

王思齐,包凯帆,王晓钰,等. 抗生素呼吸道给药加重小鼠过敏性哮喘模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 37-43.

Wang SQ, Bao KF, Wang XY, et al. Establishment of an allergic asthma model in mice using antibiotics administered via the respiratory tract [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 37-43.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.08.006

抗生素呼吸道给药加重小鼠过敏性哮喘模型的建立

王思齐,包凯帆,王晓钰,王霄彤,袁为远,姚露,许一凡,洪敏*

(南京中医药大学药学院,江苏省中药药效与安全性评价重点实验室,科技部国家规范化中药药理实验室,南京 210023)

【摘要】目的 中医药通过调节菌群治疗疾病的机制逐渐被发现,探索建立抗生素造成呼吸道菌群紊乱的哮喘模型,以期研究中医药对呼吸道菌群及哮喘的作用提供合适的模型。**方法** 40只SPF级雄性BALB/c小鼠随机分为以下4组:正常对照组、哮喘模型组、滴鼻抗生素哮喘模型组、腹腔注射给予抗生素哮喘模型组。采用屋尘螨(house dust mite, HDM)建立哮喘模型,分别通过滴鼻或腹腔注射给予抗生素头孢哌酮舒巴坦钠(cefoperazone sulbactam sodium, CFP),观察抗生素对HDM诱导的小鼠哮喘的影响。24d后小鼠眼眶取血,对各组小鼠的哮喘指标:血中嗜酸性粒细胞(eosinophils, EOS)进行计数,检测血清中IgE水平,小鼠肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)及肺组织匀浆中TH2型细胞因子IL-5和IL-13水平,小鼠肺组织进行HE、Masson、PAS染色,观察病理组织学变化。**结果** 在哮喘模型组小鼠血中EOS、血清中IgE、BALF及肺组织匀浆中IL-5和IL-13水平较空白组显著升高($P<0.05$),滴鼻给予抗生素组较哮喘模型组有更明显的上升($P<0.05$),病理组织学观察也发现滴鼻给予抗生素造模组的炎症浸润、细胞外基质沉积及粘液分泌都更为严重,而腹腔注射抗生素组的相关哮喘指标较模型组无显著变化。**结论** 利用抗生素头孢哌酮舒巴坦钠滴鼻给予小鼠能加重HDM诱导的小鼠哮喘,提示呼吸道给予抗生素可能会导致呼吸道菌群紊乱进而加重哮喘的发生,此模型可以作为不具备饲养GF小鼠的条件下研究中医药调节呼吸道菌群与哮喘的工具。

【关键词】 过敏性哮喘;抗生素;屋尘螨;呼吸道菌群

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019)08-0037-07

Establishment of an allergic asthma model in mice using antibiotics administered via the respiratory tract

WANG Siqi, BAO Kaifan, WANG Xiaoyu, WANG Xiaotong, YUAN Weiyuan, YAO Lu, XU Yifan, HONG Min*

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, National Standard Laboratory of Pharmacology for Chinese Material Medica, Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Material Medica, Nanjing 210023, China)

【Abstract】 Objective The research of traditional Chinese medicine has gradually revealed a mechanism for treating disease by regulating the microflora. The aim of this study is to establish an asthmatic mouse model with airway

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(81473395);江苏省自然科学基金资助项目(BK20141466);江苏省儿童呼吸疾病(中医药)重点实验室资助项目(JKLPRD201405);江苏高校优势学科建设工程资助项目;江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(KYCX18_1625)。

【作者简介】 王思齐(1994—),女,南京中医药大学硕士研究生,研究方向为中药药理学。E-mail:13260870088@163.com

【通信作者】 洪敏(1972—),女,教授,博士生导师,主要从事中药免疫调节机制研究。E-mail: hongmin72@126.com

microbial dysbiosis to provide a suitable model for studying the effects of Chinese medicine on respiratory flora and asthma.

Methods Forty BALB/c mice were randomly assigned into the control, house dust mite (HDM) asthma model, asthma model with intranasal administration of cefoperazone sulbactam sodium (CFP; *i.n.* CFP+HDM) and asthma model with intraperitoneal injection of CFP (*i.p.* CFP+HDM) groups. The *i.n.* CFP+HDM group and the *i.p.* CFP+HDM group were established to observe the effect of antibiotics on HDM-induced asthma in mice. After 24 d of model establishment, eosinophils (EOS) in the peripheral blood (PB) of the mice were counted. Serum IgE, TH2 cytokines in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and in the lung homogenates were analyzed by ELISA. Pulmonary pathological changes were observed using hematoxylin and eosin, periodic acid-Schiff and Masson staining. **Results** In contrast with the control mice, EOS in the PB, serum IgE, TH2 cytokines in the BALF and lung homogenates in the HDM group were significantly increased ($P < 0.05$), while these changes in the *i.n.* CFP+HDM and *i.p.* CFP+HDM groups were more significantly pronounced than those in the HDM group ($P < 0.05$). Similarly, the pathological observation showed more severe asthmatic changes in the *i.n.* CFP+HDM mice, but the pathology of the *i.p.* CFP+HDM group did not significantly differ from that of the model group. **Conclusions** Intranasally administered high-dose antibiotics, cefoperazone sulbactam sodium, aggravated HDM-induced asthma in mice, suggesting that administering antibiotics via the airway may disturb the airway microbiome and aggravate asthma occurrence. This model can be used to study Chinese medicine as a method of regulating airway microbiomes of asthma in germ-free mice.

【Keywords】 asthma; antibiotics; house dust mite; respiratory microbiome; mice

据世界卫生组织 (WHO) 调查,全世界范围约有 4 亿人患有过敏性鼻炎,3 亿人患有过敏性哮喘,每年平均有超过 18 万人因哮喘而死亡^[1],这一数据每年有上升的趋势,哮喘已成为世界医学界公认为四大疾病之一。过敏性哮喘属 II 型免疫反应导致的疾病,以 II 型细胞因子 (IL-4, IL-5, IL-9 和 IL-13 等) 的产生为主要特征。虽然遗传因素等自身免疫力等因素在哮喘等过敏性疾病的病因学中发挥重要作用^[2],生活方式的改变是影响哮喘发病率的重要原因,尤其是抗生素的滥用被越来越多的研究者认为是导致哮喘发病率逐年上升的元凶之一^[3]。

近年来发现菌群失调在哮喘的病理过程中起重要作用, Durack 等^[4]通过研究发现健康人和哮喘患者呼吸道菌群之间存在显著差异,哮喘患者呼吸道有大量致病菌的产生和益生菌的减少。Marri 等^[5]对 10 名健康人和 10 名患有哮喘的人的研究发现,哮喘患者的痰液样本中包含更丰富的变形菌门,而厚壁菌门丰度较低。中医药治疗哮喘有良好的临床疗效,刘家齐^[6]等发现芍药苷对哮喘模型小鼠气道炎症趋化因子 CCL19 /CCL21 及其受体 CCR7 具有显著的抑制作用从而起到拮抗哮喘的作用。任佳羽等^[7]发现越婢加半夏汤可降低过敏性哮喘小鼠血清中 IgE 水平并提高小鼠肺组织抗氧化能力。中医药对哮喘的作用也可能与调节呼吸道菌群密切相关^[8],但目前缺乏合适的呼吸道菌群紊乱的动物哮喘模型,使得药物机制研究变得困难。研究表明抗生素可以造成菌群紊乱,倪科等^[9]对小

鼠使用广谱抗生素头孢哌酮可引起其咽部优势菌群清除并对其咽部炎症有所影响;徐星澈等^[10]通过研究发现在大鼠生命早期使用头孢雾化可使其上呼吸道菌群紊乱。本研究采用滴鼻和腹腔注射两种方式给予抗生素并利用屋尘螨 (HDM) 研究哪种给药方式会加重哮喘的发生,以建立合适的研究中药与呼吸道菌群与哮喘之间关系的小鼠模型。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 6~8 周龄雄性 BALB/c 小鼠,40 只,体重 18~22 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司南京分公司 [SCXK (苏) 2016-0003]。小鼠接到后经过紫外消毒,饲养于南京中医药大学实验动物中心 4 楼 GLP 中心屏障环境中 [SYXK (苏) 2014-0001]。室温:22℃~26℃,湿度:50%~60%,小鼠自由进食进水,实验中所有动物操作均严格遵守《实验动物管理与使用指南》,所有实验经南京中医药大学伦理委员会审批,审批号:ACU170403,实验整体以“3R 原则”为基本原则,并给予动物人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器

注射用头孢哌酮舒巴坦钠 (Efoperazone sulbactam sodium for injection), 国药集团致君 (深圳) 制药有限公司,货号: H20050275,批号: K160101; 屋尘螨 (house dust mite, HDM, dermatophagoides pteronyssinus), 美国 Greer

Laboratory, 货号: XPB70D3A25, 批号: 32278; 嗜酸性粒细胞直接计数液 (EOS 计数液), 南京建成科技有限公司所, 批号: 20170605; 过碘酸-雪夫染色 (PAS) 染液, 南京建成科技有限公司, 货号: D004; Masson 染液, 南京建成科技有限公司, 批号: 20161031。BCA 蛋白定量试剂盒, 翼飞雪生物科技有限公司, 货号: YWB002; Mouse IgE ELISA Kit, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, 批号: 156530014; Mouse IL-5 Uncoated ELISA Kit, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, 批号: 179815002; Mouse IL-13 Uncoated ELISA Kit, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, 批号: 177134001。

精密电子天平, 德国 Sartorius 公司; 电子天平, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; 冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; ; Mantra, 日本 Olympus 公司; 包埋仪, 德国 Leica 公司; 光学显微镜, 江南光电 (南京) 仪器股份有限公司; 切片机, 德国 Leica 公司; 恒温水浴槽, 美国 Crystal 公司; BioStack Ready 酶标仪, 美国 Bio-Tek 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 抗生素的配置及换算

抗生素头孢哌酮舒巴坦钠临床成人用量为 1 ~ 2 g/d, 按临床最大剂量 2 g/d, 经小鼠体表面积换算系数 0.0026 计算, 得到小鼠临床等效剂量为 0.26 g/kg, 腹腔注射 0.1 mL/10 g, 滴鼻每只 20 μ L。

1.3.2 分组

按体重分层法将 40 只雄性 BALB/c 小鼠随机分为 4 组, 即正常对照组 (Control)、哮喘模型组 (HDM)、滴鼻抗生素哮喘模型组 (*i.n.* CFP+HDM)、腹腔注射抗生素哮喘模型组 (*i.p.* CFP+HDM), 每组 10 只。

1.3.3 小鼠哮喘造模方法^[11]

(一)哮喘模型造模方法: 第 0、7、14 天, 腹腔注射 HDM 50 μ g (0.1 mL, 0.5 mg/mL, PBS), 第 21 ~ 23 天, 每天 1 次滴鼻 HDM 25 μ g (10 μ L, 2.5 mg/mL, PBS), 最后一次滴鼻激发后 24 h, 取材。

(二)*i.n.* CFP+HDM 及 *i.p.* CFP+HDM 造模方法:

(1)滴鼻抗生素哮喘模型组在哮喘造模的基础上, 自腹腔注射 HDM 后于第 1、3、5 天滴鼻给予小鼠头孢哌酮, 每只 20 μ L, 第 7 天致敏后于第 12 天滴鼻给药, 第 14 天 HDM 致敏后于第 15、17、19 天

滴鼻给予小鼠头孢哌酮, 20 μ L, 每天上午给药, 小鼠自由进食进水。正常对照组用等量生理盐水处理, 在 HDM 最后一次滴鼻激发后 24 h, 取材。

(2)腹腔注射抗生素哮喘模型组在哮喘模型的基础上腹腔注射头孢哌酮 (0.1 mL/10 g), 自 HDM 攻击后, 第 1、2、3 天, 连续 3 d 给药, 每天 1 次, 自由饮食; 第 7 天致敏后于第 12 天腹腔注射, 第 14 天致敏后在第 15、16、17 天腹腔给予头孢哌酮。正常对照组用等量生理盐水处理, 在 HDM 最后一次滴鼻激发后 24 h, 对小鼠进行取材。

1.3.4 大剂量抗生素加重小鼠哮喘造模成功指标检测^[12]

(一)病理组织学检查

实验第 24 天小鼠脱颈椎处死后, 取约 1/4 肺组织, 用 4% 甲醛进行固定, 用石蜡进行包埋之后切片, 再按说明书和实验流程进行常规 HE 染色、PAS 染色及 Masson 染色, 所有的切片均用多模式组织切片成像系统 (Mantra) 进行图像采集。

HE 染色: 将包埋好的石蜡肺组织进行组织脱水、白片复水脱蜡、染色, 最后用中性树胶 (显微镜用) 封片。

Masson 染色: 切片同 HE 脱蜡复水处理, 之后按试剂盒中的说明书步骤操作, 进行染色。

PAS 染色: 新鲜的肺组织用 Carnoy 固定液固定, 按说明书进行 PAS 染色。

(二)小鼠血中 Eosnophils (EOS) 计数及血清中 IgE 检测

4 组小鼠在最后一次 HDM 滴鼻 24 h 后, 用眼眦取血法, 取小鼠静脉血, 将 20 μ L 的血与试管中提前加好的 380 μ L 的嗜酸性粒细胞计数液混匀, 在显微镜下计数。剩余约 800 μ L 的血液静置 1 h 后, 3500 r/min 离心 10 min, 上清液按照 ELISA 试剂盒操作步骤测 IgE。

(三)小鼠 BALF (bronchoalveolar lavage fluid) 及肺组织中 II 型细胞因子检测及 BALF 中总细胞数计数

HDM 最后一次激发 24 h 后, 即实验第 24 天, 小鼠脱颈椎处死, 仰卧位体位固定, 打开胸腔, 结扎右肺叶, 对左肺叶进行灌洗^[13]。分离小鼠气管周围的组织等, 使小鼠的气管充分暴露, 用医疗棉线固定灌洗针头进行气管插管。用 300 μ L 的冰 PBS 进行灌洗, 每次反复灌洗 3 次, 合并灌洗液, 1000 r/min, 4 $^{\circ}$ C, 离心 3 min, 保存上清, 待 ELISA 试剂盒

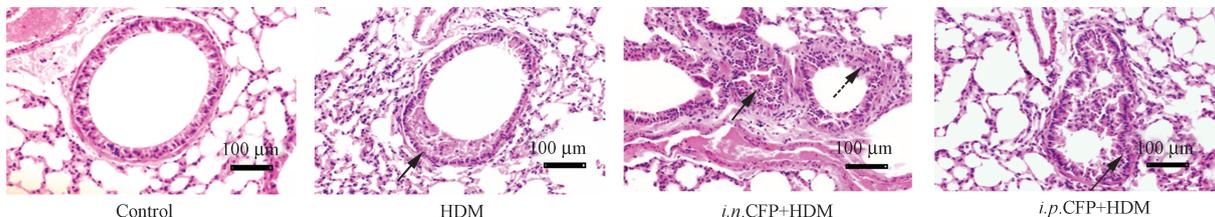
检测 IL-13 及 IL-5 水平。BALF 沉淀细胞用 500 μL 的冰 PBS 进行重悬,吹打均匀后取 20 μL ,用细胞计数板计其中的总细胞数。将结扎部分肺组织剪下,取适量肺组织按 10 mg:100 μL 冰 PBS 的比例进行研磨组织,12 000 r/min,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,弃去沉淀,留存上清,ELISA 试剂盒检测肺组织中的 IL-5 及 IL-13 水平。

1.4 统计学方法

全文数据以平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,应用 GraphPad Prism 5.0 统计软件,运用 Dunnett 检验方法进行组间比较,one-way ANOVA 的分析方法比较各组之间的差异,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗生素两种给药方式对 HDM 诱导哮喘模型小鼠小鼠肺部病理变化

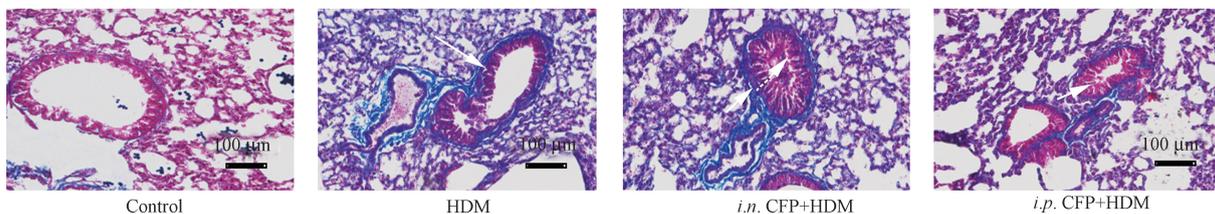


注:图中实线箭头所指为炎症细胞,虚线箭头所指的为增厚并发生重塑的支气管上皮细胞。

图 1 小鼠肺组织及气道结构的变化。HE 染色观察小鼠肺组织炎症浸润

Note. The solid line arrows indicate inflammatory cells and the dotted line arrows indicate thickened and remodeled bronchial epithelial cells.

Figure 1 Histopathological changes and inflammatory infiltration in the mouse lung and respiratory tract tissues. HE staining.



注:图中实线箭头所指蓝紫色为基质沉积,虚线箭头所指的为增厚的支气管上皮细胞。

图 2 小鼠肺组织的 Masson 染色实验结果($n=10$)

Note. The blue-purple arrows on the solid line indicate extracellular matrix and the dotted arrows indicate thickened bronchial epithelial cells.

Figure 2 Histological changes of the mouse lung tissues of control, HDM, *i.n.CFP+HDM* and *i.p.CFP+HDM* groups. Masson staining.

2.1.3 小鼠气道黏液分泌情况

对 4 组小鼠肺组织作 PAS 染色,考察抗生素两种给药方式(*i.n.CFP*, *i.p.CFP*)对哮喘小鼠气道粘液分泌的影响。结果显示,HDM 组较空白组已出现了粘液分泌增多,而与 HDM 组相比,*i.n.CFP+HDM* 组小鼠气道粘液分泌更加严重,但 *i.p.CFP+HDM* 组气道粘液分泌较 HDM 组变化并不明显。见图 3。

2.1.1 小鼠肺组织炎症浸润

对四组小鼠肺组织进行 HE 染色,发现与空白组相比 HDM 造模后的小鼠表现出炎症浸润与粘液过度分泌且伴随着支气管壁的增厚;*i.n.CFP+HDM* 组较 HDM 组炎症浸润更加严重,有气道重塑的趋势,而 *i.p.CFP+HDM* 组与 HDM 组相比并没有更加严重的炎症浸润的发生,但也较空白组有明显的炎症浸润发生。见图 1。

2.1.2 小鼠细胞外基质沉积的影响

对哮喘小鼠肺组织做 Masson 染色,考察抗生素两种给药方式(*i.n.CFP*, *i.p.CFP*)对哮喘小鼠气道细胞外基质沉积的影响。结果显示,与空白组相比,HDM 组已出现了明显的呼吸道外基质沉积,而 *i.n.CFP+HDM* 组会使小鼠气道细胞外基质沉积更加严重,但 *i.p.CFP+HDM* 组较 HDM 组未有显著加重的趋势。见图 2。

2.2 抗生素处理对 HDM 诱导哮喘模型小鼠体重、血清 IgE、血中 Eos、BALF 总细胞数的影响

哮喘小鼠的体质量与空白组小鼠相比在 d24 有明显下降,而 *i.n.CFP+HDM* 组及 *i.p.CFP+HDM* 小鼠的体质量自造模开始就呈下降趋势(图 4B);哮喘小鼠血清中 IgE(图 4A)、BALF 中总细胞数(图 4C)及血中的嗜酸性粒细胞数(图 4D)水平较空白

组均显著升高($P < 0.05, P < 0.01$), *i.n.* CFP+HDM 组及 *i.p.* CFP+HDM 组小鼠血清中 IgE (图 4 A)、BALF 中总细胞数 (图 4C) 及血中的嗜酸性粒细胞数 (图 4D) 水平较空白组也显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 其中 *i.n.* CFP+HDM 组 IgE 水平较哮喘模型组有显著升高 ($P < 0.01$), 见图 4。

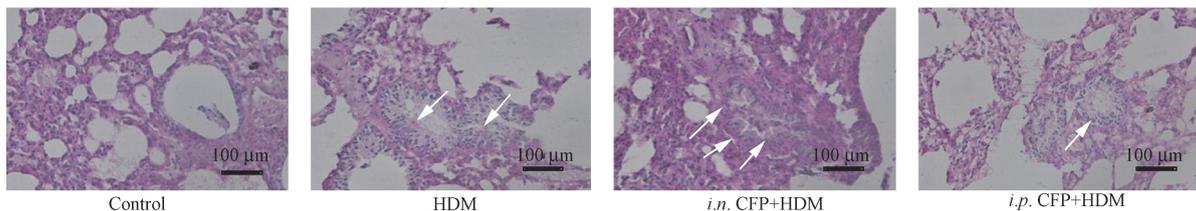
2.3 抗生素两种给药方式对 HDM 诱导哮喘模型小鼠 BALF 及肺部 II 型细胞因子的影响

i.n. CFP+HDM 组中小鼠 BALF 及肺组织匀浆中的 IL-5、IL-13 与空白组相比有显著差异 ($P < 0.05, P$

< 0.01), 与 HDM 哮喘模型组相比也有显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); 而 *i.p.* CFP+HDM 组小鼠 BALF 中 IL-5、IL-13 水平虽然较空白组升高明显 ($P < 0.05$), 但 BALF 及肺组织匀浆中的 TH2 细胞因子指标较 HDM 组未见明显差异。提示滴鼻抗生素组能明显增加 HDM 哮喘小鼠的 II 型细胞因子分泌。见图 5。

3 讨论

哮喘是一种以 TH2 细胞因子表达水平增加为特征的慢性呼吸道炎症性疾病。呼吸道是与外界

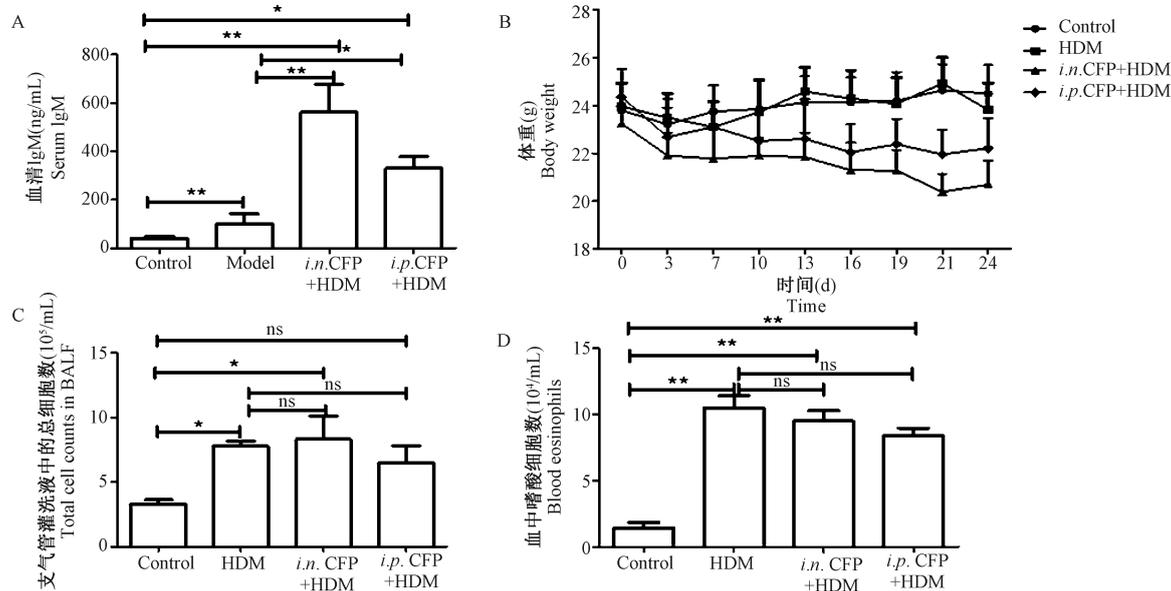


注:图中实线箭头所指粉红色为分泌的粘液。

图 3 小鼠肺组织的 PAS 染色实验结果 ($n = 10$)

Note. The solid arrow in the figure indicates that pink is secreted mucus.

Figure 3 Histological changes in the mouse lung tissues of control, HDM, *i.n.* CFP+HDM and *i.p.* CFP+HDM groups, and then assessed by image analysis. Periodic acid-Schiff (PAS) staining.



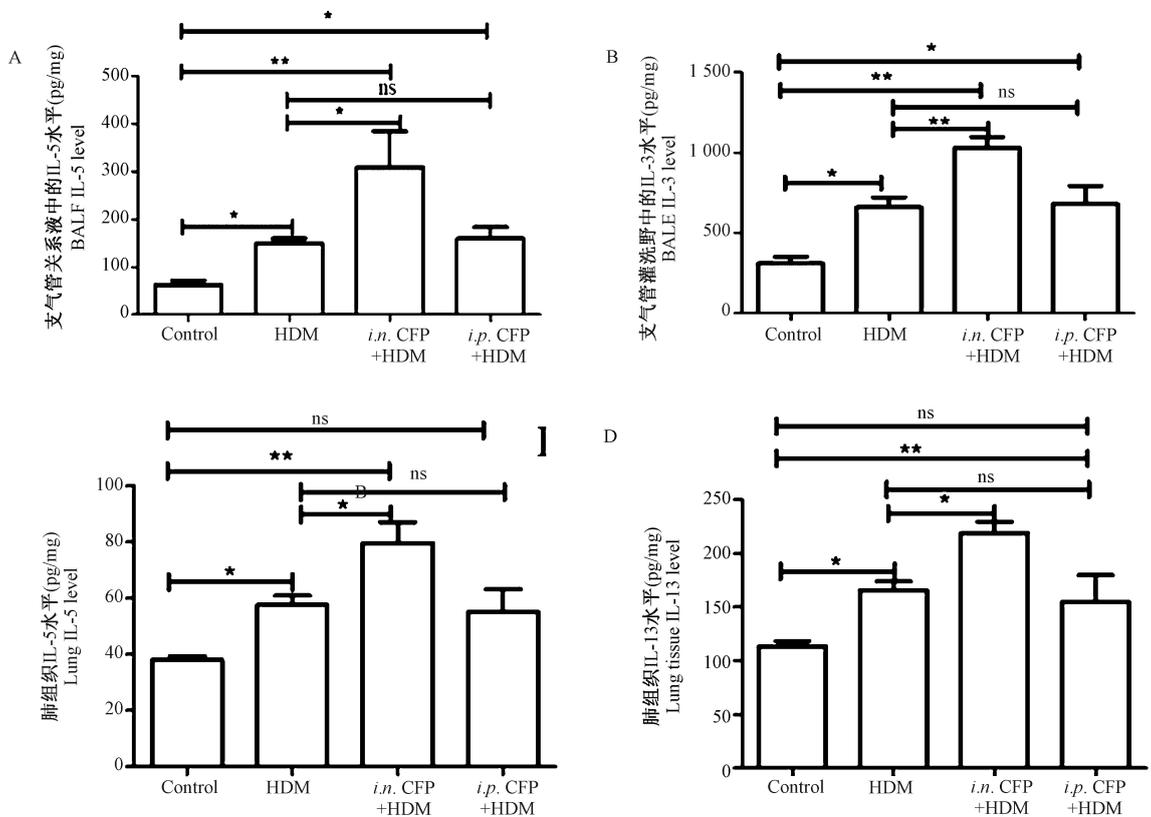
注:A 为小鼠血清中 IgE 水平,B 为各组小鼠体重变化,C 为小鼠 BALF 中总细胞数,D 为小鼠血中 EOS 数目,与 *i.n.* CFP+HDM 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 4 滴鼻给予抗生素及腹腔注射给予抗生素对哮喘模型小鼠 A. 血清中 IgE 水平的影响;

B. 小鼠体重变化趋势;C. BALF 中总细胞数;D. 血中 EOS 数量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Note. A, IgE in serum. B, Trends of changes in body weight. C, Total cell counts in BALF. D, Blood eosinophil counts. Compared with the *i.n.* CFP +HDM group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Effects of *i.n* CFP and *i.p* CFP on the four parameters in HDM-induced asthmatic mice. A, IgE in serum; B, Trends of changes in body weight. C, Total cell counts in BALF;D, Blood eosinophil counts.



注:与 *i.n.* CFP+HDM 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 5 抗生素两种给药方式对 HDM 诱导哮喘模型小鼠细胞因子分泌水平的影响(A) BALF 中的 IL-5; (B) BALF 中的 IL-13; (C) 肺匀浆中的 IL-5; (D) 肺匀浆中的 IL-13 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Note. Compared with the *i.n.* CFP+HDM group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 5 Effects of *i.n.* CFP and *i.p.* CFP on the secretion of cytokines in the mice with asthma induced by HDM. A. IL-5 in BALF. B. IL-13 in BALF. C. IL-5 in lung tissue homogenate. D. IL-13 in lung tissue homogenate.

空气接触最为频繁的器官,随着测序技术的发展,对于呼吸道菌群的认知从呼吸道无菌发展至呼吸道菌群与呼吸道疾病相关,Bassis 等^[14]认为在健康人下呼吸道中菌群的定殖是来源于上呼吸道的;Khalkhali 等^[15]证实在儿童生命早期使用抗炎药或抗生素治疗等或在特殊环境下会增加哮喘的发生风险,提示呼吸道菌群失调与哮喘密切相关^[16-17]。虽然有研究表明呼吸道菌群与呼吸道疾病密切相关,一些药物也通过调控菌群发挥作用,但是缺乏合适的动物模型,无法进行深入的机制研究,因此本研究的目的是探索建立合适的模型,为研究呼吸道微生物与呼吸道疾病之间的联系及机制提供基础。

本研究以课题组前期已建立的哮喘模型为基础,并以临床研究为实验参考^[18],探索建立了滴鼻给予抗生素头孢哌酮舒巴坦钠和腹腔注射给予抗生素头孢哌酮舒巴坦钠两种给药方式,观察抗生素对哮喘模型的影响。由 HDM 诱导的哮喘有两个最

典型的特征,其一表现为外周血中的嗜酸性粒细胞的显著升高、血清中 IgE 的异常^[19],其二表现为 IL-4、IL-5、IL-13 为代表的 TH2 型细胞因子的表达明显上升^[20]。本研究结果表明,在通过滴鼻给予抗生素后,可以发现血中 EOS 和血清 IgE 水平较空白组及 HDM 哮喘模型组均有所升高,肺组织及 BALF 中 TH2 细胞因子分泌也明显增加,HE、Masson、PAS 染色结果表明滴鼻给予抗生素哮喘小鼠相较于哮喘组有明显的气道炎症浸润,黏液过度分泌及胶原沉积,过敏性炎症加重,而腹腔注射给予抗生素未见明显加重哮喘模型的作用。提示由 HDM 诱导的哮喘模型小鼠已经出现了的过敏性炎症及气道的病理组织学改变,滴鼻给予抗生素造成的小鼠哮喘更加严重,而综合文献提示抗生素加重哮喘的发生很有可能是通过使呼吸道菌群紊乱而造成的。一般来说,研究呼吸道菌群在呼吸系统疾病中的作用,利用 GF 小鼠是最佳的,但普通的实验室大多并不具备饲养 GF 小鼠的无菌实验室,并且 GF 小鼠并

不符合人类机体的内环境状态,无法达到研究条件一致性,因此利用抗生素滴鼻给予 SPF 哮喘小鼠,并饲养在适宜的环境下,可以模拟健康人和哮喘患者的菌群生存状态,这可以为之后研究药物调节呼吸道菌群与哮喘提供一个合适的模型。

参考文献:

[1] Pawankar Ruby CGW, Holgate Stephen T. White Book on Allergy: Update 2013. [R]. 2013: World Allergy Organization. 2013.

[2] Schedel M, Michel S, Gaertner VD, et al. Polymorphisms related to ORMDL3 are associated with asthma susceptibility, alterations in transcriptional regulation of ORMDL3, and changes in TH2 cytokine levels [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015. 136(4): 893-903.

[3] Slater M, Rivett DW, Williams L, et al. The impact of azithromycin therapy on the airway microbiota in asthma [J]. *Thorax*, 2014,69(7): 673-674.

[4] Durack J, Lynch S, Nariya S, et al. Features of the bronchial bacterial microbiome associated with atopy, asthma, and responsiveness to inhaled corticosteroid treatment [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017. 140(1): 63-75.

[5] Marri PR, Stern DA, Wright AL, et al. Asthma-associated differences in microbial composition of induced sputum [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013. 131(2): 346-352.

[6] 刘家齐,赵正晓,魏颖等. 芍药苷对哮喘模型小鼠气道炎症趋化因子及受体的干预作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2016, 24(5): 460-464.

[7] 任佳羽,杨贵方,胡松岩,等. 越婢加半夏汤降低过敏性哮喘小鼠的血清 IgE 和升高肺组织中 SOD 的活力 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(9): 18-21.

[8] 陈滢,姚政,赵文娟,等. 玉屏风散对上呼吸道菌群失调小鼠咽部 ICAM 表达的影响 [J]. *云南中医学院学报*, 2013, 36(4): 9-12.

[9] 倪科,臧娜,谢晓红,等. 应用抗生素清除咽部菌群对 RSV 感染后小鼠肺部 CD11c⁺细胞的影响 [J]. *免疫学杂志*, 2011, 27(12): 1033-1037,1042.

[10] 徐星澈,袁晓鹏,唐立,等. 不同抗生素对大鼠上呼吸道菌群

定植影响的研究 [J]. *中国微生态学杂志*, 2015, 27(3): 253-255.

[11] Fredriksson K, Fielhaber JA, Lam JK, et al. Paradoxical effects of rapamycin on experimental house dust mite-induced asthma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): 33984.

[12] Lu Y, Xu JY, Zhang XH, et al. Gu-Ben-Fang-Xiao decoction attenuates sustained airway inflammation by suppressing ER stress response in a murine asthma remission model of respiratory syncytial virus infection [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016,192: 496-509.

[13] 姚茹,张锐虎,王丽,等. 小鼠支气管肺泡灌洗液术的改进 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(11): 80-83.

[14] Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals [J]. *MBio*, 2015, 6(2): e00037.

[15] Khalkhali HR, Oshnoui S, Salarilak S, et al. Effects of antibiotic consumption on children 2-8 years of age developing asthma [J]. *Epidemiol Health*, 2014, 36: 2014006.

[16] Chung, KF. Airway microbial dysbiosis in asthmatic patients: A target for prevention and treatment? [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(4): 1071-1081.

[17] Huang YJ, Nariya S, Harris JM, et al. The airway microbiome in patients with severe asthma: Associations with disease features and severity [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(4): 874-884.

[18] Zeissig S, Blumberg RS. Life at the beginning: perturbation of the microbiota by antibiotics in early life and its role in health and disease [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(4): 307-310.

[19] Weheba IM, Abdelsayed AM, Arnaout RK, et al. Anti-IgE therapy for asthma: an audit at a tertiary care centre in Saudi Arabia [J]. *Ann Saudi Med*, 2018, 38(6): 439-444.

[20] Chen Z, Wang L. Ovalbumin induces natural killer cells to secrete Th2 cytokines IL5 and IL13 in a mouse model of asthma [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4): 3210-3216.

[收稿日期]2019-03-01