

李磊, 吴东良, 李尚点, 等. 基于数据挖掘的慢性阻塞性肺疾病模型应用分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(7): 10-17.  
Li L, Wu DL, Li SD, et al. Application analysis of a chronic obstructive pulmonary disease model by data mining [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(7): 10-17.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.07.002

# 基于数据挖掘的慢性阻塞性肺疾病模型应用分析

李磊<sup>1,2</sup>, 吴东良<sup>1,2</sup>, 李尚点<sup>1,2</sup>, 阎玥<sup>2</sup>, 史琦<sup>2</sup>, 李春雷<sup>2</sup>, 李友林<sup>2\*</sup>

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 中日友好医院 中医肺病二部, 国家中医药管理局重点研究室(肺病慢性咳嗽), 中医药防治过敏性疾病北京市重点实验室(BZ0321), 中日友好医院呼吸中心, 国家呼吸疾病临床研究中心, 北京 100029)

**【摘要】 目的** 探索慢性阻塞性肺疾病(COPD)动物模型的造模要素, 为本模型的建立和评价的规范化和标准化提供方法学参考和建议。**方法** 以慢性阻塞性肺疾病合并动物模型为主题词在中国知网、万方数据库中进行搜索近十年相关文献(2011 年 1 月~2021 年 7 月), 整理归纳模型中涉及的动物种别、造模方法与周期、检测指标、给药时间、阳性对照药及证候造模情况等内容, 建立数据库进行统计分析。**结果** 共纳入 176 篇文献, COPD 模型中应用最多的是 SD 大鼠(83 次, 47.16%)、Wistar 大鼠(59 次, 33.52%)和 C57 小鼠(14 次, 7.95%), 倾向于雄性(140 次, 79.55%); 造模方式多选用烟雾暴露联合脂多糖(91 次, 52%)或单纯烟雾暴露(34 次, 19.43%), 造模周期多为 3 个月内(147 次, 83.52%); 检测最多的指标为肺组织病理(137 次, 24.82%)、肺功能(79 次, 14.31%)、一般状况(63 次, 11.41%)、肺泡灌洗液(56 次, 10.14%)等; 在含有阳性对照药的 46 项研究中, 应用最多的是氨茶碱(7 次), 其次为地塞米松和固本咳喘片(各 4 次); 18 项涉及证候造模的研究中频次最高的是肺气虚证(8 次)。**结论** 现有 COPD 模型多采用烟雾暴露联合脂多糖滴注或单纯烟雾暴露方法造模, 选用 SD/Wistar 大鼠或 C57 小鼠作为实验动物, 周期在 3 个月内, 能够有效提升 COPD 造模的成功率, 模型评价指标建议综合肺组织病理、肺功能、一般状况和肺泡灌洗液等结果。但目前仍缺乏对不同造模方式的比较以及造模所用具体参数的确立, 有待进一步探究。

**【关键词】** 慢性阻塞性肺疾病; 动物模型; 数据挖掘

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 07-0010-08

## Application analysis of a chronic obstructive pulmonary disease model by data mining

LI Lei<sup>1,2</sup>, WU Dongliang<sup>1,2</sup>, LI Shangdian<sup>1,2</sup>, YAN Yue<sup>2</sup>, SHI Qi<sup>2</sup>, LI Chunlei<sup>2</sup>, LI Youlin<sup>2\*</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China. 2. the 2nd Department of Pulmonary Disease, China-Japan Friendship Hospital, Key Unit of State Administration of Traditional Chinese Medicine (Pneumonopathy Chronic Cough and Dyspnea), Beijing Key Laboratory of Prevention and Treatment of Allergic Diseases with Traditional Chinese Medicine (BZ0321), Center of Respiratory Medicine, National Clinical Research Center for Respiratory Diseases, Beijing 100029)

**【Abstract】 Objective** To explore the modeling elements of an animal model of chronic obstructive pulmonary disease, which may provide a methodological reference to establish this model. **Methods** We searched for literature from January 2011 to July 2021 in CNKI and Wanfang databases using an animal model of chronic obstructive pulmonary disease combined with animal models as the subject words, and sorted out the animal species and model involved in the model. Then, we established a database for statistical analysis with method, cycles, detection indicators, administration time and

**【基金项目】** 国家自然科学基金青年基金项目(81904184)。

**【作者简介】** 李磊(1993—), 男, 博士研究生, 研究方向: 中医内科学。E-mail: 20190941239@bucm.edu.cn

**【通信作者】** 李友林(1961—), 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 中医药防治肺系及过敏性疾病的临床与基础研究。

E-mail: ly19610721@163.com

positive control drugs. **Results** A total of 176 articles were included. The most commonly used animals for the COPD model were SD rats (83 times, 47.16%), Wistar rats (59 times, 33.52%), and C57 mice (14 times, 7.95%), which tended to be male (140 times, 79.55%). Most modeling method were smoke exposure combined with lipopolysaccharide (91 times, 52%) or simple smoke exposure (34 times, 19.43%). The modeling cycle was mostly within 3 months (147, 83.52%). The most detected indicators were lung histopathology (137 times, 24.82%), lung function (79 times, 14.31%), general condition (63 times, 11.41%), and alveolar lavage fluid (56 times, 10.14%). **Conclusions** Using SD/Wistar rats or C57 mice as experimental animals under smoke exposure combined with lipopolysaccharide instillation or simple smoke exposure within 3 months effectively improves the success rate of COPD models. Model evaluation indicators suggest that the result of lung histopathology, lung function, general condition and alveolar lavage fluid should be integrated.

**【Keywords】** chronic obstructive pulmonary disease; animal model; data mining

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary emphysema, COPD) 是全世界主要的呼吸系统健康问题,通常是由长期吸入有毒颗粒或气体 (如香烟烟雾), 及宿主因素相互作用所致, 其中至少 80% 病例是由吸入烟草烟雾引发<sup>[1]</sup>, 在工业国家甚至可达到 95% 以上<sup>[2]</sup>。尽管 COPD 是一种复杂的异质性疾病, 主要特征是慢性气道炎症 (支气管炎) 和/或肺气肿、粘液堵塞、气道感觉神经敏感以及肺功能下降, 但其早期症状不显易被忽视, 待其发展加重或并发症发生方被识别, 加之目前无有效阻止本病诱发或进展的治疗方法, 故其致残率和死亡率高, 在全球主要死因中位列第三<sup>[3]</sup>。目前估计 COPD 已影响全球 3.28 亿人, 在未来 20 年内, 它将成为主要的死亡原因之一<sup>[4]</sup>, 尽管构成了主要的公共卫生问题, 但相关研究仍缺乏资金<sup>[5]</sup>。COPD 防治当中的许多疾病负担和医疗保健占用都与其合并症和感染病毒或细菌恶化的管理有关<sup>[6]</sup>。应用吸入糖皮质激素和支气管扩张药有益于改善 COPD 患者症状和延缓病情恶化, 但临床疗效有限, 无法逆转组织病变或改变驱动慢性进展的因素, 并且对肺功能下降的影响有限<sup>[7]</sup>。加深对 COPD 发生和发展的分子途径和反应的理解, 将有助于急需的有效治疗药物的开发<sup>[8]</sup>。然而, 获取 COPD 患者全程信息尤为困难, 并且多数临床病例通常仅代表疾病过程中特定时间的“快照”<sup>[6]</sup>, 故本目标的实现需要建立于动物研究基础之上, 亟需建立符合临床实际情况且准确反映疾病病理生理的 COPD 动物模型。因此, 本文借助数据挖掘方式, 对最近 10 年涉及 COPD 模型建立的文献进行检索并整理分析, 以期 COPD 模型的开发所涉及的实验动物的特征选择, 造模方法与周期及结局评价等多重建模因素提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 数据来源

以“慢性阻塞性肺疾病”合并“动物模型”为主题词在中国知网、万方数据库中进行搜索, 时间为 2011 年 1 月~2021 年 7 月 22 日。收集 COPD 动物模型相关研究的文献。总共 523 篇文献, 其中知网 224 篇, 万方 299 篇, 删除重复后剩余 455 篇, 通过阅读题目及摘要, 筛选出 227 篇, 再经详细查阅后删除综述类、评论类及重复文献或无法提取数据的文献, 剩余 176 篇。

### 1.2 筛选标准

纳入标准: 在检索范畴内, 选取 COPD 动物模型的实验文献, 语种不限; 排除标准: 综述类文献, 会议论文和学位论文, 重复发表的仅取 1 次。另外, 联合的疾病或证型不限, 给予药物干预与否不限, 少数信息不全 (如动物年龄、体重等) 的文献亦纳入分析, 最终从 523 篇文献中纳入 176 篇有效文献, 包括 17 篇英文文献, 159 篇中文文献。

### 1.3 数据处理

实验动物名称、种类等均参照《实验动物和动物实验技术》进行规范, 统一处理具有不同名称的动物种类。将收集的文献中涉及的动物种别、造模方法与周期、检测指标、给药时间、阳性对照药与证候情况等以统一格式录入 Microsoft Excel 2013, 采取双人录入方法, 确保信息的质量控制, 并进行整理归纳, 建立 COPD 动物模型的数据库。

### 1.4 统计学方法

应用 Microsoft Excel 2013 对 COPD 动物模型的数据库中的信息进行统计分析, 定量或定性归纳造模要素, 由于部分信息不全或未进行详细描述, 故各项数据的总和可能不等, 以具体统计结果为准。

## 2 结果

### 2.1 实验动物种别

将 176 篇有效文献中应用的实验动物种类及性别进行汇总统计发现,主要包括 3 类实验动物,即大鼠、小鼠、小型猪,其中使用最多的是 SD 大鼠(83 次,47.16%),其次为 Wistar 大鼠(59 次,33.52%),C57 小鼠(14 次,7.95%),豚鼠(6 次,3.41%),小型猪(4 次,2.27%),BALB/c 小鼠(3 次,1.70%),其他小鼠包括 A/J 小鼠、KM 小鼠、叙利亚金黄仓鼠和金黄地鼠,共 5 次(2.84%),未知大鼠(2 次,1.14%);实验动物性别以雄性为主,共 140 次,占比 79.55%,雌雄各半(雌雄同用)或雌性则较少,分别为 24 次和 8 次,占比 13.64%和 4.55%,4 项研究未对性别进行描述,见表 1。

### 2.2 造模周期与方式

在 176 篇文献中,共有 175 篇文献明确写有造

模方法,将其进行分类规范后统计得出,造模方式中应用最多的是烟雾暴露联合脂多糖(91 次,52%),其他>3 次的造模方式主要有 4 种,包括单纯烟雾暴露 34 次(19.43%),脂多糖 6 次(3.43%),烟雾暴露联合肺炎克雷伯杆菌 5 次(2.86%),烟雾暴露联合弹性蛋白酶 4 次(2.29%),详见表 2。

在应用烟雾暴露的 147 篇文献中,48 篇未对烟熏箱进行描述,剩余文献中使用自制烟熏箱 84 次(84.85%),使用非自制烟熏箱 15 次(15.15%),其中两项应用仅鼻暴露系统<sup>[9-10]</sup>。

COPD 作为常见慢性病之一,造模周期(model period, MP)较长,可分为 30 d 以内、30~60 d、60~90 d、90~120 d、120~150 d、150 d 6 个时间段,统计发现,造模周期多在 3 个月内,其中 MP≤30 d 最多,共 75 次(42.61%),30 d < MP ≤ 60 d 和 60 d < MP ≤ 90 d 均为 36 次,各占比 20.45%,见表 3。

表 1 慢阻肺模型实验动物种别频数分布  
Table 1 Types distribution of experimental animals for COPD

| 动物种类<br>Animal species   | 频次<br>Frequency | 体重<br>Body weight                   | 性别<br>Gender               | 频次<br>Frequency |
|--------------------------|-----------------|-------------------------------------|----------------------------|-----------------|
| SD 大鼠<br>SD rats         | 83              | 以(200±20) g 为主<br>Mainly (200±20) g | 雄性<br>Male                 | 140             |
| Wistar 大鼠<br>Wistar rats | 59              | 以(200±20) g 为主<br>Mainly (200±20) g | 雌雄各半/同用<br>Male and female | 24(19/5)        |
| C57 小鼠<br>C57 mice       | 14              | 以 18~25 g 为主<br>Mainly 18~25 g      | 雌性<br>Female               | 8               |
| 豚鼠<br>Guinea pig         | 6               | 以 350~400 g 为主<br>Mainly 350~400 g  | 未描述<br>Not described       | 4               |
| 小型猪<br>Miniature pig     | 4               | 以(25±5) kg 为主<br>Mainly (25±5) kg   | /                          | /               |

表 2 慢阻肺造模方式分类及使用频次  
Table 2 Classification and frequency of use of COPD models

| 造模方法<br>Method                                                             | 频次<br>Frequency | 百分比(%)<br>Percentage |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------------|
| 烟雾暴露联合脂多糖<br>Smoke exposure combined with lipopolysaccharide               | 91              | 52.00                |
| 烟雾暴露<br>Smoke exposure                                                     | 34              | 19.43                |
| 脂多糖<br>Lipopolysaccharide                                                  | 6               | 3.43                 |
| 烟雾暴露联合肺炎克雷伯杆菌<br>Smoke exposure combined with <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5               | 2.86                 |
| 烟雾暴露联合弹性蛋白酶<br>Smoke exposure combined with elastase                       | 4               | 2.29                 |

2.3 检测指标

将 176 篇文献中的全部检测指标进行分类统计,若同一组织被用于检测不同的指标,如肺组织既做病理检测又做免疫组化,则分别进行统计;若同一组织被用于检测多个同类型指标,如肺组织同时检测 IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  等,则把这些指标统一归属于肺组织匀浆指标。一般状况包括皮毛、食量、活动度、精神状态、舌象、爪色等宏观特征,呼吸系统特征和体重单独计数。统计结果发现,共有 21 种不同类型的指标,累计频数 552 次,其中检测较多的依次是肺组织病理(137 次,24.82%)、肺功能(79 次,14.31%)、一般状况(63 次,11.41%)、肺泡灌洗液(56 次,10.14%)、血清(46 次,8.33%)、肺组织匀浆(42 次,7.61%)等,详见表 4。

2.4 模型给药时间、阳性对照药及评估指标

将所有文献归纳统计发现,共有 89 项研究涉及给药干预,但仅有 46 项含有阳性对照药,给药时间选择多为 28 d(13 次,28.26%),其次为 14 d(8 次,17.39%);阳性对照药的应用方面较为繁杂,共涉及 26 不同药物,其中两项研究应用了两种阳性对照药物,分别予以计数,应用最多的阳性对照药是氨茶碱(7 次),其次为地塞米松和固本咳喘片(各 4 次),见表 5。

在使用药物及阳性对照药物的文献中,给药效果的评估指标较多,其中使用频次由多到少排名前五的依次是肺组织病理(28 次,60.87%)、肺组织免疫组化(26 次,56.52%)、一般状况(22 次,47.83%)、肺功能(20 次,43.48%)、血清(19 次,41.30%),见表 6。

2.5 模型证候造模情况

纳入的文献中仅有 18 篇涉及证候造模,包括了 7 个证型,即肺气虚证、脾虚证、肺脾两虚证、阴虚痰饮证、痰湿/热证、痰瘀阻肺证、寒燥证,以虚证较多,其中造模频次最高的证候是肺气虚证,共 8 篇,见图 1。

表 3 慢阻肺模型造模周期

Table 3 Modeling cycle of COPD model

| 造模周期(d)<br>Model period | 频次<br>Frequency | 百分比(%)<br>Percentage |
|-------------------------|-----------------|----------------------|
| MP $\leq$ 30            | 75              | 42.61                |
| 30 < MP $\leq$ 60       | 36              | 20.45                |
| 60 < MP $\leq$ 90       | 36              | 20.45                |
| 90 < MP $\leq$ 120      | 10              | 5.68                 |
| 120 < MP $\leq$ 150     | 7               | 3.98                 |
| 其他 Other                | 12              | 6.82                 |

表 4 慢阻肺模型检测指标分类及使用频次

Table 4 Classification and frequency of use of COPD model test indicators

| 检测指标<br>Detection indicator                    | 频次<br>Frequency | 累计频数<br>Cumulative frequency | 百分比(%)<br>Percentage |
|------------------------------------------------|-----------------|------------------------------|----------------------|
| 肺组织病理<br>Lung tissue pathology                 | 137             | 552                          | 24.82                |
| 肺功能<br>Lung function                           | 79              | 552                          | 14.31                |
| 一般状况<br>General condition                      | 63              | 552                          | 11.41                |
| 肺泡灌洗液<br>Alveolar lavage fluid                 | 56              | 552                          | 10.14                |
| 血清<br>Serum                                    | 46              | 552                          | 8.33                 |
| 肺组织匀浆<br>Lung tissue homogenate                | 42              | 552                          | 7.61                 |
| 肺组织免疫组化<br>Lung tissue immunohistochemistry    | 26              | 552                          | 4.71                 |
| 体重<br>Body weight                              | 21              | 552                          | 3.80                 |
| 肺组织 Real-time PCR<br>Lung tissue Real-time PCR | 14              | 552                          | 2.54                 |
| 肺组织免疫印迹<br>Western blot of lung tissue         | 14              | 552                          | 2.54                 |
| 动脉血气<br>Arterial blood gas                     | 10              | 552                          | 1.81                 |
| 膈肌相关检测<br>Diaphragm related tests              | 10              | 552                          | 1.81                 |
| 肺组织其他检测<br>Other tests of lung tissue          | 9               | 552                          | 1.63                 |
| 全血或外周血<br>Whole blood or peripheral blood      | 7               | 552                          | 1.27                 |
| 肺形态<br>Lung shape                              | 6               | 552                          | 1.09                 |
| 呼吸系统体征<br>Respiratory system signs             | 3               | 552                          | 0.54                 |
| 支气管面积/厚度<br>Bronchus area/thickness            | 3               | 552                          | 0.54                 |
| 肺指数<br>Lung index                              | 2               | 552                          | 0.36                 |
| 胸部 CT<br>Chest CT                              | 2               | 552                          | 0.36                 |
| 肺动脉压<br>Pulmonary artery pressure              | 1               | 552                          | 0.18                 |
| 肺组织 MRI<br>MRI of lung tissue                  | 1               | 552                          | 0.18                 |

表 5 慢阻肺模型给药时间与阳性对照药情况  
Table 5 Duration of drug administration and positive control drugs

| 给药时间(d)<br>Delivery time            | 频次<br>Frequency | 阳性对照药<br>Positive control drugs                                                                                                                                                                                                                                                                               | 频次<br>Frequency |
|-------------------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 28                                  | 13              | 氨茶碱<br>Aminophylline                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 7               |
| 14                                  | 8               | 地塞米松<br>Dexamethasone                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 4               |
| 30                                  | 6               | 固本咳喘片<br>Gubenkechuan tablets                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 4               |
| 7                                   | 4               | 盐酸莫西沙星、阿奇霉素、桂龙咳喘宁、沙美特罗替卡松粉、噻托溴铵、泼尼松、罗红霉素胶囊、强的松混悬液、布地奈德、盐酸班布特罗片<br>Moxifloxacin hydrochloride, Azithromycin, Guilong Kechuanning, Salmeterol, Salmeterol, Tiotropium Bromide, Prednisone, Roxithromycin capsules, Prednisone suspension, Budesonide, Bambu Hydrochloride Trophies                              | 2               |
| 15, 21, 60                          | 2               | 罗氟司特、Endostar、红霉素、脾氨肽、辛伐他汀、盐酸法舒地尔注射、Akt 激活剂 SC79、文拉法辛、硝苯地平、通宣理肺片、孟鲁司特钠、羧甲司坦、塞来昔布<br>Roflumilast, Endostar, Erythromycin, spleen aminopeptide, Simvastatin, Fasudil hydrochloride injection, Akt activator SC79, Venlafaxine, nifedipine, Tongxuan Lifei tablets, Montelukast sodium, Carboxysteine, Celecoxib | 1               |
| 32, 45, 49, 55, 56, 84, 90, 93, 210 | 1               | /                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | /               |

表 6 给药后效果评估指标的分类及使用频次  
Table 6 Classification and frequency of use of evaluation indexes after administration

| 检测指标<br>Detection indicator                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 频次<br>Frequency | 累计频数<br>Cumulative frequency | 百分比(%)<br>Percentage |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------------------|----------------------|
| 肺组织病理 Lung tissue pathology                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 28              | 46                           | 60.87                |
| 肺功能 Lung function                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 20              | 46                           | 43.48                |
| 一般状况 General condition                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 22              | 46                           | 47.83                |
| 肺泡灌洗液 Alveolar lavage fluid                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 14              | 46                           | 30.43                |
| 血清 Serum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 19              | 46                           | 41.30                |
| 肺组织匀浆 Lung tissue homogenate                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 10              | 46                           | 21.74                |
| 肺组织 Real-time PCR Lung tissue Real-time PCR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 4               | 46                           | 8.70                 |
| 肺组织蛋白印迹 Western blot of lung tissue                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 8               | 46                           | 17.39                |
| 肺组织免疫组化 Lung tissue immunohistochemistry                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 11              | 46                           | 23.91                |
| 肺泡平均内衬间隔、肺泡数 Average alveolar lining interval, number of alveoli                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 2               | 46                           | 4.35                 |
| 全血细胞计数、呼吸频率、温水游泳时间、气道黏膜上皮病变评分、气管壁炎症细胞浸润病变评分、气道酚红排泄量、止咳/抗炎实验、平喘/化痰实验、脾/胸腺指数、支气管形态学、骨骼肌组织 Real-time PCR、骨骼肌组织蛋白印迹、肺组织自噬情况、肺组织细胞凋亡情况、平均肺动脉压、右心肥厚指标、肺组织外观、肺组织超微结构、肺体积比、平均肺泡面积、血气分析、肺血流动力学、肺重、肺指数、气管上皮胶原面积、海马组织 Real-time PCR、海马组织蛋白印迹<br>Complete blood count, respiratory rate, warm water swimming time, airway mucosal epithelial lesion score, tracheal wall inflammatory cell infiltration lesion score, airway phenol red excretion, antitussive, anti-inflammatory test, anti-asthma, phlegm test, spleen index, thymus index, bronchial morphology, skeletal muscle tissue Real-time PCR, skeletal muscle tissue Western blot, lung tissue autophagy, lung tissue cell apoptosis, average pulmonary artery pressure, right heart hypertrophy index, lung tissue appearance, lung tissue ultramicro Structure, lung volume ratio, average alveolar area, blood gas analysis, lung hemodynamics, lung weight, lung index, tracheal subepithelial collagen area, hippocampal tissue Real-time PCR, hippocampal tissue Western blot | 均为 1<br>All 1   | 46                           | 2.17                 |



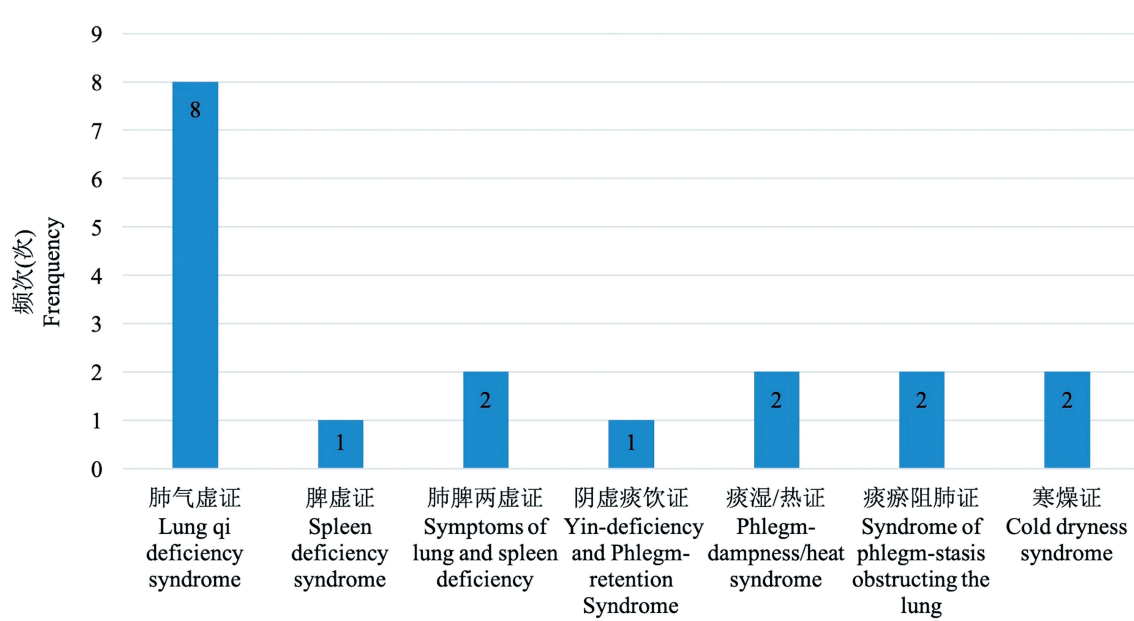


图1 慢阻肺实验动物模型证候造模情况

Figure 1 Syndrome modeling of experimental animal model of COPD

### 3 讨论

COPD 动物模型应是与人类 COPD 临床病症特点高吻合度的疾病模型,但目前尚未完全实现。造模的首要考虑因素为模型动物的选择,动物种类方面涉及鼠类、兔子、猪、狗等<sup>[11]</sup>。通过表 1 可知,COPD 模型的建立多使用 SD 大鼠、Wistar 大鼠和 C57 小鼠。既往研究发现,大鼠体积和肺表面积较大故便于操作,烟雾暴露后易出现纤维化沉积,但其缺点在于与人类的遗传相似性较低,单足体气道结构,粘膜纤毛清除率较高,没有杯状细胞,粘膜腺很少<sup>[12-16]</sup>,大鼠支气管炎症的介导体与人类不同,且对熏烟诱导的肺气肿样损伤的抵抗力较强<sup>[17]</sup>;小鼠具有遗传异质性,对肺损伤可出现多种反应,成本低,种类丰富,但限于专一鼻呼吸,体积小使肺参数测量困难,粘膜下腺数目少单足体气道分支,难以复制重度 COPD<sup>[18-21]</sup>。Vlahos 等<sup>[22]</sup>学者综合了繁殖周期、饲养成本、可操作性与基因信息等因素认为小鼠是最常见选择,研究还发现小鼠性别对烟雾的耐受性差异明显,雌性较雄性小鼠的对烟雾抵抗力差<sup>[23]</sup>,若同一项研究中雌雄同用,造模后肺部损伤程度可能不同,故多数研究仅用雄性小鼠,这与本研究调查结果相一致。

理想的 COPD 动物模型应再现人类疾病的主要特征<sup>[24]</sup>,慢支和肺气肿是其最主要特征。由表 2 得知,COPD 最常用的造模方式为烟雾暴露联合脂多

糖或单纯烟雾暴露,前者更能模拟人类 COPD 急性加重期的病理特点,后者与稳定期基本特点相似<sup>[25]</sup>。脂多糖是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要促炎性糖脂成分,有研究发现它与烟雾暴露联合可引发气道炎症和肺功能的显著改变<sup>[26]</sup>,能较好复制感染引起的 COPD 急性发作<sup>[27]</sup>,这与 COPD 的主要病因一致,即烟雾和气道感染,而且经鼻吸入脂多糖是一种模拟人类 COPD 发育的方法,该方法表现出细菌定植和急性加重<sup>[15]</sup>。与单纯烟雾暴露的小鼠相比,应用脂多糖有助于在更短的时间内建立肺气肿特征小鼠模型<sup>[28]</sup>,并更好重现了 COPD 的肺部炎症特征,小气道病变和气道重塑更为明显,病理生理改变与人类类似,更加符合本病自然发病过程<sup>[29]</sup>。本研究还发现烟雾暴露时多选择自制染毒箱,但其相关参数不明或描述甚少,如箱体体积、通风孔面积,以及烟雾中 CO 含量、NO 含量、温度和湿度等;同时,既往研究中对不同实验动物或建模方法的成功率鲜有提及,这些因素影响了模型的稳定性和可重复性,限制了模型规范化的形成。在造模周期方面,整体上周期偏长,多在 3 个月内,以 30 d 以内居多(表 3),部分研究单纯烟雾暴露周期长达 6 个月或以上<sup>[30-31]</sup>。

COPD 模型应具备慢性支气管炎、黏液分泌过多、小气道重塑、肺气肿、肺功能受损等特征,这些特征可从肺功能、肺组织病理、肺泡灌洗液、血清或肺组织匀等指标检测中验证。临床上 1 秒率是人群

COPD 确诊的金标准,但其在动物模型评价方面的地位有待进一步深入探究。虽然目前尚无统一模型判定标准,但几乎所有研究均包括病理形态学指标,因其对气道重塑和肺实质的破坏程度的敏感性比肺功能强<sup>[32]</sup>,其中平均线性截距,破坏指数和凋亡指数尤为重要<sup>[33]</sup>。本研究亦发现,肺组织病理是模型评价应用最多的指标,其次为肺功能及动物一般状况(表 4),若 3 者变化方向趋于一致,且变化情况与 COPD 人群吻合度较高,则更能体现模型构建的成功性。

COPD 模型的建立最主要的目的之一即为开发新药,故涉及给药时间和阳性对照药的选择。从表 5 得知,目前研究中给药时间多为 28 和 14 d, COPD 属慢性病,病程较长,故可探索延长给药时间,当然,这与给药剂量相关,因为不同药物对机体发生作用的剂量和致毒效力不同。严格来讲,需经过药效学实验、急性毒性实验和长期毒性实验来确定给药剂量和时间,但很少有文献述及给药时间确立的缘故,故本结果须慎重解释。本研究结果提示,阳性对照药之西药多选用氨茶碱、地塞米松,中药则多用固本咳喘片。在中医证候方面,研究涉及相对较多的是稳定期虚证<sup>[34-35]</sup>,即肺气虚证、脾虚证和肺脾两虚证(图 1)。现有指南中涵盖的证型未能全面复制于动物模型,且病证结合模型的评价指标缺乏特异性和稳定性,不同证候判断方面仅依靠症状,无法实现宏观指标的等效替代,同时缺乏特异性微观指标;再者,缺乏对病证结合模型的干预顺序及稳定性的探究,如先进行证候造模后进行 COPD 造模,或二者颠倒,亦或同时进行,目前偏于先病后证,但临床中 COPD 患者在疾病形成前往往已有证候存在,因此有必要探索在烟雾暴露前进行证候造模因素的干预,查验证候对 COPD 模型建立的影响。此外,还需考虑模型所处疾病分期,合并症的建立情况及模型死亡率,毕竟现有文献很少报道造模期间的实验动物的死亡率。临床实践中, COPD 分为急性加重期和稳定期,但在模型评价方面缺乏本病不同时期的特异性指标,尽管部分研究<sup>[34,36-38]</sup>对此进行初步探索,但尚无定论。目前造模方式往往难以达到急性期的状态,甚至仅达到稳定期的 1、2 级状态<sup>[39]</sup>。

本文通过对最近 10 年 COPD 模型相关文献数据分析发现,选用 SD/Wistar 大鼠或 C57 小鼠作为实验动物,采用烟雾暴露联合脂多糖滴注或单纯烟

雾暴露造模,周期在 3 个月内,能够有效提升 COPD 造模的成功率。模型评价指标建议综合肺组织病理、肺功能、一般状况和肺泡灌洗液等结果。当然,具体研究时当视研究目的、实验条件等选用不同的造模方法。总之,结合临床研究获得的知识,单用或联用烟雾暴露的动物模型是寻找 COPD 及其不同疾病时期或合并症新疗法的重要工具<sup>[6]</sup>。期望通过本文的简要阐述能为 COPD 的模型建立和受试药物评价提供一些方法学的参考。

#### 参考文献:

- [1] Summary NW. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease [J]. AM J Resp Crit Care, 2001, 163(5): 1256-1276.
- [2] Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms [J]. Eur Respir J, 2003, 22(4): 672-688.
- [3] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010; a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. Lancet, 2012, 380(9859): 2095-2128.
- [4] Tanner L, Single AB. Animal models reflecting chronic obstructive pulmonary disease and related respiratory disorders: translating pre-clinical data into clinical relevance [J]. J Innate Immun, 2020, 12(3): 203-225.
- [5] Lopez-Campos JL, Tan W, Soriano JB. Global burden of COPD [J]. Respirology, 2016, 21(1): 14-23.
- [6] Vlahos R, Bozinovski S. Preclinical murine models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 759: 265-271.
- [7] Barnes PJ. Glucocorticosteroids: current and future directions [J]. Brit J Pharmacol, 2011, 163(1): 29-43.
- [8] Barnes PJ. New anti-inflammatory targets for chronic obstructive pulmonary disease [J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(7): 543-559.
- [9] Davidson PK, Herbert M, Antczak P, et al. A systems biology approach reveals a link between systemic cytokines and skeletal muscle energy metabolism in a rodent smoking model and human COPD [J]. Genome Med, 2014, 6(8): 59.
- [10] Domínguez-Fandos D, Peinado VI, Puig-Pey R, et al. Pulmonary inflammatory reaction and structural changes induced by cigarette smoke exposure in the guinea pig [J]. Copd, 2012, 9(5): 473-484.
- [11] 李磊, 李春雷, 孙会卓, 等. 基于中西医临床病证特点的慢性阻塞性肺疾病稳定期动物模型分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(17): 4575-4580.
- [12] Zheng H, Liu Y, Huang T, et al. Development and characterization of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by sidestream cigarette smoke [J]. Toxicol Lett, 2009, 189(3): 225-234.

- [13] He F, Liao B, Pu J, et al. Exposure to ambient particulate matter induced COPD in a rat model and a description of the underlying mechanism [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 45666.
- [14] Wang L, Xu Z, Chen B, et al. The role of vascular endothelial growth factor in small-airway remodelling in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 41202.
- [15] Nie YC, Hao W, Li PB, et al. Characteristic comparison of three rat models induced by cigarette smoke or combined with LPS: to establish a suitable model for study of airway mucus hypersecretion in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2012, 25(5): 349–356.
- [16] Zhang X, Zheng H, Zhang H, et al. Increased interleukin (IL)-8 and decreased IL-17 production in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) provoked by cigarette smoke [J]. *Cytokine*, 2011, 56(3): 717–725.
- [17] 辛亚男. 慢性阻塞性肺疾病动物模型的研究进展 [J]. *临床肺科杂志*, 2013, 18(1): 118–120.
- [18] Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice [J]. *Science*, 1997, 277(5334): 2002–2004.
- [19] Rinaldi M, Maes K, De Vleeschauwer S, et al. Long-term nose-only cigarette smoke exposure induces emphysema and mild skeletal muscle dysfunction in mice [J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5(3): 333–341.
- [20] Bhat TA, Kalathil SG, Bogner PN, et al. Second-hand smoke induces inflammation and impairs immunity to respiratory infections [J]. *J Immunol*, 2018, 200(8): 2927–2940.
- [21] Patel DF, Peiro T, Shoemark A, et al. An extracellular matrix fragment drives epithelial re-modeling and airway hyperresponsiveness [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(455): eaaq0693.
- [22] Vlahos R, Bozinovski S. Modelling COPD co-morbidities in preclinical models [J]. *Respirology*, 2018, 23(12): 1094–1095.
- [23] Tam A, Bates JH, Churg A, et al. Sex-related differences in pulmonary function following 6 months of cigarette exposure; implications for sexual dimorphism in mild COPD [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0164835.
- [24] 张迪, 夏艺, 范丽, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立与评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(2): 83–88.
- [25] 周凤, 李德富, 袁良, 等. 两种不同方法建立的小鼠慢性阻塞性肺疾病模型的比较研究 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 42(5): 367–371.
- [26] Li Z, Wang J, Wang Y, et al. Bone morphogenetic protein 4 inhibits liposaccharide-induced inflammation in the airway [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(11): 3283–3294.
- [27] Shu J, Li D, Ouyang H, et al. Comparison and evaluation of two different methods to establish the cigarette smoke exposure mouse model of COPD [J]. *Rep*, 2017, 7(1): 15454.
- [28] Mizutani N, Fuchikami JI, Takahashi M, et al. Pulmonary emphysema induced by cigarette smoke solution and lipopolysaccharide in guinea pigs [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(9): 1559–1564.
- [29] 宋小莲, 王昌惠, 白冲. 脂多糖结合熏烟法和单纯熏烟法建立慢性阻塞性肺病大鼠模型的比较 [J]. *第二军医大学学报*, 2010, 31(3): 246.
- [30] Zheng HG, Li YN, Huang T, et al. Development and characterization of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by sidestream cigarette smoke [J]. *Toxicol Lett*, 2009, 189(3): 225–234.
- [31] 郭思佳, 封继宏, 吴健广, 等. 补肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病稳定期模型小鼠肺组织炎症反应的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2019, 46(6): 1314–1317.
- [32] Wright JL, Cosio M, Churg A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295(1): L1.
- [33] Liang GB, He ZH. Animal models of emphysema [J]. *Chin Med J*, 2019, 132(20): 2465.
- [34] 张葵, 滕久祥, 彭芝配. 肺气虚证稳定期慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(3): 179–181.
- [35] 曹福凯, 郭建辉, 梁栋, 等. 健脾益肺口服液对慢阻肺“肺脾气虚证”大鼠免疫功能的影响 [J]. *中成药*, 2014, 36(10): 2184–2186.
- [36] 武红莉, 冯淬灵, 武维屏. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型气道炎症与重塑的实验研究 [J]. *中日友好医院学报*, 2006, 20(2): 95–98.
- [37] 郭爱敏. 慢性阻塞性肺疾病患者稳定期的功能状态及其相关因素 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2010.
- [38] 王东, 王瑛, 刘又宁. 流感嗜血杆菌致慢性阻塞性肺疾病急性发作动物模型的建立 [J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2011, 10(2): 156–160.
- [39] Vlahos R, Bozinovski S. Recent advances in pre-clinical mouse models of COPD [J]. *Clin Sci*, 2014, 126(4): 253–265.

[收稿日期] 2021-10-13