

陈美凤,加慧,夏书月. 不同 COPD 动物模型特点及应用的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(4): 563-569.
Chen MF, Jia H, Xia SY. Research progress on the characteristics of animal models of chronic obstructive pulmonary disease and related clinical applications[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(4): 563-569.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.04.019

不同 COPD 动物模型特点及应用的研究进展

陈美凤,加慧,夏书月*

(沈阳医学院,沈阳医学院附属中心医院,呼吸与危重症医学,沈阳 110020)

【摘要】 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)以不完全可逆的持续性进行性气流受限为特点,常伴随急性加重及严重并发症。建立标准化且切合临床 COPD 特征的动物模型对探究其发生发展、形态功能学改变及新的治疗途径具有重大意义。近年来国内外学者进行了许多相关研究,但目前尚无最佳模式的 COPD 动物模型构建方法。在本文中,对用于建立 COPD 模型的动物类型及各模型优缺点做了详细比较并阐述了其临床应用。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;COPD 动物模型;模型特点及应用

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)04-0563-07

Research progress on the characteristics of animal models of chronic obstructive pulmonary disease and related clinical applications

CHEN Meifeng, JIA Hui, XIA Shuyue*

(Respiratory and Critical Care Medicine, Central Hospital Affiliated To Shenyang Medical College,
Shenyang Medical College, Shenyang 110020, China)

Corresponding author: XIA Shuyue. E-mail:syx262@126.com

【Abstract】 Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is characterized by incomplete reversible persistent progressive airflow limitations, and always presents acute exacerbations and serious complications. Establishing standardized animal models that are consistent with the clinical COPD characteristics of COPD is important for exploring its development, and morphological changes, as well as new therapeutic approaches. Many studies have been conducted on COPD, but there is no best method exists for constructing animal models of COPD. Here, we describe and compare the types of animals used to establish the COPD models and the advantages, and disadvantages, and clinical applications of each model.

【Keywords】 chronic obstructive pulmonary disease; COPD animal model; model characteristics and application

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

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)以不完全可逆的持续性进行性气流受限为特点,是呼吸系统最常见慢性疾病,主要表现为气道慢性炎症,气道阻塞、结构重塑,肺泡结构改变和相关并发症^[1]。据国际慢阻肺疾病(the Burden of Obstructive Lung Diseases,

BOLD)等研究显示,预计到2020年,慢阻肺将成为全球第三大死因^[2]。据报道,我国40岁以上慢阻肺患病率为9.9%,患病人数高达1亿,整体疾病负担位列急性慢性疾病第3位^[3]。建立标准化且切合临床 COPD 特征的动物模型对探究其发生发展、病理生理、形态功能学改变及新的治疗途径具有重大意

【基金项目】 沈阳市科学技术计划项目(17-230-9-05)。

Funded by Science and Technology Planning Project of Shenyang (17-230-9-05).

【作者简介】 陈美凤(1994—),女,硕士研究生,主要从事呼吸科慢性阻塞性肺疾病研究。Email:cmf19950304@163.com

【通信作者】 夏书月,女,博士,主任医师,教授,硕士生导师,主要从事慢性阻塞性肺疾病、肺栓塞研究。Email:syx262@126.com

义。近年来国内外学者进行了许多相关研究,但目前尚缺乏最佳模型的 COPD 动物模式构建方法。在本文中,对用于建立 COPD 模型的动物类型及各模型优缺点做了详细比较并阐述了其应用。

1 动物品种的选择

目前建立 COPD 动物模型常用的动物包括小鼠、大鼠、豚鼠、小型猪、兔子、犬、非灵长类动物等,其中应用最为广泛的为鼠类。

1.1 小鼠和大鼠

鼠类品种丰富,体形较小,繁殖周期短,饲养及药物使用成本较低,可操作性较强。由于目前对鼠的基因组研究比较明确,多用于研究特定基因和蛋白质在 COPD 病理生理学中的作用^[4];同时,鼠存在多种酶与抗体,可用于鉴定抗原、细胞流式实验并直接定位和测量^[5]。但小鼠气管内纤毛分布较少,其气管黏膜下腺体不发达且无杯状细胞;单足气道分叉与人类的气道解剖结构不同,并且缺乏有呼吸功能的细支气管;气道较小,若进行肺泡灌注难度较大;同时鼠属于专性鼻呼吸的动物,鼻纤毛对烟的滤过功能较低^[6],这与人类上呼吸道不同。研究显示鼠对外源性刺激敏感差异性^[7],对 COPD 症状的发展也具有一定的抵抗力,只能复制早期 COPD 症状,复制严重的 COPD 模型十分困难。

1.2 豚鼠

豚鼠的肺部解剖结构类似于人类二分叉细支气管结构,可最大化减少吸入肺内的颗粒形成差异性分布^[8]。与小鼠相比,豚鼠的气管上皮排列更均匀,并且大气道中含粘液腺和杯状细胞,被广泛应用于呼吸系统疾病领域的研究。Ramírez-Ramírez 等^[9]发现豚鼠炎症反应与人类相似,可建立呈进行性发展的肺气肿模型^[10],符合临床 COPD 发展特点。该模型的主要缺点为豚鼠的大部分肺损伤反应为轴突反射,但轴突反射在人类肺损伤中作用并不明显^[11]。豚鼠价格较小鼠及大鼠相对昂贵,目前用于豚鼠的细胞因子和免疫标记物也较少;同时豚鼠缺乏尾巴,皮肤厚实,使血样的采集和给药具有一定的难度。

1.3 中型动物—小型猪,兔子,犬,羊

猪的肺组织比大鼠等动物更发达,肺部结构与人类相似度较高,为左侧两叶、右侧三叶^[12];具有呼吸性细支气管,可形成小气道阻力升高 COPD 动物模型;猪呼吸道黏膜下腺体较发达,诱导 COPD 发病

模型相对容易^[13]。兔子从解剖学、生理学、遗传学和生物学的相似性看,在系统发育上比其他啮齿类动物更接近人类^[14],但它们在非无菌过程中易感染细菌和病毒,建造模型过程中易发生死亡。实验性犬的呼吸道较大,可将致病试剂或治疗药物有针对性地传递到肺部,并可将另一肺部作为对照;嘴较宽,可进行肺输送系统研究;肺泡数量多且存在咳嗽反射,符合 COPD 的生理症状^[15]。羊十分温顺且气道结构为二分支,研究发现烟雾暴露后产生的粘液和上皮细胞分布类似于人的气道炎症反应^[16]。

中型动物体形较大,抗应激能力较强;但兔子、犬的气道均为单足分支,粘液成分与人类不同。同时饲养成本较高,物种具有特异性及一定危险性,市售可用试剂和测量手段也有限,这为造模增加了一定难度且实验成本较高。

1.4 非人类灵长类动物 (nonhuman primate, NHP)

非人类灵长类动物在解剖学、生理学、遗传学和生物学角度最接近人类,其中猴常被用作研究动物,尤其是恒河猴(*Macaca mulatta*)具有与人类极其相似的肺部结构,细支气管为二分支,肺泡分布广泛^[17],纤毛,杯状细胞和基底细胞排列方式与人类气道类似。其基因组与人类高度相似,可增加物种之间的关联性和可比性^[18],用作 COPD 患者发生气道疾病的模型并可以进行纵断面采样,这对于评估 COPD 的新型生物标志物或疗法可能有用。但灵长类动物模型需要专门的设备和技术来对动物进行麻醉和操作,对成本和伦理要求较高。

2 COPD 体外模型的建立

COPD 体外模型可在受控环境中研究特定的生理病理过程^[19]。COPD 涉及多个系统,要了解疾病的发生发展,需研究各系统的细胞,以更准确地模拟个体体内环境。目前常用的体外模型有保留肺结构和组织特性的离体肺切片^[20],允许细胞外基质和组织因子参与的灌注模型^[21],三维(3D)类器官模型及涉及未分化的支气管上皮细胞模型^[22-23]。但使用体外培养细胞需要注意细胞从炎性细胞外基质和环境移出是可能会发生一些改变从而影响研究结果,导致临床应用价值欠佳。尽管体外/离体方法提供了许多优势,但由于人体组织/细胞的变化,有限的可用性及实验室间的差异,使可重复性受到限制。但随着 3D 打印技术的不断发展和对干细胞生物学的深入研究,建立标准化实验室人体组织的前景可观。

3 COPD 动物模型的建立

COPD 的病因、发病机制及病理改变复杂,用于研究 COPD 的动物模型应符合人类 COPD 诱导刺激的一系列相似的解剖和生理病理反应,从分子,细胞,器官和个体等多个层面展开,在建模中选择符合致病因素的诱导条件建立 COPD 模型。

3.1 单因素诱导

3.1.1 吸入有害气体/细颗粒物

目前常用的有害气体/细颗粒物为烟雾,PM_{2.5},二氧化硫,二氧化氮,臭氧等。由于吸烟和空气污染为 COPD 发生的重要危险因素^[1],所以烟雾暴露(CS)和 PM_{2.5} 在建模中较常使用。吸入有害气体及细颗粒物的效应随暴露时间的长短,频率,次数,暴露类型(局部烟熏,全身暴露,腹腔注射)和烟雾产生方式(吹气或吸气行为产生的主流烟雾,卷烟燃烧产生的侧流烟雾)的不同而差异较大^[24],Fröhlich 等^[25]发现全身或经鼻系统的烟雾暴露方法的差异为诱导 COPD 表型变异的潜在来源。Zhao 等^[26]将 C57BL/6 J 小鼠暴露于 PM_{2.5} 48 周后出现肺功能下降,气肿性病变和气道炎症,造模成功。同时种间差异影响 CS 暴露后肺气肿表型的发育时间,一般单纯烟雾暴露 2 个月即出现早期 COPD 肺部改变,6 个月出现典型的 COPD 肺部表现^[27]。需要注意的是某些物种(例如鼠)对 CS 诱导的嗜中性炎症和肺损害具一定的抵抗力,这种抵抗在中断 CS 暴露后就会停止甚至恢复^[28]。因此,单纯 CS 暴露的小鼠模型无法符合临床 COPD 的复杂性及严重性特点,适用于研究早期 COPD 疾病特征,需将结合多个不同的模型进行对比分析。

3.1.2 气道滴注弹性蛋白酶

目前常用的蛋白酶包括猪胰蛋白酶,木瓜弹性蛋白酶,人嗜中性粒细胞弹性蛋白酶,基质金属蛋白酶。弹性蛋白酶可诱导大鼠产生肺气肿,该模型的优点在于经气管内滴注可免受血液中弹性蛋白酶抑制因子的灭活,单剂量弹性蛋白酶即可导致肺泡壁结构短期丧失并可诱导并维持炎症反应的发生^[29]。但弹性蛋白酶的给药窗口狭窄,低于推荐剂量浓度不足以引起肺部结构发生变化,而高于阈值的浓度会导致动物严重肺出血和死亡,研究表明弹性蛋白酶诱导啮齿类动物出现 COPD 病理改变需 21 ~ 45 d^[30],Longhini 等^[31]制备了使用抗弹性蛋白酶自身免疫性鼠模型引起的肺气肿,可用于检查免疫耐受在 COPD 中的作用,增加基于弹性蛋白酶模型的临床相关性。弹性蛋白酶不但破坏肺泡间

隔的弹性纤维,同时也引起气管壁及血管壁等组织的破坏,这与人类 COPD 肺气肿的病理表现接近。

3.1.3 气管内注入脂多糖

脂多糖(LPS)是革兰氏阴性菌的细胞壁成分,存在于空气污染和有机粉尘中。LPS 暴露会引起嗜中性粒细胞和巨噬细胞大量聚集,导致肺部炎症的发生,长期暴露会引起肺部结构发生变化,这种变化在 LPS 接触停止后仍会持续。研究表明 LPS 鼻内滴注的最佳时间为 72 h,28 d 即可形成 COPD 模型^[32]。脂多糖动物模型存在肺功能下降、肺气肿、小气道重塑、肺部炎症等现象^[33]。De Oliveira 等^[34]利用 LPS 成功制备了急性肺气肿加重模型以进行 COPD 急性加重期相关研究。与其他模型相比,使用 LPS 诱导产生炎症和纤维化模型以实现 COPD 的病理学特征所需时间相对较短且与人类 COPD 的临床特点接近。

3.1.4 细菌/病毒感染

感染是发生 COPD 急性加重最重要的诱因,可导致病情进展及病死率增加。目前常用的细菌/病毒有铜绿假单胞菌,肺炎克雷伯杆菌,流感嗜血杆菌,肺炎链球菌,大肠杆菌,流感病毒,鼻病毒,人免疫缺陷病毒(HIV)等。此模型适用于研究细菌感染导致肺组织损伤的机理,但实践中要注意选取细菌的种类及控制细菌的数量。单纯应用细菌/病毒建立 COPD 模型的情况较少,多与其他因素联合使用建立 AECOPD 动物模型^[35-36]。

3.1.5 基因控制模型

COPD 具有遗传和环境易感性,遗传性 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏(AATD)尽管只占很小一部分,却很好的解释了遗传与环境的相互作用致使个体倾向于发生 COPD^[37],不过尚不明确这些基因究竟是 COPD 发病的基因或仅仅是致病基因的标记。目前基因调控模型主要包括自然变异的 COPD 模型,如紧皮、苍白、斑点型小鼠^[38]。转基因 COPD 模型如将删除肺上皮神经纤毛蛋白 1(Nrp1)的基因缺失小鼠暴露于烟雾中 12 周制备的 Nrp1 基因缺失型 COPD 动物模型,发现上皮 Nrp1 在维持正常肺泡结构中的作用,可用于研究 Nrp1 表达失调在慢阻肺发展中的机制^[39];与成年吸烟者 COPD 风险及肺功能下降相关的基因编码金属蛋白酶 12(MMP12)^[40]。Nakashima 等^[41]通过诱导气道上皮 Na⁺通道 b 亚基(bENaC-Tg 老鼠)建立了 COPD 大鼠模型,以探索 C57BL/6 J 基因型小鼠与 bENaC-Tg 小鼠表现出的弥漫型肺气肿模型稳定表达炎症和衰老样标记物的差别。

现已制备的 COPD 模型包括 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶、TGF- β 、人趋化因子受体 6、Klotho 基因、胚胎干细胞诱导突变和肺表面活性物质 D 等敲除鼠。COPD 基因改造模型获得的动物模型具有遗传稳定性和重复性,允许从细胞分子易感性水平上来分析特定性的调控作用及其功能,对于 COPD 的预防和治疗提供重要的工具,但其不能产生人类 COPD 的几种特定表现,因而限制了其转化应用价值。

3.1.6 植入他莫西芬

一直以来,国内外关于性别与 COPD 易感性及急性加重是否相关存在很大争议。相关研究表明:与吸烟男性相比,40~50 岁女性吸烟者的肺功能下降快于男性吸烟者,并且 COPD 风险增加了 50%^[42-43]。Tam 等^[44]将雄性,雌性和卵巢切除的 C57BL/6 小鼠先烟雾暴露 6 个月,然后给雌性小鼠植入他莫昔芬,暴露 2 周后进行第二次干预,每只小鼠再次植入 75 mg 他莫昔芬颗粒继续暴露 4 周后成功制备雌激素缺乏的 COPD 模型,证明了雌激素可能参与了烟雾暴露雌性小鼠中独特的氧化剂/TGF- β 信号转导轴失调。为寻找雌激素信号传导级联反应下游的治疗靶点提供实验基础,用于探索女性 COPD 的干预治疗提供了新的理论指导。

3.1.7 免疫相关型模型

吸烟一直被认为是发生 COPD 最重要的危险因素,但戒烟 2 年后气道炎症仍在持续,该现象与自身免疫性疾病的特征相似。相关研究表明 CS 暴露可显著降低患者 SP-D 的肺泡水平,尼古丁可导致人气管上皮细胞中 SP-D 水平降低^[45]。Sorensen 等^[46]通过诱导上皮 Na⁺通道 b 亚基的气道特异性过表达的小鼠(bENaC-Tg 小鼠)3 周建立了 SP-D 基因敲除的 COPD 小鼠,为研究肺部炎症和先天免疫以及进行肺表面活性物质稳态研究提供了建模基础。Hirota 等^[47]研究了由气道上皮 NLRP3 炎性小体介导的 PM10 暴露的先天性和适应性免疫反应模型,证明了肺 NLRP3 炎性体在介导 PM10 暴露相关的先天性而非适应性免疫反应中的重要性,用于研究 PM10 暴露加剧气道疾病的机制。

3.2 复合因素

单一造模方法难以模拟出符合临床的 COPD 模型,并且耗时较长。为了尽可能全面真实地模拟 COPD 的发病过程及病理特点,多数研究者倾向于采用复合因素构建 COPD 动物模型。近年来常用的复合因素造模方式包括:烟雾+LPS,烟雾+细菌/病毒感染,烟雾+PM2.5,烟雾+弹性蛋白酶,弹性蛋白酶+脂多糖,氯化钙+山梨豆类制

等联合方式。

舒家泽等^[48]通过烟草烟雾口鼻暴露联合脂多糖的方法成功建立慢性阻塞性肺疾病及相关肺动脉高压(COPD.PH)的小鼠模型,可用于研究减轻肺动脉高压的治疗策略,并提示 4 周即可形成 COPD 大鼠模型。Shu 等^[49]利用机动车尾气(MVE)和气管内滴注脂多糖(LPS)13 周成功建立了 COPD 动物模型,并出现了心室和血管病理变化。Mebratu 等^[50]将大鼠暴露于 CS2 个月后感感染甲型流感病毒(IAV)/呼吸道合胞病毒(RSV)/病毒衍生物肌苷-聚胞苷酸[poly(I:C)]以及联合铜绿假单胞菌+肺炎链球菌及流感嗜血杆菌建立了 COPD 细菌/病毒感染模型^[51],表明 CS 引起的炎症反应和气肿改变的程度取决于病毒感染的类型。这些动物模型可能有助于研究不同病毒加剧 CS 诱导的炎症和肺气肿的机制。Wang 等^[52]将 C57BL/6 基因型小鼠联合暴露于 PM2.5 和 CS/CSE40 周成功制备 COPD 模型,提出在 COPD 的背景下,PM2.5 可加剧 CS/CSE 诱导的炎症。Geraghty 等^[53]使用 EcoHIV 的野生型小鼠 2 个月诱导建立了 COPD 模型,再现了人类 HIV 相关 COPD 的几种病理生理特征,可用于确定 HIV 相关 COPD 的关键参数并测试该疾病的未来疗法。陈敏等^[54]通过烟熏+间歇低氧 8 周成功构建大鼠 COPD-OSAHS 重叠综合征模型,为开展 OS 基础研究提供了参考。

复合因素建立的 COPD 模型,可从多方面探究疾病的发生发展及病理生理过程,使建立 COPD 合并症模型成为可能。需要注意的是复合因素建模对动物的耐受性要求较高,在选择造模动物时需全面考虑。

4 COPD 模型的评估

目前用于判断 COPD 模型是否造模成功的评估内容主要包括:动物行为学改变^[55],如观察皮毛光泽度、活动情况、反应灵敏度、精神状况、进食进水量、呼吸状况、体重变化、死亡情况、呼吸道变化等,由于影响因素较多,缺乏统一的评分标准,评估时多与其他方法联合使用。测定肺功能(有创和无创测定法),其中无创体描测定可在生理状态下观察药物等治疗方法对肺功能的影响,脉冲振荡技术可通过测定呼吸道阻力、黏性阻力,弹性阻力,惯性阻力等参数分析出是否存在气道阻塞、部位及程度;同时还有肺动脉仪量化气道内压、肺阻力、肺顺应性等。肺功能测定对于确定疾病模型是否出现气流受限具有重要意义,且操作方便,可重复性良好,

在 COPD 模型的评价中应用前景广阔^[56]。肺部切片病理学改变可确定气道及肺

实质的病理变化是否符合 COPD 的典型改变^[57],包括:中央气道黏液腺增大,炎症细胞浸润;外周气道损伤,胶原蛋白沉积及修复;纤毛倒伏、变短、粘连,脱落;气道平滑肌增厚;肺泡扩张,肺泡壁变薄,肺大泡形成,肺泡数目显著减少等,此方法简便、直观、易操作,在哮喘、COPD、肺纤维化等多种肺部疾病的研究中具有重要参考意义,能够客观地反映病理特征及严重程度,应用较多。肺泡灌洗液分析白细胞和中性粒细胞,血清 IgE, BLAF 的总细胞浓度计数与分类计数是动物实验中常用的观察指标之一且准确性高;免疫组化检测呼吸道中的细胞因子(IL-8, TNF- α , IFN- γ 和 TGF- β)和趋化因子(CCL-2, CXCL1, CXCL9, CXCL10 和 CXCL11^[58])等,标本易获取,可操作性强,应用广泛。Marcos 等^[59]提出了平均线性截距和等效直径以量化组织学切片中的气肿性病变相关的区域,使用贝叶斯方法得出新型气肿严重程度指数(SI)及 X 射线显微断层扫描(micro-CT)评估肺气肿等,两种方法均可实现对肺气肿的范围及分布进行定量分析,并可在肺功能正常的早期阶段发现肺气肿,有助于 COPD 早期诊断与治疗。Micro-CT 分辨率达到微米级别,可无创、清晰的观测样本内部显微结构,对肺部改变非常灵敏,可用于无创动态监测肺部病理变化,展示疾病动态过程^[60]。

5 结语

COPD 发病率、致死率高,诊断率低并呈慢性迁延,其病因、发病机制及病理改变复杂,所以在设计模型时应充分考虑动物品种及各诱导因素的优缺点,最大化符合临床,优化从分子水平、药物化学评估、体外测试、预测性动物模型到最终人类临床试验的级联测试,选择最适用于研究目的的造模方法。

临床实际中 COPD 的发生发展及形态功能学改变复杂,常伴随急性加重及合并症,单一的造模方法难以模拟出符合临床实际的 COPD 模型且耗时较长,目前多倾向于采用复合因素构建 COPD 动物模型,针对不同的研究目的,采用 2 ~ 3 个诱导因素进行造模,缩短造模时间,深入研究 COPD 及其合并症的相关问题。一直以来,小鼠和大鼠因其造模价格相对便宜、饲养方便、品种丰富等各方面优点,是多数研究者造模的优先选择,但同时也须考虑物种之间的关联性及可比性,使实验结果的临床推广性更佳,越来越多的学者选择中型动物及非灵长类动物

作为造模对象。因造模动物、诱导因素、诱导剂量及方式等不同,造模所需时间也有所差别,评估造模是否成功需根据造模目的,结合功能学、结构学及肺组织中细胞数目计数等方法综合评估,在模型评估中尽量采用评估标准明确,主观性小的评估方法,保证评估结果的准确性及可重复性。

目前 COPD 动物模型的主要限制一方面体现在不能再现患者在临床环境中实际发生的情况及相关合并症,单一的 COPD 模型没有 COPD 疾病特征的广度,特别是疾病后期。随着对 COPD 动物模型研究的不断深入,越来越多贴近临床实际的 COPD 模型被建立及完善,并应用于研究其发病机制及新的治疗途径和靶点。

建模另一个关键是急性加重,尽管感染(尤其是病毒感染)是病情加重最常见的病因,但各患者之间具有 COPD 易感性,发作频率,肺功能下降速度不同等个体差异性,这种情况下使用动物模型研究 COPD 加重的特殊性进行分析面临诸多问题。在临床研究中,识别出易急性加重的 COPD 患者,阐明并鉴定 COPD 特定临床表型相关性和患者病情加重的潜在机制是 COPD 动物实验研究中的重要部分。然而,由于 COPD 病程呈慢性迁延,急性加重后疾病的预后也有差异,但在动物模型中我们通常使用横断面研究,终点事件出现后一般不再进行长时间跟踪观察,这对动物实验产生的结果应用于人类面临很多不确定性,动物模型的评估效用也面临挑战。

参 考 文 献(References)

- [1] Vogelmeier CF, Criner GJ, Martinez FJ, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report. GOLD executive summary [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(5): 557-582.
- [2] GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990 - 2013; a systematic analysis for the global burden of disease study 2013 [J]. Lancet 2015; 385(9963): 117-171.
- [3] Wang C, Xu J, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study [J]. Lancet, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [4] Reczyńska K, Tharkar P, Kim SY, et al. Animal models of smoke inhalation injury and related acute and chronic lung diseases [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2018, 123: 107-134.
- [5] Yue F, Cheng Y, Breschi A, et al. A comparative encyclopedia of DNA elements in the mouse genome [J]. Nature, 2014, 515(7527): 355-364.
- [6] Rydell-Törmänen K, Johnson JR. The applicability of mouse models to the study of human disease [J]. Methods Mol Biol,

- 2019, 1940; 3–22.
- [7] Fermont JM, Masconi KL, Jensen MT, et al. Bio-markers and clinical outcomes in COPD: a systematic review and meta-analysis[J]. Thorax, 2019, 74(5): 439–446.
- [8] Vlahos R, Bozinovski S. Recent advances in preclinical mouse models of COPD[J]. Clin Sci, 2014, 126(4): 253–265.
- [9] Ramírez-Ramírez E, Torres-Ramírez A. Characteristic Plethysmographic findings in a guinea pig model of COPD[J]. Exp Lung Res, 2017, 43(2): 57–65.
- [10] Yarto-Jaramillo E. Respiratory system anatomy, physiology, and disease: Guinea pigs and chinchillas[J]. Vet Clin North Am Exot Anim Pract, 2011, 14(2): 339–355.
- [11] Manning PJ, Wagner JE, Harkness JE. Biology and diseases of guinea pigs[J]. Labor Anim Med, 1984; 149–181.
- [12] Wemyss-Holden SA, Porter KJ, Baxter P, et al. The laryngeal mask airway in experimental pig anaesthesia[J]. Lab Anim, 1999, 33(1): 30–34.
- [13] Chen P, Hou J, Ding D, et al. Lipopolysaccharide-induced inflammation of bronchi and emphysematous changes of pulmonary parenchyma in miniature pigs (*Sus scrofa domestica*) [J]. Lab Animal, 2013, 42(3): 86–91.
- [14] Kamaruzaman NA, Kardia E, Kamaldin N', et al. The rabbit as a model for studying lung disease and stem cell therapy [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013; 691830.
- [15] Chapman RW. Canine models of asthma and COPD[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2008, 21(5): 731–742.
- [16] Abraham WM. Modeling of asthma, COPD and cystic fibrosis in sheep[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2008, 21(5): 743–754.
- [17] Cai Y, Sugimoto C, Arainga M, et al. In vivo characterization of alveolar and interstitial lung macrophages in rhesus macaques: implications for understanding lung disease in humans [J]. J Immunol, 2014, 192(6): 2821–2829.
- [18] Asgharian B, Price O, McClellan G, et al. Development of a rhesus monkey lung geometry model and application to particle deposition in comparison to humans[J]. Inhal Toxicol, 2012, 24(13): 869–899.
- [19] Mertens TC, Karmouty-Quintana H, Taube C, et al. Use of airway epithelial cell culture to unravel the pathogenesis and study treatment in obstructive airway diseases [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2017, 45: 101–113.
- [20] Bauer C, Golgi J, Lambert K, et al. Precision cut lung slices: A novel method for examining mechanisms underlying respiratory diseases[J]. Eur Respir J, 2013, 42 Suppl 57: 669.
- [21] Gnadl M, Trammer B, Freiwald M, et al. Methacholine delays pulmonary absorption of inhaled β_2 -agonists due to competition for organic cation/carnitine transporters [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2012, 25(1): 124–134.
- [22] Zscheppang K, Berg J, Hedtrich S, et al. Human pulmonary 3D models for translational research [J]. Biotechnol J, 2018, 13(1): 1700341.
- [23] Leeman KT, Pessina P, Lee J, et al. Mesenchymal stem cells increase alveolar differentiation in lung progenitor organoid cultures[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 6479.
- [24] Fricker M, Deane A, Hansbro PM. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Expert Opin Drug Discov, 2014, 9(6): 629–645.
- [25] Fröhlich E, Salar-Behzadi S. Toxicological assessment of inhaled nanoparticles: role of *in vivo*, *ex vivo*, *in vitro*, and *in silico* studies [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(3): 4795–4822.
- [26] Zhao J, Li M, Wang Z. Role of PM2.5 in the development and progression of COPD and its mechanisms [J]. Respir Res, 2019, 20(1): 120.
- [27] Holami Mahtaj L, Boskabady MH, Mohamadian Roshan N. The effect of *Zataria multiflora* and its effect of *Zataria multiflora* and its constituent *carvacrol*, on tracheal responsiveness and lung pathology in guinea pig model of COPD [J]. Phytother Res, 2015, 29(5): 730–736.
- [28] Williams K, Roman J. Studying human respiratory disease in animals—role of induced and naturally occurring models [J]. J Pathol, 2016, 238(2): 220–232.
- [29] Petrache I, Fijalkowska I, Medler TR, et al. α -1 antitrypsin inhibits caspase-3 activity, preventing lung endothelial cell apoptosis [J]. Am J Pathol, 2006, 169(4): 1155–1166.
- [30] Gu BH, Sprouse ML, Madison MC, et al. A novel animal model of emphysema induced by anti-elastin autoimmunity [J]. J Immunol, 2019, 203(2): 349–359.
- [31] Longhini DSN, Barbosa OVA. Cell therapy with bone marrow mononuclear cells in elastase-induced pulmonary emphysema [J]. Stem Cell Rev, 2013, 9(2): 210–218.
- [32] Lee SY, Cho JH, Cho SS, et al. Establishment of a chronic obstructive pulmonary disease mouse model based on the elapsed time after LPS intranasal instillation [J]. Lab Anim Res, 2018, 34(1): 1–10.
- [33] 汪珊珊, 汪电雷. 脂多糖诱导的慢性阻塞性肺病模型大鼠肺支气管上皮 MRP1 功能分析 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(3): 30–34.
- Wang SS, Wang DL, Tao XH, et al. MRP1 expression and bronchial epithelial function in lipopolysaccharide-induced rat model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2014, 22(3): 30–34.
- [34] De Oliveira MV, Rocha NN, Santos RS, et al. Endotoxin-induced emphysema exacerbation: A novel model of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations causing cardiopulmonary impairment and diaphragm dysfunction [J]. Front Physiol, 2019, 10: 664.
- [35] Ganesan S, Faris AN, Comstock AT, et al. Elastase/LPS-exposed mice exhibit impaired innate immune responses to bacterial challenge: role of scavenger receptor A [J]. Am J Pathol, 2012, 180(1): 61–72.
- [36] Kobayashi S, Fujinawa R, Ota F, et al. A single dose of lipopolysaccharide into mice with emphysema mimics human chronic obstructive pulmonary disease exacerbation as assessed by micro-computed tomography [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 49(6): 971–917.
- [37] Hardin M, Silverman EK. Chronic obstructive pulmonary disease genetics: a review of the past and a look into the future [J].

- Chronic Obstr Pulm Dis, 2014, 1(1): 33-46.
- [38] Shapiro SD. Animal models for COPD[J]. Chest, 2000, 117(5 Suppl 1): 223S-227S.
- [39] Le A, Zielinski R, He C. Pulmonary epithelial neuropilin-1 deletion enhances development of cigarette smoke-induced emphysema[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(5): 396-406.
- [40] Hunninghake GM, Cho MH, Tesfaigzi Y, et al. MMP12, lung function, and COPD in high-risk populations[J]. N Engl J Med, 2009, 361(27): 2599-2608.
- [41] Nakashima R, Kamei S, Nohara H, et al. Auto-measure emphysematous parameters and pathophysiological gene expression profiles in experimental mouse models of acute and chronic obstructive pulmonary diseases[J]. J Pharmacol Sci, 2019, 140(2): 113-119.
- [42] Downs SH, Brandli O, Zellweger JP, et al. Accelerated decline in lung function in smoking women with airway obstruction: SAPALDIA 2 cohort study[J]. Respir Res, 2005, 6(1): 45.
- [43] Martinez FJ, Curtis JL, Sciurba F, et al. Sex differences in severe pulmonary emphysema[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 176(3): 243-252.
- [44] Tam A, Churg A, Wright JL, et al. Sex differences in airway remodeling in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193(8): 825-834.
- [45] Zou W, Liu S, Hu J, et al. Nicotine reduces the levels of surfactant proteins A and D via Wnt/ β -catenin and PKC signaling in human airway epithelial cells[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2016, 221: 1-10.
- [46] Sorensen GL. Surfactant protein D in respiratory and non-respiratory diseases[J]. Front Med, 2018, 5: 18.
- [47] Hirota JA, Gold MJ, Hiebert PR, et al. The nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat protein 3 inflammasome/IL-1 receptor I axis mediates innate, but not adaptive, immune responses after exposure to particulate matter under 10 μm [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 52(1): 96-105.
- [48] 舒家泽, 卢文菊, 李德富, 等. 应用烟草烟雾口鼻暴露联合脂多糖方法建造慢性阻塞性肺疾病及相关肺动脉高压小鼠模型[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2015, 38(12): 907-911.
- Shu JZ, Lu WJ, Li DF, et al. Nose-only cigarette smoke exposure plus airway lipopolysaccharide inhalation induced chronic obstructive pulmonary disease and associated pulmonary hypertension in mice[J]. Chin J Tuberc Respir, 2015, 38(12): 907-911.
- [49] Shu J, Lu W, Yang K, et al. Establishment and evaluation of chronic obstructive pulmonary disease model by chronic exposure to motor vehicle exhaust combined with lipopolysaccharide instillation[J]. Exp Physiol, 2018, 103(11): 1532-1542.
- [50] Mebratu YA, Smith KR, Agga GE, et al. Inflammation and emphysema in cigarette smoke-exposed mice when instilled with poly (I:C) or infected with influenza A or respiratory syncytial viruses[J]. Respir Res, 2016, 17(1): 75.
- [51] 张甜甜, 田王斌, 李媛媛, 等. 烟熏联合不同细菌建立大鼠慢性阻塞性肺疾病急性加重期动物模型[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(8): 743-746.
- Zhang TT, Tian WB, Li YY, et al. Establishment of rat models of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease by fumigation combined with different bacteria [J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2018, 32(8): 743-746.
- [52] Wang Z, Zhao J, Wang T, et al. Fine-particulate matter aggravates cigarette smoke extract-induced airway inflammation via Wnt5a-ERK pathway in COPD[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2019, 14: 979-994.
- [53] Geraghty P, Hadas E, Kim BH, et al. HIV infection model of chronic obstructive pulmonary disease in mice[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 312(4): L500-L509.
- [54] 陈敏, 黄照明, 何剑, 等. 通过烟熏和间歇低氧构建大鼠 COPD-OSAHS 重叠综合征模型[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 59-64.
- Chen M, Huang ZM, He J, et al. Establishment of a rat model of COPD-OSAHS overlap syndrome induced by smoking and intermittent hypoxia[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(1): 59-64.
- [55] Cheng Y, Tao W, Zhang X, et al. Experimental study on the building animal model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. World J Int Tradit Western Med, 2016, 1(4): 445-448.
- [56] Kastelik JA, Aziz I, Oioo JC, et al. Evaluation of impulse oscillation system; comparison with forced oscillation technique and body plethysmography[J]. Eur Respir J, 2002, 19(6): 1214-1215.
- [57] Postnov AA, Meurrens K, Weiler H, et al. *In vivo* assessment of emphysema in mice by high resolution X-ray microtomography [J]. J Microsc, 2005, 220(1): 70-75.
- [58] 龙颖姣, 陈燕, 陈平. 慢性阻塞性肺疾病动物模型构建及评价[J]. 国际呼吸杂志, 2014, 34(17): 1327-1330.
- Long YJ, Chen Y, Chen P. Building and evaluation of COPD animal models[J]. Int J Respir, 2014, 34(17): 1327-1330.
- [59] Marcos JV, Muñoz-Barrutia A, Ortiz-de-Solórzano C, et al. Quantitative assessment of emphysema severity in histological lung analysis [J]. Ann Biomed Eng, 2015, 43(10): 2515-2529.
- [60] Vande VG, Poelmans J, De LE, et al. Longitudinal Micro-CT provides biomarkers of lung disease that can be used to assess the effect of therapy in preclinical mouse models, and reveal compensatory changes in lung volume [J]. Dis Model Mech, 2016, 9(1): 91-98.