

李静,张利英,雍文兴,等. 慢性阻塞性肺疾病啮齿类动物模型与评估方法的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 692-697

Li J, Zhang LY, Yong WX, et al. Progress in the evaluation for chronic obstructive pulmonary disease using a rodent model [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(5): 692-697.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.05.013

慢性阻塞性肺疾病啮齿类动物模型与评估方法的研究进展

李静¹, 张利英^{1*}, 雍文兴^{2*}, 张苡铭¹, 李洋洋¹, 周谷城¹, 牛帆¹, 李高勤²

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730000)

【摘要】 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是以持续性气流受限为特征的常见呼吸系统疾病,其较高的发病率和死亡率给患者和社会带来了沉重负担。为了复制人类 COPD 的病理,深入探讨 COPD 的发病机制、药物开发等,近年来动物模型的研究得到越来越多的重视。本文详细综述了近年来常用复合方法造模的优缺点以及评价模型的方法,为 COPD 的研究奠定基础。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;动物模型;评估方法

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 05-0692-06

Progress in the evaluation for chronic obstructive pulmonary disease using a rodent model

LI Jing¹, ZHANG Liying^{1*}, YONG Wenxing^{2*}, ZHANG Yiming¹, LI Yangyang¹, ZHOU Gucheng¹, NIU Fan¹, LI Gaoqin²

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China. 2. Affiliated Hospital of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000)

Corresponding author: ZHANG Liying, E-mail: zhangliying201212@163.com; YONG Wenxing. E-mail: 1473124396@qq.com

【Abstract】 Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common respiratory disease characterized by persistent airflow restriction resulting in high morbidity and mortality that burdens patients and society. To replicate the pathology of human COPD and explore drug developments for treatment, attention has been directed to animal model research in recent years. In this paper, the advantages and disadvantages of common composite modeling method and evaluation method are reviewed to establish a foundation for the study of COPD.

【Keywords】 chronic obstructive pulmonary disease; animal model; appraisal procedure

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

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)作为慢性疾病的发病率及死亡率的主要原因之一,预测到2030年将成为全球

第三大死亡原因^[1]。COPD具有患病率高、死亡率高、致残率高、经济负担重等特点^[2],已经给人类健康带来了巨大挑战。因此,通过建立成功的COPD

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82160868),兰州市卫生健康重点科技发展项目(2021006)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82160868), Lanzhou Key Health Science and Technology Development Project (2021006).

【作者简介】 李静(1996—),女,硕士,研究方向:中西医结合急危重症。Email:2257518207@qq.com

【通信作者】 张利英,女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:中西医结合防治肿瘤。Email:zhangliying201212@163.com;

雍文兴,男,硕士,主任医师,硕士生导师,研究方向:中西医结合急危重症。Email:1473124396@qq.com。

* 共同通信作者

动物模型对其发病机制、治疗具有重要的意义。

目前, COPD 啮齿类动物模型应用较多, 因为其具有繁殖成本低、繁殖周期短、基因组与人类相似等优点, 其建模的方法主要分为单一因素造模和复合因素模型。单一因素诱导主要有烟草暴露, 空气污染物暴露, 气道内滴注酶类、细菌等造成 COPD 模型, 此类模型耗时长, 且无法符合气道重塑、血管重塑、持续气流受限等复杂的 COPD 病理特点。因此, 为了构建有效的动物模型, 复合因素造模越来越得到更多关注, 其不仅缩短了模型时间, 而且多因素可造成多种病理结果的 COPD 模型, 应用更加广泛。本文综述了复合因素造模常用几种方法的特点, 为研究 COPD 各种机制提供依据。

1 烟草烟雾联合造模方法

吸烟是 COPD 的重要诱因, 研究显示烟草烟雾 (cigarette smoke, CS) 中含有尼古丁、焦油、一氧化碳等 4000 多种有害物质, 已知可能有 60 多种参与 COPD 的发生^[3], 因此常用 CS 暴露构建 COPD 模型。该方法已运用于各类动物 COPD 的模型中, 如小鼠、大鼠、豚鼠、犬类等, 一般至少需要暴露 2 个月才会出现气道炎症反应等早期 COPD 的病理表现, 6 个月则出现稳定期 COPD 模型^[4]。虽然单一 CS 暴露是目前较为理想的 COPD 模型制备方法, 且较为简便, 但由于短时间内很难引起明显的肺泡腔扩大、小气道重塑及肺功能下降等明显 COPD 的特征^[5], 以及不同实验中烟雾浓度、烟熏时间不同, 暂缺乏统一标准 CS 暴露方案^[6]。因此目前更多是利用 CS 联合其他因素造模, 其造成的病理特征更加符合临床 COPD 的复杂性, 在所有复合模型中应用最为广泛。

1.1 CS 联合脂多糖

CS 是氧化剂自由基和不同化合物的混合物, 会导致肺部氧化应激, 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是革兰氏阴性菌的内毒素, 可引起肺损伤^[7]。CS 联合 LPS 诱导模拟了 COPD 的病因, 不仅可形成典型特征的 COPD 模型, 而且有效缩短了造模时间, 更加符合 COPD 病理生理特点, 因此国内外广泛用于 COPD 的模型制备。选择的鼠型主要以雄性 C57BL/6J 小鼠及 SPF 级 Wistar 大鼠为主, 目前最多的造模方案为第 1 天、第 15 天气道滴注 LPS 0.2 mL (1 mL/mg), 滴注日不吸烟, 2 ~ 14 d、16 ~ 28 d 将大鼠置于烟熏箱内被动吸烟, 每次持续 30 min、每

天 2 次, 共计 28 d^[8-9]。观察到肺组织及支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中出现明显的炎症反应, 其中中性粒细胞、巨噬细胞、淋巴细胞数量明显增加, 炎性细胞显著募集^[10], 氧化应激反应明显增强, 如诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 等显著增高, 以及各种炎症因子如 IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β 等明显升高^[11]。相较其他模型来看, CS 联合 LPS 模型炎性反应明显增强, 小气道狭窄、肺泡壁增厚较单纯 CS 模型更加严重, 因此 CS 联合 LPS 更加适合炎性机制及气道重塑的研究^[12]。

1.2 CS 联合大气细颗粒物 (PM_{2.5})

长期暴露于空气污染也是 COPD 的一个重要危险因素, 最近有研究表明, PM_{2.5} 暴露的动物模型中可引发免疫紊乱, 促进肺部炎症, 加剧气道重塑^[13]。目前, 予以吸入含有 PM_{2.5} 颗粒的气体或气管内滴注 PM_{2.5} 混悬液两种方法构建 COPD 大鼠模型, 因其制备工艺繁杂, 故通过此类方法建立模型的研究较少^[14]。Wang 等^[15]将雄性 C57BL/6 小鼠同时暴露于超声雾化器释放的 PM_{2.5} (110 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) 及被动吸烟装置中, 每次 10 支, 每天 2 次, 每周 5 d, 连续 10 月, 观察结果显示, CS + PM_{2.5} 较 CS 组、PM_{2.5} 组的炎症细胞数量明显增加、气管上皮细胞显著增生以及 IL-6、IL-8 炎症因子均增高。Chu 等^[16]首先将小鼠全部暴露于烟雾装置中, 每次 45 min, 每天 4 次, 持续 90 d, 结束后将小鼠转移到 PM_{2.5} (770 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) 的容器中, 每次 30 min, 每天 4 次, 持续 90 d, 造模完后显示 CS + PM_{2.5} 组的肺功能包括吸气峰流量 (PIF)、呼气峰流量 (PEF) 以及巨噬细胞、IL-6、IL-8、TNF- α 均较 CS 组明显增加。此类实验模型造模时间均在 6 个月以上, 建模时间较长, 但可形成持续的慢性炎症反应, 在证明 COPD 的小鼠更容易受到空气污染同时, 对 COPD 稳定期研究、小气道重塑也具有重要意义。

1.3 CS 联合细菌

感染是 COPD 急性加重常见原因, 主要以细菌感染为主, 常见的细菌有铜绿假单胞菌、流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、肺炎克雷伯杆菌等^[17]。细菌感染易致动物死亡, 故对鼠的选择要求较高, 通常选用 SD 大鼠为模型动物^[18], 选择的方法是细菌混悬液经气管滴注或鼻腔滴注, 且需要反复染菌才可造成 COPD 模型。细菌感染很少单独构建 COPD 模

型,通常都是联合 CS 或另一种细菌造成复合模型。陈庆芸等^[19]采用 CS 联合肺炎链球菌造模方法,分别在 1、14、28 d 经鼻滴注肺炎链球菌混悬液后观察大鼠的血氧显著降低,同时 CO₂ 含量升高,气道阻力增加,联合模型较单纯的 CS 模型程度更重,其表现也临床患者相似。Herr 等^[20]利用 CS 联合不同浓度的流感嗜血杆菌 (*nontypeable haemophilus influenzae*, NTHi) 在不同时间内造成 COPD 模型,的比较中发现,CS 组 2 周、3 个月、6 个月的炎症细胞数量并未出现太大变化,NTHi 组在 2 周和 3 个月时 BALF 中出现大量巨噬细胞和中心粒细胞,而这种现象在联合组中更为明显;更有趣的是,CS 暴露 6 个月后反而抑制了 IL-17A 的表达,但联合组出现了明显的升高,因此认为细菌刺激 IL-17A 是必要的,而 IL-17A 可导致气道产生大量黏液,其他研究表明 CS 联合细菌使巨噬细胞、杯状细胞化生,黏液分泌明显增多,近年来研究证实黏液分泌增多是 COPD 的一个重要发病机制^[21]。CS 和细菌成分的共同应用导致了 COPD 的发展特征,包括可引起气道炎症,但很少造成肺气肿及气道重塑^[22]。有研究数据表明,微生物暴露的程度可能决定了 COPD 模型的炎症表型^[23],并且 COPD 发生机制与细菌及其产物有密切相关,因此 CS 联合细菌更适用于 COPD 的细菌炎症机制及黏液分泌失衡的研究。

2 LPS 联合造模方法

LPS 是革兰阴性杆菌的细胞壁成分,可存在于空气污染和有机粉尘中^[24]。有研究表明,单独气管内滴注 LPS 可诱导肺部炎症^[25],然而,LPS 不是慢阻肺的主要病因,反复滴注模拟反复感染导致炎症爆发,只能观察到 COPD 部分病理改变^[26]。为了复制人类 COPD 的病理生理,利用 LPS 复合因素构建模型的研究也越来越多,主要是联合烟熏法或弹性蛋白酶。弹性蛋白酶是一种可溶性蛋白水解酶,由肺中活化的中性粒细胞释放,通过募集炎症因子、降解肺组织弹性蛋白及纤维蛋白、促进气道粘液分泌等参与了大多数肺部疾病的发生^[27]。弹性蛋白酶主要造成以蛋白酶-抗蛋白酶失衡的特征模型,此模型可产生严重的肺气肿^[28],但弹性蛋白酶在 COPD 肺气肿中的作用依赖于多种病理生理机制,这为 COPD 的机制研究带来了干扰。Ishii 等^[29]第 1 天经鼻滴注 0.5 U 猪胰弹性蛋白酶 (*porcine pancreatic elastase*, PPE),随后在第 7、10、14 天分别

经鼻给予 25 mg LPS,观察到在 PPE 基础上联合 LPS 可加剧肺气肿,肺组织中中性粒细胞、巨噬细胞及相关炎症介质明显增加,造成一个肺气肿急性加重模型。De Oliveira 等^[30]通过每周 4 次气管内滴注 PPE,每次 0.2 U,连续滴注 4 周,第 5 周向气管内滴注 LPS 0.2 mg,与 PPE、LPS 组相比,PPE + LPS 组表现出更严重的肺泡壁破坏、肺泡过度膨胀、内皮细胞损伤及间质水肿,中性粒细胞及巨噬细胞浸润,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 VEGF 水平升高等,此研究还检测相关肺外指标,联合组射血分数更低、膈肌功能显著降低、横膈膜结构紊乱、心室壁增厚等,成功建立肺气肿恶化模型。研究表明多次使用 PPE 滴注可形成与人类肺气肿相识的肺外效应^[31],而 LPS 联合 PPE 使肺部炎症两次激活,炎症因子释放造成严重的肺气肿急性加重模型,虽然此模型与人类 COPD 发病机制不同,但对于肺气肿相关机制研究依然具有重要意义。

3 其他因素复合造模方法

除上述应用较多的复合模型外,利用机动车尾气 (*motor vehicle exhaust*, MVE) 联合 LPS 建立 COPD 模型^[32],CS 联合接种 H3N1 病毒成功建立 AECOPD 模型^[33],张甜甜等^[34]运用铜绿假单胞菌及肺炎链球菌建立放大炎症的 AECOPD 模型,除此之外还有氯化钙 + 山梨豆类制、烟熏 + 间歇低氧等方法来构建 COPD 模型。总之,复合因素多构成急性加重期特征为主的 COPD 模型,但不同的因素又有不同的模型特点,所以需要我们根据实验目的选择更加贴近的模型。

4 COPD 模型评估

4.1 一般情况

COPD 是一种全身性疾病,在造模过程中可以观察鼠的皮毛光泽度、精神状态、活动情况、饮食水量、体质量,以及呼吸状况有无咳嗽、喷嚏、呼吸急促、呼吸道有物分泌物从口鼻流出、有无气道痰鸣音等。一般情况作为初步的评价指标,也可为后续是否继续造模提供依据。

4.2 肺功能及血气分析测定

肺功能的测定在 COPD 中具有重要意义,FEV1/FVC (1 秒率) 更是临床诊断 COPD 的金标准。COPD 模型中肺总量、残气量增大,肺活量 (FVC) 及最大呼气量 (PEF) 均有所降低^[35]。吸气

峰流量(PIF)、呼气峰流量(PEF)测定表示气道阻塞程度,除此之外动态肺弹性在肺气肿中明显增加,其表示肺泡最大程度的过度膨胀和纤维化程度^[31],静态顺应性测定等也在评估 COPD 中广泛应用。Sun 等^[36]通过测量 FEV25/FVC、FEV50/FVC、FEV75/FVC 等气流速率参数,提示气流受限情况。血气相关指标如动脉氧分压(PaO_2)、血氧饱和度(SaO_2)、动脉二氧化碳分压(PaCO_2)的水平提示缺氧程度。肺功能测定对有无持续气流受限有重要意义,且操作方便,可重复性良好。

4.3 病理改变

从整体观察 COPD 肺体积增大、肿胀、颜色变浅和弹性下降等^[37]。镜下观察稳定期肺组织弹性减退,肺泡持续扩大,肺泡数量显著减少,小血管管壁增厚,也可见炎性细胞浸润和气道上皮细胞增生。在急性加重期可观察到肺上皮细胞出现变形、坏死,细胞间质有淋巴细胞、中性粒细胞为主的炎性浸润,支气管黏膜上皮脱落,黏液腺增生、肥大,管腔可见大量黏液,气管上皮柱状细胞增生,肺泡管、肺泡囊明显扩大,有时可见肺泡壁变薄破裂形成肺大泡^[38]。病理检查可直观观察到气管和肺组织的病理特征,评估疾病的严重程度,是评价模型是否成功的最直接有力的证据。

4.4 炎症指标

炎症反应作为 COPD 发生的重要机制,在评价模型中具有重要地位。通常在血清、肺泡灌洗液、肺组织中检测炎性细胞及炎症因子水平,炎性细胞常见有白细胞总数、淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、TH17 细胞数量等,炎症介质有 IL-6、IL-8、IL-10、IL-17、TNF- α 、TGF- β 等,其测定为 COPD 炎性浸润和严重程度提供依据。

4.5 影像学改变

目前对于临床诊断 COPD 来讲,除了肺功能测定,影像学资料可直接观察 COPD 的肺部病变进程。X 光片检查、电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)、核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)作为常用检查手段,在 COPD 模型中可观察到支气管管壁增厚、肺纹理增粗、肺气肿、肺纤维化等,严重模型可观察到肺大泡等影像学改变^[39],通过胸部微计算机断层扫描(Micro-CT)可观察肺的形态学变化,判断肺气肿的定量改变。除此之外,近年来小动物正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography, PET)-计算机断层扫

描(computed tomography, CT)技术的发展,同样为实验动物的活体观察创造了条件^[40]。影像学检查具有操作简单、结果直观、无创性等优点,目前在动物实验模型评价中应用广泛。

4.6 其他指标

除上述评估方法之外,免疫组织化学法作为病理诊断的重要手段,通过化学反应使标记抗体的显色剂显色,以确定肺组织细胞内的抗原,并对其进行定位、定性及半定量的研究^[41],其相较 HE 染色更为优化、精确,同时可评估中心粒细胞、巨噬细胞、T 细胞等细胞水平,对 COPD 的病理机制研究至关重要。蛋白免疫印迹(Western Blot)通过检测 COPD 肺组织及肺泡灌洗液中相关机制蛋白,来确认模型是否成功。此外小动物活体体内光学成像(optical *in vivo* imaging, OI)技术采用生物发光和荧光两种方式,可以直接在动物体内检测炎症发生、特定基因表达等多种细胞基因行为,期待在未来 COPD 研究广泛应用。除此之外,肺力学测量、形态计量指标、肺的血流动力学变化等都是评估 COPD 及全身疾病的指标。

5 结语

COPD 是严重危害人类健康的慢性疾病,其病因、发病机制、病理变化复杂多样,且其病情进展缓慢呈进行性,因此目前尚未有根治 COPD 的方法。缺少完全符合人类 COPD 特征动物模型便是一个限制因素,单一因素造模方法目前研究较多,但由于其耗时长,病理特征不明显,很难符合临床 COPD 的特征。目前多采用复合因素造模,不同因素造成其病理特征的侧重点不同,对深入机制的研究有重要作用。动物与人类的生理病理尚有差异,想要建立接近人类 COPD 特点的模型,评估方法必不可少,在评估模型时,需注意结合功能学、病理学、影像学及炎症细胞等多种方法,以保证模型成功的准确性。尽管复合模型已经从多方面靠近 COPD 病理特点,但 COPD 包括多种的病理变化,如肺气肿、小气道重塑、血管重塑、支气管炎等,要想完全再现 COPD 的功能变化仍然是个未解的问题。尽管复合因素模型应用广泛,模型良好,但其研究的模型动物、耗时长短、药物剂量、诱导方式等依然没有统一标准。期待未来有更多实验着重于慢阻肺动物模型的研究,为解决 COPD 的发病机制、寻找有效靶点药物等作出贡献。

参 考 文 献(References)

- [1] Ko FW, Chan KP, Hui DS, et al. Acute exacerbation of COPD [J]. *Respirology*, 2016, 21(7): 1152–1165.
- [2] Gu YH, Yamasita T, Kang KM. Subchronic oral dose toxicity study of *Enterococcus faecalis* 2001 (EF 2001) in mice [J]. *Toxicol Res*, 2018, 34(1): 55–63.
- [3] Sun X, Feng X, Zheng D, et al. Ergosterol attenuates cigarette smoke extract-induced COPD by modulating inflammation, oxidative stress and apoptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(13): 1523–1536.
- [4] Ito JT, Cervilha DAB, Lourenço JD, et al. Th17/Treg imbalance in COPD progression: a temporal analysis using a cs-induced model [J]. *PLoS One*. 2019, 14(1): 1–19.
- [5] He S, Li L, Sun S, et al. A novel murine chronic obstructive pulmonary disease model and the pathogenic role of microRNA-21 [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 503–515.
- [6] 姜友军, 张培蓓, 叶贤伟. 慢性阻塞性肺疾病鼠类动物模型研究进展 [J]. *医学综述*, 2021, 27(7): 1350–1357.
- Jiang YJ, Zhang PB, Ye XW. Research progress in rat model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Med Rec*, 2021, 27(7): 1350–1357.
- [7] Wang XL, Li T, Li JH, et al. The effects of resveratrol on inflammation and oxidative stress in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1529–1542.
- [8] 王智超, 吴雨潇, 王振兴, 等. LPS 联合烟熏致 COPD 大鼠模型的证候判定 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(6): 2035–2041.
- Wang ZC, Wu YX, Wang ZX, et al. Syndrome judgment of COPD rat model induced by LPS combined with smoking [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2020, 22(6): 2035–2041.
- [9] 熊英, 张金娟, 李玲, 等. 香烟烟雾对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能及血清细胞因子水平影响 [J]. *实验动物与比较医学*, 2017, 37(4): 315–319.
- Xiong Y, Zhang JJ, Li L, et al. Effects of cigarette smoke on lung function and serum cytokine levels in chronic obstructive pulmonary disease rat [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2017, 37(4): 315–319.
- [10] Rho J, Seo CS, Hong EJ, et al. Yijin-tang attenuates cigarette smoke and lipopolysaccharide-induced chronic obstructive pulmonary disease in mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 1–12.
- [11] Shin NR, Kim SH, Ko JW, et al. Hemohim, a herbal preparation, alleviates airway inflammation caused by cigarette smoke and lipopolysaccharide [J]. *Lab Anim Res*, 2017, 33(1): 40–47.
- [12] Yang Y, Di T, Zhang Z, et al. Dynamic evolution of emphysema and airway remodeling in two mouse models of COPD [J]. *BMC Pulm Med*, 2021, 21(1): 134–144.
- [13] Gu XY, Chu X, Zeng XL, et al. Effects of PM2.5 exposure on the Notch signaling pathway and immune imbalance in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Environ Pollut*, 2017, 226: 163–173.
- [14] Chen L, Yuan X, Zou L, et al. Effects of 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 on the prevention of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats exposed to air pollutant particles less than 2.5 micrometers in diameter (PM2.5) [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 356–362.
- [15] 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.
- [16] Chu X, Liu XJ, Qiu JM, et al. Effects of Astragalus and *Codonopsis pilosula* polysaccharides on alveolar macrophage phagocytosis and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease mice exposed to PM2.5 [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016, 48: 76–84.
- [17] 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 relate clinical applications [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(4): 563–569.
- [18] 梅晓峰, 吴婉柳, 肖振亚, 等. 补肺益肾方对 COPD 大鼠气道黏液高分泌及肺组织 Notch3, HES1 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(3): 68–75.
- Mei XF, Wu WL, Xiao ZY, et al. Effect of bufei yishen prescription on airway mucus hypersecretion and notch3 and HES1 expression in lung tissues of rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(3): 68–75.
- [19] 陈庆芸, 刘美花, 韦超超, 等. 吸入烟雾联合经鼻滴入肺炎链球菌建立大鼠慢性阻塞性肺疾病模型 [J]. *基础医学与临床*, 2020, 40(10): 1407–1408.
- Chen QY, Liu MH, Wei CC, et al. Inhaled smoke combined with nasal drip of *Streptococcus pneumoniae* to build a COPD rat model [J]. *Basic Clin Med*, 2020, 40(10): 1407–1408.
- [20] Herr C, Han G, Li D, et al. Combined exposure to bacteria and cigarette smoke resembles characteristic phenotypes of human COPD in a murine disease model [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2015, 67(3): 261–269.
- [21] Guan X, Lu Y, Wang G, et al. The role of regulatory t cell in nontypeable haemophilus influenzae-induced acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 24: 356–362.
- [22] Shu J, Li D, Ouyang H, et al. Comparison and evaluation of two different methods to establish the cigarette smoke exposure mouse model of COPD [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15454.
- [23] Leung JM, Tiew PY, Mac Aogáin M, et al. The role of acute and chronic respiratory colonization and infections in the pathogenesis of COPD [J]. *Respirology*, 2017, 22(4): 634–650.

- [24] Cui H, Liu X, Zhang J, et al. Attenuates cigarette smoke and lipopolysaccharide-induced COPD in rats via inflammation inhibition and antioxidant and antifibrosis pathways [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 6103158.
- [25] Hou J, Wang J, Meng J, et al. *Zanthoxylum bungeanum* seed oil attenuates LPS-Induced BEAS-2B cell activation and inflammation by inhibiting the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 2073296.
- [26] Ghorani V, Boskabady MH, Khazdair MR, et al. Experimental animal models for COPD: a methodological review [J]. Tob Induc Dis, 2017, 15: 25–37.
- [27] 焦丽君, 章菁仪, 王欣燕. 中性粒细胞弹性蛋白酶对支气管扩张症作用机制的研究进展 [J]. 现代医学, 2021, 49(6): 710–713.
- Jiao LJ, Zhang JY, Wang XY. Research progress on the mechanism of neutrophil elastase on bronchiectasis [J]. Mod Med J, 2021, 49(6): 710–713.
- [28] 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.
- [29] Ishii T, Hosoki K, Nikura Y, et al. FN regulatory factor 3 potentiates emphysematous aggravation by lipopolysaccharide [J]. J Immunol, 2017, 198(9): 3637–3649.
- [30] 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: 664–680.
- [31] Rocha NN, de Oliveira MV, Braga CL, et al. Ghrelin therapy improves lung and cardiovascular function in experimental emphysema [J]. Respir Res, 2017, 18(1): 185–197.
- [32] 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.
- [33] Oostwoud LC, Gunasinghe P, Seow HJ, et al. Apocynin and ebselen reduce influenza a virus-induced lung inflammation in cigarette smoke-exposed mice [J]. Sci Rep, 2016, 6: 20983.
- [34] 张甜甜, 王惠琴, 薛佩妮, 等. 铜绿假单胞菌及肺炎链球菌诱发 AECOPD 大鼠血清 PCT 和 IL-6 水平的变化及意义 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(11): 1198–1206.
- Zhang TT, Wang HQ, Xue PN, et al. Levels and significance of serum PCT and IL-6 in AECOPD rats induced by *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* [J]. J Patho Bio, 2018, 13(11): 1198–1206.
- [35] 包海蓝, 特日格乐, 其木格. 红花黄色素对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺功能的改善作用 [J]. 中国药房, 2021, 32(13): 1578–1582.
- Bao HL, Te RGL, Qi MG. Improvement effects of safflower yellow on lung function of chronic obstructive pulmonary disease model rats [J]. Chin Pharm, 2021, 32(13): 1578–1582.
- [36] 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: 56095.
- [37] 林敏聪, 张胜军. 慢性阻塞性肺疾病动物模型及评价方法研究进展 [J]. 海南医学, 2020, 31(15): 2006–2010.
- Lin MC, Zhang SJ. Advances in animal models and evaluation methods of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Hainan Med J, 2020, 31(15): 2006–2010.
- [38] Xiao C, Cheng S, Li R, et al. Isoforskolin alleviates AECOPD by Improving pulmonary function and attenuating inflammation which involves downregulation of Th17/IL-17A and NF- κ B/NLRP3 [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 721273.
- [39] Thiboutot J, Yuan W, Park HC, et al. Current advances in COPD imaging [J]. Acad Radiol, 2019, 26(3): 335–343.
- [40] 黄明, 张应洵, 陆丰荣, 等. PET-CT 观察矽肺动物模型可行性研究 [J]. 中国职业医学, 2017, 44(3): 245–252.
- Huang M, Zhang YX, Lu FR, et al. Observation and measurement of silicosis animal model by PET-CT [J]. Chin Occup Med, 2017, 44(3): 245–252.
- [41] 吉佳乐, 林爽, 曾晖, 等. 不同染色条件对 COVID-19 Nucleocapsid 抗体免疫组化染色的比较 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(11): 1277–1280.
- Ji JL, Lin S, Zeng H, et al. Comparison of different staining conditions for immunohistochemical staining of COVID-19 nucleocapsid antibody [J]. J Clin Exp Pathol, 2021, 37(11): 1277–1280.

[收稿日期] 2021-12-12