

李新雨,任周新,赵鹏. 基于肺动脉高压的肺血管丛状病变的鼠类模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35 (4): 135–149.

Li XY, Ren ZX, Zhao P. Progress in murine models of pulmonary vascular plexiform lesions of pulmonary arterial hypertension [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(4): 135–149.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.04.013

基于肺动脉高压的肺血管丛状病变的鼠类模型的研究进展

李新雨¹, 任周新^{1,2*}, 赵 鹏^{1,2}

(1.河南中医药大学中医药科学院, 郑州 450046; 2.河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046)

【摘要】 目前,进行性肺血管病变的干预成为临床肺动脉高压防治的瓶颈和焦点。肺小动脉的丛状病变是不可逆性肺血管异常重构的典型病理表现,也是Ⅳ期肺血管重构的判断标准。当前,对该病变的病理生理学等机制研究尚不完善,临床无有效的干预措施。因此建立相应的动物模型具有重要的意义。本文介绍了丛状病变体视学研究的新进展,重点阐释了“二次打击”等复合刺激诱导和基因工程技术产生的自发性或结合其它刺激产生的大鼠或小鼠丛状病变模型,对这些模型的特点和用途进行了评价,以期对肺血管丛状病变的肺动脉高压的动物实验研究和机制探讨提供参考。

【关键词】 小鼠;大鼠;肺血管丛状病变;复合刺激模型;基因工程技术模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 04-0135-15

Progress in murine models of pulmonary vascular plexiform lesions of pulmonary arterial hypertension

LI Xinyu¹, REN Zhouxin^{1,2*}, ZHAO Peng^{1,2}

(1. Academy of Chinese Medicine Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.

2. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co-constructed by Henan Province and Education Ministry, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

【Abstract】 The need for suitable interventions for progressive pulmonary vascular lesions has become a bottleneck and a consequent focus in the prevention and treatment of clinical pulmonary hypertension. Plexiform lesions in pulmonary arterioles are the typical pathological manifestation of irreversible abnormal pulmonary vascular remodeling and the criterion for stage IV pulmonary vascular remodeling. There is currently no effective clinical intervention for such pathophysiological lesions, highlighting the need for corresponding animal models. This review

【基金项目】 河南省高校科技创新人才支持计划(24HASTIT073);河南省科技研发计划联合基金项目(22301420070);河南省高等学校重点科研项目(24A360013)。

【作者简介】 李新雨(2000—),女,在读硕士研究生,研究方向:中医内科学。E-mail:lixinyu00316@163.com

【通信作者】 任周新(1969—),男,博士,高级实验师,研究方向:中医药防治呼吸疾病。E-mail:renzhouxin123@126.com

considers new progress in the stereology of plexiform lesions and highlights plexiform-lesion models in mice and rats induced by multifactor stimulation, such as two-hit models and genetic engineering. It also evaluates the characteristics and applications of these models to provide a reference for animal experimental studies and to clarify the mechanism of pulmonary hypertension with pulmonary vascular plexiform lesions.

【Keywords】 mouse; rat; pulmonary vascular plexiform disease; multifactor stimulation model; genetic engineering technology model

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

肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是一种以肺动脉压力异常升高为特征的病理生理状态。严重阶段的 PH 不可逆转,持续恶化。患者预后不良的原因之一在于对 PH 的肺血管异常重构病理生理的认识局限,难以产生针对性的有效治疗方法^[1-3]。鼠类动物模型是 PH 研究的重要工具,目前普遍使用的模型包括缺氧性肺动脉高压模型、野百合碱(monocrotaline, MCT)模型、烟草烟雾暴露模型等。这些经典的模型能够复制出肺动脉非特异性的内膜和外膜增厚、肺动脉高压乃至右心室肥厚,但肺动脉重构的病理损伤仅仅达到 I ~ II 级的病变,未能形成不可逆性的丛状病变等严重肺血管病变。从这些模型上得到的某些有效的候选药物,应用于严重阶段的临床患者,效果不佳,甚至加重了丛状病变等肺血管损伤^[4]。因此,建立稳定、可靠的肺血管丛状病变的鼠类模型,是亟需解决的重要课题。随着技术的进步和研究的深入,相关鼠类模型的研究取得了突破。如采用多因素攻击或基因工程技术介入产生新的模型,能够复制出不同表型的鼠类肺血管丛状病变,推动了学术界对 PH 疾病复杂表型的精确机制的认识,为个性化的临床治疗方案指明了方向。本文就这方面鼠类模型的研究进展进行归纳和总结,以期为 PH 肺血管丛状病变的基础研究和药物开发提供参考。

1 肺血管丛状病变

肺血管丛状病变是肺动脉高压患者发展到严重阶段的血管形态学标志,是一种起源于肺动脉的肾小球样复杂的血管结构^[5]。肺血管丛状病变在各种肺动脉高压患者中存在较高的发生率,早期认为丛状病变主要发生在动脉分叉处或闭塞肺动脉的远端,有两种形成模式:茎样血管腔内生长(stalk-like)及动脉瘤样血管腔外生长

(aneurysm-like)^[6]。在管腔内生长的丛状病变大多位于肺动脉分叉点的远端,从血管壁向管腔内生长。血管外生长的丛状病变多从血管细孔中长出,也有可能是坏死血管残留的结果^[6]。丛状病变呈血管球状结构,病灶内细胞核深染卵圆形,相邻细胞之间存在“缝隙样”通道(slit-like channel)。丛状病变管腔内壁由肌成纤维细胞、平滑肌细胞和结缔组织样基质构成,亦可发现纤维素性血栓及血小板^[6]。上述认识来自于对病变的二维形态和结构的观察,存在立体形态及其与周边组织特别是周围血管之间连接等解剖结构阐释不清楚的问题^[7]。因此,迫切需要对 PH 患者的肺血管丛状病变进行更深入和广泛的体视学研究。

随着新的技术如基于同步加速器的相差显微 CT 等三维显微技术等的应用,人们对丛状病变的三维解剖结构有了更深入的认识^[5,8]。WESTÖÖ 等^[9]将患者丛状病变分成了 4 个类别,1 类,位于肺动脉的单轴分支内或源于单轴分支,与母体肺动脉的血管滋养血管之间存在连接;2 类,发源于肺动脉,病变与肺动脉之间成 90°,向末端细支气管或更大的气道延伸,与支气管周围的血管连接;3 类,出现在肺泡管旁边的远端肺动脉/肺小动脉的突出的末端;4 类,至少存在两个管腔闭塞的肺动脉横切面上表现为丛状,病变很少侵犯到血管弹性层,管腔口径很小,路径曲折。这些发现表明,丛状病变不仅连接肺内的支气管-肺吻合,而且可能连接体循环(支气管循环),另外存在丛状病变到静脉之间的侧支血管或丛状病变之间的血管连接。这些发现提示对外周血管闭塞的病理过程的干预,可能是治愈性药物开发的靶点;对 1 类和 2 类病变进行外科分流或改变侧支血管,则是右心衰竭治疗的可能选择^[9]。近期在二次打击的 Sugen5416/缺氧大鼠中,也观

观察到类似于人类 PH 患者肺血管的 4 个类别的丛状病变^[10], 其中 1 类、2 类和 3 类相当于二维的动脉瘤样丛状病变, 4 类相当于茎样血管腔内生长的丛状病变。

2 经典鼠类模型未出现肺血管丛状病变

肺动脉高压有 5 个组别^[1], 即 1 组: 动脉性 PH (pulmonary arterial hypertension, PAH); 2 组: 左心疾病所致 PH; 3 组: 肺部疾病和 (或) 低氧所致 PH; 4 组: 慢性血栓栓塞性 PH (chronic thromboembolic pulmonary hypertension, CTEPH) 和 (或) 其它肺动脉阻塞性病变所致 PH; 5 组: 未明和 (或) 多因素所致 PH。人们根据这些组别的发病机制和病因, 复制出相应的大鼠或小鼠 PH 模型。一些文献将 PH 大鼠的肺血管病变分成了 4 个等级, 其中的 I 级和 II 级为轻度到中度的病变, 包括肺小动脉肌化、肺血管周围炎症、肺小动脉壁增厚和血管内皮功能障碍等表现, 但撤除刺激因素后, 这些病变能够恢复; III 级为新生内膜形成引起的管腔狭窄, IV 级为丛状病变, III 级和 IV 级为不可逆的病变^[11-12]。

早期的模型主要采用单因素攻击动物, 其肺动脉重构的共性表现为轻度到中度的肺血管病变, 未形成以丛状病变为代表性的不可逆的严重病变。这些模型各具特点和应用范围, 适用于不同类别的 PH 研究, 包括模拟 1 组的 MCT 大鼠模型^[13-14]、血吸虫性小鼠模型^[13, 15-16]、肺静脉闭塞性大鼠模型^[13, 17], 模拟 2 组的左肺切除大鼠模型^[18-19]、腹主动脉-腔静脉分流的大鼠/小鼠模型^[18, 20-21], 模拟 3 组的低氧大鼠/小鼠模型^[13-14, 22-24]、烟草暴露大鼠/小鼠模型^[13-14, 25-27], 模拟 4 组的血栓栓塞大鼠/小鼠模型^[28-29], 模拟 5 组的人类镰状蛋白表达的自发 PH 小鼠模型^[30]和溶血性大鼠模型^[31]。需要指出的是, 新生内膜形成的血管或丛状病变的血管应该在检测的血管中满足一定的发生率, 才能达到相应的病变级别。尽管经皮注射曼氏血吸虫的尾蚴的小鼠肺血管中发现了丛状病变, 但这些血管是偶发的^[15], 因此不能判断这些小鼠的肺血管重构达到了 IV 级。

3 丛状病变模型制作的方法

临床 PH 患者的肺血管重构是一个进行性的过程, 分为两个阶段: 第一阶段, 肺动脉非特异性中膜和外膜增厚、肺小动脉肌化以及肺血管周围出现炎症细胞浸润; 第二阶段为不可逆的重构过程, 以肺小动脉丛状病变和血管闭塞性病变为特征。单纯的致病因素如缺氧、野百合碱注射、烟雾刺激或肺切除术等, 不能诱导鼠类产生第二阶段的肺血管重构。原因在于这些因素单独应用的损伤能力不足, 未能启动第二阶段病变的机制。如果将不同机制的因素序贯攻击动物, 达到或超过启动第二阶段病变所需的阈值, 就可能复制出丛状病变等严重损伤。按照这个原理, MCT/缺氧大鼠模型复合模式均成功地复制出了丛状病变。

研究发现, 不同物种之间甚至同一物种的不同品系之间的肺血管对缺氧刺激的反应差异很大。同样的低压缺氧下, 与 Sprague-Dawley (SD) 大鼠比较, Fischer (F) 大鼠的肺动脉高压和右心室肥大明显减轻^[32]; 同样生活在高海拔地区, 青藏高原的藏族人与生活在安第斯山脉和埃塞俄比亚高原的人比较, 藏族人对缺氧引起的肺动脉高压具有更高的抵抗性。这些现象提示出某些基因可能决定了不同物种、不同品系或不同的人类种族对缺氧诱导的肺血管重构的易感/抵抗的差异^[33]。的确, 已经发现了西藏人群中的脯氨酸羟化酶结构域蛋白 2 (prolyl hydroxylase domain protein 2, PHD2)/缺氧诱导因子 2 α (hypoxia-inducible factor 2 α , HIF-2 α) 信号轴的特异性遗传调节模式^[34]。随着这些易感/抵抗基因的不断发现, 利用基因工程技术改变这些基因在大鼠或小鼠的表达, 或者结合低氧等造模方式, 出现了日益增多的丛状病变模型。

4 复合刺激诱导的肺血管丛状病变模型及其它模型

4.1 肺切除术+MCT 大鼠模型

切除大鼠左肺, 一段时间后, 皮下注射 MCT。MCT 注射后, 大鼠逐渐出现肺动脉压增加、肺动脉中膜平滑肌增生肥大、新生内膜、丛状样病变和血管阻塞; 在检测的血管中, 高比例的血管出

现丛状病变^[35-36], 这些丛状病变的内皮细胞 (endothelial cell, EC) 标志物如 VWF 和 VEGF-2 表达显著增加^[35], 与人类 PAH 患者相似。另外, 模型大鼠在 MCT 注射的 3 周内, 血管损伤具有高度的肺血管选择性, 肾、肝和脾的血管没有损伤^[37]。尽管一些报告采用该模型来评估治疗措施对 PH 的干预效果^[38-40], 但未发现这些措施对丛状病变影响的报导。

分流手术+MCT 大鼠模型 (颈部皮下注射 MCT, 然后进行腹主动脉-腔静脉分流手术), 也可能通过改进, 成为具有丛状病变的模型。目前发现该模型大鼠肺血管病变进行性发展, 从单纯的中膜肥大、新生内膜形成与增生、明显的新生内膜增生性血管闭塞, 最终在术后 28~35 d, 出现右心衰竭 (伴有呼吸困难、严重嗜睡和体质量减轻等症状), 此期间动物多数自发死亡^[41]。该模型形成的新生内膜损伤血管百分率高、内膜壁厚度显著增加和严重的右心衰竭, 上述病变稳定而且形成时间较短。因此, 该模型得到了一定的应用^[42-43]。通过延长大鼠的存活时间等步骤, 可能复制出丛状病变。

4.2 缺氧+MCT 大鼠模型

腹腔注射大鼠 MCT, 然后暴露于低压低氧的环境中 (相当于 50% 海平面气压), 4 周后大鼠形成 PH, 肺血管出现血管周围炎症及新生内膜、血管堵塞和血栓等严重病变, 偶然发现丛状病变^[44-45]。尽管该模型制作方法简单, 但丛状病变发生率较低和不稳定。一项研究报告了该类模型未发现丛状病变^[46], 支持该模型丛状病变出现的不稳定。

4.3 基于 Sugen5416 的复合模型

3-[(2, 4-dimethylpyrrol-5-yl) methylidenyl]-indolin-2-one (Sugen5416) 是一种 3-吲哚-2-酮化合物, 抑制血管内皮生长因子受体蛋白酪氨酸激酶 1/2 (vascular endothelial growth factor receptor protein tyrosine kinase 1/2, VEGFR1/2) 的活性。单独应用 Sugen5416, 大鼠即可出现轻微的肺动脉高压和肺血管异常重构。如果复合低氧等条件, 能够形成丛状病变等更为严重的血管病变。

4.3.1 Sugen5416+缺氧+常氧大鼠模型

单次皮下注射大鼠 Sugen5416 后, 暴露于低氧环境, 后暴露于常氧, 肺动脉血管病变程度随

着时间的延长而进行性恶化, 最终形成稳定的丛状病变。关于其机制, 有学者认为, Sugen5416 抑制 VEGFR1/2 信号, 诱导了内皮细胞的凋亡, 出现一个机会窗口, 发生了某种内皮细胞的选择过程; 低氧的二次打击再次促进了这种内皮细胞的选择过程^[4]。“双次”打击后的内皮细胞不再需要 VEGFR1/2 生存, 形成了对凋亡具有抵抗性的内皮细胞。这种正常生理条件下罕有表达的细胞, 获得了过度增殖的潜能。常氧环境下, 这些内皮细胞大量增殖, 导致大鼠肺动脉病变进行性发展, 最终形成丛状病变。

该模型的一个优势是可以根据研究的需要, 选择不同的时间节点, 建立与研究目的相适应的模型。如缺氧阶段, 肺动脉的损伤表现为 I 级~II 级^[11], 可用于 PAH 预防性药物的药效学评估; 缺氧结束-常氧初期 (常氧气条件下 5 周左右), 是血管新生内膜形成和发展、肺小动脉闭塞和丛状病变初始形成时期^[11,47], 表现为 III 级病变, 可用于新生内膜干预的药效学评估; 常氧末期 (常氧条件下第 11 周或 12 周), 则形成了血管内的 stalk-like 病变和管腔外的 aneurysm-like 病变^[11], 丛状病变血管具有较高的比率^[31], 可用于丛状病变的预防和治疗的药物评估。

Sugen5416 的注射次数以及注射剂量 (20~200 mg/kg) 对肺动脉压和肺血管重构没有明显的影响^[48], 另外, 肺动脉高压与肺血管病变的严重程度之间不一致: 常氧后, 右心室收缩压持续降低, 而肺血管病变则持续加重^[49]。该模型的另一个特征是病变局限, 仅表现在肺血管和右心室, 无肺实质损伤^[11], 其它脏器血管也无明显病变^[48]。因此, 该模型是一个较好的 1 组 PAH 模型。

Sugen5416 皮下注射复合缺氧的小鼠的肺动脉出现 I 级病变, 未见丛状病变; 常氧后, 肺血管损伤逐渐恢复正常^[50], 与大鼠显著不同。这种模型适用于轻度肺动脉高压和右心肥厚的研究^[51-52]。

4.3.2 Sugen5416+溶血+常氧大鼠模型

Sugen5416 皮下注射复合重复的红细胞裂解的自身血液攻击, 产生严重的不可逆的肺血管重构, 表现为至少 6% 的丛状病变和至少 40% 的血管闭塞; 该模型大鼠还出现了高血压、严重的肺

损伤(如水肿、出血、充血、肺泡壁增厚和炎症浸润等)和脾肿大的表现^[31]。该模型作为一种不可逆的肺血管重构的溶血性 PH 模型,在 5 组 PH 的研究中具有较高的应用价值,但其制作方式复杂、需要高的手术技巧和昂贵的仪器。本文比较了上述复合刺激模型丛状病变的表现,见表 1。

表 1 复合刺激诱导的具有肺血管丛状病变 PH 模型的比较

Table 1 Comparison of the PH models induced by compound stimulation with pulmonary vascular plexiform lesions

模型名称 Models name	动物 Animals	方法 Methods	丛状病变的形成条件 Conditions for the formation of plexiform lesions	丛状病变的 表现 Manifestations of plexiform lesions	其它病变或 机能变化 Other lesions or functional changes	模型的局限性 Limitations of the model
肺切除术+ MCT ^[35-40] Pneumectomy Rat +MCT	大鼠	左肺切除,1 周后单次皮下注射 MCT (60 mg/kg),注射后 14~21 d,形成丛状病变 Left lung was excised, followed by with a single subcutaneous injection of MCT (60 mg/kg) 1 week later. Plexiform lesions were appeared in 14~21 d after injection	切除左肺,增加肺动脉血流量,血流的剪切应力损伤内皮;给予 MCT,MCT 的代谢产物加重肺血管内皮损伤。两次打击形成了丛状病变 Increased shear stress of blood flow by left lung excision damages the endothelium, then, metabolites of MCTs aggravate endothelial injury, which form plexiform lesions	主要形成于血管分叉的远端 Plexiform lesions occur distal to branch points	右心肥大,肺损伤 Right heart hypertrophy and lung injury	动脉瘤样血管腔外生长的丛状病变少见;需要外科手术技巧,动物死亡率高 Aneurysm-like plexiform lesions are few. Model requires general surgical skills and is high mortality rate
缺氧 + MCT ^[44,45] Hypoxia + Rat MCT	大鼠	单次腹腔注射 MCT (60 mg/kg),低压 (380 mmHg) 暴露 4 周 A single intraperitoneal injection of MCT (60 mg/kg), followed by low pressure (380 mmHg) for 4 weeks	MCT 的代谢产物加重肺血管内皮损伤;慢性低氧收缩肺血管,诱导肺血管炎症,损伤肺血管内皮。双次打击加重肺血管损伤 Metabolites of MCT damage pulmonary vascular endothelium; chronic hypoxia contracts pulmonary blood vessels, inducing pulmonary vascular inflammation and aggravating vascular endothelial damage	丛状病变是否存在有争议 Presence of plexiform lesions is controversial	右心室肥大,肺动脉血栓 Right ventricular hypertrophy, and pulmonary artery thrombosis	丛状病变偶然出现,重现性差 Plexiform lesions appear incidentally with poor reproducibility
Sugen5416 + 缺氧 + 常氧 ^[4,11,47-49] Sugen5416 + Rat hypoxia + normoxia	大鼠	单次皮下注射 Sugén5416 (20 mg/kg), 10% O ₂ , 3 周,常氧 (21% O ₂) 2~12 周 A single subcutaneous injection of Sugén5416 (20 mg/kg), 10% O ₂ , 3 weeks, normoxia (21% O ₂), 2~12 weeks	Sugen5416 抑制 VEGFR1/2 的活性诱导内皮细胞凋亡,低氧的再次打击,导致残存的内皮细胞不再需要 VEGFR1/2 生存,形成抗凋亡的内皮细胞,常氧下大量异常增殖,形成丛状病变 Sugen5416 inhibition for VEGFR1/2 activity induces apoptosis of endothelial cells and hypoxia strikes again damage endothelial cells, resulting in forming anti-apoptotic endothelial cells, which survival is no longer need for VEGFR1/2. Under normoxia, they proliferate abnormally and form plexiform lesions	10% 的肺动脉形成丛状病变,管腔内生长和动脉瘤样管腔外的形态均可见 10% of pulmonary arteries formed plexiform lesions, with both stalk-like type and aneurysm-like type	右心室肥大 Right ventricular hypertrophy	肺动脉血管病变持续加重,但右心室收缩压却逐渐降低,与临床患者两者同步恶化不符;肺组织多数基因的表达与人类患者不同 Pulmonary artery vascular lesions continues to worsen, but the right ventricular systolic pressure gradually decreases, inconsistent with the synchronous deterioration in clinical patients and the expression of most genes in lung tissue is different from that of human patients

续表1

模型名称 Models name	动物 Animals	方法 Methods	丛状病变的形成条件 Conditions for the formation of plexiform lesions	丛状病变的 表现 Manifestations of plexiform lesions	其它病变或 机能变化 Other lesions or functional changes	模型的局限性 Limitations of the model
Sugen5416 + 溶血 ^[31] Sugen5416 + hematolysis	大鼠 Rat	右心房注入 1.5 mL 红细胞裂解的自身血液, 每天 1 次, 共 10 d; 首日皮下注射 Sugén5416 200 mg/kg, 共 26 d 1.5 mL of 10 blood once daily for 10 days; first day subcutaneous Sugén5416 200 mg/kg for 26 days	溶血导致红细胞释放腺苷脱氨酶和嘌呤核苷磷酸化酶, 降低腺苷和鸟苷的血管保护作用, 复合 Sugén5416 诱导的血管内皮损伤, 形成丛状病变 Hemolysis causes the release of adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase, reducing the vascular protective effects of adenosine and guanosine, and Sugén5416 again induces vascular endothelial damage, which form plexiform lesion	至少 6% 的血管出现丛状病变 Plexiform lesions occurred in at least 6% of the vessels	高血压, 脾肿大, 肺水肿, 右心衰竭 Hypertension, splenomegaly, pulmonary edema, and right heart failure	右心室收缩压过高, 与人类溶血性 PH 患者的中度肺动脉高压不符合; 血液注入步骤复杂, 需要较高的外科手术技巧和昂贵的仪器 Right ventricular systolic pressure is too high and not compatible with moderate pulmonary hypertension in human patients with hemolytic PH. Blood injection procedure is complex, requiring high surgical skills and expensive instrumentation

与 Sugén5416+缺氧+常氧小鼠模型相似, 一些二次或多次打击的方式未能形成丛状病变, 如红细胞裂解的自身血液+低氧大鼠模型^[53]以及烟草烟雾暴露+克雷伯杆菌感染大鼠模型^[12]。

5 基因工程建立的丛状病变模型

5.1 *Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠

PHD2/HIF-2α 信号轴是低氧性 PH 的重要信号通路。人们采用基因消融技术, 消融小鼠内皮细胞和造血细胞的 *Egln1* (编码 PHD2) 基因, 建立 *Egln1* floxed 小鼠。然后, *Egln1* floxed 小鼠与 *Tie2* 启动子/增强子驱动的 *Cre* 转基因小鼠交配, 产生出 *Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠。这种靶向于降低血管内皮细胞 PHD2 表达的 *Egln1*^{-/-} 小鼠显示出进展性和严重的 PH 表型, 几乎显示出人类 PAH 所有的关键病理特征^[4], 如肺动脉血管内膜、中膜和外膜的增厚, 丛样病变以及血管融合等闭塞性肺动脉重构; 进行性的右心室功能性障碍直至右心衰竭, 大约 80% 的小鼠在 6 个月鼠龄前死亡^[34]。尽管在人类 PHD2/HIF-2α 信号轴与低氧性 PH (归类于 3 组) 关系更为密切, 但由于该模型小鼠的肺血管病变及疾病进程与人类 PAH 患者近似, 因此被认为是较为理想的严重 PAH 的模型。具有短期疗效的 3 个靶向药物西地那非 (靶向一氧化

氮信号传导)、安立生坦 (内皮素受体拮抗剂) 和曲前列尼尔 (前列环素类似物) 应用于该小鼠^[54], 所有药物减弱 *Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠的右心室收缩压, 与它们的血管扩张剂作用一致; 部分改善了右心室功能、右心室肥大和肺血管重塑; 其中西地那非短期提高动物的生存率, 但长期应用, 则无此效果。这些药效学结果与临床 PAH 患者的治疗效果近似。3.5 月龄的小鼠即表现出了明显的丛状病变, 主要存在于较大的肺动脉 (直径 > 100 μm), 小的肺动脉主要表现为血管闭塞^[34]。鼠龄的增加可能增加丛状病变的发生率和严重程度, 但 >3.5 月龄的丛状病变的结果未见报道。需要开展进一步的研究, 阐释 *Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠的肺血管重构出现到小鼠死亡过程中丛状病变的产生和发展, 获取丛状病变过程的完整信息。

5.2 IL-6 过表达转基因小鼠 (IL-6 over expression transgenic mice, IL-6 TG+)

炎症是 PH 的病理生理学基础, 表现为外周血管周围长期存在的炎症细胞浸润和大量炎症介质, 某些炎症介质是 PAH 病理生理所必需的因素, 其中 IL-6 长期处于高水平。

将小鼠的 CC10 启动子 (Clara cell 10 kDa promoter, CC10) 与人类基因组 IL-6 外显子 1 的翻译起始位点 5' 处融合, 形成 CC10-IL-6 转基因, 其

中的 IL-6 包含 5 个外显子和 4 个内含子,第 5 个外显子包含一个 3' 非翻译区;将 CC10-IL-6 基因转入(CBA×C57BL/6)F2 小鼠,形成过表达 IL-6 的转基因小鼠(IL-6 TG+)^[55]。

肺炎反应是该小鼠的特征,炎症细胞大量浸润于大、中气道和肺血管以及肺间质,包括 CD3+、CD4+、CD8+、MHC II 类和 B220+ 细胞,主要由单核细胞构成;肺组织中 IL-6、IFN- γ 等细胞因子大量表达^[55]。鼠龄 3~4 个月,肺呈现出慢性炎症的表现,如单核细胞为主的浸润、肺水肿、羟脯氨酸含量增加及胶原蛋白 1A1 (Collagan 1A1, CoL1A1) 和纤连蛋白表达增加^[56] 等。另外,肺组织也表现出肺泡间隔破裂和肺泡融合,提示可能形成肺气肿^[56]。肺血管周围的炎症细胞浸润及对肺血管的破坏和异常修复,导致肺动脉的异常重构。鼠龄 3~4 个月,除肺小动脉肌化等较轻的重构表现外,也出现了类似于人类 PAH 患者典型的病理学特征,如平滑肌远端延伸至肺小动脉;ECs 增生,导致同心性内膜壁增厚;轻度丛状样病变^[4,57]。但也有认为动物未出现丛状病变^[58]。另外,随着鼠龄的增长,小鼠的体质量增长迟缓,雌性小鼠表现得更为敏感^[55]。除了肺外,心脏也出现病变,如右心肥大和胶原纤维增多等^[56]。需要注意的是该模型与临床 PAH 患者存在一定差异。首先,小鼠的肺主动脉和支气管肺动脉中膜厚度增加,弹性板层数量增加^[57];而临床患者一般肺主动脉和支气管动脉没有肌化的表现^[59]。其次,IL-6 高分泌是小鼠出现炎症反应的原因;而临床患者则是由于细菌感染等病因,导致肺和血管周围炎症反应,从而出现 IL-6 水平升高,两者的因果关系是相反的。

综上所述,该模型适宜于 3 组 PH 的药效学评估(如慢性阻塞性肺疾病、肺气肿、哮喘等合并肺动脉高压),另外,也适合于炎症对肺血管异常重塑的机制探讨。目前该模型的研究集中于 3~4 月龄,是否随着鼠龄的增加,丛状病变发生率增加或加重,需要进一步的研究。

5.3 EH_{ITSN}-KO^{ITSN+/-}“二次打击”小鼠

利用基因工程技术在近交系 129/SvJ 小鼠上构建 KO^{ITSN+/-} 小鼠,减少交叉蛋白 1 (intersectin-1s, ITSN) 的表达;随后,利用脂质体为载体 (Myc-EH_{ITSN} DNA 克隆到 pReceiver/myc-M43 载体中),将促进内皮细胞增殖的一个 ITSN 的 DNA 片段

(EH_{ITSN}) 注入 KO^{ITSN+/-} 小鼠的肺;每隔 48 h 注入 1 次,持续 9 次,维持 EH_{ITSN} 的高表达^[60]。

小鼠表现为肺的多种细胞的增殖活性异常增强,如血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和成纤维细胞等,导致肺动脉肌化、胶原沉积于血管闭塞性病变和平滑肌层和内皮细胞增生产生的管腔部分或完全闭塞,以及多种形态的丛状病变,如不完全和完全同心洋葱皮状丛状病变、钩钉样式的丛状病变、管壁伸入腔内的柄状丛状病变等,这些病变经常位于细支气管旁和胸膜下,突出到肺实质^[60]。每张肺切片大致发现 4~12 个丛状病变。在病变的小动脉的肺血管床或在病变内或其周围,存在炎症细胞浸润,主要是淋巴细胞,偶见巨噬细胞。另外,肺组织出现局部炎症细胞浸润,肺泡壁增厚,间质水肿,间质出现胶原沉积。实验期间没有小鼠死亡。另外,尽管小鼠出现了肺动脉高压和右心室肥大,但与肺血管的异常重构的严重程度不相符。

性别是影响 PAH 形成、发展和预后的重要因素,临床中女性患者具有高发病率^[61]。然而,已知的具有丛状病变的 PH 模型中,罕见性别差异的报道。如 Sugén5416+缺氧+常氧大鼠模型,关键的右心室收缩压、右心室肥大和肺动脉重构均未有性别差异,而且无论雌性还是雄性对雌激素的干预,均显示出右心室的防护作用^[62]。但雌性 EH_{ITSN}-KO^{ITSN+/-} 小鼠显示出更严重的 PH 表型,与雄性比较,严重的闭塞性病变(包含丛状病变)增加了 37.5%,而且复杂程度更高^[63]。长链非编码 RNA X 的非活性特异性转录本 (Xist) 的表达和活性的异常增加,是雌性 EH_{ITSN}-KO^{ITSN+/-} 小鼠和人类女性 PAH 患者的肺动脉内皮细胞的共有表现^[63]。这种异常上调,进一步强化 p38/Elk1/c-Fos 信号通路的活化(无论雌性或雄性,该信号通路都是动脉血管内皮细胞异常增殖和形成丛状病变的重要信号通路^[63]),导致雌性小鼠的肺血管损伤更为严重。上述结果表明,EH_{ITSN}-KO^{ITSN+/-} 小鼠是一种基于 lncRNA-Xist 调节,适宜于女性 PAH 的药物研究的模型,也适宜于 PAH 性别差异的遗传学研究。另外,基于该模型,发现了 EH_{ITSN} 除了促进 ECs 的增殖和过度生长外,还启动了功能失调的 PAH 的 ECs 细胞内吞活性的上调^[64]。对上述基因工程模型肺血管丛状病变的表现进行比较,见表 2。

表 2 具有肺血管丛状病变的基因工程 PH 模型
Table 2 Genetically engineered PH models with pulmonary vascular plexiform lesions

模型名称 Models name	动物 Animals	方法 Methods	丛状病变的形成条件 Conditions for the formation of plexiform lesions	丛状病变的表现 Manifestations of plexiform lesions	其它病变或机能变化 Other lesions or functional changes	模型的局限性 Limitations of the model
<i>Egln1</i> <i>Tie2Cre6</i> [34,54]	小鼠 Mice	<i>Egln1 floxed</i> 小鼠与 <i>T Cre</i> 转基因小鼠交配的后代 Offspring of <i>Egln1 floxed</i> mice mated with <i>T Cre</i> transgenic mice	利用基因工程技术建立 <i>Egln1</i> ^{-/-} 小鼠,降低血管内皮细胞 PHD2 的表达 <i>Egln1</i> ^{-/-} mice were established using genetic engineering techniques to reduce PHD2 expression in vascular endothelial cells	3.5 月龄小鼠,直径 > 100 μm 的血管中,8% 出现丛状病变 In 3.5-month-old mice, 8% of the vessels > 100 μm in diameter showed plexiform lesions	右心衰竭;1~2 月龄开始死亡,3.5 月龄死亡率为 50%,6 月龄死亡率为 80% Right heart failure; death started at 1~2 months, 50% at 3.5 months and 80% at 6 months	局限于靶向 PHD2/HIF-2α 信号转导机制 Confined to targeting the PHD2/HIF-2α signal transduction machinery
IL-6 TG+ ^[55-57]	小鼠 Mice	CC10-IL-6 基因转入 (CBA × C57BL/6) F2 小鼠 CC10-IL-6 gene was transferred into (CBA × C57BL/6) F2 mice	利用基因工程技术,诱导小鼠肺血管 IL-6 的过表达 Using genetic engineering techniques, the over-expression of IL-6 in mouse lung vessels was induced	3~4 月龄可能出现轻度的丛状病变 (存在争议) It was controversial of occur for mild plexiform lesions at age 3~4 months	慢性肺炎,肺气肿,右心肥大,体重增长缓慢 Chronic pneumonia, emphysema, right heart hypertrophy, and slow weight gain	肺动脉和支气管肺动脉中膜厚度增加,弹性板层数量增加,与临床患者不符 Thickness of the media increased and the number of elastic lamina increased, which was inconsistent with clinical patients
EH _{ITSN} - KO ^{ITSN+/-} [60,63]	小鼠 Mice	应用 ITSN 敲除/杂合子小鼠 (KO ^{ITSN+/-}),经眼眶将 EH _{ITSN} 基因输入到肺,每隔 48 h 注入 1 次,持续 18 d ITSN knockout/heterozygous mice (KO ^{ITSN+/-}) were applied with EH _{ITSN} -gene input into the lungs through the orbit and injected at 48 h intervals for 18 d	利用基因工程技术,诱导小鼠肺血管内皮细胞 ITSN 表达减少;肺内持续输入 EH _{ITSN} 基因,诱导该基因的持续表达 (该基因诱导内皮细胞增殖) Using gene engineering to induce reduced ITSN expression in mouse pulmonary vascular endothelial cells, then, the EH _{ITSN} gene was induced continuous expression (this gene induces endothelial cell proliferation)	每张肺切片大致发现 4~12 个丛状病变,几乎包括各种临床形态 Approximately 4~12 plexiform lesions are per lung section including almost various clinical forms	慢性肺炎、右心肥大、实验期间无死亡,肺动脉重构的程度具有性别差异 Degree of pulmonary artery remodeling was different by chronic pneumonia, right heart hypertrophy, and no death during the experimental period	仅用颗粒酶 B 裂解 ITSN 产生的 NH2 末端蛋白片段转导肺内皮细胞,未考虑 C 端片段的影响 Pulmonary ECs were transduced only with the NH2-terminal protein fragment produced by granzyme B cleavage of ITSN; the potential contribution of the C-terminal fragment to this mouse phenotype was not considered

6 基于 BMPR2 靶点的基因工程小鼠或大鼠

基因突变是遗传性肺动脉高压 (heritable pulmonary arterial hypertension, HPAH) 患者的共

有特征。骨形成蛋白 II 受体 (bone morphogenetic protein receptor type 2, BMPR2) 突变是首个被发现的 PAH 致病基因变异,在 HPAH 患者的比例超过 50%^[65]。作为 HPAH 最重要的致病基因突变,BMPR2 基因变异一直是 PAH 动物模型研究

的热点。另一方面,尽管 BMPR2 基因变异普遍存在于 HPAH 患者,但具有该类变异的人群中,仅有不到 30% 的人群将罹患 PAH^[66],也就是说多数携带者终生可能未发病。这强烈地提示,其它致病因素的干预,对 BMPR2 基因变异者的患病,具有重要的诱导或促进作用。截至目前,应用基因工程技术导致的 BMPR2 基因变异的小鼠或大鼠模型,与上述发现一致,如多能自发形成 PH,但肺血管重构的病变程度轻,基本达不到Ⅲ级,而且阳性率较低。其它病因的介入,不同类型小鼠的表现则差异明显甚至逆转,反映出 BMPR2 基因变异对肺血管重构影响的复杂性:如删除了外显子 4 和 5 的 2.4 kb 的 ClaI-ScaI 片段的 BMPR2^{+/-}杂合子小鼠对低氧,肺动脉压和肺小动脉病变反而低于野生小鼠^[67-68];利用锌指核酸酶技术构建 BMPR2 基因外显子 71 bp 的单等位基因缺失的 BMPR2^{+/ Δ 71bp}大鼠对于低氧,则形成

更为严重的 PH 和肺血管病变^[69];给于 BMP9,部分表达 BMPR2 的 BMPR2^{+/ Δ R899X}小鼠,肺动脉高压降低,肺血管病变得得到逆转^[70];但是,对于内皮细胞完全缺乏 BMPR2 表达的 BMPR2^{EC-/-}小鼠,肺血管内膜反而增殖明显^[71]。正是通过这些模型,提示未来的针对 BMPR2 基因为靶点的药物或其它方法的治疗中,基因诊断和个体化治疗的重要性和必要性。

5-LOX 诱导的 BMPR2^{+/ Δ 527bp}大鼠出现了至少Ⅲ级的病变和可能的丛状病变^[72],提示在已知的模型中,应用不同的病因干预,可能出现丛状病变,从而建立与临床 HPAH 患者后期类似的严重的肺血管病变。除了这个思路外,结合临床患者 BMPR2 基因变异的发现,对 BMPR2 基因进行新的构建,甚至进行多基因改造,也可能建立具有丛状病变的模型。基于 BMPR2 靶点的基因工程 PH 模型进行了总结,见表 3。

表 3 BMPR2 靶点的基因工程小鼠或大鼠
Table 3 Genetically engineered mice or rats of the BMPR2 targets

模型名称 Models name	动物 Animals	方法 Methods	自发形成 PH 时间 Time of spontaneous PH formation	对环境刺激反应 Responses to the environmental stimuli	肺血管损伤等级 Grade of pulmonary vascular lesions
BMPR 2 ^{+/[67-68]}	小鼠 Mice	删除了包含外显子 4 和 5 的 2.4 kb ClaI-ScaI 片段的人 BMPR2 基因的 ES 克隆显微注射到 C57BL/6J 小鼠的囊胚中,形成的嵌合体小鼠与雌性 C57BL/6J 小鼠杂交,产生出 BMPR2 ^{+/-} 小鼠 ES clones of the human BMPR2 gene containing the 2.4 kb ClaI-ScaI fragment of exons 4 and 5 deleted were microinjected into blastocysts of C57BL/6J mice, and the formed chimera mice were crossed with female C57BL/6J mice to produce BMPR2 ^{+/-} mice	2~5 个月 2~5 months	低氧 3 周(11% 氧气),肺小动脉肌化程度反而低于野生对照小鼠,平均肺动脉压两者相似 For 3 weeks of hypoxia (11% oxygen), the degree of pulmonary artery muscle arization was lower than that of wild control mice, and the mean pulmonary artery pressure was similar	I 级 I level
BMPR 2 ^{+/Δ71bp[69]}	大鼠 Rat	在 SD 大鼠上,利用锌指核酸酶技术构建 BMPR2 基因外显子 71 bp 的单等位基因缺失 In SD rats, a single allelic deletion of 71 bp in exon of the BMPR2 gene was constructed using zinc finger nuclease technology	6 个月 6 months	低氧刺激,可形成更为严重的 PH 和肺血管异常重构 Hypoxic stimulation can form more severe PH and abnormal pulmonary vascular remodeling	I 级,6 个月 16.0% 阳性率;12 个月 27.8% 阳性率,雌雄差异,雌性阴性 I level, 16.0% positive rate at 6 months; 27.8% positive rate at 12 months. Male and female difference, female negative

续表3

模型名称 Models name	动物 Animals	方法 Methods	自发形成 PH 时间 Time of spontaneous PH formation	对环境刺激反应 Responses to the environmental stimuli	肺血管损伤等级 Grade of pulmonary vascular lesions
BMPR 2 ^{+/-R899X} [70]	小鼠 Mice	人类第 899 位氨基酸发生突变的 BMPR II 基因片段 (R899X) 注入 C57BL/6 小鼠的囊胚,产生出嵌合小鼠;与雌性 C57BL/6 交配,形成杂合的 R899X 后代 (BMPR2 ^{+/-R899X}) Human BMPR II gene fragment (R899X) at position 899 is injected into blastocysts of C57BL/6 mice to produce chimeric mice; mating with female C57BL/6 to form heterozygous R899X offspring (BMPR2 ^{+/-R899X})	6 个月 6 months	BMP9 逆转肺动脉高压和肺血管重构 BMP9 reversed the pulmonary arterial hypertension and pulmonary vascular remodeling	I 级 I level
BMPR 2 ^{EC-/-} [71]	小鼠 Mice	携带 L1-Cre 构建体的 C57BL/6J 小鼠与具有 BMPR2 等位基因的一个 floxed 拷贝的小鼠杂交,后代与 Rosa26 位点内携带 Ai6 floxed reporter 基因构建体的小鼠杂交,得到 L1-Cre ^{+/-} /Ai6 ^{+/-} /BMPR2 ^{flox/flox} ,即 BMPR2 ^{EC-/-} 小鼠 C57BL/6J mice carrying the L1-Cre construct were crossed with mice with one floxed copy of the BMPR2 allele and the offspring were crossed with mice carrying the Ai6 floxed reporter gene construct within the Rosa26 locus to generate L1-Cre ^{+/-} /Ai6 ^{+/-} /BMPR2 ^{flox/flox} , the BMPR2 ^{EC-/-} mice	新生,未知 Freshman, unknown	内皮细胞几乎完全没有 BMPR2 表达的新生小鼠,给予 BMP9 反而促进了内膜的增殖 In neonatal mice with an almost complete absence of BMPR2 expression, administration of BMP9 instead promoted proliferation of the inner membrane	未知 Unknown
BMPR 2 ^{+/-Δ527bp} [72]	大鼠 Rat	在 F344 大鼠上,利用锌指核酸酶技术构建 BMPR2 基因中,内含子和外显子 1 边界的交叉区域 527 bp 的单等位基因缺失 In F344 rat, a monoallelic deletion of 527 bp in the crossover region of the intron and exon 1 boundary of the BMPR2 gene was constructed by zinc finger nuclease technology	一年内未形成 PH No PH was formed within one year	重要炎症介质 5-脂氧化酶 (5-lipoxygenase, 5-LOX) 的转基因,通过气道输入 4~6 周龄大鼠的肺中,3 周形成严重 PH,5 周存活率仅 25%,多死于右心室功能衰竭 Transgene of the important inflammatory mediator 5-lipoxygenase (5-lipoxygenase, 5-LOX), fed into the lungs of 4~6-week-old rats, developed severe PH at 3 weeks, had a 5-week survival rate of only 25%, and often died from right ventricular failure	5-LOX 诱导后,出现Ⅲ级病变,出现类似的丛状病变 After 5-LOX induction, grade Ⅲ lesions appeared, and similar plexiform lesions appeared
Rosa26-BMPR 2 ^{delx4+} [73]	小鼠 Mice	Rosa26-rtTA2 小鼠与 Rosa26 BMPR2 ^{delx4+} 小鼠交配,建立杂合子小鼠 Rosa26-rtTA2 mice were mated with Rosa26 BMPR2 ^{delx4+} mice, and heterozygous mice were established	未知 Unknown	食物中掺入多西环素,食用 8 周诱导,12~14 周龄形成。每周气管内注射脂质体氯膦酸盐 1 次,共 4 周,以减少肺组织巨噬细胞,则减轻病变 Doxycycline incorporation in food was induced for 8 weeks and formed at 12~14 weeks of age. Intratracheal injection of liposomal clodronate once a week for 4 weeks to reduce macrophages in the lung tissue reduced the lesions	未见Ⅲ级报道 No level Ⅲ report was reported

7 结论和展望

某些模型是否形成稳定的丛状病变,存在争议。稳定的丛状病变模型包括:肺切除术+MCT 大鼠模型、Sugen5416+缺氧+常氧大鼠模型、Sugen5416+溶血大鼠模型、*Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠模型和 $\text{EH}_{\text{ITSN}}\text{-KO}^{\text{ITSN+/-}}$ 小鼠模型。3 种大鼠模型采用普通的大鼠品系,价格便宜易于获得;肺切除术+MCT 模型和 Sugén5416+溶血模型需要一定的实验技巧和繁琐的术后动物的维护(如伤口抗感染、股静脉留置针的抗凝等),而 Sugén5416+缺氧+常氧模型需要低压氧舱。两种基因工程小鼠模型,需要特殊的小鼠品系,价格昂贵且获取较为困难,还需要基因消融等技术和条件;但后期管理简单,正常饲养条件下,动物自发形成丛状病变。按照临床 PH 的分类,Sugen5416+溶血大鼠模型适合于溶血性 PH 的研究,其它 4 种模型均可用于 PAH 的研究,其中,肺切除术+MCT 模型和 $\text{EH}_{\text{ITSN}}\text{-KO}^{\text{ITSN+/-}}$ 模型伴有肺组织炎症和损伤,还可用于某些肺部疾病相关 PH 的研究。上述 5 种模型中,仅有 *Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠模型完整地模拟了 PAH 的病理演变过程:渐进性严重的血管病变、明显的丛状病变等后期特征和右心室功能逐渐恶化,多数自发性死于右心衰竭,丛状病变出现到死亡持续较长的时间(3.5~6 月龄);另外,该模型能够展示出临床经典药物如西地那非的治疗效果。因此,*Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠是目前模拟人类 PAH 病理特征最好的模型。Sugen5416+溶血+常氧大鼠模型的肺血管病变类似于严重溶血性 PH 患者;Sugen5416+缺氧+常氧模型和 $\text{EH}_{\text{ITSN}}\text{-KO}^{\text{ITSN+/-}}$ 模型,能够复制出临床常见的丛状病变类型,而且 $\text{EH}_{\text{ITSN}}\text{-KO}^{\text{ITSN+/-}}$ 模型可以复制出肺动脉重构的雌雄差异;肺切除术+MCT 模型的丛状病变主要表现在血管分叉的远端,模拟人类 PAH 的丛状病变较差。上述 5 种模型形成丛状病变的分子机制涉及复杂的生物活性分子和信号通路,尚未完全阐明。肺切除术+MCT 大鼠模型涉及 HIF-1 α 和 PI3K/Akt 信号通路;Sugen5416+缺氧+常氧大鼠模型涉及 VEGF2 受体、HIF-1 α 、HIF-2 α 、泛素特异性蛋白酶、BMP/Notch 信号通路;Sugen5416+溶血大鼠模型涉及 VEGF2 受体、腺苷和鸟苷的血管保护机制;*Egln1*^{Tie2Cre6} 小鼠模型涉

及 PHD2/HIF-2 α 信号轴; $\text{EH}_{\text{ITSN}}\text{-KO}^{\text{ITSN+/-}}$ 小鼠模型涉及 ITSN、lncRNA-Xist 调节、p38/Elk1/c-Fos 信号通路。上述模型中,仅有少量文献采用阳性百分率或形态学描述,粗略地评估了研究对象对丛状病变的影响,反映了丛状病变作为一种重要的指标,在评价肺血管异常重构中,尚未形成客观和量化的评估体系。未来,亟需建立一种分值评价指标,反映不同形态的丛状病变的损伤程度,通过总积分的变化客观评估研究对象对丛状病变的影响。

在基于 BMPR2 靶点的基因工程小鼠上,建立可靠的丛状病变模型,仍然是未来的研究目标。复合不同的病因刺激,可能是解决该难题的一条有效途径。

参考文献:

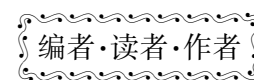
- [1] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组,中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会,全国肺栓塞与肺血管病防治协作组,等.中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021 版)[J].中华医学杂志,2021,101(1):11-51.
PULMONARY EMBOLISM AND PULMONARY VASCULAR DISEASE GROUP OF THE RESPIRATORY DISEASE BRANCH OF THE CHINESE MEDICAL ASSOCIATION, PULMONARY EMBOLISM AND PULMONARY VASCULAR DISEASE WORKING COMMITTEE OF THE RESPIRATORY PHYSICIAN BRANCH OF THE CHINESE MEDICAL DOCTOR ASSOCIATION, AND THE NATIONAL PULMONARY EMBOLISM AND PULMONARY VASCULAR DISEASE PREVENTION AND TREATMENT COLLABORATION GROUP, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of pulmonary hypertension in China (2021 edition) [J]. Natl Med J China, 2021, 101(1): 11-51.
- [2] HUMBERT M, KOVACS G, HOEPER M M, et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension [J]. Eur Respir J, 2023, 61(1): 2200879.
- [3] WOODCOCK C C, CHAN S Y. The search for disease-modifying therapies in pulmonary hypertension [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2019, 24(4): 334-354.
- [4] CARMAN B L, PREDESCU D N, MACHADO R, et al. Plexiform arteriopathy in rodent models of pulmonary arterial hypertension [J]. Am J Pathol, 2019, 189(6): 1133-1144.
- [5] JONICK D, GOLPON H, BOCKMEYER C L, et al.

- Plexiform lesions in pulmonary arterial hypertension composition, architecture, and microenvironment [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(1): 167–179.
- [6] 蒋晓敏, 周陵, 陈绍良. 肺动脉高压肺血管丛状病变的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(8): 1519–1522.
- JIANG X M, ZHOU L, CHEN S L. Progress in plexiform lesion of pulmonary hypertension [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2014, 30(8): 1519–1522.
- [7] VOELKEL N F, BOGAARD H J. Adding complexity to plexogenic arteriopathy [J]. *Eur Respir J*, 2016, 48(6): 1553–1555.
- [8] GALAMBOS C, SIMS-LUCAS S, ABMAN S H, et al. Intrapulmonary bronchopulmonary anastomoses and plexiform lesions in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193(5): 574–576.
- [9] WESTÖÖ C, NORVIK C, PERUZZI N, et al. Distinct types of plexiform lesions identified by synchrotron-based phase-contrast micro-CT [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321(1): L17–L28.
- [10] VAN DER HAVE O, WESTÖÖ C, AHRNÉ F, et al. Shunt-type plexiform lesions identified in the Sugén5416/hypoxia rat model of pulmonary arterial hypertension using synchrotron-based phase-contrast micro-CT [J]. *Eur Respir J*, 2022, 59(6): 2102802.
- [11] ABE K, TOBA M, ALZOUBI A, et al. Formation of plexiform lesions in experimental severe pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2010, 121(25): 2747–2754.
- [12] 任周新, 赵鹏, 李建生. 烟雾暴露联合克雷伯杆菌感染诱导大鼠肺小动脉病变的评估 [J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(8): 27–36.
- REN Z X, ZHAO P, LI J S. Evaluation of pulmonary arteriolar lesions in rats induced by cigarette smoke exposure combined with *Klebsiella* infection [J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(8): 27–36.
- [13] WU X H, MA J L, DING D, et al. Experimental animal models of pulmonary hypertension: Development and challenges [J]. *Anim Model Exp Med*, 2022, 5(3): 207–216.
- [14] FRÖHLICH E. Animals in respiratory research [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(5): 2903.
- [15] CROSBY A, JONES F M, SOUTHWOOD M, et al. Pulmonary vascular remodeling correlates with lung eggs and cytokines in murine schistosomiasis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 181(3): 279–288.
- [16] KUMAR R, LEE M H, KASSA B, et al. Repetitive *Schistosoma* exposure causes perivascular lung fibrosis and persistent pulmonary hypertension [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2023, 137(8): 617–631.
- [17] SONG Q, CHEN P, WU S J, et al. Differential expression profile of microRNAs and tight junction in the lung tissues of rat with mitomycin-C-induced pulmonary veno-occlusive disease [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 746888.
- [18] 刘斌, 王献民, 魏丽, 等. 4 种肺动脉高压动物模型肺血管重构模式的差异研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2008, 24(2): 289–293.
- LIU B, WANG X M, WEI L, et al. Differentiation of pulmonary vascular remodeling pattern in 4 models of pulmonary hypertension [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2008, 24(2): 289–293.
- [19] 罗锋, 向小勇, 赵兴吉. 大鼠左全肺切除致右心室重塑的研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(15): 1642–1644.
- LUO F, XIANG X Y, ZHAO X J. Right ventricular remodeling induced by left total pneumonectomy in rats [J]. *Acta Acad Med Mil Tertiae*, 2010, 32(15): 1642–1644.
- [20] ZHANG M, FENG Z, HUANG R, et al. Characteristics of pulmonary vascular remodeling in a novel model of shunt-associated pulmonary arterial hypertension [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1624–1632.
- [21] GUAN H, YANG X, SHI T, et al. CTRP9 mitigates the progression of arteriovenous shunt-induced pulmonary artery hypertension in rats [J]. *Cardiovasc Ther*, 2021, 2021: 4971300.
- [22] 黄秀霞, 庞宝森, 王辰, 等. 低氧性肺动脉高压大鼠肺功能变化 [J]. *基础医学与临床*, 2002, 22(4): 328–329.
- HUANG X X, PANG B S, WANG C, et al. Change of lung function in rats with hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Basic Med Sci Clin*, 2002, 22(4): 328–329.
- [23] HABRE W, JÁNOSI T Z, FONTAO F, et al. Mechanisms for lung function impairment and airway hyperresponsiveness following chronic hypoxia in rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 298(4): L607–L614.
- [24] 张宁宁, 邱奇, 陈永锋, 等. 槲皮素可改善大鼠肺动脉高压: 基于调控 HMGB1/RAGE/NF- κ B 通路 [J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(9): 1606–1612.
- ZHANG N N, QIU Q, CHEN Y F, et al. Quercetin improves pulmonary arterial hypertension in rats by regulating the HMGB1/RAGE/NF- κ B pathway [J]. *J South Med Univ*, 2023, 43(9): 1606–1612.
- [25] LI Q, WU J, XU Y, et al. Role of RASEF hypermethylation in cigarette smoke-induced pulmonary arterial smooth muscle remodeling [J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 52.
- [26] LEE J H, LEE D S, KIM E K, et al. Simvastatin inhibits cigarette smoking-induced emphysema and pulmonary hypertension in rat lungs [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172(8): 987–993.

- [27] 孙得胜, 刘虹延, 刘先胜, 等. 香烟烟雾刺激诱导肺动脉高压动物模型的构建 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(1): 138-141.
- SUN D S, LIU H Y, LIU X S, et al. Establishment of animal model of pulmonary hypertension induced by cigarette smoke [J]. Chin J Gerontol, 2021, 41(1): 138-141.
- [28] KARPOV A A, VACHRUSHEV N S, SHILENKO L A, et al. Sympathetic denervation and pharmacological stimulation of parasympathetic nervous system prevent pulmonary vascular bed remodeling in rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. J Cardiovasc Dev Dis, 2023, 10(2): 40.
- [29] KARPOV A A, VAULINA D D, SMIRNOV S S, et al. Rodent models of pulmonary embolism and chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. Heliyon, 2022, 8(3): e09014.
- [30] HSU L L, CHAMPION H C, CAMPBELL-LEE S A, et al. Hemolysis in sickle cell mice causes pulmonary hypertension due to global impairment in nitric oxide bioavailability [J]. Blood, 2007, 109(7): 3088-3098.
- [31] BILAN V P, SCHNEIDER F, NOVELLI E M, et al. Experimental intravascular hemolysis induces hemodynamic and pathological pulmonary hypertension; association with accelerated purine metabolism [J]. Pulm Circ, 2018, 8(3): 2045894018791557.
- [32] HE L S, CHANG S W, VOELKEL N F. Pulmonary vascular reactivity in Fischer rats [J]. J Appl Physiol (1985), 1991, 70(4): 1861-1866.
- [33] HOSHIKAWA Y, NANA-SINKAM P, MOORE M D, et al. Hypoxia induces different genes in the lungs of rats compared with mice [J]. Physiol Genomics, 2003, 12(3): 209-219.
- [34] DAI Z, LI M, WHARTON J, et al. Prolyl-4 hydroxylase 2 (PHD2) deficiency in endothelial cells and hematopoietic cells induces obliterative vascular remodeling and severe pulmonary arterial hypertension in mice and humans through hypoxia-inducible factor-2 α [J]. Circulation, 2016, 133(24): 2447-2458.
- [35] JAMES WHITE R, MEOLI D F, SWARTHOUT R F, et al. Plexiform-like lesions and increased tissue factor expression in a rat model of severe pulmonary arterial hypertension [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 293(3): L583-L590.
- [36] KATZ M G, FARGNOLI A S, GUBARA S M, et al. The left pneumonectomy combined with monocrotaline or sugen as a model of pulmonary hypertension in rats [J]. J Vis Exp, 2019, 145: 59050.
- [37] LACHANT D J, MEOLI D F, HAIGHT D, et al. Low dose monocrotaline causes a selective pulmonary vascular lesion in male and female pneumonectomized rats [J]. Exp Lung Res, 2018, 44(1): 51-61.
- [38] GALKIN A, SITAPARA R, CLEMONS B, et al. Inhaled serralutinib exhibits potent efficacy in models of pulmonary arterial hypertension [J]. Eur Respir J, 2022, 60(6): 2102356.
- [39] MEDARAMETLA V, FESTIN S, SUGARRAGCHAA C, et al. PK10453, a nonselective platelet-derived growth factor receptor inhibitor, prevents the progression of pulmonary arterial hypertension [J]. Pulm Circ, 2014, 4(1): 82-102.
- [40] STROBL M, SCHREIBER C, PANZENBÖCK A, et al. Exhaled nitric oxide measurement to monitor pulmonary hypertension in a pneumonectomy-monocrotaline rat model [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 305(7): L485-L490.
- [41] VAN DER FEEN D E, WEIJ M, SMIT-VAN OOSTEN A, et al. Shunt surgery, right heart catheterization, and vascular morphometry in a rat model for flow-induced pulmonary arterial hypertension [J]. J Vis Exp, 2017, 120: 55065.
- [42] MAVROGIANNIS E, HAGDORN Q A J, BAZIOTI V, et al. Pirfenidone ameliorates pulmonary arterial pressure and neointimal remodeling in experimental pulmonary arterial hypertension by suppressing NLRP3 inflammasome activation [J]. Pulm Circ, 2022, 12(3): e12101.
- [43] KURAKULA K, HAGDORN Q A J, VAN DER FEEN D E, et al. Inhibition of the prolyl isomerase Pin1 improves endothelial function and attenuates vascular remodelling in pulmonary hypertension by inhibiting TGF- β signalling [J]. Angiogenesis, 2022, 25(1): 99-112.
- [44] MORIMATSU Y, SAKASHITA N, KOMOHARA Y, et al. Development and characterization of an animal model of severe pulmonary arterial hypertension [J]. J Vasc Res, 2012, 49(1): 33-42.
- [45] COSTE F, GUIBERT C, MAGAT J, et al. Chronic hypoxia aggravates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension; a rodent relevant model to the human severe form of the disease [J]. Respir Res, 2017, 18(1): 47.
- [46] LAN B, HAYAMA E, KAWAGUCHI N, et al. Therapeutic efficacy of valproic acid in a combined monocrotaline and chronic hypoxia rat model of severe pulmonary hypertension [J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0117211.
- [47] BHAT L, HAWKINSON J, CANTILLON M, et al. RP5063, a novel, multimodal, serotonin receptor modulator, prevents Sugén 5416-hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 810: 83-91.
- [48] TARASEVICIENE-STEWART L, KASAHARA Y, ALGER L, et al. Inhibition of the VEGF receptor 2 combined with

- chronic hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension [J]. *FASEB J*, 2001, 15(2): 427-438.
- [49] DE RAAF M A, SCHALIJ I, GOMEZ-ARROYO J, et al. SuHx rat model: partly reversible pulmonary hypertension and progressive intima obstruction [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(1): 160-168.
- [50] VITALI S H, HANSMANN G, ROSE C, et al. The Sugen 5416/hypoxia mouse model of pulmonary hypertension revisited: long-term follow-up [J]. *Pulm Circ*, 2014, 4(4): 619-629.
- [51] 黄杰, 夏瑜, 姜艳娇, 等. GPR146 经 P-JNK 通路对肺动脉高压小鼠血管重塑的影响 [J/OL]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2023, 16(4): 460-465.
HUANG J, XIA Y, JIANG Y J, et al. Effects of GPR146 on vascular remodeling in mice with pulmonary hypertension *via* P-JNK pathway [J/OL]. *Chin J Lung Dis Electron Ed*, 2023, 16(4): 460-465.
- [52] 王晓彤, 秦立龙, 王寒黎, 等. 细胞分裂周期蛋白 42 通过内皮-间充质转化参与动脉型肺动脉高压小鼠右心室纤维化 [J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(10): 1756-1764.
WANG X T, QIN L L, WANG H L, et al. Cell division cycle protein 42 is involved in right ventricular fibrosis in mice with pulmonary arterial hypertension by endothelial-mesenchymal transition [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2023, 39(10): 1756-1764.
- [53] KAROOR V, SWINDLE D, PAK D I, et al. Evidence supporting a role for circulating macrophages in the regression of vascular remodeling following sub-chronic exposure to hemoglobin plus hypoxia [J]. *Pulm Circ*, 2021, 11(4): 20458940211056806.
- [54] PENG Y, DAI J, ZHAO Y Y. *Egln1^{Tie2Cre}* mice exhibit similar therapeutic responses to Sildenafil, ambrisentan, and treprostinil as pulmonary arterial hypertension (PAH) patients, supporting *Egln1^{Tie2Cre}* mice as a useful PAH model [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2391.
- [55] DICOSMO B F, GEBA G P, PICARELLA D, et al. Airway epithelial cell expression of interleukin-6 in transgenic mice. Uncoupling of airway inflammation and bronchial hyperactivity [J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(5): 2028-2035.
- [56] PENUMATSA K C, SHARMA Y, WARBURTON R R, et al. Lung-specific interleukin 6 mediated transglutaminase 2 activation and cardiopulmonary fibrogenesis [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1371706.
- [57] KATHRYN STEINER M, SYRKINA O L, KOLLIPUTI N, et al. Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension [J]. *Circ Res*, 2009, 104(2): 236-244.
- [58] 俞佳慧, 巩倩, 庄乐南. 肺动脉高压动物模型及其在药物研究中的应用进展 [J]. *实验动物与比较医学*, 2023, 43(4): 381-397.
YU J H, GONG Q, ZHUANG L N. Animal models of pulmonary arterial hypertension and their application in drug research [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2023, 43(4): 381-397.
- [59] SAID S I, HAMIDI S A, GONZALEZ BOSCH L. Asthma and pulmonary arterial hypertension: do they share a key mechanism of pathogenesis? [J]. *Eur Respir J*, 2010, 35(4): 730-734.
- [60] PATEL M, PREDESCU D, BARDITA C, et al. Modulation of intersectin-1s lung expression induces obliterative remodeling and severe plexiform arteriopathy in the murine pulmonary vascular bed [J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(3): 528-542.
- [61] HYE T, DWIVEDI P, LI W, et al. Newer insights into the pathobiological and pharmacological basis of the sex disparity in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 320(6): L1025-L1037.
- [62] FRUMP A L, GOSS K N, VAYL A, et al. Estradiol improves right ventricular function in rats with severe angioproliferative pulmonary hypertension: effects of endogenous and exogenous sex hormones [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(9): L873-L890.
- [63] QIN S, PREDESCU D, CARMAN B, et al. Up-regulation of the long noncoding RNA X-inactive-specific transcript and the sex bias in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Pathol*, 2021, 191(6): 1135-1150.
- [64] PREDESCU D, QIN S, PATEL M, et al. Epsin 15 homology domains: role in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1393.
- [65] 李天骥, 潘慧, 纪爽, 等. Bmpr2 R491W 点突变致大鼠自发肺动脉高压 [J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2023, 23(2): 5326-5332.
LI T Q, PAN H, JI S, et al. Bmpr2 R419W point mutation causes spontaneous pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Mol Cardiol China*, 2023, 23(2): 5326-5332.
- [66] LARKIN E K, NEWMAN J H, AUSTIN E D, et al. Longitudinal analysis casts doubt on the presence of genetic anticipation in heritable pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186(9): 892-896.
- [67] BEPPU H, ICHINOSE F, KAWAI N, et al. BMPR-II heterozygous mice have mild pulmonary hypertension and an impaired pulmonary vascular remodeling response to prolonged hypoxia [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287(6): L1241-L1247.

- [68] BEPPU H, KAWABATA M, HAMAMOTO T, et al. BMP type II receptor is required for gastrulation and early development of mouse embryos [J]. Dev Biol, 2000, 221 (1): 249-258.
- [69] HAUTEFORT A, MENDES-FERREIRA P, SABOURIN J, et al. Bmpr2 mutant rats develop pulmonary and cardiac characteristics of pulmonary arterial hypertension [J]. Circulation, 2019, 139(7): 932-948.
- [70] LONG L, ORMISTON M L, YANG X, et al. Selective enhancement of endothelial BMPR-II with BMP9 reverses pulmonary arterial hypertension [J]. Nat Med, 2015, 21 (7): 777-785.
- [71] THEILMANN A L, HAWKE L G, HILTON L R, et al. Endothelial *BMPR2* loss drives a proliferative response to BMP (bone morphogenetic protein) 9 via prolonged canonical signaling [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40(11): 2605-2618.
- [72] TIAN W, JIANG X, SUNG Y K, et al. Phenotypically silent bone morphogenetic protein receptor 2 mutations predispose rats to inflammation-induced pulmonary arterial hypertension by enhancing the risk for neointimal transformation [J]. Circulation, 2019, 140 (17): 1409-1425.
- [73] WEST J D, CHEN X, PING L, et al. Adverse effects of BMPR2 suppression in macrophages in animal models of pulmonary hypertension [J]. Pulm Circ, 2019, 10 (1): 2045894019856483.
- [收稿日期]2024-10-10



编者·读者·作者

《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R

国际刊号 ISSN 1671-7856

邮局代号 82-917

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与比较医学相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究进展、继续教育、设施设备、3R 等。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswydw.cnjournals.com>

期待您的来稿!