内微出血风险^[38],对心和脑都具有良好的保护作用,是未来研究的主要方向。

2 病理学表现

血肿扩大:20%~40%的sICH患者在发病后第1天出现血肿扩大,是导致临床严重后果的一个重要危险因素^[39]。影像学表现如CT血管造影(CT angiography, CTA)的“点征”、CT的“混合征”和“黑洞征”在一定程度上都预示了血肿扩大^[40]。临床上,BRAIN评分^[41]、BAT评分^[42]和9点预测评分^[41]这3种评分体系能更精确地预测血肿扩大。

止血药物可防止血肿扩大、预防其带来的严重临床后果,但减少血肿扩大并不能提高神经功能和存活率。氨甲环酸(tranexamic acid, TXA)与止血药物的代表重组激活因子Ⅶ(recombinant activated factor Ⅶ, rFⅦa)疗效相近。尽管TXA能够最大程度地减少血肿扩大,但是90 d内神经功能损伤和致死率并没有得到改善^[43]。在抗血小板药物、VKA和DOAC拮抗剂中,一种可结合达比加群的依达赛珠(Idarucizumab)单抗片段具有拮抗达比加群的作用,能逆转达比加群引起的严重出血。这种具有逆转作用的药物是否能够提高神经功能,目前仍不清楚^[44]。作为一种重组人凝血因子Xa诱导蛋白,安得塞奈(Andexanet alfa)虽然对急性sICH具有良好的止血作用,但同时有18%的患者也容易发生血栓性事件,如卒中和深静脉血栓等^[45]。目前已有的sICH动物模型限制了对血肿扩大的研究,胶原酶和自体血注射模型都不产生血肿扩大,尤其是高血压和高血脂导致恶化的sICH^[46]。液态聚合物凝胶凝聚关联组织制作的sICH模型可形成占位和继发性血肿,其血肿扩大程度呈血压依赖性,但血肿缺乏溶血毒性^[47],可用于限制血肿扩大的研究。

急性降低血压是另一种潜在的限制血肿扩大的方法。血压的急剧上升预示着sICH后血肿扩大、死亡率和致残率升高^[48]。和常规治疗相比,急性降低血压

(将收缩压从 140~179 mmHg 降低到 110~139 mmHg)不但不能减少死亡率和致残率,反而会增加肾脏受损^[49]。尽管血肿清除疗法已在临床上广泛应用,但目前并无证据显示这种外源性的血肿清除可明显改善神经功能^[50]。在自体血注射或胶原酶诱导的两种小鼠 sICH 模型中,内源性血肿清除方法如过氧化物酶增殖体激活受体- γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ) 和类脂 X 受体拮抗剂 (retinoid X receptor agonists) 可改变小胶质细胞/巨噬细胞的表型,提高吞噬能力,加速血肿清除,促进神经功能恢复^[51]。白细胞介素 (interleukin, IL)-4/信号转导与转录激活因子 6 (signal transducers and activators of tranion, STAT6) 对内源性血肿的清除起到重要作用,如经鼻给予 IL-4 纳米颗粒,可以加速血肿清除并改善神经功能,也可将“别吃我 (don't eat me)”信号表达到抑制吞噬的红细胞上 (CD₄₇ 抗体),达到相同的血肿清除效果^[52]。

白质脱髓鞘损伤和轴索变性:白质损伤 (white matter injure, WMI) 在人类 sICH 中常见。sICH 可导致灰质破坏和远/近端 WMI,其中 WMI 和认知能力缺陷、神经功能缺损以及抑郁有密切关系。WMI 的机制与机械损伤、血红蛋白和铁离子诱导的氧化应激、神经炎症、兴奋性毒性和血脑屏障破坏等有关^[53]。在自体血注入 *Thy1-YFP* 基因敲除小鼠 sICH 模型中,WMI 的病理生理机制涉及了轴索破坏、脱髓鞘、成熟少突胶质细胞 (oligodendrocytes, OLG) 丢失,sICH 后轴索细胞结构的改变不仅影响着轴索的生理功能,还影响了线粒体的运输功能,最终出现轴索变性^[54]。使用组蛋白脱乙酰酶 (histone deacetylases, HDAC) 抑制剂或敲除 *HDAC2* 基因,能通过调节小胶质细胞和巨噬细胞极化、缓解 sICH 小鼠模型的神经炎症和 WMI^[55]。因此,保护血肿周围 WMI 已成为治疗 sICH 神经功能损伤的重要思路和方法。将治疗双向情感障碍、神经退行性疾病和脑部创伤的氯化锂 (LiCl) 注入自体血 sICH 模型小鼠中,其病理性 WMI 包括髓鞘和轴突变性、行为学表现和电生理功能均得到明显改善,其机制在于:LiCl 阻断了葡萄糖合成激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 表达,提高了脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 表达,通过减少 OLG 死亡而缓解髓鞘破坏和轴突变性^[56]。使用针对神经炎症的抗生素和抑制小胶质细胞活化的米诺环素治疗 sICH 小型猪模型,以及使用鞘氨醇-1 磷

酸酶受体调节剂芬戈莫德 (FTY720) 治疗 sICH 小鼠模型,都可以减少 WMI。值得注意的是,芬戈莫德 (Fingolimod) 目前已用于 sICH 临床治疗,每天单次口服 400 mg 的米诺环素也有安全的神经保护作用^[57-58]。

细胞死亡是 sICH 在细胞水平的标志性病理改变。在 sICH 后数小时到数天内,血凝块源性毒性产物导致细胞死亡。sICH 后细胞死亡启动的子程序包括细胞自噬、凋亡性坏死和铁凋亡等。其中,铁凋亡是一种铁依赖的非凋亡、坏死及自噬的细胞程序性死亡方式,主要由脂质过氧化和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 驱动。sICH 动物模型显示,5-脂氧化酶 (5-lipoxygenase, 5-*LO*) 基因敲除可以促进神经功能的恢复,与 N-乙酰半胱氨酸阻断毒性花生四烯酸的产物有关^[59]。在胶原酶和自体血注入小鼠 sICH 模型中,脂质过氧化通过抑制铁抑素-1 (ferrostatin-1) 和脂抑素-1 (liprostatin-1) 表达,可以减轻神经功能缺损、脑萎缩和神经元细胞死亡等^[60]。通过补充 GPX4 等硒蛋白或增加脑渗透性硒肽消除铁凋亡,皆可改善胶原酶诱导小鼠 sICH 模型的神经功能。虽然 sICH 患者的铁凋亡基因表达增强,但是抗铁凋亡药物对神经功能的改善作用仍不清楚^[60]。最近的临床研究结果显示,去铁胺可使中度血肿的 sICH 患者获益^[61]。sICH 后细胞死亡涵盖了神经元和脑内皮细胞,其内在的信号通路仍不清晰。在用胶原酶和自体血制作的小鼠和山羊 sICH 模型中,远离血肿的区域出现了内皮细胞功能不全和血脑屏障破坏^[62],进一步导致脑水肿,以及免疫细胞和神经毒性分子、炎症前体分子、血管活性分子的渗透^[63]。sICH 诱导的细胞毒性脑水肿和血管源性脑水肿与脑实质细胞损伤、血管损伤和血脑屏障破坏密切相关。这两种类型的脑水肿和脑内离子种类紧密相关,如 Na⁺和 Cl⁻。目前脑水肿治疗仅局限于高渗液 (甘露醇和高渗盐水) 或过度换气。尽管磺脲类受体-1 离子通道拮抗剂格列本脲在 sICH 大鼠模型中的作用仍存在争议,但是最近的临床研究结果显示,格列本脲可以减少血肿周围水肿^[64]。

3 细胞病理生理学机制

炎症介质:sICH 后炎症虽然部分类似于脑缺血引起的炎症,但是其导致脑内炎症的机制并不清楚。局部的小胶质细胞和胶质细胞最早对炎症产生反应,两者促进炎症激活并吸引循环免疫细胞内流,其中吞噬细胞占多数。脑出血局部存在增加释放的炎症细胞因

子, 如IL-1 β 、肿瘤坏死因子、自由基和化学因子等, 这些炎症细胞因子吸引并激活了淋巴细胞^[65]。急性脑损伤引起的显著炎症加剧了sICH后的脑损伤。在胶原酶和自体血小鼠sICH模型中, 血肿周围小胶质细胞产生甲酰肽受体-1 (formyl peptide receptor 1, FPR1) 和甲酰肽结合后, 激活并重新聚集了小胶质细胞、嗜中性粒细胞, 进而加重了神经功能损伤。FPR1整合了炎症过程, 可能是未来治疗sICH的一个靶点^[66]。大多数免疫功能正常的sICH动物模型可用来研究sICH后的炎症影响和化学动力学机制, 并且通过炎症相关合并症为研究sICH炎症提供了平台。

促炎小胶质细胞和巨噬细胞: sICH后的神经炎症主要归因于小胶质细胞和巨噬细胞的激活, 而IL-4可以将小胶质细胞和巨噬细胞的促炎症功能转为抗炎功能, 其发挥神经保护和抗凋亡作用的内在机制尚不清楚。在sICH小鼠模型中, 给予IL-4后可以减少神经损伤、脑水肿及sICH诱导的缺血性损伤, 其机制可能是: IL-4通过调节M1/M2极化来介导炎症, 刺激M2期小胶质细胞和巨噬细胞的极化, 部分通过JAK1/STAT6信号转导通路缓解sICH神经炎症^[67]。神经炎症主要与sICH较差的预后相关, 因此M1期小胶质细胞和巨噬细胞被认为是sICH早期的治疗靶点。在啮齿类动物sICH模型中, 具有中枢神经系统渗透性的四环素类抗生素如米诺环素可通过抑制促炎小胶质细胞和巨噬细胞改善神经功能; 但前期的临床研究并未得出此结论^[68]。在sICH后期, M2期小胶质细胞和巨噬细胞的抗炎作用可改善神经功能, 归因于血肿的移除和血肿周围水肿的吸收。M2期小胶质细胞和巨噬细胞也促进局部白质的完整性, 甚至产生神经保护。因此, 小胶质细胞和巨噬细胞的亚急性期与优化的、促进抗炎的治疗时间窗相一致^[69]。需要指出, sICH后神经炎症不能截然分为早期和后期, 而是一个复杂而持续的过程, 故而在制定实验性神经炎症靶向干预策略时, 必须充分地考虑这一点。

嗜中性粒细胞: sICH患者嗜中性粒细胞的基因表达上调, 其特异性反应包括转移RNA (transfer RNA, tRNA) 转录、线粒体功能紊乱、内质网压力等途径, 非特异性反应包括干扰素信号、神经炎症信号、死亡受体信号和活化T细胞的核因子途径^[70]。嗜中性粒细胞产生的炎症和细胞毒性加剧了sICH损伤, 同时具有保护神经功能的作用^[71], 如铁清除乳铁蛋白的分泌可以减少血肿周围水肿, 并促进血肿的清除。中性粒细

胞分泌的IL-27, 可减少炎症和细胞毒性产物数量, 增加铁清除物产量, 使嗜中性粒细胞的作用倾向于神经保护方向。值得注意的是, 在骨髓中神经系统诱导的嗜中性粒细胞将IgG的Fc区与乳铁蛋白相融合, 从而产生良好的治疗效果和等离子体半衰期长的分子^[72]。

免疫微环境: 为了抵消炎症反应, 受损的中枢神经系统诱导产生了全身的免疫抑制。sICH发生后交感和副交感神经被过度激活, 导致脾脏萎缩和淋巴细胞减少, 而脾脏萎缩的程度和sICH血肿大小、严重程度以及免疫抑制之间的关联密切^[73]。在注射自体血或胶原酶的啮齿类动物模型中, sICH后的免疫抑制过程表达程序性死亡配体-1 (programmed death ligand 1, PD-L1), 美托洛尔可作为潜在的治疗选择; 此外, 周围血液循环中相关可溶性PD-L1增加, 同时血肿周围神经源性PD-L1减少, 证实了脑源性PD-L1是sICH后免疫抑制的一个新机制^[74]。sICH患者血肿大小和位置的变化深度影响sICH后的免疫反应调节, 据此可以制作与临床sICH更加类似的动物模型。作为鞘氨醇类似物和鞘氨醇-1-磷酸酶受体 (sphingosine-1-phosphate receptor, S1PR) 调节剂治疗复发性多发性硬化的药物, 芬戈莫德 (FTY720) 可以通过不同的分子机制和通路如S1PR、NF- κ B、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸-3-激酶/蛋白激酶B (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)、蛋白磷酸酶2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 和P2X7受体 (P2X7 receptor, P2X7R) 产生抗凋亡、抗炎、抗过氧化应激功能, 对sICH损伤发挥保护作用^[75]。在治疗sICH过程中, FTY720的免疫抑制效应主要依赖于阻断辅助因子CD4⁺和效应因子CD8⁺T细胞和CD19⁺B细胞来完成^[76]。

肠脑轴: 脑叶sICH常伴有高风险的消化性溃疡; 深部sICH除了伴有较高的消化性溃疡风险之外, 还有胃食管反流性疾病的风险^[77], 这为sICH后肠脑轴的存在提供了证据。中枢神经系统调节免疫细胞时, 通过肠脑轴影响微生物组发挥作用; 微生物组在中枢神经系统病理性神经炎症、神经可塑性和自体免疫中起重要作用。在各种sICH动物模型中, 肠道微生物群通过激活NOD样受体家族含pyrin结构域蛋白3 (NOD-like receptors family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体和炎症细胞释放因子而影响神经炎症, 即NLRP3炎症小体激活了肠道微生物群。通过NLRP3炎症小体调节菌-肠脑轴, 可能作为一种治疗sICH后二

次损伤的新思路^[78]。在胶原酶诱导的小鼠脑出血模型中,胃肠运动性降低和微生物群失调已被证实,并对预后产生不利影响;用健康的微生物群再定植脑出血小鼠,显示出良好的治疗效果^[79]。因此,进一步研究sICH患者的肠道微生物组变化以及微生物组移植将非常重要。

4 动物模型

迄今已使用小鼠、大鼠、兔、猫、猪、犬、绵羊和灵长类等动物制作了多种实验性sICH模型^[80]。通过分析2021年10月—2022年5月发表的51项sICH动物模型研究报告,Paiva等^[81]发现大多数研究(63%)选择大鼠作为实验动物,使用最多的模型是自体血注入模型(51%),其次是胶原酶诱导模型(35%),较少的是微气球充盈模型(8%),最少的是脑血管损伤模型(6%)。无论哪种方法建立的sICH动物模型均存在各自的优缺点,因此在sICH临床前药物试验中精准选择符合研究目标的动物模型极为重要。

4.1 诱导性模型

4.1.1 胶原酶诱导模型

4.1.1.1 造模原理

胶原酶是一种金属蛋白酶,能够溶解毛细血管周围的细胞外基质并打开血脑屏障,导致活动性脑实质出血,模拟了人类sICH^[82]。多种胶原酶可用于诱导sICH动物模型,其中使用最多的是Ⅶ型胶原酶。

4.1.1.2 造模方法

Rosenberg等^[83]于1990年首次报道:大鼠麻醉、消毒后固定,颅骨钻孔,在脑立体定位指引下,使用微量注射泵在9 min内向左侧尾状核注入含0.1~1.0 U胶原酶(Ⅺ型或Ⅶ型)的生理盐水2 μL诱导大鼠sICH;出血范围由胶原酶的注入量决定,通过调节胶原酶的含量,可控制血肿的大小。最终选择0.5 U的Ⅶ型胶原酶用于模型制作。随后Clark等^[84]采用相同方法制作了胶原酶诱导的小鼠sICH模型。

4.1.1.3 模型评价指标

脑血肿:大鼠脑内注射0.2 U胶原酶后10 min左右出现首次出血。MRI检查显示,出血区的血液扩散到脑实质,在前4 h内血肿体积不断增大,4周和6周后血肿范围进一步扩大^[85]。

脑水肿:大鼠脑内注射胶原酶6 h后,脑水肿迅速增长,在2~3 d达到峰值^[86]。

血脑屏障通透性:MacIellan等^[87]用MRI检查发

现,大鼠脑内注射胶原酶30 min后,开始出现血脑屏障通透性增加;注射后12 h、2 d和4 d呈时间依赖性加重。

组织病理:尾状核注入0.5 U胶原酶诱导sICH大鼠的脑组织学检查显示,注射后1 h内针刺部位的血管周围可见红细胞,4 h后出现血肿,24 h后发现含有液体、血细胞和纤维蛋白的坏死肿块,7 d后观察到充满脂质的巨噬细胞,第3周时观察到囊肿。注射后4、24、48 h检测到注射部位脑含水量显著增加,24 h检测到后脑段含水量显著增加。大鼠的行为异常持续了48 h,在1周后功能恢复^[82]。尾状核注射含有0.14 U胶原酶和1.4 U肝素的生理盐水诱导大鼠sICH后12 h,血肿周围组织的中性粒细胞开始向血肿中心浸润;注射后48 h,巨噬细胞开始进入血肿中心;注射后1周,MRI检查可见广泛的白质水肿;组织学检查显示,血肿周围组织中的中等大小纹状体神经元丢失。推测血管外渗的血液引起一种脑内混合性炎症细胞反应,在出血后48~72 h达到最大,与至少持续4~6周的脑细胞死亡有关^[88]。

神经功能缺损:自发旋转、对侧前肢屈曲、后肢缩回、梁行走能力和双侧前爪抓握测试等神经功能检测结果显示,尾状核注射胶原酶导致大鼠严重的脑损伤和持续的神经功能缺损,恢复率低且不能自动恢复^[85],这与临床上sICH患者的状况类似。尾状核注射胶原酶和肝素诱导大鼠sICH后1 d,大鼠神经功能明显受损,2 d后开始出现改善,在1~2周时明显改善,但3周后仍残留部分神经功能缺损^[89]。大鼠纹状体内注射0.4 U胶原酶21 d后,神经功能缺损的恢复率非常低,在2个月后仍可观察到长期的神经缺损^[80]。

4.1.1.4 优缺点及应用

优点包括:(1)制作方法简单快速,造模成功率较高,出血稳定性和重复性较好,模型的一致性较好;(2)胶原酶模型模拟了临床sICH发病的几个关键阶段,包括血管破裂、血肿形成和血肿扩张^[90-92]。

缺点包括:(1)胶原酶并没有造成脑血管的物理性破裂,只是造成了小血管破裂而形成弥漫性渗血,与深穿支动脉破裂出血导致sICH的临床情况不符合;(2)胶原酶对脑组织具有细胞毒性作用,可损伤神经功能及血脑屏障,并放大了sICH后脑内炎症反应^[90-92]。因此胶原酶注射模型并不能完全模拟人类sICH后继发性脑损伤的病理生理,不能用来研究sICH后血肿周围组织的血液循环障碍。

应用：胶原酶注射模型适用于研究脑水肿及脑水肿在sICH损伤中的作用，以及sICH后神经功能的恢复及其治疗效果评价等^[90-92]。

4.1.2 自体血注入模型

4.1.2.1 造模原理

将自体血液注入动物脑实质内特定区域（如尾状核），直接有效地形成脑水肿^[93]。

4.1.2.2 造模方法

单次注射法：麻醉并固定动物后，在动物颅骨钻孔。在立体定位引导下，通过微量注射泵将非肝素化自体动脉血以缓慢恒定的速度注入大鼠尾状核，注血量与动物脑组织大小相关（大鼠脑注血量25、50和100 μL 分别相当于人脑20、40和80 mL的出血量）^[93]。

两次注射法：Deinsberger等^[94]在1996年提出两次注血sICH模型构建方法。将50 μL 新鲜自体动脉血分成两部分，首先以10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的注射速率将15 μL 血液注入大鼠尾状核，静置针头7 min使血液沿针道凝结，然后再以相同速率注入剩余的35 μL 血液以形成凝块。Belayev等^[95]在2003年使用两次注血法制作出小鼠ICH模型：在立体定位引导下，将一根30号不锈钢套管通过一个头颅钻孔引入左侧纹状体；首次注射（超过3 min）全血5 μL ，留置7 min，然后再次注射（超过5 min）全血10 μL ，留置10 min后缓慢抽出注射插管。该模型产生了持续的神经功能缺损、脑内水肿、大脑肿胀和皮质灌注不足，与人类高血压基底神经节脑出血非常相似。

与单次注血模型比较，两次注血模型的主要优点是显著减少了血液通过针道回流以及向脑室和（或）蛛网膜下腔渗漏，较好地控制了水肿的大小、形态及部位，从而产生可重复的脑内水肿；其缺点是注射难度相对较大、两次注射之间的时间延迟，导致血凝块更容易形成。

三次注血法：Ma等^[96]于2006年对注血模型做了进一步的改进，制作了三次注血小鼠模型。使用玻璃毛细管从供体小鼠的眶静脉中迅速提取血液，首先注入5 μL 血液，暂停7 min使注入的血液沿着针道产生凝血，然后再注入5 μL 血液，暂停1 min以加强凝血，最后在4 min内注入剩下的20 μL 血液。注血60 min后，模型小鼠出现明显的神经功能缺损。存活48 h后组织学检查显示，均存在局部脑水肿。该模型的优点是产生了一致性更好的脑水肿。

经过一系列的持续改进，自体血注入模型的稳定性和重复性得到明显改善，已经成为目前应用最广泛的一种sICH动物模型。并且通过在额叶或基底神经节注射血液，开发出了猫、犬、猪、羊和猴等大型动物sICH模型。

4.1.2.3 模型评价指标

脑水肿：大鼠尾状核注入100 μL 自体血4 h内，水肿大小稳定，水肿通常在注血后4~6周消退^[93]。

脑水肿：大鼠尾状核注入100 μL 自体血后，在24 h内脑水肿迅速增长，2~3 d达到峰值^[93]。

血脑屏障通透性：MacLellan等^[87]使用MRI评估大鼠脑内注入100 μL 自体血后12 h、2 d和4 d的血脑屏障损伤情况，发现血脑屏障通透性呈现时间依赖性减轻。Knight等^[97]用MRI观察到，大鼠脑内注射100 μL 自体血1 d后，仅在水肿边缘观察到血脑屏障通透性略有增加，14 d后仍保持轻微升高，血脑屏障通透性同样呈现时间依赖性降低。

组织病理：Xue等^[98]研究了大鼠纹状体注血模型1 h~4周后，脑内炎症和细胞死亡的时间过程。结果显示，注血24 h后水肿周围组织中存在退化的红细胞和核碎片；中性粒细胞浸润在48 h达到高峰，之后逐渐消退；注血4 h后，小胶质细胞激活开始明显增多，48~72 h达到最大值，并持续到4周；CD8a免疫反应性淋巴细胞在注血后48 h开始出现，并持续到1周；TUNEL阳性细胞在注血后72 h达到最大值，并持续到4周。推测由血管外渗的血液引起一种脑内混合性炎症细胞反应，并且在出血后48~72 h达到峰值，与至少持续4周的脑细胞死亡有关。

神经功能缺损：自发旋转、对侧前肢屈曲、后肢缩回、梁行走能力和双侧前爪抓握测试等神经功能检测结果显示，大鼠脑内注射100 μL 非肝素化自体血1、4、7和14 d后，神经功能缺损存在时间依赖性恢复，21 d后神经功能完全恢复^[99]。大鼠纹状体注入100 μL 自体血后1~28 d，神经功能部分恢复^[100]。提示自体血注入模型可能存在神经功能自发性恢复，对长期神经功能损伤研究的价值可能有限。

4.1.2.4 优缺点及应用

优点包括：（1）模型制作方法直接有效，应用立体定位仪后水肿位置更加准确，模型制作成功率高；（2）注血模型脑实质出血的发生发展过程与人类sICH的自然病理进程更加接近^[90-92]。

缺点包括：（1）脑内注血形成的水肿并非由脑血

管破裂引起,不能重现人类sICH的深穿支动脉血管点状破裂事件;(2)容易出现注入的血液沿针道返流、向脑室和(或)蛛网膜下腔渗漏等情况,出血量与血肿形态没有直接关系,模型的一致性较差^[90-92]。

应用:脑内注血模型适用于研究血液成分、血凝块释放物质在sICH后继发性脑损伤中的作用及其机制,对sICH后的自然凝血和炎症途径研究尤其合适^[90-92]。

4.1.3 微气球充盈模型

4.1.3.1 造模原理

利用微气球充盈产生占位效应,模拟脑血肿的压迫效果,这是一种纯机械性ICH模型构建策略^[101]。

4.1.3.2 造模方法

由Sinar等^[101]于1987年首先提出。在SD大鼠颅骨上钻孔,将一个微气球安装在25号钝性针头上,通过立体定位将微气球插入右侧尾状核,最后用牙科黏合剂密封钻孔。静置30 min后,在13.3 kPa的平均压力下将微气球用20 s充气至50 μ L,保持10 min后放气。微气球充胀模型通过充放气改变微气球的体积,模拟不同大小血肿对脑组织的压迫作用。

4.1.3.3 模型评价指标

组织病理:微气球的充盈造成了明显的血肿占位效应,在右侧尾状核上出现广泛的缺血性损伤,同侧额叶皮质和尾状核的脑血流量(cerebral blood flow, CBF)降低,颅内压(intracranial pressure, ICP)显著升高^[101]。微气球充气后6~24 h出现细胞凋亡,24 h后凋亡细胞分布范围和凋亡细胞数量快速增加;在气球放气后10~120 min出现神经元坏死,提示细胞凋亡和死亡均可能有助于病变核心的形成^[102]。

4.1.3.4 优缺点及应用

优点:微气球充盈模型模拟了人类sICH的血肿占位效应,模型的一致性和重复性较好。

缺点:(1)没有形成脑血肿,不能模拟脑血肿、血凝块形成及其释放的内源性毒性物质造成的继发性脑损伤,与临床sICH的病理生理不符合;(2)易造成不可逆脑损伤,无法评估继发性脑损伤^[90-92]。

应用:微气球模型可用于对sICH的血肿占位效应、外科手术清除血肿及其效果的研究,还可用于观察脑灌注压变化对全身的影响^[90-92]。

4.1.4 高血糖诱导的血肿扩大模型

4.1.4.1 造模原理

高血糖增加了实验性脑出血的血肿扩张幅度,这

种作用是由芳烃受体介导的。

4.1.4.2 造模方法

首先利用立体定位仪注射0.075 U胶原酶诱导sICH小鼠模型,3 h后经腹腔注射50%葡萄糖(6 mL/kg)。注射点周围脑组织内出现明显的血肿扩张现象^[103]。

4.1.4.3 模型评价指标

组织病理:与正常血糖水平动物比较,在造模后6 h高血糖动物右侧基底节观察到更大的肉眼血肿和出血量持续增加,血肿量在24 h达到峰值并持续72 h,血浆葡萄糖浓度则在出血后8 h恢复到基线水平。芳烃受体在高血糖sICH发生后被激活,主要广泛定位于血管周围的星形细胞和内皮细胞。模型小鼠中芳烃受体与早期生长反应因子-1相互作用,显著增加以响应高血糖;随后血栓反应蛋白-1(thrombospondin 1, THBS1)/转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)/血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)轴上调,参与了血脑屏障功能损伤,导致sICH后脑血肿扩张,模拟了高血糖诱导脑血肿扩张的病理生理过程^[103]。

4.1.4.4 优缺点及应用

优点:该模型部分模拟了在糖尿病基础上发生sICH的临床情况^[103],并且模拟了临床常见的脑出血后血肿再扩大的现象,为进一步研究血肿再扩大提供了一个较好的动物模型。

缺点:建模动物为年轻雄性小鼠,需要进一步明确性别和年龄依赖性的影响^[103]。

应用:本模型可用于研究高血糖对脑血肿扩张的影响,以及sICH后血肿扩大的原因与机制等^[103]。

4.2 自发性高血压脑出血模型

4.2.1 造模原理

通过遗传学方法建立自发性高血压脑出血模型,可以较真实地模拟临床脑出血发生的病理生理基础,是一种理想的sICH动物模型^[104]。

4.2.2 造模方法

易卒中性自发性高血压大鼠(stroke-prone spontaneously hypertensive rat, SHRsp)由Okamoto等^[104]采用遗传学方法,选择因卒中死亡的自发性高血压大鼠子代近亲交配、培育而成。其中10%发生高血压病,80%发生脑卒中。易卒中性肾血管性高血压大鼠(stroke-prone renovascular hypertension rat, RHRsp)是由Zeng等^[105]用0.3 mm的环状银夹钳夹大鼠双侧肾动脉,通过缩窄双肾动脉造成肾血管性高血

压。在肾动脉缩窄40周后, 200 mmHg 以上的稳定性高血压发生率为100%。自发性卒中(包括脑出血、脑梗死、梗死与出血混合性损伤)发生率为61.8%, 伴有或不伴有蛛网膜下腔积液。

4.2.3 模型评价指标

组织病理: SHRsp大鼠卒中病理特征与人类相似, 具体表现为脑组织内不同程度的出血、小血管扩张及脑软化, 以及神经细胞的纤维走行不清楚或消失等^[104]。RHRsp大鼠具有与人类高血压相似的脑血管损害: 包括细小动脉纤维素样坏死、透明变性、血管壁增厚、管腔狭窄及微动脉瘤形成等^[105]。

4.2.4 优缺点及应用

优点包括: (1) 由于与临床发病过程最接近, SHRsp模型是国际上公认的高血压脑卒中动物模型, 能重现人类sICH的发病过程^[104]; (2) RHRsp易于建立, 价格低廉, 且有与人脑出血相似的高血压动脉硬化化的病理生理基础^[105]。

缺点包括: (1) SHRsp价格昂贵, 来源困难, 而且饲养困难, 可重复性差, 易变种、断种, 以及实验时间长等^[104]; (2) RHRsp不是单纯的sICH模型, 而是脑梗死、脑出血及混合性脑卒中并存^[105], sICH的发生率较低; (3) 两种模型的共同缺点是重复性差、脑出血量和位置都不可控, 为进行同质性评价带来很大障碍^[104-105]。

应用: RHRsp模型可用于高血压动脉粥样硬化性脑出血的病理生理机制研究; SHRsp模型比较适用于研究人类sICH的发病过程^[104-105]。

4.3 基因修饰模型

导致sICH的病因具有多元性, 遗传因素是其中的一个重要因素。研究发现基因变异与sICH的发病密切相关^[106-107], 基因变异可以通过影响血压和损伤血管等途径导致脑实质出血。基因修饰动物模型是指以模式动物为载体, 利用各种基因编辑技术将目的DNA片段导入或删除, 实现内源基因的修改, 从而构建出能模拟人类特定生理、病理、细胞特征的动物模型。一直以来, 日趋成熟的基因工程技术为构建脑出血基因相关动物模型提供了技术支撑。目前已有几种重要的转基因sICH动物模型被成功地应用于实验研究^[18], 包括高血压脑出血转基因模型、脑淀粉样血管病转基因模型、脑动静脉畸形相关基因修饰模型、脑海绵状血管畸形相关基因修饰模型和胶原蛋白相关基因修饰模型。

4.3.1 高血压性脑出血转基因模型

由Iida等^[12]在2005年首次报道。过度表达人肾素和血管紧张素原的R+/A+双转基因小鼠患有慢性高血压, 平均动脉压可达到150 mmHg, 而且小鼠寿命不受影响。给予高盐饮食和含一氧化氮合酶抑制剂L-NAME饮用水可以诱导小鼠产生更严重的高血压, 在第3周时平均动脉压高达(198±6) mmHg。所有小鼠在10周内死亡并伴有脑干出血, 其中一些小鼠存在脑干、小脑和基底神经节出血。出血位置和卒中类型都与人类高血压出血性中风非常相似, 是研究临床sICH比较适宜的转基因动物模型。

4.3.2 脑淀粉样血管病转基因模型

脑淀粉样血管病是指β-淀粉样蛋白沉积在脑血管上引起的脑血管病^[108], 主要沉积于直径为50~500 μm的小动脉管壁, 大部分存在于靠近管腔的部位和血管外膜^[109-110]。纤维素样坏死和玻璃样变性可以导致管壁增厚, 最终形成双层管壁或者管壁套管壁的现象^[111]。目前至少有5种过表达淀粉样蛋白前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)的转基因小鼠模型^[18, 112], 其中有些模型具有脑淀粉样血管病和sICH的表型, 少数模型未发生sICH。

4.3.2.1 APP23转基因小鼠模型

APP23转基因小鼠携带有过表达的突变基因APP751, 由神经元特异性Thy-1启动子控制, 可出现ICH的表型^[113-114]。该变异的杂合子小鼠在19月龄后才出现明显的脑淀粉样蛋白沉积, 累及小动脉, 遍及大脑各个皮层区域, 但主要存在于新皮质、海马、丘脑和软脑膜等部位。19月龄以上的小鼠可并发sICH, 但出血病灶很小, 不可能引起神经系统变性或死亡。出血部位常见于新皮质和丘脑, 而在皮层表面、海马和纹状体较为少见。27月龄的APP23转基因小鼠可能发生反复出血, 并且出血量较大。该模型可能是研究脑淀粉样血管病相关脑出血的最佳动物模型。

4.3.2.2 Tg-SwDI转基因小鼠

该小鼠转入的APP基因携带有3个突变(Swedish、Dutch和Iowa), 分别是Swedish K670N/M671L、Dutch/Iowa E693Q/D694N, 由相对脑特异性的启动子Thy1.2控制^[115]。12月龄的Tg-SwDI转基因小鼠可在淀粉样变的小血管周围出现小出血灶, 偶见报道有sICH的表型。对于该模型的症状和出血频率, 尚无相关研究报告。

4.3.2.3 APPDutch转基因小鼠

过表达的APP基因携带有E693Q突变, 受Thy1启

动子调控^[116]。该突变导致淀粉样变性-荷兰型(HCHWA-D)遗传性脑出血^[117]。该病为常染色体显性遗传, β -淀粉样蛋白沉积在软脑膜动脉和皮层小动脉, 患者从50岁开始反复发生脑叶出血。携带有该变异的小鼠可以发展为脑淀粉样血管病, 并出现平滑肌细胞的丢失和变性、脑实质出血、血管周围胶质增生。22~25月龄的小鼠开始出现明显的淀粉样蛋白沉积, 29月龄小鼠出现脑出血, 类似于老年性脑出血, 出血灶多数很微小, 引起小鼠神经系统症状的可能性比较小。该研究未详细描述出血频率、位置和脑出血相关症状。

4.3.2.4 Tg2576转基因小鼠

Tg2576小鼠曾被广泛用于研究阿尔茨海默病。Fisher等^[118]在该模型中描述了淀粉样变相关的sICH转基因小鼠。在人巨细胞病毒启动子控制下, 该转基因小鼠表达人含有695个氨基酸的APP剪接体, 并携带有Swedish突变。通过普鲁士蓝染色可以检测到, 15~24月龄的Tg2576转基因小鼠脑实质内出现数量和体积逐渐增大的微出血。使用抗血小板聚集药物双嘧达莫治疗对微出血没有影响。然而, 使用抗 $A\beta$ -40抗体处理小鼠9周后微出血加重, 双嘧达莫可预防这种作用。被动免疫可减少脑实质内淀粉样蛋白沉积, 但可能会加剧血管的淀粉样蛋白沉积。该研究同样未指出Tg2576小鼠是否都出现了sICH及出血的详细位置。目前该模型已被用于sICH研究^[119]。

4.3.2.5 ADanPP7转基因小鼠

家族性丹麦痴呆是一种罕见的神经系统退行性疾病, 为BRI2基因突变导致的常染色体显性遗传, 该变异导致了异常延长的突变淀粉样蛋白分子结构Dan-淀粉样蛋白(ADan)。Coomaraswamy等^[120]以C57BL/6N小鼠为背景, 构建过表达BRI2基因的Danish突变体模型, 利用以黏粒为基础的叙利亚仓鼠胚蛋白表达框架, 控制该蛋白主要在神经元表达。病理表现为异常ADan蛋白在脑血管壁沉积, 伴血管平滑肌细胞丢失、小胶质细胞增生和脑微出血。在18月龄的ADanPP7转基因小鼠每侧大脑半球平均存在14个微出血灶, 但确切位置和大小不详。Morris水迷宫实验显示小鼠记忆受损, 旷场实验显示小鼠焦虑增加。这些神经行为异常是由自身出血所致, 还是因淀粉样斑块引起的神经炎症、神经原纤维缠结等诱发产生, 目前尚不清楚。

脑淀粉样血管病相关的动物模型比较适用于研究

脑淀粉样血管病相关的sICH和小动脉完整性的分子机制。这些模型的共同局限性是: sICH的发生与衰老紧密相关, 小鼠模型需要超10个月的时间才能发生sICH。迄今为止, 对这些模型的出血症状、时间、部位、体积及数量尚无详细描述, 且无法比较不同模型的脑出血严重程度^[18]。

4.3.3 脑动静脉畸形相关基因修饰模型

脑动静脉畸形是一种胚胎期脑血管发育异常造成的先天性疾病, 即脑动脉和脑静脉之间缺乏毛细血管, 动脉与静脉直接相通, 形成动静脉之间的短路, 导致一系列脑血流动力学的紊乱^[121]。临床上常表现为反复颅内出血、部分性或全身性癫痫发作、短暂性脑缺血发作以及进行性神经功能障碍^[122]。大约有5%的患者为家族性的, 包括出血性毛细血管扩张症和毛细血管畸形-动静脉畸形综合征, 二者均为常染色体显性遗传^[123-124]。目前已发现多个基因与脑动静脉畸形相关^[125]。利用基因工程技术制备脑动静脉畸形的动物模型, 大部分用来研究脑动静脉畸形的分子机制, 对sICH表型的描述相对较少。脑动静脉畸形的基因工程小鼠模型有如下几种:

4.3.3.1 Aik1条件性基因敲除小鼠模型

对该模型的研究发现, 所有小鼠均在脑和脊髓发生了出血, 80%以上的小鼠在10~15周龄出现脑出血相关的瘫痪或死亡。如果小鼠在此期间没有死亡, 即使他们携带有多发的脑动静脉畸形, 死亡风险也会明显下降。这种小鼠的出血是年龄相关的, 可用于研究脑动静脉畸形血管易于损伤的分子机制^[126]。

4.3.3.2 Kras条件性基因敲入小鼠模型

通过向5周龄小鼠的球后静脉窦注射过表达Kras-G12V的腺病毒可以成功制备小鼠脑动静脉畸形模型。小鼠在第9周时表现为自发性的颅内多灶出血, 位于背侧或腹侧的嗅球和中脑腹侧^[127]。此外, 条件性过表达Kras-G12D的转基因小鼠出生后第1天即可诱导Kras-G12D表达, 早期12 d内死亡率较高, 存活21 d的小鼠可以检测到不完全显性的脑出血, 这些小鼠并没有脑动静脉畸形的表型, 脑血管不仅没有扩张, 反而变细且易破裂^[128]。

4.3.3.3 Notch4转基因小鼠模型

条件性表达激活的Notch4蛋白片段的小鼠一般在2~5周龄内死亡, 其神经系统表现包括共济失调和癫痫。所有小鼠都会出现sICH, 并在22 d前达到高峰, 出血部位最常见于小脑, 其次是新皮层, 未见脑干

出血^[129]。

4.3.3.4 *Endoglin* 基因敲除小鼠模型

杂合敲除 *Endoglin* 基因的小鼠模型 (*Eng*^{+/-}) 只有 30% 具有脑动脉畸形的表型, 纯合敲除该基因的小鼠表型正常。在平滑肌细胞内, 通过 *Cre* 重组酶条件性敲除 *Endoglin* 基因 (他莫昔芬诱导), 大部分杂合小鼠用 VEGF 处理后可以出现脑动静脉畸形^[130]。但 *Endoglin* 基因敲除模型是否具有 sICH 表型未见报道。

4.3.3.5 其他基因修饰模型

个别基因修饰动物模型可以出现脑出血的表型, 但文献对脑出血的细节描述很少。基质 Gla 蛋白 (matrix Gla protein, *MGP*) 基因敲除小鼠在出生后第 4 周, 可以检测到有脑动静脉畸形合并有脑出血^[131]。在内皮细胞条件性敲除 *Rbpj* 基因小鼠在出生后第 14 天, 可以检测到动静脉畸形和脑出血^[132]。*Itgb8* 和 *Smad4* 条件性基因敲除小鼠模型可以出现脑动静脉畸形^[133], 但未见报道是否存在 sICH 表型。

4.3.4 脑海绵状血管畸形相关基因修饰模型

脑海绵状血管畸形是一种隐匿性血管畸形, 它缺乏动脉成分, 发病率为 0.4%~0.8%, 占颅内血管畸形的 10%~25%, 仅次于脑动静脉畸形^[134]。临床上, 大部分患者无任何症状和体征或仅伴有轻度头痛、头晕。出血较为常见, 并且大约 8%~37% 的患者可出现较大出血灶^[135]。研究表明, 有 40%~60% 的脑海绵状血管畸形患者具有家族史, 多为常染色体显性遗传疾病^[136]。利用基因工程技术可以制备这些颅内血管畸形的动物模型, 用于脑出血疾病研究。

4.3.4.1 *Ccm2* 基因相关脑海绵状血管畸形模型

敲除内皮细胞中 *Ccm2* 基因表达的小鼠在出生后第 8 天, 即可检测到脑海绵状血管畸形的表型^[137]; 这也导致小鼠寿命缩短^[138]: 该小鼠第 8 天存活率为 99%, 第 15 天存活率为 71%, 2 月龄存活率为 20%。利用 loxp 系统控制 *Ccm2* 基因的表达, 可以显著提高存活率^[139]: 90 d 存活率可达 98.1%, 150 d 存活率可达 95.8%, 平均寿命可达 183 d。脑动静脉畸形也呈持续进展: 出生后 1 周, 在小脑可以发现小的散发的动静脉畸形; 在第 5 周, 大脑半球可以检测到小的散发的动静脉畸形, 同时小脑出现多孔洞损伤; 在第 12 周, 大脑半球和脑干出现损伤, 这些损伤随着时间的延长, 都在逐渐增大, 融合成大的病灶, 并可能出现在所有的脑区; 在第 15 周, 6 只小鼠中有 5 只出现了脑出血的表型; 15 周以后, 所有的小鼠都出现了脑出血的表

型; 有 2 只小鼠在 5.5 月龄和 6 月龄时出现了大的脑血肿^[29]。

4.3.4.2 *Ccm1*^{+/-}/*Msh2*^{-/-} 双基因敲除小鼠模型

该模型同样可以出现脑海绵状血管畸形和微出血, 但目前缺乏对出血表型的细节描述^[140]。

4.3.5 胶原蛋白相关基因修饰模型

成人 IV 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type IV $\alpha 1$, *COL4A1*) 基因突变均导致儿童自发性颅内出血^[141-143]。*Col4a1* ^{Δ ex41} 是小鼠 *COL4A1* 基因的剪切位点变异, 导致含有 3 个螺旋结构的 41 号外显子缺失^[144]。纯合变异的基因工程小鼠 *Col4a1* ^{Δ ex41/ Δ ex41} 会在胚胎发育时期死亡; 杂合变异 *Col4a1*^{+/ Δ ex41} 小鼠胚胎生长缓慢, 50% 会在出生后 1 d 内死亡。*Col4a1*^{+/ Δ ex41} 小鼠有多种异常表现, 包括脑穿通畸形和反复发生的多灶性颅内出血: 在胚胎期第 10.5 天, 小鼠即可出现不规则的出血和巨大血管、多灶性的脑实质出血和脑室出血; 在胚胎期第 12.5 天可发现血管迂曲、密度增大; 在出生时即出现许多肉眼可见的血肿和频发的脑实质出血。80% 的小鼠会有脑穿通畸形, 所有小鼠均有脑出血表型 (全外显), 出血部位会随时间而变化: 1 月龄小鼠表现为小血管病, 在皮层、脑内灰质核团、脑干、小脑可以出现许多小的含铁血黄素沉积; 3 月龄的小鼠前述病变清除, 在基底节可出现少数体积较大的血肿、血红蛋白降低及含铁血黄素沉积, 提示反复颅内出血; 随着小鼠年龄增大, 会出现巨大血管和血栓形成。该模型可用于研究脑出血的环境影响因素和遗传因素。

4.3.6 各种基因修饰模型对比

对各种基因修饰 sICH 动物模型的构建方法及优缺点进行比较, 见表 1。

4.4 动物模型神经行为评价技术

神经功能包括意识状态、运动、感觉、视觉、共济和神经反射等。神经功能损伤检测结果不仅是判断模型制作成功与否的验证性指标, 也是保证模型同质性的质控指标, 同时还是评估治疗效果的重要依据。

在 sICH 动物实验研究中经常使用的神经行为评分系统主要有: Bederson 评分^[145], 可用于检测运动功能 (表 2); Zea-Longa 评分^[146], 可用于检测运动功能 (表 3); 平衡木测试^[147], 可用于检测运动和平衡功能 (表 4); 改良 Garcia 评分^[148], 可用于检测运动和感觉功能 (表 5); 改良神经系统严重程度评分 (modified neurological severity score, mNSS)^[149], 可用

表1 sICH基因修饰动物模型的比较

Table 1 Comparison of genetically modified animal models for sICH

模型类别及构建方法 Model categories & construction methods	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
自发性高血压脑出血R ⁺ /A ⁺ 双转基因模型: 给予高盐饮食和含L-NAME的饮用水, 诱导R ⁺ /A ⁺ 双转基因自发性高血压小鼠产生更严重的高血压, 从而引发sICH ^[12]	模型小鼠出血位置为脑干、基底节和小脑, 与人类sICH部位相似 ^[12] 。是研究临床sICH较理想的基因修饰动物模型	(1)造模药物不仅对小鼠肾脏和心脏有影响, 也会在该模型上试验新药的药代动力学和药效学 ^[18] ; (2)培育时间长, 小鼠需超过10月龄才能发生sICH ^[18]
脑淀粉样血管病脑出血转基因模型: 用过表达APP的转基因小鼠建立了5种脑淀粉样血管病模型 ^[18] , 包括APP23转基因小鼠、Tg-SwDI转基因小鼠、APP Dutch转基因小鼠、Tg2576转基因小鼠和ADanPP7转基因小鼠	(1)适用于脑淀粉样血管病相关sICH和小动脉完整性的分子机制研究 ^[18, 112] ; (2)APP23转基因模型小鼠在27月龄可发生反复和大量的出血, 是研究脑淀粉样血管病相关sICH较理想的模型 ^[113-114]	(1)缺乏sICH表型的具体描述, 且无法比较不同模型的严重程度 ^[18] ; (2)仅AD-anPP7转基因小鼠模型被报道出现过出血相关症状, 其他4种模型的出血量均较小 ^[120]
动静脉畸形脑出血基因工程模型: (1)Alk1条件性基因敲除小鼠 ^[126] ; (2)Kras条件性基因敲入小鼠 ^[127] ; (3)Notch4基因相关基因敲除小鼠 ^[124] ; (4)MGP基因敲除小鼠 ^[131] ; (5)Rbpj基因敲除小鼠 ^[132] ; (6)Itgb8和smad4条件性基因敲除小鼠 ^[133] ; (7)Endoglin基因敲除小鼠 ^[130]	可用于研究脑动静脉畸形血管易损伤的分子机制 ^[125]	(1)制作困难, 价格高昂, 死亡率高, 使用较少; (2)缺乏对sICH表型的细节描述 ^[139]
脑海绵状血管畸形相关基因修饰模型: (1)Ccm2基因相关脑海绵状血管畸形模型 ^[137] ; (2)Ccm1 ^{+/-} /Msh2 ^{-/-} 双基因敲除小鼠模型 ^[140]	可用于研究脑海绵状血管畸形的分子机制	(1)制作困难, 价格高昂, 死亡率高, 使用较少; (2)部分模型缺乏对sICH表型细节描述
胶原蛋白脑出血基因工程模型: Col4a1突变小鼠 ^[144]	可用于研究sICH的环境影响因素和遗传因素 ^[144]	多数小鼠在早期死亡; 存活小鼠在胚胎期即可发生sICH, 且随年龄增大而加重 ^[144]

表2 Bederson评分

Table 2 Bederson score

分类 Classification	等级 Grade	神经缺损表现 Manifestations of neural deficits
正常	0	未观察到神经缺损
中等	1	瘫痪侧前肢内收并屈曲于腹下(提尾悬空试验阳性)
严重	2	向瘫痪侧推动大鼠, 阻力较正常侧降低(侧推试验阳性), 没有向正常侧转圈行为
	3	除2级表现外, 伴有向正常侧转圈行为, 或爬行时向瘫痪侧倾倒

检测方法: 提起大鼠的尾巴, 使动物距离台面10 cm高, 正常大鼠的前爪处于伸直状态, 模型大鼠存在神经行为异常表现

等级说明: 评价等级越高, 说明神经损伤越严重

优点: (1)操作简单; (2)从整体上反映动物神经损伤程度, 可进行定性和半定量评价

缺点: (1)检测方法相对粗糙和主观; (2)多用于早期神经损伤检测, 不能全面反映远期神经损伤程度

表3 Zea-Longa评分

Table 3 Zea-Longa score

分类 Classification	神经缺损表现 Manifestations of neural deficits	评分 Scores
没有神经功能缺损	正常站立或爬行	0
轻度神经功能损伤	提尾时瘫痪侧前肢内收屈曲, 不能完全伸展	1
中度神经功能损伤	爬行时向瘫痪侧转圈	2
重度神经功能损伤	站立或爬行时, 向瘫痪侧摔倒	3
	没有自发性爬行, 伴意识水平降低	4

评分说明: (1)5级0~4分制评分系统。基础分为1分, 如果没有基础分, 则2~4分的评分视为无效。(2)分值越高, 说明神经功能缺损越严重

优点: 操作简单

缺点: (1)检测方法相对粗糙和主观; (2)仅用于检测早期神经功能损伤, 不能反映远期神经功能损伤程度

表4 平衡木测试

Table 4 Balance beam test

神经缺损表现	评分
Manifestations of neural deficits	Scores
能够顺利爬过横杆,四肢完全发挥作用,无明显神经损害体征	7
能够爬过横杆,瘫痪肢体发挥作用 > 50%	6
能够爬过横杆,瘫痪肢体发挥作用 < 50%	5
不能顺利爬过横杆,跌落率 < 50%	4
无法顺利爬过横杆,跌落率 > 50%	3
不能在横杆上爬行,但可以坐在上面	2
根本爬不上横杆,无法将后腿放在水平位置,如果放在横杆上就会掉落下来	1

检测方法:将一根长度为 80 cm、宽度为 2.5 cm 的横杆一端放在地下,另一端以 60°角斜靠在墙面。逐个将动物放到木板上,通过观察动物在横杆上的行走能力评估其运动功能

评分说明:评分为 1~7 分,分值越小,说明神经功能缺损越严重。

优点:(1)装置简单,容易修改以适应不同测试需求;(2)可用于短期和长期运动功能损伤评估

缺点:(1)仅适用于较活跃的啮齿类动物,不适用于活动较少的动物;(2)测试方法未标准化,木条的宽度、长度、形状等均未统一

表5 改良 Garcia 评分

Table 5 Modified Garcia score

测试项目	神经缺损表现	评分
Test item	Manifestations of neural deficits	Scores
自主运动:观察动物在鼠笼内 5 min 的活动	活动正常	3
	轻度受限	2
	中度受限	1
	严重受限	0
体态对称性:提尾使之悬空,观察四肢状态	体态对称	3
	体态不对称	2
	偏瘫	1
前肢伸展功能:提尾悬空后肢,将前肢放在桌面,观察前肢伸展运动状况	对称	3
	轻度不对称	2
	显著不对称	1
	偏瘫	0
攀爬力和握力:攀爬和抓紧鼠笼的能力	攀爬容易,抓持有力	3
	攀爬困难,瘫痪侧抓持无力	2
	不能攀爬或转圈	1
双侧身体触觉	双侧对称	3
	瘫痪侧反应迟钝	2
	瘫痪侧无反应	1
双侧胡须触碰反应	对称	3
	不对称	2
	瘫痪侧无反应	1

评分说明:分值为 4~18 分,18 分为正常。分值越大,表示神经功能损伤越轻

优点:综合评估运动、感觉、反射功能,可用于短期和长期神经功能评估

缺点:评价参数多,操作较复杂

于综合检测运动和感觉功能(表6)。

值得推荐的是,Hartman 等^[150]对 Garcia 评分系统作了修改,设计出一个专门用于 sICH 大鼠模型的神经功能评估系统(表7),可用于综合评估运动、感觉、认知和学习等神经功能缺损。

对于 sICH 模型动物表现出的学习和记忆能力障

表6 改良神经系统严重程度评分

Table 6 Modified neurological severity score

测试项目	神经缺损表现	评分
Test item	Manifestations of neural deficits	Scores
运动功能:		
(1)提尾试验	前肢屈曲	1
	后肢屈曲	1
	后头部在 30 s 内偏离垂直轴 > 10°	1
(2)将大鼠放置于地板上	正常行走	0
	不能直线行走	1
	向偏瘫侧转圈	2
	向偏瘫侧倾倒	3
感觉功能:		
(1)放置试验(视觉和触觉测试)	离桌面 10 cm 处 45°倾斜靠近桌面,反应延迟	1
(2)本体感觉试验(深感觉测试)	向桌子边缘压迫鼠爪刺激肢体肌肉,无反应	1
(3)平衡木试验	稳定、平衡的姿势	0
	紧抓平衡木边缘	1
	紧抱平衡木,一侧肢体从平衡木垂落	2
	紧抱平衡木,双侧肢体从平衡木垂落,或在平衡木上转圈(> 60 s)	3
	试图在平衡木上保持平衡但跌落(> 40 s)	4
	试图在平衡木上保持平衡但跌落(> 20 s)	5
	跌落,或未尝试保持平衡,或挂在平衡木上(< 20 s)	6
反射功能:		
(1)耳廓反射	接触外耳道时摇头	1
(2)角膜反射	用棉花轻触角膜时眨眼	1
(3)惊恐反射	对快弹硬纸板产生的短暂噪音有运动反应	1
(4)癫痫、肌阵挛、出现一种即得 1 分	肌张力减退	1

评分说明:总分 18 分,评分越高,表示神经损伤越严重。13~18 分为严重损伤;7~12 分为中度损伤;1~6 分为轻度伤害

优点:综合评估运动、感觉、反射和平衡功能,可用于长期神经功能缺损评估

缺点:(1)评价参数多,操作复杂;(2)仅适合评估基底节而非所有脑区神经功能缺损

表7 脑出血大鼠神经功能评分系统

Table 7 Neurological function scoring system in ICH rats

测试项目 Test item	评分 Scores			
	3	2	1	0
自发活动 (在常规鼠笼内观察5 min)	大鼠在笼盒里到处移动、探索环境、爬到鼠笼上缘≥3个侧面	大鼠在笼盒里笨拙地到处移动探索、爬到鼠笼上缘<3个侧面	重症大鼠根本没有向上爬行，在鼠笼里几乎没有移动	大鼠完全没有移动
肢体运动对称性 (尾部悬挂)	四肢对称伸展	一侧肢体较对侧伸展更少或更慢	一侧肢体活动很少	一侧肢体完全没有移动 (偏瘫)
前肢伸展 (尾巴悬挂，前爪悬在桌子上)	双侧前肢伸直，用双侧前爪对称地行走	前爪行走受损，伸展不对称	一侧肢体活动很少	一侧肢体完全没有移动 (偏瘫)
攀爬 (在45°角的台面上进行)	牢牢抓紧鼠笼钢丝，很容易地爬到笼顶	肢体不对称地攀爬，或无力抓紧鼠笼钢丝	不能攀爬或只能转圈	大鼠完全没有移动
轴向感觉 (从后背轻微刺激躯干)	对躯干两侧的刺激，大鼠都同样受到惊吓	一侧身体的反应慢于另一侧	对一侧躯体的刺激没有反应	一侧肢体完全没有移动 (偏瘫)
本体振动感觉 (从后背轻轻触摸)	对身体两侧的棉花束触碰，大鼠都会同样地转头	一侧身体的反应慢于另一侧	对一侧躯体的刺激没有反应	一侧肢体完全没有移动 (偏瘫)
评分方法:通过6项功能测试,综合评估大鼠神经功能				
评分说明:每项测试可能得分为0~3分,0分最差,3分最好。总分最低0分,最高18分				
优点:一种专用于ICH大鼠模型的神经功能评价方法,可用于检测短期和长期的运动、感觉、平衡、认知等神经功能缺损				
缺点:尚未见关于该评分系统缺点的报道				

碍，目前常采用跳台法、避暗法、穿梭箱法来测定动物一次性被动回避反射能力；使用Y形水迷宫实验、Morris水迷宫实验和八臂迷宫实验等评价动物的空间学习和记忆能力。

5 临床前药物试验设计要点

5.1 实验合法合规

使用实验动物进行临床前药物试验，需要严格遵守我国的相关法律法规和标准规范。在我国，实验动物管理属于行政许可范畴，实行实验动物许可证管理制度，有一系列的法规和标准。其中规定：实验动物必须来自具有“实验动物生产许可证”的单位，动物实验单位必须具有“实验动物使用许可证”，动物实验设施环境指标应符合国家标准GB 14925—2023的要求，否则实验（或试验）结果不予认可。以注册为目的的药物非临床安全性评价应该在GLP（Good Laboratory Practice）实验室内完成，其他药物非临床安全性评价和药效学研究应在具备“实验动物使用许可证”的实验室进行。

5.2 动物种属选择

在sICH的临床前药物试验中，选择合适的动物种属非常重要。考虑到不同种属动物间的遗传差异和生理学特征，需要选择与人类在基因组水平上高度相似的动物种属，从而提高研究的可靠性和外推性^[142]。

用于sICH研究的动物有非人灵长类动物、猫^[151]、犬^[152]、猪^[153]、兔^[6]、鼠^[154]、绵羊^[63]，其中小鼠、大鼠和猪是最常用的物种^[81]。比较不同种属动物用于sICH建模的优缺点，见表8。

5.3 动物模型选择

选择合适的动物模型建立方法并遵循标准的操作流程，对于实验的可靠性和准确性至关重要。在针对sICH的药物临床前动物实验中，必须选择最适合拟解决的关键问题和主要测试目标的动物模型，以获得最佳的转化价值。现有模型在技术和临床相关性方面有不同的优缺点，其适用的研究领域也不同，见表9。

5.4 药物安全性和有效性评估

药物安全性和有效性评估是sICH临床前药物试验的核心环节。严谨的实验设计和规范的操作流程对于准确评估药物疗效、提高研究的可靠性和外推性非常重要。药物安全性和有效性评估实验设计要点包括如下几个方面：

（1）评价指标：选择科学、客观、敏感的评价指标，如死亡率、出血面积、神经功能缺损评分等，并明确各指标的具体检测方法、观察时间点和观察频次等。

（2）给药途径：根据药物性质和实验要求，选择合适的给药途径，如口服、注射、脑室内注入等。

（3）给药时间：需要根据sICH模型特点和试验目

表 8 sICH 建模动物比较

Table 8 Comparison of different animals for sICH modeling

动物 Animals	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
非人灵长类动物	与人类基因相似度超过 90 % , 而且生理功能和大脑构造等都与人类接近, 是临床前研究的理想实验动物。适合于 sICH 神经生理和病理研究、新药研发和外科创新技术转化研究 ^[155]	(1) 饲养管理条件要求复杂, 一般需要大型动物饲养间; (2) 监管和监督严格, 限制了灵长类动物的使用; (3) 实验动物资源稀缺, 价格昂贵; (4) 生物安全问题 ^[156] , 如疫病监测, 与人之间存在较多的人兽共患病; (5) 实验操作安全问题, 如需要严格参照实验室标准操作规程进行, 且动物体型较大, 具有一定的攻击性, 需要专业人员捕捉; (6) 伦理和动物福利问题, 如需要提供更充分的科学依据和伦理论证, 更加严谨地评估研究伤害-获益比, 考虑使用的必要性和意义、采取有效的措施以保证动物福利, 以及实验完成后如何妥善处置动物等问题
猫	适合于生理学及神经生理学研究。实验用猫的质量直接影响到研究结果及临床试验质量 ^[157]	(1) 目前仅有自体血注入猫 ICH 模型, 且很少使用; (2) 目前实验用猫仍未被纳入标准化实验动物管理范畴, 缺乏相关国家标准, 其遗传背景、年龄、微生物和寄生虫携带状况不清, 无质量合格证明, 检测实验室面临巨大的生物安全风险; (3) 血液生化等背景参考数据有限, 有待进一步积累。这些都可能带来实验数据不准确、实验结果不可靠、重复性差等问题
犬	是最早用于建立实验性脑出血模型的动物品种, 通过自体血注入方法, Steiner 等在 1975 年就确定了犬不同脑室出血的致死量; (2) 目前已建立犬自发性高血压 ICH 模型; (3) 脑体积较大, 便于手术操作以及精细观察生理和病理变化 ^[155] ; (4) 自体血注入犬 ICH 模型已被广泛用于神经生理学和病理生理学机制研究, 以及 CT、MRI、超声等影像检查以及药物治疗和手术干预等方面的研究; (5) 犬和人类在体型大小、心血管生理和解剖结构等方面较相似, 可应用于人类临床诊断成像方式和治疗设备的临床前试验 ^[158] ; (6) 与啮齿类动物相比, 循环血容量更大, 便于连续血液采样 ^[159]	(1) 价格较贵, 来源较少, 需要大型动物笼舍; (2) 作为人类陪伴动物, 用于实验研究时同样受到严格监管, 道德和文化上的原因制约其在生物医学研究中的使用 ^[160]
猪	(1) 仔猪模型的脑血肿体积可能比啮齿类动物高出 20 ~ 30 倍, 适合模拟人类 sICH 的病理生理学过程, 用于开发新的外科手术技术 ^[161] ; (2) 猪模型近年来已被广泛应用于脑出血诊疗相关的新型脑内监测仪研发、新治疗方法探索、溶栓药物和血肿清除术疗效评估等临床前研究 ^[90-91]	(1) 需要大型动物间; (2) 不能以简单、直接的方式评估模型手术切除血肿的效果
兔	(1) 体型中等, 脑体积明显大于啮齿类, 便于手术操作和标本收集, 更适于神经影像学、外科技术和急性脑损伤病理生理等方面的研究 ^[155] ; (2) 与大动物比较, 使用成本较低, 建模成功率高, 死亡率偏低, 允许进行更长时间的研究; (3) 与人类有相似的脑血管形态特征, 在发生 ICH 时, 脑血管的生理学和化学变化与人类相似 ^[90] ; (4) 基底节区相对发达, 定位相对容易, 耳缘静脉取血方便, 出血后神经功能缺损明显 ^[162]	(1) 群居性差, 同性别成年兔群居饲养会发生斗殴咬伤; (2) 胆小易受惊吓, 产生应激反应; (3) 缺乏转基因系统, 在研究基因组效应方面的应用有限
啮齿类	(1) 大鼠和小鼠价格便宜, 体型较小, 繁殖快, 容易饲养, 是 sICH 研究中最常用的动物; (2) 小型啮齿类动物的全身麻醉和给药更容易, 可以开发大量的实验模型 ^[13] ; (3) 基因修饰小鼠模型被广泛使用, 是研究 sICH 遗传学机制的最佳动物模型; (4) 人类 sICH 的发生部位多为基底节区, 大鼠也拥有基底节区, 其中尾状核为脑内最大核团, 容易定位; (5) 可以提供好的成本效益, 准确的检测和结果模式, 以及大量可用于免疫组织化学和分子生物学的试剂样本	(1) 大鼠和小鼠脑回缺乏、白质相对稀少, 与人类大脑的相似性较差; (2) 脑体积小, 限制了可产生血肿的大小, 并且难以用于人体检查仪器和外科手术研究; (3) 拥有无法比拟的再生和康复能力 ^[6]
绵羊	(1) 诱导的 sICH 病变可控性好、可重复性高; (2) 适用于 sICH 神经影像学, 而且可重复性高 ^[63]	(1) 使用率低; (2) 大型动物饲养、实验困难

表9 sICH动物模型比较

Table 9 Comparison of animal models for sICH

模型 Models	优势 Advantages	劣势 Disadvantages	适用研究领域 Applicable research areas
胶原酶诱导模型	(1)操作简单,重复性好,注射位置准确,出血量可控 ^[163] ; (2)能够模拟sICH患者自然发生的持续出血和血肿扩张过程,脑组织学变化与人类一致,是最接近人类sICH的动物模型 ^[163] ; (3)有典型的神经功能障碍,可作为评价脑出血后神经功能缺失和促功能恢复的干预手段效果评价的工具模型 ^[164] ; (4)最适合大鼠和小鼠等小动物,并允许在转基因小鼠上应用 ^[163] ; (5)已开发出胶原酶注射诱导猪ICH模型 ^[153]	(1)出血是弥漫性的,是胶原酶注射部位周围小血管破裂的结果,其血肿形成较慢 ^[165] ; (2)胶原酶引起广泛的炎症反应 ^[165] ,不适用于研究脑出血后的炎症反应机制; (3)胶原酶有细胞毒性作用 ^[164] ,不能完全模拟人类sICH继发性损伤的病理生理	(1)常用于啮齿类动物模型,尤其适用于研究sICH病理生理机制,以及脑血肿形成和血肿扩张、血管源性水肿、血脑屏障损伤、轴突变性、细胞凋亡、内皮障碍和脑卒中后的全身并发症 ^[18] ; (2)大鼠、小鼠模型尤其适合于sICH潜在治疗方法,如脑部超低温、人促红细胞生成素等的临床前研究,以及微小RNA、外泌体、纳米颗粒等新兴治疗探索等 ^[6, 90-91, 166]
自体血注入模型	(1)操作简单,重复性好,出血位置准确,出血量一致 ^[93-96] ; (2)方法无菌且不使用外来物质,可模拟人类sICH自然出血和血液凝固过程 ^[93-96] ; (3)适用于所有物种,其中大鼠和小鼠尾状核注血模型使用最普遍 ^[167] ,并允许在转基因小鼠上应用。通过在额叶或基底神经节注射血液,已开发出兔、猫、犬、猪、羊、猴等多种大型动物模型 ^[159, 168]	(1)不是真正意义的血管破裂出血,不能模拟人类sICH的小血管破裂 ^[91] ; (2)血液容易渗漏进入脑室和/或蛛网膜下腔,虽然两次和三次注血啮齿类动物模型解决了该问题,但增加了操作的复杂性 ^[94-96] ; (3)该模型的神经功能障碍不明显,神经功能评分较低,因此神经学功能需要结合多种行为学评价方法来进行 ^[162]	(1)啮齿类模型尤其适合sICH后血液及血凝块毒性物质如凝血酶、红细胞、补体、氧化应激、细胞凋亡和促炎症级联反应在继发性脑损伤中的作用和机制研究 ^[90-91, 169] ; (2)大鼠、小鼠模型适用于脑部超低温、干细胞等临床前研究,以及微小RNA、外泌体、纳米颗粒等新兴治疗探索等 ^[6, 90] ; (3)兔模型被用于研究sICH成像技术、手术创新、药物治疗、麻醉药物对脑血流动力学和颅内压的影响,以及继发性损伤的病理生理机制等 ^[90] ; (4)犬模型被用于研究sICH成像技术、脑生理学、新治疗方法,以及立体定向血肿抽吸手术的安全性和效果评估等 ^[90] ; (5)猪模型 ^[170] 临床相关性好,适用于sICH病理生理学和病理化学、水肿发展、血液成分的作用和脑组织代谢研究,以及组织纤溶酶原激活物(tPA)诱导血栓溶解后的药物和手术治疗效果评估,深部局部低温疗法、血红素加氧酶抑制剂等疗效评价等 ^[90]
微气球充盈模型	微气球充盈产生机械性占位效应,可模拟不同大小血肿对脑组织的压迫效果 ^[171]	(1)没有产生真实的血肿,不能模拟血液和随后血凝块释放物质引起的继发性脑损伤 ^[101] ; (2)易造成不可逆脑损伤,无法评估继发性脑损伤 ^[171-174]	大鼠模型可用于评估占位效应、颅内压、脑血流量,以及血肿清除的效果等 ^[101-102, 172]
高血糖诱导脑出血后血肿扩大模型	部分模拟了在糖尿病基础上发生sICH的临床情况 ^[103]	建模动物为年轻雄性小鼠,需进一步明确性别和年龄依赖性的影响 ^[103]	可用于糖尿病对sICH发生的影响、脑血肿扩大的原因和机制等研究 ^[175]
自发性高血压脑出血模型	(1)SHRsp与人类动脉硬化高血压sICH的病理生理和发病过程最接近 ^[104] ; (2)RHRsp模型的血压峰值高,术后210 d内平均血压峰值为(17.2±1.1)kPa,存在与人类sICH相似的高血压动脉硬化病理生理基础 ^[105]	(1)SHRsp模型价格昂贵,来源困难,饲养困难,易变种及断种,实验时间长等 ^[104] ; (2)RHRsp不是单纯的sICH模型,而是脑梗死、脑出血及混合性脑卒中并存 ^[105] ; (3)重复性差,脑损伤大小和位置都不可预测 ^[104-105]	适用于sICH病理生理机制研究 ^[104-105] 。该模型可以从以下几个方面进行药效评估: (1)RHRsp大鼠模型的生存期; (2)脑出血后运动功能障碍的改善情况; (3)脑系数; (4)组织形态学方法检测脑水肿程度、海马CA1区神经元变性和细胞数目; (5)脑出血后病灶吸收速度、小胶质细胞及毛细血管增生情况
基因修饰动物模型	(1)小鼠双转基因(R ⁺ /A ⁺)高血压脑出血主要发生于基底节、脑干和小脑等部位 ^[12] ,与人类sICH多发部位相似; (2)部分模型更能反映临床情况,如APP23转基因小鼠模型27月龄可发生反复及大量的出血,可能是研究脑淀粉样血管病相关脑出血的最佳动物模型 ^[113-114]	(1)价格昂贵,制作困难,实验时间长,动物死亡率高 ^[18, 112, 126] ; (2)转基因模型的出血时间、数量、大小和位置都不可预测,且无法比较不同模型脑出血的严重程度 ^[18, 112, 126]	(1)转基因啮齿类动物模型可用于研究sICH的基因发病机制及遗传因素对脑出血恢复的影响等 ^[18] ; (2)转基因小鼠模型适用于特定疾病(如脑淀粉样血管病、动静脉畸形)相关性sICH研究 ^[18, 113-114, 126]

的选择合适的给药时间点,如出血发生后立即给药、24 h内给药等。

(4) 对照组:设立已上市同类药品阳性对照组,以评估药物的有效性;设立假手术组、生理盐水组等阴性对照组,以消除手术和环境等因素对实验结果的影响。

5.5 药物剂量探索和优化

剂量探索和优化是临床前药物试验的重要环节。药物剂量与药物疗效和毒性直接相关,合适的剂量应当在保证动物安全前提下尽可能发挥最大效能^[176]。通过系统地调整药物剂量、观察不同剂量下的治疗效果,最终有可能找到最佳药物治疗剂量,以确保药物的安全性和有效性。在sICH临床前药物试验的药物剂量探索和优化时,应重点考虑下列因素:

(1) 安全剂量和给药频率的估算:应尽可能全面收集拟试验药物的前期研究数据如理化性质和药代动力学等,用于估计最低起效剂量和最低毒性剂量;同时明确药物在体内的消除方式、代谢时间、药-时曲线等,根据这些数据可估算药物的安全剂量和给药频率^[177-179]。

(2) 动物种属及给药途径的差别:应考虑到不同动物种属和不同给药途径下给药剂量的显著差别^[177-179],如啮齿类动物和灵长类动物的可接受剂量完全不同,同一种属动物颅内给药和静脉给药的剂量亦明显不同。

(3) 不同种属动物间的给药剂量换算:在进行某一种属动物的剂量探索时,需要对同一药物在不同种属动物之间的给药剂量进行换算,目前最公认和最常用的方法是单位体表面积法。需要注意的是,换算得到的剂量只可作为剂量探索的参考,不能直接作为最终剂量使用^[177-179]。

(4) 剂量探索试验的设计:剂量探索试验是药效学评价的初始步骤,其目的是尽早对药物的开发价值定性,并定位大致的起效剂量范围。其设计要点如下。

①实验模型:与后续正式的药效学实验一样,应当选择最接近临床病理改变和病程发展过程的动物模型。可从同类产品中获得信息,有助于确定潜在的实验模型,并预测/评价拟试验药物在该模型中的安全性和疗效问题。②实验规模:一般样本量较小,约为正式实验样本量的一半。例如拟使用啮齿类动物的药效实验,在实践中其探索实验一般不超过6只/组,通常使用单性别动物,必要时开展双性别动物实验。③实验终点:

优先选择临床获益相关性大的实验终点,通常不做机制研究,不额外增加实验成本。④剂量设计:一般仅设立阴性对照组和低、中、高3个药物剂量组,其中低、高剂量分别为估算的最低起效剂量和最低毒性剂量。剂量设计通常选择较大的剂量间距,争取在较大范围内发现药物是否有效及大致有效水平^[179]。在通过探索试验获知药物的起效剂量水平后,还需要在后续的正式实验中进行进一步确认。正式实验的剂量设计原则通常是:不再设立较大的剂量组间距,而希望在较小的剂量范围内精确描述药物的剂量反应关系。⑤实验操作:动物实验不可避免地受到人为影响,不同操作者的手法偏好等会对实验造成潜在影响,故探索实验与后续正式实验的操作者需要保持一致,实验动物的种属及来源也必须保持一致。

5.6 给药途径和方法确定

在sICH药物临床前试验中,应根据试验要求和目的选择合适的给药途径和方法,能够提高治疗效果并减少不必要的不良反应。同时还应关注给药操作的规范性和准确性,以减少操作误差对实验结果的影响。其要点如下:

(1) 新药的给药途径由药物的理化性质及药理药代特点决定^[179]。给药途径的选择需要以在靶部位实现最大药物暴露为目的,同时也要考虑病人的依从性及临床可实现性。对于口服生物利用度较低的药物,可以考虑注射途径。需要注意的是注射给药会带来新的问题,如依从性降低、临床风险上升及药学要求增加等。在脑出血新药开发中,除常规途径之外,还可以考虑经鼻脑途径实现脑部给药,能够绕过血脑屏障,最大程度递送药物。目前已经有多款作用于中枢神经的药物采用鼻喷制剂,并成功上市。

(2) 临床前试验的给药途径需与临床保持一致或最大程度地模拟临床。对于临床上的胶囊或片剂口服药物,在临床前试验中给药途径和方法一般是:小动物通常采用灌胃的方式;大动物可灌胃也可以直接给予制剂。对于临床上注射使用的药物,在动物实验中也应以注射方式给药。若无过敏反应或急性反应,动物静脉注射时间可以较为迅速,否则需要缓慢推注以保持与临床操作一致。由于皮下注射不同部位可能带来药物吸收速率的差异,导致药物起效时间及药效差异。因此在进行皮下注射时,需要明确具体注射部位并进行多点注射。

(3) 若无确定的临床拟用途径,则需根据用药阶

段、药物特点（作用机制、药代动力学）等方面考虑给药途径和方法，具体如下。①预防用药：sICH通常发病急，发病前无征兆^[180]，临床上通常根据患者的发病可能性而选择预防用药，如为预防家族遗传、高血压、高血糖、高血脂、高胆固醇等患者发生sICH而使用的保健类药品^[181]。从携带及服用便利性角度考虑，这类药物应优选口服用药途径，或根据药物特点选择其他给药途径。在预防性药物的动物实验给药方案设计时，可重点关注灌胃给药途径。②治疗/发病后用药：急性发病期需要及早干预、尽快起效，可选择颅内或静脉注射途径；对于主要发挥清颅内血肿、降血压作用的药物，在动物实验设计时也应以内注射或静脉注射为主。并且需要选用合适的造模方法，避免因造模操作不当导致动物过早死亡而无法评价药效。发病后治疗主要针对神经功能受损，使用促进神经生长和预防复发类药物，应根据药物作用机制和药代动力学数据选择合适的给药途径。由于康复治疗的时间较长，因此在临床前药物试验中不宜选用对动物伤害较大的给药方式，如颅内注射等。

5.7 药效学实验设计和数据分析方法

药效学实验是新药开发的基石。药效研究应当反映预期的临床应用和适应症，应遵循科学的实验设计和数据分析方法，确保实验过程的规范性和结果数据的可靠性。

5.7.1 药效学试验实验设计要点

(1) 组别设计：需要设立正常对照、疾病模型阴性对照、待试药物的2~3个剂量组以及市售阳性药物对照。其中市售对照优先选择与新药作用机制相似的临床用药，其次选择临床主流用药，以评价药物的药效强度及特点。

(2) 模型的选择：由于临床病理病程的多样性，以及临床前动物模型的病理过程多为人为诱发，动物模型的病理与临床往往仅会部分一致，很难用一个模型完整地模拟所有临床情况。因此，通常需要使用1种以上的动物物种或2个以上的模型确认新药的药效。除了最大程度符合临床之外，还需要提高造模的成功率，产生稳定一致、重复性好、精确度高的血肿。模型的严重程度不宜过重，造模出血可预期，一般不建议造成严重出血。严重的脑出血（或注入过量的自体血）对于任何药物治疗都是极大挑战。处于概念验证阶段的新药，在模型选择和实验设计中，建议选择程度合适的脑出血模型，以便清楚地判断药效。为提高

实验的精度，需要提高不同组别动物模型严重程度的一致性。建议建立相应的模型评价终点和标准，用于模型的严重程度和一致性评估，确保不同组别动物的严重程度不存在较大差异。

(3) 样本量的确定：需要根据实验体系的灵敏度来调整，并且满足统计学要求。以啮齿类为例，每组动物一般不少于10只^[182]。

(4) 给药时间：早期探索阶段通常优先采用预防给药；后续的药效学研究则需要尽可能在给药干预时间上接近临床治疗时间。

(5) 药效评估：可靠的生物标志物可以反映病理病程的改变，有利于临床前动物数据向临床的转化。建议：①根据药物作用特点设置相关的生物标志物检测，并且应当对生物标志物的分析方法学及其效能特点进行充分的描述；②根据药物的药代动力学及药理机制特点设置药效检测时间点，进行神经行为学和影像学等的检测。尤其需要重视的是，神经行为学评分需要进行盲法设计，以排除可能存在的主观倾向性。

5.7.2 数据管理与分析

新药开发需要保证全过程信息的真实、准确、完整和可追溯^[183]。在药效学研究中需要建立实验数据、实验体系及实验过程管理体系，确保数据的真实、准确、完整和可追溯性。数据统计与分析是评价药效学试验结果的重要工具，帮助研究者定量分析变异对实验结果的影响，从中归纳出具有规律性的结论。数据统计与分析需关注的要点如下：(1) 在实验开始前就需要根据数据出现的特点选择相应的统计方法；(2) 需要识别非药物因素导致的可疑的异常数据（特别大或特别小的数据），剔除额外干扰因素的影响^[182]；(3) 对实验结果的评价，既要考虑统计学显著性，也要考虑生物学意义。

5.8 实验伦理和动物福利

在sICH临床前药物试验中，应遵循法律法规和伦理原则，保障实验动物的福利和权益。实验动物福利管理内容以动物实验伦理为重点^[184]，涵盖“3R原则”（即代替、减少、优化原则）、麻醉、镇痛、人道终点、安乐死等方面，是保证动物实验结果真实可靠的前提。其中包括：

(1) 动物福利：尊重实验动物的“五大自由”（即生理、环境、卫生、行为、心理共5个方面的福利）。在动物实验过程中，通过优化实验环境、提供充足的饲养空间和良好的饲养条件、合理安排实验进程、采

用适当的麻醉和镇痛、微量采血^[185]等措施,尽可能减少实验动物的痛苦和牺牲。同时,在实验过程中应密切监测动物的生理指标和行为变化,及时发现并处理动物的病症,以确保动物的安全。在动物实验结束后,采取适当的措施对动物进行安置或执行安乐死,以尊重动物的生命和权益。

(2) 伦理审查:目的是提供独立的伦理审查意见,确保动物实验在保护动物福利、尊重伦理规范的前提下开展,以保证实验的合法性、道德性和可靠性。审查内容主要包括研究者资质、动物选择、实验目的、方法和条件及动物操作等方面,确保临床前药物试验实验符合动物实验伦理原则。

(3) 人类健康和权益:确保研究结果对人类健康和权益有积极影响,符合社会伦理和法律规定。

[作者贡献 Author Contribution]

本指南的制订工作由以下4个专家组(完整名单附后)共同完成:

组织专家组负责确定执笔专家人选,确认指南主题和范围,组织初稿审阅和终稿修订,召集指南制订工作会议等;执笔专家组负责相关文献查阅、筛选和核定,以及指南各章节的起草和修订工作等;共识专家组通过线上会议对指南内容进行研讨和论证,提出意见,达成共识;审稿专家组负责指南的评审工作,评价指南内容的学术质量,并提出修改意见。

[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] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795-820. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.
- [2] QURESHI A I, MENDELOW A D, HANLEY D F. Intracerebral haemorrhage[J]. *Lancet*, 2009, 373(9675): 1632-1644. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60371-8.
- [3] LIU M, WU B, WANG W Z, et al. Stroke in China: epidemiology, prevention, and management strategies[J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(5): 456-464. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70004-2.
- [4] VAN ASCH C J, LUITSE M J, RINKEL G J, et al. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(2): 167-176. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70340-0.
- [5] FOGELHOLM R, MURROS K, RISSANEN A, et al. Long term survival after primary intracerebral haemorrhage: a retrospective population based study[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2005, 76(11): 1534-1538. DOI: 10.1136/jnnp.2004.055145.
- [6] ZILLE M, FARR T D, KEEP R F, et al. Novel targets, treatments, and advanced models for intracerebral haemorrhage[J]. *EBioMedicine*, 2022, 76: 103880. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103880.
- [7] O'COLLINS V E, MACLEOD M R, DONNAN G A, et al. 1, 026 experimental treatments in acute stroke[J]. *Ann Neurol*, 2006, 59(3): 467-477. DOI: 10.1002/ana.20741.
- [8] MYSERLIS E P, MAYERHOFER E, ABRAMSON J R, et al. Lobar intracerebral hemorrhage and risk of subsequent uncontrolled blood pressure[J]. *Eur Stroke J*, 2022, 7(3): 280-288. DOI: 10.1177/23969873221094412.
- [9] WANG X, DI TANNA G L, MOULLAALI T J, et al. J-shape relation of blood pressure reduction and outcome in acute intracerebral hemorrhage: a pooled analysis of INTERACT2 and ATACH-II individual participant data[J]. *Int J Stroke*, 2022, 17(10): 1129-1136. DOI: 10.1177/17474930211064076.
- [10] SCHLEICHER R L, LI K R, MYLVAGANAM R, et al. Expression of D_{Es}P in acute intracerebral hemorrhage[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2022, 31(10): 106685. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106685.
- [11] HERRERA V L M, GROMISCH C M, DECANO J L, et al. Anti-D_{Es}P antibody treatment improves survival and reduces neurologic deficits in a hypertensive, spontaneous intracerebral hemorrhage (hslCH) rat model[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 2703. DOI: 10.1038/s41598-023-28149-3.
- [12] IIDA S, BAUMBACH G L, LAVOIE J L, et al. Spontaneous stroke in a genetic model of hypertension in mice[J]. *Stroke*, 2005, 36(6): 1253-1258. DOI: 10.1161/01.str.0000167694.58419.a2.
- [13] CHEN Y H, CHANG J B, WEI J J, et al. Assessing the evolution of intracranial hematomas by using animal models: a review of the progress and the challenges[J]. *Metab Brain Dis*, 2021, 36(8): 2205-2214. DOI: 10.1007/s11011-021-00828-y.
- [14] JEANNE M, JORGENSEN J, GOULD D B. Molecular and genetic analyses of collagen type IV mutant mouse models of spontaneous intracerebral hemorrhage identify mechanisms for stroke prevention[J]. *Circulation*, 2015, 131(18): 1555-1565. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013395.
- [15] RATELADE J, KLUG N R, LOMBARDI D, et al. Reducing hypermuscularization of the transitional segment between arterioles and capillaries protects against spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. *Circulation*, 2020, 141(25): 2078-2094. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040963.
- [16] XIAO N, LIU T L, LI H, et al. Low serum uric acid levels promote hypertensive intracerebral hemorrhage by disrupting the smooth muscle cell-elastin contractile unit and upregulating the Erk1/2-MMP axis[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(5): 1077-1094. DOI: 10.1007/s12975-020-00791-3.
- [17] HOSTETTLER I C, SEIFFGE D J, WERRING D J. Intracerebral hemorrhage: an update on diagnosis and treatment[J]. *Expert Rev Neurother*, 2019, 19(7): 679-694. DOI: 10.1080/

- 14737175.2019.1623671.
- [18] ALHARBI B M, TSO M K, MACDONALD R L. Animal models of spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. *Neurol Res*, 2016, 38(5):448-455. DOI: 10.1080/01616412.2016.1144671.
 - [19] CANNISTRARO R J, MESCHIA J F. The clinical dilemma of anticoagulation use in patients with cerebral amyloid angiopathy and atrial fibrillation[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2018, 20(11):106. DOI: 10.1007/s11886-018-1052-1.
 - [20] MALHOTRA K, THEODOROU A, KATSANOS A H, et al. Prevalence of clinical and neuroimaging markers in cerebral amyloid angiopathy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Stroke*, 2022, 53(6):1944-1953. DOI: 10.1161/STROKEAHA.121.035836.
 - [21] SANCHEZ-CARO J M, DE LORENZO MARTÍNEZ DE UBAGO I, DE CELIS RUIZ E, et al. Transient focal neurological events in cerebral amyloid angiopathy and the long-term risk of intracerebral hemorrhage and death: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Neurol*, 2022, 79(1): 38-47. DOI: 10.1001/jamaneurol.2021.3989.
 - [22] HOSTETTLER I C, SEIFFGE D, WONG A, et al. *APOE* and cerebral small vessel disease markers in patients with intracerebral hemorrhage[J]. *Neurology*, 2022, 99(12): e1290-e1298. DOI: 10.1212/WNL.00000000000200851.
 - [23] BAI Y, DENG H, SHANTSILA A, et al. Rivaroxaban versus dabigatran or warfarin in real-world studies of stroke prevention in atrial fibrillation: systematic review and meta-analysis[J]. *Stroke*, 2017, 48(4): 970-976. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.016275.
 - [24] WU T T, LV C Y, WU L S, et al. Risk of intracranial hemorrhage with direct oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *J Neurol*, 2022, 269(2):664-675. DOI: 10.1007/s00415-021-10448-2.
 - [25] BUTCHER K S, NG K, SHERIDAN P, et al. Dabigatran treatment of acute noncardioembolic ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2020, 51(4): 1190-1198. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.027569.
 - [26] COCHRANE A, CHEN C, STEPHEN J, et al. Antithrombotic treatment after stroke due to intracerebral haemorrhage[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2023, 1(1): CD012144. DOI: 10.1002/14651858.CD012144.pub3.
 - [27] PÉTRAULT M, OUK T, PÉTRAULT O, et al. Safety of oral anticoagulants on experimental brain microbleeding and cognition[J]. *Neuropharmacology*, 2019, 155: 162-172. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2019.05.030.
 - [28] HILL C S, BORG A, HORSFALL H L, et al. Cerebral cavernous malformation: management, outcomes, and surveillance strategies - A single centre retrospective cohort study[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2023, 225:107576. DOI: 10.1016/j.clineuro.2022.107576.
 - [29] CARDOSO C, ARNOULD M, DE LUCA C, et al. Novel chronic mouse model of cerebral cavernous malformations[J]. *Stroke*, 2020, 51(4): 1272-1278. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.027207.
 - [30] CHOKSI F, WEINSHEIMER S, NELSON J, et al. Assessing the association of common genetic variants in EPHB4 and RASA1 with phenotype severity in familial cerebral cavernous malformation[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2021, 9(10): e1794. DOI: 10.1002/mgg3.1794.
 - [31] WEINSHEIMER S, NELSON J, ABLA A A, et al. Intracranial hemorrhage rate and lesion burden in patients with familial cerebral cavernous malformation[J]. *J Am Heart Assoc*, 2023, 12(3): e027572. DOI: 10.1161/JAHA.122.027572.
 - [32] VAN BEIJNUM J, VAN DER WERP H B, BUIS D R, et al. Treatment of brain arteriovenous malformations: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA*, 2011, 306(18): 2011-2019. DOI: 10.1001/jama.2011.1632.
 - [33] LI H, YAN Z H, HUO R, et al. RNA sequencing analysis between ruptured and un-ruptured brain AVM[J]. *Chin Neurosurg J*, 2022, 8(1):13. DOI: 10.1186/s41016-022-00282-4.
 - [34] LI Q F, DECKER-ROCKEFELLER B, BAJAJ A, et al. Activation of ras in the vascular endothelium induces brain vascular malformations and hemorrhagic stroke[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(11):2869-2882. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.08.025.
 - [35] NIKOLAEV S I, FISH J E, RADOVANOVIC I. Somatic activating KRAS mutations in arteriovenous malformations of the brain [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(16): 1561-1562. DOI: 10.1056/NEJMc1802190.
 - [36] RIST P M, BURING J E, RIDKER P M, et al. Lipid levels and the risk of hemorrhagic stroke among women[J]. *Neurology*, 2019, 92(19): e2286-e2294. DOI: 10.1212/WNL.00000000000007454.
 - [37] KREL M, MIULLI D E, JUNG H, et al. Minimization of intraparenchymal hemorrhagic stroke size by optimization of serum lipids[J]. *Cureus*, 2019, 11(4): e4406. DOI: 10.7759/cureus.4406.
 - [38] MOUTZOURI E, GLUTZ M, ABOLHASSANI N, et al. Association of statin use and lipid levels with cerebral microbleeds and intracranial hemorrhage in patients with atrial fibrillation: a prospective cohort study[J]. *Int J Stroke*, 2023, 18(10):1219-1227. DOI: 10.1177/17474930231181010.
 - [39] LI Q, ZHANG G, XIONG X, et al. Black hole sign: novel imaging marker that predicts hematoma growth in patients with intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2016, 47(7): 1777-1781. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013186.
 - [40] MOROTTI A, DOWLATSHAHI D, BOULOUIS G, et al. Predicting intracerebral hemorrhage expansion with noncontrast computed tomography: the BAT score[J]. *Stroke*, 2018, 49(5): 1163-1169. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.020138.
 - [41] WANG X, ARIMA H, SALMAN R A S, et al. Clinical prediction algorithm (BRAIN) to determine risk of hematoma growth in acute intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 376-381. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.006910.
 - [42] BROUWERS H B, CHANG Y, FALCONE G J, et al. Predicting hematoma expansion after primary intracerebral hemorrhage [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(2):158-164. DOI: 10.1001/jamaneurol.2013.5433.
 - [43] MAYER S A, BRUN N C, BEGRUP K, et al. Efficacy and safety

- of recombinant activated factor VII for acute intracerebral hemorrhage[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(20): 2127-2137. DOI: 10.1056/NEJMoa0707534.
- [44] VAN DER HORST S F B, MARTENS E S L, DEN EXTER P L, et al. Idarucizumab for dabigatran reversal: a systematic review and meta-analysis of indications and outcomes[J]. *Thromb Res*, 2023, 228:21-32. DOI: 10.1016/j.thromres.2023.05.020.
- [45] CONNOLLY S J, MILLING T J Jr, EIKELBOOM J W, et al. Andexanet alfa for acute major bleeding associated with factor Xa inhibitors[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(12): 1131-1141. DOI: 10.1056/NEJMoa1607887.
- [46] CHU H L, GAO Z D, HUANG C Y, et al. Relationship between hematoma expansion induced by hypertension and hyperglycemia and blood-brain barrier disruption in mice and its possible mechanism: role of aquaporin-4 and Connexin43 [J]. *Neurosci Bull*, 2020, 36(11):1369-1380. DOI: 10.1007/s12264-020-00540-4.
- [47] SCHLUNK F, BÖHM M, BOULLOUIS G, et al. Secondary bleeding during acute experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2019, 50(5): 1210-1215. DOI: 10.1161/STROKEAHA.118.021732.
- [48] MOROTTI A, SHOAMANESH A, OLIVEIRA-FILHO J, et al. White matter hyperintensities and blood pressure lowering in acute intracerebral hemorrhage: a secondary analysis of the ATACH-2 trial[J]. *Neurocrit Care*, 2020, 32(1): 180-186. DOI: 10.1007/s12028-019-00761-0.
- [49] KLAHR A C, KOSIOR J C, DOWLATSHAHI D, et al. Lower blood pressure is not associated with decreased arterial spin labeling estimates of perfusion in intracerebral hemorrhage [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(11): e010904. DOI: 10.1161/JAHA.118.010904.
- [50] SATTUR M G, SPIOTTA A M. Commentary: efficacy and safety of minimally invasive surgery with thrombolysis in intracerebral haemorrhage evacuation (MISTIE III): a randomized, controlled, open-label, blinded endpoint phase 3 trial[J]. *Neurosurgery*, 2020, 86(5): E444-E446. DOI: 10.1093/neuros/nyz551.
- [51] CHANG C F, MASSEY J, OSHEROV A, et al. Bexarotene enhances macrophage erythrophagocytosis and hematoma clearance in experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2020, 51(2): 612-618. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.027037.
- [52] XU J, CHEN Z Q, YU F, et al. IL-4/STAT6 signaling facilitates innate hematoma resolution and neurological recovery after hemorrhagic stroke in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(51):32679-32690. DOI: 10.1073/pnas.2018497117.
- [53] FU X J, ZHOU G Y, ZHUANG J F, et al. White matter injury after intracerebral hemorrhage[J]. *Front Neurol*, 2021, 12: 562090. DOI: 10.3389/fneur.2021.562090.
- [54] YANG Y, CHEN X Z, FENG Z Z, et al. MEC17-induced α -tubulin acetylation restores mitochondrial transport function and alleviates axonal injury after intracerebral hemorrhage in mice[J]. *J Neurochem*, 2022, 160(1): 51-63. DOI: 10.1111/jnc.15493.
- [55] YANG H, NI W, WEI P J, et al. HDAC inhibition reduces white matter injury after intracerebral hemorrhage[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(5): 958-974. DOI: 10.1177/0271678X20942613.
- [56] LI M X, XIA M, CHEN W X, et al. Lithium treatment mitigates white matter injury after intracerebral hemorrhage through brain-derived neurotrophic factor signaling in mice[J]. *Transl Res*, 2020, 217:61-74. DOI: 10.1016/j.trsl.2019.12.006.
- [57] YANG Z Y, DONG S S, ZHENG Q Y, et al. FTY720 attenuates iron deposition and glial responses in improving delayed lesion and long-term outcomes of collagenase-induced intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Res*, 2019, 1718: 91-102. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.04.031.
- [58] FOU DA A Y, NEWSOME A S, SPELLICY S, et al. Minocycline in acute cerebral hemorrhage: an early phase randomized trial [J]. *Stroke*, 2017, 48(10): 2885-2887. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.018658.
- [59] ZHOU S Y, CUI G Z, YAN X L, et al. Mechanism of ferroptosis and its relationships with other types of programmed cell death: insights for potential interventions after intracerebral hemorrhage[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14:589042. DOI: 10.3389/fnins.2020.589042.
- [60] CHEN B, CHEN Z H, LIU M J, et al. Inhibition of neuronal ferroptosis in the acute phase of intracerebral hemorrhage shows long-term cerebroprotective effects[J]. *Brain Res Bull*, 2019, 153:122-132. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2019.08.013.
- [61] SELIM M, FOSTER L D, MOY C S, et al. Deferoxamine mesylate in patients with intracerebral haemorrhage (i-DEF): a multicentre, randomised, placebo-controlled, double-blind phase 2 trial[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 428-438. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30069-9.
- [62] JIA P J, HE J X, LI Z F, et al. Profiling of blood-brain barrier disruption in mouse intracerebral hemorrhage models: collagenase injection vs. autologous arterial whole blood infusion[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15:699736. DOI: 10.3389/fncel.2021.699736.
- [63] BOLTZE J, FERRARA F, HAINSWORTH A H, et al. Lesional and perilesional tissue characterization by automated image processing in a novel gyrencephalic animal model of peracute intracerebral hemorrhage[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(12):2521-2535. DOI: 10.1177/0271678X18802119.
- [64] KUNG T F C, WILKINSON C M, DIRKS C A, et al. Glibenclamide does not improve outcome following severe collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. *PLoS One*, 2021, 16(6): e0252584. DOI: 10.1371/journal.pone.0252584.
- [65] XUE M Z, YONG V W. Neuroinflammation in intracerebral haemorrhage: immunotherapies with potential for translation [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(12):1023-1032. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30364-1.
- [66] LI Z G, LI Y L, HAN J R, et al. Formyl peptide receptor 1 signaling potentiates inflammatory brain injury[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(605): eabe9890. DOI: 10.1126/scitranslmed.abe9890.

- [67] HE Y, GAO Y, ZHANG Q, et al. IL-4 switches microglia/macrophage M1/M2 polarization and alleviates neurological damage by modulating the JAK1/STAT6 pathway following ICH[J]. *Neuroscience*, 2020, 437: 161-171. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.03.008.
- [68] BAI Q, XUE M Z, YONG V W. Microglia and macrophage phenotypes in intracerebral haemorrhage injury: therapeutic opportunities[J]. *Brain*, 2020, 143(5): 1297-1314. DOI: 10.1093/brain/awz393.
- [69] TSCHOE C, BUSHNELL C D, DUNCAN P W, et al. Neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets[J]. *J Stroke*, 2020, 22(1): 29-46. DOI: 10.5853/jos.2019.02236.
- [70] CARMONA-MORA P, ANDER B P, JICKLING G C, et al. Distinct peripheral blood monocyte and neutrophil transcriptional programs following intracerebral hemorrhage and different etiologies of ischemic stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(6): 1398-1416. DOI: 10.1177/0271678X20953912.
- [71] ZHAO X R, TING S M, LIU C H, et al. Neutrophil polarization by IL-27 as a therapeutic target for intracerebral hemorrhage [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 602. DOI: 10.1038/s41467-017-00770-7.
- [72] ZHAO X R, KRUEL M, TING S M, et al. Optimized lactoferrin as a highly promising treatment for intracerebral hemorrhage: pre-clinical experience[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(1): 53-66. DOI: 10.1177/0271678X20925667.
- [73] HAN R R, LUO J Y, SHI Y C, et al. PD-L1 (programmed death ligand 1) protects against experimental intracerebral hemorrhage-induced brain injury[J]. *Stroke*, 2017, 48(8): 2255-2262. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.016705.
- [74] CHENG N, WANG H, ZOU M, et al. Brain-derived programmed death-ligand 1 mediates immunosuppression post intracerebral hemorrhage[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2022, 42(11): 2048-2057. DOI: 10.1177/0271678X22116048.
- [75] ZHANG L, WANG H D. FTY720 in CNS injuries: molecular mechanisms and therapeutic potential[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 164: 75-82. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.08.013.
- [76] ZHANG L Q, WURI J, AN L L, et al. Metoprolol attenuates intracerebral hemorrhage-induced cardiac damage by suppression of sympathetic overactivity in mice[J]. *Auton Neurosci*, 2021, 234: 102832. DOI: 10.1016/j.autneu.2021.102832.
- [77] SONG J R, CHEN W J, YE W. Stroke and the risk of gastrointestinal disorders: a Mendelian randomization study [J]. *Front Neurol*, 2023, 14: 1131250. DOI: 10.3389/fneur.2023.1131250.
- [78] ZHANG Y, YU W P, FLYNN C, et al. Interplay between gut microbiota and NLRP3 inflammasome in intracerebral hemorrhage[J]. *Nutrients*, 2022, 14(24): 5251. DOI: 10.3390/nu14245251.
- [79] YU X B, ZHOU G Y, SHAO B, et al. Gut microbiota dysbiosis induced by intracerebral hemorrhage aggravates neuroinflammation in mice[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 647304. DOI: 10.3389/fmicb.2021.647304.
- [80] BAI Q, SHENG Z F, LIU Y, et al. Intracerebral haemorrhage: from clinical settings to animal models[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2020, 5(4): 388-395. DOI: 10.1136/svn-2020-000334.
- [81] PAIVA W S, ZIPPO E, MIRANDA C, et al. Animal models for the study of intracranial hematomas (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 25(1): 20. DOI: 10.3892/etm.2022.11719.
- [82] ROSENBERG G A, ESTRADA E, KELLEY R O, et al. Bacterial collagenase disrupts extracellular matrix and opens blood-brain barrier in rat[J]. *Neurosci Lett*, 1993, 160(1): 117-119. DOI: 10.1016/0304-3940(93)90927-d.
- [83] ROSENBERG G A, MUN-BRYCE S, WESLEY M, et al. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. *Stroke*, 1990, 21(5): 801-807. DOI: 10.1161/01.str.21.5.801.
- [84] CLARK W, GUNION-RINKER L, LESSOV N, et al. Citicoline treatment for experimental intracerebral hemorrhage in mice [J]. *Stroke*, 1998, 29(10): 2136-2140. DOI: 10.1161/01.str.29.10.2136.
- [85] MACLELLAN C L, SILASI G, POON C C, et al. Intracerebral hemorrhage models in rat: comparing collagenase to blood infusion[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(3): 516-525. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600548.
- [86] TANAKA Y, MARUMO T, SHIBUTA H, et al. Serum S100B, brain edema, and hematoma formation in a rat model of collagenase-induced hemorrhagic stroke[J]. *Brain Res Bull*, 2009, 78(4-5): 158-163. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2008.10.012.
- [87] MACLELLAN C L, DAVIES L M, FINGAS M S, et al. The influence of hypothermia on outcome after intracerebral hemorrhage in rats[J]. *Stroke*, 2006, 37(5): 1266-1270. DOI: 10.1161/01.STR.0000217268.81963.78.
- [88] DEL BIGIO M R, YAN H J, BUIST R, et al. Experimental intracerebral hemorrhage in rats. Magnetic resonance imaging and histopathological correlates[J]. *Stroke*, 1996, 27(12): 2312-2319; discussion 2319-2320. DOI: 10.1161/01.str.27.12.2312.
- [89] BERAY-BERTHAT V, DELIFER C, BESSON V C, et al. Long-term histological and behavioural characterisation of a collagenase-induced model of intracerebral haemorrhage in rats[J]. *J Neurosci Methods*, 2010, 191(2): 180-190. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.06.025.
- [90] JAMES M L, WARNER D S, LASKOWITZ D T. Preclinical models of intracerebral hemorrhage: a translational perspective[J]. *Neurocrit Care*, 2008, 9(1): 139-152. DOI: 10.1007/s12028-007-9030-2.
- [91] ANDALUZ N, ZUCCARELLO M, WAGNER K R. Experimental animal models of intracerebral hemorrhage[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2002, 13(3): 385-393. DOI: 10.1016/s1042-3680(02)00006-2.
- [92] MA Q Y, KHATIBI N H, CHEN H, et al. History of preclinical models of intracerebral hemorrhage[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2011, 111: 3-8. DOI: 10.1007/978-3-7091-0693-8_1.
- [93] YANG G Y, BETZ A L, CHENEVERT T L, et al. Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats[J]. *J Neurosurg*, 1994, 81(1): 93-102. DOI: 10.3171/jns.

- 1994.81.1.0093.
- [94] DEINSBERGER W, VOGEL J, KUSCHINSKY W, et al. Experimental intracerebral hemorrhage: description of a double injection model in rats[J]. *Neurol Res*, 1996, 18(5):475-477. DOI: 10.1080/01616412.1996.11740456.
- [95] BELAYEV L, SAUL I, CURBELO K, et al. Experimental intracerebral hemorrhage in the mouse: histological, behavioral, and hemodynamic characterization of a double-injection model[J]. *Stroke*, 2003, 34(9):2221-2227. DOI: 10.1161/01.STR.0000088061.06656.1E.
- [96] MA B, ZHANG J. Nimodipine treatment to assess a modified mouse model of intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Res*, 2006, 1078(1):182-188. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.01.045.
- [97] KNIGHT R A, HAN Y X, NAGARAJA T N, et al. Temporal MRI assessment of intracerebral hemorrhage in rats[J]. *Stroke*, 2008, 39(9):2596-2602. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.506683.
- [98] XUE M, DEL BIGLIO M R. Intracerebral injection of autologous whole blood in rats: time course of inflammation and cell death[J]. *Neurosci Lett*, 2000, 283(3): 230-232. DOI: 10.1016/S0304-3940(00)00971-x.
- [99] YANG D M, KNIGHT R A, HAN Y X, et al. Vascular recovery promoted by atorvastatin and simvastatin after experimental intracerebral hemorrhage: magnetic resonance imaging and histological study[J]. *J Neurosurg*, 2011, 114(4):1135-1142. DOI: 10.3171/2010.7.JNS10163.
- [100] KARKI K, KNIGHT R A, HAN Y X, et al. Simvastatin and atorvastatin improve neurological outcome after experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2009, 40(10):3384-3389. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.544395.
- [101] SINAR E J, MENDELOW A D, GRAHAM D I, et al. Experimental intracerebral hemorrhage: effects of a temporary mass lesion[J]. *J Neurosurg*, 1987, 66(4):568-576. DOI: 10.3171/jns.1987.66.4.0568.
- [102] NAKASHIMA K, YAMASHITA K, UESUGI S, et al. Temporal and spatial profile of apoptotic cell death in transient intracerebral mass lesion of the rat[J]. *J Neurotrauma*, 1999, 16(2):143-151. DOI: 10.1089/neu.1999.16.143.
- [103] REN R, LU Q, SHERCHAN P, et al. Inhibition of aryl hydrocarbon receptor attenuates hyperglycemia-induced hematoma expansion in an intracerebral hemorrhage mouse model [J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10(20): e022701. DOI: 10.1161/JAHA.121.022701.
- [104] OKAMOTO K, YAMORI Y, NAGAOKA A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR) [J]. *Circ Res*, 1974, 35: 1143-1153.
- [105] ZENG J, ZHANG Y, MO J, et al. Two-kidney, two clip renovascular hypertensive rats can be used as stroke-prone rats[J]. *Stroke*, 1998, 29(8): 1708-1713; discussion 1713-1714. DOI: 10.1161/01.str.29.8.1708.
- [106] GUO H X, YOU M F, WU J H, et al. Genetics of spontaneous intracerebral hemorrhage: risk and outcome[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16:874962. DOI: 10.3389/fnins.2022.874962.
- [107] EKKERT A, ŠLIACHTENKO A, UTKUS A, et al. Intracerebral hemorrhage genetics[J]. *Genes*, 2022, 13(7): 1250. DOI: 10.3390/genes13071250.
- [108] CHARIDIMOU A, BOULOUIS G, GUROL M E, et al. Emerging concepts in sporadic cerebral amyloid angiopathy[J]. *Brain*, 2017, 140(7):1829-1850. DOI: 10.1093/brain/awx047.
- [109] GOKHALE S, CAPLAN L R, JAMES M L. Sex differences in incidence, pathophysiology, and outcome of primary intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2015, 46(3):886-892. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.007682.
- [110] AUER R N, SUTHERLAND G R. Primary intracerebral hemorrhage: pathophysiology[J]. *Can J Neurol Sci Le J Can Des Sci Neurol*, 2005, 32(Suppl 2): S3-S12.
- [111] BIFFI A, GREENBERG S M. Cerebral amyloid angiopathy: a systematic review[J]. *J Clin Neurol*, 2011, 7(1):1-9. DOI: 10.3988/jcn.2011.7.1.1.
- [112] BILKEI-GORZO A. Genetic mouse models of brain ageing and Alzheimer's disease[J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 142(2):244-257. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.12.009.
- [113] WINKLER D T, BONDOLFI L, HERZIG M C, et al. Spontaneous hemorrhagic stroke in a mouse model of cerebral amyloid angiopathy[J]. *J Neurosci*, 2001, 21(5):1619-1627. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-05-01619.2001.
- [114] STURCHLER-PIERRAT C, ABRAMOWSKI D, DUKE M, et al. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(24):13287-13292. DOI: 10.1073/pnas.94.24.13287.
- [115] DAVIS J, XU F, DEANE R, et al. Early-onset and robust cerebral microvascular accumulation of amyloid beta-protein in transgenic mice expressing low levels of a vasculotropic Dutch/Iowa mutant form of amyloid beta-protein precursor[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(19):20296-20306. DOI: 10.1074/jbc.M312946200.
- [116] HERZIG M C, WINKLER D T, BURGERMEISTER P, et al. Abeta is targeted to the vasculature in a mouse model of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis[J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(9):954-960. DOI: 10.1038/nn1302.
- [117] MAAT-SCHIEMAN M, ROOS R, VAN DUINEN S. Hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis-Dutch type[J]. *Neuropathology*, 2005, 25(4): 288-297. DOI: 10.1111/j. 1440-1789.2005.00631.x.
- [118] FISHER M, VASILEVSKO V, PASSOS G F, et al. Therapeutic modulation of cerebral microhemorrhage in a mouse model of cerebral amyloid angiopathy[J]. *Stroke*, 2011, 42(11): 3300-3303. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.626655.
- [119] HAN B H, ZHOU M L, JOHNSON A W, et al. Contribution of reactive oxygen species to cerebral amyloid angiopathy, vasomotor dysfunction, and microhemorrhage in aged Tg2576 mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(8): E881-E890. DOI: 10.1073/pnas.1414930112.
- [120] COOMARASWAMY J, KILGER E, WÖLFING H, et al. Modeling familial Danish dementia in mice supports the concept of the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(17): 7969-7974. DOI: 10.1073/pnas.1001056107.
- [121] VOLLHERBST D F, BENDSZUS M, MÖHLENBRUCH M A.

- Vascular malformations of the brain and its coverings[J]. *J Neuroendovasc Ther*, 2020, 14(8): 285-294. DOI: 10.5797/jnet.ra.2020-0020.
- [122] NARANBHAI N, PÉREZ R. Management of brain arteriovenous malformations: a review[J]. *Cureus*, 2023, 15(1): e34053. DOI: 10.7759/cureus.34053.
- [123] BARBOSA DO PRADO L, HAN C, OH S P, et al. Recent advances in basic research for brain arteriovenous malformation[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21):5324. DOI: 10.3390/ijms20215324.
- [124] WINKLER E A, PACULT M A, CATAPANO J S, et al. Emerging pathogenic mechanisms in human brain arteriovenous malformations: a contemporary review in the multiomics era [J]. *Neurosurg Focus*, 2022, 53(1): E2. DOI: 10.3171/2022.4.FOCUS2291.
- [125] VETISKA S, WÄLCHLI T, RADOVANOVIC I, et al. Molecular and genetic mechanisms in brain arteriovenous malformations: new insights and future perspectives[J]. *Neurosurg Rev*, 2022, 45(6): 3573-3593. DOI: 10.1007/s10143-022-01883-4.
- [126] MILTON I, OUYANG D, ALLEN C J, et al. Age-dependent lethality in novel transgenic mouse models of central nervous system arteriovenous malformations[J]. *Stroke*, 2012, 43(5):1432-1435. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.647024.
- [127] FISH J E, FLORES SUAREZ C P, BOUDREAU E, et al. Somatic gain of KRAS function in the endothelium is sufficient to cause vascular malformations that require MEK but not PI3K signaling[J]. *Circ Res*, 2020, 127(6): 727-743. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.316500.
- [128] PARK E S, KIM S, HUANG S N, et al. Selective endothelial hyperactivation of oncogenic KRAS induces brain arteriovenous malformations in mice[J]. *Ann Neurol*, 2021, 89(5):926-941. DOI: 10.1002/ana.26059.
- [129] CARLSON T R, YAN Y B, WU X Q, et al. Endothelial expression of constitutively active Notch4 elicits reversible arteriovenous malformations in adult mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(28):9884-9889. DOI: 10.1073/pnas.0504391102.
- [130] SATOMI J, MOUNT R J, TOPORSIAN M, et al. Cerebral vascular abnormalities in a murine model of hereditary hemorrhagic telangiectasia[J]. *Stroke*, 2003, 34(3): 783-789. DOI: 10.1161/01.STR.0000056170.47815.37.
- [131] YAO Y C, YAO J Y, RADPARVAR M, et al. Reducing Jagged 1 and 2 levels prevents cerebral arteriovenous malformations in matrix Gla protein deficiency[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(47):19071-19076. DOI: 10.1073/pnas.1310905110.
- [132] NIELSEN C M, CUERVO H, DING V W, et al. Deletion of Rbpj from postnatal endothelium leads to abnormal arteriovenous shunting in mice[J]. *Development*, 2014, 141(19):3782-3792. DOI: 10.1242/dev.108951.
- [133] SU H, KIM H, PAWLIKOWSKA L, et al. Reduced expression of integrin alphavbeta8 is associated with brain arteriovenous malformation pathogenesis[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(2):1018-1027. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090453.
- [134] MOUCHTOURIS N, CHALOUHI N, CHITALE A, et al. Management of cerebral cavernous malformations: from diagnosis to treatment[J]. *Sci World J*, 2015, 2015:808314. DOI: 10.1155/2015/808314.
- [135] NIKOUBASHMAN O, DI ROCCO F, DAVAGNANAM I, et al. Prospective hemorrhage rates of cerebral cavernous malformations in children and adolescents based on MRI appearance[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2015, 36(11): 2177-2183. DOI: 10.3174/ajnr.A4427.
- [136] HOFFMAN J E, WITTENBERG B, MOREL B, et al. Tailored treatment options for cerebral cavernous malformations[J]. *J Pers Med*, 2022, 12(5):831. DOI: 10.3390/jpm12050831.
- [137] WANG Y D, NAKAYAMA M, PITULESCU M E, et al. Ephrin-B2 controls VEGF-induced angiogenesis and lymphangiogenesis [J]. *Nature*, 2010, 465(7297): 483-486. DOI: 10.1038/nature09002.
- [138] BOULDAY G, RUDINI N, MADDALUNO L, et al. Developmental timing of CCM2 loss influences cerebral cavernous malformations in mice[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(9): 1835-1847. DOI: 10.1084/jem.20110571.
- [139] BOULDAY G, BLÉCON A, PETIT N, et al. Tissue-specific conditional CCM2 knockout mice establish the essential role of endothelial CCM2 in angiogenesis: implications for human cerebral cavernous malformations[J]. *Dis Model Mech*, 2009, 2(3-4):168-177. DOI: 10.1242/dmm.001263.
- [140] MCDONALD D A, SHENKAR R, SHI C B, et al. A novel mouse model of cerebral cavernous malformations based on the two-hit mutation hypothesis recapitulates the human disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(2):211-222. DOI: 10.1093/hmg/ddq433.
- [141] JEANNE M, LABELLE-DUMAIS C, JORGENSEN J, et al. COL4A2 mutations impair COL4A1 and COL4A2 secretion and cause hemorrhagic stroke[J]. *Am J Hum Genet*, 2012, 90(1):91-101. DOI: 10.1016/j.ajhg.2011.11.022.
- [142] WENG Y C, SONNI A, LABELLE-DUMAIS C, et al. COL4A1 mutations in patients with sporadic late-onset intracerebral hemorrhage[J]. *Ann Neurol*, 2012, 71(4):470-477. DOI: 10.1002/ana.22682.
- [143] SHAH S, ELLARD S, KNEEN R, et al. Childhood presentation of COL4A1 mutations[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2012, 54(6): 569-574. DOI: 10.1111/j.1469-8749.2011.04198.x.
- [144] GOULD D B, PHALAN F C, BREEDVELD G J, et al. Mutations in Col4a1 cause perinatal cerebral hemorrhage and porencephaly[J]. *Science*, 2005, 308(5725): 1167-1171. DOI: 10.1126/science.1109418.
- [145] BEDERSON J B, PITTS L H, TSUJI M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. *Stroke*, 1986, 17(3):472-476. DOI: 10.1161/01.str.17.3.472.
- [146] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
- [147] FEENEY D M, BOYESON M G, LINN R T, et al. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions

- in the rat[J]. *Brain Res*, 1981, 211(1):67-77. DOI: 10.1016/0006-8993(81)90067-6.
- [148] GARCIA J H, WAGNER S, LIU K F, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation[J]. *Stroke*, 1995, 26(4):627-634, 635. DOI: 10.1161/01.str.26.4.627.
- [149] CHEN J, SANBERG P R, LI Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats[J]. *Stroke*, 2001, 32(11): 2682-2688. DOI: 10.1161/hs1101.098367.
- [150] HARTMAN R, LEKIC T, ROJAS H, et al. Assessing functional outcomes following intracerebral hemorrhage in rats [J]. *Brain Res*, 2009, 1280: 148-157. DOI: 10.1016/j. brainres. 2009. 05.038.
- [151] TOMITA H, ITO U, OHNO K, et al. Chronological changes in brain edema induced by experimental intracerebral hematoma in cats[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 1994, 60: 558-560. DOI: 10.1007/978-3-7091-9334-1_154.
- [152] LEE E J, HUNG Y C. Marked anemic hypoxia deteriorates cerebral hemodynamics and brain metabolism during massive intracerebral hemorrhage[J]. *J Neurol Sci*, 2001, 190 (1-2):3-10. DOI: 10.1016/s0022-510x(01)00567-6.
- [153] MUN-BRYCE S, WILKERSON A C, PAPUASHVILI N, et al. Recurring episodes of spreading depression are spontaneously elicited by an intracerebral hemorrhage in the swine[J]. *Brain Res*, 2001, 888(2): 248-255. DOI: 10.1016/s0006-8993(00)03068-7.
- [154] BULLOCK R, MENDELOW A D, TEASDALE G M, et al. Intracranial haemorrhage induced at arterial pressure in the rat. Part 1: description of technique, ICP changes and neuropathological findings[J]. *Neurol Res*, 1984, 6(4):184-188. DOI: 10.1080/01616412.1984.11739687.
- [155] 林潇, 倪浩棋, 黄李洁, 等. 常用脑出血动物模型的研究进展[J]. *温州医科大学学报*, 2017, 47(9):698-703. DOI: 10.3969/j. issn.2095-9400.2017.09.017.
- LIN X, NI H Q, HUANG L J, et al. Research progress of common animal models of cerebral hemorrhage[J]. *J Wenzhou Med Univ*, 2017, 47(9): 698-703. DOI: 10.3969/j. issn.2095-9400.2017.09.017.
- [156] 胡凌峰, 柳洁, 范胜涛. NHP实验动物在神经科学领域的应用及挑战[J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(1):151-157. DOI:10.3969/j. issn.1671-7856. 2024. 01. 020.
- HU L F, LIU J, FAN S T. Application and challenges of NHP laboratory animals in neuroscience[J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(1):151-157. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2024.01.020.
- [157] 宋洋, 付金凤. 浅谈实验用猫的饲养与管理方法[J]. *黑龙江医药*, 2011, 24(6):928-930.
- SONG Y, FU J F. A brief discussion on the feeding and management methods of experimental cats[J]. *Heilongjiang Med J*, 2011, 24(6):928-930.
- [158] ZHAO H, LIU E Q, ZHANG Y Q. Dog models of human atherosclerotic cardiovascular diseases[J]. *Mamm Genome*, 2023, 34(2):262-269. DOI: 10.1007/s00335-022-09965-w.
- [159] TAHA A, BOBI J, DAMMERS R, et al. Comparison of large animal models for acute ischemic stroke: which model to use? [J]. *Stroke*, 2022, 53(4): 1411-1422. DOI: 10.1161/STROKEAHA.121.036050.
- [160] TAYLOR K, ALVAREZ L R. An estimate of the number of animals used for scientific purposes worldwide in 2015[J]. *Altern Lab Anim*, 2019, 47(5-6): 196-213. DOI: 10.1177/0261192919899853.
- [161] ANDRADE A F, SOARES M S, PATRIOTA G C, et al. Experimental model of intracranial hypertension with continuous multiparametric monitoring in swine[J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2013, 71(10): 802-806. DOI: 10.1590/0004-282X20130126.
- [162] 刘智, 袁楠, 兰天野, 等. 脑出血实验动物模型制备及在中医药研究中的应用[J]. *毒理学杂志*, 2019, 5 (4):323-326.
- LIU Z, YUAN N, LAN T Y, et al. Preparation of experimental animal models of cerebral hemorrhage and their application in traditional Chinese medicine research[J]. *J Toxicol*, 2019, 5(4):323-326.
- [163] KRAFFT P R, ROLLAND W B, DURIS K, et al. Modeling intracerebral hemorrhage in mice: injection of autologous blood or bacterial collagenase[J]. *J Vis Exp*, 2012(67): e4289. DOI: 10.3791/4289.
- [164] LOVE C J, KIRSCHENBAUM D, SELIM M, et al. Observation of collagen-containing lesions after hematoma resolution in intracerebral hemorrhage [J]. *Stroke*, 2021, 52(5): 1856-1860. DOI: 10.1161/STROKEAHA.120.030240.
- [165] XUE M Z, DEL BIGIO M R. Comparison of brain cell death and inflammatory reaction in three models of intracerebral hemorrhage in adult rats[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2003, 12(3):152-159. DOI: 10.1016/S1052-3057(03)00036-3.
- [166] LASO-GARCIA F, CASADO-FERNANDEZ L, PINIELLA D, et al. Circulating extracellular vesicles promote recovery in a preclinical model of intracerebral hemorrhage[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2023, 32: 247-262. DOI: 10.1016/j. omtn. 2023. 03.006.
- [167] KRAFFT P R, ROLLAND W B, DURIS K, et al. Modeling intracerebral hemorrhage in mice: injection of autologous blood or bacterial collagenase [J]. *J Vis Exp*, 2012, (67): e4289. DOI:10.3791/4289.
- [168] 段晓春, 王中, 陈罡. 脑出血动物模型研究进展[J]. *中华神经创伤外科电子杂志*, 2015(2):36-39. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-9141.2015.02.011.
- DUAN X C, WANG Z, CHEN G. The research progress of animal model of cerebral hemorrhage[J]. *Chin J Neurotraumatic Surg Electron Ed*, 2015(2):36-39. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-9141.2015.02.011.
- [169] JING C H, BIAN L H, WANG M, et al. Enhancement of hematoma clearance with CD47 blocking antibody in experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2019, 50(6): 1539-1547. DOI: 10.1161/STROKEAHA.118.024578.
- [170] WAGNER K R, XI G, HUA Y, et al. Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: rapid edema development in perihematomal white matter[J]. *Stroke*, 1996, 27(3):490-497.

- DOI: 10.1161/01.str.27.3.490.
- [171] KINGMAN T A, MENDELOW A D, GRAHAM D I, et al. Experimental intracerebral mass: description of model, intracranial pressure changes and neuropathology[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1988, 47(2): 128-137. DOI: 10.1097/00005072-198803000-00005.
- [172] LOPEZ VALDES E, HERNANDEZ LAIN A, CALANDRE L, et al. Time window for clinical effectiveness of mass evacuation in a rat balloon model mimicking an intraparenchymatous hematoma[J]. *J Neurol Sci*, 2000, 174(1): 40-46. DOI: 10.1016/s0022-510x(99)00288-9.
- [173] KINGMAN T A, MENDELOW A D, GRAHAM D I, et al. Experimental intracerebral mass: time-related effects on local cerebral blood flow[J]. *J Neurosurg*, 1987, 67(5): 732-738. DOI: 10.3171/jns.1987.67.5.0732.
- [174] NEHLS D G, MENDELOW D A, GRAHAM D I, et al. Experimental intracerebral hemorrhage: early removal of a spontaneous mass lesion improves late outcome[J]. *Neurosurgery*, 1990, 27(5): 674-682; discussion 682.
- [175] ZHENG Y, HU Q, MANAENKO A, et al. 17 β -Estradiol attenuates hematoma expansion through estrogen receptor α /silent information regulator 1/nuclear factor-kappa b pathway in hyperglycemic intracerebral hemorrhage mice[J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 485-491. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.006372.
- [176] European Medicines Agency. ICH guideline M3 (R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals [EB/OL]. [2023-12-22]. <http://zy.yaozh.com/sda/WC500002720.pdf>.
- [177] Food and Drug Administration. Guidance, compliance & regulatory information (Biologics) [EB/OL]. [2023-12-22]. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/guidance-compliance-regulatory-information-biologics>.
- [178] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 30-35.
CHEN Q. Research methods in pharmacology of Chinese Materia Medica[M]. 2nd. Beijing: People's Health Publishing House, 2006: 30-35.
- [179] GUPTA D, GUPTA S V, YANG N N. Understanding the routes of administration[M]// PATHAK Y V, ARAÚJO DOS SANTOS M, ZEA L. Handbook of space pharmaceuticals. Cham: Springer International Publishing, 2022: 23-47.
- [180] 张谦, 冀瑞俊, 赵萌, 等. 中国脑血管病临床管理指南(第2版)(节选): 第5章脑出血临床管理[J]. *中国卒中杂志*, 2023, 18(9): 1014-1023. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5765.2023.09.007.
ZHANG Q, JI R J, ZHAO M, et al. Chinese stroke association guidelines for clinical management of cerebrovascular diseases (second edition) (excerpt) — chapter five clinical management of intracerebral hemorrhage[J]. *Chin J Stroke*, 2023, 18(9): 1014-1023. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5765.2023.09.007.
- [181] 国家卫生健康委脑卒中筛查与防治工程委员会. 脑卒中筛查与防治技术规范[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2013, 5(9): 44-50. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7372.2013.09.017.
Stroke Screening and Prevention Project Committee, National Health and Family Planning Commission, P. R. China. Technical specification for screening and prevention of stroke[J]. *Chin J Front Med Sci Electron Version*, 2013, 5(9): 44-50. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7372.2013.09.017
- [182] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 200-202.
XU S Y. Experimental methodology of pharmacology[M]. 3rd. Beijing: People's Health Publishing House, 2002: 200-202.
- [183] 国家市场监督管理总局. 药品注册管理办法[A/OL]. (2020-01-22)[2024-01-11]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxgk/fdzdgknr/fgs/art/2023/art_3275cb2a929d4c34ac8c0421b2a9c257.html. State Administration for Market Regulation. Provisions for drug registration[A/OL]. (2020-01-22)[2024-01-11]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxgk/fdzdgknr/fgs/art/2023/art_3275cb2a929d4c34ac8c0421b2a9c257.html.
- [184] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验动物福利伦理审查指南: GB/T 35892—2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, China National Standardization Commission. Laboratory animal—Guideline for ethical review of animal welfare: GB/T 35892-2018 [S]. Beijing: China Standards Press, 2018.
- [185] 陈佳琦, 吕龙宝, 张飞燕, 等. 浅谈微量采血法在药物非临床研究中的应用及3R原则的贯彻[J]. *实验动物与比较医学*, 2022, 42(4): 306-312. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2021.163.
CHEN J Q, LÜ L B, ZHANG F Y, et al. Application of blood microsampling and its implementation of the 3Rs in non-clinical studies of drugs[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2022, 42(4): 306-312. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2021.163.

(收稿日期: 2024-01-02 修回日期: 2024-02-15)

(本文编辑: 张俊彦, 富群华)

[引用本文]

中国研究型医院学会医学动物实验专家委员会. 自发性脑出血动物模型选择及临床前药物试验指南(2024年版)[J]. *实验动物与比较医学*, 2024, 44(1): 3-30. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.001.

Committee of Experts on Medical Animal Experiments, Chinese Research Hospital Association. Guidelines for the selection of animal models and preclinical drug trials for spontaneous intracerebral hemorrhage (2024 edition)[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2024, 44(1): 3-30. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.001.

《自发性脑出血动物模型选择及临床前药物试验指南（2024年版）》 编写专家组名单

组织专家：

李英俊（北京通和立泰生物科技有限公司）
陈琳（北京市神经修复产业创新研究院）
张化彪（郑州大学第一附属医院放射介入科）
何纲（南方科技大学第一附属医院/深圳市人民医院中医科）

执笔专家：

张化彪（郑州大学第一附属医院放射介入科）
何纲（南方科技大学第一附属医院/深圳市人民医院中医科）
徐洪亮（郑州大学第一附属医院神经内科）
张晓燕（河南省郑州市管城区人民医院神经内科）
张本骏（河南省郑州市第七人民医院神经内科）
包义君（中国医科大学附属第四医院神经外科）
李新军（成都医学院第一附属医院神经外科）
段晓春（扬州大学附属医院神经外科）
韩新巍（郑州大学第一附属医院放射介入科）
陈琳（北京市神经修复产业创新研究院）
李英俊（北京通和立泰生物科技有限公司）
李津南（中国科学院昆明动物研究所）
邓毅恒（长安医院重症医学科）
李娜（中国科学院上海药物研究所实验动物室）
王小洪（扬州大学医学院人体解剖教研室）
罕园园（中国医学科学院医学生物学研究所）
陈瑛（国科赛赋河北医药技术有限公司）
张海飞（昭衍<苏州>新药研究中心有限公司）
卓振建（北京大学深圳研究生院实验动物中心）

共识专家：

白玉（华北制药集团新药研究开发有限责任公司）
卜碧涛（华中科技大学同济医学院附属同济医院神经内科）
陈亮（复旦大学附属华山医院神经外科）
陈红伟（航空总医院脑脊液病神经外科）
陈鑫璞（郑州大学第一附属医院神经外科）
陈文武（河南大学第一附属医院神经内科）
楚长彪（首都医科大学宣武医院神经内科）
戴宜武（解放军总医院神经外科学部暨第七医学中心神经外科）
丁新生（南京医科大学第一附属医院神经内科）
董延生（国科赛赋河北医药技术有限公司）
杜鹏（复旦大学附属中山医院神经科）
冯华（重庆陆军军医大学第一附属医院神经外科）
付伟伦（首都医科大学附属北京天坛医院介入神经病学科）
郭社卫（郑州大学第一附属医院神经外科）
郭守刚（山东第一医科大学附属省立医院神经内科）
郭俭（上海永慈康复医院神经康复科）
郝强（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
何超（温州医科大学附属诸暨医院）
黄红云（北京市虹天济神经科学研究院）
黄小平（广东省深圳市中医院神经外科）
贾延劫（郑州大学第一附属医院神经内科）
姜鹏（首都医科大学附属北京天坛医院神经介入科）
姜涛（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
姜除寒（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
金杰（河南中医药大学第一附属医院脑病中心）
金恒伟（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
李红敏（郑州大学医学科学院）
李利中（河南省鹤壁市人民医院卒中中心）
李文强（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
李晓波（扬州大学附属苏北人民医院神经内科）
刘凯（郑州大学第五附属医院介入科）
刘恋（首都医科大学附属北京天坛医院神经介入科）

刘鹏（首都医科大学附属北京天坛医院神经介入科）
刘宇（郑州大学第一附属医院神经内科）
刘爱华（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
刘庆新（滨州医学院附属医院神经内科）
刘新科（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
吕鸿利（河南省孟州市第二人民医院神经内科）
罗杰坤（中南大学湘雅医院中西医结合研究所）
罗西凯（河南省鹤壁市人民医院卒中中心）
莫大鹏（首都医科大学附属北京天坛医院神经介入科）
穆士卿（首都医科大学附属北京天坛医院神经介入科）
聂亚雄（南华大学附属第一医院神经内科）
曲鑫（首都医科大学宣武医院神经外科）
石广志（首都医科大学附属北京天坛医院神经重症）
邵彤（济宁医学院附属医院神经外科）
宋景贵（新乡医学院第二附属医院神经内科）
宋剑平（复旦大学附属华山医院神经外科）
苏辉（解放军总医院第一医学中心神经外科医学部）
孙保亮（山东第一医科大学脑科学与类脑研究院）
孙立倩（首都医科大学附属北京天坛医院神经介入科）
孙倩茹（海南省三亚哈尔滨医科大学鸿森医院神经内科）
孙石磊（郑州大学第一附属医院神经内科）
唐涛（中南大学湘雅医院中西医结合研究所）
王宁（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
王菁婧（郑州大学第一附属医院神经内科）
王新志（河南中医药大学第一附属医院脑病中心）
伍国峰（贵阳医科大学附属医院神经内科）
谢嵘（复旦大学附属华山医院神经外科）
薛孟周（郑州大学第二附属医院脑血管病科）
颜津津（广州医科大学附属惠州医院神经内科）
阎龙（吉林大学第二医院神经外科）
杨堃（海南医学院第一附属医院神经外科）
杨进华（广州中医药大学附属高州中医院神经外科）
杨清武（第三军医大学新桥医院神经内科）
杨伟民（郑州大学第一附属医院神经内科）
袁晓娜（郑州大学第一附属医院急诊医学科）
尤为（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
张磊（首都医科大学宣武医院神经内科）
张璐（郑州大学第一附属医院神经内科）
张旻（华中科技大学同济医学院附属同济医院神经内科）
张祥（复旦大学附属华山医院神经外科）
张卫民（湖南省脑科医院神经外科）
张晓军（内蒙古自治区人民医院神经外科）
张义森（首都医科大学附属北京天坛医院神经外科）
张艳华（河南省鹤壁市煤炭总医院神经内科）
赵敏（河南中医药大学第一附属医院脑病中心）
钟平（复旦大学附属华山医院虹桥院区神经外科）
钟书（中山大学附属第一医院广西医院神经外科）
王福斌（河南省清丰县人民医院神经内科）
武衡（南华大学附属第一医院神经内科）
吴洪亮（山东省烟台市毓璜顶医院神经外科）
朱红灿（郑州大学第一附属医院神经内科）

审稿专家：

陈民利（浙江中医药大学比较医学研究所）
崔永春（中国医学科学院阜外医院动物实验中心）
王守立（苏州大学病理系/江苏博赛孚医疗科技有限公司）
朱顺星（南通大学实验动物中心）
吴宝金（中国科学院分子细胞科学卓越创新中心）
王健（上海市生物医药技术研究院）