

刘迪,张洪春. 慢性阻塞性肺疾病动物模型的造模方法 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(3): 108-114.

Liu D, Zhang HC. Methods for animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(3): 108-114.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 03. 019

慢性阻塞性肺疾病动物模型的造模方法

刘 迪^{1,2}, 张洪春^{2*},

(1.北京中医药大学,北京 100029; 2.中日友好医院肺病科 中日友好医院呼吸中心 国家呼吸疾病临床
研究中心,北京 100029)

【摘要】 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD, 以下简称为慢阻肺)是一种气道炎症性疾病,具有较高的发病率及病死率,给患者及社会带来沉重负担,目前对其发病机制及治疗方法仍未研究透彻。尽管动物模型仅能模拟疾病的部分特征,但它们对于进行慢阻肺生理病理、治疗的进一步研究是不可或缺的。本文结合 PubMed 收录的近三年慢阻肺造模相关文献,总结慢阻肺动物模型的模型动物种类、造模方法及测量指标。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;肺气肿;动物模型;造模方法;炎症;香烟烟雾

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2020) 03-0108-07

Methods for animal models of chronic obstructive pulmonary disease

LIU Di^{1,2}, ZHANG Hongchun^{2*}

(1.Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China. 2.Department of TCM Pulmonary Diseases, China-Japan Friendship Hospital. Center of Respiratory Medicine, China-Japan Friendship Hospital. National Clinical Research Center for Respiratory Diseases, Beijing 100029)

【Abstract】 Chronic obstructive pulmonary disease(COPD) is a kind of airway inflammatory disease, which has a high morbidity and mortality, and brings heavy burden to patients and society. And its pathogenesis and treatment methods have not been thoroughly studied at present. Although animal models can only simulate part of the characteristics of the disease, they are indispensable for further research on the physiology, pathology and treatment of COPD. This paper summarizes the animal models, modeling methods and measurement indexes of animal models of COPD in combination with the literatures relevant to COPD modeling in recent three years in PubMed.

【Keywords】 chronic obstructive pulmonary disease; emphysema; animal models; modeling methods; inflammation; cigarette smoke

慢阻肺是一种常见的慢性气道炎症性疾病,病理学特征为小气道重塑和肺气肿,患者主要表现为气流受限及持续性呼吸道症状(咳嗽、咳痰、气喘等),暴露于有毒颗粒及气体中是与发病最相关的环境诱因^[1]。慢阻肺发病机制主要与气道和肺部炎症、氧化-抗氧化失衡及蛋白酶-抗蛋白酶失衡相关^[2],其中炎症在慢阻肺发展中起最重要作用,多机制共同作用造成小气道狭窄、肺实质破坏,最终

【基金项目】中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)(2019-QTL-003)。

【作者简介】刘迪(1993—),女,硕士,研究方向:中医药防治肺系疾病。E-mail: liudibucm@163.com

【通信作者】张洪春(1964—),男,博士,博士生导师,主任医师,研究方向:中医药防治肺系疾病。E-mail: 13701226664@139.com

造成肺弹性回缩能力下降^[3]。

2018 年对中国十个省份 57 779 人的慢阻肺调查显示:中国 40 岁以上人群慢阻肺患病率为 13.7%,60 岁以上人群患病率已超过 27%。男性患者数为女性的 2.2 倍。全国总患病人数为 9990 万,约占全球慢阻肺患者的 25%,慢阻肺已经成为我国最常见的慢性疾病,对社会造成沉重负担^[4]。慢阻肺自 2000 年以来排在全球死亡原因第四位,全球疾病负担(global burden of disease, GBD)研究预计到 2020 年慢阻肺将成为全球死因第三位^[5]。尽管进行了广泛的研究,但在分子水平上对慢阻肺的潜在机制仍知之甚少,因此目前尚无有效治疗药物,指南推荐稳定期患者吸入长效支气管扩张剂以维持治疗^[1]。

动物模型对于进一步研究人类慢阻肺相关机制很有价值,建立稳定可靠并与临床实际相符的动物模型是实验成功的前提。基于此,本文结合文献检索和回顾性研究,对慢阻肺动物模型的动物种类及造模方法进行总结,这些信息对于选择合适的动物,诱导方法和有关慢阻肺研究的主要测量参数有一定参考价值。

1 慢阻肺动物模型相关文献检索

1.1 检索方法

以“animal model”“COPD”“emphysema”“chronic bronchitis”等为关键词,检索 2016 年 9 月 1 日至 2019 年 9 月 1 日 PubMed 数据库收录的文献。纳入进行慢阻肺动物造模,叙述造模具体方法,提供造模后模型评价参数并可获取全文的英文文章。

1.2 检索结果

最终纳入符合要求的研究有 164 项,具体有 170 条造模方法(6 项研究采用了两种造模方法)。慢阻肺造模的模型动物主要为小鼠、大鼠、豚鼠,少部分用兔、猴、雪貂等。大部分研究采用单一方法造模,主要通过暴露于香烟烟雾(cigarette smoke, CS),气管内脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和鼻内弹性蛋白酶如猪胰弹性蛋白酶(porcine pancreatic elastase, PPE)滴注诱导造模;复合方法种类较多,多由单一造模方法联合而成。造模评价主要测量参数为肺组织病理数据、肺部炎症细胞和炎症介质,少部分研究测量了肺功能、动脉血气分析、肺部影像学等。

1.2.1 采用单一方法制作慢阻肺动物模型的研究

从造模方法来看,共有 122 项研究,126 种动物模型采用单一方法造模,方法主要分为两种:将动物暴露在诱导气体中及鼻内、气管内滴注或腹腔注射诱导剂。

共有 90 种动物模型通过将动物暴露在有毒有害气体,如 CS、臭氧、二氧化氮(nitrogen dioxide, NO₂)、生物质燃料(biomass fuel, BMF)、机动车尾气(motor vehicle exhaust, MVE)、大麻烟雾等中产生。其中 79 种动物模型采用 CS 暴露诱导,使用的动物包括:小鼠(57 种),大鼠(16 种),豚鼠(4 种),兔(1 种)^[6],雪貂(1 种)^[7];大部分采用在密闭容器内将动物全身长时间暴露于 CS 中造模,但暴露的剂量及频次均不统一,暴露时间最长为 40 周,最短的为 3 d;大部分研究进行了肺组织切片染色、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)收集及检验,少部分研究测量了动物肺功能;造模目的主要包括造模方法间比较,新的造模方法评价,发病机制、干预靶点研究,CS 暴露对其他脏器影响,药物治疗,诊断等。6 种动物模型由暴露于臭氧中诱导产生,选用的动物包括:小鼠(5 种),大鼠(1 种),大部分研究采用慢性暴露于臭氧中造模。2 项研究采用慢性 NO₂ 干预大鼠制作慢阻肺动物模型。1 项研究模型通过分别将大鼠慢性暴露于 BMF 和 MVE 中产生并探究其发病机制^[8]。1 项研究使用大麻烟雾造模并对模型进行了评价^[9]。

26 种动物模型采用气管内或鼻内滴注 PPE 诱导而成,采用的动物包括:小鼠(24 种),大鼠(2 种);大部分采用单次滴注 PPE,少部分研究采取多次滴注^[10]。6 种动物模型选用香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE)诱导而成,造模的动物包括:小鼠(5 种),大鼠(1 种);干预方式有多次腹腔注射、连续 3 周气管内滴注、连续 2 周雾化吸入 CSE 溶液等。4 种模型采用小鼠鼻内滴注 LPS 方法造模,其中 Almeida 等^[11]采用第 1、3 天滴注两次急性造模和每周两次滴注,持续 20 周的方法慢性造模,以研究干细胞分别对 LPS 急慢性暴露后肺损伤的治疗作用。

1.2.2 采用复合方法制作慢阻肺动物模型的研究

从造模方法来看,共有 42 项研究,44 种动物模型采用复合方法造模,复合方法造模多是为了制作慢阻肺加重期动物模型,通过 CS、LPS、PPE 等诱导剂使模型动物产生肺气肿样病变,再联合 PM2.5 急性暴露、接种细菌或病毒等使病情急性加重。

CS 联合 LPS 是最常使用的方法,共有 22 种动物模型通过此法制得,其中小鼠模型(3 种),大鼠模型(19 种),大部分采用慢性暴露于 CS 中联合多次气管内滴注 LPS 诱导产生。有 8 项研究采用 CS 或 PPE 暴露后在模型动物鼻内接种微生物以制作慢阻肺急性加重模型,其中 Asakura 等^[12]在小鼠气管内注射 5U PPE,4 周后鼻内接种肺炎球菌以造模;Zhao 等^[13]将大鼠慢性暴露于 CS 中联合多次鼻内滴注肺炎克雷伯氏菌悬浮液造模;Sharan 等^[14]将小鼠暴露于 CS 中 12 周,然后使用非分型流感嗜血杆菌(non-typeable *Haemophilus influenzae*, NTHi)攻击小鼠,并通过测量肺功能、肺组织、BALF 对加重模型进行评价;Bucher 等^[15]将小鼠暴露于 CS 中 9 d 后鼻内接种 H1N1 流感病毒;Jang 等^[16]将食蟹猴暴露于 CS 中 4 周后鼻内滴注 H3N2 病毒造模;Harada 等^[17]采用在小鼠气管内单次滴注 PPE,12 d 后鼻内接种 H1N1 型流感病毒,并在 4 d 后鼻内接种肺炎链球菌以模拟慢阻肺患者继发性细菌性肺炎。

5 项研究采用 PPE 联合 LPS 造模,既有多次 PPE 及 LPS 暴露制作慢阻肺模型^[18],又有多次气管内滴注 PPE 造模后,通过单次气管内滴注 LPS 以制作慢阻肺急性加重模型^[19]。有 3 项研究采用将小鼠慢性暴露于 CS 中联合多次腹腔注射 CSE 造模。有 2 项研究通过将小鼠或大鼠暴露于 CS 中并多次在气管内滴注 PM2.5 混悬液以研究急性 PM2.5 暴露造成的肺损伤。Rodrigues 等^[20]的研究采用将小鼠全身暴露于 CS 中 60 d 联合前 30 d 鼻内滴注 PPE 诱导慢阻肺模型并对模型进行肺功能及肺组织病理学评价。1 项研究采用多次气管内滴注 LPS 及 CSE 制作慢阻肺动物模型^[21]。1 项研究采用气管内单次滴注 LPS 后将小鼠慢性暴露于 MVE 中造模,并通过肺功能、肺组织、BALF 对此种模型进行评估^[22]。

以上为 PubMed 数据库收录的 2016 年 9 月至 2019 年 9 月有关慢阻肺造模研究涉及的慢阻肺造模动物及造模方法的简单介绍,需要注意的是以上仅为慢阻肺造模相关文献的部分,并不能完全概括慢阻肺所有的造模方法。

2 慢阻肺实验动物的选择

构建慢阻肺动物模型的动物种类有啮齿类动物(小鼠,大鼠,豚鼠等)、哺乳动物(兔、犬、猪、猴等),最常用的是小鼠和大鼠。

2.1 啮齿类动物

啮齿类动物作为最常用的种类有如下优势:①繁殖周期短、数量多,造模成本低;②体型小,便于进行实验;③检验检查设备、试剂等较全面;④基因组序列研究深入。但也存在以下不足:①肺部解剖与人类有差异,如没有明确的呼吸性细支气管,无法形成小叶中央型肺气肿^[23],支气管中无杯状细胞;②诊断方式与人类不同,人类慢阻肺诊断以肺功能为金标准,但啮齿类动物进行肺功能评价困难,大多通过肺病理组织学判断炎症细胞浸润及肺气肿程度;③体型小,血液及肺组织连续取材受限;④不同品系造模损害程度有差异,Harada 等^[24]研究表明 BALB/cJ 小鼠较 C57BL/6J 小鼠对外源性蛋白酶刺激更敏感,具体表现为肺功能下降更显著,肺组织炎症细胞更多,死亡率更高等。

啮齿类动物中小鼠最为常用。大鼠相对而言更不容易因 CS 暴露造成肺气肿样损伤^[25]。豚鼠解剖学、生理及烟雾暴露后病理反应,包括炎症、肺气肿、小气道重塑及肺功能改变与人类相似^[26],而且豚鼠造模后粘液高分泌和肺气肿表现更突出,更适合进行肺部疾病研究^[27],但豚鼠具有使用成本高,体温调节能力差,缺乏人类免疫抗体等工具,难以进行分子研究^[28]等不足,这限制了豚鼠在实际研究中的应用。

2.2 其他动物

兔、犬、猪、猴等哺乳动物也可用于慢阻肺造模,虽然肺部组织病理等与人类更相似,但因其成本高,不便操作等,使用率较啮齿类动物少。如:Raju 等^[7]研究示:将雪貂仅鼻暴露于 CS 中 6 个月后,雪貂出现清晨自发性咳嗽及气道阻塞、慢性粘液高分泌及以气道为中心明显的细菌感染的病理特征,与大鼠、小鼠相比更加符合人类慢阻肺特征,但小气道阻力(即组织阻尼)并未见明显升高,这与人类慢阻肺病理特征并不相符,因此还需要进一步的研究。

关于性别对慢阻肺发病的影响方面,现有研究有相互矛盾之处。Tam 等^[29]研究显示暴露于 6 个月 CS 后,相较于雄性或卵巢切除小鼠,雌性小鼠的小气道壁重塑增加,并与远端气道阻力增加,抗氧化剂基因下调,氧化应激增加和 TGF- β 1 活化有关,这些病变可以通过卵巢切除术来预防,实验表明长期暴露于 CS 中的雌性小鼠小气道病变与氧化应激、TGF- β 1 信号转导增加及雌性激素作用相关,雌

激素受体拮抗作用可能在减少女性吸烟者的氧化应激中具有价值。而 Shen 等^[30] 研究显示与雌性 SH 和雄性 WKY 大鼠相比,雄性 SH 大鼠表现出更明显的细胞、炎症和结构变化,更易出现慢阻肺样病变,其研究认为雄性 SH 大鼠是研究慢阻肺的最佳啮齿动物模型。

3 慢阻肺动物模型的制备及评价

目前构建慢阻肺动物模型主要通过 CS 暴露,气管内或鼻内滴注 LPS、PPE、基因修饰等单一或复合因素造模。模型评价主要测量参数为肺组织病理数据、肺部炎症细胞和炎症介质,少部分研究测量了肺功能、动脉血气分析、肺部影像学等。

3.1 有害气体暴露

除遗传因素外,吸烟、空气污染、职业性粉尘和化学物质、生物燃料烟雾等构成了慢阻肺发病最主要的环境因素^[31]。常用来造模的有害气体包括:CS、NO₂、臭氧、PM2.5、MVE 等。

3.1.1 CS 暴露

CS 是公认的慢阻肺发病最相关的危险因素之一,CS 暴露造模最接近人类患病的环境,因此 CS 是用来制作慢阻肺动物模型的最常用有害气体,CS 中含有超过 4500 种化学品,包括多种高度活性的自由基,可诱发炎症和致癌反应^[32],暴露于 CS 引起或加重与氧化应激和炎症相关的多种肺部疾病,包括慢阻肺和肺癌^[33],但其致病分子机制仍知之甚少。暴露于 CS 导致小气道阻塞,这与支气管纤维化、炎症浸润和上皮-间质转化有关,进而导致气道重塑^[34],引起肺功能下降。气道重塑的特征在于气道壁结构的变化,包括平滑肌肥大、基底膜增厚、黏膜下纤维化、黏液细胞化生、上皮脱落和血管生成^[35]。

CS 暴露分为两种:全身暴露于充满 CS 的密闭容器内或通过管道使动物仅鼻吸入 CS,目前 CS 暴露的剂量、时间等并没有统一标准,一般认为至少需要暴露在 CS 中 3 个月。Xia 等^[36]把小鼠暴露在总悬浮颗粒物 (total particulate matter, TPM) 为 500 mg/m³ 的 CS 中 4 周后,发现与对照组小鼠相比,CS 暴露小鼠 BALF 中总细胞、单核细胞和中性粒细胞的数量增加,肺组织中白细胞介素 (interleukin, IL)-6 和 IL-8 的 mRNA 水平和 BALF 上清液中 IL-6 和 IL-8 的分泌水平升高,肺组织病理示有小气道增厚和胶原沉积,使用整体体积描记法

测量的气道高反应性 (airway hyperresponsiveness, AHR) 较对照组小鼠增高,表明暴露于 CS 4 周即会引起肺部炎症和支气管上皮细胞损伤,进而影响气道重塑,导致肺功能障碍。

Drummond 等^[37] 的研究表明:母体产前 (交配前 2 周直至分娩) 和小鼠成年前 (出生后 21~49 d) 的 CS 暴露对成年早期的肺功能下降具有协同作用,这与产前肺发育受损是导致成年期慢阻肺的肺功能加速下降的危险因素假说相一致,但协同作用似乎不是由产前或青春期 CS 暴露对早期肺衰老的影响所介导的,生命早期阶段与气道上皮细胞分化和肺泡形成有关的分子机制还需要进行进一步研究。Polverino 等^[38] 研究显示:CS 暴露 24 周小鼠的肺和肾内皮细胞 (endothelial cell, EC) 损伤与肺和肾中组织氧化应激-高级糖化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs)-高级糖化终末产物受体 (receptor for AGEs, RAGE)-内皮损伤途径的增加有关。还有研究表明 CS 暴露对骨^[39] 和骨骼肌^[40] 也会产生一定负面影响。

3.1.2 臭氧

CS 诱导的模型产生持续的气流限制,肺实质破坏,但 CS 模型耗时较久。除了吸烟,空气污染和职业暴露也是慢阻肺发病常见的原因,臭氧作为主要污染物之一,可直接与呼吸道发生反应,损伤肺组织,因此也有部分研究选用臭氧造模。Sun 等^[41] 将小鼠全身暴露在浓度为 2.5 ppm 臭氧中,每次 3 h,每周 2 次,持续 7 周,可以观察到小鼠出现类似于慢阻肺患者的用力呼气量减少,肺泡扩大,肺实质破坏,易疲劳,活动距离减少,炎症增加。

3.1.3 NO₂

NO₂ 作为一种交通源空气污染物,由于其广泛的扩散性和较强的氧化性,对慢阻肺发展有促进作用^[42]。Zhang 等^[43] 研究表明每天 6 h 全身暴露于浓度为 20 ppm NO₂,持续 75 d 可导致大鼠非炎症性肺气肿,并导致整体 DNA 甲基化,NO₂ 介导的 DNA 超甲基化可能参与肺气肿的病理生理过程,并通过去甲基化可以改善肺气肿相关的病症。其致病机制可能与以下方面有关:①NO₂ 可在远端气道中转化为 NO₂⁻ 和 NO₃⁻,并具有直接损伤某些结构和功能肺细胞的能力;②NO₂ 启动自由基的生成,主要导致蛋白质氧化、脂质过氧化及细胞膜损伤;③可通过改变巨噬细胞和免疫功能来降低对感染的抵抗力^[43]。

3.2 PPE

CS 暴露虽然被认为是最符合人类慢阻肺发展的模型,但其存在造模时间长,肺泡扩大程度较轻^[44],停止烟雾暴露后病情停止进展,这与人类停止吸烟后慢阻肺情况依旧进展^[45]不相吻合,因此蛋白酶作为一种替代方法,在发现人类 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺乏症和慢阻肺之间的关联后应运而生^[46],目前认为肺中蛋白酶和抗蛋白酶之间的失衡与慢阻肺形成有关。在模型动物气管内或鼻内灌注弹性蛋白酶,如木瓜蛋白酶、人中性粒细胞弹性蛋白酶和 PPE,可诱导肺气肿形成^[46-47],其中 PPE 较为常用。虽然这与人类慢阻肺病因不同,但可以导致模型动物产生持续性肺气肿,且肺气肿的程度在单个蛋白酶滴注后逐渐恶化,提示蛋白酶诱导的急性损伤触发的宿主内源性反应有助于渐进性肺气肿形成^[48]。

Lan 等^[49]研究显示,小鼠气管内滴注 PPE(用量为 1.5 mg/kg,溶解在 50 μ L 无菌磷酸缓冲盐溶液中)后,相较于对照组小鼠,实验组小鼠出现类似于人类的肺组织平均线性截距长度显著增加,肺部炎症浸润及胶原沉积。Dharwal 等^[50]研究显示,气管内滴注 1 U PPE 后 7 d,小鼠炎症反应最强烈,21 d 肺气肿病变最显著。Shibata 等^[48]研究显示:鼻内滴注 0.6 U PPE 后,小鼠肺浸润性嗜碱性粒细胞分泌的 IL-4 促进肺浸润性单核细胞分化为产生致病性基质金属蛋白酶(metalloproteinase, MMP)-12 的间质巨噬细胞,导致肺气肿形成,这仅可在肺气肿早期病变中发现,从而证明了之前未被重视的嗜碱性粒细胞、IL-4 和间质巨噬细胞在肺气肿的发展中的作用。

3.3 LPS

LPS 是革兰阴性菌细胞壁外膜中的重要成分,进入机体后可以刺激单核细胞、中性粒细胞等产生肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-1、IL-6、集落刺激因子、干扰素等多种炎症介质,使机体产生炎症反应,进而形成肺气肿^[51]。Khedoe 等^[52]研究显示:通过第 1、3 天鼻内分别滴注 10 μ g 大肠杆菌 LPS 诱导急性肺损伤,可导致小鼠 BALF 中性粒细胞浸润和全身 IL-6 水平升高,在每周两次鼻内滴注 10 μ g LPS,持续 20 周的慢性研究中,可诱导小鼠产生持续气道炎症和肺气肿,但相较于 PPE 诱导的肺气肿,LPS 诱导的模型动物中肺泡组织损伤程度较轻。LPS 诱导的肺气肿只是短时间内造成肺损伤,形成肺气肿样病变,但不会出现渐进性通

气障碍,因此只能复制慢阻肺的部分特征^[53]。

3.4 复合造模方法

慢阻肺常用的复合造模方法包括 CS 暴露联合 LPS、PPE、CSE 或 PM_{2.5}, LPS 联合 PPE、CSE 或 MVE 等,及单一方法联合细菌或病毒接种诱发慢阻肺急性加重模型,内容可参照 1.2.2 部分。

4 小结

慢阻肺动物模型常选用大鼠和小鼠作为模型动物,少数研究使用豚鼠、犬、猪、猴等动物造模。常用造模诱导剂包括有害气体(如 CS、LPS、PPE 等),这些诱导剂都可以使模型动物产生肺部炎症及肺气肿改变,但干预时间及具体表现有所差异。CS 诱导与人类慢阻肺发病病因相似,暴露后造成实验动物肺部炎症(BALF 中炎症细胞数增加,炎症因子分泌增多,肺组织中炎症因子水平升高),气道重塑(小气道增厚和胶原沉积),肺功能障碍(气道高反应性)等病变^[36],但 CS 存在暴露周期长,肺泡病变轻,停止暴露后病情进展中止等不足。PPE 单次滴注即可引起模型动物产生肺部炎症及肺气肿改变,且肺气肿病变呈渐进性、持续性。LPS 反复滴注亦可引起模型动物产生持续性气道炎症及肺气肿,肺泡损伤轻于 PPE 诱导模型动物,但 PPE 及 LPS 干预都存在与人类发病病因不同的不足。大部分研究采用单一诱导剂引起模型动物慢阻肺病变,近年来越来越多的研究使用多种因素联合造模,因为复合因素造模比单一方法造模更符合人类慢阻肺病理表现且常常可以缩短造模时间。

建立人体疾病动物模型,通过其与人类疾病的对比研究,可以深入探索疾病发病机制,寻找治疗靶点及作用通路,开发治疗药物等,对疾病研究意义重大。但动物与人类生理病理差异,诱导方法作用机制未明,动物模型评价尚未统一标准,这些因素都对慢阻肺动物模型的研究造成一定影响。良好的动物模型应该具有与人类相似的解剖、生理、病理特征,造模方法具有一定的规范,以便于重复再现,并且研究者可根据实验目的不同选择相应的模型动物及造模方法。因此未来对于慢阻肺的实验研究应着重于选择最适合的动物种类及品系,对造模方法及模型评价形成一定的标准,以便制作出最符合人类生理病理机制的动物模型。

参考文献:

[1] 王晓娟,方向阳.慢性阻塞性肺疾病全球倡议 2019:慢性阻

- 塞性肺疾病诊断、治疗与预防全球策略解读 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(18): 2141-2149.
- [2] 马宏境, 刘彬. 慢性阻塞性肺疾病发病机制的研究 [J]. 医学信息, 2019, 32(10): 50-52.
- [3] 陈亚红. 2019 年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗及预防全球策略解读 [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2019, 11(1): 1-15.
- [4] 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.
- [5] López-Campos JL, Tan W, Soriano JB. Global burden of COPD [J]. Respirology, 2016, 21(1): 14-23.
- [6] Goldklang MP, Tekabe Y, Zelonina T, et al. Single-photon emission computed tomography/computed tomography imaging in a rabbit model of emphysema reveals ongoing apoptosis *in vivo* [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 55(6): 848-857.
- [7] Raju SV, Kim H, Byzek SA, et al. A ferret model of COPD-related chronic bronchitis [J]. JCI Insight, 2016, 1(15): e87536.
- [8] He F, Liao B, Pu J, et al. Exposure to ambient particulate matter induced COPD in a rat model and a description of the underlying mechanism [J]. Sci Rep, 2017, 7: 45666.
- [9] Helyes Z, Kemény Á, Csek K, et al. Marijuana smoke induces severe pulmonary hyperresponsiveness, inflammation, and emphysema in a predictive mouse model not via CB1 receptor activation [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 313(2): L267-L277.
- [10] Melo AC, Cattani-Cavaliere I, Barroso MV, et al. Atorvastatin dose-dependently promotes mouse lung repair after emphysema induced by elastase [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102: 160-168.
- [11] Almeida FM, Saraiva-Romanhó BM, Vieira RP, et al. Compensatory lung growth after bilobectomy in emphysematous rats [J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181819.
- [12] Asakura T, Ishii M, Namkoong H, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor modulator ONO-4641 stimulates CD11b(+) Gr-1(+) cell expansion and inhibits lymphocyte infiltration in the lungs to ameliorate murine pulmonary emphysema [J]. Mucosal Immunol, 2018, 11(6): 1606-1620.
- [13] Zhao P, Li J, Tian Y, et al. Restoring Th17/Treg balance via modulation of STAT3 and STAT5 activation contributes to the amelioration of chronic obstructive pulmonary disease by Bufe Yishen formula [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 217: 152-162.
- [14] Sharan R, Perez-Cruz M, Kervoeze G, et al. Interleukin-22 protects against non-typeable *Haemophilus influenzae* infection: alteration during chronic obstructive pulmonary disease [J]. Mucosal Immunol, 2017, 10(1): 139-149.
- [15] Bucher H, Mang S, Keck M, et al. Neutralization of both IL-1 α /IL-1 β plays a major role in suppressing combined cigarette smoke/virus-induced pulmonary inflammation in mice [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2017, 44: 96-105.
- [16] Jang JH, Chand HS, Bruse S, et al. Connective tissue growth factor promotes pulmonary epithelial cell senescence and is associated with COPD severity [J]. COPD, 2017, 14(2): 228-237.
- [17] Harada T, Ishimatsu Y, Hara A, et al. Premedication with clarithromycin is effective against secondary bacterial pneumonia during influenza virus infection in a pulmonary emphysema mouse model [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2016, 358(3): 457-463.
- [18] Mebratu YA, Tesfaigzi Y. IL-17 plays a role in respiratory syncytial virus-induced lung inflammation and emphysema in elastase and LPS-injured mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2018, 58(6): 717-726.
- [19] 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.
- [20] Rodrigues R, Olivo CR, Lourenço JD, et al. A murine model of elastase- and cigarette smoke-induced emphysema [J]. J Bras Pneumol, 2017, 43(2): 95-100.
- [21] Skurikhin EG, Pershina OV, Pakhomova AV, et al. Endothelial progenitor cells as pathogenetic and diagnostic factors, and potential targets for GLP-1 in combination with metabolic syndrome and chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5): E1105.
- [22] 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.
- [23] Wright JL, Churg A. Animal models of cigarette smoke-induced COPD [J]. Chest, 2002, 122(6 Suppl): 301S-306S.
- [24] Limjunyawong N, Craig JM, Lagassé HA, et al. Experimental progressive emphysema in BALB/cJ mice as a model for chronic alveolar destruction in humans [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2015, 309(7): L662- L676.
- [25] 范励侦, 赖国祥. 慢性阻塞性肺疾病动物模型研究进展 [J]. 福建医药杂志, 2011, 33(1): 139-141.
- [26] Wright JL, Churg A. Cigarette smoke causes physiologic and morphologic changes of emphysema in the guinea pig [J]. Am Rev Respir Dis, 1990, 142(6 Pt 1): 1422-1428.
- [27] Ressmeyer AR, Larsson AK, Vollmer E, et al. Characterisation of guinea pig precision-cut lung slices: comparison with human tissues [J]. Eur Respir J, 2006, 28(3): 603-611.
- [28] Jones B, Donovan C, Liu G, et al. Animal models of COPD: What do they tell us? [J]. Respirology, 2017, 22(1): 21-32.
- [29] 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.
- [30] Shen YH, Pham AK, Davis B, et al. Sex and strain-based inflammatory response to repeated tobacco smoke exposure in spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats [J]. Inhal

- Toxicol, 2016, 28(14): 677–685.
- [31] 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版) [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2014, 6(2): 67–79, 80.
- [32] Mossina A, Lukas C, Merl-Pham J, et al. Cigarette smoke alters the secretome of lung epithelial cells [J]. *Proteomics*, 2017, 17(1–2).
- [33] Hamada T, Nowak JA, Masugi Y, et al. Smoking and risk of colorectal cancer sub-classified by tumor-infiltrating T cells [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111(1): 42–51.
- [34] Lai T, Li Y, Chen M, et al. Heparin-binding epidermal growth factor contributes to COPD disease severity by modulating airway fibrosis and pulmonary epithelial-mesenchymal transition [J]. *Lab Invest*, 2018, 98(9): 1159–1169.
- [35] Gizycki MJ, Adelroth E, Rogers AV, et al. Myofibroblast involvement in the allergen-induced late response in mild atopic asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 16(6): 664–673.
- [36] Xia H, Xue J, Xu H, et al. Andrographolide antagonizes the cigarette smoke-induced epithelial-mesenchymal transition and pulmonary dysfunction through anti-inflammatory inhibiting HOTAIR [J]. *Toxicology*, 2019, 422: 84–94.
- [37] Drummond D, Baravalle-Einaudi M, Lezmi G, et al. Combined Effects of in Utero and Adolescent Tobacco Smoke Exposure on Lung Function in C57BL/6J Mice [J]. *Environ Health Perspect*, 2017, 125(3): 392–399.
- [38] Polverino F, Lauchó-Contreras ME, Petersen H, et al. A pilot study linking endothelial injury in lungs and kidneys in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 195(11): 1464–1476.
- [39] Sasaki M, Chubachi S, Kameyama N, et al. Effects of long-term cigarette smoke exposure on bone metabolism, structure, and quality in a mouse model of emphysema [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191611.
- [40] Ma R, Gong X, Jiang H, et al. Reduced nuclear translocation of serum response factor is associated with skeletal muscle atrophy in a cigarette smoke-induced mouse model of COPD [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 581–587.
- [41] Sun Z, Li F, Zhou X, et al. Generation of a chronic obstructive pulmonary disease model in mice by repeated ozone exposure [J]. *J Vis Exp*, 2017, (126).
- [42] Zhang Z, Wang J, Guo M, et al. Air quality improvement during 2010 Asian games on blood coagulability in COPD patients [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2016, 23(7): 6631–6638.
- [43] Zhang Z, Wang J, Liu F, et al. Non-inflammatory emphysema induced by NO₂ chronic exposure and intervention with demethylation 5-Azacytidine [J]. *Life Sci*, 2019, 221: 121–129.
- [44] Lopes FD, Toledo AC, Olivo CR, et al. A comparative study of extracellular matrix remodeling in two murine models of emphysema [J]. *Histol Histopathol*, 2013, 28(2): 269–276.
- [45] Wright J L, Cosio M, Chung A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295(1): L1–L15.
- [46] Gross P, Pfitzer E A, Tolker E, et al. Experimental emphysema: its production with papain in normol and silicotic rats [J]. *Arch Environ Health*, 1965, 11: 50–58.
- [47] Kao RC, Wehner NG, Skubitz KM, et al. Proteinase 3. A distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters [J]. *J Clin Invest*, 1988, 82(6): 1963–1973.
- [48] Shibata S, Miyake K, Tateishi T, et al. Basophils trigger emphysema development in a murine model of COPD through IL-4-mediated generation of MMP-12-producing macrophages [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(51): 13057–13062.
- [49] Lan YW, Yang JC, Yen CC, et al. Predifferentiated amniotic fluid mesenchymal stem cells enhance lung alveolar epithelium regeneration and reverse elastase-induced pulmonary emphysema [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 163.
- [50] Dharwal V, Sandhir R, Naura AS. PARP-1 inhibition provides protection against elastase-induced emphysema by mitigating the expression of matrix metalloproteinases [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 457(1–2): 41–49.
- [51] 刘中原, 李延平. 细菌脂多糖的生物活性及作用机制 [J]. *医学综述*, 2010, 16(2): 166–169.
- [52] Khedoe PPSJ, de Kleijn S, van Oeveren-Rietdijk AM, et al. Acute and chronic effects of treatment with mesenchymal stromal cells on LPS-induced pulmonary inflammation, emphysema and atherosclerosis development [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0183741.
- [53] 陈丕仁, 崔立, 侯加法. 慢性阻塞性肺病动物模型的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(3): 238–242.

[收稿日期] 2019–11–07