

谢锦程,肖梦媛,邓少东,等. 肺动脉高压实验模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(9): 79-89.

Xie JC, Xiao MY, Deng SD, et al. Research progress in experimental models of pulmonary arterial hypertension [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(9): 79-89.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.09.010

肺动脉高压实验模型的研究进展

谢锦程^{1,3}, 肖梦媛¹, 邓少东^{2,3*}, 陈建英^{1*}

(1.广东医科大学附属医院,广东 湛江 524001;2.广东医科大学附属东莞第一医院,广东 东莞 523710;
3.广东医科大学第二临床医学院科研平台,广东 东莞 523808)

【摘要】 肺动脉高压是一种慢性进行性疾病,若不及时治疗,最终可导致右心衰竭甚至死亡。为了探讨肺动脉高压的发病机制,寻找有效的治疗方法,必需建立与发病机制相对应的实验模型。本文利用 Pubmed、ScienceDirect、Wiley 和 CNKI 检索相关文献,系统地总结了近年来肺动脉高压实验模型的制备方法和研究进展,并对这些实验模型涉及的病理特征进行分类和探讨,以期对肺动脉高压的发病机制研究提供参考。

【关键词】 肺动脉高压;动物模型;细胞模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 09-0079-11

Research progress in experimental models of pulmonary arterial hypertension

XIE Jincheng^{1,3}, XIAO Mengyuan¹, DENG Shaodong^{2,3*}, CHEN Jianying^{1*}

(1. the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China.

2. the First Dongguan Affiliated Hospital, Guangdong Medical University, Dongguan 523710.

3. Scientific Research Platform, the Second Clinical Medical College, Guangdong Medical University, Dongguan 523808)

【Abstract】 Pulmonary arterial hypertension is a chronic progressive disease that, if not treated promptly, can ultimately lead to right heart failure and even death. To explore the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension and develop more effective treatments, it is necessary to establish an experimental model corresponding to its pathogenesis. In this review, PubMed, ScienceDirect, Wiley, and CNKI were used to search the relevant literature. The establishment method and research progress of experimental models of pulmonary arterial hypertension in recent years were systematically summarized. Moreover, the pathological characteristics involved in these experimental models were classified and discussed to provide a reference to study the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension.

【Keywords】 pulmonary arterial hypertension; animal model; cell model

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

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一种严重的临床疾病,其组织病理特征是

持续性的血管收缩、血管重构、血管周围炎症反应和纤维素样坏死,继而引发血管管腔狭窄和闭塞,

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (81370242); 广东医科大学学科建设项目 (4SG21229GDGFY01); 广东医科大学校级大学生创新创业训练计划项目 (GDMU2021117, GDMU2021156); 湛江市非资助科技攻关计划项目 (2021B01145); 湛江市科技计划项目 (2022A01183)。

【作者简介】 谢锦程 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 心血管内科研究。E-mail: xjcsieh@163.com

【通信作者】 陈建英 (1969—), 男, 主任医师, 硕士, 研究方向: 结构性心脏病。E-mail: jychen271@126.com

邓少东 (1986—), 男, 讲师, 博士, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病研究。E-mail: dengshaodong@gdmu.edu.cn

* 共同通信作者

导致肺血管阻力进行性增高,最终引起右心衰竭。流行病学显示,特发性和遗传性肺动脉高压发病率为每百万居民 5 例,患病率为每百万居民 25 例,并且呈现上升的趋势^[1]。肺动脉高压患者的 1 年、3 年、5 年和 7 年的生存率分别为 85%、68%、57% 和 49%,中位生存期约为 7 年^[2]。尽管近年来国内外学者对肺动脉高压的发病机制研究取得了重要进展,但肺动脉高压仍然无法治愈,患者的 2 年和 3 年的死亡率仍高达 21%^[3-5],这主要与其发病机制的复杂性有关。同时受临床标本的来源及伦理学的影响,围绕肺动脉高压发生发展机制的临床研究极具挑战性。而建立动物模型以及细胞模型可以全面了解肺动脉高压的病因和病理过程,便于进行新型药物和干预手段的筛选和研究。因此,选择合适的实验模型是探索肺动脉高压发病机制及其药物治疗研究的基础。本文旨在总结近年来肺动脉高压实验模型的建模方法,比较各种模型的优缺点,为肺动脉高压发病机制的探索和临床研究提供参考。

1 动物模型

1.1 野百合碱诱导肺血管内皮细胞损伤模型

野百合碱(monocrotaline, MCT)是一种具有致突变和致癌功效的吡咯里西啶生物碱,可从豆类植物和野猪粪便中提取获得。研究表明,野百合碱在体内被肝代谢产生具有肺毒性的野百合碱吡咯(MCTP),进而损伤血管内皮细胞,导致肺动脉高压^[6]。在构建野百合碱模型时,最常选择的实验动物为大鼠,通过单次腹腔或者皮下注射 MCT(通常剂量为 60~80 mg/kg)来诱发肺动脉高压^[7-8]。由于腹腔内腹膜面积大、吸收快,使用腹腔注射野百合碱可能会使大鼠死亡率升高,因此建模时多采用皮下注射野百合碱。在注射野百合碱后的 5~6 周内,约有一半大鼠会死亡,为了提高模型大鼠的成活率,Zhuang 等^[9]对经典野百合碱模型进行了改进,采用腹腔注射两次 MCT(剂量为 20 mg/kg)的建模方案,两次注射之间间隔 7 d,该建模方案可减轻模型大鼠心脏组织的受损,降低其血管周围的炎症反应水平以及心肌细胞纤维化的程度,从而显著提高模型大鼠的存活率^[10]。与大鼠相比,单次注射野百合碱并不能在小鼠体内引发肺动脉高压。即使直接注射足够剂量的 MCTP 也难以重现野百合碱在大鼠体内诱导的肺血管肌化以及右心室收缩压明

显升高的症状,这可能与小鼠代谢野百合碱的方式有关^[11]。而建立小鼠肺动脉高压模型的方法,常采用每周皮下注射 MCT(剂量为 600 mg/kg),持续 4~8 周^[12]。该模型建模周期长且耗费多,因此大鼠是建立野百合碱诱导模型的首选实验动物。

大鼠注射野百合碱后,通常不会立即出现肺动脉高压的临床症状,而是在 3~4 周后出现呼吸困难、哮鸣音、口鼻腔出血等症状。解剖观察显示,大鼠的右心室明显肥大和扩张,右心室游离壁显著增厚^[13-16]。野百合碱引起的病理性改变包括内皮功能障碍和平滑肌细胞的增殖,进而导致血管重构、血管周围炎症以及心肌纤维化^[17-19]。研究显示,野百合碱会损害肺动脉内皮细胞,引起内皮功能障碍,继而增加血管收缩剂包括内皮缩血管肽 1、血管紧张素 II、血栓素 A2 的表达水平。同时 NO 和前列环素等血管扩张素的合成减少,随后 TGF- α 和 BMPR-2 信号通路被激活,导致血管收缩和血管重塑增加^[7,20-22]。关于野百合碱模型的研究显示,炎症细胞(巨噬细胞、树突细胞、淋巴细胞和肥大细胞)和细胞因子在肺血管重塑早期阶段起关键作用^[23-24]。在大鼠注射野百合碱的第 1 周,仅有肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 β 升高,表明此时处于急性炎症期。随后,在慢性炎症期,促炎因子如肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 β 、白介素-6、白介素-12 和抗炎因子精氨酸酶 1、白介素-10、肿瘤坏死因子- β 水平升高。随着肺动脉高压的发展,PI3K/Akt 信号通路表达上调,并与促炎蛋白相关。此外,NF- κ B 信号通路也被激活,这也在一定程度上揭示了野百合碱诱导肺动脉高压的炎症特征^[25]。

野百合碱模型具有价格低廉、技术要求低的特点,可帮助我们全面了解肺血管重塑的过程以及其病理生理的机制。根据最近研究显示,中药化合物(木犀草素、柚皮苷、黄芩素)、磷酸二酯酶 5 抑制剂(西地那非)、Rho 激酶抑制剂(Y-27632、法舒地尔)、钠葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂(达格列净)、内皮素受体拮抗剂(波生坦、派拉西坦)、选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂(氟西汀)、靶向小分子抑制剂(Seralutinib),均能改善野百合碱诱导的肺动脉高压症状^[26-34]。同时,野百合碱还具有广泛毒性,常引起肝损伤、肾功能不全、肺部纤维化等症状^[35-37]。综上所述,野百合碱模型常用作肺动脉高压药物筛选研究的首选动物模型。

1.2 经典缺氧模型

采用慢性缺氧诱导肺动脉高压动物模型,常用

的实验动物为大鼠和小鼠。造模时,将动物置于 10% O₂ 低氧舱中,持续 3~4 周,即可建立缺氧性肺动脉高压模型^[38-39]。研究显示,将 Sprague-Dawley 大鼠和 C57BL/6 小鼠同时暴露于低压缺氧中 1~3 周后,两种动物都表现出肺动脉高压的相关症状,但 C57BL/6 小鼠的肺血管重塑程度和肺动脉的压力均低于 Sprague-Dawley 大鼠^[40]。另外,将 3 月龄的雄性大鼠和 12~14 月龄的雄性大鼠暴露于慢性缺氧环境(置于海拔 5486 m),持续时间为 1~42 d。结果显示,在缺氧期间,3 月龄大鼠表现出血管肌化的特征,而 12~14 月龄大鼠的血管形态几乎未发生变化^[41]。提示慢性缺氧引起肺血管结构改变的过程与物种或动物的发育阶段显著相关^[42]。

慢性缺氧引起的结构改变包括肺泡壁非肌化血管中平滑肌样细胞和成纤维细胞的聚集和分化、单核细胞/祖细胞的募集以及内皮-间充质转化^[42-44]。此外,肺动脉平滑肌细胞在缺氧条件下会显著肥大,并参与内膜增厚的发展^[45]。动物在急性和慢性的缺氧环境中会增加肺部的炎症细胞因子、趋化因子和粘附分子的表达,并导致白细胞在肺和肺血管内及周围集聚。白介素-1、白介素-6 和肿瘤坏死因子- α 等炎症因子的上调介导肺动脉平滑肌细胞的增殖,促进肺动脉高压中血管重塑^[46-49]。一旦动物离开缺氧环境并恢复至常压氧条件,上述变化中的大部分可以逆转。因此,缺氧模型仅适用于研究非严重程度的肺动脉高压类型。为了进一步改进模型,Coste 等^[50]将慢性缺氧与野百合碱相结合,即将大鼠腹腔注射 MCT(剂量为 60 mg/kg)后置于 380 mmHg 的低压舱中 3 周。研究结果显示,大鼠出现了严重动脉病变,包括血管的炎症、血管重塑和血栓性、严重的内膜病变和早期的丛状病变,这些组织学特征与肺动脉高压患者肺部的组织学特征相似。

1.3 Sugen 5416/缺氧模型

Sugen 5416 是一种 3-吡啶-2-酮化合物,其主要作用是拮抗血管内皮生长因子受体酪氨酸激酶 1/2(VEGFR1、VEGFR2)、抑制血管生成,可使实验动物产生肺动脉高压。通过给大鼠单次皮下注射 Sugen 5416(剂量为 20 mg/kg),随后置于常压常氧条件下饲养 5 周,即可观察到肺动脉高压症状^[51]。当将 Sugen 5416 与慢性缺氧暴露联合应用,即单次注射 Sugen 5416 后继续进行慢性缺氧暴露 3 周,可诱导出现更为严重的肺动脉高压症状^[52]。小鼠需

要持续暴露于 10% O₂ 的环境下,并每周腹腔注射 1 次 Sugen 5416(剂量为 20 mg/kg),给药持续 3 周,才可建立 Sugen 5416/缺氧模型^[53]。Sugen 5416/缺氧诱导的肺动脉高压主要的组织学特征为肺动脉内皮细胞和肺血管平滑肌细胞的过度肥大/增殖。Sugen 5416 可直接抑制血管内皮生长因子介导的内皮细胞增殖,从而形成闭塞性丛状病变^[54]。与单纯慢性缺氧模型不同,Sugen 5416/缺氧模型的病变是不可逆转的^[55]。

在 Sugen 5416/缺氧模型的基础上,进一步改进得到了 Sugen 5416/缺氧/常氧模型。该模型动物在单次注射 Sugen 5416 后经过低压缺氧 3 周,然后恢复到常压氧环境下饲养 10 周^[56-57]。Sugen 5416/缺氧/常氧模型组动物的右心室游离壁/左心室+隔膜重量比在第 1 周即显著升高,小动脉开始出现不同程度的阻塞,随后经过 10 周的复氧,形成了严重复杂闭塞性丛状病变成形^[56]。该模型诱导的肺动脉高压与人类肺动脉高压的特征十分相似。

Sugen 5416 具有特异性结合内皮细胞的能力,并通过在持续抑制血管内皮生长因子受体发挥作用。Sugen 5416 可抑制 VEGFR、TGF- β 1/Smad2/Smad3、MAPK、BMPR2、HIF-1 α 、Rho 激酶,同时激活右心室巨噬细胞募集以及炎症反应调节因子 NF- κ B 的表达。这导致内皮细胞和平滑肌细胞的无序增殖,并引起肺内血管周围炎症细胞的聚集,这些因素共同促成严重的血管阻塞性和丛状病变的发生^[58-63]。然而,这些症状与物种和性别存在密切关联。研究显示,雌性大鼠的雌激素和孕激素能够减少 Sugen 5416 引起的内皮细胞凋亡,从而降低发生肺动脉高压的风险^[64]。另外,在建立 Sugen 5416/缺氧/常氧小鼠模型时采用了类似 Sugen 5416/缺氧/常氧大鼠肺动脉高压模型方案。小鼠在模型中表现出肺动脉压升高和肺小动脉内侧壁增厚等肺动脉高压的症状,但没有明显的肺血管闭塞性病变,也缺乏与大鼠模型和晚期肺动脉高压患者相似的右心室衰竭和血管重塑^[65]。相比之下,Sugen 5416/缺氧/常氧大鼠模型更具有与人类肺动脉高压相似的严重肺动脉高压症状。因此该模型被广泛应用于研究肺动脉高压,并被认为是常用的啮齿动物模型之一。

近年来,与 Sugen 5416 相关的双击模型不断出现。其中,无胸腺(T 细胞缺陷)的大鼠只需单剂量 Sugen 5416 即可诱发严重的肺动脉高压,并且其炎

症程度更为严重^[66]。另一种模型是使用 Sugen 5416 联合左肺切除术,在大鼠体内诱导血管闭塞性肺动脉高压。该模型表现出的症状与细胞增殖和促凋亡信号通路的激活相关^[67-68]。此外,单次皮下注射 Sugen 5416(剂量为 20 mg/kg)联合腹腔持续注射吗啡(剂量为 10 mg/kg) 35 d,也能诱发大鼠出现肺动脉高压。吗啡的使用会加重 Sugen 5416 引起的肺动脉高压症状,包括近端血管平滑肌的肥大、内膜病变以及右心室肥大^[69]。

1.4 血吸虫模型

与肺动脉高压相关的寄生虫病中,最常见为血吸虫病。血吸虫病可由曼氏血吸虫和日本血吸虫引起,并可导致血吸虫性肺动脉高压(chistosomiasis-induced pulmonary arterial hypertension, SchPAH)^[70]。相对于雄性小鼠,雌性小鼠对血吸虫的感染更为敏感,因此常使用雌性 C57/BL6 成年小鼠作为模型动物。建立 SchPAH 模型的方法是使用含有曼氏血吸虫 75~100 个尾蚴(用于亚急性研究)或 30 个尾蚴(用于慢性研究)的混悬液经皮感染。在亚急性研究中,小鼠的肺部几乎没有虫卵以及肺血管重塑的出现。但在慢性感染的研究中,建模 12 周后小鼠出现明显的肺血管重塑,并伴有血管周围炎症以及丛状病变。然而,亚急性感染和慢性感染研究中,右心室收缩压或右心室游离壁/左心室+隔膜比率并未升高^[71]。

Graham 等^[72]对血吸虫模型进行了改进,首先,将小鼠的尾巴放入含有 30~35 个尾蚴的烧瓶中,经皮感染持续 30 min。55 d 后,将悬浮在 0.5 mL 无菌盐水的 5000 个活卵通过尾静脉注射进入小鼠体内,以此对小鼠进行静脉内攻击。虫卵的静脉攻击模拟慢性感染中小鼠形成侧支分流,并使虫卵通过侧支分流沉积在肺部这一过程。Kumar 等^[73]在此基础上对模型进一步改进,首先使用血吸虫卵(每克体重 240 个虫卵)进行腹腔内致敏,以引发小鼠的免疫细胞应答。随后,经过两周的时间,经小鼠尾静脉注射血吸虫卵(每克体重 175 个虫卵)进行静脉内攻击,致使卵团栓塞至肺部,从而驱动 II 型免疫反应。这种新方法制备的血吸虫模型能够模拟人类血吸虫性肺动脉高压的关键病理特征,包括 Th2 炎症、血管重塑和右心室收缩压升高。此外,这种建模方法实验周期较短和死亡率较低^[74]。

除了曼氏血吸虫外,日本血吸虫也被证实可引起实验性肺动脉高压。Kassa 等^[75]使用与 Kumar

等^[73]相同的方案建立日本血吸虫诱导模型。研究结果显示,日本血吸虫感染引起了小鼠的血管重塑和血管炎症。然而,与曼氏血吸虫模型相比,日本血吸虫感染引起的症状较为轻微。

1.5 肺切除术联合野百合碱或者 Sugen 5416 模型

大鼠实施左肺切除手术 1 周后,通过单次皮下注射 MCT 60 mg/kg 或 Sugen 5416 25 mg/kg,可在 4 周内引发严重肺动脉高压和进行性右心衰竭^[67,76]。该模型成功模拟了肺血流量增加导致的肺血管重塑,在模型组大鼠中观察到丛状血管损伤、内膜增厚、远端小动脉血管栓塞、血管炎症以及肺动脉和右心室压力显著增高等症状^[77]。将左肺切除术与野百合碱或 Sugen 5416 相结合可建立比单独使用野百合碱、缺氧或其他方法更为可靠的严重肺动脉高压模型。然而,该模型要求技术人员熟知大鼠的解剖结构,并具备熟练的外科技能。术中需要严格遵守无菌操作,而术后恢复同样是模型制备成功的关键步骤。由于该模型需要特殊的手术技巧以及严格的环境要求,其使用受到一定限制。

1.6 其他动物

由于价格低廉和技术简单,并且易于进行大规模的独立实验,使得啮齿类动物成为许多实验研究中应用最多的肺动脉高压模型。除此之外,还有其他的动物用于制备肺动脉高压模型,Zeng 等^[78]使用西藏小型猪单次腹腔注射 MCT(剂量为 12 mg/kg)成功制备肺动脉高压模型。Cao 等^[79]通过在家兔胸部做正中切口行开胸术,将左颈动脉与肺动脉主干吻合以产生慢性左向右分流,3 个月后成功建立了高流量肺动脉高压模型。然而,上述这些动物模型应用并不常见,可能与动物的来源以及模型的制备难度有关。

上述肺动脉高压动物模型均有各自的特点,现归纳各模型的制备过程以及涉及到的病理特征等如下(见表 1、表 2)。

2 细胞模型

建立合适且可靠的肺动脉高压体外模型对于研究疾病的病理机制以及探索分子机制具有重要意义,同时也有助于使用简单且可重复的技术来发现以及测试新的治疗方法。体外细胞模型具有易于获得、可重复利用、可再现心脏和血管的细胞和细胞外生态环境的特点,并能显示出细胞正常的生理特征。目前,用于构建肺动脉高压体外模型的细胞主要包括肺动脉内皮细胞和肺动脉平滑肌细胞。

表 1 肺动脉高压动物实验模型涉及的病理过程以及信号分子通路
Table 1 Pathological process and signaling molecular pathways of PAH animal model

损伤物质 Injurious substance	模型动物 Model animals	右心室收缩压 (mmHg) RVSP	肺动脉病变 Pulmonary artery disease	信号分子/通路 Signaling/molecular pathways
野百合碱 ^[7, 17, 22, 25, 78] Monocrotaline	大鼠/小鼠/西藏小型猪 Rats/mice/ Tibet minipigs	70	血管增生、血管闭塞 Vascular remodeling, vascular occlusion	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, TGF- β , TGF- β -smad, BMPR-2, PI3K/AKT, NF- κ B
慢性缺氧 ^[46, 48] Chronic hypoxia	大鼠/小鼠 Rats/mice	30	血管重塑 Vascular remodeling	IL-1, IL-6, TNF- α
Sugen 5416 ^[51]	大鼠 Rats	60	血管闭塞 Vascular occlusion	/
Sugen 5416 联合 慢性缺氧 ^[59-61] Sugen 5416+Chronic hypoxia	大鼠/小鼠 Rats/mice	35	血管重塑、血管闭塞 Vascular remodeling, vascular occlusion	EGFR, TGF- β 1/Smad2/Smad3, MAPK, BMPR2, HIF-1 α
Sugen 5416/缺氧/常氧 ^[56-57] Sugen 5416/ Hypoxia/Normoxia	大鼠/小鼠 Rats/mice	100	血管重塑、复杂的丛状病变 Vascular remodeling, complex plexiform lesions	Rho 激酶、BMPR-2 Rho kinsase, BMPR-2
血吸虫 ^[71-74] Schistosoma	小鼠 Mice	35	血管重塑、闭塞性动脉炎、丛状病变 Vascular remodeling, obliterative arteritis, plexiform lesions	IL-4, IL-13, TGF- β , TSP-1
左肺切除联合野百合碱/ Sugen 5416 ^[77] Left pneumonectomy combined with monocrotaline or Sugen 5416	大鼠 Rats	80	血管重塑、丛状病变、远端小动脉栓塞 Vascular remodeling, plexiform vasculopathy, thromboembolic obstruction of distal small pulmonary arteries	/

注:TNF- α :肿瘤坏死因子- α ;IL-1 β :白介素-1 β ;IL-6:白介素-6;IL-12:白介素-12;TGF- β :转化生长因子 β ;Smad:Smad 蛋白;BMPR-2:骨形态发生蛋白 II 型受体;PI3K:磷脂酰肌醇 3-激酶;AKT:蛋白激酶 B;NF- κ B:核因子 κ B;IL-1:白介素-1;EGFR:表皮生长因子受体;MAPK:丝裂原活化蛋白激酶;HIF-1 α :缺氧诱导因子-1;IL-4:白介素-4;IL-13:白介素-13;TSP-1:血小板反应蛋白-1。

Note. TNF- α , Tumor necrosis factor- α . IL-1 β , Interleukin-1 β . IL-6, Interleukin-6. IL-12, Interleukin-12. TGF- β , Transforming growth factor- β . Smad, Drosophila mothers against decapentaplegic protein. BMPR-2, BMP receptor type II. PI3K, Phosphatidylinositol-3-kinases. AKT, Protein-serine-threonine kinase. NF- κ B, Nuclear factor- κ B. IL-1, Interleukin-1. EGFR, Epidermal growth factor receptor. MAPK, Mitogen-activated protein kinase. HIF-1 α , Hypoxia-inducible factor-1 α . IL-4, Interleukin-4. IL-13, Interleukin-13. TSP-1, Thrombospondin-1.

表 2 肺动脉高压动物模型制备
Table 2 Preparation of PAH animal models

损伤物质 Injurious substance	模型动物 Model animals	剂量 Dosage	方式 Method	环境 Environment
野百合碱 Monocrotaline	大鼠 ^[7] Rats	60~80 mg/kg	单次腹腔注射/皮下注射 Single intraperitoneal injection/ subcutaneous injection	常氧 Normoxia
	小鼠 ^[12] Mice	600 mg/kg	每周 1 次腹腔注射,持续 4~8 周 Intraperitoneal injection once a week, for 4~8 weeks	常氧 Normoxia
慢性缺氧 Chronic hypoxia	大鼠/小鼠 ^[38-39] Rats/mice	/	/	吸入分数为 (FiO ₂) 10% 的低氧室,持续 3~4 周 Inspired O ₂ fraction of 1%, for 3~4 weeks
野百合碱联合缺氧 Monocrotaline combined with hypoxia	大鼠 ^[50] Rats	60 mg/kg	单次腹腔注射 Single intraperitoneal injection	缺氧低压室 (380 mmHg),持续 4 周 Hypoxic hypobaric chamber (380 mmHg), for 4 weeks

续表 2

损伤物质 Injurious substance	模型动物 Model animals	剂量 Dosage	方式 Method	环境 Environment
Sugen 5416	大鼠 ^[51] Rats	20 mg/kg	单次腹腔注射 Single intraperitoneal injection	/
Sugen 5416 联合缺氧 Sugen 5416 combined with chronic hypoxia	大鼠 ^[52] Rats	20 mg/kg	单次腹腔注射 Single intraperitoneal injection	吸入分数为 (Fi O ₂) 10% 的低氧室, 持续 3 周 Inspired O ₂ fraction of 10%, for 3 weeks
	小鼠 ^[53] Mice	20 mg/kg	每周 1 次腹腔注射, 持续 3 周 Intraperitoneal injection once a week, for 3 weeks	吸入分数为 (Fi O ₂) 10% 的低氧室, 持续 3 周 Inspired O ₂ fraction of 10%, for 3 weeks
Sugen 5416/缺氧/常氧 Sugen 5416/hypoxia/ normoxia	大鼠 ^[56] Rats	20 mg/kg	单次腹腔注射 Single intraperitoneal injection	吸入分数为 (Fi O ₂) 10% 的低氧室, 持续 3 周然后在吸入分数为 (Fi O ₂) 21% 的常氧室, 持续 10 周 Inspired O ₂ fraction of 10%, for 3 weeks. Inspired O ₂ fraction of 21%, for 10 weeks
	小鼠 ^[57] Mice	20 mg/kg	每周 1 次腹腔注射, 持续 3 周 Intraperitoneal injection once a week, for 3 weeks	吸入分数为 (Fi O ₂) 10% 的低氧室, 持续 3 周然后在吸入分数为 (Fi O ₂) 21% 的常氧室, 持续 10 周 Inspired O ₂ fraction of 10%, for 3 weeks. Inspired O ₂ fraction of 21%, for 10 weeks
血吸虫尾蚴 Schistosoma cercariae	亚急性感染: 75~100 个; 慢性感染: 30 个 75~100 for subacute study; 30 for the chronic study		经皮感染 Percutaneous infection	/
	雌性小鼠 ^[71-72] Female mice	尾蚴: 30~35 个; 虫卵: 5000 个	尾蚴经皮感染, 持续 30 min; 55 d 后, 经过静脉注射 5000 个虫卵 Percutaneous infection of cercariae lasts for 30 min; after 55 d, 5000 eggs were injected intravenously	/
血吸虫尾蚴+虫卵 Schistosoma cercariae+eggs		30~35 for cercariae; 5000 for eggs		/
血吸虫虫卵 Schistosoma eggs	雌性小鼠 ^[73] Female mice	虫卵, 每克 240 个; 每克 175 个 240 eggs per gram of body weight and 175 eggs per gram of body weight	腹膜注射每克体重 240 个虫卵, 然后在两周后静脉注射 每克体重 175 个虫卵 Peritoneal injections of 240 eggs/gram body weight were followed by intravenous injections of 175 eggs/gram body weight two weeks later	/
肺切除+MCT/Sugen 5416 Pneumonectomy+ monocrotaline or Sugden 5416	大鼠 ^[67, 76] Rats	手术; MCT 60 mg/kg 或 Sugden 5416 25 mg/kg, 单次 Operation; single injection of MCT 60 mg/kg or Sugden 5416 25 mg/kg	手术切除肺组织, 1 周后通过单次皮下注射野百合碱或 Sugden 5416 Pneumonectomy, a week later by a single subcutaneous injection of monocrotaline or Sugden 5416	/

2.1 物理损伤

肺动脉高压的标志性特征包括内皮功能障碍、内皮-间充质转化以及肺动脉平滑肌细胞的异常增殖、凋亡和迁移。通过将肺动脉内皮细胞或者肺动脉平滑肌细胞置于低氧室 (通常是 2%~10% O₂) 培养 24 h, 可诱导内皮细胞功能障碍以及平滑肌细胞的过度增殖、凋亡和迁移。Hua 等^[80] 将肺动脉平滑

肌细胞和肺动脉内皮细胞置于 10% O₂ 低氧箱培养 24 h, 发现内皮细胞凋亡增加, NO 水平降低, 细胞失去了其典型的鹅卵石形态和特征基因, 从而确认内皮损伤模型建模成功^[81-82]。Wang 等^[83] 将肺动脉平滑肌细胞置于低氧箱 (5% O₂、90% N₂) 中培养 48 h, 观察发现平滑肌细胞增殖增加以及凋亡抑制, 可判断细胞模型建造成功。而 Hu 等^[84] 研究显示, 缺

氧损伤会激活 AKT/mTORC1 通路,从而诱导肺动脉平滑肌细胞的过度增殖和迁移。

物理缺氧损伤细胞模型因其操作简便、损伤效果明显且可避免造模剂带来的额外影响等优点,目前被广泛应用于制备研究内皮细胞和平滑肌细胞功能损伤相关模型。缺氧损伤诱导的细胞损伤机制与人类肺动脉高压所表现的病理损伤相似。

2.2 化学损伤

野百合碱吡咯是野百合碱的活性代谢物, Liu 等^[85]使用 MCTP(剂量为 50 μg/mL)与肺动脉内皮细胞共培养 12~48 h,模拟野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠的肺动脉内皮细胞损伤。研究显示, MCTP 可降低 NO 的水平、减少内皮细胞的迁移以及增加细胞凋亡^[7]。引发内皮细胞损伤的因子还包括转化生长因子-β1、白介素-1β 以及肿瘤坏死因子-α 等,这些因子可刺激内皮细胞发生内皮-间充质转化,而内皮-间充质转化是炎症应激与内皮功能障碍之间复杂相互作用的关键环节^[86-87]。

血小板衍生生长因子(PDGF)能够促进肺动脉平滑肌细胞和成纤维细胞增殖和迁移。因此, Wu 等^[1]在研究胰高血糖素样肽-1 受体激动剂线粒体预防肺动脉高压的分子机制过程中,使用 PDGF-BB (20 ng/mL)与肺动脉平滑肌细胞共培养 24 h,模拟肺动脉高压中肺动脉平滑肌细胞发展进程,并利用该模型揭示肺动脉高压患者的潜在治疗靶点。

常见用于构建体外模型的其他因子包括肿瘤

坏死因子-α 以及转化生长因子-β1。Cheng 等^[88]对 Claudin-1 是否参与了肺动脉高压的发生发展进行了研究。他们通过将肺动脉平滑肌细胞与肿瘤坏死因子-α(剂量为 10 ng/mL)共同培养 24 h,模拟肺动脉高压中炎症因子引起平滑肌细胞过度增殖和迁移增强的病理过程,并揭示了这些过程可能与 ERK1/2 和 NF-κB 信号通路相关。而 Feng 等^[89]则使用转化生长因子-β1 与肺动脉平滑肌细胞共培养 24 h,诱导平滑肌细胞迁移增加,并揭示该病理过程与 PI3K/Akt 和 ERK 信号通路的相关性。

综上所述,目前常用于制备内皮细胞以及平滑肌细胞损伤模型的损伤因素均被证实与肺动脉高压的发生、发展有密切的联系,可较好地模拟与肺动脉高压相关的病理过程。这些模型在细胞损伤机制方面具有相似性,例如抑制肺血管内皮细胞中一氧化氮的生成,诱导肺动脉内皮细胞和肺动脉平滑肌细胞的炎症损伤等,但又具有不同的特点和优势。因此根据实验需求可以选择适宜的细胞模型,以获得期望中的结果。细胞模型易于培养、产量可观,并且实验结果具有可重复性,可为进一步的研究奠定基础。然而,要注意上述的模型仅仅是以血管内皮细胞或血管平滑肌细胞为研究对象,不能全面地反映肺动脉高压的病变过程,因此,体外细胞模型的研究结果仍需得到动物实验研究的支持。

现将各个细胞模型的具体制备方式以及模型涉及的病理机制归纳总结如下(见表 3)。

表 3 肺动脉高压细胞模型的制备以及模型涉及的病理机制

Table 3 Preparation of PAH cell models and related pathological mechanisms

损伤物质 Injurious substance	模型细胞 Model Cell	时间(h) Time	病理机制 Pathological mechanisms
吸入分数为 2%~10% 的低氧 2%~10% Fi O ₂	肺动脉内皮细胞 ^[81-82] PAECs	24	内皮功能障碍 Endothelial dysfunction
	肺动脉平滑肌细胞 ^[83] PASMCs		过度增殖、迁移和凋亡抵抗 Abnormal proliferation, overmigration and apoptotic resistance
野百合碱吡咯 Monocrotaline pyrrole	肺动脉内皮细胞 ^[85] PAECs	12~48	迁移和细胞凋亡增加 Overmigration and aggravated apoptosis
	肺动脉内皮细胞 ^[87] PAECs		内皮间充质转化 Endothelial-mesenchymal transition
转化生长因子-β1 TGF-β1	肺动脉平滑肌细胞 ^[89] PASMCs	24	迁移功能增强 Overmigration
	肺动脉内皮细胞 ^[87] PAECs		内皮间充质转化 Endothelial-mesenchymal transition
白介素-1β IL-1β	肺动脉内皮细胞 ^[87] PAECs	48	内皮间充质转化 Endothelial-mesenchymal transition
	肺动脉内皮细胞 ^[87] PAECs		内皮间充质转化 Endothelial-mesenchymal transition
肿瘤坏死因子-α TNF-α	肺动脉平滑肌细胞 ^[88] PASMCs	24	过度增殖和迁移增加 Abnormal proliferation and overmigration
	肺动脉平滑肌细胞 ^[1] PASMCs		过度增殖、迁移 Abnormal proliferation and overmigration

3 总结

为了深入研究肺动脉高压的发病机制,探索有效的治疗方法,研究人员开发了多种动物模型和细胞模型,并不断地进行改进。其中,缺氧诱导的肺动脉高压模型和野百合碱诱导的肺动脉高压模型被广泛应用。但这些模型仅展现了疾病的早期阶段,导致使用这些模型进行相关药物筛选研究时,仅针对改善血管的收缩过程,而忽略了肺动脉高压产生的血管进行性重塑。为了克服这一局限性,肺切除模型、Sugen 5416/缺氧等复合模型被相继建立,这些复合模型展现出了肺动脉高压的中期阶段,即血管丛状病变的症状。与动物模型相比,细胞模型在研究分子机制方面具有明显的优势,有利于预测和验证基因功能,并能微观地展现细胞间的代谢情况,同时节省构建模型的时间。细胞模型的不足之处在于缺乏全面性。而动物模型能够直观地展示肺动脉高压的病理过程,并更贴近人类肺动脉高压的病理特征。

如今随着分子生物学、基因技术的发展,越来越多与肺动脉高压病症相符合的实验模型被构建,并且随着实验动物学的不断进步,未来将会出现更加贴近于临床以及更具稳定性、经济性的实验模型,从而推动人类对肺动脉高压的研究。

参考文献:

[1] Wu YC, Wang WT, Lee SS, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist attenuates autophagy to ameliorate pulmonary arterial hypertension through Drp1/NOX- and atg-5/atg-7/beclin-1/LC3 β pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(14): 3435.

[2] Burgoyne DS. Reducing economic burden and improving quality of life in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Manag Care*, 2021, 27(Suppl 3): S53-S58.

[3] Chang KY, Duval S, Badesch DB, et al. Mortality in pulmonary arterial hypertension in the modern era: early insights from the pulmonary hypertension association registry [J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(9): e024969.

[4] Parikh V, Bhardwaj A, Nair A. Pharmacotherapy for pulmonary arterial hypertension [J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(suppl 14): S1767-S1781.

[5] Ruopp NF, Cockrill BA. Diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension: a review [J]. *JAMA*, 2022, 327(14): 1379-1391.

[6] Wilson DW, Segall HJ, Pan LC, et al. Mechanisms and pathology of monocrotaline pulmonary toxicity [J]. *Crit Rev Toxicol*, 1992, 22(5/6): 307-325.

[7] Jin T, Lu J, Lv Q, et al. Farnesyl diphosphate synthase regulated endothelial proliferation and autophagy during rat pulmonary arterial hypertension induced by monocrotaline [J]. *Mol Med*, 2022, 28(1): 94.

[8] Yu M, Wu X, Peng L, et al. Inhibition of Bruton's tyrosine kinase alleviates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension by modulating macrophage polarization [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6526036.

[9] Zhuang W, Lian G, Huang B, et al. Pulmonary arterial hypertension induced by a novel method: twice-intraperitoneal injection of monocrotaline [J]. *Exp Biol Med*, 2018, 243(12): 995-1003.

[10] West J, Hemnes A. Experimental and transgenic models of pulmonary hypertension [J]. *Compr Physiol*, 2011, 1(2): 769-782.

[11] Dumitrascu R, Koebrich S, Dony E, et al. Characterization of a murine model of monocrotaline pyrrole-induced acute lung injury [J]. *BMC Pulm Med*, 2008, 8: 25.

[12] Aliotta JM, Pereira M, Wen S, et al. Exosomes induce and reverse monocrotaline-induced pulmonary hypertension in mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(3): 319-330.

[13] 赵方允, 王紫微, 潘纯红. 野百合碱诱导大鼠肺动脉高压动物模型的制备 [J]. *现代药物与临床*, 2021, 36(10): 2004-2007.

[14] Gewehr DM, Giovanini AF, Mattar BA, et al. Congestive hepatopathy secondary to right ventricular hypertrophy related to monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11891.

[15] Hołda MK, Szczepanek E, Bielawska J, et al. Changes in heart morphometric parameters over the course of a monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension rat model [J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 262.

[16] Nogueira-Ferreira R, Vitorino R, Ferreira R, et al. Exploring the monocrotaline animal model for the study of pulmonary arterial hypertension: a network approach [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2015, 35: 8-16.

[17] Carman BL, Predescu DN, Machado R, et al. Plexiform arteriopathy in rodent models of pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(6): 1133-1144.

[18] Hsu CH, Liu IF, Kuo HF, et al. miR-29a-3p/THBS2 axis regulates PAH-induced cardiac fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10574.

[19] Kay J. *Crotalaria* (monocrotaline) pulmonary hypertension: the fiftieth anniversary [J]. *Chest*, 2017, 152(6): 1117-1119.

[20] Klinger JR, Abman SH, Gladwin MT. Nitric oxide deficiency and endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(6): 639-646.

[21] Shah AJ, Vorla M, Kalra DK. Molecular pathways in pulmonary arterial hypertension [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 10001.

[22] Sanada TJ, Sun XQ, Happé C, et al. Altered TGF β /SMAD

- signaling in human and rat models of pulmonary hypertension: an old target needs attention [J]. *Cells*, 2021, 10(1): 84.
- [23] Aiello RJ, Bourassa PA, Zhang Q, et al. Tryptophan hydroxylase 1 inhibition impacts pulmonary vascular remodeling in two rat models of pulmonary hypertension [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 360(2): 267–279.
- [24] Rong W, Liu C, Li X, et al. Caspase-8 promotes pulmonary hypertension by activating macrophage-associated inflammation and IL-1 β (interleukin 1 β) production [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2022, 42(5): 613–631.
- [25] Tang C, Luo Y, Li S, et al. Characteristics of inflammation process in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111081.
- [26] Wu Y, Cai C, Xiang Y, et al. Naringin ameliorates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension through endothelial-to-mesenchymal transition inhibition [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 696135.
- [27] Zuo W, Liu N, Zeng Y, et al. Luteolin ameliorates experimental pulmonary arterial hypertension via suppressing hippo-YAP/PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 663551.
- [28] Tang Y, Tan S, Li M, et al. Dapagliflozin, sildenafil and their combination in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *BMC Pulm Med*, 2022, 22(1): 142.
- [29] Novelli D, Fumagalli F, Staszewsky L, et al. Monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension; time-course of injury and comparative evaluation of macitentan and Y-27632, a Rho kinase inhibitor [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 865: 172777.
- [30] Lee HJ, Kwon YB, Kang JH, et al. Inhaled bosentan microparticles for the treatment of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *J Control Release*, 2021, 329: 468–481.
- [31] Shi R, Zhu D, Wei Z, et al. Baicalein attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension by inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Life Sci*, 2018, 207: 442–450.
- [32] Mouchaers KT, Schlij I, de Boer MA, et al. Fasudil reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension; comparison with bosentan and sildenafil [J]. *Eur Respir J*, 2010, 36(4): 800–807.
- [33] Galkin A, Sitapara R, Clemons B, et al. Inhaled seralutinib exhibits potent efficacy in models of pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2022, 60(6): 2102356.
- [34] Song ZH, Wang HM, Liu M, et al. Involvement of S100A4/Mts1 and associated proteins in the protective effect of fluoxetine against MCT-Induced pulmonary hypertension in rats [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81(12): 1077–1087.
- [35] Kuropatkina T, Pavlova O, Gulyaev M, et al. Sex-dependent protective effect of combined application of solubilized ubiquinol and selenium on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in wistar rats [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(3): 549.
- [36] Ouyang S, Chen W, Zeng G, et al. Aquaporin-2 expression in the kidney and urine is elevated in rats with monocrotaline-induced pulmonary heart disease [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(1): 300060519894448.
- [37] Jiang DT, Tuo L, Bai X, et al. Prostaglandin E1 reduces apoptosis and improves the homing of mesenchymal stem cells in pulmonary arterial hypertension by regulating hypoxia-inducible factor 1 alpha [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 316.
- [38] Zhang L, Wang Y, Wu G, et al. Blockade of JAK2 protects mice against hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension by repressing pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(2): e12742.
- [39] Hu W, Zhao F, Chen L, et al. NAADP-induced intracellular calcium ion is mediated by the TPCs (two-pore channels) in hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(15): 7485–7499.
- [40] Hoshikawa Y, Nana-Sinkam P, Moore MD, et al. Hypoxia induces different genes in the lungs of rats compared with mice [J]. *Physiol Genomics*, 2003, 12(3): 209–219.
- [41] Tucker A, Migally N, Wright ML, et al. Pulmonary vascular changes in young and aging rats exposed to 5, 486 m altitude [J]. *Respiration*, 1984, 46(3): 246–257.
- [42] Stenmark KR, Fagan KA, Frid MG. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling [J]. *Circ Res*, 2006, 99(7): 675–691.
- [43] Jones RC, Capen DE, Cohen KS, et al. A protocol for phenotypic detection and characterization of vascular cells of different origins in a lung neovascularization model in rodents [J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(3): 388–397.
- [44] Zhang B, Niu W, Dong HY, et al. Hypoxia induces endothelial-mesenchymal transition in pulmonary vascular remodeling [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(1): 270–278.
- [45] Zhang M, Wu Y, Wang M, et al. Genistein rescues hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension through estrogen receptor and β -adrenoceptor signaling [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 58: 110–118.
- [46] Florentin J, Zhao J, Tai YY, et al. Interleukin-6 mediates neutrophil mobilization from bone marrow in pulmonary hypertension [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(2): 374–384.
- [47] Frid MG, McKeon BA, Thurman JM, et al. Immunoglobulin-driven complement activation regulates proinflammatory remodeling in pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201(2): 224–239.
- [48] Parpaleix A, Amsellem V, Houssaini A, et al. Role of interleukin-1 receptor 1/MyD88 signalling in the development and progression of pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2016, 48(2): 470–483.
- [49] Zhang LL, Lu J, Li MT, et al. Preventive and remedial application of etanercept attenuate monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(2): 192–198.
- [50] 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.

- [51] Chen Y, Kuang M, Liu S, et al. A novel rat model of pulmonary hypertension induced by mono treatment with SU5416 [J]. *Hypertens Res*, 2020, 43(8): 754–764.
- [52] Lu Y, Li D, Shan L. microRNA153 induces apoptosis by targeting NFATc₃ to improve vascular remodeling in pulmonary hypertension [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2022; 1–12.
- [53] Suzuki T, Carrier EJ, Talati MH, et al. Isolation and characterization of endothelial-to-mesenchymal transition cells in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314(1): L118–L126.
- [54] Peloquin GL, Johnston L, Damarla M, et al. SU5416 does not attenuate early RV angiogenesis in the murine chronic hypoxia PH model [J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 1–14.
- [55] Bhat L, Hawkinson J, Cantillon M, et al. RP5063, a novel, multimodal, serotonin receptor modulator, prevents Sugen 5416-hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 810: 83–91.
- [56] Toba M, Alzoubi A, O'Neill KD, et al. Temporal hemodynamic and histological progression in Sugen5416/hypoxia/normoxia-exposed pulmonary arterial hypertensive rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306(2): H243–H250.
- [57] Dannewitz Prosseda S, Tian X, Kuramoto K, et al. FHIT, a novel modifier gene in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(1): 83–98.
- [58] Chen S, Wei X, Zhang X, et al. Supplementation with Tex261 provides a possible preventive treatment for hypoxic pulmonary artery hypertension [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1028058.
- [59] Dai Y, Qiu Z, Ma W, et al. Long-term effect of a vaccine targeting endothelin-1 receptor type A in pulmonary arterial hypertension [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 683436.
- [60] Nie X, Tan J, Dai Y, et al. CCL5 deficiency rescues pulmonary vascular dysfunction, and reverses pulmonary hypertension via caveolin-1-dependent BMPR2 activation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 116: 41–56.
- [61] Sitapara R, Sugarraghaa C, Zisman LS. SU5416 plus hypoxia but not selective VEGFR2inhibition with cabozantinib plus hypoxia induces pulmonary hypertension in rats: potential role of BMPR2 signaling [J]. *Pulm Circ*, 2021, 11(3): 1–8.
- [62] Abe K, Shinoda M, Tanaka M, et al. Haemodynamic unloading reverses occlusive vascular lesions in severe pulmonary hypertension [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 111(1): 16–25.
- [63] Al-Qazazi R, Lima PDA, Prisco SZ, et al. Macrophage-NLRP3 activation promotes right ventricle failure in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 206(5): 608–624.
- [64] Chaudhary KR, Deng Y, Yang A, et al. Penetrance of severe pulmonary arterial hypertension in response to vascular endothelial growth factor receptor 2 blockade in a genetically prone rat model is reduced by female sex [J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10(15): e019488.
- [65] Vitali SH, 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.
- [66] Tamosiuniene R, Manouvakhova O, Mesange P, et al. Dominant role for regulatory T cells in protecting females against pulmonary hypertension [J]. *Circ Res*, 2018, 122(12): 1689–1702.
- [67] Happé CM, de Raaf MA, Rol N, et al. Pneumonectomy combined with SU5416 induces severe pulmonary hypertension in rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310(11): L1088–L1097.
- [68] Strauss B, Bisselier M, Obus E, et al. Right predominant electrical remodeling in a pure model of pulmonary hypertension promotes reentrant arrhythmias [J]. *Heart Rhythm*, 2022, 19(1): 113–124.
- [69] Agarwal S, Harter ZJ, Krishnamachary B, et al. Sugen-morphine model of pulmonary arterial hypertension [J]. *Pulm Circ*, 2020, 10(1): 2045894019898376.
- [70] Ferrari TCA, Albricker ACL, Gonçalves IM, et al. Schistosoma-associated pulmonary arterial hypertension: a review emphasizing pathogenesis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 724254.
- [71] Crosby A, Jones FM, 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.
- [72] Graham BB, Mentink-Kane MM, El-Haddad H, et al. Schistosomiasis-induced experimental pulmonary hypertension: role of interleukin-13 signaling [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(3): 1549–1561.
- [73] Kumar R, Mickael C, Kassa B, et al. TGF- β activation by bone marrow-derived thrombospondin-1 causes *Schistosoma*- and hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15494.
- [74] Sibomana JP, Campeche A, Carvalho-Filho RJ, et al. Schistosomiasis pulmonary arterial hypertension [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 608883.
- [75] Kassa B, Lee MH, Kumar R, et al. Experimental *Schistosoma japonicum*-induced pulmonary hypertension [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2022, 16(4): e0010343.
- [76] Bisselier M, Katz MG, Bueno-Beti C, et al. Combination therapy with STAT3 inhibitor enhances SERCA2a-induced BMPR2 expression and inhibits pulmonary arterial hypertension [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9105.
- [77] Katz MG, Fagnoli AS, Gubara SM, et al. The left pneumonectomy combined with monocrotaline or sugen as a model of pulmonary hypertension in rats [J]. *J Vis Exp* 2019(145): 10.3791/59050.
- [78] Zeng GQ, Liu R, Liao HX, et al. Single intraperitoneal injection of monocrotaline as a novel large animal model of chronic pulmonary hypertension in Tibet minipigs [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78965.
- [79] Cao G, Liu C, Wan Z, et al. Combined hypoxia inducible factor-1 α and homogeneous endothelial progenitor cell therapy attenuates shunt flow-induced pulmonary arterial hypertension in rabbits [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2015, 150(3): 621

- 632.
- [80] Hua C, Zhao J, Wang H, et al. Apple polyphenol relieves hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension via pulmonary endothelium protection and smooth muscle relaxation: *in vivo* and *in vitro* studies [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 107: 937-944.
- [81] Holmes D, Corr M, Thomas G, et al. Protective effects of intermedin/adrenomedullin-2 in a cellular model of human pulmonary arterial hypertension [J]. Peptides, 2020, 126: 170267.
- [82] Cai D, Chen SY. Nanoparticle endothelial delivery of PGC-1 α attenuates hypoxia-induced pulmonary hypertension by attenuating EndoMT-caused vascular wall remodeling [J]. Redox Biol, 2022, 58: 102524.
- [83] Wang M, Su L, Sun J, et al. FGF21 attenuates pulmonary arterial hypertension via downregulation of miR-130, which targets PPAR γ [J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(4): 1034-1049.
- [84] Hu S, Zhao Y, Qiu C, et al. RAS protein activator like 2 promotes the proliferation and migration of pulmonary artery smooth muscle cell through AKT/mammalian target of Rapamycin complex 1 pathway in pulmonary hypertension [J]. Bioengineered, 2022, 13(2): 3516-3526.
- [85] Liu J, Ke X, Wang L, et al. Deficiency of cold-inducible RNA-binding protein exacerbated monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension through Caveolin1 and CAVIN1 [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(10): 4732-4743.
- [86] Gorelova A, Berman M, Al Ghoulleh I. Endothelial-to-mesenchymal transition in pulmonary arterial hypertension [J]. Antioxid Redox Signal, 2021, 34(12): 891-914.
- [87] Yu M, Wu X, Wang J, et al. Paeoniflorin attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats by suppressing TAK1-MAPK/NF- κ B pathways [J]. Int J Med Sci, 2022, 19(4): 681-694.
- [88] Cheng X, Wang Y, Chen H, et al. Claudin-1 regulates pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through the activation of ERK1/2 [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 983-990.
- [89] Feng W, Xu X, Zhao G, et al. EETs and CYP2J2 inhibit TNF- α -induced apoptosis in pulmonary artery endothelial cells and TGF- β 1-induced migration in pulmonary artery smooth muscle cells [J]. Int J Mol Med, 2013, 32(3): 685-693.

[收稿日期]2023-03-01

《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://zgswdw.cnjournals.com>

期待您的来稿!