

买志妍,江丽青,朱翰朝,等. BAPN 诱导小鼠胸主动脉夹层合并急性肺损伤模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(1): 9-16.

MAI Z Y, JIANG L Q, ZHU H Z, et al. Establishment of a mouse model of thoracic aortic dissection with acute lung injury by BAPN [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(1): 9-16.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.01.002

BAPN 诱导小鼠胸主动脉夹层合并急性肺损伤模型的建立

买志妍^{1,3}, 江丽青², 朱翰朝², 张溧昀², 王云^{3*}, 段维勋^{2*}

(1. 宁夏医科大学临床医学院, 银川 750004; 2. 空军军医大学西京医院心血管外科, 西安 710032; 3. 宁夏医科大学总医院心脏大血管外科, 银川 750004)

【摘要】 目的 采用 β -氨基丙腈 (β -aminopropionitrile monofumarate, BAPN) 1 g/(kg·d) 饮水给药的方式, 构建一种可行性高、稳定的胸主动脉夹层 (thoracic aortic dissection, TAD) 合并急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 的小鼠模型, 为研究 TAD 合并 ALI 提供合理的动物模型。方法 选取 45 只 SPF 级 3 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠, 随机分为 CON 组 15 只 (正常饮食水) 和 BAPN 组 30 只 (与无菌水配置成 1 g/(kg·d) 的溶液饮水给药), 持续 4 周。实验期间, 观察两组小鼠一般情况、成模率, 通过测量小鼠胸主动脉最大直径和主动脉组织苏木素-伊红 (HE) 染色, 验证小鼠 TAD 模型并将 BAPN 组分为 TAD 组和 Non-TAD 组。进一步检测 CON 组、Non-TAD 组和 TAD 组小鼠肺组织 HE 病理染色、湿干重比 (dry/wet weight ratio, W/D) 及肺泡灌洗液 (broncho alveolar lavage fluid, BALF) 中总蛋白水平和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 表达情况验证小鼠 TAD 合并 ALI 模型。结果 BAPN 干预明显延缓小鼠体重和饮水量的增加。与 CON 组和 Non-TAD 组相比, TAD 组小鼠胸主动脉最大直径明显增粗 ($P < 0.05$); 主动脉 HE 染色显示主动脉中层明显增厚, 主动脉壁结构破坏、紊乱; 肺组织 HE 染色显示肺间质明显水肿及炎性渗出, 伴肺泡腔扩大, 肺泡壁上皮脱落及透明膜形成, 肺损伤病理评分显著增加 ($P < 0.05$); 肺组织 W/D、BALF 中总蛋白水平及 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达也明显升高 ($P < 0.05$), 而另外两组上述指标无明显差异。结论 通过 BAPN 饮水给药的方式, 可成功建立胸主动脉夹层合并急性肺损伤的小鼠模型。

【关键词】 β -氨基丙腈; 胸主动脉夹层; 急性肺损伤; 小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 01-0009-08

Establishment of a mouse model of thoracic aortic dissection with acute lung injury by BAPN

MAI Zhiyan^{1,3}, JIANG Liqing², ZHU Hanzhao², ZHANG Liyun², WANG Yun^{3*}, DUAN Weixun^{2*}

(1. Clinical College of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Department of Cardiovascular Surgery, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Department of Cardiovascular Surgery, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

Corresponding author: WANG Yun. E-mail: wywarrenw@hotmail.com; DUAN Weixun. E-mail: duanweixun@126.com

【基金项目】 国家自然科学基金 (82241204, 82070503, 82270420), 宁夏回族自治区科技厅重点研发计划项目 (2021BEG02035), 陕西省重点研发计划项目 (2022ZDLSF02-01), 空军军医大学人才扶持“翱翔计划”项目 (2020axjhdwx)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82241204, 82070503, 82270420), Key Projects of Ningxia Hui Autonomous Region Key Research and Development Plan (2021BEG02035), Key Projects of Shaanxi Province Key Research and Development Plan (2022ZDLSF02-01), Talent Support “Soaring Plan” of Air Force Medical University (2020axjhdwx)。

【作者简介】 买志妍, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 主动脉夹层诊疗及发病机制的研究。Email: 20210110412@nxmu.edu.cn

【通信作者】 王云, 男, 硕士生导师, 教授, 研究方向: 心血管疾病的临床和基础研究。Email: wywarrenw@hotmail.com;

段维勋, 男, 博士生导师, 副教授, 研究方向: 主动脉疾病的临床和基础研究。Email: duanweixun@126.com。

* 共同通信作者

【Abstract】 Objective A feasible and stable mouse model of thoracic aortic dissection (TAD) combined with acute lung injury (ALI) was established using β -aminopropionitrile monofumarate (BAPN) 1 g/(kg·d) administered in drinking water. The mouse model of TAD combined with acute lung injury (ALI) was established to provide a rational animal model to study TAD combined with ALI. **Methods** Forty-five SPF-grade 3-week-old C57BL/6J male mice were selected and randomly allocated to a CON group (normal dietary water; 15 mice) or BAPN group (administration in sterile water at 1 g/(kg·d); 30 mice) for 4 weeks. During the experimental period, the general condition and modeling rate of mice were observed. TAD model mice were validated, and the BAPN group was divided into TAD and non-TAD groups by measuring the maximum diameter of the thoracic aorta and HE staining of aortic tissues. HE pathological staining, the wet/dry weight (W/D) ratio, total protein level in bronchioalveolar lavage fluid (BALF), and interleukin(IL)-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in BALF were used to validate the TAD combined ALI model in mice. **Results** BAPN treatment significantly delayed the increase in body mass and water intake of mice. Compared with CON and non-TAD groups, the maximum diameter of the thoracic aorta of mice in the TAD group was significantly thickened ($P < 0.05$). HE staining of the aorta showed significant thickening of the middle aortic layer, and the structure of the aortic wall was damaged and disordered. HE staining of lung tissues showed significant interstitial edema and inflammatory exudation accompanied by enlargement of alveolar lumen, alveolar wall epithelial exfoliation and hyaline membrane formation, and a significant increase in the pathological scores of lung injury ($P < 0.05$). Total protein levels and expression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in lung tissue, W/D ratio, and BALF were also significantly increased ($P < 0.05$), whereas no significant difference was observed in the above indexes between the other two groups. **Conclusions** A mouse model of thoracic aortic dissection combined with acute lung injury can be established by BAPN administration in drinking water.

【Keywords】 β -aminopropionitrile monofumarate; thoracic aortic dissection; acute lung injury; mice

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

胸主动脉夹层(thoracic aortic dissection, TAD)是心脏大血管外科最凶险的主动脉疾病之一^[1]。TAD 是一种由于各种原因致血管壁内膜破裂,腔内的血液顺着内膜破裂口进入中膜形成夹层血肿,随着血液不断流入中膜并沿主动脉长轴扩展,使主动脉内膜和中膜分开形成真、假两腔的主动脉疾病^[2-4],其发病率和死亡率在主动脉疾病中都位居前列。据最近研究表明,每 100 万人中约有 5 ~ 10 例发生 TAD 且发病率呈逐年上升趋势^[5-7]。因其特有的发病特点,TAD 形成后会伴随一种或多种严重的并发症。据有关文献报道约 34.9% ~ 53.8% 的 TAD 患者合并急性肺损伤(acute lung injury, ALI)^[8],导致患者围术期的生存质量明显降低。

近几年,学者基于 TAD 动物模型^[9-11],在 TAD 相关发病机制研究方面取得了一些突破性的进展^[12],但有关 TAD 合并 ALI 发病机制或有效药物作用靶点等研究“望而却步”。目前已有多种较为成熟的 TAD 造模方式,最常用的造模方法之一是 β -氨基丙腈(β -aminopropionitrile monofumarate, BAPN)药物诱导法^[13-14]。然而,关于构建一种合理的 TAD 合并 ALI 的动物模型仍是该领域研究的“软肋”。因此,本研究的目的是采用 BAPN 诱导小鼠形成 TAD 的造模方式,观察小鼠 ALI 的相关指标验

证 TAD 合并 ALI 动物模型是否构建成功,并以期为研究 TAD 合并 ALI 发病机制等提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

45 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,3 周龄,体重约 10 g,购自空军军医大学动物实验中心【SCXK(陕)2019-001】。所有实验动物均在空军军医大学实验动物中心饲养【SYXK(陕)2019-001】,饲料由宁夏医科大学实验动物中心提供的标准普通饲料(20-SM230704019)。饲喂环境:室内温度为 20 ~ 24 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 45% ~ 55%,光照/黑暗周期设定为 12 h,均予以高压蒸汽对小鼠饲料和垫料进行灭菌处理。严格遵循“减少、替代、优化”的“3R”原则对小鼠进行饲养。本实验已通过空军军医大学实验动物福利伦理委员会审查批准(20220440)。

1.1.2 主要试剂与仪器

β -氨基丙腈(Sigma Aldrich 公司,货号:ly1002184);BCA 蛋白定量试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司,批号:VK314219);IL-6(E-EL-M2453c)、IL-1 β (E-EL-M0037c)、TNF- α (E-EL-M3063)检测试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技

股份有限公司;苏木素-伊红试剂盒购自北京索来宝有限公司;4%多聚甲醛、无水乙醇购自天津天大化工厂;二甲苯购自广东西陇科学公司。

Vevo3100 小动物超声仪(Visual-Sonics 公司,加拿大);激光共聚焦显微镜(Olympus 公司,日本);电子分析天平(瑞士 Mettler 公司);脱色摇床为(Kylin-Bell 有限公司产品);离心机(无锡瑞江分析仪器有限公司);高温高压灭菌锅(日本 Sanyo 公司);恒温水浴锅(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司);普通冰箱(海尔集团);组织自动脱水机、石蜡包埋机、石蜡切片机均购自武汉俊杰电子公司;电热恒温鼓风干燥箱购自天津市莱玻特瑞仪器设备公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型构建

使用随机数据表法将 45 只 3 周龄^[15-16] 雄性 C57BL/6J 小鼠分成两组。BAPN 组 30 只:喂食正常饲料,BAPN 粉末溶于无菌双蒸水配制成浓度为 1 g/(kg·d) 溶液,并使用棕色饮水瓶(防止 BAPN 见光分解)饮水给药 4 周;CON 组 15 只:给予正常饮食水。使用小动物超声仪,分别在小鼠饮水第 2、3、4 周测量胸主动脉最大直径(TAD 诊断标准为:局部主动脉扩张到正常直径的 50%以上)^[17-18],并结合主动脉组织 HE 染色结果,确定小鼠 TAD 是否形成^[19],再将 BAPN 组分为 Non-TAD 组和 TAD 组,进一步检测 3 组小鼠肺组织 HE 病理染色、肺组织 W/D 及 BALF 中总蛋白和炎症指标表达水平验证小鼠 TAD 合并 ALI 模型^[20]。

1.2.2 小鼠一般情况及肺组织、主动脉大体观察

造模期间,观察小鼠活动状况,定期记录小鼠饮水量和体重,直至小鼠因夹层破裂死亡或实验结束,期间若发现小鼠死亡,立即解剖,探查死亡原因。实验结束后,将实验小鼠麻醉并固定于小动物手术台,充分暴露胸腔,观察小鼠左右肺组织颜色、形态、表面有无坏死及渗出等,并留取两侧肺备用;分离主动脉周围组织,暴露主动脉,用 PBS 充分冲洗 2~3 次,观察主动脉是否有局部膨大及血管壁破裂,留取主动脉组织备用,并统计 TAD 破裂及成瘤率。

1.2.3 小鼠主动脉苏木素-伊红(HE)染色病理学观察

用 4%多聚甲醛固定好的主动脉组织依次置于浓度由低到高的乙醇溶液中脱水,二甲苯透明及石蜡包埋,切成 5 μm 厚度切片。再烤片、脱蜡、脱苯,进行苏木素染色细胞核 5 min,返蓝,伊红染色细胞

质 5 min,冲洗、乙醇脱水、二甲苯 2 min 透明后,中性树脂封片。制备好的切片置于显微镜下观察。

1.2.4 小鼠肺组织 HE 染色病理学观察

取小鼠左肺组织,HE 染色操作步骤同“1.2.3”。将制备好的肺组织切片置于显微镜下观察并采集图像。肺损伤程度评估采用 2011 年于美国胸科学会研讨会^[20]提出的肺损伤评分表,见表 1。

表 1 肺损伤评分表

Table 1 Lung injury scoring scale

指标 Parameter	0	1	2
A:肺泡中的中性粒细胞数 A:Neutrophils in the alveolar space	0	1 ~ 5	> 5
B:肺间质的中性粒细胞数 B:Neutrophils in the interstitial space	0	1 ~ 5	> 5
C:透明膜数 C:Hyaline membranes	0	1	> 1
D:肺泡中的蛋白碎片 D:Proteinaceous debris filling the airspaces	0	1	> 1
E:肺泡间隔厚度 E:Alveolar septal thickening	< 2 倍 < 2 times	2 ~ 4 倍 2 ~ 4 times	> 4 倍 > 4 times

注:肺损伤评分 = [(20 × A) + (14 × B) + (7 × C) + (7 × D) + (2 × E)] / (视野数目 × 100)。

Note. Lung injury score = [(20 × A) + (14 × B) + (7 × C) + (7 × D) + (2 × E)] / (number of fields × 100).

1.2.5 小鼠肺泡灌洗液(broncho alveolar lavage fluid, BALF)中总蛋白水平检测

将小鼠适度麻醉并固定于手术台上,切开小鼠颈部皮肤,充分暴露并分离左右主支气管,缝合线结扎右侧主支气管。使用静脉留置针向肺内注入 1 mL 预冷无菌 PBS 液,反复灌洗 3 次,可回收 75% ~ 80% 的灌洗液。收集到的 BALF 离心后吸取上清液,按照 BCA 试剂盒操作说明测定上清液中总蛋白浓度。

1.2.6 酶联免疫吸附剂(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测小鼠 BALF 中 IL-6、IL-1β、TNF-α 表达水平

收集小鼠肺泡灌洗液中上清液的方法同“1.2.5”。按照 ELISA 试剂盒的实验说明书逐步操作,在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值,并分别计算 BALF 中 IL-1β、IL-6、TNF-α 浓度。

1.2.7 小鼠肺组织湿干重比(dry/wet weight ratio, W/D)测定

取出右肺并清洁表面水渍后,置于电子分析天平上称重即肺湿重(wet weight, W)。再将肺组织放于铝箔纸上,于 60 °C 恒温干燥箱中烘干 48 h 至恒

重,取出肺组织再次称重即肺干重(dry weight, D)。计算湿/干重比值(W/D)评估小鼠肺水肿程度。

1.3 统计学分析

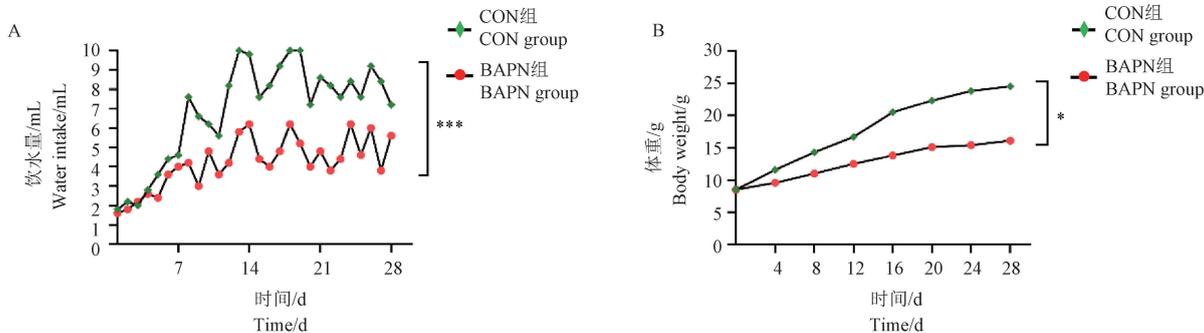
所有实验数据采用 SPSS 23.0 统计学软件进行分析,计量资料先进行正态性及方差齐性检验,以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示符合正态性分布,两组间比较采用独立样本 *T* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;若不符合正态性分布,采用秩和检验分析。分类变量采用 χ^2 检验分析。用 GraphPad

Prism 9.5.0 软件作图并分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般情况

随着给药时间的增加,BAPN 组小鼠整体饮水量较 CON 组呈现减少的趋势(图 1A)。两组小鼠体重随日龄增加虽都有增长,但相较于 CON 组,BAPN 组整体体重的增长趋于缓慢(图 1B)。



注:A:小鼠每日饮水量;B:小鼠体重变化;与 CON 组相比,* $P < 0.05$,*** $P < 0.001$ 。(下同)

图 1 两组小鼠饮水量和体重的比较

Note. A. Daily water intake of mice. B. Changes in body weight of mice. Compared with CON group, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 1 Comparison of water intake and body weight of mice in two groups

2.2 小鼠胸主动脉夹层成瘤及破裂情况

至实验结束,CON 组小鼠无主动脉夹层形成或死亡。BAPN 组,5 只小鼠死亡,其存活小鼠有 17 只形成 TAD、8 只小鼠未形成,小鼠 TAD 形成率为 73%、破裂率为 17%。死亡小鼠当即予以解剖,观察到胸腔大量血凝块,主动脉壁存在破裂口,判定为夹层破裂致死(图 2)。

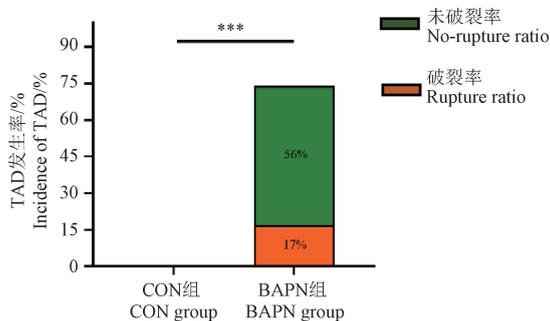


图 2 小鼠胸主动脉夹层破裂及成瘤率

Figure 2 Incidence of rupture and aneurysm formation of thoracic aortic dissection in mice

2.3 小动物超声仪测量小鼠主动脉直径结果

采用小动物超声仪分别于给药第 2、3、4 周测量 CON 组和 BAPN 组小鼠主动脉直径,根据胸主动脉

最大直径是否扩张及主动脉 HE 染色结果,将 BAPN 组分为 Non-TAD 组和 TAD 组。如图 3 所示,CON 组和 Non-TAD 组小鼠主动脉直径无明显差异,而与 TAD 组相比,形成夹层小鼠的主动脉直径明显扩张,差异具有显著性($P < 0.001$)。

2.4 各组小鼠主动脉病理变化

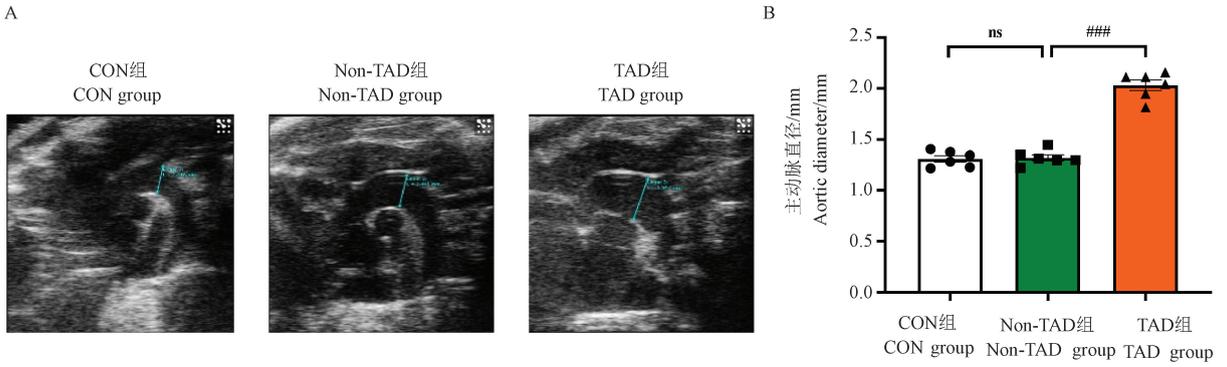
在光学显微镜下观察 3 组小鼠主动脉 HE 病理染色,发现 CON 组和 Non-TAD 组小鼠主动脉壁结构均完整,未见明显增厚及炎性细胞浸润。而 TAD 组小鼠主动脉中层可见明显增厚,并可见主动脉壁结构破坏、紊乱(图 4)。

2.5 各组小鼠 BALF 中总蛋白水平及肺组织 W/D 比较

分别测量各组小鼠肺组织 W/D、BALF 中总蛋白水平。如图 5 所示,CON 组和 Non-TAD 组无显著性差异;TAD 组小鼠肺组织水肿程度以及 BALF 中总蛋白水平明显高于另外两组($P < 0.05$)。

2.6 各组小鼠 BALF 中炎症指标表达水平的比较

TAD 组小鼠 BALF 中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量均明显高于 CON 组和 Non-TAD 组($P < 0.05$),而 CON 组和 Non-TAD 组炎症指标未见明显差异(图 6)。



注:A:各组小鼠主动脉血管超声代表图;B:各组小鼠主动脉最大直径统计图;与 Non-TAD 组相比,### $P < 0.001$ 。(下图同)

图 3 三组小鼠主动脉扩张情况比较

Note. A. Ultrasonic representation of aorta vessels of mice in each group. B. Statistical diagram of the maximum aortic diameter of mice in each group. Compared with non-TAD group, ### $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 3 Comparison of aortic dilation in three groups of mice

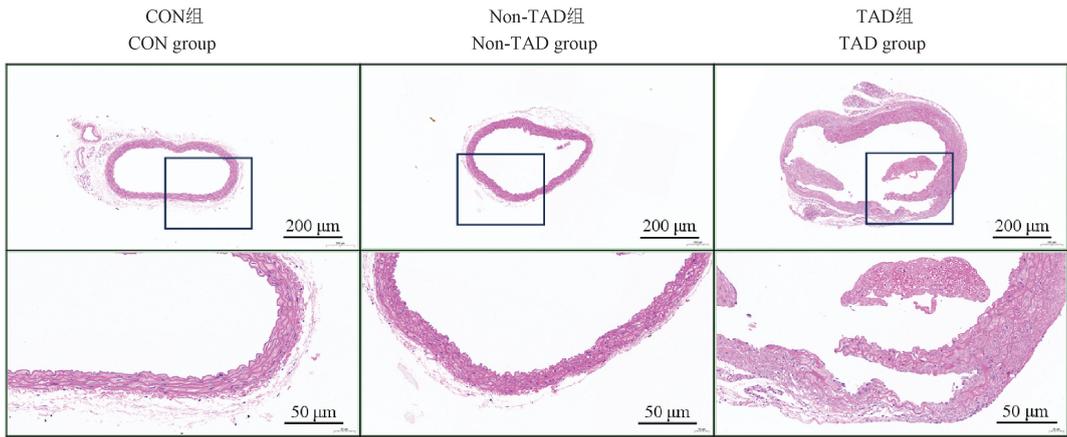
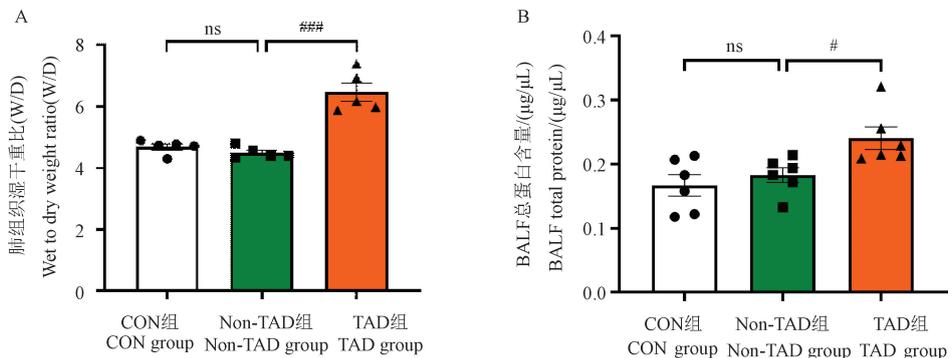


图 4 三组小鼠主动脉 HE 染色代表图

Figure 4 HE staining diagram of aortas of mice in three group



注:A:各组小鼠肺组织湿干重比统计图;B:各组小鼠 BALF 总蛋白含量统计图;与 Non-TAD 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 5 三组小鼠 BALF 中总蛋白水平及肺组织湿干重比的比较

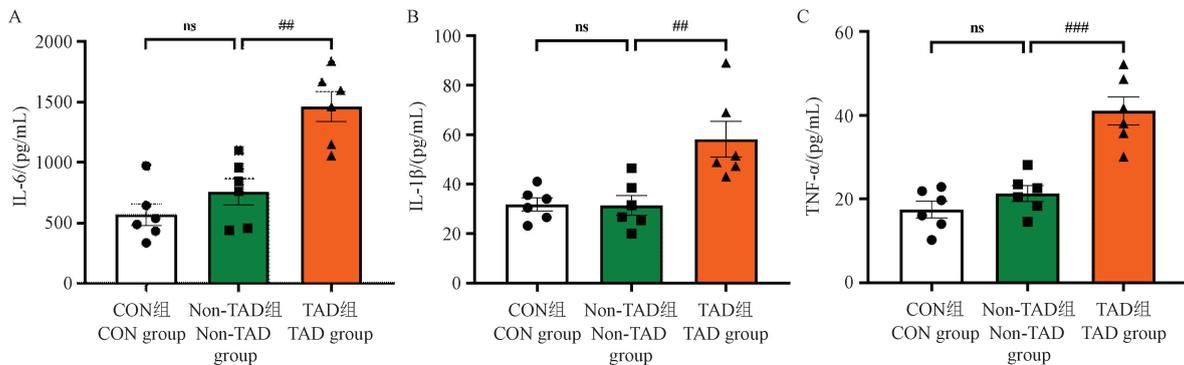
Note. A. Statistical chart of lung tissue wet-dry weight ratio of mice in each group. B. Statistical map of BALF total protein content in each group. Compared with non-TAD group, # $P < 0.05$.

Figure 5 Comparison of total protein level in BALF and the wet-dry weight ratio of lung tissue in three groups of mice

2.7 各组小鼠肺组织病理切片结果

CON 组小鼠肺组织未见明显病理改变; Non-

TAD 组小鼠表现为肺组织结构完整, 肺间质及肺泡腔内未见明显渗液, 偶见肺泡壁疏松、肺泡腔轻度



注: A: IL-6 的含量统计图; B: IL-1 β 的含量统计图; C: TNF- α 的含量统计图; 与 Non-TAD 组相比, $^{##}P < 0.01$ 。

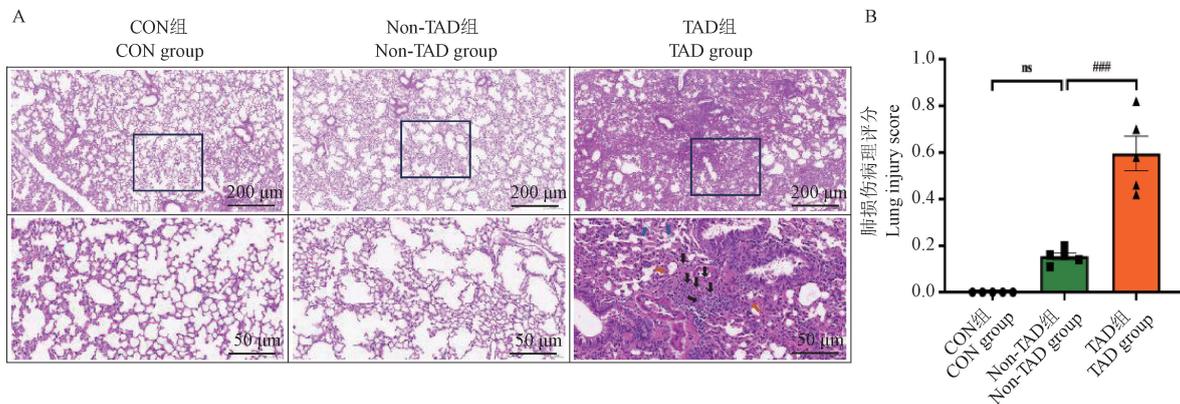
图 6 三组小鼠 BALF 中炎症因子表达水平比较

Note. A. Statistical diagram of IL-6 content. B. Statistical diagram of IL-1 β content. C. Statistical diagram of TNF- α content. Compared with non-TAD group, $^{##}P < 0.01$.

Figure 6 Comparison of the expression levels of inflammatory factors in BALF in three groups of mice

扩大; 与 CON 组和 Non-TAD 组比较, TAD 组小鼠肺组织可见肺间质明显水肿增厚(橙色箭头), 伴炎性细胞浸润(黑色箭头), 肺泡上皮脱落及透明膜形成(蓝色箭头), 肺泡腔内也可见炎性细胞浸润(图

7A)。根据肺损伤病理评分标准的结果分析, 与 CON 组和 Non-TAD 组相比, TAD 组肺损伤病理评分显著增高, 差异具有显著性 ($P < 0.001$), 见图 7B)。



注: A: 各组小鼠肺组织 HE 染色代表图; B: 各组小鼠肺组织损伤评分统计图。

图 7 三组小鼠肺组织病理染色和肺损伤评分

Note. A. HE staining diagram of lung tissue of mice in each group. B. Statistical chart of lung tissue injury score of mice in each group.

Figure 7 Pathological staining of lung and lung injury score in three groups of mice

3 讨论

TAD 是最常见的一种心血管急重症。患者通常以剧烈胸痛为首要就诊症状, 若诊断或治疗不及时, 可引起一系列严重的并发症或夹层破裂等威胁患者生命的不良事件发生。ALI 是 TAD 患者在临床上最为常见的合并症之一, 临床研究报道 TAD 患者术前合并 ALI 是导致术后发生急性呼吸窘迫综合征等不良反应事件的重要原因^[21]。而有关 TAD 合并 ALI 发病机制的研究却甚少。因此, 探究 TAD 合并 ALI 具体发病机制或有效治疗方式是研究人员目

前迫切需要攻破的一大难题。构建合理的 TAD 合并 ALI 动物模型是研究疾病发病机制、药物作用分子靶点或评估药物疗效不可或缺的实验工具。

TAD 动物模型大体可分为两种, 即在体模型和离体模型, 在体模型又包括药物诱导法^[22]、开放手术或腔内手术诱导^[23]和基因工程建模法^[10]等。BAPN 是一种通过抑制赖氨酸氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 活性, 催化弹性蛋白和胶原蛋白中的赖氨酸残基交联形成锁链素, 从而诱导实验动物形成 TAD 的药物^[24-25]。目前, 运用最为广泛的是 BAPN 联合或者不联合血管紧张素 II (angiotensin- II, Ang- II) 的

药物诱导法^[26]。单纯 BAPN 诱导动物形成 TAD 就有多种造模方法^[27-29]。文章报道选取 3 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠给予 BAPN 1 g/(kg·d) 饮水给药 4 周后 TAD 形成率约 70% ~ 90%, 且该方法简便、易行且成本较低。故本课题组用 BAPN 1 g/(kg·d) 饮水给药 4 周诱导 3 周龄 C57BL/6J 小鼠形成 TAD 的造模方案, 期间通过小动物超声仪测量 CON 组和 BAPN 组小鼠主动脉最大直径并结合两组小鼠主动脉组织 HE 染色, 将 BAPN 组小鼠分为 Non-TAD 组和 TAD 组, 为后续证明小鼠 ALI 发生的主因是 TAD 而不是 BAPN 药物干预而形成提供有力依据。结果显示, 相较于 Non-TAD 组和 CON 组小鼠, TAD 组小鼠主动脉最大直径明显扩张, 且主动脉病理染色示血管中层增厚、内膜呈现较明显的破坏, 且 BAPN 治疗可一定程度延缓小鼠一般生长状况, 这与既往文献^[13-14, 27]报道结果一致, 表明本研究中 TAD 小鼠模型构建成功。

ALI 是一种因各种原因引起肺部广泛炎症性病变的呼吸系统疾病^[30]。若病情加重, 可发展为危重的急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS)^[31-32]。随着人们对 ALI 疾病的深入探索, 已研发出多种符合人类 ALI 病理特点的动物模型, 并于 2011 年美国胸科学会研讨会针对动物实验性 ALI 提出较统一的诊断标准^[20]: (1) 组织损伤的组织学依据; (2) 肺泡-毛细血管屏障的改变; (3) 炎症反应; (4) 生理功能障碍的依据。满足三个及三个以上主要特征指标, 可诊断为 ALI 动物模型建立成功。故本课题组通过小鼠肺组织 HE 病理染色提供组织学证据; 肺组织 W/D 及检测 BALF 中总蛋白水平体现肺泡-毛细血管屏障的改变情况; ELISA 检测小鼠 BALF 中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平提供炎症反应依据。由实验数据显示, CON 组和 Non-TAD 组小鼠中, CON 组小鼠肺组织病理染色无明显异常, Non-TAD 组小鼠肺组织病理染色示偶见肺泡壁轻度增厚、肺泡腔扩大或融合, 但未观察到明显形态学改变, 这与既往研究结果一致^[33-35], 两组小鼠肺损伤评分、肺组织 W/D 和 BALF 中总蛋白水平、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达水平均较低且二者无显著差异; 而 TAD 组小鼠肺组织病理染色示明显损伤, 肺损伤评分、肺组织 W/D 和 BALF 中总蛋白水平、炎症因子表达水平均显著升高 ($P < 0.05$)。上述结果表明, BAPN 干预虽轻度影响小鼠肺组织病理改变, 但对肺组织水肿和炎症反应的影响均无

明显作用, 而形成 TAD 小鼠的肺组织病理损伤程度、肺组织水肿程度和炎症反应均显著加重, 提示小鼠 ALI 的发生与形成 TAD 密切相关, 并验证 BAPN 诱导小鼠 TAD 合并 ALI 动物模型构建成功。

综上所述, 本课题组通过 BAPN 1 g/(kg·d) 饮水给药 4 周的建模方法成功诱导 C57BL/6J 小鼠 TAD 合并 ALI 的动物模型。有望基于该模型为探究 TAD 合并 ALI 发病机制或药物有效分子靶点奠定理论基础。但需要注意的是, 该项研究所采用的 BAPN 饮水给药的造模方式存在一些不可控的因素, 如无法控制每只实验动物的恒定摄药量以及 BAPN 药物活性的不稳定性等, 同时, 由于本实验涉及的样本量较小, 针对该模型的稳定性尚需进一步验证。

参 考 文 献 (References)

- [1] ISSELBACHER E M, PREVENTZA O, HAMILTON BLACK J 3rd, et al. 2022 ACC/AHA guideline for the diagnosis and management of aortic disease: a report of the American heart association/american college of cardiology joint committee on clinical practice guidelines [J]. *Circulation*, 2022, 146 (24): e334-e482.
- [2] NIENABER C A, CLOUGH R E, SAKALIHASAN N, et al. Aortic dissection [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16053.
- [3] MUSSA F F, HORTON J D, MORIDZADEH R, et al. Acute aortic dissection and intramural hematoma: a systematic review [J]. *JAMA*, 2016, 316(7): 754-763.
- [4] JURASZEK A, CZERNY M, RYLSKI B. Update in aortic dissection [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2022, 32 (7): 456-461.
- [5] HOWARD D P, BANERJEE A, FAIRHEAD J F, et al. Population-based study of incidence and outcome of acute aortic dissection and premorbid risk factor control: 10-year results from the oxford vascular study [J]. *Circulation*, 2013, 127(20): 2031-2037.
- [6] SEN I, ERBEN Y M, FRANCO-MESA C, et al. Epidemiology of aortic dissection [J]. *Semin Vasc Surg*, 2021, 34(1): 10-17.
- [7] HAMEED I, CIFU A S, VALLABHAJOSYULA P. Management of thoracic aortic dissection [J]. *JAMA*, 2023, 329(9): 756-757.
- [8] 周文君, 赤文萃, 李万顺, 等. 急性主动脉夹层合并急性肺损伤危险因素的研究进展 [J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2021, 28(12): 1503-1507.
ZHOU W J, CHI W C, LI W S, et al. Research progress on risk factors for acute aortic dissection complicated with acute lung [J]. *Chin J Clin Thorac Cardiovasc Surg*, 2021, 28(12): 1503-1507.
- [9] LEDERLE F A, POWELL J T, NIENABER C A. Does intensive medical treatment improve outcomes in aortic dissection? [J]. *BMJ*, 2014, 349: g5288.

- [10] CHEN P, YU B, LI Z, et al. *COL5A1* variants cause aortic dissection by activating TGF- β -signaling pathway [J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10(11): e019276.
- [11] TSURUDA T, YAMASHITA A, OTSU M, et al. Angiotensin II induces aortic rupture and dissection in osteoprotegerin-deficient mice [J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(8): e025336.
- [12] YIN Z Q, HAN H, YAN X, et al. Research progress on the pathogenesis of aortic dissection [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2023, 48(8): 101249.
- [13] SAWADA H, BECKNER Z A, ITO S, et al. β -Aminopropionitrile-induced aortic aneurysm and dissection in mice [J]. *JVS Vasc Sci*, 2022, 3: 64–72.
- [14] PAN L, BAI P, WENG X, et al. Legumain is an endogenous modulator of integrin α v β 3 triggering vascular degeneration, dissection, and rupture [J]. *Circulation*, 2022, 145(9): 659–674.
- [15] MCCALLUM H M. Lathyrism in mice [J]. *Nature*, 1958, 182(4643): 1169–1170.
- [16] GAO Y, WANG Z, ZHAO J, et al. Involvement of B cells in the pathophysiology of β -aminopropionitrile-induced thoracic aortic dissection in mice [J]. *Exp Anim*, 2019, 68(3): 331–339.
- [17] YANG K, REN J, LI X, et al. Prevention of aortic dissection and aneurysm via an ALDH2-mediated switch in vascular smooth muscle cell phenotype [J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(26): 2442–2453.
- [18] Xia L, SUN C, ZHU H, et al. Melatonin protects against thoracic aortic aneurysm and dissection through SIRT1-dependent regulation of oxidative stress and vascular smooth muscle cell loss [J]. *J Pineal Res*, 2020, 69(1): e12661.
- [19] 夏麟, 王晓武, 段维勋, 等. 小动物超声在小鼠胸主动脉瘤/夹层模型中的诊断作用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(12): 61–66.
- XIA L, WANG X W, DUAN W X, et al. Diagnostic role of ultrasound imaging in the mouse model of thoracic aortic aneurysm/dissection [J]. *Chin J Comp Med*, 2019, 29(12): 61–66.
- [20] MATUTE-BELLO G, DOWNEY G, MOORE B B, et al. An official american thoracic society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(5): 725–738.
- [21] ZHAO X, BIE M. Preoperative acute lung injury and oxygenation impairment occurred in the patients with acute aortic dissection [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2022, 22(1): 129.
- [22] BUMDELGER B, OTANI M, KARASAKI K, et al. Disruption of Osteoprotegerin has complex effects on medial destruction and adventitial fibrosis during mouse abdominal aortic aneurysm formation [J]. *PLoS One*, 2020, 15(7): e0235553.
- [23] CUI J S, ZHUANG S J, ZHANG J, et al. Two-end intimal flap suturing method for establishing Stanford B type aortic dissection in a canine model [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2009, 38(5): 603–607.
- [24] ZHENG H Q, RONG J B, YE F M, et al. Induction of thoracic aortic dissection; a mini-review of β -aminopropionitrile-related mouse models [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2020, 21(8): 603–610.
- [25] YANG Y Y, LI L Y, JIAO X L, et al. Intermittent hypoxia alleviates β -aminopropionitrile monofumarate induced thoracic aortic dissection in C57BL/6 mice [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2020, 59(6): 1000–1010.
- [26] QI X, WANG F, CHUN C, et al. A validated mouse model capable of recapitulating the protective effects of female sex hormones on ascending aortic aneurysms and dissections (AADs) [J]. *Physiol Rep*, 2020, 8(22): e14631.
- [27] CHEN T, JIANG N, ZHANG S, et al. BAPN-induced rodent model of aortic dissecting aneurysm and related complications [J]. *J Thorac Dis*, 2021, 13(6): 3643–3651.
- [28] LI X, LIU D, ZHAO L, et al. Targeted depletion of monocyte/macrophage suppresses aortic dissection with the spatial regulation of MMP-9 in the aorta [J]. *Life Sci*, 2020, 254: 116927.
- [29] NISHIDA N, AOKI H, OHNO-URABE S, et al. High salt intake worsens aortic dissection in mice: involvement of IL (interleukin)-17A-dependent ECM (extracellular matrix) metabolism [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(1): 189–205.
- [30] LONG M E, MALLAMPALLI R K, HOROWITZ J C. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury [J]. *Clin Sci*, 2022, 136(10): 747–769.
- [31] MEYER N J, GATTINONI L, CALFEE C S. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet*, 2021, 398(10300): 622–637.
- [32] MANSOOR S, AFSHAR M, BARRETT M, et al. Acute respiratory distress syndrome and outcomes after near hanging [J]. *Am J Emerg Med*, 2015, 33(3): 359–362.
- [33] MAMMOTO T, JIANG E, JIANG A, et al. Extracellular matrix structure and tissue stiffness control postnatal lung development through the lipoprotein receptor-related protein 5/Tie2 signaling system [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(6): 1009–1018.
- [34] MIŽÍKOVÁ I, RUIZ-CAMP J, Steenbock H, et al. Collagen and elastin cross-linking is altered during aberrant late lung development associated with hyperoxia [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(11): L1145-L1158.
- [35] NIEWOEHNER D E, HOIDAL J R. Lung fibrosis and emphysema: divergent responses to a common injury? [J]. *Science*, 1982, 217(4557): 359–360.