

张抗抗,陈德晖. 非移植闭塞性细支气管炎动物模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(4): 114 - 119.

Zhang KK, Chen DH. Research progress on animal models of nontransplant bronchiolitis obliterans [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(4): 114 - 119.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 04. 021

非移植闭塞性细支气管炎动物模型研究进展

张抗抗¹, 陈德晖^{2*}

(1. 广州医科大学, 广州 510120; 2. 广州医科大学附属第一医院, 广州 510120)

【摘要】 闭塞性细支气管炎 (bronchiolitis obliterans, BO) 是一种小气道炎性损伤所致的慢性气流受限综合征, 病理主要表现为细支气管管腔部分或完全闭塞。BO 根据不同的病理表现类型可分为限制性细支气管炎和增殖性细支气管炎。良好的动物模型有助于阐明 BO 发病机制和探索新治疗方案; 不同造模方法所建立的 BO 动物模型均拥有各自的优势和局限性。本文就 BO 非移植动物模型的相关研究进展进行综述。

【关键词】 闭塞性细支气管炎; 非移植; 动物模型

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856(2019) 04-0114-06

Research progress on animal models of nontransplant bronchiolitis obliterans

ZHANG Kangkang¹, CHEN Dehui^{2*}

(1. Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China. 2. Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120)

【Abstract】 Bronchiolitis obliterans (BO) is a clinical syndrome characterized by chronic obstruction of the bronchioles. Pathologically, BO is characterized by partial or complete occlusion of the bronchioles. Pathological types include constrictive bronchiolitis and proliferative bronchiolitis. Ideal animal models have contributed to characterizing the pathogenesis of BO and exploring new therapeutic schedules. Animal models of BO have been established by different methods. These models each have their own advantages and limitations. This article reviews the recent progress in research on animals models of nontransplant BO.

【Keywords】 bronchiolitis obliterans; nontransplantation; animal model

闭塞性细支气管炎 (bronchiolitis obliterans, BO) 是一种小气道炎性损伤所致的慢性气流受限综合征, 病理主要表现为小于 2 mm 细支气管的部分或完全闭塞^[1-2]。BO 根据不同的病理表现类型可分为限制性细支气管炎和增殖性细支气管炎, 前者以细支气管管壁周围纤维化和瘢痕收缩引起管腔扭

曲和缩窄为特征性改变, 后者特点是息肉状的肉芽组织阻塞气道管腔。BO 病因复杂, 多见于移植后、感染、有毒物质吸入、药物诱发以及结缔组织病等。良好的动物模型有助于阐明 BO 的发病机制和探索新的治疗手段。目前已有较多 BO 动物模型报道, 其中移植后 BO 模型较为成熟, 近些年对于非移植

[基金项目] 国家自然科学基金 (81770063); 广东省社会发展领域科技计划项目 (2014A020212356); 广州市科技创新项目 (201504281719217); 呼吸疾病国家重点实验室开放课题 (SKLRD20160P005)。

[作者简介] 张抗抗 (1991—) 男, 硕士研究生, 研究方向: 儿童呼吸。E-mail: cicada91@126.com

[通信作者] 陈德晖 (1966—) 女, 教授, 硕士生导师。E-mail: cdh84@126.com

BO 模型的研究愈来愈增多。现就文献中 BO 模型的研究进展进行综述。

1 感染后 BO 模型

感染后 BO (post-infectious bronchitis obliterans, PIBO) 常见于腺病毒、麻疹病毒、支原体等感染,其中腺病毒最为常见,约 30%~60% 的 PIBO 为腺病毒感染后所致,以腺病毒 3、7、11、21 型居多^[3-4]。有认为腺病毒感染、住院超过 30 d、多灶性肺炎、需要机械通气和高碳酸血症是 PIBO 发生的独立危险因素^[5]。PIBO 最常见于儿童,重症肺炎或急性肺损伤患儿,常有气道上皮的严重脱落,机体过度迷行修复形成的增殖性狭窄或瘢痕性狭窄,这些患儿在反复发作数周至数年之后可形成 BO^[3-4]。

1985 年 Castleman^[6] 用犬腺病毒 2 型气管内感染幼犬,感染后第 15 天起可观察到较多细支气管有结缔组织增生,并在接种后第 15 天和 26 天时观察到细支气管管腔部分或完全闭塞,伴有弥漫性坏死性支气管炎。犬腺病毒 2 型气管内感染模型所诱导的病变在严重程度与腺病毒感染的重症肺炎患儿所致 PIBO 的病理改变较为相似,病毒诱发炎症反应和组织损伤导致了后续细支气管狭窄的发生。通过腺病毒感染幼犬诱发闭塞性细支气管炎,可作为病毒性细支气管炎和腺病毒诱导的 PIBO 实验模型,其较好地反映了病毒感染所致 PIBO 形成的病理生理过程,与临床儿童 PIBO 致病机制相近。但该模型缺点亦很明显,因涉及到使用大型动物,资源耗费较大,动物的稀缺性和经济成本可阻碍了造模实验研究的拓展,且病理改变多为坏死性细支气管炎,典型的 BO 样改变较少,在病灶分布上与临床不符,尚未能完全准确地反映人 PIBO 临床与病理经过。Philippou 等^[7] 通过使用牛呼吸道合胞病毒 (bovine respiratory syncytial virus, BRSV) 溶液气雾剂让牛连续雾化吸入 4 d,小牛成功感染 BRSV 病毒株,并证实 BRSV 感染 12 周后,出现了部分 BO 样的改变。研究发现感染后病毒 P 蛋白持续至少 12 周,同时伴有持续的气道高反应性,提示下呼吸道的形态学变化与病毒 P 蛋白的持续存在可能是持续气道高反应性的原因。该模型虽然成功复制了多灶性 BO 样病变,但仅呈现了呼吸道轻微病变,反映了感染早期阶段病理变化;其结果可能与不同病毒株的亚型、毒力不同及对不同物种敏感性不同相关。该研究的感染途径与鼻内和/或气管内滴入病

原体相比,更符合人体感染的天然途径,雾化吸入法能模拟病原微生物正常的入侵途径,但难以控制雾化吸入感染源到达动物气道内致病的剂量,其影响了模型的稳定性;而且雾化吸入对实验室、实验设备及实验人员要求较高。

Masot 等^[8] 报道了气管内接种牛呼吸道合胞病毒的羊产生了部分闭塞性细支气管炎病变,造模第 15 天后,细支气管管腔出现了不同程度的闭塞及由巨噬细胞、淋巴细胞浸润入腔内引起的肺泡萎陷病灶。此外, Darniot 等^[9] 通过经鼻部注入偏肺病毒 (human metapneumovirus, hMPV) 感染年幼和老年的 BALB/c 小鼠,年幼的和老年小鼠均出现机化性肺炎 (bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, BOOP),但老年小鼠比 hMPV 感染小鼠更敏感,病变处出现大量 CD4+ 淋巴细胞的浸润。

PIBO 感染模型目前多应用于大动物,实验成本高,较难进行大规模实验,缺乏实验操作的可重复性,影响了实验的广泛开展,但实验的病理结果比较接近于人类 PIBO 的病变过程。PIBO 小动物模型由于病毒感染毒力与亲和力等原因,经呼吸道感染的鼠 PIBO 模型更多出现的是肺炎样肺实质病变,典型 PIBO 病理改变少见,尚有待日后完善和探索。

2 化学损伤 BO 模型

氯、氨、异氰酸甲酯、芥子气和二乙酰等各种有毒化学物质的吸入亦是 BO 发生的主要原因之一^[10-11],有报道从事微波爆米花制作、尼龙制作、油漆、电池制造工人的 BO 发病率高于正常人^[12-15]。O' Koren 等^[16] 提出,基底细胞丢失后上皮持续剥离的区域可能会倾向于气道纤维化的发展,吸入有毒物质诱发 BO 的动物模型中,几乎都有气道上皮细胞的损伤,因此气道上皮细胞的损伤可能是 BO 发病机制中的关键因素。

2.1 硝酸损伤模型

最初由 Moran 和 Hellstrom 描述的硝酸 (nitric acid, NA) 模型是一种廉价、快速和安全的家兔 BO 模型^[17],是目前应用于非移植 BO 最常用的模型。Coalson 和 Collins 将 NA 模型应用于仓鼠,也成功制备了 BO 模型^[18]。造模的动物细支气管闭塞性病变持续存在,且病变部位胶原蛋白和弹性蛋白含量明显增加。NA 诱导的 BO 在兔和仓鼠中的形态、病理病变,与腺病毒模型相似。

Costa 等^[19]采用给大鼠气管滴注硝酸的方式进行 BO 造模,肺部病变部位均出现了增殖性和限制性细支气管病变,第 7~14 天时可观察到增殖型的气道狭窄数量减少,限制性气道狭窄增加。该模型最终可获得 BO 晚期异常的病理改变,细支气管壁及周围纤维化与管腔扭曲变形,增殖性病变明显阻塞气道。此外,该模型中组织病理病变发生经过与 Castleman 所制备的腺病毒感染后 PIBO 模型相似。

腺病毒诱导的犬 BO 模型组织学改变与硝酸气管滴注所致 BO 损伤程度相似,且其病灶分布更加接近临床,提示 NA 诱导的 BO 也是研究 BO 的合适模型,与感染诱导的 BO 模型相比,硝酸诱导 BO 模型所使用的大鼠易于处理,并可使用数种抗体来研究该物种中炎症与修复过程。此外,大鼠易发生持续性气道病变。因此,大鼠 BO 模型可提供更多的信息来解释在急性和严重损伤后产生慢性支气管病变的病理过程。但其采用的是成年大鼠,与临床儿童发病年龄不符;且该造模的死亡率相对较高,约 15%~35%^[19]。

Winternitz 等^[20]使用类似的硝酸滴注方法在家兔中制备了 BO 模型。使用不同浓度和剂量的硝酸支气管内滴注有不同程度的肺泡实质损伤。随着浓度增高,死亡率也随之升高。因此硝酸诱导的 BO 造模条件较难把握。尹嘉宁等^[21]通过雾化吸入 10%硝酸溶液成功构建小鼠 BO 模型,造模 1 周时 BALF 中炎性细胞明显增加,6 周时 BALF 中炎性细胞较 1 周时减少;肺组织 HE 染色可见 3~7 d 时支气管周围大量炎性细胞浸润;1~4 周逐渐出现气道上皮细胞增生,气道壁结构破坏,平滑肌增生,管壁增厚,管腔缩窄;6 周时支气管周围出现纤维化。

Garippo 等^[22]则使用更为简单的硝酸(NA)鼻腔滴注,8 周后病理表现为细支气管管腔变形,上皮层折叠,末端细支气管和终末动脉管腔内径减少或完全闭塞,以及支气管和血管壁厚度增加;模型中气道内免疫细胞弥漫性浸润、淋巴滤泡形成和胶原纤维密度显著增高。随后 Garippo 等^[23]又使用泼尼松和胶原蛋白 V 处理硝酸滴鼻制备的 BO 模型,结果可明显逆转支气管血管轴结构的改变并能减少胶原沉积和支气管血管轴周围的免疫细胞浸润;这一结果表明对于激素耐药的 BO 患者,胶原蛋白可成为一种替代的治疗策略。该模型探究了 BO 发展中重构过程的作用及可能的治疗方法,证实与激素

干预相比,鼻部 V 型胶原蛋白耐受(nasal collagen V tolerance)可逆转 BO 支气管和血管轴的重构。以上研究为 BO 病程中的细胞外基质重塑过程和血管重构过程提供了基础数据。

Mink 等^[24]使用 1%的硝酸溶液滴入犬的气道制备闭塞性细支气管炎犬模型。研究结果显示外周气道阻力稍有增加,闭合容积明显增加,肺活量 50%的瞬时流速(V50)明显降低,而 FEV 指标、动态肺顺应性等并无明显改变;细支气管和周围的肺泡结构均有纤维化改变。因此推测,当基础肺功能正常时,提早检测闭合容积、50%肺活量的变化可能有助于及早发现疾病。

2.2 酮类损伤模型

丁二酮(diacetyl, DA)是食品香料载体主要挥发性成分之一,从事微波爆米花包装和调味品生产的工人暴露于含有 2,3-丁二酮的人造黄油调味蒸气后可诊断出与 BO 相一致的阻塞性肺病^[12],亦被称为“爆米花肺”。

Palmer 等^[10]在气管内滴注 DA 成功制备 BO 模型,气管滴注 DA 7 d 后,肺功能测定提示大鼠的气道阻力明显增加,肺顺应性明显降低,免疫组化显示气道上皮细胞丢失和修复,伴有气道畸形修复,符合气道纤维化和 BO 组织病理学特征;推测 BO 的特征在于上皮修复功能的失调与正常的气道细胞组成丢失。此外,研究结果亦表明 BO 涉及腱生蛋白-C(tenascin C)的异常基质沉积,且局限于气道纤维化部位。随后 Morgan 等^[25-26]进一步证实,吸入丁二酮或与相关的化学调味剂如 2,3-戊二酮同样可出现类似于人类 BO 的气道损伤。李松等^[27]通过气管内滴丁二酮成功制备小鼠 BO 模型,气管内滴注 7 d 后,小鼠气道高反应性增高,基底细胞严重坏死,气道上皮细胞虽附着于基底,但可见细胞明显增生肥大,细胞核丢失严重,管腔内炎性细胞浸润,管壁增厚,管腔严重闭塞。

Flake 等^[28]同样用丁二酮制备出 BO 各阶段的病理学表现,推测气道上皮的多次损伤和基底膜的破坏是丁二酮诱导的 BO 发病机理中的重要一步,上皮和基底膜的坏死和脱落暴露了其下的结缔组织,经反复化学刺激导致纤维组织增生异常修复;纤维化可发生在气道壁内或气道腔内,导致气道弹性降低,管腔通气量降低和气道阻力的增加。丁二酮等造模相比较于硝酸,其能明显缩短 BO 病变出现的时间,缩短造模时间和成本,且病理表现典型,

肺功能与临床 BO 结果相似,其是 BO 模型的一种简单、快捷、稳定的方法。

3 药物损伤 BO 模型

1995 年,台湾爆发因食入含有大量罂粟碱的未煮熟守宫木(*Sauropus androgynus*)叶子而引起的 BO^[29]。尽管 Lai 等未能通过喂食或注射从植物提取的汁液诱导出大鼠 BO^[30]。Svetlecic 等^[31]却通过在气管内植入半渗透泵装置将罂粟碱泵入小气道的方法制备 BO 样病变。7 d 后,支气管粘膜下层和固有层的淋巴细胞簇浸润并向支气管腔突出;7~28 d 血清中 TGF- β 显著升高,28 d 后,炎症发展为支气管壁和脉管系统的纤维化。随后比较罂粟碱诱导 BO 模型和原位气管移植后 BO 模型的细胞因子谱,显示两个模型中 TGF- β 、一氧化氮合酶(iNOS)、IFN- γ 均明显升高;在罂粟碱诱导模型中支气管肺灌洗液中骨桥蛋白早期即升高,而移植后 BO 模型中升高较晚,因此推测 BO 病理可能是由不同的触发过程诱发的终点^[31]。

4 吸入性损伤 BO 模型

Koren 等^[16]报道了一种小鼠氯气吸入后的 BO 模型,其有增殖性气道闭塞的损伤改变,且随着浓度升高,病变发生也更加迅速。在这些闭塞性气道病变发展期间发生的细胞改变包括上皮细胞死亡、上皮细胞畸形再生、炎性细胞浸润、成纤维细胞浸润、胶原沉积和血管生成,最终在 10 d 内出现致命性气道阻塞改变;BO 病变仅在有毒气体暴露的条件下和基底细胞丢失的区域内发生;而在没有基底细胞丢失的区域不会发生上皮再生;上皮剥脱区域持续存在,由此引发异常修复过程,导致闭塞性气道损伤。实验结果表明,无论损伤因素如何,上皮前体细胞的丧失可能是导致 BO 发展的关键因素。随后 Musah 等^[32]报道了一种家兔氯气吸入模型,其可以评估氯气吸入的急性和持续性影响。氯暴露 7 d 后的肺组织学显示小气道炎症和散发性闭塞性细支气管炎病变。相对于 BO 的其他模型,氯气吸入模型相对简单,不需要手术,重复性高,并且在 10~12 d 内导致气道几乎完全闭塞。暴露于氯气诱导一系列病变清晰的病理变化,这将能够更详细地分析从基底细胞丢失发展成气道阻塞过程单个细胞和分子改变。该模型将有助于阐明增殖性 BO 的病理生理学经过以及探讨该疾病的潜在治疗方法。

但采用有毒气体吸入方式构建非移植后 BO 模型的研究,操作过程不易掌控,容易对研究人员健康带来威胁,对实验室要求较高,一般实验室难以开展。

5 移植相关的基因修饰 BO 模型

基因修饰动物是指应用基因工程技术将动物基因组特定定位点的遗传物质引入新遗传信息、对基因进行敲除、替换等最终获得某种或某些新的遗传性状,并且这种基因修饰可以遗传给后代。*Rag*^{-/-} *γ c*^{-/-}(NRG)小鼠因缺乏功能性 B、T 或 NK 细胞,对单个核细胞移植反应典型等特点,可用于研究各淋巴细胞亚型在 BO 进展中的作用。Sommer 等研究表明 *rag*^{-/-} *γ c*^{-/-}(NRG)小鼠增加 CD4+CD25 细胞可明显降低排斥反应,保持上皮细胞层完整性,同时减少气道腔内阻塞的程度^[33]。Kawakami 等用 *Rag-1* 基因敲出小鼠模型研究 NK 细胞所介导的 BO 的病变过程,发现组织中 NK 细胞的减少可减轻气道腔内的阻塞;同时研究发现异位气管移植 *Rae-1* 转基因小鼠相较于野生型小鼠能明显更加明显的淋巴细胞浸润和管腔内的闭塞和破坏^[34]。HIF-1 α 既可以调节骨髓细胞增殖、运动,同时也参与树突状细胞、肥大细胞、上皮细胞等细胞的固有免疫过程。Jussi 等研究发现 *HIF-1 α* 基因敲出小鼠异位气管移植后可加速 BO 气道阻塞程度的进展,即使使用 T 淋巴细胞阻滞剂,也没法改善气道阻塞^[35]。

6 展望

目前,关于非移植 BO 动物模型的构建并不十分成熟。在造模方式上,气管给药难度较大,滴鼻较简单,雾化则对于仪器和药物的要求较高。雾化更符合人体感染的天然途径,雾化吸入法能模拟病原微生物正常的入侵途径,故其可作为 PIBO 和某些挥发性物质吸入导致的 BO 的模型制备方式。气管内给药更加符合误吸、误食等 BO 发病过程。既往对于闭塞性细支气管炎的动物模型,曾选用的狗、牛、羊等大型动物,虽可以对其实施较为复杂的操作,但饲养困难,成本较高,操作复杂,且不易获得很多研究所需的目标抗体。理想的 BO 动物模型应该成本相对廉价、快速且安全,肺功能有明显的气流受限,同时限制性和增殖性典型病变部位应更多的集中于细支气管等小气道。近些年对于大小鼠的尝试,使得造模成本降低,虽然感染模型的典型 BO 病变较少,但硝酸等化学损伤模型经不断改

进使得模型稳定性得以提高。大小鼠以其与人类具有高度同源性,在目前不断成熟的基因工程技术条件下可获得多种基因编辑,且易于获得抗体,有望成为未来精准的基因和分子研究的热门。目前基因修饰 BO 模型主要为移植后的 BO 模型,非移植 BO 模型尚无报道,因此,进一步完善建立 BO 模型对 BO 机制的研究具有重要意义。

参考文献:

- [1] Schlesinger C, Meyer CA, Veeraraghavan S, et al. Constrictive (obliterative) bronchiolitis: diagnosis, etiology, and a critical review of the literature[J]. *Ann Diagn Pathol*, 1998, 2(5): 321-334.
- [2] Shaw RJ, Djukanovic R, Tashkin DP, et al. The role of small airways in lung disease[J]. *Respir Med*, 2002, 96(2): 67-80.
- [3] Chang AB, Masel JP, Masters B. Post-infectious bronchiolitis obliterans: clinical, radiological and pulmonary function sequelae[J]. *Pediatr Radiol*, 1998, 28(1): 23-29.
- [4] Kim CK, Kim SW, Kim JS, et al. Bronchiolitis obliterans in the 1990s in Korea and the United States[J]. *Chest*, 2001, 120(4): 1101-1106.
- [5] Lobo AL, Guardiano M, Nunes T, et al. Post-infectious bronchiolitis obliterans in children[J]. *Rev Port Pneumol*, 2007, 13(4): 495-509.
- [6] Castleman WL. Bronchiolitis obliterans and pneumonia induced in young dogs by experimental adenovirus infection[J]. *Am J Pathol*, 1985, 119(3): 495-504.
- [7] Philippou S, Otto P, Reinhold P, et al. Respiratory syncytial virus-induced chronic bronchiolitis in experimentally infected calves[J]. *Virchows Arch*, 2000, 436(6): 617-621.
- [8] Masot AJ, Gazquez A, Regodon S, et al. Lesions in lambs experimentally infected with bovine respiratory syncytial virus[J]. *Histol Histopathol*, 1995, 10(1): 71-77.
- [9] Darniot M, Pitoiset C, Petrella T, et al. Age-associated aggravation of clinical disease after primary metapneumovirus infection of BALB/c mice[J]. *J Virol*, 2009, 83(7): 3323-3332.
- [10] Palmer SM, Flake GP, Kelly FL, et al. Severe airway epithelial injury, aberrant repair and bronchiolitis obliterans develops after diacetyl instillation in rats[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17644.
- [11] Boswell RT, McCunney RJ. Bronchiolitis obliterans from exposure to incinerator fly ash[J]. *J Occup Environ Med*, 1995, 37(7): 850-855.
- [12] Kreiss K, Gomaa A, Kullman G, et al. Clinical bronchiolitis obliterans in workers at a microwave-popcorn plant[J]. *New Engl J Med*, 2002, 347(5): 330-338.
- [13] Boag AH, Colby TV, Fraire AE, et al. The pathology of interstitial lung disease in nylon flock workers[J]. *Am J Surg Pathol*, 1999, 23(12): 1539-1545.
- [14] Romero S, Hernandez L, Gil J, et al. Organizing pneumonia in textile printing workers: a clinical description[J]. *Eur Respir J*, 1998, 11(2): 265-271.
- [15] Konichezky S, Schattner A, Ezri T, et al. Thionyl-chloride-induced lung injury and bronchiolitis obliterans[J]. *Chest*, 1993, 104(3): 971-973.
- [16] O' Koren EG, Hogan BLM, Gunn MD. Loss of basal cells precedes bronchiolitis obliterans-like pathological changes in a murine model of chlorine gas inhalation[J]. *Am J Resp Cell Molec Biol*, 2013, 49(5): 788-797.
- [17] Moran TJ, Hellstrom HR. Bronchiolitis obliterans: an experimental study of the pathogenesis and the use of cortisone in modification of the lesions[J]. *AMA Arch Pathol*, 1958, 66(6): 691-707.
- [18] Coalson JJ, Collins JF. Nitric acid-induced injury in the hamster lung[J]. *Br J Exp Pathol*, 1985, 66(2): 205-215.
- [19] Costa CL, Spilborghs GM, Martins MA, et al. Nitric acid-induced bronchiolitis in rats mimics childhood bronchiolitis obliterans[J]. *Respiration*, 2005, 72(6): 642-649.
- [20] Winternitz MC, Smith GH, Mcnamara FP. Effect of intrabronchial insufflation of acid[J]. *J Exp Med*, 1920, 32(2): 199-204.
- [21] 尹嘉宁, 黄飞, 具杨花, 等. 硝酸吸入闭塞性细支气管炎小鼠模型的建立和评价[J]. *国际呼吸杂志*, 2016(10): 726-729.
- [22] Garippo AL, Parra ER, Teodoro WR, et al. Immune cell infiltration and broncovascular remodeling after nitric acid nasal instillation in a mouse bronchiolitis obliterans model[J]. *Lung*, 2006, 184(4): 229-238.
- [23] Garippo A, Parra E, Teodoro W, et al. Nasal tolerance with collagen V protein reverts bronchovascular axis remodeling in experimental bronchiolitis obliterans[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2007, 62(4): 499-506.
- [24] Mink SN, Coalson JJ, Whitley L, et al. Pulmonary function tests in the detection of small airway obstruction in a canine model of bronchiolitis obliterans[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1984, 130(6): 1125-1133.
- [25] Morgan DL, Jokinen MP, Price HC, et al. Bronchial and bronchiolar fibrosis in rats exposed to 2,3-pentanedione vapors: implications for bronchiolitis obliterans in humans[J]. *Toxicol Pathol*, 2012, 40(3): 448-465.
- [26] Morgan DL, Jokinen MP, Johnson CL, et al. Chemical reactivity and respiratory toxicity of the alpha-diketone flavoring agents: 2, 3-butanedione, 2, 3-pentanedione, and 2, 3-hexanedione[J]. *Toxicol Pathol*, 2016, 44(5): 763-783.
- [27] 李松, 张素倩, 邹琳, 等. 闭塞性细支气管炎小鼠模型的建立与评价[J]. *第三军医大学学报*, 2014(22): 2283-2286.
- [28] Flake GP, Morgan DL. Pathology of diacetyl and 2, 3-pentanedione airway lesions in a rat model of obliterative bronchiolitis[J]. *Toxicology*, 2017, 388: 40-47.
- [29] Lai RS, Chiang AA, Wu MT, et al. Outbreak of bronchiolitis obliterans associated with consumption of Sauropus androgynus in Taiwan[J]. *Lancet*, 1996, 348(9020): 83-85.
- [30] Lai RS, Wang JS, Lee PC. Sauropus androgynus and papaverine

do not induce bronchiolitis obliterans in Sprague-Dawley rats[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei), 2000, 63(7): 536-541.

[31] Svetlecic J, Molteni A, Chen Y, et al. Transplant-related bronchiolitis obliterans (BOS) demonstrates unique cytokine profiles compared to toxicant-induced BOS[J]. Exp Mol Pathol, 2005, 79(3): 198-205.

[32] Musah S, Schlueter CF, Humphrey DJ, et al. Acute lung injury and persistent small airway disease in a rabbit model of chlorine inhalation[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2017, 315: 1-11.

[33] Sommer W, Knofel AK, Madrahimov N, et al. Allogeneic CD4+ CD25high T cells regulate obliterative bronchiolitis of heterotopic bronchus allografts in both porcine and humanized mouse models[J]. 2015, 99(3): 482-491.

[34] Kawakami T, Ito K, Matsuda Y, et al. Cytotoxicity of natural killer cells activated through NKG2D contributes to the development of bronchiolitis obliterans in a murine heterotopic tracheal transplant model [J]. Am J Transplant, 2017, 17(9): 2338-2349.

[35] Ropponen JO, Keranen MA, Raissadati A, et al. Increased myeloid cell hypoxia-inducible factor-1 delays obliterative airway disease in the mouse [J]. J Heart Lung Transplant, 2016, 35(5): 671-678.

[收稿日期] 2018-09-06

(上接第 113 页)

特征定期进行遗传检测,其中近交系动物应保持遗传均质性和基因单态性,封闭群动物应保持遗传异质性和基因多态性并保证近交系数每代上升不超过 1%。第四,动物生产单位应建立规范的活体保种和冷冻保种体系,防止种源发生遗传质量事故。

3 结语

实验动物遗传质量是保障实验动物生产和动物实验结果可靠性的重要因素,但在实际工作中由于动物遗传质量问题产生的效果延迟和难于发现等原因,使实验动物的遗传质量问题长期存在。另外,实验动物生产管理者和实验动物使用者每当谈到实验动物的质量时,更多地重视实验动物的微生物学和寄生虫学质量,往往忽略遗传质量问题。实际上遗传质量与微生物质量一样都会对实验动物产生重要影响,遗传质量控制某种程度上甚至比微生物质量控制更重要。实验动物遗传质量问题不但导致动物生产群体的质量下降,而且也是动物实验结果无法重复的重要原因^[5]。实验动物专业技术人员培训和实验动物教学过程中培养学生实验动物遗传质量控制的意识是十分必要的。在培训

和教学过程中通过理论和实例的讲解,强化对实验动物遗传质量控制重要性的认识,培养他们善于发现实验动物遗传质量问题,找出问题的根源,提出解决问题的办法。

参考文献:

[1] 左宝芬,杜小燕,霍学云等.五个 C57BL/6J 小鼠生产群的微卫星检测及遗传学质量分析[J]. 实验动物与比较医学. 2012, 32(1): 51-55.

[2] da Silva Franchi CA, Bacchi MM, Padovani CR, et al. Thymic lymphomas in Wistar rats exposed to N-methyl-N-nitrosourea (MNU) [J]. Cancer Sci, 2003, 94(3): 240-243.

[3] Uhlik MT, Liu J, Falcon BL, et al. Stromal-based signatures for the classification of gastric cancer [J]. Cancer Res, 2016, 76(9): 2573-2586.

[4] 蔡武卫. 实验动物遗传质控制及其意义[J]. 海峡预防医学杂志. 1997, 3(3): 68-69.

[5] Lilue J, Doran AG, Fiddes IT, et al. Multiple laboratory mouse reference genomes define strain specific haplotypes and novel functional loci [J]. Nat Genet, 2018, 50(11): 1574-1583.

[收稿日期] 2018-10-29