

楼金成, 苗镡允, 苏嘉琪, 等. 过敏性哮喘大鼠模型的建立方法与评价 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(1): 130-137.
Lou JC, Miao XY, Su JQ, et al. Establishment and evaluation of rat model of allergic asthma [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(1): 130-137.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.01.017

过敏性哮喘大鼠模型的建立方法与评价

楼金成¹, 苗镡允¹, 苏嘉琪¹, 胡 情¹, 翟春涛^{1*}, 吕玉娥²

(1.山西中医药大学,山西 晋中 030600;2.山西省针灸医院,太原 030006)

【摘要】 过敏性哮喘是一种2型炎症反应介导的超敏反应所引起的气道慢性损伤性炎症疾病。目前尚无任何一种哮喘动物模型能完全概括人类过敏性哮喘的发生发展过程,因此构建一个较为完善且稳定的、符合临床患者病理表现的过敏性哮喘动物模型尤为重要。本文就近5年过敏性哮喘模型大鼠的品系选择、造模方法、模型评价指标等方面做简要的分析。

【关键词】 过敏性哮喘;大鼠模型;模型建立;评价指标

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 01-0130-08

Establishment and evaluation of rat model of allergic asthma

LOU Jincheng¹, MIAO Xinyun¹, SU Jiaqi¹, HU Qing¹, ZHAI Chuntao^{1*}, LYU Yue²

(1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030600, China.

2. Shanxi Province Acupuncture Hospital, Taiyuan 030006)

【Abstract】 Allergic asthma is a chronic airway inflammatory disease caused by type 2 inflammatory response-mediated hypersensitivity. At present, no animal model of asthma that completely recapitulates the occurrence and development of allergic asthma in humans is available. Therefore, it is particularly important to establish a relatively complete and stable animal model of allergic asthma that conforms to the pathological manifestations of patients. This review briefly analyzes the strain selection, modeling method, and model evaluation indicators of allergic asthma model rats in the past 5 years.

【Keywords】 allergic asthma; rat model; model establishment; evaluation index

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

过敏性哮喘(allergic asthma, AS)是一种由2型炎症反应介导的超敏反应所引起的气道慢性损伤性炎症疾病^[1]。一系列潜在机制导致气道炎症,导致可变气流受限和呼吸道症状如喘息、气短、胸闷和咳嗽等是过敏性哮喘最典型的特征^[2]。在过去几十年中,其流行率大幅上升,全世界有大约3.5亿人受其影响,尤其是在儿童中,患病率显著增加^[3]。

目前尚无完全治愈方法,但可以通过医生和患者教育、避免环境过敏原暴露、规范化药物治疗和变应原特异性免疫治疗(allergen specific immunotherapy, AIT)等方式来帮助控制症状^[4]。

目前过敏性哮喘动物模型的实验动物种属的选择主要集中在豚鼠、小鼠和大鼠三大类^[5]。其中豚鼠作为最经典的过敏性哮喘动物选择,可以诱导

【基金项目】山西中医药大学创新团队项目—吕景山针药结合科技创新团队(2019TD-003);山西中医药大学创新团队项目—吕景山针灸与生物电子医学创新团队(2022TD1006);山西省“四个一批”科技兴医创新计划重点攻关专项(2022XM35);山西省科技创新人才团队建设项目(200204051002011)。

【作者简介】楼金成(1995—),男,硕士研究生,研究方向:针灸防治机体免疫性疾病的基础与临床研究。

E-mail: 1761162493@qq.com

【通信作者】翟春涛(1981—),男,副教授,博士研究生,硕士研究生导师,研究方向:针灸防治机体免疫性疾病的基础与临床研究。

E-mail: 709966203@qq.com

与人类最相似的炎症反应和气道高反应性。但通常诱导的过敏性哮喘豚鼠模型是由 IgG 介导的是 I 型变态反应,同时个体反应差异较大,同一批豚鼠同一致敏浓度会出现不致敏或过度致敏导致死亡共存的现象^[6]。此外,较少的相关生物学抗体和昂贵的价格使豚鼠不再是构建过敏性哮喘的理想动物模型。大鼠和小鼠的过敏性哮喘动物模型同样具有许多人类过敏性哮喘的特征。然而,过敏性哮喘的主要症状,如气道高反应性和炎症,在大鼠中比在小鼠中更容易再现^[7]。此外,与小鼠相比,大鼠体型更大更加容易处理,且能收集到更多的样本。因此,过敏性哮喘大鼠模型的重要性日益增加^[8]。本文就近 5 年国内外通过大鼠构建过敏性哮喘模型的文献进行汇总,从大鼠的品系、造模方法、模型评价等方面对过敏性哮喘大鼠模型的构建

进行比较分析。

1 文献来源

以(“过敏性哮喘”或“变应性哮喘”)和“大鼠”为主题,时间设定为 2017 年 1 月~2022 年 4 月在中国知网(CNKI)、万方医学网、维普期刊全文数据库,并在 PubMed 数据库(2017~2022)上以“Allergic Asthma”和“Rat”为关键词进行检索,其中 CNKI 数据库检索到文献 105 篇,万方数据库 38 篇,维普数据库 17 篇,PubMed 数据库 159 篇,选择通过过敏性哮喘大鼠模型进行研究的实验文献、硕博论文,排除综述、科技成果、会议类文献和重复类文献,共有 18 篇文献符合要求。以下就文献从大鼠的品系、造模方法、模型评价指标等方面进行整理,详见表 1。

表 1 过敏性哮喘大鼠模型构建方法

Table 1 Construction method of allergic asthma rat model

大鼠品系 Rat strain	致敏原(批号) Allergen (Lot number)	致敏剂量 Sensitizing dose	佐剂 Adjuvant	造模方法 Modeling method
雄性 SD 大鼠 ^[9] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A5253)	OVA(10%)	10 g OVA 溶于 100 mL 生理盐水中(5 mL/kg) 10 g OVA in 100 mL saline(5 mL/kg)	第 1、8 天腹腔注射 D1, D8 i. p.
		-	OVA(1%)	第 15 天开始,每天雾化 1 次,每次 7 min,共 14 d From D15, aerosol once a day, 7 min each time, for a total of 14 days
雄性 Wistar 大鼠 ^[10] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (AL125)	10 mg	10 mg OVA 溶于 1 mL 含 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 10 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、2、3、8 天腹腔注射 D1, 2, 3, 8 i. p.
		-	OVA(1%)	第 15 天开始,每次雾化 40 min,隔天 1 次,共 6 次 From D15, aerosol 40 min each time, once every two days, 6 times
雄性 SD 大鼠 ^[11] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A8041)	100 mg	100 mg OVA 溶于 1 mL 含 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 100 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天腹腔注射 D1, D 8 i. p.
		-	OVA(1%)	第 15~22 天,每天雾化 1 次,每次 20 min From D15~D22, aerosol once a day, 20 min each time
雄性 Wistar 大鼠 ^[12] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	2 mg	2 mg OVA 溶于 1 mL 含 10 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 2 mg OVA in 10 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、7 天腹腔注射 D1, D7 i. p.
		-	OVA(5%)	第 17~35 天,每次雾化 40 min,隔日 1 次 From D17~D35, aerosol 40 min each time, once every two days
雄性 SD 大鼠 ^[13] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	10 mg	10 mg OVA 溶于 1 mL 含 10 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 10 mg OVA in 10 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天腹腔注射 D1, D8 i. p.
		-	OVA(2%)	第 15 天开始,每天雾化 1 次,每次 30 min,共 7 次 From D15, aerosol once a day, 30 min each time, for a total of 7 times

续表 1

大鼠品系 Rat strain	致敏原(批号) Allergen (Lot number)	致敏剂量 Sensitizing dose	佐剂 Adjuvant	造模方法 Modeling method
雄性 Wistar 大鼠 ^[14] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	10 mg	10 mg OVA 溶于 1 mL 含 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 10 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天皮下多点注射 D1, D8 s. c.
		-	OVA(1%)	第 18~36 天, 每次雾化 30 min, 隔日 1 次 From D18~D36, aerosol 30 min each time, once every two days
雄性 Wistar 大鼠 ^[15] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	1 mg	1 mg OVA 溶于 0.5 mL 含 200 μg Al(OH) ₃ 的磷酸盐缓冲盐水中 1 mg OVA in 200 μg Al(OH) ₃ in 0.5 mL PBS	第 0、7 天腹膜内注射 D0, D7 i. p.
		-	OVA(1%)	第 15~42 天, 每次雾化 30 min, 隔日 1 次 From D15~42, aerosol 30 min each time, once every two days
雄性 SD 大鼠 ^[16] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	1 mg	1 mg OVA 溶于 1 mL 含有 200 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 1 mg OVA in 200 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 0、8 天皮下注射 D0, D8 s. c.
		-	OVA(1%)	第 15 天开始, 每天雾化 1 次, 每次 60 min, 共 14 d From D15, aerosol once a day, 60 min each time, for a total of 14 days
雄性 SD 大鼠 Male SD rats ^[17]	卵清蛋白 OVA (A16951)	1 mg	1 mg OVA 溶于 1 mL 含有 30 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中+0.2 mL 0.0023%百日咳类毒素 1 mg OVA in 30 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline and 0.2 mL 0.0023% pertussis toxoid	第 1、8 天皮下注射致敏液和腹腔注射百日咳类毒素 D1, D8 OVA s. c. and pertussis toxoid i. p.
		-	OVA(1%)	第 15 天开始, 每天雾化 1 次, 每次 20 min, 共 7 d From D15, aerosol once a day, 20 min each time, for a total of 7 days
雄性 SD 大鼠 ^[18] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	1 mg	1 mg OVA 溶于 1 mL 含有 10 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 1 mg OVA in 10 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天腹腔注射 D1, 8 i. p.
		-	OVA(1%)	第 9~23 天, 每次雾化 30 min, 隔日 1 次 From D9~D23, aerosol 30 min each time, once every two days
雄性 Wistar 大鼠 ^[19] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	1 mg	1 mg OVA 溶于 1 mL 含有 200 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 1 mg OVA in 200 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天腹膜内注射 D1, 8 i. p.
		-	OVA(4%)	第 14 天开始, 每天雾化 1 次, 每次 5 min, 共 18 d From D14, aerosol once a day, 5 min each time, for a total of 18 days
雄性 SD 大鼠 ^[20] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A8041)	100 mg	100 mg OVA 溶于 1 mL 含 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 100 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天腹腔注射 D1, D8 i. p.
		-	OVA(5%)	第 15~20 天, 每天雾化 1 次, 每次 30 min From D15~D20, aerosol once a days, 30 min each time

续表 1

大鼠品系 Rat strain	致敏原(批号) Allergen (Lot number)	致敏剂量 Sensitizing dose	佐剂 Adjuvant	造模方法 Modeling method
雄性 SD 大鼠 ^[21] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	2 mg	2 mg OVA 溶于 1 mL 含有 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 2 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 0、5 天, 其中 0.5 mL 皮下注射, 剩下 0.5 mL 腹腔注射 D0, D5, 0.5 mL s. c. and 0.5 mL i. p. 第 14 天开始, 每天雾化 1 次, 每次 30 min, 共 7 d From D14, aerosol once a day, 30 min each time, 7 days
		-	OVA(1%)	第 1、5、8、12 天腹腔内注射 0.2 mL 致敏液, 第 15 天开始连续 7 d 鼻内滴注 20 μL 1% 的 OVA 加强致敏 Sensitizations were undertaken on D1, D5, D8 and D12 by intraperitoneal injection of 0.2 mL of alum-precipitated antigen, from D15, rats were administered (i. n.) 20 μL of 1% OVA diluted in PBS for 7 consecutive days 第 28~32 天, 每天雾化 1 次, 每次 30 min From D28~D32, aerosol once a days, 30 min each time
雄性 Wistar 大鼠 ^[22] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	10 μg	0.2 mL 致敏液含有 10 μg 的 OVA 和 1 mg 的 Al(OH) ₃ 10 μg OVA in 1 mg Al(OH) ₃ in 0.2 mL alum-precipitated antigen	第 0、7、14、21 天腹腔内注射 D0, D7, D14, D21 i. p.
		-	OVA(1%)	第 22~42 天开始, 隔日 1 次, 每次雾化 20 min From D22~D42, once every two days, aerosol 20 min each time
雄性 Wistar 大鼠 ^[23] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	1 mg	1 mg OVA 溶于 1 mL 含有 200 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 1 mg OVA in 200 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 1、8 天腹腔注射 D1, D8 i. p.
		-	OVA(1%)	第 15 天开始, 隔日 1 次, 每次雾化 30 min, 共 8 周 From D15, once every two days, aerosol 30 min each time, 8 weeks
雄性 SD 大鼠 ^[24] Male SD rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	1 mg	1 mg OVA 溶于 1 mL 含有 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 1 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 7、14、21 天腹腔注射 D7, D14, D21 i. p.
		-	OVA(1%)	第 23~39 天, 隔日 1 次, 每次雾化 30 min From D23~D39, once every two days, aerosol 30 min each time
雄性 Wistar 大鼠 ^[25] Male Wistar rats	卵清蛋白 OVA	20 μg	20 μg OVA 和 2 μg 脂多糖分别溶于 1 mL 含有 100 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中 20 μg OVA and 2 μg LPS in 100 mg Al(OH) ₃ in 1 mL saline	第 0 天腹腔注射, 第 7 天不加百日咳毒素后同剂量腹腔注射 D0 i. p., D7 i. p. without pertussis toxoid
		-	OVA(0.5%)+LPS(0.5%)	第 28 天内鼻内滴注 300 μL OVA 溶液 D28, 300 μL OVA i. n.
雌性 BN 大鼠 ^[26] Female Brown Norway rats	卵清蛋白 OVA (A5503)	50 μg	50 μg OVA 溶于 0.5 mL 含 20 mg Al(OH) ₃ 的生理盐水中+50 ng 的百日咳毒素 50 μg OVA in 20 mg Al(OH) ₃ in 0.5 mL saline + 50 ng pertussis toxoid	
		-	OVA(5%)	

2 大鼠品系

雄性 SD 大鼠和雄性 Wistar 大鼠是过敏性哮喘大鼠模型中最常用的品系,两种大鼠致敏后产生的迟发性过敏反应的时间与临床患者时间接近^[27]。其中雄性 SD 大鼠应用较多,可能与其可长时间耐受高浓度激发,从而出现典型的过敏性炎症反应有关^[28]。其中,也有文献^[26]提到的用雌性 BN 大鼠造模,并提出与前两种大鼠相比,过敏原致敏后的 BN 大鼠能更加容易的产生 IgE 反应,是研究过敏性哮喘最合适的大鼠品系,在国际上使用率越来越高。但较低的繁殖率和高昂的价格,在国内的使用率较少(表 2)。

3 造模方式

过敏性哮喘是一种环境与机体相互影响的疾病,其发病机制主要分为致敏即免疫记忆阶段和效应阶段两方面^[4]。免疫记忆阶段:当过敏原首次进入气道时,会被抗原提呈细胞(如树突状细胞)识别并把他们加工成小肽后与细胞膜表面的主要组织相容性复合体(MHC)II 类分子结合形成复合物,并通淋巴管向幼稚的 CD4⁺ Th 细胞提供过敏原成分,在存在 2 型细胞因子的情况下,产生过敏原特异性 Th2。由 Th2 细胞产生的 IL-4 可以促进 B 细胞成熟并分化为浆细胞,生成抗原 sIgE, sIgE 与肥大细胞表面的高亲和力 IgE 受体 FcεRI 结合,生成 IgE 抗体,

表 2 过敏性哮喘模型所用大鼠品系的频数及占比
Table 2 Frequency and proportion of rat strains used in allergic asthma models

大鼠品系 Rat strain	频数 Frequency	占比 Proportion
雄性 SD 大鼠 Male SD rats	9	50.0%
雄性 Wistar 大鼠 Male Wistar rats	8	44.4%
雌性 BN 大鼠 Female BN rats	1	5.6%

表 3 过敏性哮喘大鼠模型各致敏浓度的频数和占比

Table 3 Frequency and proportion of each sensitizing concentration in allergic asthma rat model

致敏浓度 Sensitizing Concentration	10 μg	20 μg	50 μg	1 mg	2 mg	10 mg	100 mg
产品 目录号 Catalog number	(A5503)	-	(A5503)	(A5503) (A16951)	(A5503)	(A5503) (A1125)	(A8041) (A5253)
频数 Frequency	1	1	1	7	2	3	3
占比 Proportion	5.6%	5.6%	5.6%	38.9%	11.1%	16.6%	16.6%

注: - 在文献中没有说明其所使用卵清蛋白的产家及批号。

Note: -, Producer and batch number of the ovalbumin used were not specified in the literature.

使机体致敏,其中部分增殖的效应 Th2 成为过敏原特异性记忆 T 淋巴细胞^[4]。效应阶段:当过敏原再次进入机体时,被血液内的 IgE 识别并结合,促使肥大细胞(Mast Cell, MC)脱颗粒,释放炎症介质产生早期过敏反应^[6,29],表现为血管扩张和支气管收缩等,导致支气管结构功能改变,形成急性哮喘症状^[30]。气道慢性炎症反应是效应阶段的延续,Th2 细胞向气道炎症部位迁移,在炎症部位受到过敏原攻击时,气道局部释放的趋化因子使 Th2 细胞释放 2 型细胞因子如 IL-4、IL-5、IL-13 等。IL-5 对促进组织嗜酸性粒细胞增多和肥大细胞增生至关重要,而 IL-13 可以刺激杯状细胞产生粘液并诱发气道高反应(Airway Hyper Reactivity, AHR)^[31]。故在过敏性哮喘动物模型的造模时,主要也分为两个阶段,分别是致敏期和激发期。

3.1 致敏期

卵清蛋白(OVA)是使用最多的致敏原^[32],主要分为单纯 OVA 和复合 OVA(含佐剂,主要包括 Al(OH)₃ 等)两大类,具有较强的抗原性和免疫原性。

3.1.1 致敏浓度

分析前文筛选的文献发现,所选文献中共出现了 7 种不同的 OVA 致敏浓度。在 7 种致敏浓度中,最常用的是将 1 mg OVA 溶于含有一定量佐剂(Al(OH)₃)中(7 篇,38.9%)。致敏浓度及频数见表 3。随后将所有文献中所提的 OVA 的产品目录号及所对应纯度进行检索并整理,发现在一定程度上,致敏浓度的选择与所选 OVA 的纯度有关,所以过敏性哮喘大鼠模型致敏期间所用的具体造模浓度的选择应根据自身所拥有 OVA 的纯度来决定。

3.1.2 致敏方法

致敏操作方法主要分为 3 种,分别是腹腔注射、皮下注射和皮下注射联合腹腔注射。见表 1。同时发现致敏时适当地使用特殊佐剂如脂多糖(LPS)^[25]或百日咳毒素^[17,26]可以有效的加强致敏效果。

表 4 过敏性哮喘大鼠模型评价指标
Table 4 Evaluation index of allergic asthma rat model

一般行为学观察 General behavioral observations	肺组织病理形态学观察 (HE 染色) Pathological observation of lung tissue (HE staining)	肺功能检测 Pulmonary function test	Th2 型细胞因子 Th2 cytokines	血清免疫球蛋白 IgE Serum immunoglobulin IgE	嗜酸性粒细胞浸润情况 Eos infiltration	参考文献 References
-	+	-	+	+	-	[9]
+	+	+	-	-	-	[10]
+	+	-	+	-	-	[11]
+	+	-	+	-	+	[12]
+	+	+	+	+	+	[13]
+	+	-	-	-	-	[14]
-	+	-	+	-	-	[15]
+	+	-	+	+	-	[16]
+	+	+	-	-	+	[17]
+	+	+	-	-	+	[18]
-	+	+	-	-	+	[19]
-	+	-	-	-	+	[20]
-	+	+	-	+	+	[21]
+	+	-	+	+	+	[22]
-	+	-	-	-	+	[23]
-	+	+	+	+	+	[24]
+	+	-	+	-	+	[25]
+	+	+	+	+	-	[26]

注：“+”：表示在文献中有提及与指标相关内容；“-”表示在文献中未提及。

Note. +, Indicates that there are references to indicators in the literature. -, Indicates that it is not mentioned in the literature.

3.2 激发期

最常用来激发哮喘的方式是通过 OVA 雾化激发, OVA 的浓度范围通常在 1%~5% 之间, 雾化次数在 7~14 次不等。也有文献^[26]提示可以通过鼻内滴注的方式来激发哮喘。有研究将相同致敏方式和致敏浓度的大鼠分别用同一浓度的 OVA 分别雾化激发 4 周和 8 周, 发现两组大鼠气道损伤情况虽然有些许差异, 但差异无统计学意义^[33]。

4 模型的评价指标

分析前文筛选的文献, 总结文献中关于造模后模型的评价指标主要包括: (1) 发作时一般行为学观察; (2) 肺组织病理形态学观察; (3) 肺功能检测; (4) Th2 型细胞因子; (5) 血清免疫球蛋白 IgE; (6) 炎性细胞浸润情况 (表 4)。

4.1 发作时一般行为学观察

过敏性哮喘大鼠模型哮喘发作期的典型症状

表现为造模期间频繁并持续的出现呼吸加快并伴有喘息、口唇黏膜发绀、腹肌痉挛、毛色暗淡并伴有竖起、抓耳挠腮等, 并随着激发次数的增多, 症状会加重且出现的频率逐渐增加。金禹彤等^[14]通过记录各组大鼠引喘潜伏期与发作总持续时间比较; 李潘营等^[13]通过雾化磷酸组胺和 2% 的氯化乙酰胆碱等量的混合液后, 从第 1 次喘息开始记录大鼠 2 min 内的喘息次数来对过敏性哮喘大鼠模型进行评价。

4.2 肺组织病理形态学观察 (HE 染色)

肺组织的病理形态学观察可以直观的反映在过敏性哮喘发病及持续过程中, 肺组织在炎性细胞的浸润下, 不断的损伤和修复后产生的病理结构性改变。在过敏性哮喘大鼠模型的肺组织 HE 染色中, 可以看到大鼠支气管周围会出现大量的炎性细胞浸润, 部分细支气管上皮坏死, 杯状细胞增生、肥大, 支气管壁增厚和肺泡严重变形等一系列表现。

4.3 Th2 型细胞因子

过敏性哮喘是一种由 2 型炎症反应介导的慢性肺损伤性炎症, Th2 细胞在 2 型炎症反应的启动、维持和增殖中发挥重要作用。当过敏原暴露并进入呼吸道时, 树突状细胞摄取这些过敏原并引导 Th2 细胞的增殖分化, 从而导致 Th2 型细胞因子如 IL-4、IL-5、IL-13 等的分泌增加。Th2 反应是 IgE 介导的致敏、气道高反应性 (AHR) 和嗜酸性粒细胞浸润的基础, 这些都是过敏性气道疾病的标志。

4.4 血清免疫球蛋白 IgE

IgE 在过敏性哮喘的发病过程起着非常重要的作用。Th2 细胞通过分泌 IL-4 和 IL-13 来激活 B 细胞的发育并分化成分泌 IgE 的浆细胞。分泌的 IgE 与肥大细胞 (MC) 表面的 FcεRI 受体结合。再次暴露于该抗原会导致 IgE 结合的 FcεRI 受体的交联化, 继而导致 MC 脱颗粒, 再次释放先前合成的细胞因子 (IL-4 和 IL-13) 导致气道炎症的进行性加重, 以及合成新的炎症介质 (如组胺、趋化因子和白三烯等)^[6,29]。MC 释放的炎症介质刺激其他炎症细胞以及结构内皮细胞、上皮细胞和平滑肌细胞, 导致支气管痉挛和黏液分泌增加, 诱发气道高反应性 (AHR), 加重过敏性哮喘的进程^[34]。

4.5 嗜酸性粒细胞浸润情况

Th2 细胞分泌的 IL-5 主要负责骨髓和组织中嗜酸性粒细胞的生成和激活。在过敏性哮喘患者的支气管肺组织中存在大量炎症细胞浸润^[35], 嗜酸性粒细胞是其关键的炎症细胞, 在过敏性哮喘的气道高反应性、粘液产生和重塑中都发挥重要作用。有研究表明通过促进 EOS 的凋亡, 可以有效减轻气道炎症, 从而达到缓解过敏性哮喘的目的^[36]。

4.6 肺功能检测

肺功能检测是诊断哮喘和评估哮喘控制程度的重要检查方法^[37]。最常用来进行哮喘模型肺功能检测的方式是肺功能气道反应性测试, 用梯度浓度的乙酰胆碱对哮喘模型进行激发并观察呼吸阻力情况。过敏性哮喘模型大鼠检测时可以发现, 各梯度乙酰胆碱激发模型组大鼠呼吸阻力较空白组升高明显 ($P < 0.01$)。同时, 李潘营等^[13]提出, 也可以通过氧合指数检测、肺通透指数等方面对过敏性哮喘大鼠的肺功能进行评价。

5 总结

随着过敏性哮喘动物模型的出现, 大大加快了

过敏性哮喘的研究进程, 但现有的哮喘模型仅能表现过敏性哮喘某特定阶段的部分病理表现。虽然至今还没有任何一种哮喘动物模型能完全概括人类过敏性哮喘的发生发展过程, 但是通过动物实验过程中构建过敏性哮喘动物模型, 能使我们更好的研究药物及其他治疗方法对过敏性哮喘机制的影响, 为实验结果应用于临床提供可靠帮助。本文对近 5 年来制作过敏性哮喘大鼠模型时所选用的常用大鼠品系、不同的致敏方式和致敏浓度, 以及部分评价造模成功时的指标进行了综合阐述, 为后续研究人员在制作过敏性哮喘大鼠模型时, 能更准确地选择大鼠品系以及试剂种类, 并以此选择合适的造模方式及造模成功的评价方式, 提供了有力支持, 并推进实验顺利开展。

参考文献:

- [1] Al-Azzam N, Elsalem L. Leukotriene D (4) role in allergic asthma pathogenesis from cellular and therapeutic perspectives [J]. *Life Sci*, 2020, 260: 118452.
- [2] Morianos I, Semitekolou M. Dendritic cells: critical regulators of allergic asthma [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 7930.
- [3] Theofani E, Semitekolou M, Morianos I, et al. Targeting NLRP3 inflammasome activation in severe asthma [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(10): 1615.
- [4] 中华医学会变态反应分会呼吸过敏学组, 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 中国过敏性哮喘诊治指南 (第一版, 2019 年) [J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(9): 636-655.
- [5] 李泳兴, 钟鸣, 王勇, 等. 常用哮喘动物模型的建立 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(11): 97-101.
- [6] 何婷, 钱佩瑶, 洪敏, 等. 诱发支气管哮喘动物模型气道重塑特征的方法和评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(1): 117-123.
- [7] Zosky GR, Sly PD. Animal models of asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(7): 973-988.
- [8] Kucharewicz I, Bodzenta-Lukaszyk A, Buczek W. Experimental asthma in rats [J]. *Pharmacol Rep*, 2008, 60(6): 783-788.
- [9] 王艳宏, 樊建, 栾宁, 等. 白芥子散及其拆方对过敏性哮喘大鼠 Ig-E、IL-4、IFN-γ 和 TNF-α 的影响 [J]. *中国药理学杂志*, 2019, 54(18): 1491-1496.
- [10] 李慧, 邢学勇, 王一新, 等. 基于 NF-κB/MAPK 信号通路研究鱼藤素对过敏性哮喘大鼠的作用机制 [J]. *中医学报*, 2021, 36(10): 2183-2187.
- [11] 华金双, 邵素菊, 王培育, 等. 逆针灸对过敏性哮喘大鼠血清 IL-2 含量及肺组织 GATA-3 蛋白表达的影响 [J]. *中医研究*, 2020, 33(5): 63-67.
- [12] 黄聪, 彭伟, 魏大能, 等. 清半夏多糖对过敏性哮喘模型大鼠肺组织 MUC5AC mRNA 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(22): 15-21.
- [13] 李潘营, 袁培培, 侯颖, 等. 葶苈子活性组分通过调控气道

- 炎症和上皮损伤改善过敏性哮喘大鼠肺通透性 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(4): 1009-1016.
- [14] 金禹彤, 吴凌韬, 陈姗, 等. 穴位贴敷对过敏性哮喘大鼠血清转化生长因子 $\beta 1$ 和尾加压素 II 的影响 [J]. 中医杂志, 2017, 58(22): 1957-1960.
- [15] Rajizadeh MA, Najafipour H, Samareh FM, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of myrtenol in the rats with allergic asthma [J]. Iran J Pharm Res, 2019, 18(3): 1488-1498.
- [16] Xiong Y, Hu S, Zhou H, et al. High-throughput 16S rDNA sequencing of the pulmonary microbiome of rats with allergic asthma [J]. Genes Dis, 2020, 7(2): 272-282.
- [17] 王铁柱. 从肠道菌群角度探讨温通方对过敏性哮喘大鼠的治疗作用 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [18] 赵叶. “三穴五针法”对过敏性支气管哮喘大鼠肺组织 MEK/ERK 通路的影响研究 [D]. 唐山: 华北理工大学, 2017.
- [19] Heiran H, Ahmadi M, Rahbarghazi R, et al. C-Kit⁺ progenitors restore rat asthmatic lung function by modulation of T-bet and GATA-3 expression [J]. Exp Physiol, 2020, 105(9): 1623-1633.
- [20] Song J, Zhu XM, Wei QY. MSCs reduce airway remodeling in the lungs of asthmatic rats through the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(21): 11199-11211.
- [21] Wang Y, Zhu H, Tong J, et al. Ligustrazine inhibits lung phosphodiesterase activity in a rat model of allergic asthma [J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022: 1-10.
- [22] Xie A, Song J, Lu S, et al. Influence of diet on the effect of the probiotic lactobacillus paracasei in rats suffering from allergic asthma [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 737622.
- [23] Liu Y, Zhang L, Ma T, et al. Feishu acupuncture inhibits acetylcholine synthesis and restores muscarinic acetylcholine receptor m2 expression in the lung when treating allergic asthma [J]. Inflammation, 2018, 41(3): 741-750.
- [24] Zhou J, Bai W, Liu Q, et al. Silencing of ADAM33 restrains proliferation and induces apoptosis of airway smooth muscle cells in ovalbumin-induced asthma model [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(2): 1435-1443.
- [25] Azman S, Sekar M, Wahidin S, et al. Embelin alleviates severe airway inflammation in ova-LPS-induced rat model of allergic asthma [J]. J Asthma Allergy, 2021, 14: 1511-1525.
- [26] Pérez M, Pérez-Cano FJ, Rodríguez-Lagunas MJ, et al. development and characterization of an allergic asthma rat model for interventional studies [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11): 3841.
- [27] 张睦涵, 朱振刚. 哮喘动物模型建立的研究进展 [J]. 实验动物科学, 2018, 35(4): 83-86.
- [28] 妥海燕, 王志旺, 任远, 等. 卵清白蛋白复制哮喘动物模型的方法及评价研究进展 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2016, 33(1): 71-74.
- [29] Giavina-Bianchi P, Aun MV, Takejima P, et al. United airway disease: current perspectives [J]. J Asthma Allergy, 2016, 9: 93-100.
- [30] Anto JM, Bousquet J, Akdis M, et al. Mechanisms of the development of allergy (MeDALL): introducing novel concepts in allergy phenotypes [J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 139(2): 388-399.
- [31] Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils [J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(2): S73-S80.
- [32] Khumalo J, Kirstein F, Scibiorek M, et al. Therapeutic and prophylactic deletion of IL-4Ra-signaling ameliorates established ovalbumin induced allergic asthma [J]. Allergy, 2020, 75(6): 1347-1360.
- [33] Liu F, Shang YX. Sirtuin 6 attenuates epithelial-mesenchymal transition by suppressing the TGF- $\beta 1$ /Smad3 pathway and c-Jun in asthma models [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 82: 106333.
- [34] Méndez-Enríquez E, Hallgren J. Mast cells and their progenitors in allergic asthma [J]. Front Immunol, 2019, 10: 821.
- [35] Oh J, Malter JS. Pin1-FADD interactions regulate Fas-mediated apoptosis in activated eosinophils [J]. J Immunol, 2013, 190(10): 4937-4945.
- [36] Yan Y, Bao H, Li C, et al. Wentong decoction cures allergic bronchial asthma by regulating the apoptosis imbalance of EOS [J]. Chin Med, 2018, 13(1): 1-11.
- [37] 郑凌霄, 于芬芳, 刘曼曼, 等. 哮喘小鼠动物模型的建立与评价 [J]. 热带病与寄生虫学, 2017, 15(4): 244-247.

[收稿日期]2022-05-19