

把得婷,郝彬彬,李娟. 病证结合 COPD 动物模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(10): 114-120.

Ba DT, Hao BB, Li J. Research progress of disease-syndrome combination models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10): 114-120.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.015

病证结合 COPD 动物模型研究进展

把得婷¹, 郝彬彬¹, 李娟^{1,2*}

(1.甘肃中医药大学,兰州 730000;2.甘肃中医药大学附属医院,甘肃省中药新产品
创制工程实验室,甘肃省中医方药挖掘与创新转化重点实验室,兰州 730000)

【摘要】 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是临床常见的呼吸系统疾病,发病率高,死亡率高,已成为当今社会一个重要的卫生问题。中医药在 COPD 的治疗中积累了丰富的历史经验,并且具有独特的临床优势。为深入发掘中医药对本病的治疗效果,制备病证结合的 COPD 动物模型是关键前提。本文归纳总结的病证结合模型包括肺气虚证动物模型、肺脾两虚证动物模型、痰热郁肺证动物模型、痰瘀阻肺证动物模型、寒饮证动物模型五大类。现将近几年常见的病证结合类造模方法进行简单的阐述与梳理,以期研究人员提供新思路,推动中医药治疗本病的研究进程。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;病证结合;动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 10-0114-07

Research progress of disease-syndrome combination models of chronic obstructive pulmonary disease

BA Deting¹, HAO Binbin¹, LI Juan^{1,2*}

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China. 2. Affiliated Hospital of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Gansu Engineering Laboratory for New Products of Traditional Chinese Medicine, Gansu Key Laboratory of TCM Excavation and Innovative and Transformation, Lanzhou 730000)

【Abstract】 Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common respiratory disease with high morbidity and mortality, and has become a major health issue. Traditional Chinese medicine has accumulated rich historical experience in the treatment of COPD and has unique clinical advantages. To further explore the therapeutic effect of traditional Chinese medicine on this disease, establishment of a COPD animal model combining disease and syndrome is critical to study occurrence and development of the disease. The combined models of disease and syndrome summarized include five types: the animal model of lung qi deficiency, the animal model of lung and spleen deficiency, the animal model of phlegm-heat stagnation of lung, the animal model of phlegm-stasis obstructing lung, and the animal model of cold-fluid syndrome. The common disease and syndrome in recent years combined with the method of class modeling are simply described and combined to provide new ideas for researchers and promote research of traditional Chinese medicine of this disease.

【Keywords】 chronic obstructive pulmonary disease; disease-syndrome combination; animal model

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

【基金项目】 国家自然科学基金(82160872);甘肃省教育厅“双一流”科研重点项目(GSSYLXM-05);甘肃省中医药研究中心开放课题(zyzx-2020-zx17);2022年度中医学一级学科“岐黄英才”导师专项基金(2022-13)。

【作者简介】 把得婷(1995—),女,硕士研究生,研究方向:方剂药效物质基础与作用机理。E-mail:1597607527@qq.com

【通信作者】 李娟(1967—),女,教授,硕士生导师,研究方向:中医药防治慢性阻塞性肺疾病。E-mail:gansulijuan@sina.com

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD), 简称慢阻肺, 是一种常见的可防可治的慢性呼吸系统疾病, 其特征在于持续的呼吸系统炎症和不可逆的气流受限, 通常是由于大量暴露于有毒颗粒或气体引起的^[1], 具有患病率、致残率、病死率均较高的特点^[2]。在我国, 40 岁及以上人群患病率为 13.7%, 有近 1 亿 COPD 患者, 在成年人中高度流行, 位居我国居民死因第三位^[3], 显然已成为当今社会一个重要的卫生问题。西医常规治疗包括控制性氧疗、口服支气管扩张剂、雾化吸入激素、注射抗炎药物等, 虽在一定程度上可以缓解症状, 但依旧具有耐药性及诸多不良反应^[4-6]。中医药在 COPD 的综合治疗中积累了丰富的经验, 在抑制氧化应激反应及炎性细胞因子释放^[7]、抑制气道粘液高分泌及有效改善病理损害^[8-9]、提高患者肺功能及生活质量^[10]等方面发挥了关键作用。为了更好地发现中医药治疗 COPD 的潜在靶点和阐述其治疗机理, 制备病证结合的动物模型必不可少, 其可以辅助我们准确模拟 COPD 的病理生理状态及证候特征, 为辨证施治奠定基础, 推动中医药治疗疾病的发展。

1 中医病因病机

COPD 在中医学中并没有与之相对应确切病名, 根据患者临床表现, 多将其归属于“肺胀”“哮喘”“喘病”“咳嗽”等范畴, 稳定期表现类似“咳嗽”, 急性加重期多属“肺胀”^[11]。关于“肺胀”论述, 早在《黄帝内经》中就有提及, 《灵枢·胀论》云“夫胀者, 皆在于藏府之外, 排藏府而郭胸胁、胀皮肤, 故命曰: ‘胀’”, 这里首次提出“胀”病^[12]。后代医家也多有补充与发展, 《金匱要略》言, “咳而上气, 此为肺胀, 其人喘, 目如脱状”详细描述其症状, 《丹溪心法》又言“肺胀而咳, 或左或右不得眠, 此痰夹瘀血碍气而病”, 提出痰、瘀与疾病进展密切相关。中医学认为本病发生多因病久肺虚、年老体弱, 外加感受六淫侵袭而引起, 病机为肺体、肺气损伤, 痰瘀阻滞, 肺管气道不利, 张缩无力, 嗽则气还肺间, 加之外邪侵袭而触动伏邪, 致使疾病发生^[13]。

2 COPD 动物模型

临床上, COPD 因其高发病率一直成为研究热点, 经过长期探索与实践, 造模技术已渐趋完善, 研究者在复制 COPD 疾病模型时选用单因素诱导或复

合因素诱导, 常见的单因素诱导包括烟雾暴露 (cigarette smoke, CS)^[14]、气管脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 滴注^[15]、基因敲除^[16], 复合因素诱导有 CS+LPS^[17]、CS 联合病毒^[18]等, 以 Wistar 大鼠、SD 大鼠、C57BL/6 小鼠等为造模对象, 将动物肺组织形态 (肺泡、支气管、肺间质), 肺组织病理评分 (肺组织损伤程度、气道炎症评分、气道黏液分泌评分), 肺组织定量分析 (肺泡损伤程度、气道重塑程度、血管重构程度) 作为评判依据, 去验证造模是否成功^[19]。

3 COPD 病证结合动物模型

“病证结合”动物模型是指在中医药理论、现代医学理论与实验动物学知识的有机结合下, 模拟出的与人类疾病表现和证候特征相同或相似的实验观察动物^[20]。病证结合造模的原理为先根据西医理论复制目标疾病模型, 如慢性支气管炎、哮喘等, 后在该疾病模型基础上, 根据中医证候概念复制出证候模型, 两者结合起来使西医的疾病中呈现出对应的中医证型, 体现了临床辨病与辨证的结合, 是当前用于研究中医药治疗疾病的理想模型^[21-22]。在 COPD 病证结合动物模型中, 实验者多采用“先病后证”的造模方式, 先以“CS+LPS”的方法复制出 COPD 动物模型, 使模型具备与 COPD 相关的病理表现, 进一步根据中医病因病机去模拟证候特征, 换言之, 在西医病理损害的基础上叠加中医病因刺激, 最后制备出 COPD 病证结合模型, 合格且稳定的病证结合模型, 能够更好地为中医药治疗慢阻肺提供模型支撑。

3.1 肺气虚证动物模型

李瑞祥等^[23]采用复合因素造模, 总计 28 d: 在第 1 天、第 14 天气管滴注 LPS (1 mg/mL), 其余时间每天对其烟熏 30 min, 烟熏结束后再次将其置于冷空气刺激 1 h, 以此建立肺气虚证 COPD 大鼠模型, 并利用此模型验证了利金方通过升高肺组织免疫细胞的水平来改善肺气虚证 COPD 的症状。

沈俊希等^[24]于造模第 1 天、第 14 天气管注射 200 μ L LPS 溶液 (浓度: 1 g/L), 第 2~23 天 (除第 14 天) 点燃 7.11 g 烟丝和 50 g 锯末烟熏, 每天 1 次, 每次 30 min, 第 24~30 天将烟熏频次改为每天 3 次, 每次 30 min, 造模时常为 30 d, 并以补肺汤的治疗效果去判定模型的有效性。

肺为华盖, 主气而司呼吸, 主一身之表, 外邪侵

袭首先犯肺,病久而肺气必虚,因此肺气虚证是 COPD 中最常见的证型。临床以咳喘反复发作、咳痰清稀,咳声微弱、语声低怯,面色淡白、自汗恶风,舌淡苔白脉弱为肺气虚常见症状^[25],治以补肺益气平喘。该模型主要通过“CS+LPS”的方法来复制

(表 1),个别造模方法略有变动,但差异不大,在该证型造模的后期通过加大肺部的烟雾暴露次数或进行冷刺激,对肺造成损伤,一定程度上模拟肺气的损伤,使模型具备一定的合理性,但在模型评价方面尚无统一标准。

表 1 常见病证结合动物模型总结

Table 1 Summarization of disease-syndrome combination animal models

证候类型 Syndromes	动物品系 Animal breed	造模方法及周期 Intervention measures and period	模型表现 Model representation	观测指标 Observational indicators
肺气虚 ^[23] Lung qi deficiency	Wistar 大鼠 Wistar rat	“烟熏+气管滴注 LPS+ 冷刺激” 28 天 “ Smoking + intratracheal LPS injection + cold stimulation” 28 days	毛色暗淡脱落,体重下降,呼吸频率增高,口鼻分泌物增多,偶可闻及痰鸣音,肺大泡形成,炎症细胞浸润;CD4 ⁺ T 细胞数量降低,Th17 细胞数量上升;IL-6、IL-21 含量升高。 Fur was dull and shed, the body mass is decreased, the respiratory rate is increased, the oral and nasal secretions are increased, the sputum sounds can be heard occasionally, the pulmonary bullae formation, inflammatory cell infiltration. The number of CD4 ⁺ T cells decreased and the number of Th17 cells increased. The levels of IL-6 and IL-21 were increased.	症状体征、肺组织形态;肺组织免疫细胞;血清及 BALF 中炎症细胞。 Symptoms and signs, lung tissue morphology. Lung tissue immune cells. Inflammatory cells in serum and BALF.
肺气虚 ^[24] Lung qi deficiency	Wistar 大鼠 Wistar rat	“烟熏+气管滴注 LPS” 30 天 “ Smoking + intratracheal LPS injection” 30 days	蜷伏少动,被毛蓬起无光泽,呼吸急促,闻及咳嗽及痰鸣音,进食减少;肺泡萎缩塌陷,肺实质化,炎症细胞浸润;TNF- α 、IL-8 含量升高。 Curled up and moved less, dull coat, shortness of breath, the sounds of cough and sputum were heard, reduced eating. Alveolar collapse, lung parenchyma, inflammatory cell infiltration. The levels of TNF- α and IL-8 increased.	症状体征,肺组织形态;肺组织 TNF- α 、IL-8 含量。 Symptoms and signs, lung tissue morphology. The content of TNF- α and IL-8 in lung tissue.
肺脾两虚 ^[26] Lung and spleen deficiency	Wistar 大鼠 Wistar rat	“烟熏+气管滴注 LPS+ 灌服冰冷番泻叶浸液” 42 天 “ Smoking + intratracheal LPS injection + drink cold senna infusion” 42 days	扎堆眯眼,精神倦怠,毛发干枯,体型消瘦,食少便稀;肺大疱形成,支气管腔渗出物出现,炎症细胞浸润;肺功能下降;IL-1、TNF- α 升高。 Squinting eyes gather together, mental fatigue, dry fur, body wasting, little food and loose stool. Pulmonary bullosa formed, exudate appeared in bronchial cavity, inflammatory cell infiltration. Decreased lung function. IL-1 and TNF- α were increased.	症状体征,肺组织形态;肺功能;血清炎症因子。 Symptoms and signs, lung tissue morphology. Pulmonary function. Serum inflammatory factors.
肺脾两虚 ^[27] Lung and spleen deficiency	SD 大鼠 SD rat	“烟熏+气管滴注 LPS+ 大黄液灌胃” 28 天 “ Smoking + intratracheal LPS injection+rhubarb liquid by gavage” 28 days	神倦体弱,咳嗽短气,纳少便溏;气道和肺实质出现炎性病变,气道狭窄;肺功能下降;脾脏指数、胸腺指数低下。 Fatigued and weak, cough and shortness of breath, little food and loose stool. Airway and lung parenchyma inflammatory lesions, airway stenosis. Decreased lung function. The spleen index and thymus index were low.	症状体征,肺组织形态;肺功能;脾指数,胸腺指数。 Symptoms and signs, lung tissue morphology. Pulmonary function. Spleen index, thymus index.
痰热郁肺 ^[28] Phlegm-heat stagnation of lung	Wistar 大鼠 Wistar rat	“烟熏+肺炎双球菌滴 鼻” 28 天 “ Smoking + <i>Pneumococcus nasal</i> drops” 28 days	咳嗽喘息,鼻部分泌物增多,毛发脱落,面部水肿,舌质紫黯舌苔黄;支气管黏膜坏死、脱落,管壁炎症细胞浸润,肺泡壁断裂;肺功能下降;炎症因子升高。 Cough and wheezing, increased nasal secretions, fur loss, facial edema, dark tongue and yellow tongue coating. Necrosis and exfoliation of bronchial mucosa, inflammatory cell infiltration of bronchial wall and rupture of alveolar wall were observed. Decreased lung function. Inflammatory factors were increased.	症状体征,肺组织形态;肺功能;BALF 中炎症细胞数量及百分比。 Symptoms and signs, lung tissue morphology. Pulmonary function. The number and percentage of inflammatory cells in BALF.

续表 1

证候类型 Syndromes	动物品系 Animal breed	造模方法及周期 Intervention measures and period	模型表现 Model representation	观测指标 Observational indicators
痰热郁肺 ^[29] Phlegm-heat stagnation of lung	SD 大鼠 SD Rat	“烟熏+气道滴注 LPS” 28 天 “ Smoking + intratracheal LPS injection” 28 days	急躁多动,毛发暗淡无泽,大便质硬,呼吸道分泌物色黄质稠;支气管壁增厚,肺泡壁断裂,肺大泡形成;肺功能下降;IL-6, STAT1, STAT3 上升。 Irritability, hyperactivity, dull coat, hard stools, respiratory secretions are yellow and sticky. The bronchial wall was thickened, alveolar wall was broken, and pulmonary bullae were formed. Decreased lung function; IL-6, STAT1 and STAT3 increased.	症状体征;肺组织形态;肺功能;肺组织炎性因子及相关蛋白含量。 Symptoms and signs. Lung tissue morphology. Pulmonary function. Contents of inflammatory factors and related proteins in lung tissue.
痰热郁肺 ^[30] Phlegm-heat stagnation of lung	Wistar 大鼠 Wistar Rat	“烟熏+气道滴注 LPS+风热刺激” 37 天 “ Smoking + intratracheal LPS injection+ wind and heat stimulation” 37 days	肺泡融合、间隔破坏,气道黏膜脱落,管腔内有痰液潴留,粘膜下腺体肥大、杯状细胞增生;IL-8、TNF- α 水平上升;MUC5AC、NE 含量显著升高。 Alveolar fusion, septum destruction, airway mucosa exfoliation, sputum retention in the lumen, submucosal gland hypertrophy, goblet cell proliferation. The levels of IL-8 and TNF- α increased. The contents of MUC5AC and NE were significantly increased.	肺组织形态;血清炎性因子及 BALF 中相关蛋白的含量。 Lung tissue morphology. The levels of inflammatory factors in serum and related proteins in BALF were detected.
痰瘀阻肺 ^[31] Phlegm-stasis obstructing lung	SD 大鼠 SD Rat	“强迫游泳+被动吸烟+低氧环境” 30 天 “ Forced swimming + passive smoking + hypoxic environment” 30 days	喜静恶动,毛发发黄,呼吸急促,唇舌爪甲发绀,体质量减轻;肺泡局限性增大,肺泡间隔增厚或损坏,支气管壁黏液腺增生;肺功能下降;IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 升高。 Quiet but not active, hair turns yellow, shortness of breath, cyanosis of lips, tongue and nails, weight loss. Alveolar enlargement, alveolar septum thickening or damage, bronchial wall mucus gland hyperplasia. Decreased lung function. The levels of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α were increased.	症状体征;肺组织形态;肺功能;血清炎性因子水平。 Symptoms and signs. Lung tissue morphology. Pulmonary function. Serum inflammatory factor levels.
痰瘀阻肺 ^[32] Phlegm-stasis obstructing lung	SD 大鼠 SD Rat	“烟熏+低氧” 28 天 “ Smoking + hypoxic environment” 28 days	肺泡结构破坏、融合,肺血管增厚,管壁炎症细胞浸润,管腔狭窄;Bax 蛋白表达降低, Bcl-2 增加;VEGF 表达升高。 Alveolar structure was destroyed and fused, the pulmonary blood vessels were thickened, the inflammatory cells infiltrated in the wall, and the lumen was narrowed. The expression of Bax protein decreased and Bcl-2 protein increased. The expression of VEGF increased.	肺组织形态;肺血管组织 Bax、Bcl-2 蛋白水平,血清 VEGF 水平。 Lung tissue morphology. The levels of Bax and Bcl-2 protein in pulmonary vascular tissue and serum VEGF level were detected.
寒饮证 ^[33] Cold- fluid syndrome	Wistar 大鼠 Wistar Rat	“烟熏+气管滴注 LPS+饮冷及寒冷刺激” 56 天 “ Smoking + tracheal instillation of LPS + drinking cold and cold stimulation” 56 days	精神萎靡,呼吸急促,毛发少泽脱落,食少体轻,口鼻分泌物增加;气管、支气管上皮细胞肿胀坏死脱落,支气管管腔炎细胞浸润;肺功能下降。 Listlessness, shortness of breath, the hair color is dark and shedding, less food and body light, mouth and nose secretions increased. The tracheal and bronchial epithelial cells were swollen, necrotic and exfoliated, and the bronchial lumen was infiltrated by inflammatory cells. Lung function decreased.	症状体征;肺组织形态;肺功能。 Symptoms and signs. Lung tissue morphology. Pulmonary function.
寒饮证 ^[34] Cold- fluid syndrome	Wistar 大鼠 Wistar Rat	“烟熏+气管滴注 LPS+饮冷+冷刺激” 30 d “ Smoking + tracheal instillation of LPS + drinking cold and cold stimulation” 30 d	形体消瘦,被毛零乱,鼻腔可见淡白色分泌物,饮水量下降;肺功能下降;IL-8、IL-10、IL-13 和 TNF- α 上升, AQP1 含量降低, Muc5ac 蛋白上升。 Body was thin, his fur was messy, nasal secretions were pale white, and water intake was decreased. Decreased lung function; IL-8, IL-10, IL-13 and TNF- α were increased, AQP1 content was decreased, and Muc5ac protein was increased.	症状体征;肺功能;血清中炎性因子含量及肺组织部分蛋白表达。 Symptoms and signs. Pulmonary function. The content of inflammatory factors in serum and the expression of some proteins in lung tissue were detected.

3.2 肺脾两虚证动物模型

张旭辉等^[26]在造模第 1 天、第 14 天气管滴注

LPS, 第 2~42 天进行烟雾暴露, 每天 2 次, 每次 30 min(滴注 LPS 当天不烟熏), 同时自造模第 7 天起

在熏烟前 30 min 给予浓度为 1 g/mL 的冰冷番泻叶浸液,连续灌胃至第 42 天,利用苦寒药损伤脾胃的机理建立脾虚证慢阻肺动物模型,研究者使用该动物模型观察到 ghrelin 及 obestatin 与炎症因子的相互作用在 COPD 合并营养不良中起重要作用。

何嘉等^[27]于造模第 1 天、第 14 天气管滴注 0.2 mL LPS,第 2~28 天(气管滴注 LPS 日除外)对其进行烟熏,1 h/d;同时以“二次造模”的方式在造模开始后第 7 天以大黄混悬液灌胃,2 mL/d,共 8 d,第 28 天成功制备 COPD 肺脾两虚证模型,并使用该模型验证了健脾益肺口服液可提高 COPD 患者的免疫功能。

肺气虚证为慢阻肺主要证型,肺虚日久,子盗母气,脾失健运,同时母病及子,又进一步加重肺脏的失常,二者相互影响,终成肺脾两虚之证,该证型也主要集中出现在 COPD 稳定期,主要表现为咳嗽喘息气短,动则加重,或神疲乏力易感冒,或食少纳呆便溏,舌体胖大舌苔腻,脉沉细或细弱,治疗以益气健脾为主^[35]。此类模型先进行 COPD 的复合造模,后期以苦寒药物煎剂灌胃处理模拟中医证候(表 1),体现了疾病发展过程中的动态变化,番泻叶、大黄苦寒攻下,药效峻猛,易伤脾阳,母病及子,因此可致肺脏失养,较为符合肺脾两虚证产生的机理。

3.3 痰热郁肺证动物模型

金朝晖等^[28]点燃 50 g 烟叶、10 g 硫磺对其烟雾暴露,每次 30 min,每天 2 次,两次间隔 4 h 以上,随后鼻腔滴入 0.1 mL 肺炎双球菌菌液(浓度: 6×10^8 CFU/mL,最后两次浓度: 18×10^8 CFU/mL),每周 2 次,共计滴 8 次,造模 28 d 结束,成功制备 COPD 痰热郁肺证模型,作者借此模型证实了清金畅肺饮对 COPD 气道炎症具有抑制作用^[36]。

许光兰等^[29]在实验第 1 天、第 14 天气管滴注 LPS(浓度:1 g/L) 200 μ L,第 2~30 天(除第 14 天)进行烟雾暴露,早晚各 30 min,首先制备 COPD 疾病模型。在此基础上,于造模第 26 天气管多滴注 LPS 1 次,以此模拟痰热郁肺证型,使“病”“证”相结合,并设置清金化痰颗粒治疗作为对照组,以方测证,结果对照组大鼠病理改变有所好转,模型制备成功。

陈锦标等^[30]在实验第 1、8、15 天气道滴入 200 μ L LPS 溶液(浓度:1 mg/mL),第 2~28 天烟雾暴露(LPS 滴注当日除外),每次 30 min,上、下午各一

次。后在第 29~37 天将其置于风箱中(温度(39 ± 1) $^{\circ}$ C,风速 0.7 m/s,相对湿度 50%)进行风热刺激,依旧每次 30 min,每天 2 次,造模时长 37 d,成功制备 COPD 痰热郁肺证模型。

该证型多出现在急性加重期,肺失宣肃,津液失于布散而聚集体内,日久积热化痰,或感受风热之邪侵袭,灼伤津液,炼液成痰,痰热壅结于肺而发病^[37-38]。咳嗽喘息,发热痰黄,口渴喜饮,舌红苔黄为痰热蕴肺证常见症状^[25],治以清热化痰。在痰热郁肺证模型中,研究者在造模后期多将动物置于人为制造的风热环境中进行刺激(表 1),以此模拟风热侵袭,从而使动物产生与风热证相似的症状,值得借鉴。

3.4 痰瘀阻肺证动物模型

朱张求等^[31]将大鼠放入水槽中(恒温: $43 \pm 1^{\circ}$ C)强迫游泳 30 min,后进行烟雾暴露,每天 1 次,每次 0.4 h,最后将其置于通入氮气的低氧箱内(氧浓度: $10.0\% \pm 0.5\%$, CO_2 浓度: 0.03%),每天低氧 7 h,连续造模 1 个月,由此成功建立 COPD 痰瘀阻肺证模型。作者基于此模型明确了芪白平肺胶囊通过降低炎症因子表达来改善肺血管重塑及炎症^[39]。

石孟瑶等^[32]将大鼠置于烟箱内,1 h/d,随后将其置于低氧装置内(氧浓度: $10.0\% \sim 10.5\%$, CO_2 浓度: 0.03% 左右),每天低氧 5 h,每周 6 d,连续造模 4 周,成功复制出目标模型。

肺气亏虚,津液不布,聚为痰浊;气与血相互依存相互为用,气为血之帅,气能行血,亦能摄血,气虚无力助血运行,则血留成瘀,痰瘀共为病理因素,二者相互影响,终成气虚痰瘀之证。临床以咳嗽咳痰气短,神疲乏力自汗,口唇发绀,舌质淡暗,脉沉细或涩为主要表现,治以补肺益气、化痰祛瘀^[40]。研究者多采用复合因素造模(表 1),强迫大鼠在水中游泳,使其劳累损伤肺气,正是利用了“气虚则无力助血运行”这一理念,模型动物症状表现稳定,造模时间短,周期基本一致,均为 1 个月左右。

3.5 寒饮证动物模型

周健美^[33]在造模第 1、14、28 天气管滴注 200 μ L LPS,第 2~56 天(第 14、28 天除外)进行烟雾暴露,每天 2 次,每次 30 min,两次间隔 4 h 左右。后在低温环境下(温度: 0° C 左右)冷冻,1 h/d,同时将其置于冷水游泳,持续 4 周,伴随冰水混合物喂养,总计 56 d,复制出目标模型。

杨淑等^[34]以药测证,选用生姜为治疗药物,在

第 1、14 天鼻腔滴注 200 μL 脂多糖(浓度: 1 mg/mL), 第 2~30 天(第 14 天除外)进行烟熏, 每天 2 次, 每次 30 min, 每次间隔 4 h, 随后置于低温环境中(温度: 0 $^{\circ}\text{C}$ 左右)刺激 1 h, 同时以冰水混合物喂养, 12 h/d, 持续 30 d。生姜具有解表散寒、温中止呕之药效, 实验中给予生姜治疗后大鼠寒症明显减轻, 加之造模完成后动物表现出明显寒象, 表明寒饮蕴肺模型造模成功。

在寒饮证模型中, 研究者遵循中医“苦寒伤阳”的理论, 以冰水灌胃伤及脾阳, 使得脾胃运化水饮功能失职, 加之感受寒邪, 内克于肺, 肺主通调水道功能紊乱, 造成水液内停, 终成寒饮内停之证, 以“饮冷+寒冷刺激”的方式(表 1)复制寒饮蕴肺中医证型, 共建 COPD 寒饮蕴肺证大鼠模型。

4 讨论

病证结合的治疗方法既能对某种疾病有宏观上的把握, 又可以了解疾病某一阶段或某一类型的具体本质, 做到辨病为先, 辨证为主, 二者有机结合, 从宏观和微观两个层次去认识疾病, 从而进行有效治疗, 具有事半功倍的效果。总结发现, 不同类型的 COPD 病证结合动物模型均具有造模周期适中(大部分为 28 d), 可操作性强以及花费成本低的特点, 可以作为用于研究中医药治疗 COPD 的模型基础, 同时研究者多选用大鼠为造模对象, 因其具有繁殖周期短、饲养方便易成活等优点。验证目标模型是否成功时, 研究者将动物的行为学表现与病理形态改变相结合, 同时会辅助一些相关的实验室指标, 如炎症因子等, 综合去判定, 使动物模型更具说服力。

4.1 存在问题

病证结合动物模型虽在一定程度上可以模拟目标疾病及中医证候, 展示干预手段对动物产生的影响, 支持中医药防治疾病的研究进展。但依旧存在以下问题: (1) 所选动物种类及品系不统一, 由于它们存在个体差异性, 势必会产生实验数据的不一致; (2) 在此类造模方式下, 对动物模型证候的评价多依赖实验者的主观判断, 并没有明确规范的评价标准, 制定科学的模型评价标准依旧是 COPD 病证结合模型领域的难点; (3) 众所周知, 中医认识疾病讲求整体观念, 某种疾病或证型的形成并不是通过单纯的一种外在干预方式就可以蹴就的, 同时在疾病发展过程中, 伴随诸多并发症, 研究人员单纯以

一种致病因素对实验动物进行干预会使模型具有片面性, 另一方面, 疾病与证候同时存在, 实验者以“先病后证”的造模方式割裂了二者原先相辅相成的关系; (4) 关于病证结合 COPD 动物模型的研究及相关文献数量较少, 供研究人员参考的方法较为缺乏; (5) 中医辨证注重四诊合参, 重视对舌象和脉象的观察与鉴别, 由于采集动物的舌象、脉象比较困难且不能将动物与人的生理表现混为一谈, 因此在目前所报道的诸多文献中, 均缺乏描述; (6) COPD 患者以中老年男性为主要患病人群, 但大多数研究者在选择模型动物时经常忽略动物性别及年龄这一细节, 使实验结果出现偏差。

4.2 发展思路

病证结合动物模型是将实验研究与临床治疗相衔接的桥梁, 复制一个恰当准确、切合临床的病证结合动物模型, 对开发新型制剂及研究量效关系具有极高价值, 但目前病证结合动物模型的建立依旧处于探索阶段, 针对在造模过程中存在的诸多问题, 研究者需统一动物品系与年龄性别, 完善证候评价标准, 设计合理的实验计划, 利用好现代医学检测手段, 探寻规范采集动物四诊信息的技术, 从诸多方面去规避造模过程中的不足, 从而建立一个符合中西医发病机制的高质量动物模型, 推动中医药防治疾病的发展, 为人类的健康做出贡献。

参考文献:

- [1] 陈亚红. 2022 年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗、管理及预防全球策略更新要点解读 [J]. 中国全科医学, 2022, 25(11): 1294-1304, 1308.
- [2] 李建生, 余学庆. 慢性阻塞性肺疾病中医分期分级防治策略 [J]. 中医杂志, 2019, 60(22): 1895-1899.
- [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] 王凤燕, 张冬莹, 梁振宇, 等. 面向全科医生的《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021 年修订版)》解读 [J]. 中国全科医学, 2021, 24(29): 3660-3663, 3677.
- [5] 郑锋. 吸入糖皮质激素和支气管扩张剂对 COPD 患者肺功能的影响及副作用对比 [J]. 泰山医学院学报, 2018, 39(7): 782-784.
- [6] 于海洋, 陈云志, 朱星, 等. 基于网络药理学探讨潜阳封髓丹治疗慢性阻塞性肺疾病的潜在分子机制 [J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2021, 38(1): 1-6.
- [7] Qian Y, Yan L, Wei M, et al. Seeds of Ginkgo biloba L. inhibit oxidative stress and inflammation induced by cigarette smoke in COPD rats through the Nrf2 pathway [J]. J Ethnopharmacol,

- 2023, 301; 115758.
- [8] 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.
- [9] 李亚, 王洋, 毛静, 等. 补肺益肾方调控 NF- κ B 信号通路对 COPD 大鼠炎症反应的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(6): 3171-3175.
- [10] 凌小艳, 韩平, 崔晓华. 桃红四物汤合二陈汤加减治疗老年慢性阻塞性肺疾病的临床分析 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(7): 1678-1681.
- [11] 刘成龙, 耿立梅, 马蕴蕾, 等. 中医药治疗慢性阻塞性肺疾病的研究进展 [J]. 西部中医药, 2022, 35(2): 153-156.
- [12] 刘更生校注. 灵枢经 [M]. 北京: 中国中医药出版社; 2006.
- [13] 张伯礼, 吴勉华. 中医内科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社; 2017.
- [14] Xiao C, Cheng S, Lin H, et al. Isoforskolin, an adenylyl cyclase activator, attenuates cigarette smoke-induced COPD in rats [J]. *Phytomedicine*, 2021, 91; 153701.
- [15] Zhou Y, Fang H, Lin S, et al. Qiliqiangxin protects against cardiac ischemia-reperfusion injury via activation of the mTOR pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(2): 454-464.
- [16] Richmond BW, Brucker RM, Han W, et al. Airway bacteria drive a progressive COPD-like phenotype in mice with polymeric immunoglobulin receptor deficiency [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11240.
- [17] Peng Z, Zhang W, Qiao J, et al. Melatonin attenuates airway inflammation via SIRT1 dependent inhibition of NLRP3 inflammasome and IL-1 β in rats with COPD [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 62: 23-28.
- [18] 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.
- [19] 田燕歌, 刘学芳, 陈锴, 等. 慢性阻塞性肺疾病动物模型肺组织病理评价方法研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(6): 1495-1498.
- [20] 殷惠军, 黄焯. 病证结合动物模型的研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(1): 8-10.
- [21] 杜全宇, 王飞. 肺气虚证动物模型造模方法评析 [J]. 山西中医, 2015, 31(9): 56-58.
- [22] 李磊, 刘建勋, 任钧国, 等. 中医药动物模型研究现状及展望 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 104-110.
- [23] 李瑞祥, 陈斯宁, 黎展华, 等. 利金方对肺气虚证 COPD 大鼠 CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞分化的影响 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(5): 1032-1034.
- [24] 沈俊希, 朱星, 陈云志, 等. 补肺汤对慢性阻塞性肺疾病肺气虚证大鼠肺-肠轴的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(7): 47-56.
- [25] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗慢性阻塞性肺疾病临床应用指南(2021 年) [J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(8): 901-914.
- [26] 张旭辉, 孙杰, 桑凯, 等. 肺脾两虚型慢性阻塞性肺疾病大鼠血清 Ghrelin、Obestatin 的动态表达 [J]. 西部中医药, 2020, 33(3): 21-25.
- [27] 何嘉, 郭建辉, 梁栋, 等. 健脾益肺口服液对慢阻肺“肺脾气虚证”大鼠脾脏指数和胸腺指数的影响 [J]. 海南医学, 2014, 25(10): 1412-1414.
- [28] 金朝晖, 彭芝配, 滕久祥, 等. 慢性阻塞性肺疾病痰热郁肺证大鼠模型建立的研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(4): 17-19.
- [29] 许光兰, 赵媚, 钟云青, 等. 清金化痰颗粒对 COPD 急性期(痰热郁肺型)大鼠肺组织 STAT1, STAT3 的调控作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 91-97.
- [30] 陈锦标, 王慧贤, 卢杰伦, 等. 清金化痰汤通过 P38 MAPK 信号通路对 COPD 痰热证大鼠气道炎症反应及黏液高分泌的影响 [J]. 中药材, 2021, 44(4): 970-974.
- [31] 朱张求, 石孟瑶, 方莉, 等. 芪白平肺胶囊对慢性阻塞性肺疾病痰瘀阻肺证大鼠肺部炎症和肺功能的影响 [J]. 安徽中医药大学学报, 2021, 40(6): 52-57.
- [32] 石孟瑶, 朱洁, 方莉, 等. 芪白平肺胶囊对 COPD 痰瘀阻肺证大鼠肺血管 Bax、Bcl-2 表达的影响 [J]. 中医药学报, 2022, 50(4): 23-27.
- [33] 周健美. 小青龙汤对慢性阻塞性肺疾病寒饮蕴肺证外周血及血清 EPO、TPO 表达影响的研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [34] 杨淑, 李玲玲, 温瀑, 等. 生姜对 COPD 寒饮蕴肺证大鼠的干预作用研究 [J]. 世界中医药, 2018, 13(4): 803-807.
- [35] 周游, 张伟, 刘小虹, 等. 综合评估慢性阻塞性肺疾病稳定期中医证型与疾病程度及预后的相关性 [J]. 江西中医药大学学报, 2020, 32(3): 51-54.
- [36] 金朝晖, 彭芝配, 滕久祥, 等. 清金畅肺饮对慢性阻塞性肺疾病痰热郁肺证大鼠模型气道炎症的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(3): 680-682.
- [37] 卢秀英, 程新欣, 李玉琦. 痰热清注射液联合左氧氟沙星治疗慢性阻塞性肺疾病急性发作合并肺炎效果及对肺炎严重程度、IL-6、PCT、SAA 水平的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(5): 51-54.
- [38] 王爱琳, 吴红彦, 马春林. 苓桂三子汤治疗痰瘀互结型慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床研究 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(7): 1651-1653.
- [39] 朱张求. 慢阻肺合并肺动脉高压中医证型及芪白平肺胶囊对其炎症干预研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2022.
- [40] 山萌, 黄刚, 李猛, 等. 益肺化痰活血颗粒治疗慢阻肺稳定期气虚痰瘀互结型的临床研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(23): 2527-2530, 2544.

[收稿日期] 2023-03-01