

本文引用: 吴献贤, 刘星, 杨志伟. 主动脉瘤动物模型研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(7): 560-567. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.07.002.

· 专家论坛 ·

[文章编号] 1007-3949(2022)30-07-0560-08

主动脉瘤动物模型研究进展

吴献贤^{1,2}, 刘星^{1,2}, 杨志伟^{1,2}

(1. 中国医学科学院医学实验动物研究所 北京协和医学院比较医学中心 国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室, 2. 北京市人类重大疾病实验动物模型工程技术研究中心, 北京市 100021)

[专家简介] 杨志伟, 博士, 中国医学科学院医学实验动物研究所研究员, 博士研究生导师, 主要从事心血管和代谢性疾病发病机制研究、人类疾病实验动物模型的制作与分析, 以及实验动物质量控制研究。建立了物理、化学、手术、饮食诱导及基因修饰高血压、心脏病、主动脉瘤、非酒精性脂肪肝、糖尿病等多种大/小鼠动物模型及相关评价技术体系。在 *Advanced Science*、*Hypertension*、*JAHA*、*Redox Biology*、*Am J Physiol* 等杂志上共发表 SCI 论文 40 余篇; 主持国家“十一五”和“十二五”科技重大专项、国家自然科学基金面上项目和国际合作项目、医科院医学与健康科技创新工程等多项科研课题。主编《比较生理学》, 参与编写《高血压病学》《小鼠基因工程与医学应用》等专业书刊。兼中国实验动物学会理事、中国实验动物学会实验动物模型鉴定与评价工作委员会副主任委员等。



[关键词] 主动脉瘤; 动物模型; 非夹层主动脉瘤动物模型; 夹层主动脉瘤动物模型

[摘要] 主动脉瘤是一种多因素影响、具有潜在破裂风险的主动脉病理扩张性疾病。根据发病位置主动脉瘤可分为胸主动脉瘤和腹主动脉瘤。胸主动脉瘤的发生与年龄和性别相关性不大, 而与遗传因素高度相关; 腹主动脉瘤的发生与年龄、性别、动脉粥样硬化等相关, 但与遗传关联性较弱。主动脉瘤一般具有发病隐匿和破裂致死等特征, 是严重威胁人类生命健康的慢性疾病, 但其发病机制尚不完全清楚。主动脉瘤动物模型是研究人主动脉瘤的重要工具, 对阐释主动脉瘤的病理生理学机制、研发和评价主动脉瘤的治疗药物都具有重要意义。当前关于腹主动脉瘤的动物模型有很多, 也比较成熟, 但是关于胸主动脉瘤的动物模型较少。实际上, 多种方法诱导的腹主动脉瘤模型中, 也会出现胸主动脉瘤, 只不过发病率不同, 胸主动脉瘤的发病率较低。本文将主动脉瘤动物模型归纳为非夹层主动脉瘤动物模型和夹层主动脉瘤动物模型, 并简要综述这两类模型的构建方法及表型, 为人类动脉瘤的防治研究提供参考。

[中图分类号] R331; R5

[文献标识码] A

Research progress of animal models of aortic aneurysm

WU Xianxian^{1,2}, LIU Xing^{1,2}, YANG Zhiwei^{1,2}

(1. Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College & Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, National Health Commission, Beijing 100021, China; 2. Beijing Engineering Research Center for Laboratory Animal Models of Human Critical Diseases, Beijing 100021, China)

[KEY WORDS] aortic aneurysm; animal model; non-dissected AA animal model; dissected AA animal model

[ABSTRACT] Aortic aneurysm (AA) is a pathological dilatation disease of the aorta that is affected by multiple factors and has a potential risk of rupture. AA can be divided into thoracic aortic aneurysm (TAA) and abdominal aortic aneurysm (AAA) based on the location of aneurysm. The occurrence of TAA is highly relevant to genetic factors, and shows no age and gender differences. In contrast, the occurrence of AAA is related to age, gender, and atherosclerosis, but is not related with genetic factors. Most AA patients are asymptomatic, and generally have the characteristics of insidious

[收稿日期] 2021-09-15

[修回日期] 2021-12-01

[基金项目] 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2021-I2M-1-072); 国家自然科学基金项目(81800402)

[作者简介] 吴献贤, 助理研究员, 研究方向为心血管疾病发病机制, E-mail: wuxianxian2017@163.com。通信作者杨志伟, 研究员, 研究方向为心血管疾病发病机制, E-mail: yangzhiwei@cnilas.pumc.edu.cn。

onset and rupture to death. Therefore, AA is a serious life-threatening chronic disease, but its pathogenesis is not fully understood. The animal model of AA is of great significance to investigate the underlying pathophysiological mechanism, to develop and evaluate therapeutic drugs. Currently, there are many well-established animal models of AAA, but less of TAA. In fact, many established methods to induce AAA can also induce TAA. This review describes the AA animal models classified into non-dissected AA animal model and dissected AA animal model, and discusses the development methods and phenotypes of them, which may help us to find more efficient and reliable solutions against human aortic aneurysm.

动脉瘤在形态上被定义为动脉壁平行性的局部丧失,动脉直径增加,当动脉直径超过正常直径的 50%,即可定义为主动脉瘤(aortic aneurysm, AA)。根据发病位置主动脉瘤可分为胸主动脉瘤(thoracic aortic aneurysm, TAA)和腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysm, AAA)。腹主动脉瘤的危险因素包括动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、性别(男性发病率高于女性)和年龄(老龄者高发),但受遗传因素影响较小;而胸主动脉瘤受遗传因素影响较大,几乎不受心血管危险因素的影响。动脉瘤破裂是主动脉瘤最危险的并发症,是导致患者死亡的主要原因。腹主动脉瘤的病理生理学机制主要包括细胞外基质降解、平滑肌细胞凋亡和大量炎症细胞浸润;胸主动脉瘤的病理机制则主要是由于特定基因的点突变引起的弹力纤维降解、血管平滑肌细胞增殖和少量的炎症细胞浸润。当前,开放手术修复和血管内修复是治疗主动脉瘤的常用方法,尚无用于治疗这种疾病的有效药物。阐明这种疾病的分子基础,找到新的治疗靶点,开发有效抑制动脉瘤发生发展的有效药物仍是动脉瘤研究的重点问题。而主动脉瘤动物模型则是研究动脉瘤发病机制和治疗策略的重要工具。

本文将主动脉瘤动物模型归纳为两类,即非夹层主动脉瘤动物模型和夹层主动脉瘤动物模型。非夹层主动脉瘤只是主动脉的局限性扩张,而夹层动脉瘤是一种特殊的主动脉瘤,在主动脉壁扩张的同时,主动脉内膜出现破口,血液通过破口冲击到主动脉中层,形成夹层血栓。非夹层主动脉瘤动物模型包括弹性蛋白酶诱导的模型、氯化钙诱导的模型、脱细胞主动脉移植模型及囊状动脉瘤动物模型;夹层主动脉瘤动物模型包括血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)诱导的动物模型、 β -氨基丙腈(β -aminopropionitrile, BAPN)诱导的动物模型、醛固酮受体激动剂加高盐诱导的动物模型及基因编辑的动脉瘤动物模型。基因编辑的动脉瘤动物模型主要针对胸主动脉瘤,包括原纤维蛋白 1(fibrillin 1, FBN1)基因突变模型、转化生长因子 β 受体(trans-

forming growth factor- β receptor, TGFBR)1 和 2 基因突变动物模型等。尽管没有模型能够完美地模拟人类动脉瘤的所有病理生理状态,但是它们的多样性使研究人员可以专注于动脉瘤发生发展涉及的每种特定机制。本文就目前主动脉瘤动物模型研究的最新进展进行综述。

1 非夹层主动脉瘤动物模型

1.1 啮齿类动物

大鼠和小鼠是研究主动脉瘤发病机制的理想实验动物,主要原因是其体型小、寿命短、繁殖能力强和价格便宜。啮齿类动物可以通过多种不同的方式诱导主动脉瘤的形成,包括显微手术操作、药物诱导和基因修饰等。不同方式诱导的主动脉瘤的特点及与人主动脉瘤病理特征的比较见表 1。

1.1.1 弹性蛋白酶诱导的模型 弹性蛋白酶诱导的模型是将猪胰弹性蛋白酶(porcine pancreatic elastase, PPE)加压输注到手术分离的主动脉段中。该模型诱导动脉瘤发生的机制是弹性蛋白酶能够穿透中膜层,损伤弹性纤维,引起动脉扩张。该模型的建立最初见于 Wistar 大鼠^[1]。起初, PPE 灌注持续时间为 2 h,但有研究发现缩短灌注时间和游离动脉长度并没有影响腹主动脉瘤的形成^[2]。该大鼠模型经过改进,已经在小鼠上应用,操作步骤主要是在髂动脉分支处置入导管,并通过远侧缝合线游离腹主动脉节段,将 PPE 灌注内腔中并孵育 5 min,然后恢复血流^[3]。在病理表现方面,灌注后的第 1 周,血管处于稳定的扩张阶段,在此期间血管中膜层的变化很小,弹力纤维保持完整;灌注后的第 2 周,弹力层出现广泛的破坏,血管外膜出现明显的炎症细胞浸润,主要是巨噬细胞和中性粒细胞。弹性蛋白酶诱导的腹主动脉瘤模型在发病机制方面和人主动脉瘤有相似之处,包括炎症细胞浸润和动脉中膜降解,但也有一些不同,比如在该模型中动脉瘤破裂发生率较低,并不会出现主动脉夹层、血栓、动脉粥样硬化和动脉持续性扩张。近年来,

有研究采用 C57/BL6 小鼠,将弹性蛋白酶灌注和 Ang II 输注进行组合优化,开发出了一种成瘤率稳定、瘤破裂率高的小鼠腹主动脉瘤模型^[4]。

表 1. 不同方式诱导的主动脉瘤动物模型和人动脉瘤的特点比较

Table 1. Comparison of characteristics between animal models of aortic aneurysm induced by different methods and human aneurysms

特征	人主动脉瘤	弹性蛋白酶灌注	异种移植	氯化钙孵育	Ang II 灌注	BAPN 饮水	醛固酮受体激动剂加高盐
成瘤部位	胸主动脉、腹主动脉、降主动脉	腹主动脉(肾下腹主动脉)	腹主动脉(肾下腹主动脉)	腹主动脉(肾下腹主动脉)	腹主动脉(肾上腹主动脉)	胸主动脉	腹主动脉、胸主动脉
主动脉破裂	+	-	-	-	+	+	+
动脉夹层	+	-	-	-	+	+	+
持续性扩张	+	-	-	-	-	-	-
腔内血栓	+	+	+	-	-	-	-
壁内血栓	+	-	-	-	+	-	+
动脉粥样硬化	+	-	-	-	+	-	-
中膜层降解	+	+	+	+	+	+	+
白细胞浸润	+	+	+	+	+	-	+
发病机制	基因突变、细胞外基质降解、平滑肌细胞缺失等	直接损伤弹力纤维	主动脉细胞外基质的物种间免疫反应	可溶性钙离子通过细胞间电导向内转运,并在血管平滑肌细胞碱性磷酸酶的催化下进一步转化为磷酸钙,磷酸钙沉淀在弹性网络上,导致弹性纤维断裂	Ang II 灌注后,动脉内膜出现撕裂,血液进入动脉壁,引起壁内水肿,最终导致动脉扩张	BAPN 是赖氨酰氧化酶类(lysyl oxidase, LOX)的抑制剂,LOX 介导弹性蛋白和胶原蛋白交链	年龄依赖性、醛固酮受体激活

注: +代表“有”, -代表“无”。

1.1.2 氯化钙诱导的模型 将浸泡在氯化钙溶液中的纱布或氯化钙浓缩溶液直接敷于主动脉外膜表面可以诱导主动脉瘤^[5]。该方法最初应用于兔颈动脉^[6],目前已应用于小鼠主动脉^[7]。Gertz 等^[6]研究发现,在兔体内用 0.5 mol/L 氯化钙溶液处理兔颈总动脉 15 min 可以诱导炎症反应和动脉瘤,观察到不同程度的内膜纤维增生和中膜组织紊乱,内膜和中膜的弹性网络破裂以及炎症细胞浸润。Chiou 等^[7]采用氯化钙浸润过的棉纱条处理 C57/BL6 小鼠腹主动脉 10 min,结果发现氯化钙溶液处理第 1 周主动脉直径并没有明显增加;但有研究报道术后 3 天可见内膜和中膜层炎症细胞浸润,术后 1 周出现了弹性蛋白降解^[8];第 2 周主动脉直径增加了 64%,第 3 周增加了 110%。采用棉纱条给予氯化钙的优势在于减少氯化钙溶液对周围组织的毒性,更好地控制血管与氯化钙溶液的接触时间。该化学诱导模型的确切病理生理机制还不清楚。目前认为钙离子与弹性蛋白具有高亲和力^[9],施用氯化钙后,可溶性离子钙通过细胞间电导向内转运,并在血管平滑肌细胞碱性磷酸酶的催化下进一步转化为磷酸钙,磷酸钙沉淀在弹性网络上,导

致弹力纤维断裂。运用该方法在肾下腹主动脉中诱发的动脉瘤显示出人类腹主动脉瘤的某些特征^[6],例如钙化、弹性蛋白吸收、血管平滑肌细胞凋亡、主动脉组织中蛋白水解活性增高以及炎症细胞浸润。但该方法诱导的腹主动脉瘤模型不会出现破裂,也不会形成腔内血栓或者壁内血栓,这和人腹主动脉瘤的病理特征有一定差别。

1.1.3 脱细胞主动脉移植模型 脱细胞主动脉移植模型的原理是将豚鼠肾下主动脉使用十二烷基硫酸钠进行脱细胞处理后以原位显微手术移植到 Lewis 大鼠中^[10]。该模型基于血管平滑肌细胞抑制和种间细胞外基质免疫原性^[11]。脱细胞处理导致动脉壁三层细胞结构完全丧失,但细胞外基质的主要成分得以保留,包括内侧弹性蛋白和胶原网络。脱细胞处理后的主动脉成为免疫反应的靶点,导致细胞外基质降解和进展性动脉扩张,形成梨状动脉瘤。在植入后 3~4 周内动脉瘤开始形成,并形成富含胶原的腔内血栓。在早期,动脉外膜出现炎症细胞浸润,中膜发生细胞外基质破坏和弹性蛋白降解。随后,外膜白细胞浸润减少,主动脉壁出现了富含胶原、成纤维细胞和 T 淋巴细胞的瘢痕组

织^[11]。此愈合过程防止了腹主动脉瘤的破裂。该模型强调了在人腹主动脉瘤中观察到的细胞外基质免疫驱动蛋白水解和适应性免疫的作用^[12]。该模型可用于研究同源血管平滑肌细胞和内皮细胞对腹主动脉瘤的保护作用,以及血管平滑肌细胞抑制基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的能力,也可用于研究丝氨酸和 MMP 及其抑制剂的作用^[13]。

1.2 非啮齿类动物

1.2.1 主动脉补片或移植插入模型

在大型动物中最常用的模型是应用于主动脉前壁的外科缝合补片。Boudghène 等^[14]在绵羊颈内静脉和肾下动脉之间采用端侧吻合的方式建立了腹主动脉瘤。这种囊状腹主动脉瘤维持了主动脉旁支通畅,参与血管内主动脉瘤修复后的内漏。类似的模型使用了生物的或假性的动脉补片^[15]。除此之外,植入预制的 Dacron 动脉瘤性主动脉移植物也可以模拟动脉瘤性主动脉。遗憾的是,这种动脉瘤动物模型并没有显示出人动脉瘤的重要特征,例如动脉粥样硬化、中膜层降解、中膜和外膜淋巴细胞浸润。

1.2.2 弹性蛋白酶灌注模型

犬主动脉内 PPE 灌注可引起内侧弹性板层破裂和随后的动脉瘤扩张^[16]。尽管如此,仍需要高剂量的 PPE,并且形成的动脉瘤不稳定。为了避免剖腹手术和高剂量的弹性蛋白酶,Strindberg 等^[17]将主动脉内 PPE 灌注、气囊血管成形术和胶原酶灌注相结合用于诱导犬腹主动脉瘤。然而,使用弹性蛋白酶或弹性蛋白酶-胶原酶灌注未能诱导主动脉的持续性扩张,因此,该模型的可靠性和再现性较差。最近的一项研究表明,在猪主动脉中孵育氯化钙引起的主动脉扩张比 PPE 灌注引起的扩张更为严重,并伴有内膜增生、中膜弹力纤维破裂和无定形基质沉积^[18]。虽然大动物在动脉瘤的研究中并非首选,但大动物在动脉瘤的研究中有很多优势。例如,猪的动脉形态与人类类似,而绵羊的凝血途径更接近于人类;犬的外周动脉大,能够延长麻醉;灵长类动物的物种与人类密切相关,并具有与人类相似的凝血系统和纤维蛋白溶解系统^[19]。然而,购买和饲养大动物的成本以及伦理方面的考虑限制了它们在主动脉瘤研究中的应用。

2 夹层主动脉瘤动物模型

2.1 啮齿类动物模型

2.1.1 AngII诱导的动物模型

AngII在 ApoE^{-/-}或

者 LDLR^{-/-}小鼠中诱导的腹主动脉瘤模型是当前应用最为广泛的动物模型。Daugherty 等^[20]最初于 2000 年描述了这种模型,将 Ang II 以缓释泵的形式植入到 6 月龄雄性 ApoE^{-/-}小鼠中,Ang II 的给药剂量是 1 μg/(kg·min),作用时间为 28 天;Ang II 输注并未改变小鼠血压、体质量和血清胆固醇水平,但是加重了动脉硬化病变,诱导了小鼠腹主动脉瘤的形成;形成的主动脉瘤有两个主要的特征:完整的动脉被重塑外膜所包围和中膜破裂并伴有明显的扩张。有研究表明,在年老的 C57/BL6 小鼠中输注 Ang II 同样可以诱导小鼠腹主动脉瘤的形成^[21],并且成瘤率高达 86.4%,明显高于年轻小鼠中的 13%,说明年龄是促进动脉瘤发生发展的一个重要因素。在病理生理学方面,Ang II 输注可引起内膜撕裂,导致血液渗入主动脉壁而形成壁内血肿,最终导致外部扩张。这个阶段的特征是膜吞噬细胞聚集和动脉夹层、弹性网络降解以及 T 和 B 淋巴细胞浸润^[22]。Ang II 输注模型的优点是操作简单,不需要进行手术。Ang II 诱导的模型和人主动脉瘤相比,优点是出现了主动脉中膜降解、主动脉扩张、伴有动脉粥样硬化和壁内血栓的形成^[23];缺点是 Ang II 诱导的动物模型中主动脉夹层和破裂的发生率明显高于人类,并且在该模型中动脉瘤的形成部位在肾上腹主动脉,而人类腹主动脉瘤通常出现在肾下腹主动脉^[24-25],这可能是因为肾上和肾下腹主动脉阶段基因表达不同导致其对 Ang II 的反应不同^[26]。在模型制作方面应注意两点:一是动物需要 ApoE^{-/-}或者 LDLR^{-/-}的遗传背景,或者选用年老的小鼠;二是需要对小鼠进行皮下埋泵。Ang II 诱导的动脉瘤模型目前仅见于小鼠。

2.1.2 BAPN 诱导的动物模型

BAPN 是 LOX 的强大抑制剂,LOX 是由血管平滑肌细胞释放的一种酶,参与前胶原和原弹性蛋白的共价连接,产生不溶物原纤维^[27]。LOX 通过调控不溶性细胞外基质在血管发育中起关键作用。小鼠中 LOX 基因组失活可导致动脉瘤形成^[28]。长期在大鼠和小鼠体内施用 BAPN 会诱发主动脉夹层动脉瘤^[29-30]。BAPN 预处理后输注 Ang II,动脉瘤的发生率达到 100%,并频繁发生破裂。组织学和免疫组织化学检测可见中膜变性、弹力纤维破坏和大量中性粒细胞浸润。高水平的白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)和 MMP-9 与主动脉破裂有关^[31]。BAPN 诱导的动脉瘤的发病部位以胸主动脉居多,腹主动脉节段较为少见。但是 BAPN 和 AngII 则会导致主动脉多个部位出现瘤性扩张。低剂量 BAPN 饮水(1g/kg/day)4

周联合 Ang II [1 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$] 埋泵输注 24 h, 可在 C57/BL6 小鼠中建立广泛的主动脉夹层瘤模型, 病理表现为腔内血肿、动脉撕裂和假性血栓, BAPN 加 Ang II 联合处理组动脉瘤破裂发生率高达 79%; 而单独给予 BAPN 处理, 只能导致 87% 的 C57/BL6 小鼠出现胸主动脉夹层瘤, 其中 37% 的小鼠会发生自发性破裂, 并且自发性破裂的小鼠未出现收缩压升高的现象^[32]。BAPN 诱导的胸主动脉夹层瘤使用的是 3 周龄的雄性小鼠, 只有在幼年的动物中才能成瘤, 在成年的动物中给予 BAPN 处理可诱导主动脉硬化和弹力纤维降解, 并不能诱导动脉瘤和夹层的形成。

2.1.3 醛固酮受体激动剂加高盐诱导的动物模型

乙酸脱氧皮质甾酮 (deoxycorticosterone acetate, DOCA) 是葡萄糖和盐皮质激素受体 (mineralocorticoid receptor, MCR) 的配体, 是醛固酮的前体。在人类中, 原发性醛固酮增多症是主动脉夹层的危险因素^[33]。Liu 等^[34]于 2013 年发现醛固酮受体激动剂 (醛固酮或 DOCA) 加高盐饮水能够诱导小鼠动脉瘤的发生, 动脉瘤不仅出现在肾上腹主动脉节段, 而且也可见于胸主动脉处, 而单独给予高盐或者单独给予醛固酮受体激动剂并不能产生相同的效果。该方法诱导的腹主动脉瘤的发生率为 62%, 胸主动脉瘤的发生率为 44%。该模型中使用的小鼠是老龄 (10 月龄) 的 C57BL/6J 小鼠, DOCA 缓释片的规格是 50 mg, 21 天释放量, 醛固酮的给药剂量是 200 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。小鼠麻醉后将 DOCA 药片植入背部, 同时给予高盐 (含有 0.9% NaCl 和 0.2% KCl) 饮水 3 周。醛固酮激动剂加高盐诱导的动脉瘤呈年龄依赖性, 因为 10 周龄的 C57BL/6 小鼠尽管在给予同等剂量的醛固酮加盐水喂养 3 周后依然不能形成动脉瘤。在病理特征方面, 醛固酮激动剂加高盐处理能够促进弹性蛋白和胶原降解、增加 MMP 活性、促进血管巨噬细胞和中性粒细胞浸润以及平滑肌细胞凋亡等, 这些特征和人主动脉瘤有很多相似之处。该模型强调了盐皮质激素受体激活在主动脉瘤发生发展中的作用, 并暗示了醛固酮受体拮抗剂在治疗某些动脉瘤中的作用^[35-36]。最近的研究表明, P-选择素糖蛋白配体 1 (P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1) 促进了 DOCA 加盐诱导的小鼠动脉瘤的形成, PSGL-1 敲除能明显降低小鼠动脉瘤的成瘤率和死亡率; 进一步的研究发现, PSGL-1 敲除抑制了白细胞和内皮细胞的黏附, 继而抑制了炎症细胞的浸润和炎症因子的表达, 表明炎症反应在

DOCA 加盐诱导的动脉瘤中的重要作用^[37]。但具体何种类型炎症细胞发挥主要作用, 还有待进行详细的研究和探索。

2.1.4 基因编辑动脉瘤动物模型

基于基因编辑的动脉瘤模型主要是胸主动脉瘤动物模型。遗传因素是胸主动脉瘤发生发展的重要因素, 在特定基因突变条件下, 胸主动脉瘤的发病机制主要归因于细胞外基质降解、平滑肌细胞收缩功能障碍及转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 信号通路失调。研究表明, 超过 20% 的胸主动脉瘤患者有疾病家族史, 并且可以分为综合征表现 (系统结缔组织病变) 和非综合征表现 (孤立的家族性胸主动脉瘤) 两种类型^[38]。目前已发现 20 多个引起胸主动脉瘤及夹层的致病基因, 包括细胞外基质调节的相关基因, 如 FBN1 和微纤维相关蛋白 5 (microfibril associated protein 5, MFAP5); 平滑肌细胞收缩或代谢相关基因, 如肌球蛋白重链 11 (myosin heavy chain 11, MYH11) 和肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MYLK); 经典的 TGF- β 信号通路相关基因, 如 TGFB1、TGFB2、TGFB3 和 SMAD3^[39]。不同基因相关的突变和疾病见表 2。

表 2. 不同基因突变导致的胸主动脉瘤相关疾病的比较

Table 2. Comparison of thoracic aortic aneurysm related diseases caused by different gene mutations

基因	相关疾病	突变位点	研究人群
FBN1	马凡综合征、家族性胸主动脉瘤和夹层	c. 2262A>G	澳大利亚人、欧洲人
MFAP5	家族性胸主动脉瘤和夹层	c. 62G>T	法国人、得克萨斯州人
ACTA2	家族性胸主动脉瘤和夹层	c. 115C>T	德国人
MYH11	家族性胸主动脉瘤和夹层	c. 3791 T>C	高加索人
TGFB2	洛伊迪茨综合征 2 型	c. 1524G>A	法国人
TGFB1	洛伊迪茨综合征 1 型	c. 1524G>A	西班牙人
TGFB3	洛伊迪茨综合征 4 型	c. 294_308del	未提及
SMAD3	洛伊迪茨综合征 3 型	c. 859C>T	荷兰人
MYLK	家族性胸主动脉瘤	c. 5275 T>C	高加索人

(1) FBN1 基因突变 FBN1 基因编码的原纤维蛋白是一种细胞外基质糖蛋白, 是钙结合微纤维的重要结构组成成分。FBN1 基因突变最早发现于马凡综合征。马凡综合征是一种遗传性结缔组织病变, 累及系统主要包括骨骼、眼和心血管系统 (主

动脉根部瘤和主动脉夹层、二尖瓣疾病)。采用基因重组的方法对小鼠 FBN1 基因进行突变,可以诱导小鼠胸主动脉瘤和夹层的形成。这些模型包括完全的 FBN1 基因缺失、纯合亚等位突变(mgR/mgR)、错义突变(C1039G/+、W1572C/+、D1545+)。虽然 FBN1 基因的纯合敲除小鼠(FBN1 基因第 19~24 个外显子的同框敲除)会出现胸主动脉瘤和夹层的表型,但是出生后的过早死亡,使其不适用作为模型使用^[40]。而采用新霉素抑制野生型 FBN1 基因的表达至正常的 20% 构建的 FBN1 低表达小鼠(FBN1 mgR),同样出现了马凡综合征的表型。mgR/mgR 纯和突变小鼠出生时动脉结构正常,在出生 6 周后出现动脉中膜钙化,8 周后出现中膜细胞坏死、单核细胞浸润,形成主动脉瘤,2~6 个月死亡。mgR/mgR 小鼠被用于马凡综合征、胸主动脉瘤及夹层的动物模型研究。

(2) TGFBR1、TGFB2 和 TGFBR2 基因突变

在人类中,TGFBR1、TGFB2 和 TGFBR2 基因突变和洛伊茨综合征(Loeys-Dietz 综合征)相关。Loeys-Dietz 综合征的骨骼系统和心血管系统病变与马凡综合征相似。在小鼠中,TGFBR1 和 TGFBR2 纯合子敲除会引起胚胎致死^[41-42],平滑肌细胞的特异性敲除也会引起胚胎致死^[43]。而在成年小鼠中,采用他莫昔芬诱导平滑肌细胞特异性 TGFBR1 和 TGFBR2 的敲除则会快速引起胸主动脉扩张和主动脉瘤形成。但 TGFBR2 和 TGFBR1 缺失在动脉瘤成瘤率和动脉病理改变程度上差异较大。其中,平滑肌细胞特异性 TGFBR1 缺失引起的动脉病变更为严重,成瘤率较高(升主动脉成瘤率为 100%,降主动脉成瘤率为 33%,肾上腺腹主动脉成瘤率为 39%),动脉瘤破裂率较高(为 29%)。平滑肌细胞特异性 TGFBR2 缺失的小鼠并未出现动脉瘤破裂死亡的情况,动脉扩张程度不太明显,成瘤率只有 6%。这些数据表明,相较于 TGFBR2,TGFBR1 似乎在胸主动脉瘤的发病机制中发挥了更为重要的作用^[44]。有研究显示,TGFB2 的杂合子小鼠在 8 月龄的时候出现了主动脉瓣和主动脉根部的扩张,而远端的升主动脉则保持正常^[45]。可见,TGF- β 信号通路相关蛋白在胸主动脉瘤的发生中都起着不可或缺的作用。

2.2 非啮齿类动物模型

在过去 25 年中,大量研究夹层动脉瘤动物模型用于测试血管内疗法的可行性。第一个大动物夹层动脉瘤模型是用犬进行构建的,在降主动脉近端到远端 4 cm 处将主动脉外膜切开,然后将气囊缝合

到入口和折返处。随后的许多模型都基于该技术^[46]。夹层形成的假管腔最多可以保持通畅 2 年,并且在 tunica 介质层中创建的夹层类似于人类 B 型夹层^[47]。如在人类中观察到,折返撕裂也可以构建夹层模型。夹层出现 3 个月后,在假管腔中观察到胶原纤维积聚。这种扩散随着时间的增加而增加,直到 1 年后达到最大值^[48]。带有可生物降解支架的内侧骨增强了内侧主动脉壁的再生和强化。动物模型的局限性在于假管腔中的凝块通常不存在,典型的危险因素和内侧变性也不存在。

3 小结与展望

通过对主动脉瘤动物模型的制作方法、发病机制与人主动脉瘤相似之处进行分析,发现不同方法构建的模型都有其相应的优点和缺点,有的模型需要选用年老的老鼠(醛固酮受体激动剂加高盐诱导的动物模型),有的模型需要选用年轻的老鼠(BAPN 诱导的胸主动脉瘤模型),有的模型需要进行手术操作,有的模型只能诱导胸主动脉瘤,有的模型需要特殊基因工程动物(ApoE^{-/-}加 Ang II 诱导),也有的模型将两种及以上的刺激因素进行组合诱导,实际应用中要根据不同的研究目的选择合适的动物模型。虽然理想的主动脉瘤动物模型应该再现人类主动脉瘤的组织学特征和发病进程,但是目前没有一种动物模型能够完全和人类主动脉瘤的特征相吻合。人主动脉瘤的主要特征包括主动脉持续性扩张、主动脉破裂、主动脉夹层、腔内血栓、动脉粥样硬化、中膜层降解和炎症细胞浸润。当前的实验动物模型都在试图反映决定动脉瘤发生发展的主要病理生理学因素,包括细胞外基质的遗传性或获得性缺陷、血管平滑肌细胞的丧失、以及先天性或适应性免疫应答。然而对于大多数动物模型而言,初始刺激停止几周后,已经形成的主动脉瘤都会趋于稳定和愈合,无法反映人主动脉瘤持续性扩张的特性。另外,弹性蛋白酶灌注、氯化钙孵育和异种移植的模型不会出现主动脉破裂、动脉夹层、动脉粥样硬化和壁内血栓。Ang II 输注的模型会出现主动脉破裂、动脉夹层、动脉粥样硬化、壁内血栓,但动脉不会持续扩张,也无腔内血栓形成。醛固酮受体激动剂加高盐诱导的模型反映了人类动脉瘤和年龄的相关性,也会出现主动脉破裂、动脉夹层、动脉粥样硬化、壁内血栓,但并不会出现动脉粥样硬化。BAPN 诱导的胸主动脉瘤的形成,虽然操作简单,并且出现了主动脉瘤的破裂和

主动脉夹层,但不会出现主动脉腔内血栓、动脉粥样硬化和炎症细胞浸润。如何优化现有动脉瘤动物模型,以及进一步研究、完善动脉瘤动物模型制作方法,建立操作简单、成瘤率高、稳定性好、更能模拟人类动脉瘤特点的动物模型仍是今后该领域研究的重点和难点问题。

尽管大小鼠模型在研究动脉瘤发病机制方面具有独特的优势,比如操作简单、成本较低等,但是从比较医学的角度看,大小鼠主动脉的解剖结构、生理功能都和人的差异较大,导致动脉瘤领域的基础研究很难向临床应用方面转化。而猪等大动物心血管生理、解剖、血流灌注分布、基础代谢率等与人相似,是开展动脉瘤疾病研究的理想物种。采用大动物构建动脉瘤动物模型并完善其制作方法是动脉瘤动物模型领域的一个发展方向,也是促进基础研究向临床应用转化的重要工具。

[参考文献]

- [1] ANIDJAR S, SALZMANN J L, GENTRIC D, et al. Elastase-induced experimental aneurysms in rats[J]. *Circulation*, 1990, 82(3): 973-981.
- [2] DELBOSC S, ROUER M, ALSAC J M, et al. Elastase inhibitor AZD9668 treatment prevented progression of experimental abdominal aortic aneurysms[J]. *J Vasc Surg*, 2016, 63(2): 486-492.
- [3] PYO R, LEE J K, SHIPLEY J M, et al. Targeted gene disruption of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) suppresses development of experimental abdominal aortic aneurysms[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(11): 1641-1649.
- [4] YUE J, YIN L, SHEN J, et al. A modified murine abdominal aortic aneurysm rupture model using elastase perfusion and angiotensin II infusion[J]. *Ann Vasc Surg*, 2020, 67: 474-481.
- [5] 陈 锋, 朱鲜花, 张振东, 等. 钙盐浸润法制备腹主动脉瘤模型[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(2): 103-106.
CHEN F, ZHU X H, ZHANG Z D, et al. Use calcium salts deposition method to establish abdominal aortic aneurysm model[J]. *Chin J Arterioscler*, 2012, 20(2): 103-106.
- [6] GERTZ S D, KURGAN A, EISENBERG D. Aneurysm of the rabbit common carotid artery induced by periarterial application of calcium chloride *in vivo*[J]. *J Clin Invest*, 1988, 81(3): 649-656.
- [7] CHIOU A C, CHIU B, PEARCE W H. Murine aortic aneurysm produced by periarterial application of calcium chloride[J]. *J Surg Res*, 2001, 99(2): 371-376.
- [8] LONGO G M, XIONG W, GREINER T C, et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 work in concert to produce aortic aneurysms[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(5): 625-632.
- [9] YU S Y, BLUMENTHAL H T. The calcification of elastic fiber. 4. epinephrine and beta-aminopropionitrile-induced calcification in animal aortas[J]. *J Atheroscler Res*, 1965, 5(2): 159-173.
- [10] ALLAIRE E, GUETTIER C, BRUNEVALL P, et al. Cell-free arterial grafts: morphologic characteristics of aortic isografts, allografts, and xenografts in rats[J]. *J Vasc Surg*, 1994, 19(3): 446-456.
- [11] ALLAIRE E, BRUNEVALL P, MANDET C, et al. The immunogenicity of the extracellular matrix in arterial xenografts[J]. *Surgery*, 1997, 122(1): 73-81.
- [12] ALLAIRE E, MUSCATELLI-GROUX B, GUINAULT A M, et al. Vascular smooth muscle cell endovascular therapy stabilizes already developed aneurysms in a model of aortic injury elicited by inflammation and proteolysis[J]. *Ann Surg*, 2004, 239(3): 417-427.
- [13] ALLAIRE E, MUSCATELLI-GROUX B, MANDET C, et al. Paracrine effect of vascular smooth muscle cells in the prevention of aortic aneurysm formation [J]. *J Vasc Surg*, 2002, 36(5): 1018-1026.
- [14] BOUDGHÈNE F P, SAPOVAL M R, BONNEAU M, et al. Abdominal aortic aneurysms in sheep: prevention of rupture with endoluminal stent-grafts[J]. *Radiology*, 1998, 206(2): 447-454.
- [15] PAVCNIK D, ANDREWS R T, YIN Q, et al. A canine model for studying endoleak after endovascular aneurysm repair[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2003, 14(10): 1303-1310.
- [16] BOUDGHÈNE F, ANIDJAR S, ALLAIRE E, et al. Endovascular grafting in elastase-induced experimental aortic aneurysms in dogs: feasibility and preliminary results[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 1993, 4(4): 497-504.
- [17] STRINDBERG G, NICHOLS P, RICCI M, et al. Experimental modifications to a canine infrarenal aortic aneurysm model for the validation of endovascular stent-grafts: an exploratory study[J]. *J Invest Surg*, 1998, 11(3): 185-197.
- [18] LEDERMAN A, SALITURE N F, FERREIRA R, et al. Endovascular model of abdominal aortic aneurysm induction in swine[J]. *Vasc Med*, 2014, 19(3): 167-174.
- [19] ABILDGAARD C F, HARRISON J, JOHNSON C A. Comparative study of blood coagulation in nonhuman primates[J]. *J Appl Physiol*, 1971, 30(3): 400-405.
- [20] DAUGHERTY A, MANNING M W, CASSIS L A. Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(11): 1605-1612.
- [21] CHEN H Z, WANG F, GAO P, et al. Age-associated sirtuin 1 reduction in vascular smooth muscle links vascular senescence and inflammation to abdominal aortic aneurysm[J]. *Circ Res*, 2016, 119(10): 1076-1088.
- [22] SARAFF K, BABAMUSTA F, CASSIS L A, et al. Aortic dissection precedes formation of aneurysms and atherosclerosis in angiotensin II-infused, apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(9): 1621-1626.
- [23] CASSIS L A, GUPTE M, THAYER S, et al. ANG II infusion promotes abdominal aortic aneurysms independent of increased blood pressure in hypercholesterolemic mice [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 296(5): H1660-H1665.
- [24] BORIONI R, GAROFALO M, DE PAULIS R, et al. Abdominal aortic dissections: anatomic and clinical features and therapeutic options[J]. *Tex Heart Inst J*, 2005, 32(1): 70-73.
- [25] INOUE N, MURAMATSU M, JIN D, et al. Involvement of vascular angiotensin II-forming enzymes in the progression of aortic abdominal aneurysms in angiotensin II-infused ApoE-deficient mice

- [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2009, 16(3): 164-171.
- [26] RUSH C, NYARA M, MOXON J V, et al. Whole genome expression analysis within the angiotensin II -apolipoprotein E deficient mouse model of abdominal aortic aneurysm[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10: 298.
- [27] WAGENSEIL J E, MECHAM R P. New insights into elastic fiber assembly[J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2007, 81(4): 229-240.
- [28] MÄKI J M, RÄSÄNEN J, TIKKANEN H, et al. Inactivation of the lysyl oxidase gene *Lox* leads to aortic aneurysms, cardiovascular dysfunction, and perinatal death in mice[J]. *Circulation*, 2002, 106(19): 2503-2509.
- [29] LI J S, LI H Y, WANG L, et al. Comparison of β -aminopropionitrile-induced aortic dissection model in rats by different administration and dosage[J]. *Vascular*, 2013, 21(5): 287-292.
- [30] REN W, LIU Y, WANG X, et al. β -aminopropionitrile monofumarate induces thoracic aortic dissection in C57BL/6 mice[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28149.
- [31] KURIHARA T, SHIMIZU-HIROTA R, SHIMODA M, et al. Neutrophil-derived matrix metalloproteinase 9 triggers acute aortic dissection[J]. *Circulation*, 2012, 126(25): 3070-3080.
- [32] FASHANDI A Z, HAWKINS R B, SALMON M D, et al. A novel reproducible model of aortic aneurysm rupture[J]. *Surgery*, 2018, 163(2): 397-403.
- [33] AHMED S H, HUSAIN N M, KHAWAJA S N, et al. Is primary hyperaldosteronism a risk factor for aortic dissection[J]. *Cardiology*, 2007, 108(1): 48-50.
- [34] LIU S, XIE Z, DAUGHERTY A, et al. Mineralocorticoid receptor agonists induce mouse aortic aneurysm formation and rupture in the presence of high salt[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(7): 1568-1579.
- [35] KUROBE H, HIRATA Y, MATSUOKA Y, et al. Protective effects of selective mineralocorticoid receptor antagonist against aortic aneurysm progression in a novel murine model[J]. *J Surg Res*, 2013, 185(1): 455-462.
- [36] THOMPSON A, COOPER J A, FABRICIUS M, et al. An analysis of drug modulation of abdominal aortic aneurysm growth through 25 years of surveillance[J]. *J Vasc Surg*, 2010, 52(1): 55-61.
- [37] WU X, LIU X, YANG H, et al. P-selectin glycoprotein ligand-1 deficiency protects against aortic aneurysm formation induced by DOCA plus salt[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2022, 36(1): 31-44.
- [38] GUO D C, REGALADO E S, GONG L, et al. LOX mutations predispose to thoracic aortic aneurysms and dissections novelty and significance[J]. *Circ Res*, 118(6): 928-934.
- [39] WU L. The pathogenesis of thoracic aortic aneurysm from hereditary perspective[J]. *Gene*, 2018, 677: 77-82.
- [40] PEREIRA L, ANDRIKOPOULOS K, TIAN J, et al. Targetting of the gene encoding fibrillin-1 recapitulates the vascular aspect of Marfan syndrome[J]. *Nat Genet*, 1997, 17(2): 218-222.
- [41] OSHIMA M, OSHIMA H, TAKETO M M. TGF-beta receptor type II deficiency results in defects of yolk sac hematopoiesis and vasculogenesis[J]. *Dev Biol*, 1996, 179(1): 297-302.
- [42] LARSSON J, GOUMANS M J, SJÖSTRAND L J, et al. Abnormal angiogenesis but intact hematopoietic potential in TGF-beta type I receptor-deficient mice[J]. *EMBO J*, 2001, 20(7): 1663-1673.
- [43] CARVALHO R L, ITOH F, GOUMANS M J, et al. Compensatory signalling induced in the yolk sac vasculature by deletion of TGFbeta receptors in mice[J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 24): 4269-4277.
- [44] YANG P, SCHMIT B M, FU C, et al. Smooth muscle cell-specific TGFBR1 deficiency promotes aortic aneurysm formation by stimulating multiple signaling events[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35444.
- [45] LINDSAY M E, SCHEPERS D, BOLAR N A, et al. Loss-of-function mutations in TGFBR2 cause a syndromic presentation of thoracic aortic aneurysm[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(8): 922-927.
- [46] TRENT M S, PARSONNET V, SHOENFELD R, et al. A balloon-expandable intravascular stent for obliterating experimental aortic dissection[J]. *J Vasc Surg*, 1990, 11(5): 707-717.
- [47] TERAH H, TAMURA N, NAKAMURA T, et al. Treatment of acute stanford type B aortic dissection with a novel cylindrical balloon catheter in dogs[J]. *Circulation*, 2000, 102(19 Suppl 3): III259-III262.
- [48] TERAH H, TAMURA N, YUASA S, et al. An experimental model of stanford type B aortic dissection[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2005, 16(4): 515-519.

(此文编辑 文玉珊)