李智慧,余学庆,杨曙光,等. 特发性肺纤维化实验模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(1): 118-127.
LI Z H, YU X Q, YANG S G, et al. Research progress on experimental models of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(1): 118-127.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.01.014

特发性肺纤维化实验模型研究进展

李智慧[1],余学庆[1,2*],杨曙光[2],于宁霞[2],臧丹阳[1]

(1. 河南中医药大学,郑州 450046;2. 河南中医药大学第一附属医院,郑州 450000)

【摘要】 特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis,IPF)是一种慢性、进行性、间质性肺疾病,发病率逐年上升,死亡率高,预后极差。目前,IPF 发病机制仍不明确,治疗措施有限。实验模型是深入研究 IPF 发病机制和探索有效防治措施的关键工具,近年来其造模方式已得到不断的发展和优化,鉴于此,本研究对近年来 IPF 实验模型的构建方法和研究进展进行总结,以期为临床前研究选择合适实验模型提供思路和参考。

【关键词】 特发性肺纤维化;急性加重;实验模型;中医模型
【中图分类号】Q95-33 【文献标志码】A 【文章编号】1005-4847 (2024) 01-0118-10

Research progress on experimental models of idiopathic pulmonary fibrosis

LI Zhihui[1], YU Xueqing[1,2*], YANG Shuguang[2], YU Ningxia[2], ZANG Danyang[1]

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. the First Affiliated Hospital of Henan University of CM, Zhengzhou 450000, China)

Corresponding author: YU Xueqing, E-mail: yxqshi@163.com

【**Abstract**】 Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive interstitial lung disease. IPF incidence is increasing yearly with high mortality and poor prognoses. At present, IPF pathogenesis remains unclear, and its treatments are limited. The experimental model is important to further study IPF pathogenesis and explore effective preventive and therapeutic measures. In recent years, its modeling method have been continuously developed and optimized. This study summarizes the establishment method and research progress of IPF experimental models in recent years to provide ideas and references for preclinical research to select appropriate experimental models.

【**Keywords**】 idiopathic pulmonary fibrosis; acute exacerbation; experimental model; traditional Chinese medicine model
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种病因不明的慢性、进行性、间质性肺疾病[1],预后极差,5 年生存率仅为 48%[2],其中,IPF 急性加重(acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis, AE-IPF)是导致 IPF 患者发生死亡的主要原因[3],一旦发生 AE-IPF,患者 3 个月生存率仅为 41%[4]。目前,IPF 的发病机制仍不明确[5],治疗措施十分有限。西医方面,已获批的抗纤维化药物仅有吡非尼酮和尼达尼布,但临床疗效欠佳,副作用较多[6],仍需研发新的药物。中医方面,中医药治疗 IPF 具有辨证论治的独特优势和丰富的临床实践经验,但其治疗 IPF 的物质基础及作用机制仍有待

[基金项目] 国家自然科学基金(82174307),河南省自然科学基金项目(232300420276),河南省中医药科学研究专项课题(2022JDZX118)。
Funded by National Natural Science Foundation of China (82174307), Henan Provincial Natural Science Foundation (232300420276), Henan Province Traditional Chinese Medicine Scientific Research Project (2022JDZX118).
[作者简介] 李智慧,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治呼吸系统疾病研究。Email: lzh997311@163.com
[通信作者] 余学庆,博士,主任医师,研究方向:中医药防治呼吸系统疾病研究。Email: yxqshi@163.com

基础研究进行探索和揭示[7]。

实验模型是基础研究的重要载体，是探索 IPF 发病机制、发现治疗新靶点和识别预后因素的关键工具，对机制研究和新药开发尤为重要。近年来，随着 IPF 的实验研究日益增多，其模型制备方法也在逐渐发展和优化，可分为西医模型和中医模型两类，鉴于此，本文从西医模型（稳定期 IPF 模型、AE-IPF 模型）、中医模型两方面对近年来 IPF 实验模型的构建方法和研究进展进行总结，以期为未来探索更为理想的 IPF 动物模型提供思路和参考。

1　IPF 西医模型

1.1　稳定期 IPF 模型

1.1.1　在体动物模型

稳定期 IPF 动物模型（即普通的 IPF 模型）是目前 IPF 实验研究中的主要工具，近年来其制备方法发展迅速，本研究主要从动物选择、造模方式、给药方式和途径、模型评价方面对其研究现状进行概述和总结。

（1）动物选择

IPF 传统实验模型以啮齿动物模型为主，主要有大鼠、小鼠、豚鼠、兔[8-9]等，以小鼠和大鼠模型最为常见。美国胸科学会的官方研讨会报告认为，小鼠肺纤维化模型是肺纤维化临床前测试的一线动物模型，其次为大鼠模型[10]。目前常用的鼠类品种有 C57BL/6 小鼠、ICR 小鼠、BALB/c 小鼠、KM 小鼠、SD 大鼠、Wistar 大鼠等。多项研究显示，不同品系的小鼠对博来霉素（bleomycin，BLM）诱导肺纤维化的易感程度不同，C57BL/6 小鼠最易感，DBA/2 和 Swiss 小鼠易感程度为中等，BALB/c 小鼠为最差[11-13]。一般来说，啮齿类动物具有低成本、易饲养等优点，但同时也存在体型小、死亡率高、不能重复采样等缺陷。因此，近年来研究者也在探索其他新型 IPF 动物模型。

ORGAN 等[14]对绵羊进行肺段注射 BLM 以诱导 IPF 模型，结果显示，相应肺段会出现明显纤维化（可持续长达 7 周），顺应性降低，且其水平与病理学评分之间存在负相关[15]。该模型的优点是采用孤立肺段诱导建模，整体呼吸功能受损较小、死亡率低，可进行重复检查以观察疾病动态变化，还可在单个动物模型体内通过内部对比直接评估多种 IPF 治疗方法的疗效[16]。且与小鼠模型相比，绵羊 IPF 模型的肺部结构中存在三级淋巴结构和小气道改变，T 细胞、B 细胞浸润增加[17-18]，因此未来可能用于研究 IPF 潜在的炎症和小气道重塑机制。

树鼩是一种小型哺乳动物，与灵长类动物关系密切，其在基因、组织解剖学、代谢和免疫系统等方面比啮齿动物更接近人类[19]。与灵长类动物比较，树鼩具有体型小（< 300 g）、繁殖周期短（< 2 月）、饲养成本低等造模优势，目前已被广泛应用于病毒感染、肺癌等多种疾病研究[20]。CHE 等[21]采用气管内注射 BLM（1.75 U/kg）的方法建立树鼩 IPF 模型，结果显示，树鼩模型的肺部组织中有大量胶原沉积，羟脯氨酸（hydroxyproline，HYP）含量增加，转化生长因子-β1（transforming growth factor beta，TGF-β1）诱导肌成纤维细胞分化、并促进细胞外基质（extracellular matrix，ECM）沉积和黏附激酶（focal adhesion kinase，FAK）的激活，巨噬细胞出现极化[22]，较为符合 IPF 的病理特征。因此，树鼩模型有望成为一种新的 IPF 实验动物模型。

（2）造模方式

用于建立 IPF 实验动物模型的造模方式有多种，包括 BLM、平阳霉素、百草枯、二氧化硅、石棉、辐射、异硫氰酸荧光素（fluorescein Isothiocyanate，FITC）等诱导造模。其中，BLM 诱导造模是应用最广泛的一种，BLM 诱导的肺纤维化模型被认为是最接近于 IPF 病理改变的模型[10]。平阳霉素是一种国产抗生素，又称博莱霉素 A5，与博来霉素成分接近，在国内也常被用于肺纤维化模型建立[23]。百草枯是一种广谱除草剂，毒性较强，进入机体后易引起多器官衰竭甚至死亡[24]，造模死亡率较高，目前多用于百草枯中毒研究[25]。二氧化硅及石棉诱导的肺纤维化模型更接近于矽肺/石棉肺模型[26]，且近期有研究报道，单纯的职业性石棉接触史并不能增加 IPF 患病风险，故石棉动物模型在 IPF 实验研究中的使用率可能进一步降低[27]。辐射引起的肺损伤早期多表现为放射性肺炎，晚期出现纤维化，目前多应用于放疗并发症研究[28]。FITC 是一种生化试剂和医学诊断药物，早期也曾被用于建立肺纤维化模型，但因其诱导的肺纤维化模型缺乏普通型间质性肺炎（usual interstitial pueumonia，UIP）特征和典型炎症改变，且稳定性较差，造模动物易出现急性中毒和死亡[8,29]，近年来已很少应用。

除采用以上传统方法外，基因修饰技术也逐渐被用于建立肺纤维化模型。基因修饰动物模型一般通过在模型动物基因组中插入或删除内源基因

而构建,可分为转基因、基因敲除、基因点突变、基因敲入模型等。近年来转基因的细胞因子过表达模型在 IPF 实验研究中逐渐被广泛应用(如 TGF-β1 过表达模型)[8]。随着基因组学的发展,目前已发现 IPF 与黏蛋白 5B 基因、端粒相关基因、表面活性相关基因、有丝分裂纺锤体基因等多个基因位点突变有关[30-31],基于此,研究学者已开发了一些基因编辑动物模型如表面活性蛋白 A1 突变小鼠模型[32]、端粒缺陷小鼠模型[33]。基因修饰动物模型的优点是靶点较明确,有利于对 IPF 特定机制进行探索和研究,但由于人体的肺纤维化是多因子、多基因共同作用的结果,且很多基因产物并非完全高表达或不表达式,因此也具有一定局限性。

近年来,有研究者尝试将人源化小鼠模型应用于 IPF 研究。该类模型多通过将人类基因、细胞、组织等移植于免疫缺陷小鼠而构建,当小鼠的免疫系统缺陷程度越高、移植物成分越复杂时,其模型特点越接近于人类[34]。近年来,IPF 人源化小鼠模型多通过将人 IPF 成纤维化细胞(fibroblast, Fb)转移到免疫缺陷小鼠中而构建,重症联合免疫缺陷(severe combined immune deficency, SCID)小鼠因具有 16 号染色体上的隐性基因突变,其 T 细胞、B 细胞存在成熟缺陷,常被用于建立 IPF 人源化模型。目前应用较多的 SCID 小鼠模型有 C. B-17/SCID 小鼠模型、非肥胖糖尿病(non-obese diabetic, NOD)/SCID 小鼠模型以及非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷/白细胞介素 2 受体 γ 链基因突变(NOD/SCID/IL-2RYc^{null}, NSG)小鼠模型[35]。人源化小鼠模型能更好地模拟人体的免疫和病理特征,揭示 IPF 的发病机制及治疗靶点[36],但其价格昂贵,对饲养环境要求较高,因此还未得到广泛应用。

(3)给药方式

目前在 IPF 研究领域中应用最广泛的是 BLM 诱导造模,其传统给药方式为单次给药,优点是易于操作、造模时间短,缺点是建立的动物模型 UIP 特征不明显,且纤维化改变存在自限性和可逆性,4 ~ 6 周内即可自行完全消退[37],导致部分研究可能难以区分药物疗效和模型自限作用。近年来,有研究者提出对 BLM 的单次给药方式进行改进,DEGRYSE 等[38]研究表明,与单次给药相比,重复多次注射 BLM(2 周 1 次,共 8 次)诱导的肺纤维化模型更符合 UIP 病理学特征,且其纤维化改变可持续到造模后 10 周。但该造模方式成模时间长,操作复杂,难以推广。其后,REDENTE 等[39]在其基础上将 BLM 重复滴注的次数简化为 3 次后成功建立了 IPF 动物模型,其肺纤维化改变呈进展性,在造模 24 周后病变可累及胸膜下区域,出现胶原蛋白过度沉积、上皮间质转化、微型 CT(microCT)成像提示明显的牵拉性支气管扩张和胸膜下蜂窝状纤维化,未来有望广泛应用于 IPF 实验研究领域。

(4)给药途径

BLM 的给药途径包括经气管给药(气管内注射、气管内雾化吸入)、腹腔注射、尾静脉注射、滴鼻吸入、口咽吸入等,每种方式均有其优缺点[40]。

气管内注射造模法(单次注射)是 BLM 经典造模方法,早期多通过气管切开造模,创伤较大、死亡率高,其后逐渐出现一系列改良版的造模方法,如腰穿针、留置针气管插管造模法等[41]。有研究通过综合评估小鼠的一般情况(体重变化、存活率)、组织病理学改变和 HYP 水平发现,当采用 C57BL/6J 小鼠建立肺纤维化模型时,腰穿针、留置针气管插管法及手术显微镜下气管切开法 3 种方法中腰穿针气管插管造模法相对更好[42]。采用一次性气管滴注 BLM 气管滴注进行 IPF 造模的剂量一般相对较小,C57BL/6J 小鼠的适宜造模剂量为 5 mg/kg, SD 大鼠为 3 mg/kg[43],且该方法其成模周期短、易于操作、可重复性强,相对经济、方便,因此目前应用最广泛。但这类模型也存在一定缺陷,因 BLM 注射后多分布于支气管和细支气管周围,导致纤维化病变分布不均、程度不一[40]。

相比之下,气管内雾化吸入造模可使 BLM 分布更均匀,动物死亡率更低[44]。有研究通过综合评估模型小鼠的一般情况(体重变化、存活率、肺指数)、肺组织病理学改变、HYP 和 TGF-β1 表达水平,比较气管内滴注和雾化喷入 BLM 对肺纤维化 SD 大鼠模型的影响,结果发现,气管内雾化喷入(异氟烷呼吸麻醉下)的造模方式更适用于肺纤维化模型的建立[45]。采用气管内雾化吸入 BLM 诱导 IPF 模型的剂量相对不高,有研究显示,KM 小鼠的最佳造模剂量为 8 mg/kg[46]。但气管内雾化吸入建立 IPF 模型常需多次重复刺激,如张响等[47]采用通过对 SD 大鼠连续 28 d 雾化吸入 BLM(5 mg/kg, 20 min/d)的方法建立 IPF 模型,其给药次数多,操作较复杂,且需特殊雾化装置、造价较高,因此,更适用于小样本研究。

BLM 腹腔注射与尾静脉注射给药操作步骤均

相对简单、动物死亡率低,且诱导的病灶分布较均匀、纤维化改变主要分布于胸膜下,更接近于 IPF 患者的 UIP 特征[48]。但 BLM 腹腔注射具有给药次数多且剂量大(35 mg/kg,每周 2 次,共 8 次[49])的特点,其易损伤腹腔器官、出现胃肠道反应,影响疗效评价,故目前应用已相对较少。BLM 尾静脉注射可通过单次或多次给药诱导 IPF 模型,单次给药造模时 BLM 使用剂量较大,可高达 200 mg/kg[50],且肺纤维化改变具有自限性。多次注射可使肺纤维化改变更加稳定,但多次注射(50 mg/kg,每周 1 次,共 6 次[50];10 mg/kg,每天 1 次,共 14 次[51])后易造成小鼠尾部溃烂甚至肿胀坏死,后期操作难度大,因此较少被应用。

BLM 滴鼻吸入和口咽吸入建立肺纤维化模型是近年来新兴的两种方法,其对动物的创伤及给药剂量均相对较小,有研究发现 BLM 滴鼻诱导 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型的最佳给药剂量为每只 0.10 U[52],BLM 口咽吸入剂量为 2 IU/kg 即可诱导 Swiss 小鼠建立肺纤维化模型[53],但两种方法对操作者的技术熟练度要求均相对较高,目前应用仍较少。

(5)模型评价

动物疾病模型评价是动物模型建立的重要环节,IPF 肺组织的病变过程早期一般表现为肺泡炎,大量炎性细胞浸润,后期逐渐表现为肺纤维化,出现大量间质细胞增生及胶原蛋白的沉积等,同时伴随肺重量增加、肺功能下降等[54]。因此,目前对 IPF 动物模型是否建立成功的评价指标主要包括一般情况、组织病理学、胶原蛋白(collagen, COL)含量、肺系数(动物肺重/动物体重 × 1000)、肺干湿重比(肺干重/肺湿重)、纤维化相关因子、炎症因子、肺功能检测等。其中组织病理学方面,多采用 Szapiel、Ashcroft 等评分评价肺泡炎和纤维化的严重程度[41],纤维化相关因子主要有 HYP、TGF-β1、α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)、纤连蛋白(fibronectin, FN)等,炎症因子包括白介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α、IL-1β 等。此外,近年来,有研究显示无创影像学如 micro CT、磁共振成像、正电子发射型计算机断层显像(positron emission tomography, PET)、PET/CT、单光子发射计算机断层成像术(single-photon emission computed tomography, SPECT)/CT 等检查可被应用于检测 IPF 动物模型的炎症和纤维化水平[55],但因该类设备造价相对较高,目前应用仍相对较少。

1.1.2　体外模型

近年来逐渐出现了很多肺纤维化的体外模型,包括 2D 模型、3D 模型。其中 2D 模型主要指细胞模型,3D 模型包括水凝胶模型、精确切割肺切片(precision-cut lung slices, PCLS)模型、类器官模型等。

(1)2D 模型

目前应用相对较多的 IPF 体外模型仍是 2D 细胞模型。细胞模型一般通过对胚胎肺成纤维细胞、肺泡Ⅱ型上皮细胞、Fb 等细胞系进行干预刺激(TGF-β、BLM)而成,研究者多通过观察细胞形态、检测 TGF-β1、COLⅠ、COLⅢ、α-SMA、FN、N-钙黏蛋白、E-钙黏蛋白、波形蛋白等指标对该类模型的纤维化程度进行评估[7]。该类模型制作方法较简单、易操作,但在展示细胞因子的信号传导、模拟体内细胞-细胞/基质之间的相互作用方面存在缺陷。

(2)3D 模型

水凝胶是一种具有高含水量和高溶胀性的三维网络结构聚合物,具有良好的生物相容性,常用于模拟人体内肺组织微环境[56]。IPF 的发生常伴随 ECM 的异常沉积和重塑,GIMÊNEZ 等[57]将 Fbs 培养在不同硬度的水凝胶基底上,然后采用 TGF-β1 进行诱导,结果发现 TGF-β 与基质硬化具有协同上调 COL 表达、促进胶原沉积的作用。脱细胞化 ECM(decellularized extracellular matrix, dECM)一般通过去除引起免疫排斥反应的细胞而制备,可保留原组织的结构和成分。BOOTH 等[58]通过脱细胞技术获得了 IPF 肺组织的 dECM,且通过蛋白组学分析发现,异常的 ECM 蛋白表达可能促进组织硬化。HEWAWASAM 等[59]将经化学修饰的人 dECM 整合到含有聚乙二醇-α-甲基丙烯酸酯骨架的杂化水凝胶系统中,发现两者可发生巯烯麦克尔(Michael)加成反应进而改变水凝胶的硬度,从而可更好的模拟 IPF 疾病体内微环境[60]。在 IPF 进程中常伴随着肺生物力学微环境的异常改变如 ECM 硬化等,水凝胶模型有助于研究 IPF 生物力学特性,未来有望进一步应用于 IPF 细胞机械转导和靶向力学信号的药物研究[61]。

PCLS 是指未经脱细胞的正常或病变组织切片,可保留原始肺内的多种活性细胞(平滑肌、上皮和成纤维细胞)、ECM 结构等,已被多项研究用于

IPF 机制研究和药物研发[62]，如 AHANGARI 等[63]发现塞卡替尼可改善人 PCLS 中的纤维化和炎症级联反应，提示其对 IPF 可能具有一定治疗效果。PCLS 有助于观察各类细胞、细胞与 ECM 之前的相互作用，其与传统的 2D 培养物相比，在识别肺纤维化未知分子机制、筛选和发现抗纤维化/再生药物方面具有显著优势[64]，但因其多来源于人体/动物新鲜肺组织样本，活性维持时间相对较短，应用有所受限。

类器官是由干细胞（成体、胚胎、诱导性多能干细胞）体外增殖分化而成的一种三维结构，可用于模拟体内器官体，如 MILLER 等[65]将诱导性多能干细胞分化为肺泡类器官，发现其可产生 Ⅰ/Ⅱ 型肺泡上皮细胞、间充质细胞、气道纤毛细胞，基底样细胞等，用于研究肺纤维化疾病。WILKINSON 等[66]通过将 TGF-β1 添加到诱导多能干细胞衍生的间充质细胞类器官培养物中成功构建了 IPF 的类器官，发现其 COLI、α-SMA 等纤维化因子表达水平明显升高。类器官有助于开发更准确的 IPF 疾病模型，对 IPF 发病机制进行更深入的探索，可用于高通量药物筛选[64]，未来有望应用于个性化预测药物反应研究，推动 IPF 个性化医疗的发展。

1.2 AE-IPF 模型

AE-IPF 是指 IPF 患者在短期内出现显著的急性呼吸功能恶化，其主要特征是胸部高分辨率 CT 在原来 UIP 或网格阴影的基础上出现新的磨玻璃和/或实变影[67]。本文检索发现，目前 AE-IPF 的实验模型大多是在 IPF 动物模型的基础上，再给予疱疹病毒感染、BLM 重复灌注、脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）或 corisin 肽诱导建立。

1.2.1 疱疹病毒感染诱导模型

疱疹病毒分 α、β、γ 三个亚科，目前用于诱导 AE-IPF 的疱疹病毒有单纯疱疹病毒（herpes simplex virus，HSV）1 型、γ 疱疹病毒，其中 HSV1 是一种 α 疱疹病毒。有研究显示[68-69]，在采用气管内灌注 BLM 的方法诱导 C57BL/6 小鼠建立 IPF 模型的第 21 天，对模型小鼠鼻内接种 HSV1 可使其表现出典型的 AE-IPF 组织病理学特征，且与 BLM 组的小鼠相比，HSV1 + BLM 组小鼠的肺功能及存活率明显降低，支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）中总炎症细胞及炎症因子 IL-17A、IL-6、IL-23、粒细胞集落刺激因子等显著增加，外周血辅助性 T 细胞 17（T helper 17，Th17）细胞比例明显升高，提示 HSV1 病毒感染可用于诱导 AE-IPF 小鼠模型。另有研究发现，感染 γ 疱疹病毒后，BLM 诱导的 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型可出现炎症反应加剧，炎症细胞广泛浸润，TNF-α、IL-1β、IL-10、趋化因子配体 2 等多种细胞因子水平显著升高，microCT 提示其在原有肺纤维化的基础上出现了弥漫性磨玻璃影，与人体 AE-IPF 的特点十分相近[70-71]。

1.2.2 BLM 重复灌注诱导模型

WEI 等[72]通过对 C57BL/6 小鼠进行气管内重复灌注相同剂量的 BLM（第 1、21 天，均 4 mg/kg）以诱导 AE-IPF 小鼠模型。结果显示，与稳定 IPF 组小鼠相比，AE-IPF 组小鼠死亡率显著上升，BALF 中的炎细胞（中性粒和 Th17 细胞）以及趋化因子配体 9、IL-17A、IL-6、TGF-β1 等细胞因子的表达水平显著升高，组织病理学显示其炎症和纤维化明显加重，提示两次 BLM 注射可用于建立非感染性的 AE-IPF 小鼠模型，其后 CHEN 等[73]也采用该方法成功建立了 AE-IPF 的 SD 大鼠模型。此外，臧凝子等[74]尝试采用气管内先后注射不同剂量的 BLM（第 1 天，5 mg/kg；第 28 天，7 mg/kg）进行 AE-IPF 建模，结果显示，AE-IPF 组大鼠出现明显喘息气促、呼吸困难等症状，死亡率明显升高，HYP 含量增加，α-SMA 表达水平上升，病理改变与人类 AE-IPF 表现非常接近。近期，YEGEN 等[75]基于 DEGRYSE 等[38]和 REDENTE 等[39]重复气管内滴注 BLM 建立 IPF 模型的方法，先对 C57BL/6 小鼠进行 4 次气管内滴注低剂量 BLM（0.8 UI/g，2 周 1 次）以建立 IPF 模型，再进行 2 次双倍剂量的 BLM 注射（0.16 UI/g）以诱导急性加重，也成功构建了 AE-IPF 小鼠模型。

1.2.3 脂多糖诱导模型

KIMURA 等[76]对 C57BL/6 小鼠进行气管内灌注 BLM（第 1 天，1 mg/kg）联合 LPS（第 7 天，0.5 mg/kg）进行刺激，结果发现，诱导出的模型特点与间质性肺病的急性加重特征十分接近。其后，MIYAMOTO 等[77]用该方法对 Wistar 大鼠进行实验，结果显示，少量的 LPS（第 7 天，0.05 或 0.15 mg/kg）可导致 BLM（第 1 天，3 mg/kg）诱导的肺纤维化大鼠的炎症反应增加、纤维化显著进展、CT 显示其肺部出现更多的浸润性阴影、TNF-α、二氧化氮等因子水平明显升高，提示其可用于模拟人类 AE-IPF 患者的病理生理学变化。近期，国内于睿智等[78]研究发现，采用 BLM（第 1 天，5 mg/mL）

+ LPS(第 28 天,5 mg/mL)的方法也可建立 AE-IPF 大鼠模型,用于模拟由于肺部感染而导致的 AE-IPF。此外,JIA 等[79]在前人方法的基础上,增加 LPS 的次数以诱导 AE-IPF,结果发现,与单纯 BLM 组相比,BLM(第 1 天,2.5 mg/kg) + LPS(第 5、7、9 天,均 1 mg/kg)组的模型小鼠的胶原沉积及炎症细胞浸润显著增加、IL-6、TNF-α、IL-1b、FN 等的表达水平显著上调,血清天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶水平明显升高,成功地体现了 AE-IPF 的肺内炎症、纤维化改变及肺外特点,未来有望应用于 AE-IPF 合并继发性肝损伤的实验研究。

1.2.4　corisin 肽诱导模型

corisin 肽是转糖苷酶的一种组分,存在于多种葡萄球菌[80]。D' ALESSANDRO-GABAZZA 等[81]在 TGF-β1 过表达的转基因小鼠中发现,葡萄球菌分泌的 corisin 肽可诱导肺上皮细胞凋亡和胶原沉积,进而导致 AE-IPF。而且,与健康对照组相比,疾病稳定或急性加重的 IPF 患者 BALF 中的 corisin 肽水平显著增加,与病情稳定的 IPF 患者相比,AE-IPF 患者的 corisin 肽水平显著升高,进一步证实了 corisin 肽在 AE-IPF 的作用。

2　IPF 中医模型

中医药治疗 IPF 的实验研究日益增多,但经检索发现,IPF 的中医模型仍较少。2011 年,杨珺超等[82]的研究显示,通过气管内注射 BLM(5 mg/kg)所建立的 SD 大鼠肺纤维化模型可出现呼吸急促、精神疲惫、活动量减少、行动迟缓、拱背蜷卧、撮毛等一系列症状,与气虚的证候特点符合,但该结论并未得到进一步研究证实,仍有待验证。张伟等[83]通过病证结合造模的方式建立痰热蕴肺型 IPF 大鼠模型,其通过在第 1 天给予 SD 大鼠气管内滴注 BLM(5 mg/kg)的方法建立肺纤维化模型,然后在第 3 天给予 LPS(1 g/L,0.2 mL/200 g)以建立痰热蕴肺证模型,结果显示,痰热蕴肺型 IPF 模型大鼠可出现不同程度的毛发发黄、凌乱脱落、缺少光泽,舌质暗红,呼吸喘促,食量减少,体重增幅减轻等症状,组织病理学显示肺泡结构紊乱,大量炎性细胞浸润,纤维细胞和胶原纤维显著增生。

在模型构建方面,经检索发现,大部分中医药治疗 IPF 实验研究中采用的动物模型为单纯西医模型,对 IPF 动物模型多缺乏辨证环节而直接施治中药,在一定程度上与中医的临床思维不符。因此,亟需探索科学、规范的 IPF 中医动物模型。病证结合造模是指在采用现代医学理论建立西医疾病模型的基础上,再根据中医理论(藏象学说和病因病机理论等)叠加证候模型,最终使动物模型同时具备疾病和证候的特征[84],在中医动物模型研究中已获得广泛认可及应用,未来可进行进一步探索尝试,如目前肺阴虚证的造模方法有灌服甲状腺素,或在此基础上联合烟熏、利血平等[85],可在构建 IPF 动物模型的基础上联合以上证候常见造模方法尝试建立 IPF 肺阴虚模型。在评价体系方面,目前 IPF 相关证候评价多局限于模型症状特点,未来可尝试采用以宏观症状为基础,以病因元素为依据、以方药疗效为反证、以客观指标为佐证的多元证候诊断方法[86],并可尝试引入系统生物学(如采用先进的生物学检测技术、筛选特异性的生物标志物以弥补传统四诊的局限),从而逐渐建立客观、合理的评价体系。

3　小结与展望

近年来,IPF 西医动物模型从动物选择、造模方式、给药方式和途径方面均有了新的探索和研究。在动物选择方面,啮齿动物一般成本低、易饲养,便于进行基因编辑,目前应用较普遍,尤其适用于大样本、基因编辑动物相关研究。与其相比,绵羊、猪、犬模型等大型动物模型可重复组织取样、且因体型较大、HRCT 等影像学形态与人类更接近,更易观察肺内结构,较适用于 IPF 放射影像学的研究。树鼩模型在基因、组织解剖学等多方面比啮齿动物更接近人类,有望在获得进一步研究后得到广泛应用,为 IPF 的实验研究提供更多选择。

在造模方式方面,FITC 诱导 IPF 模型因缺陷过多已逐渐被淘汰,近年来随着对肺间质纤维化模型的进一步划分和深入研究发现,二氧化硅、石棉、辐射等诱导的肺纤维化模型更接近于矽肺、石棉肺、放射性肺炎引起的肺纤维化,在 IPF 模型研究中应用逐渐减少,传统的 BLM 诱导造模是仍是目前应用最多的 IPF 造模方式。基因修饰动物模型和人源化小鼠模型是近年来新兴的动物模型,在一定程度上可弥补 IPF 传统诱导模型的缺陷,为 IPF 的机制研究和精准治疗提供更好的工具,未来可在 IPF 基因组学或蛋白组学的基础上尝试开发更多相关动物模型。

在给药方式和途径方面,由单次注射逐渐转变

为重复多次注射已成为 BLM 诱导 IPF 造模方法发展、优化的趋势和方向,但 BLM 重复注射的最佳次数及剂量仍需未来研究进一步探索。通过不同给药途径给予 BLM 建立 IPF 模型均有其优缺点,研究者可根据模型需求、实验周期、经费水平、人员配置等多方面综合考虑后进行选择。在模型评价方面,目前 IPF 模型的建立仍缺少系统规范的评价方式、限制了 IPF 模型的标准化发展,未来仍需对 IPF 模型的规范化评价进行深入研究以便构建统一完善的 IPF 动物模型。

在 IPF 体外模型方面,2D 的细胞模型目前应用相对较多,但 3D 的水凝胶、肺切片、类器官等模型更有助于研究组织特异性生理功能及细胞-细胞和细胞-基质相互作用、探索个性化治疗方案,是 IPF 实验模型发展的一个重要方向,未来可进一步探索。本文通过对 AE-IPF 的动物模型研究进行总结发现,虽然目前已开发了疱疹病毒感染、BLM 重复灌注等 AE-IPF 模型,但相关模型在很多方面仍存在诸多问题,如 BLM 重复滴注时前后剂量比例和间隔给药时间、采用 LPS 造模时的给药剂量等,未来可开展研究进一步对比探讨其最适宜的给药方式或剂量。中医模型方面,建立合适的 IPF 病证结合模型是进行中医药防治 IPF 基础研究的当务之急,未来研究者可尝试探索更多的 IPF 病证结合动物模型以进一步推动中医药现代化在 IPF 研究领域的发展。

参 考 文 献(References)

[1] RAGHU G, REMY-JARDIN M, RICHELDI L, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis (an update) and progressive pulmonary fibrosis in adults: an official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2022, 205(9): e18-e47.

[2] GAO J, KALAFATIS D, CARLSON L, et al. Baseline characteristics and survival of patients of idiopathic pulmonary fibrosis: a longitudinal analysis of the Swedish IPF Registry [J]. Respir Res, 2021, 22(1): 40.

[3] KREUTER M, POLKE M, WALSH S L F, et al. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis: international survey and call for harmonisation [J]. Eur Respir J, 2020, 55(4): 1901760.

[4] KONDOH Y, COTTIN V, BROWN K K. Recent lessons learned in the management of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Eur Respir Rev, 2017, 26(145): 170050.

[5] MA H, WU X, LI Y, et al. Research progress in the molecular mechanisms, therapeutic targets, and drug development of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 963054.

[6] CILLI A, OCAL N, UZER F, et al. Elderly idiopathic pulmonary fibrosis patients remain on therapy despite higher incidence of adverse events and dose reductions [J]. Respir Investig, 2023, 61(4): 490-497.

[7] 李智慧, 余学庆, 杨曙光, 等. 中药有效成分治疗特发性肺纤维化的机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(22): 181-192.
LI Z H, YU X Q, YANG S G, et al. Research progress on mechanism of active components of traditional Chinese medicine in therapy of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Chin J Exp Med Formul, 2023, 29(22): 181-192.

[8] TASHIRO J, RUBIO G A, LIMPER A H, et al. Exploring animal models that resemble idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Front Med, 2017, 4: 118.

[9] GUO Y, YING S, ZHAO X, et al. Increased expression of lung TRPV1/TRPA1 in a cough model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in guinea pigs [J]. BMC Pulm Med, 2019, 19(1): 27.

[10] JENKINS R G, MOORE B B, CHAMBERS R C, et al. An official American thoracic society workshop report: use of animal models for the preclinical assessment of potential therapies for pulmonary fibrosis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2017, 56(5): 667-679.

[11] WALKIN L, HERRICK S E, SUMMERS A, et al. The role of mouse strain differences in the susceptibility to fibrosis: a systematic review [J]. Fibrogenesis Tissue Repair, 2013, 6(1): 18.

[12] 宋淑范, 张晓晔. 博来霉素诱导 G57BL/6 与 ICR 小鼠肺间质纤维化模型的比较 [J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(4): 289-291, 366.
SONG S F, ZHANG X Y. Comparison of the effects of bleomycin on the induction of pulmonary fibrosis in C57BL/6 and ICR mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2010, 18(4): 289-291, 366.

[13] 宋桂芹, 徐志伟, 李泽, 等. 不同品系小鼠肺纤维化模型的比较研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(4): 13-16.
SONG G Q, XU Z W, LI Z, et al. Comparative study on pulmonary fibrosis model induced by Bleomycin in three strains of mice [J]. Chin J Mod Med, 2017, 27(4): 13-16.

[14] ORGAN L, BACCI B, KOUMOUNDOUROS E, et al. A novel segmental challenge model for bleomycin-induced pulmonary fibrosis in sheep [J]. Exp Lung Res, 2015, 41(3): 115-134.

[15] ORGAN L, BACCI B, KOUMOUNDOUROS E, et al. Structural and functional correlations in a large animal model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. BMC Pulm Med, 2015, 15: 81.

[16] DERSEH H B, DEWAGE S N V, PERERA K U E, et al. $K_{Ca}3.1$ channel blockade attenuates microvascular remodelling in a large animal model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 19893.

[17] PERERA U E, ORGAN L, ROYCE S G, et al. Comparative study of ectopic lymphoid aggregates in sheep and murine models of bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Can Respir J, 2023, 2023: 1522593.

[18] DERSEH H B, DEWAGE S N V, PERERA U E, et al. Small airway remodeling in a sheep model of bleomycin-induced

pulmonary fibrosis [J]. Exp Lung Res, 2020, 46(10): 409-419.

[19] YAO Y G. Creating animal models, why not use the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*)? [J]. Zool Res, 2017, 38(3): 118-126.

[20] 吴芳芳, 李太平, 方衡, 等. H1N1 病毒感染树鼩模型的血清代谢组学研究 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 597-605.
WU F F, LI T P, FANG H, et al. Serum metabolomics study of a tree shrew model of H1N1 influenza virus infection [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(5): 597-605.

[21] CHE P, WANG M, LARSON-CASEY J L, et al. A novel tree shrew model of pulmonary fibrosis [J]. Lab Invest, 2021, 101(1): 116-124.

[22] LARSON-CASEY J L, HE C, CHE P, et al. Technical advance: The use of tree shrews as a model of pulmonary fibrosis [J]. PLoS One, 2020, 15(11): e0241323.

[23] 朱德伟, 沈云辉. 积雪草苷对平阳霉素诱导的大、小鼠肺纤维化的保护作用 [J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(6): 41-46.
ZHU D W, SHEN Y H. Protective effects of asiaticoside on bleomycin A_5-induced pulmonary fibrosis in rats and mice [J]. Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med, 2020, 34(6): 41-46.

[24] 王晓凤, 赵敏. 基于网络药理学研究黄连治疗百草枯中毒致急性肝损伤的分子机制 [J]. 中国医科大学学报, 2023, 52(8): 724-730.
WANG X F, ZHAO M. Molecular mechanism of Huanglian for the treatment of paraquat-induced acute liver injury based on network pharmacology [J]. J Chin Med Univ, 2023, 52(8): 724-730.

[25] 李全, 陈群, 陈宏. 雷公藤甲素通过转化生长因子-β1 通路抑制百草枯诱导的肺纤维化机制 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(2): 815-818.
LI Q, CHEN Q, CHEN H. Mechanism of triptolide inhibiting pulmonary fibrosis induced by paraqua through the transforming growth factor β1 pathway [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(2): 815-818.

[26] 侯润苏, 田燕歌, 李建生. 尘肺病动物和细胞模型研究进展 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2022, 40(7): 547-552.
HOU R S, TIAN Y G, LI J S. Research progress on animal and cell models of pneumoconiosis [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2022, 40(7): 547-552.

[27] REYNOLDS C J, SISODIA R, BARBER C, et al. What role for asbestos in idiopathic pulmonary fibrosis? Findings from the IPF job exposures case-control study [J]. Occup Environ Med, 2023, 80(2): 97-103.

[28] 顾永清, 敖兴坤, 朱娇娇. 电离辐射调控细胞命运在放射性肺损伤中的作用及治疗进展 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2023, 44(2): 153-163.
GU Y Q, AO X K, ZHU J J. Role of cell fate regulation by ionizing radiation in radiation-induced lung injury and its therapeutic progress [J]. J Xi'an Jiaotong Univ Med Sci, 2023, 44(2): 153-163.

[29] WANG J, XU L, XIANG Z, et al. Microcystin-LR ameliorates pulmonary fibrosis via modulating $CD206^+$ M2-like macrophage polarization [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 136.

[30] MOSS B J, ROSAS I O. Defining the genetic landscape of idiopathic pulmonary fibrosis: role of common and rare variants [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2023, 207(9): 1118-1120.

[31] DRESSEN A, ABBAS A R, CABANSKI C, et al. Analysis of protein-altering variants in telomerase genes and their association with MUC5B common variant status in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: a candidate gene sequencing study [J]. Lancet Respir Med, 2018, 6(8): 603-614.

[32] TAKEZAKI A, TSUKUMO S I, SETOGUCHI Y, et al. A homozygous SFTPA1 mutation drives necroptosis of type II alveolar epithelial cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. J Exp Med, 2019, 216(12): 2724-2735.

[33] POVEDANO J M, MARTINEZ P, FLORES J M, et al. Mice with pulmonary fibrosis driven by telomere dysfunction [J]. Cell Rep, 2015, 12(2): 286-299.

[34] 安凌波, 张茂森, 栾晶. 人源化小鼠模型的研究进展 [J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(22): 2809-2816.
AN L B, ZHANG M S, LUAN J. Research progress of humanized mice model [J]. Chin J Immunol, 2022, 38(22): 2809-2816.

[35] HABIEL D M, ESPINDOLA M S, COELHO A L, et al. Modeling idiopathic pulmonary fibrosis in humanized severe combined immunodeficient mice [J]. Am J Pathol, 2018, 188(4): 891-903.

[36] MILES T, HOYNE G F, KNIGHT D A, et al. The contribution of animal models to understanding the role of the immune system in human idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Clin Transl Immunology, 2020, 9(7): e1153.

[37] SONG S, FU Z, GUAN R, et al. Intracellular hydroxyproline imprinting following resolution of bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Eur Respir J, 2022, 59(5): 2100864.

[38] DEGRYSE A L, TANJORE H, XU X C, et al. Repetitive intratracheal bleomycin models several features of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 299(4): L442-L452.

[39] REDENTE E F, BLACK B P, BACKOS D S, et al. Persistent, progressive pulmonary fibrosis and epithelial remodeling in mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2021, 64(6): 669-676.

[40] 郭琦琦, 李毅, 翁桓泽, 等. 生物及非生物因素诱导肺纤维化动物模型研究的特点 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(14): 2273-2278.
GUO Q Q, LI Y, WENG H Z, et al. Advances in animal models of pulmonary fibrosis induced by biotic and abiotic factors [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2022, 26(14): 2273-2278.

[41] 杨宇, 袁晓梅, 吴敏娜, 等. 气管内注射博来霉素致小鼠肺纤维化造模方式改良 [J]. 新乡医学院学报, 2015, 32(9): 807-809.
YANG Y, YUAN X M, WU M N, et al. Pulmonary fibrosis of mice induced by intratracheal injection bleomycin under microscope: an improved method of modeling [J]. J Xinxiang Med Univ, 2015, 32(9): 807-809.

[42] 王志超, 冯凡超, 武琦, 等. 三种方法气管灌注博来霉素诱导小鼠肺纤维化的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 51-57.

WANG Z C, FENG F C, WU Q, et al. Comparison of three methods to establish a mouse model of pulmonary fibrosis induced by intratracheal instillation of bleomycin [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(5): 51-57.

[43] 燕苗苗, 赵亚昆, 王搏, 等. 博来霉素诱导大鼠与小鼠肺纤维化模型的评价 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(2): 179-186.
YAN M M, ZHAO Y K, WANG B, et al. Comparison and evaluation of different doses of bleomycin-induced pulmonary fibrosis models in mice and rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(2): 179-186.

[44] 王鹤, 张广平, 侯红平, 等. 博来霉素不同给药方式致大鼠肺纤维化模型探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(11): 73-79.
WANG H, ZHANG G P, HOU H P, et al. Effect of different administration methods with bleomycin on pulmonary fibrosis in rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2019, 25(11): 73-79.

[45] 陈广瑞, 李俭, 梁笛, 等. 肺纤维化大鼠模型造模方法的优化 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(2): 201-207.
CHEN G R, LI J, LIANG D, et al. Optimization of modeling method for pulmonary fibrosis rat model [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(2): 201-207.

[46] 谢纬, 祝庆华, 陈小铨, 等. 肺纤维化昆明小鼠模型的构建 [J]. 解放军预防医学杂志, 2020, 38(5): 58-62.
XIE W, ZHU Q H, CHEN X Q, et al. Construction of Kunming mouse model of pulmonary fibrosis [J]. J Prev Med Chin People's Liberation Army, 2020, 38(5): 58-62.

[47] 张响, 闫东, 李强, 等. 雾化吸入法构建博来霉素致大鼠肺间质纤维化模型 [J]. 黑龙江中医药, 2022, 51(3): 356-358.
ZHANG X, YAN D, LI Q, et al. Establishment of rat pulmonary interstitial fibrosis model induced by bleomycin by atomizing inhalation [J]. Heilongjiang J Tradit Chin Med, 2022, 51(3): 356-358.

[48] 闫莉, 谢艳华, 杨倩, 等. 大鼠肺间质纤维化造模的 2 种方法比较研究 [J]. 西北药学杂志, 2016, 31(5): 485-489.
YAN L, XIE Y H, YANG Q, et al. Comparative study of 2 kinds of methods to induce pulmonary fibrosis model in rats [J]. Northwest Pharm J, 2016, 31(5): 485-489.

[49] 苏敏红, 江宁, 李洪涛, 等. 腹腔注射博来霉素诱导小鼠肺纤维化模型的长期稳定性 [J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(4): 512-519.
SU M H, JIANG N, LI H T, et al. Intraperitoneal injection of bleomycin induces pulmonary fibrosis in mice: a long-term stability evaluation [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2017, 21(4): 512-519.

[50] 肖强, 郑晓滨, 刘香, 等. 静脉注射不同剂量博莱霉素诱导小鼠肺纤维化的比较研究 [J]. 临床肺科杂志, 2015, 20(2): 251-256.
XIAO Q, ZHENG X B, LIU X, et al. Comparison of different doses intravenous injection of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. J Clin Pulm Med, 2015, 20(2): 251-256.

[51] 孟婕, 彭张哲, 陶立坚. 小剂量多次尾静脉注射与气管内滴注博来霉素致小鼠肺纤维化模型的比较研究 [J]. 中南大学学报(医学版), 2013, 38(12): 1228-1232.
MENG J, PENG Z Z, TAO L J. Murine pulmonary fibrosis model induced by repeated low-dose intravenous injection and intratracheal instillation of bleomycin [J]. J Cent South Univ Med Sci, 2013, 38(12): 1228-1232.

[52] 李梦媛, 韦荣飞, 杨星九, 等. 不同剂量博来霉素滴鼻诱导 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型的研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(8): 1-6.
LI M Y, WEI R F, YANG X J, et al. Research on C57BL/6 mice model of pulmonary fibrosis induced by nasal instillation of different dose-bleomycin [J]. Chin J Mod Med, 2020, 30(8): 1-6.

[53] BALE S, SUNKOJU M, REDDY S S, et al. Oropharyngeal aspiration of bleomycin: an alternative experimental model of pulmonary fibrosis developed in Swiss mice [J]. Indian J Pharmacol, 2016, 48(6): 643-648.

[54] MEI Q, LIU Z, ZUO H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: an update on pathogenesis [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 797292.

[55] ZHOU Y, CHEN H, AMBALAVANAN N, et al. Noninvasive imaging of experimental lung fibrosis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 53(1): 8-13.

[56] ZHANG W, DU A, LIU S, et al. Research progress in decellularized extracellular matrix-derived hydrogels [J]. Regen Ther, 2021, 18: 88-96.

[57] GIMÉNEZ A, DUCH P, PUIG M, et al. Dysregulated collagen homeostasis by matrix stiffening and TGF-β1 in fibroblasts from idiopathic pulmonary fibrosis patients: role of FAK/akt [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11): 2431.

[58] BOOTH A J, HADLEY R, CORNETT A M, et al. Acellular normal and fibrotic human lung matrices as a culture system for *in vitro* investigation [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 186(9): 866-876.

[59] HEWAWASAM R S, BLOMBERG R, ŠERBEDŽIJA P, et al. Chemical modification of human decellularized extracellular matrix for incorporation into phototunable hybrid-hydrogel models of tissue fibrosis [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, 15(12): 15071-15083.

[60] SALEH K S, HEWAWASAM R, ŠERBEDŽIJA P, et al. Engineering hybrid-hydrogels comprised of healthy or diseased decellularized extracellular matrix to study pulmonary fibrosis [J]. Cell Mol Bioeng, 2022, 15(5): 505-519.

[61] 孙美好, 金凡力, 李建生, 等. 特发性肺纤维化的生物力学特性 [J]. 医用生物力学, 2023, 38(1): 195-201.
SUN M H, JIN F L, LI J S, et al. Biomechanical characteristics of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. J Med Biomech, 2023, 38(1): 195-201.

[62] LAM M, LAMANNA E, ORGAN L, et al. Perspectives on precision cut lung slices-powerful tools for investigation of mechanisms and therapeutic targets in lung diseases [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1162889.

[63] AHANGARI F, BECKER C, FOSTER D G, et al. Saracatinib, a selective src kinase inhibitor, blocks fibrotic responses in preclinical models of pulmonary fibrosis [J]. Am J Respir Crit

Care Med, 2022, 206(12): 1463-1479.

[64] VAZQUEZ-ARMENDARIZ A I, BARROSO M M, AGHA E E, et al. 3D *in vitro* models: novel insights into idiopathic pulmonary fibrosis pathophysiology and drug screening [J]. Cells, 2022, 11(9): 1526.

[65] MILLER A J, DYE B R, FERRER-TORRES D, et al. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells *in vitro* [J]. Nat Protoc, 2019, 14(2): 518-540.

[66] WILKINSON D C, MELLODY M, MENESES L K, et al. Development of a three-dimensional bioengineering technology to generate lung tissue for personalized disease modeling [J]. Curr Protoc Stem Cell Biol, 2018, 46(1): e56.

[67] COLLARD H R, RYERSON C J, CORTE T J, et al. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. an international working group report [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 194(3): 265-275.

[68] CHEN T, QIU H, ZHAO M M, et al. IL-17A contributes to HSV1 infection-induced acute lung injury in a mouse model of pulmonary fibrosis [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(2): 908-919.

[69] CHEN T, HE X, ZHOU N Y, et al. C-type lectin Mincle initiates IL-17-mediated inflammation in acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Biomedecine Pharmacother, 2023, 159: 114253.

[70] ASHLEY S L, JEGAL Y, MOORE T A, et al. γ-Herpes virus-68, but not *Pseudomonas aeruginosa* or influenza A (H1N1), exacerbates established murine lung fibrosis [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 307(3): L219-L230.

[71] SMOKTUNOWICZ N, ALEXANDER R E, FRANKLIN L, et al. The anti-fibrotic effect of inhibition of TGFβ-ALK5 signalling in experimental pulmonary fibrosis in mice is attenuated in the presence of concurrent γ-herpesvirus infection [J]. Dis Model Mech, 2015, 8(9): 1129-1139.

[72] WEI Y R, QIU H, WU Q, et al. Establishment of the mouse model of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Exp Lung Res, 2016, 42(2): 75-86.

[73] CHEN S S, YIN Z F, CHEN T, et al. Development of a non-infectious rat model of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. J Thorac Dis, 2017, 9(1): 96-105.

[74] 臧凝子, 庞立健, 李品, 等. 特发性肺间质纤维化急性加重大鼠模型造模方法研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(6): 3064-3070.
ZANG N Z, PANG L J, LI P, et al. Study on the modeling method of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis in rats [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(6): 3064-3070.

[75] YEGEN C H, HAINE L, DA COSTA FERREIRA K, et al. A new model of acute exacerbation of experimental pulmonary fibrosis in mice [J]. Cells, 2022, 11(21): 3379.

[76] KIMURA T, NOJIRI T, HOSODA H, et al. Exacerbation of bleomycin-induced injury by lipopolysaccharide in mice: establishment of a mouse model for acute exacerbation of interstitial lung diseases [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2015, 48(4): e85-e91.

[77] MIYAMOTO H, TAKEMURA S, MINAMIYAMA Y, et al. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis model by small amount of lipopolysaccharide in rats [J]. J Clin Biochem Nutr, 2022, 70(2): 129-139.

[78] 于睿智, 王天娇, 臧凝子, 等. 博来霉素联合脂多糖诱导大鼠特发性肺纤维化急性加重动物模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(7): 833-845.
YU R Z, WANG T J, ZANG N Z, et al. Establishment of model of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis in rats induced by bleomycin and lipopolysaccharide [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(7): 833-845.

[79] JIA K, WU J, LI Y, et al. A novel pulmonary fibrosis murine model with immune-related liver injury [J]. Anim Model Exp Med, 2023, 6(3): 274-282.

[80] D'ALESSANDRO-GABAZZA C N, YASUMA T, KOBAYASHI T, et al. Inhibition of lung microbiota-derived proapoptotic peptides ameliorates acute exacerbation of pulmonary fibrosis [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1558.

[81] D'ALESSANDRO-GABAZZA C N, KOBAYASHI T, YASUMA T, et al. A *Staphylococcus* pro-apoptotic peptide induces acute exacerbation of pulmonary fibrosis [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1539.

[82] 杨珺超, 宋康, 陈君峰, 等. 构建以肺纤维化为病理基础的肺气虚证大鼠模型 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(1): 109-112.
YANG J C, SONG K, CHEN J F, et al. Research on constructing the rat model of lung qi-deficient syndrome based on interstitial pulmonary fibrosis [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2011, 29(1): 109-112.

[83] 张伟, 张雪玲, 朱雪, 等. 清金益肺汤对痰热蕴肺型特发性肺纤维化大鼠发挥抗氧化作用的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(8): 1556-1558, 1789.
ZHANG W, ZHANG X L, ZHU X, et al. A probe into antioxidant effect of Qingjinyifei Decoction on rats sufferring from syndrome of phlegm-heat obstructing lung of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2014, 41(8): 1556-1558, 1789.

[84] 胡齐帅, 张晓艳. 病证结合动物模型研究进展 [J]. 中医学报, 2022, 37(2): 299-303.
HU Q S, ZHANG X Y. Research progress of animal model of disease and syndrome combination [J]. Acta Chin Med, 2022, 37(2): 299-303.

[85] 白茹, 刘欣欣, 李凤金, 等. 阴虚证动物模型的造模方法 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(2): 69-71.
BAI R, LIU X X, LI F J, et al. Modeling method of animal models with Yin deficiency syndrome [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2020, 38(2): 69-71.

[86] 钟森杰, 李静, 李琳, 等. 病证结合动物模型研究思路述评 [J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(8): 141-144.
ZHONG S J, LI J, LI L, et al. A review of research ideas in combination of disease and syndrome animal models [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2021, 28(8): 141-144.

[收稿日期]　2023-09-07