

陈广瑞,李俭,梁笛,等. 肺纤维化大鼠模型造模方法的优化 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(2):201-207.

Chen GR, Li J, Liang D, et al. Optimization of modeling method for pulmonary fibrosis rat model [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(2):201-207.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.02.008

肺纤维化大鼠模型造模方法的优化

陈广瑞^{1,2}, 李俭², 梁笛², 秦宜德¹, 付汉江^{1,2*}

(1. 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230031; 2. 军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850)

【摘要】目的 比较气管内滴注、气管内雾化吸入博来霉素(5 mg/kg)两种给药方式,以及比较腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉、异氟烷呼吸麻醉(与氧气混合吸入时,异氟烷浓度为0.5%)两种麻醉方式对肺纤维化大鼠模型的影响,探讨更优的造模方法。**方法** 选择雄性SPF级SD大鼠50只,随机分为空白对照组、腹腔麻醉气管内滴注组、腹腔麻醉气管内雾化吸入组、呼吸麻醉气管内滴注组和呼吸麻醉气管内雾化吸入组,每组各10只。观察给药后1、3、7、14、21 d,各组大鼠的生存状况及体重变化;给药3周后处死大鼠,取肺称重,计算肺系数;HE染色观察肺组织炎症变化;Masson染色观察肺组织中胶原增殖;Western Blot检测肺组织中转化生长因子- β 1(TGF- β 1)蛋白表达量;碱水解法检测肺组织中羟脯氨酸(HYP)的含量。**结果** 与空白对照组比,4种模型组的大鼠精神状态不佳、体重下降、肺指数上升;肺组织损伤明显,炎症水平增加,胶原增殖显著;肺组织中TGF- β 1蛋白表达水平升高($P < 0.001$);发现仅气管内雾化吸入博来霉素组大鼠肺组织中羟脯氨酸的含量增加($P < 0.05$)。发现气管内滴注的建模方式其模型大鼠肺部纤维化病灶分布不均匀,纤维化程度不一。麻醉程度均为中麻醉的情况下,异氟烷呼吸麻醉(与氧气混合吸入时,异氟烷浓度为0.5%)的大鼠平均苏醒时间和死亡率均低于腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉方式。**结论** 异氟烷呼吸麻醉下气管内雾化吸入博来霉素是建立肺纤维化大鼠模型的优选造模方法。

【关键词】 造模方法;肺纤维化;博来霉素;麻醉方式

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2023)02-0201-07

Optimization of modeling method for pulmonary fibrosis rat model

CHEN Guangrui^{1,2}, LI Jian², LIANG Di², QIN Yide¹, FU Hanjiang^{1,2*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230031, China. 2. Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

Corresponding author: FU Hanjiang. E-mail: fuhj75@126.com

【Abstract】Objective To compare the effects of intra-tracheal drip and intratracheal nebulized spray of bleomycin (5 mg/kg) on the rat model of pulmonary fibrosis, and to compare the effects of intraperitoneal 3% pentobarbital sodium anesthesia and isoflurane respiratory anesthesia (isoflurane concentration of 0.5% when mixed with oxygen for inhalation) on the rat model of pulmonary fibrosis, and to explore a more optimal modeling method. **Methods** Fifty male SPF-grade SD rats were randomly divided into blank control group, intraperitoneal anesthetic intratracheal drip group, intraperitoneal anesthetic intratracheal nebulizer spray group, respiratory anesthetic intratracheal drip group and respiratory anesthetic intratracheal nebulizer spray group, 10 rats in each group. The survival status and body weight of rats in each group were observed at 1, 3, 7, 14 and 21 d after drug administration; rats were executed 3 weeks after drug administration, and lungs were weighed to calculate lung coefficients; HE staining was performed to observe inflammatory changes in lung tissues; Masson staining was performed to observe collagen proliferation in lung tissues; Western Blot was performed to detect transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) protein expression in lung tissues; alkali hydrolysis was performed to detect hydroxyproline (HYP) in lung tissues. **Results** Compared with the blank control group, the rats in the four model groups

【基金项目】军队生物安全研究专项(20SWAQK22)。

Funded by Army Biosafety Research Special Project (20SWAQK22).

【作者简介】陈广瑞(1995—),女,在读硕士研究生,研究方向:肺纤维化发生发展的机制。Email:rui15855751020@163.com

【通信作者】付汉江(1975—),男,副研究员,博士,研究方向:非编码RNA功能调控。Email:fuhj75@126.com

had poor mental status, decreased body weight, and increased lung index; lung tissue damage was evident, increased inflammation levels, and significant collagen proliferation; increased TGF- β 1 protein expression levels in lung tissues ($P < 0.001$); and increased hydroxyproline levels in lung tissues of rats in the intratracheal nebulizer sprayed with bleomycin only group were found ($P < 0.05$). The modeling approach of intratracheal drip injection was found to have a heterogeneous distribution of fibrotic lesions in the lungs of its model rats, with varying degrees of fibrosis. The mean time to awakening and mortality rates were lower in rats under isoflurane respiratory anesthesia (0.5% isoflurane concentration when mixed with oxygen for inhalation) than in the intraperitoneal 3% pentobarbital sodium anesthesia modality when both anesthesia levels were medium. **Conclusion** Intratracheal nebulized spray of bleomycin under isoflurane respiratory anesthesia is the preferred modeling method for establishing a rat model of pulmonary fibrosis.

[Keywords] modeling method; pulmonary fibrosis; bleomycin; anesthesia method

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

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是一种临床常见病症,是由多种原因引起的慢性炎症间质性肺疾病。其临床表现为不同程度的呼吸困难、咳嗽,部分患者甚至出现呼吸衰竭而危及生命^[1];严重的还会导致肺部结构改变,功能丧失^[2]。近年来,其发病率和死亡率呈逐渐上升的趋势,5 年生存率不到 50%^[3]。肺纤维化是新冠肺炎的后遗症与并发症之一^[4],有调查显示,超过三分之一的患者核酸转阴后仍存在肺部纤维化的情况,后疫情时代,新冠肺炎的后遗症问题应当引起足够的重视^[5]。肺纤维化动物模型是开展相关研究的必要工具。目前用于建立肺纤维化动物模型的诱导药物有博来霉素^[6]和百草枯^[7],其中以博来霉素最为常用^[8]。已有大量的实验证明,可通过腹腔注射^[9]、尾静脉注射^[10]、气管“T”形切口后气管内灌注^[11]等给药途径建立肺纤维化动物模型。腹腔注射形成的纤维化病灶与尾静脉注射给予博来霉素会使模型动物出现胃肠道反应和尾巴肿胀坏死的情况^[12]。气管“T”形切口后气管内灌注会形成创口,不利于后续灌胃给药等实验的进行。本文建立一种气管内雾化吸入博来霉素的给药方式,并对气管内滴注、气管内雾化吸入两种给药方式进行比较;同时对异氟烷呼吸麻醉(异氟烷与氧气混合吸入时,异氟烷浓度为 0.5%)和腹腔麻醉(3%戊巴比妥钠)进行了比较,探讨建立肺纤维化大鼠模型更优的造模方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

50 只 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(180 ± 10)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2016-0011】。正常进食,实验前适应性喂养 1 周。大鼠饲养在湿度恒定,22 ~ 26℃ 和 12 h 光/暗循环的环境中,饲养于军事医学研究院实验

动物中心进行【SYXK(军)2017-0023】。本实验所有相关操作均在军事医学研究院动物伦理委员会的批准下进行,动物管理和使用均符合法规要求(IACUC-DWZX-2020-503)。

1.1.2 主要试剂与仪器

异氟烷(上海玉研科学仪器有限公司, S10010533),盐酸博来霉素(美国 MCE 公司, HY-17565A),戊巴比妥钠粉剂(国药集团化学试剂有限公司, WS20200401),BCA 蛋白检测试剂盒(Thermo, TC 263614),羟脯氨酸(hydroxyproline, HYP)试剂盒(南京建成生物工程研究所, A030-2-1), β -actin 抗体(北京普利莱基因技术有限公司, c1313),TGF- β 1 抗体(Abcam, ab179695),RIPA 裂解液(北京普利来基因技术有限公司, c1053),蛋白酶抑制剂(北京普利来基因技术有限公司, P1256)。

5200 全自动数码凝胶图像分析系统(上海天能科技有限公司,中国),SPFetra MAX 190 酶标仪(Molecular Devices,美国),A11665704950 紫外分光光度计(岛津,日本),注射针、喷雾针(北京慧荣和科技有限公司,中国),XE70 氧气发生器(PFAK,英国)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立及分组

将 50 只 SPF 级 SD 大鼠称重、编号,适应性饲养 1 周后随机分组,每组 10 只,分为①空白对照组、②腹腔麻醉气管内滴注组、③腹腔麻醉气管内雾化吸入组、④呼吸麻醉气管内滴注组、⑤呼吸麻醉气管内雾化吸入组。造模方式如图 1。腹腔麻醉使用 3%戊巴比妥钠,剂量为 40 mg/kg;异氟烷呼吸麻醉使用氧气发生器,将大鼠放置在一个密闭空间中,异氟烷与氧气混合吸入时,异氟烷浓度为 0.5%。当观察到大鼠呈规则的胸腹式呼吸,呼吸数、换气量减少时,取出,观察眼的表现为:大鼠眼球置中央或靠近中央眼睑反射迟钝,对光反射亦迟钝,瞳孔

稍开大;无口腔反射,说明已将大鼠麻醉至中麻醉^[13]。若眼表现为:有眼球运动、眼睑、对光反射眼球向内下方,瞳孔收缩,结膜露出,流泪;口腔反射:咽下、咽喉头反射尚有,则为浅麻醉,将动物放回,继续麻醉至中麻醉。将博来霉素粉末溶于无菌生理盐水,终浓度为 5 mg/mL,待完全溶解后过 0.22 μm 滤膜除菌。待大鼠至中麻醉后,将大鼠置于倾斜的操作台上,腹部向上,喉镜压住舌根暴露气管口,注射针经口腔到达气管,进针约 5 cm,分别气管内滴注、气管内雾化喷入博来霉素,剂量为

5 mg/kg,此过程在 15 s 内进行。给予博来霉素后将大鼠直立并左右旋转,使药液在肺内均匀分布。待动物苏醒后,将动物置于 SPF 级动物饲养房正常饲养 21 d。期间观察各组大鼠的生存状况,体重变化。21 d 后将大鼠按其分组时命名的麻醉方式进行麻醉,沿腹中线剖开,取肺,洗净,称重,计算肺指数。取左肺放入 4% 多聚甲醛通用型组织固定液,用作病理检测;右肺上肺叶用作 Western Blot;右肺中肺叶用作羟脯氨酸的检测,右肺下肺叶放进冻存管冻存于 -80°C 冰箱留存备用。

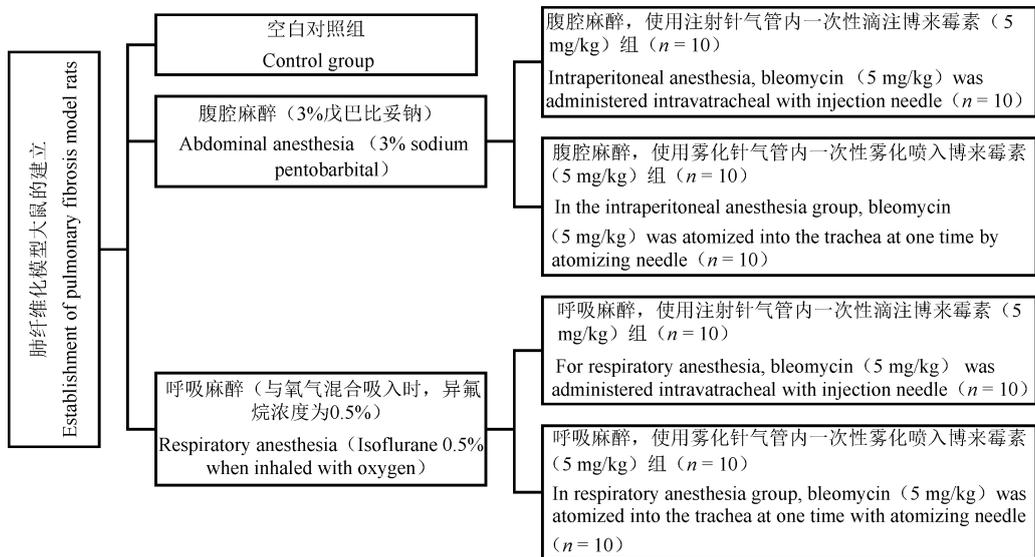


图 1 博来霉素诱导大鼠肺纤维化的造模流程

Figure 1 Modeling process of bleomycin-induced PF in rats

1.2.2 观察各组大鼠体重变化

建立 PF 大鼠模型后,观察各组大鼠 1、3、7、14、21 d 的生存状况及体重变化。

1.2.3 观察各组大鼠肺组织表面特征及肺指数变化

建立 PF 大鼠模型后第 22 天,将各组的大鼠分别称重,按其分组时命名的麻醉方式麻醉后,沿腹中线剖开,取双肺,用预冷的生理盐水洗净,吸水纸吸干水分,称量肺组织湿重,计算肺指数,肺指数 = 肺组织湿重/大鼠体重。

1.2.4 病理检测

取各组大鼠的左肺,经预冷的生理盐水充分洗净,擦干水分,放入 4% 多聚甲醛通用型组织固定液,固定 24 h 后,经脱水、透明、浸蜡和包埋,最后切片,HE 染色观察肺泡炎症变化,Masson 染色观察肺组织纤维化。

1.2.5 Western Blot 检测 TGF- β 1 蛋白表达量

取各组大鼠的右肺上叶,加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液充分研磨后置于冰上裂解,每 10 min 振荡 10 s,共 30 min。然后在 4°C , 11 440 r/min 离心 15 min,收集上清液,BCA 法测定上清液中蛋白含量。取 50 μg 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,随后转移至 PVDF 膜,用 5% 脱脂牛奶室温封闭 90 min,洗膜,加入一抗稀释液 (TGF- β 1, 1:5000; β -actin, 1:5000), 4°C 冰箱过夜,次日加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 40 min,最后使用 ECL 显色。利用 Image J 图像分析软件进行分析,结果用灰度值表示,以目的蛋白与 β -actin 的灰度值比值,作为目的蛋白表达的相对水平。

1.2.6 碱水解法检测羟脯氨酸 (HYP) 的含量

取各组大鼠的右肺中叶,匀浆,按照试剂盒说明书进行操作,检测肺组织中羟脯氨酸的含量。

1.3 统计学分析

数据采用 GraphPad Prism 8.3.0 统计软件进行

统计分析, 计量资料以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠存活率的影响

空白对照组大鼠精神状态良好、毛色鲜亮、生

长正常、无大鼠死亡。麻醉程度均为中麻醉的情况下, 呼吸麻醉的大鼠苏醒较快, 平均时间为 1 min, 给予博来霉素后死亡率为 0; 而腹腔注射 3% 戊巴比妥钠的大鼠苏醒较慢, 平均时间为 10 min, 给予博来霉素后均有不同程度的死亡率, 其中腹腔麻醉气管内滴入组大鼠死亡率为 20%, 腹腔麻醉气管内雾化喷入组大鼠死亡率为 40%, 如表 1。

表 1 4 种建模方式的大鼠的死亡率

Table 1 Mortality of rats modeled in four different ways

组别 Groups	1 d	7 d	14 d	21 d	总死亡率 (%) Total mortality (%)
空白对照组 Control group	0	0	0	0	0
腹腔麻醉气管内滴注组 Intratracheal infusion group with intraperitoneal anesthesia	2	0	0	0	20
呼吸麻醉气管内滴注组 Intratracheal infusion group with respiratory anesthesia	0	0	0	0	0
腹腔麻醉气管内雾化喷入组 Atomization is sprayed into the trachea group with intraperitoneal anesthesia	4	0	0	0	40
呼吸麻醉气管内雾化喷入组 Atomization is sprayed into the trachea group with respiratory anesthesia	0	0	0	0	0

2.2 对大鼠体重的影响

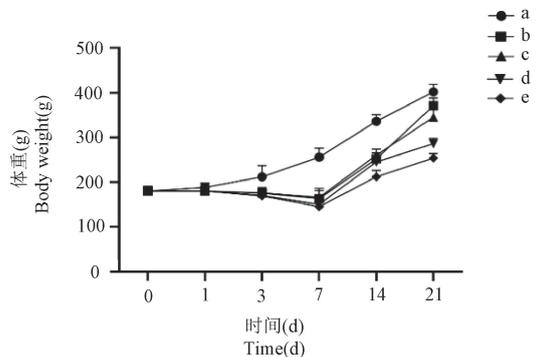
空白对照组大鼠体重呈逐渐上升的趋势, 其余 4 个建模组大鼠在 0 ~ 1 d 的体重趋于平缓, 各组大鼠体重与空白对照组比差异不具有显著性; 1 ~ 3 d 体重下降且与空白对照组相比均具有统计学意义 ($P < 0.01$); 各模型组与空白对照组相比, 3 ~ 7 d 体重急剧下降 ($P < 0.0001$); 7 ~ 14 d 各模型组大鼠体重均有所上升, 上升幅度与空白对照组间具有统计学意义 ($P < 0.0001$); 14 ~ 21 d 各模型组大鼠体重仍旧上升且与空白对照组大鼠相比具有统计学意义 ($P < 0.01$), 其中呼吸麻醉气管内雾化喷入组大鼠与其余 3 个模型组大鼠相比体重上升最为缓慢 ($P < 0.01$) (如图 2)。

2.3 对肺组织的表面特征及肺指数的影响

如图 3, 与空白对照组大鼠肺组织相比, 4 个模型组大鼠肺组织表面均有不同的肺纤维化病灶, 且气管内雾化喷入的两组大鼠肺组织表面的纤维化病灶更加均匀。如表 2, 与空白对照组相比, 腹腔麻醉气管内滴注组、呼吸麻醉气管内滴注组及腹腔麻醉气管内雾化喷入组大鼠肺指数上升显著 ($P < 0.05$)。而呼吸麻醉气管内雾化喷入组大鼠肺指数上升最为显著 ($P < 0.01$)。

2.4 4 种建模方式对 PF 大鼠肺组织炎症的影响

如图 4, 空白对照组大鼠肺组织肺泡结构正常;



注: a: 空白对照组; b: 腹腔麻醉气管内滴注组; c: 呼吸麻醉气管内滴注组; d: 腹腔麻醉气管内雾化喷入组; e: 呼吸麻醉气管内雾化喷入组。(下图同)

Figure 2 Body weight of rats with PF induced by different modeling methods and normal rats
Note. a. Control group. b. Intratracheal infusion group with intraperitoneal anesthesia. c. Intratracheal infusion group with respiratory anesthesia. d. Atomization is sprayed into the trachea group with intraperitoneal anesthesia. e. Atomization is sprayed into the trachea group with respiratory anesthesia. (The same in the following figures)

Figure 2 Body weight of rats with PF induced by different modeling methods and normal rats

肺内支气管上皮细胞无明显脱落; 未见明显的炎性改变。4 组不同的模型组大鼠的肺组织均有不同程度的肺泡扩张, 肺泡壁变薄; 组织多处淤血、出血; 组织实质化, 肺泡结构不清晰; 肺泡壁增厚, 并伴有

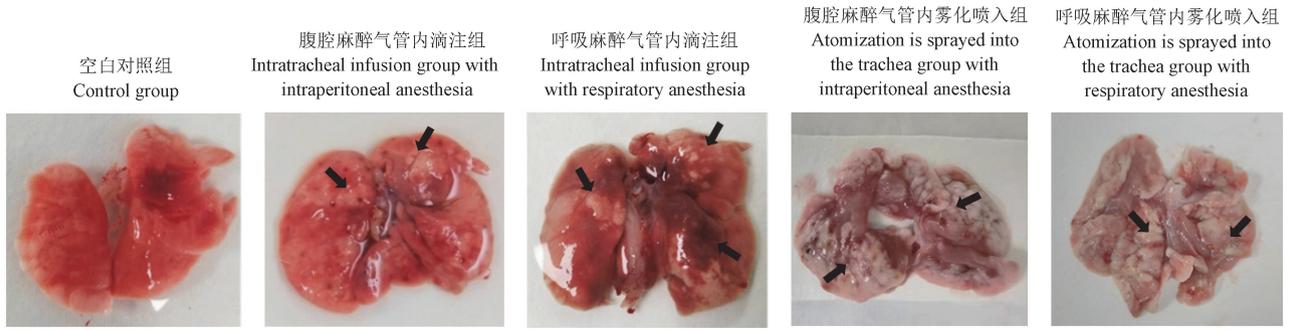


图 3 不同建模方式致肺纤维化的大鼠肺组织表面特征

Figure 3 Lung tissue surface characteristics of rats with pulmonary fibrosis induced by different modeling methods

表 2 4 种建模方式对肺纤维化大鼠肺指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of four modeling methods on pulmonary index in rats with PF ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	21 d 后肺指数 (mg/g) Pulmonary index after 21 d (mg/g)
空白对照组 Control group	4.202 ± 0.114
腹腔麻醉气管内滴注组 Intratracheal infusion group with intraperitoneal anesthesia	5.971 ± 0.356*
呼吸麻醉气管内滴注组 Intratracheal infusion group with respiratory anesthesia	6.002 ± 0.154*
腹腔麻醉气管内雾化吸入组 Atomization is sprayed into the trachea group with intraperitoneal anesthesia	6.484 ± 0.251*
呼吸麻醉气管内雾化吸入组 Atomization is sprayed into the trachea group with respiratory anesthesia	6.715 ± 0.217**

注:与空白组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。(下同)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures)

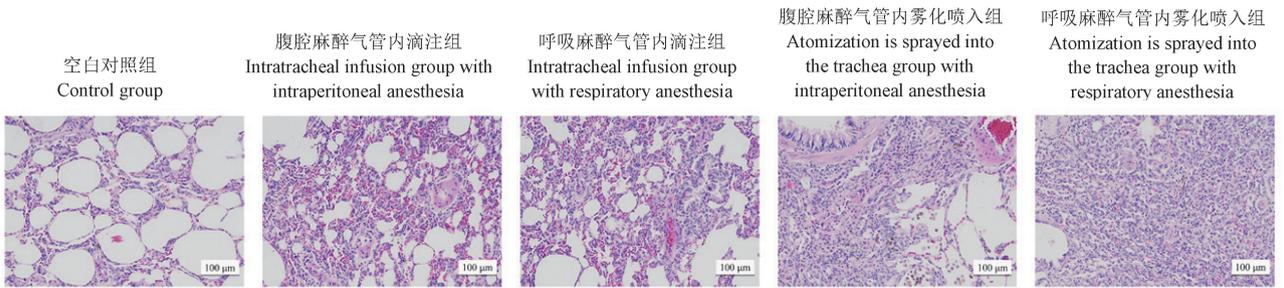


图 4 4 种建模方式对 PF 大鼠肺组织内炎症程度的影响(HE 染色, ×100)

Figure 4 Effects of four modeling methods on degree of inflammation in lung tissue of mice with PF(HE staining, ×100)

多量的粒细胞浸润;肺泡腔内可见巨噬细胞浸润。其中雾化吸入的两组模型组大鼠其肺组织实质化,炎症程度最为严重。

2.5 对 PF 大鼠肺组织的胶原增殖的影响

如图 5 所示,空白对照组,Masson 染色下,组织未见明显蓝色胶原纤维增生,肺泡结构正常,未见明显异常改变。4 组模型组中,气管内滴注的两组其肺泡壁增厚,蓝色纤维中度增生;气管内雾化吸入的两组其肺泡结构消失,组织可见大量蓝色纤维增生,呈弥漫性沉积,肺内实质化较为严重。

2.6 对 PF 大鼠肺组织 TGF-β1 蛋白表达量的影响

与空白对照组比,4 组模型组 TGF-β1 蛋白表达量明显上升,将其灰度值比较,差异具有显著性($P < 0.001$)。4 组模型组之间差异不显著(图 6)。

2.7 对 PF 大鼠肺组织羟脯氨酸(HYP)的含量影响

与空白对照组比,4 个模型组大鼠肺组织 HYP 含量均上升,仅呼吸麻醉气管内雾化吸入组与空白对照组相比差异具有显著性($P < 0.05$)(图 7)。

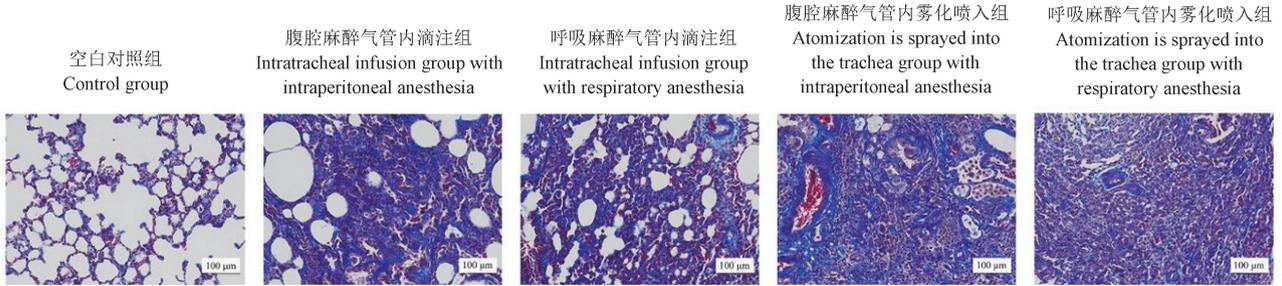
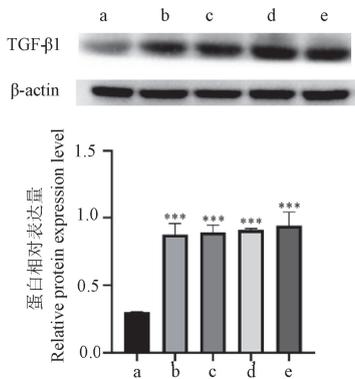


图 5 4 种建模方式对 PF 大鼠肺组织内胶原增殖程度影响 (Masson 染色, $\times 100$)

Figure 5 Effects of four modeling methods on collagen increment in lung tissue of mice with PF (Masson staining, $\times 100$)



注:与空白对照组相比,*** $P < 0.001$ 。

图 6 各组大鼠肺组织中 TGF- $\beta 1$ 蛋白表达水平的比较

Note. Compared with control group, *** $P < 0.001$.

Figure 6 Comparison of TGF- $\beta 1$ protein expression levels in lung tissues of rats in each group

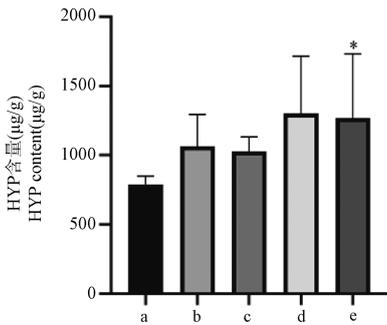


图 7 各组大鼠肺组织中 HYP 含量的比较

Figure 7 Comparison of HYP content in lung tissues of rats in each group

3 讨论

PF 是一种以肺泡上皮重塑和细胞外基质积累为特征的慢性肺疾病^[14]。其病理主要改变为肺组织炎性细胞浸润、肺泡结构破坏、胶原沉积。前期实验证明,博来霉素可通过腹腔注射^[9]、气管内灌注^[11]、尾静脉注射^[10]等途径建立 PF 大鼠模型。本研究通过无创气管内滴注、气管内雾化喷入博来霉

素的给药方式建立 PF 大鼠模型。在给予博来霉素诱导 3 d 后大鼠体重急剧下降、精神萎靡、行动迟缓、毛色不佳;1 周后体重逐渐上升但仍低于空白对照组大鼠的体重,精神状态有所好转,但毛色依旧暗黄。肺指数分析被认为是估计肺水肿程度的一种简单方法^[15],肺指数结果显示,各模型组大鼠肺指数均上升,呼吸麻醉气管内雾化喷入组大鼠肺指数上升最为明显($P < 0.01$);HE 染色发现各模型组大鼠肺泡结构改变,肺组织实质化,并伴有多量粒细胞浸润,肺泡腔内可见巨噬细胞浸润;Masson 染色观察到肺间质内大量蓝色胶原纤维形成,与参考文献研究结果一致^[16]。TGF- $\beta 1$ 作为驱动肺泡上皮损伤的关键细胞因子之一^[17],是反映肺组织受损程度的指标之一,HYP 是组织中胶原纤维的特有成分,其含量能反映组织中胶原纤维的变化情况,是衡量其胶原组织代谢的重要指标^[18]。本研究结果显示,4 种模型组大鼠肺组织 TGF- $\beta 1$ 蛋白表达量均上升($P < 0.001$),仅呼吸麻醉气管内雾化喷入组大鼠肺组织 HYP 含量上升($P < 0.05$)。以上结果表明,气管内滴注及气管内雾化吸入博来霉素的方式均可建立 PF 模型,且均无创口,对于后续的灌胃给药治疗更有益。比较两种给药方式,气管内滴注的建模方式存在模型大鼠肺部纤维化病灶分布不均匀、纤维化程度不一的缺点;而气管雾化喷入的建模方式,不仅肺组织纤维化病灶更加均匀,肺指数上升显著($P < 0.01$),且肺组织中 HYP 含量增加更为显著($P < 0.05$),优于气管内滴注的建模方式。

对于麻醉方式的选择,腹腔注射 3% 戊巴比妥钠及异氟烷呼吸麻醉(与氧气混合吸入时,异氟烷浓度为 0.5%)均将大鼠麻醉至中麻醉^[13],即呼吸方式为:规则的胸腹式呼吸,呼吸数、换气量减少,血压、心搏数一定;眼的表现为:大鼠眼球置中央或靠近中央眼脸反射迟钝,对光反射亦迟钝,瞳孔稍开大;口腔反射:无。麻醉程度均为中麻醉的情况下,

呼吸麻醉的大鼠苏醒较快,平均时间为 1 min,给予博来霉素后死亡率为 0;而腹腔注射 3%戊巴比妥钠的大鼠苏醒较慢,平均时间为 10 min,给予博来霉素后均有不同程度的死亡率。

以上结果表明,异氟烷呼吸麻醉气管内雾化喷入的造模方式,其模型大鼠肺组织更加均匀,肺纤维化程度更加明显且大鼠麻醉后苏醒更快,存活率高,更适用于博来霉素诱导的肺纤维化大鼠模型的建立。本研究优化了肺纤维化大鼠模型建立的方法,以期研发治疗肺纤维化的药物提供研究基础。

参 考 文 献(References)

[1] Koo HY, El-Baz LM, House S, et al. Fibroblast growth factor 2 decreases bleomycin-induced pulmonary fibrosis and inhibits fibroblast collagen production and myofibroblast differentiation [J]. *J Pathol*, 2018, 246(1): 54–66.

[2] Karsdal MA, Genovese F, Madsen EA, et al. Collagen and tissue turnover as a function of age: implications for fibrosis [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1): 103–109.

[3] 孙佳, 张广平, 李晗, 等. 肺纤维化发病机制的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2019, 39(13): 1004–1008.

Sun J, Zhang GP, Li H, et al. Advances in the pathogenesis of pulmonary fibrosis [J]. *Int J Respir*, 2019, 39(13): 1004–1008.

[4] Tale S, Ghosh S, Meitei SP, et al. Post-COVID-19 pneumonia pulmonary fibrosis [J]. *QJM*, 2020, 113(11): 837–838.

[5] Vasarmidi E, Tsitoura E, Spandidos DA, et al. Pulmonary fibrosis in the aftermath of the COVID-19 era (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(3): 2557–2560.

[6] 高云星, 蒋莉莉, 张倩, 等. 吴茱萸次碱通过抑制 Notch1/eIF₃a 信号通路保护博来霉素诱导的大鼠肺纤维化 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(17): 3530–3538.

Gao YX, Jiang LL, Zhang Q, et al. Rutaecarpine protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis through inhibiting Notch1/eIF3a signaling pathway in rats [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2018, 43(17): 3530–3538.

[7] 陈丽, 钱洁, 叶延, 等. 百草枯反复小剂量腹腔给药诱导小鼠肺纤维化模型 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2011, 20(12): 1285–1289.

Chen L, Qian J, Ye Y, et al. Lung fibrosis model made by repeated low-dose of paraquat administered intraperitoneally in mice [J]. *Chin J Emerg Med*, 2011, 20(12): 1285–1289.

[8] 彭方毅, 周欢, 吴静, 等. 气管内喷雾注入博来霉素诱导大鼠肺纤维化模型的建立及其评价 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2017, 30(1): 86–89.

Peng FY, Zhou H, Wu J, et al. Establishment and evaluation of rat model of pulmonary fibrosis induced with bleomycin by tracheal spraying [J]. *Chin J Biol*, 2017, 30(1): 86–89.

[9] 李丽娜, 王华, 周蕾, 等. 博来霉素诱导小鼠肺间质纤维化造模方式的选择 [J]. *中国免疫学杂志*, 2010, 26(3): 254–257.

Li LN, Wang H, Zhou L, et al. Comparison of mouse lung

fibrosis induced by intraperitoneal injection and intratracheal instillation of bleomycin [J]. *Chin J Immunol*, 2010, 26(3): 254–257.

[10] 马哈迪, 叶燕青, 李艳丽. 内毒素与博来霉素所致肺损伤及纤维化的病理改变 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2009, 30(3): 326–329.

Ma HD, Ye YQ, Li YL. Pathologic alterations in lung injury and pulmonary fibrosis induced by endotoxin and bleomycin [J]. *Med J Wuhan Univ*, 2009, 30(3): 326–329.

[11] 王志超, 冯凡超, 武琦, 等. 三种方法气管灌注博来霉素诱导小鼠肺纤维化的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(5): 51–57.

Wang ZC, Feng FC, Wu Q, et al. Comparison of three methods to establish a mouse model of pulmonary fibrosis induced by intratracheal instillation of bleomycin [J]. *Chin J Comp Med*, 2019, 29(5): 51–57.

[12] 王鹤, 张广平, 侯红平, 等. 博来霉素不同给药方式致大鼠肺纤维化模型探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(11): 73–79.

Wang H, Zhang GP, Hou HP, et al. Effect of different administration methods with bleomycin on pulmonary fibrosis in rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2019, 25(11): 73–79.

[13] 徐国景, 唐利军, 易工城. 实验动物管理与实用技术手册 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社; 2008.

Xu GJ, Tang LJ, Yi GC, et al. Manual of management and use of laboratory animals [M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press; 2008.

[14] Habermann AC, Gutierrez AJ, Bui LT, et al. Single-cell RNA sequencing reveals profibrotic roles of distinct epithelial and mesenchymal lineages in pulmonary fibrosis [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(28): eaba1972.

[15] Mehrzadi S, Hosseini P, Mehrabani M, et al. Attenuation of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in wistar rats by combination treatment of two natural phenolic compounds: quercetin and Gallic acid [J]. *Nutr Cancer*, 2021, 73(10): 2039–2049.

[16] 付钰, 吴昉, 陈随清. 甘草查尔酮 A 通过调节 TGF- β /Smad 信号通路抑制小鼠肺纤维化 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(4): 94–100.

Fu Y, Wu X, Chen SQ. Licochalcone A in inhibiting bleomycin-induced pulmonary fibrosis through TGF- β /Smad pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2019, 25(4): 94–100.

[17] Bellaye PS, Yanagihara T, Granton E, et al. Macitentan reduces progression of TGF- β 1-induced pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2018, 52(2): 1701857.

[18] 李倩, 白万富, 周红兵, 等. 蒙古扁桃油对肺纤维化大鼠的保护作用研究 [J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(4): 90–96.

Li Q, Bai WF, Zhou HB, et al. Protective effect of *Amygdalus mongolica* oil against pulmonary fibrosis in rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2021, 37(4): 90–96.