

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.

He T, Qian PY, Hong M, et al. Methods and evaluation of airway remodeling characteristics in animal models of bronchial asthma [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(1): 117-123.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.01.015

诱发支气管哮喘动物模型气道重塑特征的方法和评价

何婷¹, 钱佩瑶¹, 洪敏¹, 刘成勇^{2*}, 郑劼^{1,3*}

(1. 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, 南京 210023; 2. 南京中医药大学附属医院, 南京 210029; 3. 南京中医药大学医学院·整合医学学院, 南京 210023)

【摘要】 气道重塑是慢性哮喘最复杂的病理基础之一, 建立具有气道重塑特征的支气管哮喘动物模型对评价药效及阐明病理机制的研究具有重要的意义。通过对相关动物模型进行分析比较, 总结可行的支气管哮喘气道重塑动物模型构建方法。

【关键词】 支气管哮喘; 气道重塑; 动物模型; Th2 型细胞因子

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022) 01-0117-07

Methods and evaluation of airway remodeling characteristics in animal models of bronchial asthma

HE Ting¹, QIAN Peiyao¹, HONG Min¹, LIU Chengyong^{2*}, ZHENG Jie^{1,3*}

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Province Key Laboratory of Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medicine, Nanjing 210023, China. 2. Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029. 3. Nanjing University of Chinese Medicine School of Medicine and Holistic Integrative Medicine, Nanjing 210023)

Corresponding author: LIU Chengyong. E-mail: lcy8601@163.com; ZHENG Jie. E-mail: jessiezheng@njucm.edu.cn

【Abstract】 Airway remodeling is one of the most complicated pathological characteristics of chronic asthma. The establishment of an animal model of bronchial asthma with airway remodeling characteristics has great significance to evaluate treatment efficacy and to elucidate the pathological mechanisms of chronic asthma. Based on the analysis and comparison of published asthma animal models, the method ology of feasible animal models of airway remodeling for bronchial asthma was summarized in the current review.

【Keywords】 bronchial asthma; airway remodeling; animal model; Th2 cytokine

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

哮喘是世界上最常见的呼吸系统疾病之一, 全球约有 3 亿人在接受治疗。这带来了巨大的经济负担, 其全球经济耗费超过结核病和艾滋病的总和^[1]。临床治疗使用糖皮质激素、 β_2 受体激动剂、

【基金项目】 国家自然科学基金青年科学基金项目(81904282)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81904282).

【作者简介】 何婷(1996—), 女, 硕士, 研究方向: 过敏性疾病的研究。Email: 875632374@qq.com

【通信作者】 刘成勇, 男, 博士, 副主任中医师, 研究方向: 慢性哮喘致病机制研究。Email: lcy8601@163.com;

郑劼, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 过敏性疾病的研究。Email: jessiezheng@njucm.edu.cn。

* 共同通信作者

抗胆碱能药物、白三烯受体拮抗剂和茶碱类药物,这些药物在急性期缓解哮喘发作上取得显著效果,但长期应用后疗效下降,使得哮喘的发病率和死亡率不仅没有降低,反而呈现上升的趋势,提示上述药品对于哮喘急性期缓解控制疗效明显,但不可长期应用,无法根治^[2]。气道重塑是哮喘反复发作和不完全可逆性的主要原因,也是难治性哮喘的主要病理基础之一。所以建立合适的气道重塑模型对治疗药物的筛选以及药物效应评价具有重要意义。

《2009 年全球哮喘协议》^[3]将哮喘定义为多种细胞和细胞因子参与的一种气道的慢性炎症,将导致呼吸困难、胸闷和咳嗽,以及反复发作。这些病症与肺内气流阻塞有关,这种阻塞通常是可自发或经治疗后逆转的,但随着病程的延长可导致气道结构发生改变,而不可逆转。这种病理现象称为气道重塑—表现为气道壁增厚、管腔狭窄、气流受限。涉及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积、气道平滑肌(airway smooth muscle, ASM)增厚、上皮纤维化、肌成纤维细胞增生、炎症细胞浸润、杯状细胞增生等^[4]。

哮喘是一种独特的人类疾病,动物与人之间存在巨大的种属差异,所以常用的模型并不能完全反映人体真实的病变特点,需要根据研究目的选择合适的动物造模。现将国内外有关支气管哮喘气道重塑动物模型的构建进行比较分析。

在 PubMed 数据库(2015 ~ 2020)查找关键词“airways remodeling”和“asthma”,并限定为“other Animals”,共得到 270 篇文献,部分文献尚未标明自己所采用的动物的性别。以下将针对不同种类动物模型的构建进行分析评价。

1 支气管哮喘气道重塑模型

常用过敏性哮喘模型的建立分为两个阶段,第 1 阶段是致敏,抗原刺激 B 细胞后,产生 IgE 可与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面高亲和受体 FcεR1 结合^[1],使动物致敏。第 2 阶段是激发,再次接触到抗原后,气道中的效应细胞(肥大细胞和嗜碱性粒细胞)将通过 FcεR1 激活,迅速引发超敏反应。在两个 IgE 分子同过敏原交联后^[2],这些效应细胞释放预先形成且能快速合成的递质,例如组胺,导致支气管痉挛,水肿和分泌粘液,大量粘液堵塞会导致气流不畅。同时,上皮细胞转化为间质细胞,气道外基质沉积,气道平滑肌增厚,上皮纤维化,胶原

蛋白沉淀,进而导致气道重塑。所以建立动物模型时分为两个阶段,致敏期和激发期。常用的方法在致敏期腹腔注射过敏原,在激发期用雾化的方法激发,使用的抗原包括屋尘螨(HDM)、卵清蛋白(OVA);佐剂包括氢氧化铝、氢氧化镁、硫酸铝钾。

2 气道重塑模型的实验动物种属

2.1 小鼠气道重塑模型

小鼠免疫遗传背景较为清楚,小鼠基因组与人类基因组有着 90% 以上的相似性,因此小鼠常被用作构建哮喘模型。根据种属不同,可分为 BALB/c 小鼠, C57BL/6 小鼠。小鼠造模的优点如下,实验成本较低,造模方法较为成熟,可选择种系较多^[5]。但也存在以下缺点,小鼠造模后形成的肺部的炎症与人类哮喘病理特征不同^[6],小鼠造模后晚期非生理性支气管狭窄^[5],此外,它对过敏原易产生耐受性^[7]。BALB/c 小鼠的特点,体积小、繁殖能力强^[8]、免疫系统与人类接近, BALB/c 小鼠易对 OVA 和花粉致敏产生气道高反应性和明显 IgE 超敏反应^[9],因此选用 OVA 为过敏原时,多选用 BALB/c 小鼠。C57BL/6 小鼠对屋尘螨(HDM)和 OVA 均敏感, C57BL/6 小鼠用 OVA 作为致敏原构建哮喘模型^[10]后,小鼠出现明显的呼吸急促、哮喘音、腹肌抽搐、烦躁及口唇紫绀等典型的哮喘症状,但并未形成气道重塑,因此 C57BL/6 小鼠可能不适用于气道重塑模型的建立。临床研究发现,哮喘在女性中发病率高于男性。也有文献表明在接受 OVA 刺激后,雌性小鼠同雄性小鼠相比能产生更强烈的过敏性炎症反应^[11]。此外,在 IL-13 和 OVA 的联合刺激下,同雄性小鼠相比,雌性小鼠表现出更加强烈的 Th2 型反应^[12]。

2.2 大鼠气道重塑模型

Wistar 大鼠与 SD 大鼠,两种品系的雌雄大鼠都曾用作哮喘造模,造模后的过敏反应由 IgE 介导,产生迟发型过敏反应的时间与临床患者相似,大鼠价格便宜,能获得大量的肺泡灌洗液。雄性 SD 大鼠较多使用,可能是因为其耐受性强,能够长时间耐受高浓度的雾化激发,最终出现典型过敏性炎症反应^[13]。但使用大鼠造模也有局限性,主要是缺乏相关的分子生物学试剂,且易对过敏原产生耐受性。

2.3 豚鼠气道重塑模型

豚鼠是常用的呼吸道过敏性疾病的模型动物。

因为它们肺部在解剖学、药理学和生理学上与人类具有相似之处^[14]。与上述哮喘的啮齿动物模型一样,豚鼠对 OVA 敏感,易诱发与哮喘患者相似的炎症反应,其中包括嗜酸性粒细胞增多和气道反应性 (airway hyperresponsiveness, AHR) 增强^[15],能产生典型的 I 型变态反应,雾化激发后能产生速发型与迟发型哮喘反应。豚鼠模型的缺点主要是豚鼠的变态反应由 IgG 而非 IgE 介导。造模后的豚鼠不会出现气道重塑,以及对 OVA 个体反应差异大,部分豚鼠可能不出现哮喘反应,而少数豚鼠可能会发生急性过敏性休克而死亡^[15]。此外,缺乏相关的分子生物学试剂,价格昂贵也使得豚鼠不是气道重塑模型构建的理想动物。

3 根据过敏原分类建立气道重塑模型

分析前文筛选的文献,报道表现出气道重塑的病理特征,按过敏原分类分为以下 2 类。

3.1 OVA 用作致敏原的致敏方法

致敏期操作相同,均为腹腔注射 OVA 致敏,激发期操作分别为:(1)OVA 雾化激发;(2)OVA 滴鼻激发;(3)OVA 刺激咽喉;(4)OVA 雾化,激发结束后连续 3 d 用 RSV(呼吸道合胞病毒)刺激。

3.2 HDM 用作致敏原的致敏方法

选用的不同致敏原分类:(1)腹腔注射 HDM 致敏,HDM 滴鼻激发;(2)气管注射 HDM 致敏,HDM 滴鼻激发。

根据选用的不同致敏原分类后,又按造模时间分类。我们将小鼠致敏期与激发期总时间少于 6 周的定义为急性模型,表现为在停止激发后,气道重塑等病理变化可以恢复。大于 6 周的定义为慢性模型。表现为在停止刺激后,气道重塑等病理变化不可逆。各种造模方法的详细信息如表 1 所示,比较各种造模方法所致的气道重塑相关病理表现,以及病理变化的持续的时间。

表 1 用不同的过敏原刺激构建哮喘的气道重塑模型的方法
Table 1 Airway remodeling model of asthma with different allergen

不同的刺激方法 Different ways of Stimulation method	致敏原 Sensibiligen	OVA /HDM (μ g)	佐剂 Adjuvant	刺激时间 Stimulate time
腹腔注射+ 雾化 长期 Intraperitoneal injection(ip)+ aerosol inhalation long time	卵清蛋白 OVA	20 μ g	20 μ g OVA 溶于含 2.25mg 氢氧化铝的 200 μ L 溶液 20 μ g OVA in 2.25 mg/200 μ L Al(OH) ₃	第 0、7、14 天腹腔注射 D0, 7, 14 ip
		—	1%OVA(w/v) ^[16]	第 21 天开始,每次雾化 30 min,8 周 Form D21 30 min each time, aerosol inhalation, eight weeks inhalation
	卵清蛋白 OVA	20 μ g	20 μ g OVA 溶于 2 mL 氢氧化铝和氢氧化镁混合液 20 μ g OVA/2 mL Al(OH) ₃ /Mg(OH) ₂	第 0、7、17 天腹腔注射 D0, 7, 17 ip
		—	1% OVA in saline ^[17]	第 24 ~ 26 天,每次雾化 20 min,之后,每周 1 次,连续 17 周 Aerosol inhalation, D24 ~ 26, 20 min, aerosol once a week, 17 weeks
	卵清蛋白 OVA	1 mg	1 mg OVA 溶于含 100 mg 氢氧化铝于 1.5 mL 生理 盐水 1 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃ in 1.5 mL saline	第 1 ~ 8 天腹腔注射 D1 ~ 8 ip
		—	OVA (0.1 mg/mL) ^[18]	每隔 2 d 雾化,每次 30 min,8 周 Once every two days 30 min a time eight weeks
	卵清蛋白 OVA	25 mg	25 mg OVA 溶含 1.75 mg 氢氧化铝的溶液 25 mg/mL OVA and 1.75 mg Al(OH) ₃	第 14、18、22、26 天腹腔注射 D14, 18, 22, 26 ip
		—	1%OVA(w/v) ^[19]	第 32 ~ 38 天每次雾化 30 min D32 ~ 38, 30 min a time
	卵清蛋白 OVA	100 μ g	100 μ g OVA 溶于氢氧化铝溶液 100 μ g OVA in Al(OH) ₃	第 1、14 天腹腔注射 D1, 14 ip
		—	1% OVA(w/v) ^[20]	第 19、21、23、25、27 天每次雾化 30 min D19, 21, 23, 25, 27 30 min a time aerosol inhalation
—	卵清蛋白 OVA	10 μ g	10 μ g OVA 溶于含 1.5 mg 的 200 μ L 生理盐水 10 μ g OVA in 1.5 mg Al(OH) ₃ in 200 μ L saline	第 1、14、21 天腹腔注射 D1, 14, 21 ip
		—	OVA (1% w/v in saline) ^[21]	第 26、27、33、34、47、48 天雾化,每次 20 min D26, 27, 33, 34, 47, 48 20 min once time

续表 1

不同的刺激方法 Different ways of stimulation method	致敏原 Sensibiligen	OVA /HDM (μg)	佐剂 Adjuvant	刺激时间 Stimulate time
腹腔+雾化 短期 Intraperitoneal injection + aerosol inhalation short time	卵清蛋白 OVA	20 μg	20 μg OVA 溶于含 2 mg 氢氧化铝于 500 μL PBS 20 μg OVA 2 mg Al (OH) ₃ in 500 μL PBS	第 0, 7, 14 天腹腔注射 D0, 7, 14 ip
	—		OVA(4%) ^[22]	2 d 雾化 1 次, 每次 30 min, 2 周 30 min a time, two weeks once every two days
	卵清蛋白 OVA	10 mg	10 mg OVA 溶于含 100 mg 氢氧化铝溶液 10 mg OVA in 100 mg Al(OH) ₃	第 0, 15 天腹腔注射 D0, 15 ip
	大鼠 Rats	OVA(2%) ^[23]	每次雾化 30 min, 1 周 2 次, 3 周 30 min a time, two times a week three weeks	
	卵清蛋白 OVA	10 μg	10 μg OVA 溶于含 2.25 mg 氢氧化铝于 100 μL 溶液 10 μg OVA in 2.25 mg in Al(OH) ₃ 100 μL	第 0, 7 天腹腔注射 D0, 7 ip
			OVA (1% in PBS) ^[24]	每次雾化 15 min, 1 周 3 次, 2 周 15 min a time, three times a week, two weeks
	卵清蛋白 OVA	20 μg	20 μg OVA 溶于含 4 mg 氢氧化铝于 0.2 mL 生理 盐水 10 μg OVA in 4 mg Al(OH) ₃ in 0.2 mL saline	第 1, 12 天腹腔注射 D1, 12 ip
		—	5% OVA ^[25]	第 18 ~ 23 天 每天雾化 1 次, 30 min D18 ~ 23 30 min once a day
		—	5% OVA	第 26 ~ 55 天 每周雾化 2 次 D26 ~ 55 atomization twice a week
	卵清蛋白 OVA	20 μg	20 μg OVA 溶于含 20 mg Al(OH) ₃ 于 0.2 mL 生理 盐水 20 μg OVA in 20 mg Al(OH) ₃ in 0.2 mL saline	第 0, 14 天腹腔注射 D0, 14 ip
腹腔+滴鼻 长期 Intraperitoneal injection + nasal inhalation long time		—	1%OVA ^[26]	第 21 ~ 27 天 每天雾化 1 次, 每次 60 min D21 ~ 27 once a day 60 min
	卵清蛋白 OVA	25 μg	25 μg OVA 溶于含 2 mg 氢氧化铝的 PBS 25 μg OVA in 2 mg Al(OH) ₃ in PBS ^[27]	第 0 天 25 μg , 第 7 天 100 μg 腹腔注射 D0 25 μg , D7 100 μg ip
		100 μg	100 μg OVA 溶于含氢氧化铝的 PBS 100 μg OVA/100 μL Al(OH) ₃ in PBS	每周雾化 1 次, 7 周 Once a week 7 weeks
	卵清蛋白 OVA	100 μg	100 μg OVA 溶于含 2.25 mg 氢氧化铝于 200 μL PBS 100 μg OVA in 2.25 mg in Al (OH) ₃ 200 μL PBS ^[28]	第 0, 7, 14 天腹腔注射 D0, 7, 14 ip
		100 μg	50 μL PBS	第 21 天开始每周雾化 3 次, 6 周 Form D21, three times a week, six week
	卵清蛋白 OVA	100 μg	100 μg OVA 溶于 100 μL 氢氧化铝溶液 100 μg OVA/100 μL Al(OH) ₃ ^[29]	第 1 天腹腔注射 D1 ip
		100 μg	100 μg OVA 溶于 200 μL 含氢氧化铝的 PBS 100 μg OVA in 2.25 mg in Al(OH) ₃ 200 μL PBS	第 8 天腹腔注射 D8 ip
			50 μL PBS	每周雾化 1 次, 5 周 Once a week, 5 weeks
	卵清蛋白 OVA	100 μg	100 μg OVA 溶于氢氧化铝溶液 100 μg OVA in Al(OH) ₃	第 0, 12 天腹腔注射 D0, 12 ip
		50 μg	50 μg OVA 溶于 50 μL PBS 50 μg /50 μL OVA in PBS ^[30]	第 18 ~ 23 天滴鼻 D18 ~ 23 nasal inhalatio
腹腔+滴鼻 短期 Intraperitoneal injection + nasal inhalation short time	卵清蛋白 OVA	10 μg	10 μg OVA 溶于 100 μL 生理盐水 10 μg OVA/100 μL in saline ^[31]	第 0, 2, 4, 7, 9, 10 天腹腔注射 D0, 2, 4, 7, 9, 10 ip
		20 μg	20 μg OVA 溶于 20 μL 生理盐水 20 μg OVA/20 μL saline	第 15, 18, 21 天滴鼻 D15, 18, 21 Intratracheal instillation
	屋尘螨 HDM	50 μg	HDM 腹腔注射 HDM ip	D0, 7, 14
		25 μg	HDM 滴鼻 ^[32] HDM aerosol inhalation ^[32]	D21 ~ 23
		1 μg	HDM 滴鼻 ^[33] HDM intratracheal instillation ^[33]	D0
	屋尘螨 HDM	10 μg	HDM 滴鼻 HDM aerosol inhalation	D6 ~ 10
		10 μg	HDM 滴鼻 HDM aerosol inhalation	每周滴鼻 3 次, 5 周 Three times a week, five weeks
	屋尘螨 HDM	25 μg	HDM 滴鼻 HDM aerosol inhalation ^[34]	每周滴鼻 5 次, 5 周 Five times a week, five weeks
滴鼻 短期 Aerosol inhalation short time	屋尘螨 HDM	25 μg	HDM 滴鼻 HDM aerosol inhalation ^[34]	每周滴鼻 5 次, 5 周 Five times a week, five weeks

按上述的分类方法,总结为以下几类:(1)长期造模,腹腔注射 OVA(溶于 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 中)致敏,OVA 雾化激发,采用此方法的共有 3 篇文献^[16-18],两篇文献的致敏剂量为 20 μg ,雾化时则采用浓度为 1%。其中一篇文献^[17]在造模结束后 14 d 检测了 AHR,气道重塑,粘液分泌,胶原蛋白沉淀等气道重塑相关病理机制,仍然尚未恢复到基线值。(2)短期造模,腹腔注射 OVA 致敏,OVA 雾化激发,8 篇文献^[19-26],致敏时的 OVA 给药量最高为 25 mg,其他小鼠均使用 10 μg 或者 20 μg OVA 进行致敏,而大鼠用 1 mg 或者 10 mg 的 OVA 进行致敏,致敏次数在 2 ~ 3 次;激发期用的 OVA 浓度范围在 1% ~ 5%。上述两种模型最主要的区别在于激发期的激发次数,因此表现出不同的病理特征。(3)长期造模,腹腔注射 OVA 致敏,OVA 滴鼻激发,采用此方法的共有 3 篇文献^[27-29],致敏过程如 Balkrishna 等^[27] OVA 给药量为 D0(25 μg)D7(100 μg),激发过程中用 100 μg OVA 进行 7 次刺激;Yang 等^[28]两次均为 100 μg ,用 100 ng 进行 5 次刺激。Chen 等^[29]致敏过程均给与 100 μg OVA,后给予 100 μg 进行激发,共 18 次。(3)短期造模,共有 2 篇文章^[30-31]分别采用 5、100 μg 进行致敏后连续 5 d 50 μg OVA 滴鼻激发,或者 10 μg OVA 咽喉刺激激发。

我们发现,长期造模多选用 OVA 作为抗原,慢性模型更能模拟人体哮喘的特点,主要表现为 Th2 型细胞因子介导的过敏性炎症,包括嗜酸性粒细胞浸润,气道高反应性^[35]。Luo 等^[16]采用 20 μg OVA 溶于 200 μL 含 2.25 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$ 溶液在 D0、D7、D14 进行腹腔注射致敏,D22 ~ D77,连续 8 周,每周 3 次,每次 30 min,用 1% OVA 进行雾化激发的方法。小鼠表现出气道重塑(气道壁增厚、上皮细胞纤维化、杯状细胞增生、分泌粘液、胶原蛋白沉淀)以及炎性细胞浸润,Th2 型细胞因子增多。此外,在一些慢性哮喘模型中,气道高反应性(AHR)和肺部炎症在最后 1 次过敏原刺激后持续数天或数周,它们的维持情况因实验方案的不同而有所变化。

急性模型,Sharma 等^[20]用 OVA(100 μL , 0.2 mg/mL 溶于含 2.25 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$ 溶液中)在 D1 和 D14 进行腹腔注射致敏,在 D28 用 OVA(20 μL , 5 mg/mL 溶于 saline 中)激发,发现气道高反应性在 24 h 后上升,在 48 h 后,恢复到正常值。Kung 等^[36]腹腔注射 OVA(500 μL , 0.016 mg/mL, 2 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$ 溶液中)在 D0、D6 致敏,然后用 0.5% OVA 在早晚各激发 1 次,时间为 30 min。肺部的炎症在

6 周内完全消失。此外,急性期模型缺乏气道重塑等病理变化,包括上皮细胞纤维化,上皮细胞增生等现象^[37]。

上述方法造出哮喘模型的气道重塑病理特征如表 2 所示:(1)用 50 μg HDM 腹腔注射致敏后,再用 20 μg HDM 连续 3 d 滴鼻进行激发;(2)HDM 气管注射 1 μg 致敏后,先连续 5 d 用 10 μg HDM 进行激发,再连续 5 周,每周 3 次激发;(3)用 25 μg HDM 连续 5 周滴鼻。

急性模型在造模过程中,多采用高浓度的致敏原刺激^[38],造成肺实质炎症,尤其是血管、小支气管的炎症,与人类哮喘的发展过程、病理表现不同。急性模型的缺点,在最后 1 次抗原刺激后的 2 周内,气道炎症和气道高反应性会消退^[17]。肺部的炎症在 6 周内完全消失。

哮喘模型动物在分析哮喘的发病机制和病理生理学上有重要作用,本文比较不同实验方案中选择实验动物、过敏原、佐剂、致敏和激发时间的异同点。通过上述的急慢性模型分类比较,我们发现,急性模型造模周期短,短期内出现强烈的炎症反应,以及气道重塑,但在停止抗原激发后,2 周内炎症反应就可恢复到基线值,气道重塑也会消退,所以不能较好地模拟人体哮喘的病理特征。而慢性模型的炎症反应和气道重塑在停止抗原激发的 2 周后,用 OVA 作为抗原的模型组同空白组相比,呼吸间歇值仍然存在显著性差异,提示其气道重塑仍然存在^[17]。此外,Deng 等^[19]的造模方法,提示小鼠的气道壁增厚,同人类哮喘的病理表现—气道平滑肌增厚较为相似。如前文所述,哮喘的慢性模型更多地使用 OVA 作为抗原,BALB/c 小鼠作为模型动物。因此,模拟以气道重塑为特征的慢性哮喘动物模型可选用雌性 BALB/c 小鼠,使用 Luo 等^[16]的造模方法,D0、D7、D14 腹腔注射 20 μg OVA 溶于 200 μL 含 2.25 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$ 混悬液中,自 D21 起,用浓度为 1% 的 OVA 雾化,8 周,每周 3 次,每次 30 min。

我们的研究发现,小鼠是常用的模式动物,被广泛地应用到哮喘模型构建,实验成本较低,造模方法成熟。因此相应的抗体种类多,便于科学实验的展开。但是,小鼠因为体型较小,可供分析的样本量较少。大鼠也被用于构建哮喘模型,所提供的样本量较多,但相应的抗体种类较少,不利于开展部分科学实验。豚鼠也用于构建哮喘模型,且肺部结构与人体相似,但受制于抗体种类,对于大部分科学实验的进行都有限制。基于此,我们认为,使用小鼠构建哮喘模型,有益于科学实验的开展。

表 2 哮喘模型的气道重塑相关病理特征

Table 2 Pathological characteristics related to airway remodeling in asthma models

不同的 刺激方法 Different ways of stimulation method	作者 Author	胶原蛋白 沉淀 Collagen deposition	粘液分泌 Mucus secretion	气道纤 维化 Airway fibrosis	杯状细 胞增生 Goblet cell hyperplasia	TH2 型细 胞因子 Th2 cytokine	气道壁增厚 Thickening of the airway	炎性细 胞浸润 Inflammatory cell infiltration	气道高反应 Airway hyperreactivity
腹腔+ 雾化长期	Luo 等 ^[16]	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++
Intraperitoneal injection (ip) + aerosol inhalation long time	Flanagan 等 ^[17]	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++
	Huang 等 ^[18]	+++	-	+++	+++	+++	-	+++	-
	Deng 等 ^[19]	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	-
腹腔+雾化 短期	Sharma 等 ^[20]	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	-
Intraperitoneal injection (ip) + aerosol inhalation short time	Prabhala 等 ^[21]	-	-	+++	-	-	-	+++	+++
	Cheng 等 ^[22]	+++	-	-	-	-	-	+++	+++
	Ge 等 ^[23]	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	-
	Anatriell 等 ^[24]	+++	+++	-	-	+++	-	+++	-
腹腔+滴鼻 长期	Balkrish 等 ^[27]	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	-
Intraperitoneal injection + nasal inhalation long time	Yang 等 ^[28]	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	-
	Chen 等 ^[29]	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++
腹腔+滴鼻 短期	An 等 ^[30]	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	-
Intraperitoneal injection + nasal inhalation short time	Boldrini-Leite 等 ^[31]	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
腹腔+滴鼻 短期	Yao 等 ^[32]	+++	+++	+++	-	+++	-	+++	+++
Intraperitoneal injection + nasal inhalation short time	Debeuf 等 ^[33]	+++	-	-	+++	+++	-	+++	-
气管+滴鼻 Transtracheal injection+ nasal inhalation	McAlinden 等 ^[34]	+++	+++	+++	-	-	-	+++	-

在研究哮喘发病机制的过程中,除上述涉及到的动物模型,还需要充分利用新的技术,包括组织培养技术和计算机建模等。这些方法为哮喘研究和药物研发提供新的思路,许多技术已经被开发来研究疾病的机制,如分子对接技术(配体受体)、虚拟病人。但新的技术也是基于已知的疾病机制,而选择合适动物模型是研究疾病机制的基石。

参 考 文 献(References)

[1] Han RT, Kim S, Choi K, et al. Asthma-like airway inflammation and responses in a rat model of atopic dermatitis induced by neonatal capsaicin treatment [J]. J Asthma Allergy, 2017, 10: 181-189.

[2] Pedro GB, Aun MV, Takejima P, et al. United airway disease: current perspectives [J]. J Asthma Allergy, 2016, 9: 93-100.

[3] Kroegel C, Wirtz H. History of guidelines for the diagnosis and management of asthma; from opinion to control [J]. Drugs, 2009, 69(9): 1189-1204.

[4] Shinagawa K, Kojima M. Mouse model of airway remodeling; strain differences [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 168

(8): 959-967.

[5] Zosky GR, Sly PD. Animal models of asthma [J]. Clin Exp Allergy, 2007, 37(7): 973-988.

[6] Kumar RK, Foster PS. Modeling allergic asthma in mice: pitfalls and opportunities [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2002, 27(3): 267-272.

[7] Fulkerson PC, Rothenberg ME, Hogan SP. Building a better mouse model: experimental models of chronic asthma [J]. Clin Exp Allergy, 2005, 35(10): 1251-1253.

[8] Shapiro SD. The use of transgenic mice for modeling airways disease [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2008, 21(5): 699-701.

[9] Pabst R. Animal models for asthma; controversial aspects and unsolved problems [J]. Pathobiology, 2002, 70(5): 252-254.

[10] 李寅超, 赵宜红. 泡桐花总黄酮抗 C57BL/6 小鼠哮喘气道炎症的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(8): 451-453.

Li YC, Zhao YH. Experimental study on the effect of total flavonoids of paulownia flower on airway inflammation in C57BL/6 mice with asthma [J]. World J Integr Tradit Western Med, 2007, 2(8): 451-453.

[11] Melgert BN, Postma DS, Kuipers I, et al. Female mice are more

- susceptible to the development of allergic airway inflammation than male mice [J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35(11): 1496–1503.
- [12] Zhao H, Moarbes V, Gaudreault V, et al. Sex differences in IL-33-induced STAT6-dependent type 2 airway inflammation [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 859.
- [13] 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.
- Tuo HY, Wang ZW, Ren Y, et al. Methods and evaluation of ovalbumin in replicating asthma animal models [J] *J Gansu Univ Chin Med*, 2016, 33(1): 71–74.
- [14] 罗凤鸣, 王曾礼, 刘小菁, 等. 糖皮质激素对哮喘大鼠 Clara 细胞分泌蛋白表达的影响 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2002, 25(9): 26–29.
- Luo FM, Wang ZL, Liu XJ, et al. Effect of glucocorticoids on the expression of secreted protein in Clara cells of asthmatic rats. [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2002, 25(9): 26–29.
- [15] Pretolani M, Vargaftig BB. Role of eosinophil mobilization and activation in experimental airway inflammation and bronchopulmonary hyperreactivity [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1996, 796: 72–81.
- [16] Luo J, Zhang L, Zhang X, et al. Protective effects and active ingredients of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts on airway responsiveness, inflammation and remodeling in mice with ovalbumin-induced allergic asthma [J]. *Phytomedicine*, 2019, 52: 168–177.
- [17] Flanagan TW, Sebastian MN, Battaglia DM, et al. 5-HT2 receptor activation alleviates airway inflammation and structural remodeling in a chronic mouse asthma model [J]. *Life Sci*, 2019, 236: 116790.
- [18] Huang Y, Wang L, Jia XX, et al. Vitamin D alleviates airway remodeling in asthma by down-regulating the activity of Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 68: 88–94.
- [19] Deng L, Ma P, Wu Y, et al. High and low temperatures aggravate airway inflammation of asthma: Evidence in a mouse model [J]. *Environ Pollut*, 2020, 256: 113433.
- [20] Sharma P, Yi R, Nayak AP, et al. Bitter taste receptor agonists mitigate features of allergic asthma in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 46166.
- [21] Prabhala P, Wright DB, Robbe P, et al. Laminin $\alpha 4$ contributes to airway remodeling and inflammation in asthma [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 317(6): L768–L777.
- [22] Cheng Q, Shang Y, Huang W, et al. p300 mediates the histone acetylation of ORMDL3 to affect airway inflammation and remodeling in asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 76: 105885.
- [23] Ge Y, Cheng R, Sun S, et al. Fangxiao Formula alleviates airway inflammation and remodeling in rats with asthma via suppression of transforming growth factor- β /Smad3 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119: 109429.
- [24] Anatriello E, Cunha M, Nogueira J, et al. Oral feeding of *Lactobacillus bulgaricus* N45.10 inhibits the lung inflammation and airway remodeling in murine allergic asthma: Relevance to the Th1/Th2 cytokines and STAT6/T-bet [J]. *Cell Immunol*, 2019, 341: 103928.
- [25] Shao Y, Chong L, Lin P, et al. MicroRNA-133a alleviates airway remodeling in asthama through PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by targeting IGF1R [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4068–4080.
- [26] Pu Y, Liu Y, Liao S, et al. Azithromycin ameliorates OVA-induced airway remodeling in BALB/c mice via suppression of epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 58: 87–93.
- [27] Balkrishna A, Solleti SK, Singh H, et al. Calcio-herbal formulation, Divya-Swasari-Ras, alleviates chronic inflammation and suppresses airway remodelling in mouse model of allergic asthma by modulating pro-inflammatory cytokine response [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 110063.
- [28] Yang G, Volk A, Petley T, et al. Anti-IL-13 monoclonal antibody inhibits airway hyperresponsiveness, inflammation and airway remodeling [J]. *Cytokine*, 2004, 28(6): 224–232.
- [29] Chen YF, Huang G, Wang YM, et al. Exchange protein directly activated by cAMP (Epac) protects against airway inflammation and airway remodeling in asthmatic mice [J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 285.
- [30] An G, Wang W, Zhang X, et al. Combined blockade of IL-25, IL-33 and TSLP mediates amplified inhibition of airway inflammation and remodelling in a murine model of asthma [J]. *Respirology*, 2019, 25(6): 603–612.
- [31] Boldrini-Leite LM, Michelotto PV Jr, de Moura SAB, et al. Lung tissue damage associated with allergic asthma in BALB/c mice could be controlled with a single injection of mesenchymal stem cells from human bone marrow up to 14 d after transplantation [J]. *Cell Transplant*, 2020, 29: 963689720913254.
- [32] Yao L, Wang S, Wei P, et al. Huangqi-Fangfeng protects against allergic airway remodeling through inhibiting epithelial-mesenchymal transition process in mice via regulating epithelial derived TGF- $\beta 1$ [J]. *Phytomedicine*, 2019, 64: 153076.
- [33] Debeuf N, Zhakupova A, Steiner R, et al. The ORMDL3 asthma susceptibility gene regulates systemic ceramide levels without altering key asthma features in mice [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(6): 1648–1659.
- [34] McAlinden KD, Deshpande DA, Ghavami S, et al. Autophagy activation in asthma airways remodeling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 60(5): 541–553.
- [35] Foster PS, Ming Y, Matthei KI, et al. Dissociation of inflammatory and epithelial responses in a murine model of chronic asthma [J]. *Lab Invest*, 2000, 80(5): 655–662.
- [36] Kung TT, Jones H, Adams GK 3rd, et al. Characterization of a murine model of allergic pulmonary inflammation [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 1994, 105(1): 83–90.
- [37] Holgate ST, Davies DE, Puddicombe S, et al. Mechanisms of airway epithelial damage: epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma [J]. *Eur Respir J Suppl*, 2003, 44: 24s–29s.
- [38] Leong KP, Huston DP. Understanding the pathogenesis of allergic asthma using mouse models [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2001, 87(2): 96–109.