

孙昂然,刘嘉豪,陈星君,等. 胆酸诱导急性肺损伤小鼠模型的建立和评价 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 293-300.
Sun AR, Liu JH, Chen XJ, et al. Establishment and evaluation of a mouse model of acute lung injury induced by cholic acid [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(3): 293-300.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.03.003

胆酸诱导急性肺损伤小鼠模型的建立和评价

孙昂然¹,刘嘉豪¹,陈星君¹,李梦春¹,文成刚²,高敏³,胡章雪^{1*}

(1. 陆军军医大学大坪医院,重庆 400042; 2. 96961 部队卫生队,北京 102206;
3. 陆军军医大学基础医学院生物化学与分子生物教研室,重庆 400038)

【摘要】 目的 构建胆酸诱导急性肺损伤(ALI)的小鼠模型,筛选给药方式,探讨胆酸致肺损伤的可行性。

方法 按照给药方法 × 药物(3 × 3)析因设计分组小鼠,给药方法包括气管切开、鼻滴 1 d 和鼻滴 6 d,药物为胆酸及其溶解对照 DMSO 和空白对照 PBS,故共计 9 组小鼠。给药期间监测体重变化,给药结束后对胸部行 X 线平片检查、组织学观察肺组织的病理学变化、取动脉血分析血氧分压(PO₂),ELISA 法检测肺组织中肿瘤坏死因子(TNF-α)和白介素 1β(IL-1β)的含量。结果 气管切开再灌注胆酸组的 X 线平片呈现肺组织弥散性浸润,肺大体样本有明显的出血表现,组织学病理显示出大量的炎细胞浸润和肺泡壁增厚,血氧分压降低,TNF-α 和 IL-1β 显著高于其它各组。鼻滴 1 d 胆酸组和鼻滴 6 d 胆酸组的各指标较变化不及气管切开再灌注胆酸组。结论 气管切开并灌注胆酸可以成功构建小鼠急性肺损伤模型。

【关键词】 急性肺损伤;胆酸;血氧分压;TNF-α;IL-1β

【中图分类号】Q95-33 【文献标识码】A 【文章编号】1005-4847(2021) 03-0293-08

Establishment and evaluation of a mouse model of acute lung injury induced by cholic acid

SUN Angran¹, LIU Jiahao¹, CHEN Xingjun¹, LI Mengchun¹, WEN Chenggang², GAO Min³, HU Zhangxue^{1*}

(1. Pediatrics Department of Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China.

2. No. 96961 Army Health Company, Beijing 102206. 3. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Army Medical University, Chongqing 400038)

Corresponding author: HU Zhangxue. E-mail: huzx1@163.com

【Abstract】 **Objective** To construct an acute lung injury mouse model induced by cholic acid with intratracheal instillation or intranasal infusion, and to screen the perfusion method and verify the feasibility of bile acid-induced lung injury. **Methods** Mice were grouped according to the factorial design of administration method × drug (3 × 3). The administration method included tracheotomy, nasal drops for 1 day, and nasal drops for 6 days. Animals were administered either cholic acid, DMSO, or PBS; in total, there were nine groups of mice. During the administration period, body weight changes were monitored. After administration, chest X-ray examination was performed, histological observation of the pathological changes of the lung tissue was carried out, arterial blood was taken to analyze the partial pressure of oxygen (PO₂), and ELISA was used to detect tumor necrosis in the lung tissue, as demonstrated by tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin 1β (IL-1β) expression. **Results** The X-ray result of the intratracheal instillation and reperfusion cholic acid group showed diffuse infiltration of lung tissue. Gross lung samples showed obvious hemorrhage,

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(81571474),重庆市自然科学基金一般项目(cstc2017jcyjAX0017)。
Funded by the General Program of National Natural Science Foundation of China(81571474), General Project of Chongqing Natural Science Foundation(cstc2017jcyjAX0017)。
【作者简介】孙昂然(1988—),男,主治医师,硕士,研究方向:新生儿急性肺损伤。Email:sar2007@163.com
【通信作者】胡章雪(1979—),男,副主任医师,博士生导师,研究方向:新生儿急性肺损伤。Email:huzx1@163.com

while histopathology showed a large amount of inflammatory cell infiltration and alveolar wall thickening. Blood oxygen partial pressure was decreased, and TNF- α and IL-1 β were significantly higher than in the other groups. The indexes of the cholic acid group after 1 day of intranasal infusion and 6 days of intranasal infusion were not as good as those in the cholic acid group after intratracheal instillation and reperfusion. **Conclusions** The acute lung injury model can be successfully constructed by intratracheal instillation of cholic acid.

[Keywords] acute lung injury; cholic acid; blood partial pressure of oxygen; TNF- α ; IL-1 β
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

胎儿将胎粪污染的羊水误吸入肺所引起的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是新生儿重症研究的一个重要问题^[1],然而胎粪中的重要成分胆酸,是否在 ALI 中发挥关键作用,尚无直接证据。胆酸作为一种重要的致炎因子^[2],主要用于重症胰腺炎动物模型的构建^[3],但能否诱导动物的肺损伤,尚无报道。本实验旨在利用胆酸构建小鼠的肺损伤模型,为探究胆酸诱发新生儿肺损伤的分子机制提供基础和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

54 只 6 ~ 8 周 C57BL/6 清洁级野生型小鼠。雄鼠 18 只,体重 (26.0 $\pm$ 1.8) g;雌鼠 36 只,体重 (19.3 $\pm$ 2.4) g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司【SCXK(京)2019-0010】。饲喂设施由陆军特色医学中心提供【SYXK(军)2017-0057】,饲养条件:(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,昼夜各半循环照明,自由采食饮水,饲养 7 d 后开始实验。所有操作均符合陆军军医大学实验动物福利伦理审查委员会伦理学要求(审批号:AMUWEC 20201510)。

1.1.2 主要试剂与仪器

胆酸(Sigama, CAS: 81-25-4); DMSO 溶液(Solarbio, CAS: D8371); PBS 溶液(Hyclone, CAS:

SH30256.01); 4% 多聚甲醛固定液(碧云天, CAS: P0099); HE 染色剂(碧云天, CAS: C0105); 鼠 TNF- α ELISA 试剂盒(碧云天, CAS: PT512); 鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(碧云天, CAS: PI301); 血气分析测试卡片(Abbott Point of Care Inc, CAS: 03P88-25)。

小动物 X 光机(faxitron X-ray, MX-20, 美国); 手术器械(碧云天); 电子天平(北京赛多利斯)。

1.2 方法

1.2.1 药品制备

胆酸以 DMSO 溶解,再用 PBS 稀释,使其终浓度为 5 mmol/L。

1.2.2 动物分组

按照给药方法 $\times$ 药物(3 $\times$ 3)析因设计分组小鼠。给药方法分为:气管切开、鼻滴 1 d,鼻滴 6 d。药物为胆酸,并且设置其对应的溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组,共 9 组,每组 6 只(雌鼠 4 只,雄鼠 2 只)。如表 1 所示。鼻滴给药处理的频率为每天 1 次,其中鼻滴 1 d 是指鼻滴给药处理 1 d,鼻滴 6 d 是指鼻滴给药处理连续 6 d,并且两次鼻滴间隔时间为 24 h。

1.2.3 动物模型制备

气管切开灌肺模型:腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉小鼠。待小鼠肌肉松弛,四肢无活动后,充分暴露小鼠气管,在软骨间环状韧带处用眼科角膜剪剪开直径约 2 mm 开口,用微量加样枪

表 1 给药方法 $\times$ 药物(3 $\times$ 3)析因设计小鼠分组

Table 1 Administration method $\times$ drug(3 $\times$ 3) factorial design mice group

组别 Groups	药物 Drug	空白对照 PBS 组 Blank control PBS group	溶剂对照 DMSO 组 Solvent control DMSO group	胆酸组 Cholic acid group
给药方法 Administration method				
气管切开 Intratracheal instill		a	b	c
鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d		d	e	f
鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d		g	h	i

灌注胆酸(0.1 mmol/kg),再推入 1 mL 空气,最后缝合。同理分别灌注溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组。

鼻滴胆酸入肺模型:麻醉后,胆酸经鼻滴入小鼠(5 μmol/kg)。鼻滴持续时间 1 ~ 2 min。溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组的动物,其处理方式同胆酸组。

1.2.4 一般体征观察

处置完成后,小鼠回笼饲养,给予充足的水和饲料,观察其饮食、活动等一般情况。连续鼻滴 6 d 的小鼠,每日称量体重,以粗略判断其健康状况。

1.2.5 样品检测

(1)胸部 X 线检查:小动物 X 光机参数设置:曝光时间 18 s,管电压 26 kV。

(2)血氧分压检测:麻醉后,打开小鼠胸腔,用肝素化的 1 mL 空针在心尖搏动出穿刺抽取 0.15 mL 血液,将血气标本注入血气测试卡片中检测血氧分压(blood oxygen partial pressure,PO₂)。

(3)观察肺组织的大体改变:离体肺组织以 PBS 溶液冲洗后,观察肺叶出血、水肿情况,组织表面斑块、颜色并拍照。

(4)观察肺组织病理学变化:取右肺上叶,经 4%多聚甲醛固定、常规石蜡包埋、切片和 HE 染色,再用光学显微镜观察小鼠肺组织的病理变化。

(5)ELISA 法检测小鼠肺组织中 TNF-α 和 IL-1β 的含量:取一部分组织提取蛋白,经 ELISA 检测炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 的含量。操作严格按照试剂说明进行,用酶标仪测定 OD 值后再计算试剂样品的浓度。

1.3 统计学分析

将血氧分压值、TNF-α 和 IL-1β 的含量分别作为计量资料。对血氧分压结果采取 3 × 3 析因设计资料方差分析和单因素方差分析,对 TNF-α 和 IL-1β 的含量采取 3 × 3 析因设计资料方差分析。*P* < 0.05 则表示差异有统计学意义。用 SPSS 20.0 软件进行分析,用 GraphPad Prism 8.0.1 绘制统计图。

2 结果

2.1 一般体征观察

9 组小鼠完成给药后全部存活。气管切开胆酸组与其溶剂对照 DMSO 组,或者与其空白对照 PBS 组相比,小鼠蜷缩,活动和饮食减少。胆酸鼻滴 1 d

组与其相应的溶剂对照 DMSO 组或空白对照 PBS 组相比,小鼠活动和饮食情况正常。胆酸鼻滴 6 d 从第 4 天开始,活动和饮食减少;溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组小鼠,从第 5 天开始活动和饮食减少。胆酸鼻滴 6 d 组及其溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组,3 组小鼠体重均下降(如图 1 所示),但鼻滴结束时,各组间比较,均无显著性差异(*P* > 0.05),说明 3 组小鼠营养状况相似。

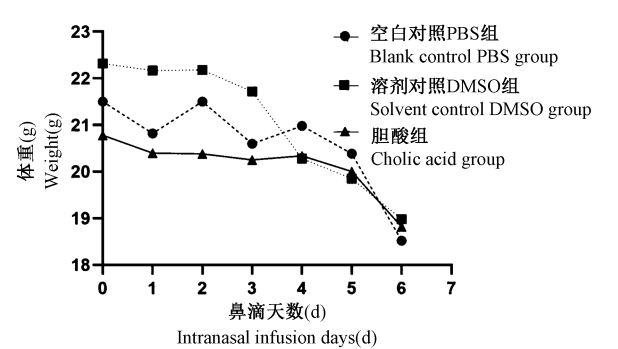


图 1 小鼠体重的变化
Figure 1 Alteration in mice body weight

2.2 小鼠胸部 X 线片

气管切开胆酸组与空白对照 PBS 组、溶剂对照 DMSO 组相比,肺纹理增多、肺野透光度降低,呈毛玻璃样改变,但未见心影增大、支气管充气(如表 2,图 2 a、b、c 所示)。鼻滴 1 d 除胆酸组中有 2 例肺纹理增多,其余均未见异常(表 2,图 2 d、e、f 所示)。鼻滴 6 d 胆酸组,有 3 例肺纹理增多,伴有毛玻璃样改变和散在小斑片样阴影,溶剂对照 DMSO 组中,有 2 例肺纹理增多(如表 2,图 2 g、h、i 所示)。

2.3 肺组织大体观察

气管切开手术处理的小鼠中,空白对照 PBS 组的小鼠肺表面未见局灶性出血(图 3a),但是胆酸组和溶剂对照 DMSO 组中,均可见肺局灶性出血(图 3b、c)。鼻滴 1 d 处理的小鼠中,胆酸组、溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组均未见肺局灶性出血(如图 3 d、e、f 所示)。鼻滴 6 d 处理的小鼠中,胆酸组、溶剂对照 DMSO 组和空白对照 PBS 组的肺表面均有广泛出血(如图 3 g、h、i 所示)。

2.4 血氧分压检测

以血氧分压(PO₂)作为测量指标进行析因分析。首先分析药物因素单独效应,胆酸组显著低于空白对照组(*P* < 0.001)和溶剂对照组(*P* < 0.05),说明胆酸可以诱导 PO₂ 降低(如表 3 所示)。再分析手术方法(包括气管切开、鼻滴 1 d 和鼻滴 3 d)的

单独效应,气管切开组与鼻滴 1 d 组或者鼻滴 6 d 组相比,均无统计学差异($P>0.05$),但是鼻滴 6 d 组与鼻滴 1 d 组相比较, PO_2 显著降低($P<0.01$),说明较长时间鼻滴(6 d)比短时间鼻滴(1 d)更加影响血氧分压(如表 4 所示)。

在析因分析后,对 3 种给药方式分别进行单因素方差分析。在气管切开小鼠中,胆酸组显著低于

空白对照组($P<0.001$)和溶剂对照组($P<0.01$),说明气管切开手术条件下再灌注胆酸能有效降低血氧分压。鼻滴 1 d 时,胆酸组与其溶剂对照组和空白对照组相比,均无统计学差异($P>0.05$),说明鼻滴 1 d 胆酸不能造成小鼠的肺损伤。鼻滴 6 d 胆酸组与其溶剂对照组和空白对照组相比,均有降低,但无统计学差异($P>0.05$)(如图 4)。

表 2 不同处理后小鼠肺出现弥漫性浸润的例数

阳性例数 Positive cases	空白对照 PBS 组 Blank control PBS	溶剂对照 DMSO 组 Solvent control DMSO	胆酸组 Cholic acid
气管切开 Intratracheal instill	0	0	5
鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	1	0	1
鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	0	2	3

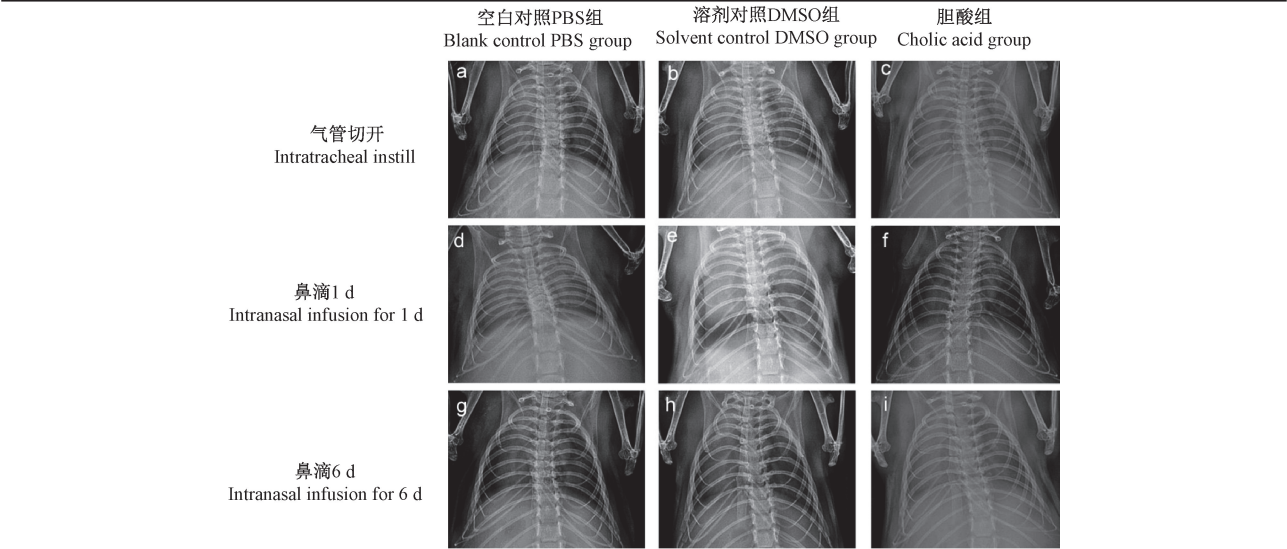


图 2 不同处理后小鼠出现肺弥漫性浸润表现的情况

Figure 2 X-ray of diffuse lung infiltration in mice after different treatments

表 3 药物因素单独效应各药物组间 PO_2 比较

药物 Drug	药物 Drug	均值差值 Mean difference	标准误差 Standard error	显著性 Sig.
胆酸 Cholic acid	DMSO	5.500	2.174	0.015
胆酸 Cholic acid	PBS	-9.722	2.174	0.000
PBS	DMSO	4.222	2.174	0.058

表 4 给药方法因素单独效应各药物组间 PO_2 比较

给药方法 Method of administration	给药方法 Method of administration	均值差值 Mean difference	标准误差 Standard error	显著性 Sig.
气管切开 Intratracheal instill	鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	-3.6111	2.17354	0.104
气管切开 Intratracheal instill	鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	4.0556	2.17354	0.069
鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	-7.6667 *	2.17354	0.001

注:两两比较,* $P<0.05$ 。(下表同)
Note. Pairwise comparison,* $P<0.05$. (The same in the following tables)

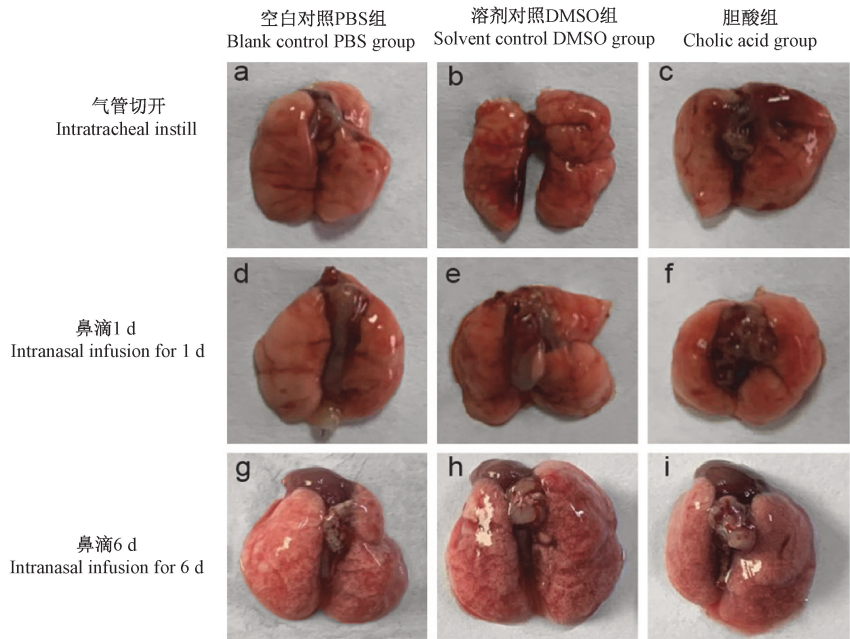
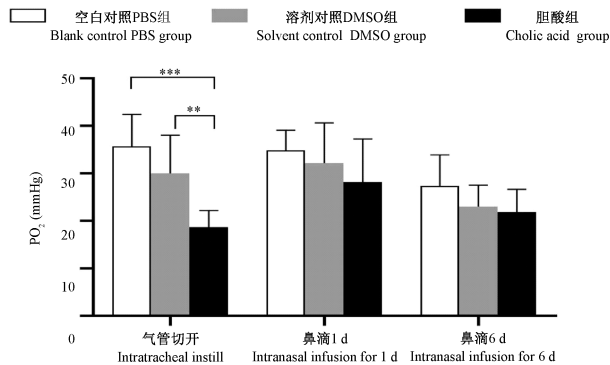


图3 不同处理后小鼠肺大体样本出血表现的情况

Figure 3 Bleeding manifestations of mouse lung gross samples after different treatments



注:与胆酸组比较, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图4 不同给药方法分别进行药物组间比较血氧分压情况

Note. Compared with cholic acid group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 4 Compare the blood oxygen partial pressure between the drug groups with the drug groups with the different administration methods

2.5 肺组织病理观察

气管切开手术的3组小鼠中,胆酸组与其溶剂对照DMSO组或空白对照PBS组相比,肺泡腔结构破坏、出血和肺泡壁增厚(如图5 a、b、c)。鼻滴1 d的3组小鼠中,胆酸组表现为散在的局灶性出血,但肺泡结构和肺内血管并无显著改变(如图5 d、e、f所示)。鼻滴6 d的3组小鼠中,胆酸组的肺泡壁有明显的增厚,肺泡壁破坏严重,血管周围和肺间质的炎细胞浸润(如图5 g、h、i所示)。

2.6 肺组织中TNF-α和IL-1β检测

以TNF-α和IL-1β作为测量指标进行析因设

计。首先分析药物因素单独效应,胆酸组TNF-α、IL-1β显著高于空白对照组($P < 0.001$)和溶剂对照组($P < 0.001$)(如表5、6所示)。接着分析给药方法单独效应,鼻滴1 d的小鼠,其TNF-α和IL-1β显著低于气管切开小鼠($P < 0.001$)和鼻滴6 d的小鼠($P < 0.001$),但是气管切开小鼠和鼻滴6 d小鼠之间无统计学差异(如表7、8)。最后分析给药方法和药物是否存在交互作用。由于气管切开且灌注胆酸的小鼠,其TNF-α含量(138.07 ± 15.02 pg/mL)和IL-1β(232.06 ± 45.89 pg/mL)含量均高于其它各组,析因分析显示出给药方法和药物之间存在交互作用(如图6所示)。

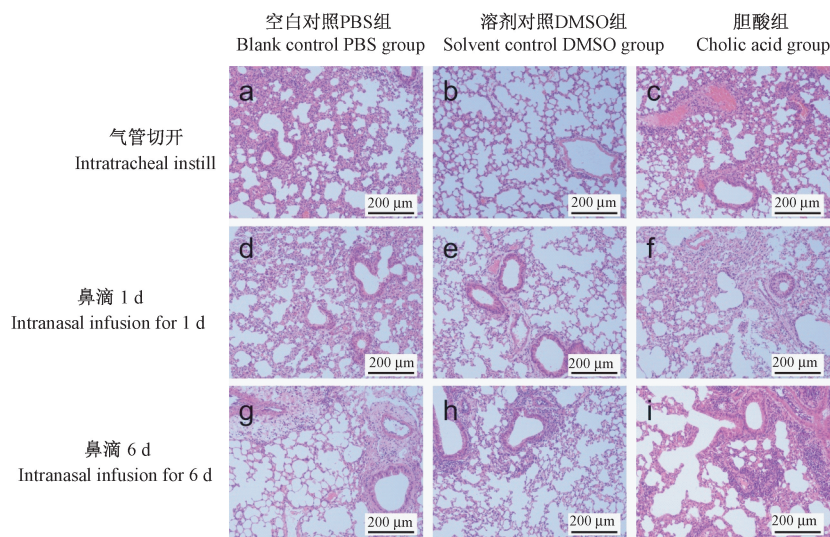


图 5 不同处理方法对小鼠肺病理学的影响(HE 染色)

Figure 5 Effects of different treatment methods on lung pathology in mice(HE staining)

表 5 药物因素单独效应各药物组间 TNF-α 含量比较

Table 5 Comparison of TNF-α content among different drug groups in individual effects of drug factors

药物 Drug	药物 Drug	均值差值 Mean difference	标准误差 Standard error	显著性 Sig.
胆酸 Cholic acid	DMSO	0.131 *	0.023	0.000
胆酸 Cholic acid	PBS	0.141 *	0.023	0.000
PBS	DMSO	0.010	0.023	0.667

表 6 药物因素单独效应各药物组间 IL-1β 含量比较

Table 6 Comparison of IL-1β content among different drug groups in individual effects of drug factors

药物 Drug	药物 Drug	均值差值 Mean difference	标准误差 Standard error	显著性 Sig.
胆酸 Cholic acid	DMSO	0.328 *	0.030	0.000
胆酸 Cholic acid	PBS	0.302 *	0.030	0.000
PBS	DMSO	0.027	0.030	0.386

表 7 给药方法因素单独效应各药物组间 TNF-α 含量比较

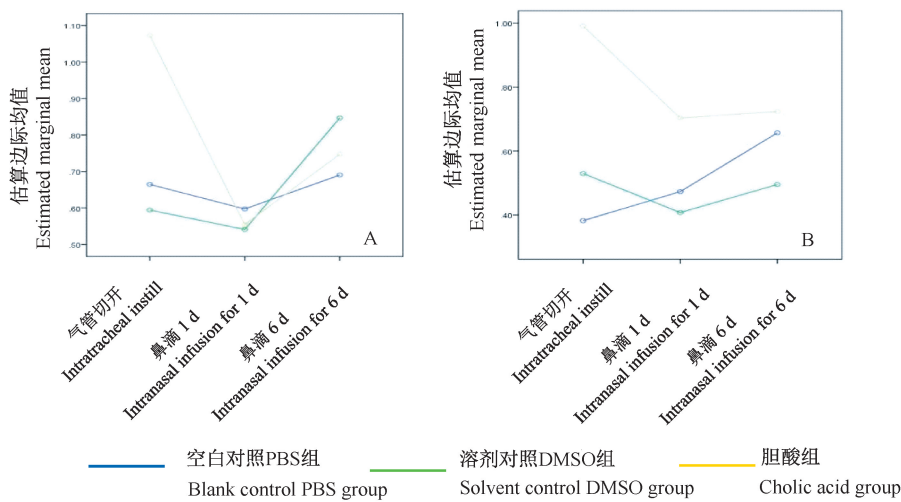
Table 7 Comparison of TNF-α between each drug group by factors of administration method alone effect

给药方法 Method of administration	给药方法 Method of administration	均值差值 Mean difference	标准误差 Standard error	显著性 Sig.
气管切开 Intratracheal instill	鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	0.2130 *	0.02285	0.000
气管切开 Intratracheal instill	鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	0.0157	0.02285	0.502
鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	0.1973 *	0.02285	0.000

表 8 给药方法因素单独效应各药物组间 IL-1β 含量比较

Table 8 Comparison of IL-1β between each drug group by factors of administration method alone effect

给药方法 Method of administration	给药方法 Method of administration	均值差值 Mean difference	标准误差 Standard error	显著性 Sig.
气管切开 Intratracheal instill	鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	0.1063 *	0.02987	0.002
气管切开 Intratracheal instill	鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	0.0090	0.02987	0.767
鼻滴 6 d Intranasal infusion for 6 d	鼻滴 1 d Intranasal infusion for 1 d	0.0973 *	0.02987	0.004



注:A;TNF-α 含量;B: IL-1β 含量。
图 6 给药方法与药物之间的交互效应

Note. A. TNF-α content. B. IL-1β content.
Figure 6 Interaction between drug delivery method and drug

3 讨论

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是一种常见的新生儿重症,而胎儿将胎粪污染的羊水误吸入肺所造成的 ALI 可进一步引发严重的并发症,危及胎儿生命。胎粪的成分复杂,包括胆酸、胆酸盐、胆固醇及其前体、脂质、胰磷脂酶 A2、超多糖及蛋白质等^[4-5]。胆酸是一种强烈的致炎因子,用于重症胰腺炎动物模型的构建^[3]。模型中胆酸可以引起肺损伤^[6],从而提示,如果用胆酸刺激肺,肺表现的炎性损伤可能会与胎儿的胎粪吸入所造成的 ALI 具有一定的相似性。

根据美国胸科协会对急性肺损伤动物模型的判断标准,只要具备组织损伤证据、肺泡毛细血管屏障改变的证据、炎症反应证据和生理功能障碍证据中的至少三项^[7-8],即为 ALI 动物模型造模成功。目前,ALI 动物模型主要分为直接和间接损伤两大类:直接肺损伤模型包括盐酸吸入模型、脂多糖^[9]或油酸^[10]注射模型、机械通气模型^[11]以及病毒感染模型等;间接肺损伤模型包括内毒素模型、烧伤/烟雾吸入模型、输血模型、缺血-再灌注模型及胰腺炎模型等。但是这些模型不能模拟胎儿吸入胎粪引起的 ALI。目前未见以胆酸直接刺激肺构建的 ALI 的模型。如果建立以胆酸灌注入肺诱发急性肺损伤(ALI)的动物模型,则能为探讨新生儿胎粪吸入所诱发的急性肺损伤机制奠定基础。

本实验把胆酸通过气管切开、鼻滴 1 d 和鼻滴

6 d 的方式给予小鼠。鼻滴法给药多用于临床治疗,也用于诱发肺炎的相关实验^[12-13]。鼻滴胆酸 6 d 的小鼠,X 胸片、组织病理变化、血氧分压、炎性因子 TNF-α 和 IL-1β 等各项指标都反映出其肺部炎症比鼻滴胆酸 1 d 的小鼠更加严重,表明重复鼻滴给药造成的肺损伤更加严重。鼻滴胆酸 6 d 的小鼠相对于其溶剂对照组和空白对照组,胸片、TNF-α 和 IL-1β 的改变不及组织病理的变化,原因可能是小鼠肺损伤炎症性渗出期在 24 ~ 48 h^[7,13],TNF-3 和 IL-1β 释放高峰在损伤后 2 h 和 24 h^[14],组织病理改变晚于炎症损伤,但是拍摄胸片和采集肺组织样本是在鼻滴 6 d 后,可能错过了肺部炎性渗出的峰值期和 TNF-α 和 IL-1β 释放的高峰期,故胸片只有轻微的弥散性浸润,TNF-峰含量胆酸组甚至低于溶剂对照组。如果能够连续拍摄 X 胸片和采集肺组织样本,检测炎性相关指标,则能提供一个更加合理的给药时间,有利于构建鼻滴胆酸诱导 ALI 的动物模型。

鼻滴 6 d 是连续刺激肺组织造成损伤。鼻滴 6 d 的 3 组小鼠,X 胸片、大体样本、血氧分压指标都发生了明显的肺损伤,提示 6 d 的重复鼻滴给药的方式是造成肺损伤的重要原因。鼻滴引起小鼠的呛咳,使滴入物进入肺组织引发炎症反应,即使胆酸有致炎效应,也可能被鼻滴掩盖,所以鼻滴胆酸组与鼻滴 DMSO 组或鼻滴 PBS 组之间,除肺病理组织损伤一项证据,其余各项指标没有明显差异,说明鼻滴 6 d 胆酸不能有效诱导小鼠的 ALI 模型。如

果要采用鼻滴造模,则要调整鼻滴药物的剂量和时间以取得其他相关实验证据。

本研究还通过气管切后再灌注胆酸以诱导形成 ALI 的动物模型。相较鼻滴滴入,气管切开后药物直接抵达肺组织,呛咳排出的药物体积较小,可以准确计量灌注剂量。并且,胆酸只作用于肺,不进入消化道,作用器官单一。气管切开再灌注胆酸的小鼠,其 X 线胸片、组织病理变化、血氧分压、TNF- α 和 IL-1 β 各项指标,较其溶剂对照组和空白对照均有显著改变,具备了组织病理、炎症反应和生理功能障碍这三项实验证据,证明气管切开确实能成功诱导 ALI,形成胆酸诱导的 ALI 动物模型。

4 结论

本实验探讨了胆酸诱导小鼠急性肺损伤模型的构建,结果表明,气管切开灌注胆酸构建急性肺损伤小鼠模型周期短,药物剂量可控,重复性好,是一种相对可靠的构建方法。该模型的建立将为探究胆酸诱发新生儿肺损伤的分子机制提供基础和依据。

参 考 文 献(References)

- [1] Vain NE, Batton DG. Meconium “aspiration” (or respiratory distress associated with? meconium-stained amniotic fluid?) [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2017, 22(4): 214–219.
- [2] Pandita A, Murki S, Oleti TP, et al. Effect of nasal continuous positive airway pressure on infants with meconium aspiration syndrome: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Pediatrics*, 2017, 172(2): 161–165.
- [3] 袁琳,周秉舵,王晓素,等. 三种不同严重程度大鼠重症胰腺炎模型比较研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(5): 20–23.
Yuan L, Zhou BD, Wang XS, et al. Comparative study of severe acute pancreatitis model in rats with three different severity [J]. *Chin J Comp Med*, 2015, 25(5): 20–23.
- [4] Fanaroff, AA. Meconium aspiration syndrome: historical aspects [J]. *J Perinatol*, 2008, 28: 3–7.
- [5] Naritaka N, Suzuki M, Sato H, et al. Profile of bile acids in fetal

gallbladder and meconium using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 446: 76–81.

- [6] Fu Q, Zhai Z, Wang Y, et al. NLRP3 deficiency alleviates severe acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury in a mouse model [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 1294951.
- [7] Matute BG, Downey G, Moore BB, et al. An official american thoracic society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(5): 725–738.
- [8] Engel M, Nowacki RME, Jonker EM, et al. A comparison of four different models of acute respiratory distress syndrome in sheep [J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 209.
- [9] Ye R, Liu Z. ACE2 exhibits protective effects against LPS-induced acute lung injury in mice by inhibiting the LPS-TLR4 pathway [J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 113: 104350.
- [10] Chen H, Ding Y, Chen W, et al. Glibenclamide alleviates inflammation in oleic acid model of acute lung injury through NLRP3 inflammasome signaling pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 1545–1554.
- [11] 董青,耿万明,张宗德,等. 小鼠机械性肺损伤肺组织中 microRNA 表达差异 [J]. *中国医学前沿杂志*, 2017, 9(2): 163–168.
Dong Q, Geng WM, Zhang ZD, et al. Study on the differential expression of microRNA in the lung tissue of mice with acute lung injury/acute respiratory distress syndrome induced by mechanical ventilation [J]. *Chin J Front Med Sci*, 2017, 9(2): 163–168.
- [12] Selvaraj K, Gowthamarajan K, Karri VVSR. Nose to brain transport pathways an overview: potential of nanostructured lipid carriers in nose to brain targeting [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(8): 2088–2095.
- [13] Alam MI, Baboota S, Ahuja A, et al. Intranasal infusion of nanostructured lipid carriers (NLC) containing CNS acting drug and estimation in brain and blood [J]. *Drug Deliv*, 2013, 20(6): 247–251.
- [14] Rojas M, Woods CR, Mora AL, et al. Endotoxin-induced lung injury in mice: structural, functional, and biochemical responses [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288(2): 333–341.

[收稿日期] 2020-12-08