

邓亚胜,黄慧,梁天薇,等. 基于数据挖掘的慢性支气管炎动物模型应用分析 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(3): 327-336.
Deng YS, Huang H, Liang TW, et al. Analysis of the application of animal models of chronic bronchitis by data mining [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(3): 327-336.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.03.007

基于数据挖掘的慢性支气管炎动物模型应用分析

邓亚胜,黄慧,梁天薇,林江*

(广西中医药大学,南宁 530200)

【摘要】 目的 探究慢性支气管炎(chronic bronchitis, CB)动物模型的造模要素,为本动物模型的实验方法和模型完善提供参考依据。**方法** 以慢性支气管炎和动物模型为主题词,在中国知网数据库、万方数据库、PubMed数据库中收集2000年1月~2022年1月慢性支气管炎动物模型的相关文献,对文献中记载的模型动物种属、造模方法、检测指标、阳性对照用药、给药时间以及证候造模情况等内容进行整理归纳,建立数据库进行统计分析。**结果** 文章筛选出243篇符合标准的文献,其中动物种类多选用SD大鼠(126次,51.85%),其次为Wistar大鼠(70次,28.81%),昆明小鼠(30次,12.35%),动物的性别以雄性居多(120次,49.38%);造模方式多选用烟熏法(111次,46.91%)、气管内注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)联合烟熏法(44次,18.11%)以及气管内注射LPS法(43次,17.70%),造模周期多为20~30 d(146次,60.08%);常采用的检测指标为支气管肺组织病理(143次,20.82%)、血清(99次,14.41%)、支气管肺泡灌洗液(82次,11.93%),一般状况(66次,9.61%)等;在含有阳性对照药的131篇文献中,使用最多的是桂龙咳喘宁胶囊(30次,21.58%),其次为醋酸地塞米松(28次,20.14%);文献挖掘涉及中医证型动物模型有肺气虚证10篇,肺阴虚证1篇。**结论** 当前CB动物模型的建立多采用单因素烟熏法以及LPS气管内注射联合烟熏法。模型动物常选取SD/Wistar大鼠或昆明小鼠,造模周期多控制在20~30 d,可以有效地提高实验的效率。模型的评价标准多结合支气管肺组织病理、一般状况、血清、肺泡灌洗液等指标综合判断。此后的研究过程中应当注重CB病证结合动物模型构建,同时建立出统一化、规范化的造模标准和相关模型评价指标,以期构建更加合理的CB动物模型奠定基础。

【关键词】 慢性支气管炎;动物模型;数据挖掘;应用分析

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2023) 03-0327-10

Analysis of the application of animal models of chronic bronchitis by data mining

DENG Yasheng, HUANG Hui, LIANG Tianwei, LIN Jiang*

(Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

Corresponding author: LIN Jiang. E-mail:1713552545@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate modeling drugs in animal models of chronic bronchitis (CB) and provide a reference for experimental method and model refinement of this animal model. **Methods** Using chronic bronchitis and animal models as subject terms, literature related to animal models of chronic bronchitis from January 2000 to January 2022 was collected from the China Knowledge Network, Wanfang database, and PubMed database. The model animal species, modeling method, test indexes, positive control drugs, administration time, and evidence of modelling in the literature

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82060825),全国高校黄大年式教师团队——中西医基础课程教师团队(教育部教师函[2022]2号),广西名中医林江传承工作室(桂中医药科教发[2021]6号),中医学广西一流学科(桂教科研[2022]1号)。
Funded by National Natural Science Foundation of China Project (82060825), Huang Danian-Type Teacher Team of National Universities-Teacher Team of Basic Course of Chinese and Western Medicine (Ministry of Education Teacher Letter [2022] No. 2), Guangxi Famous Chinese Medicine Doctor Lin Jiang Inheritance Studio (Gui TCM Science and Education Development [2021] No. 6), Guangxi First-class Discipline of Chinese Medicine (Gui Textbook Research [2022] No. 1)。
【作者简介】 邓亚胜(1991—),男,硕士,研究方向:特色方剂的配伍及成药化研究。Email:1440362586@qq.com
【通信作者】 林江(1963—),女,博士,教授,博士生导师,研究方向:方剂组方原理、临床应用及实验。Email: 1713552545@qq.com

were collated and summarized to establish a database for statistical analysis. **Results** We screened out 243 articles that met the criteria. SD rats (126, 51.85%) were the most common animal species, followed by Wistar rats (70, 28.81%) and Kunming mice (30, 12.35%). The gender of the animals was mostly male (120, 49.38%). The modeling method was mostly smoking (111, 46.91%), followed by intratracheal injection of lipopolysaccharide (LPS) combined with smoking (44, 18.11%). LPS was mostly injected into the trachea (43, 17.70%), and the modeling cycle was mostly 20 ~ 30 days (146, 60.08%). The commonly used test indicators were bronchopulmonary histopathology (143, 20.82%), serum (99, 14.41%), bronchoalveolar lavage fluid (82, 11.93%), and general condition (66, 9.61%). Among the 131 articles with positive control drugs, the most used was Guilong Cough and Panning Capsules (30, 21.58%), followed by dexamethasone acetate (28, 20.14%). Animal models of Chinese medicine syndrome had 10 pulmonary qi deficiency syndrome and one pulmonary yin deficiency syndrome. **Conclusions** The current CB animal models are mostly established by a single-factor fumigation method and LPS intratracheal injection combined with fumigation. The model animals are SD/Wistar rats or Kunming mice, and the modeling period is mostly within 20 ~ 30 days, which effectively improves the experimental efficiency. The evaluation criteria of the model are mostly combined with bronchopulmonary histopathology, general condition, serum, alveolar lavage fluid, and other indicators for comprehensive judgment. We should focus on establishment of animal models for CB by developing unified and standardized modeling criteria and relevant model evaluation indicators to establish more reasonable animal models of CB.

[Keywords] chronic bronchitis; animal models; data mining; applied analysis

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

慢性支气管炎 (chronic bronchitis, CB) 是一种常见的呼吸系统疾病,在我国具有很高的发病率,主要是发于气管、支气管黏膜及周围组织的慢性非特异性炎症性疾病,多由吸烟、环境污染、感染等引起气道炎性浸润和黏膜损伤等病理改变所致,主要临床表现为咳嗽、咳痰等症状^[1-2]。CB 在一般人群中发病率为 3% ~ 7% 之间,好发于中老年人群,50 岁以上人群患病率可高达 15%^[3-5]。目前临床上广泛采用抗感染、化痰及止咳等药物进行对症治疗,缓解患者症状^[6]。本病具有反复发作、迁移难愈的特点,易发展为肺心病或肺气肿,同时炎症反应也增加了心脏病和其他合并症的风险,给患者的心理和经济带来了极大的负担。现阶段,对于预防和治疗慢性支气管炎疾病仍是医学界的一大难题,本病已成为重要的公共卫生问题^[5,7]。因此,进一步扩大和加深对 CB 病理发生发展的研究,通过实施药物干预治疗 CB 感染进展从而减轻疾病症状是现阶段研发药物的关键,合适的动物模型是防治和研究 CB 疾病的重要基础。本文由文献挖掘分析入手,对近 22 年涉及的 CB 动物模型进行整合分析,通过探讨模型动物种属选择、性别分布、造模方法、造模周期、阳性用药、检测指标等,旨在为科学有效的构建 CB 动物模型提供依据。

1 材料和方法

1.1 数据来源

本研究在中国知网数据库、万方数据库、

PubMed 数据库中进行检索,以“慢性支气管炎”并且“动物模型”或“鼠”或“猪”或“兔”为主题词检索,在 PubMed 数据库中以“chronic bronchitis” AND “Animal Model” OR “Mouse” OR “Pig” OR “Rabbit”等为主题进行检索,检索时间设置为 2000 年 1 月至 2022 年 1 月。收集 CB 动物模型相关文献,其中中国知网数据库检索出相关文献 337 篇、万方数据库 736 篇、PubMed 数据库检索文献 198 篇,文献总数为 1271 篇。

1.2 纳入排除标准

本研究选取慢性支气管炎动物模型造模方法完整及过程清晰的文献。排除文献中造模方法不全文献,排除硕博、会议论文,科技成果以及器官移植诱导建立模型等文献,最终筛选出符合标准文献 243 篇。

1.3 数据处理

实验动物种类、命名均参照《实验动物和动物实验技术》进行规范处理。将文献中涉及的动物种别、性别、造模方法、造模时长、阳性对照用药、给药时间、检测指标等信息录入 Microsoft Excel 2019,建立慢性支气管炎动物模型数据库。

1.4 统计学方法

运用 Microsoft Excel 2019 对 CB 动物模型数据库中的相关造模信息进行总结归纳,采用定量或者定性的方法对造模要素进行整合分析,部分信息缺失,故各项数据的总和可能不相等,结果以最终统计为准。

2 结果

2.1 实验动物种类

将 243 篇文献中使用的动物种类进行统计,纳入的实验动物种类为 9 种,以 SD 大鼠、Wistar 大鼠、昆明小鼠为主,其中以 SD 大鼠使用最多。文献研究显示 SD 大鼠占比 51.85%,其次为 Wistar 大鼠占比 28.81%,昆明小鼠占比 12.35%。文献中大鼠的体重多以(200 ± 20)g 为主,小鼠的体重多以(20 ± 2)g 为主,详见表 1。

表 1 慢性支气管炎动物种类频数分布
Table 1 Frequency distribution of animal species with chronic bronchitis

造模动物 Modeling animals	频次 Frequency	百分比(%) Percentage(%)	体重(g) Body weight(g)
SD 大鼠 SD rats	126	51.85	以(200 ± 20)为主 Mainly (200 ± 20)
Wistar 大鼠 Wistar rats	70	28.81	以(200 ± 20)为主 Mainly (200 ± 20)
昆明小鼠 KM mice	30	12.35	以(20 ± 2)为主 Mainly (20 ± 2)
ICR 小鼠 ICR mice	7	2.88	以(20 ± 2)为主 Mainly (20 ± 2)
NIH 小鼠 NIH mice	4	1.65	以(20 ± 2)为主 Mainly (20 ± 2)
豚鼠 Guinea pigs	3	1.23	以(180 ± 20)为主 Mainly (180 ± 20)
叙利亚金黄地鼠 Syrian golden gopher	1	0.41	以(100 ± 20)为主 Mainly (100 ± 20)
仓鼠 Hamsters	1	0.41	以(30 ± 5)为主 Mainly (30 ± 5)
小型猪 Small pigs	1	0.41	以(600 ~ 800)为主 Mainly (600 ~ 800)

2.2 慢性支气管炎动物模型动物性别分布

对符合纳入标准文献的模型动物性别分布情况进行分析,其中雄性(120 次,49.38%),雌雄各半(97 次,39.92%),合计占比 89.30%(详见表 2)。

2.3 慢性支气管炎造模周期与方法

243 篇文献中,根据每一篇造模方法对其分类统计,造模名称统一规范,造模中使用最多的造模方法为烟熏法(114 次,46.91%),其它> 10 次以上的造模方法有 3 种,包括气管内注射 LPS 联合烟熏法(44 次,18.11%),气管内注射 LPS 法(43 次,17.70%),SO₂ 吸入法(13 次,5.35%)(表 3)。

慢性支气管炎造模周期(model period, MP)较长,其造模时段可细分为 20 d 以内、20 ~ 30 d、30 ~ 40 d、40 ~ 50 d、50 ~ 60 d、60 ~ 70 d、70 ~ 80 d、

表 2 慢性支气管炎动物性别频数分布
Table 2 Frequency distribution of animals with chronic bronchitis by sex

性别 Gender	频次 Frequency	百分比(%) Percentage(%)
雄性 Males	120	49.38
雌雄各半 Half male and half female	97	39.92
雌雄不详 Male and female unknown	18	7.40
雌性 Females	4	1.65
雌雄不限 Both sexes	4	1.65

80 d,其中造模周期多分布在 20 ~ 30 d(146 次,60.08%),MP ≤ 20 d 为(27 次,11.11%),30 d < MP ≤ 40 d 为(21 次,8.64%)(表 4)。

2.4 检测指标

对 243 篇文献的全部检测指标进行统一标准化分类处理。例如,若同一组织用于检测不同类型指标,如肺组织既进行免疫印迹检查又进行病理检测,则分别进行统计。若同一组织用于检测同一类型的指标,如肺组织检测 SOD、CAT、MDA 等抗氧化酶活性,则这些指标统一归类为肺组织抗氧化指标;若检测肺组织 IL-2、IL-8、TNF-α 等指标,则统一归类为肺组织匀浆检测指标。一般状况包括整体症状、毛发、活动时状况、应激反应、体(肛)温、体长、进食量、饮水量、游泳时间、肛门情况、舌象、二便等宏观表现,体重、咳嗽、哮喘单独统计。统计结果显示,共有 26 种不同类型检测指标,累计频数为 687 次,其中检测指标次数较多的是支气管肺组织病理(143 次,20.82%)、血清(99 次,14.41%)、支气管肺泡灌洗液(82 次,11.93%)、一般状况(66 次,9.61%)等(表 5)。

2.5 模型给药时间、阳性对照药及评估指标

统计 243 篇文献,其中 187 篇文献研究中涉及药物干预,含有阳性对照药的研究有 131 篇。对数据进行分析,有 4 篇文章使用 2 种阳性对照药物,2 篇使用 3 种对照药物,分别予以计数,则给药时间、阳性用药总频数为 139。给药时间频次最多的是 14 d(27 次,19.42%),其次为 21 d(23 次,16.54%)。阳性对照组用药范围较广,多为止咳、平喘、化痰、抗炎等药物,应用最多的阳性对照药物为桂龙咳喘宁胶囊(30 次,21.58%),醋酸地塞米松(28 次,20.14%),详见表 6。

表 3 慢性支气管炎造模方法分类及使用频次

造模方法 Moulding methods	频次 Frequency	百分比(%) Percentage(%)
烟熏法 Smoking method	114	46.91
气管内注射 LPS 联合烟熏法 Intratracheal injection of LPS combined with fumigation	44	18.11
气管内注射 LPS 法 Intratracheal LPS injection method	43	17.70
二氧化硫吸入法 Sulphur dioxide inhalation method	13	5.35
气管内注射 LPS 联合卡介苗法 Intratracheal LPS combined with BCG vaccination	8	3.29
氨水雾化吸入法 Ammonia nebulised inhalation method	5	2.06
气管内注射 LPS 联合雾化吸入 Intratracheal LPS combined with nebulised inhalation	4	1.65
烟熏联合浓氨水雾化吸入法 Fumigation combined with concentrated ammonia nebulised inhalation	4	1.65
二氧化硫+烟叶交替烟熏法 Sulphur dioxide + alternate fumigation with tobacco leaves	2	0.82
烟熏+甲醛刺激法 Smoke + formaldehyde stimulation method	2	0.82
气管内注入 LPS 和鼻滴加强法 Intratracheal injection of LPS and nasal drip reinforcement	1	0.41
鼻腔滴注 LPS 联合烟熏法 Nasal drip LPS combined with fumigation	1	0.41
气管内注射 LPS 联合 SO ₂ 吸入法 Intratracheal injection of LPS combined with SO ₂ inhalation	1	0.41
鼻腔滴注 PM _{2.5} 悬液 Nasal drip PM _{2.5} suspension	1	0.41

表 4 慢性支气管炎动物模型造模周期
Table 4 Modeling cycle of animal models of chronic bronchitis

造模周期(d) Model period(d)	频次 Frequency	百分比(%) Percentage(%)
MP ≤ 20	27	11.11
20 < MP ≤ 30	146	60.08
30 < MP ≤ 40	21	8.64
40 < MP ≤ 50	19	7.82
50 < MP ≤ 60	10	4.12
60 < MP ≤ 70	5	2.06
70 < MP ≤ 80	12	4.94
80 < MP	2	0.82
周期不详 Periodicity not known	1	0.41

对使用阳性对照药物的文献进行归纳分析, 将其对药物效果的评估指标按检测频数进行统计, 其中排名前 5 位的分别是支气管肺组织病理 (76 次, 58.01%)、血清 (62 次, 47.33%)、一般状况 (39 次, 29.77%)、支气管肺泡灌洗液 (37 次, 28.24%)、肺组织匀浆 (30 次, 22.90%), 详见表 7。

对 131 篇使用阳性药物的文献进行指标检测方面的分析, 从模型动物的宏观指标和微观指标方面进行评估。模型动物的宏观指标主要从毛发、活动时状况、体(肛)温、体长、进食量、饮水量等一般状况, 以及体重、咳嗽次数方面进行分析。微观指标主要从模型动物的分子水平、细胞、理化、影像等多方面进行评估。分子水平、理化相关的检测指标有: (1) 与氧化应激相关的指标: SOD、MPO、MDA 和 GSH-PX 的含量; (2) 与气道炎症相关的指标: CD8⁺ T、CD4⁺ T、NF-κB、TNF-α、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-17、IL-1β、ICAM-1、ET-1; (3) 参与调控信号转导通路: GF-β 信号通路、p38 MAPK/ATF-2 信号转导通路、TGF-β1/Smad3 通路等; (4) 与支气管炎气道重塑相关指标: 血管内皮生长因子(VEGF)、MMP-9。细胞方面多进行血清、全血或外周血方面的检测以及组织的病理切片等检查; 影像学多采用光镜、电镜、透射电子显微镜等进行支气管肺组织的病理形态学观察。

表 5 慢性支气管炎动物模型检测指标及分类

Table 5 Detection indicators and classification of animal models of chronic bronchitis

检测指标 Testing indicators	频次 Frequency	累计频次 Cumulative frequency	百分比(%) Percentage(%)
支气管肺组织病理 Bronchopulmonary histopathology	143	687	20. 82
血清 Serum	99	687	14. 41
支气管肺泡灌洗液 Bronchoalveolar lavage solution	82	687	11. 93
一般状况 General conditions	66	687	9. 61
支气管肺组织免疫组化 Immunohistochemistry of bronchopulmonary tissue	54	687	7. 86
肺组织匀浆 Lung tissue homogenate	43	687	6. 26
肺组织抗氧化指标 Antioxidant index of lung tissue	27	687	3. 93
肺组织 PCR Lung tissue PCR	23	687	3. 35
肺组织免疫印迹 Immunoblotting of lung tissue	20	687	2. 91
体重(体质量) Weight (body mass)	18	687	2. 62
咳(喘) 次数 Number of coughs (wheezes)	17	687	2. 47
肺组织其他检查 Other tests of lung tissue	15	687	2. 18
全血或外周血 Whole blood or peripheral blood	14	687	2. 04
动脉血气分析 Arterial blood gas analysis	11	687	1. 60
脏器系数 Organ factor	9	687	1. 31
气道病理检查 Airway pathology	8	687	1. 16
支气管壁厚度 Bronchial wall thickness	7	687	1. 02
肺血管病理/形态 Pulmonary vascular pathology/morphology	6	687	0. 87
肺泡面积 Alveolar area	5	687	0. 73
肺气肿评分 Pulmonary emphysema score	4	687	0. 58
肺功能测定 Pulmonary function measurement	4	687	0. 58
肺指数 Lung index	3	687	0. 43
肺动脉重塑 Pulmonary artery remodelling	2	687	0. 29
气道重塑 Airway remodelling	2	687	0. 29
肺泡壁厚度 Alveolar wall thickness	1	687	0. 15
排痰量测定 Sputum volume measurement	1	687	0. 15
磷脂测定 Phospholipid determination	1	687	0. 15
肺损伤评分 Lung injury score	1	687	0. 15
肺动脉免疫组化 Pulmonary artery immunohistochemistry	1	687	0. 15

表 6 慢性支气管炎动物模型给药时间与阳性药对照情况

Table 6 Timing of drug administration in animal models of chronic bronchitis versus positive drug control

给药时间(d) Delivery time(d)	频次 Frequency	阳性对照药 Positive control drugs	频次 Frequency
14	27	桂龙咳喘宁胶囊 Guilong Cough and Panning Capsules	30
21	23	醋酸地塞米松 Dexamethasone acetate	28
20	18	急支糖浆 Urgent syrup	7
15	12	气管炎丸 Tracheitis pills	6
28	11	红霉素、核酪口服液、氨茶碱片 Erythromycin, nucleotide oral solution, aminophylline tablets	5
30	14	玉屏风颗粒、宣肺止嗽合剂、止嗽合剂、喘息灵胶囊、气管炎咳嗽痰喘丸 Yupingfeng Granules, Xuanlong Anti-cough Compound, Anti-cough Compound, Wheezing Spirit Capsules, tracheitis cough, phlegm and Asthma Pills	3
7	9	复方蒲苓胶囊、利肺片、止咳橘红口服液、盐酸氨溴索注射液、醋酸泼尼松片 Compound Puqiu Capsules, Pulmonary Tablets, cough orange-red oral liquid, Ambroxol hydrochloride injection, Prednisone Acetate Tablets	2
10	6	喘咳宁片、肺宁颗粒、咳特灵胶囊、阿莫西林、右美沙芬、化痰平喘片、参保肺丸、普米克令舒、麻杏止咳片、注射用甲泼尼龙琥珀酸钠、参苏饮颗粒剂、氨茶碱注射液、复方气管炎片、强力枇杷露、祛痰止咳颗粒、蛤蚧定喘胶囊、复方川贝母片、复方满山红胶囊、竹沥颗粒液、塞来昔布、氟美松、N-乙酰半胱氨酸、孟鲁司特、消喘膏、左氧氟沙星、复方氯化铵合剂、注射用头孢拉定、金水六君煎胶囊 Asthma and cough Ning Tablets, Lung Ning Granules, Cough Trine Capsules, Amoxicillin, Dextromethorphan, phlegm and asthma Tablets Shenbao Lung Pills, Pumik Lingshu, Ma Xing Cough Tablets, Methylprednisolone Sodium Succinate for Injection, Shen Su Drink Granules, Aminophylline injection, Compound tracheitis Tablets, strong loquat dew, expectorant cough Granules, Gecko Dingpanjing Capsules, Compound Chuanbei Master Tablets, Compound Manshanhong Capsules, Bamboo Leech Granules, Celecoxib, Flumethasone, N-acetylcysteine, Montelukast, anti-asthma cream, levofloxacin, compound ammonium chloride compound, cephalosporidine for injection, Jinshui Liujun decocted Capsules	1
60	4		
49	3		
12、35	2	/	/
13、26、31、33、37、50、56、75	1		

表 7 给阳性药后效果评估指标及使用频次

Table 7 Indicators for assessing effects after positive drug administration and frequency of use

检测指标 Testing indicators	频次 Frequency	累计频数 Cumulative frequency	百分比(%) Percentage(%)
支气管肺组织病理 Bronchopulmonary histopathology	76	131	58.01
血清 Serum	62	131	47.33
支气管肺泡灌洗液 Bronchoalveolar lavage solution	39	131	29.77
一般状况 General conditions	37	131	28.24
肺组织匀浆 Lung tissue homogenate	30	131	22.90
肺组织免疫组化 Immunohistochemistry of lung tissue	24	131	18.32
咳嗽(咳喘)次数 Number of coughs (wheezing)	13	131	9.92
肺组织抗氧化指标、全血或外周血、肺组织免疫印迹、体重(体质量) Antioxidant index of lung tissue, whole blood or peripheral blood, immunoblotting of lung tissue, weight (body mass)	10	131	7.63
肺组织 PCR Lung tissue PCR	9	131	6.87
脏器系数 Organ factor	5	131	3.82
气管酚红排泌量 Tracheal phenol red secretion	3	131	2.29
血液流变学、血气分析、肺功能、气管壁厚度、肺指数 Blood rheology, blood gas analysis, lung function, tracheal wall thickness, lung index	2	131	1.52

续表7

检测指标 Testing indicators	频次 Frequency	累计频数 Cumulative frequency	百分比(%) Percentage(%)
肺组织自由基浓度、肺气肿评分、肺泡面积、肺腺泡内病理图像分析、气道炎症病理观察指标及评分、肺脏的超微形态观察,形态计量指标、支气管分泌物、支气管上皮细胞脱落及增生、炭廓清功能、外周血单核细胞 PCR 检测 Lung tissue free radical concentration, emphysema score, alveolar area, intra-alveolar pathological image analysis, pathological observation indicators and score of airway inflammation, ultramorphological observation of lung, morphometric indicators, bronchial secretions, bronchial epithelial cell shedding and proliferation, charcoal contouring function, PCR test for peripheral blood mononuclear cells	1	131	0.76

2.6 模型中医证候造模情况

检索纳入的 243 篇文献,涉及中医证型仅有肺

气虚证、肺阴虚证,其中肺气虚证 10 篇,肺阴虚证 1 篇,详情见表 8。

表 8 慢性支气管炎中医证候动物模型制作
Table 8 Animal models of chronic bronchitis with Chinese medical evidence

证型 Certificate type	造模方式 Moulding methods	具体造模方法 Specific moulding methods
肺气虚证(10 篇) Evidence of lung Qi deficiency (10 articles)	烟熏法 Smoking method	方法一 ^[8] :特制的 1 m ³ 的烟室中,用刨花、锯末、烟叶各 50 g,点燃熏烟,每天 2 次,每次 30 min,持续 30 d Method 1: A specially designed 1 m ³ smoke chamber with 50 g each of shavings, sawdust and tobacco leaves is lit and smoked for 30 min twice a day for 30 d 方法二 ^[9] :体积为 1 m ³ 烟熏箱中,以刨花、锯屑末 50 g+10 支香烟点燃烟熏,每天 1 次,30 min/d,造模 7 周 Method 2: In a 1 m ³ fumigation box, 50 g of shavings and sawdust + 10 cigarettes were smoked once a day for 30 min/d for 7 weeks
肺阴虚证(1 篇) Evidence of lung Yin deficiency (1 article)	复合因素造模法 Composite factor moulding method	灌服利血平、甲状腺素加二氧化硫(SO ₂)熏法 ^[10] Fumigation with reserpine and thyroxine plus sulphur dioxide (SO ₂)

3 分析

3.1 常用实验动物及雌雄选择分析

模型动物与人类存在巨大的生理学和解剖学上的差异,采取适宜的造模方法制备出与人类疾病具有高度相似的病理变化和疾病特点的动物模型尤为重要。CB 动物模型的建立与模型动物种类、雌雄、造模周期、造模方法、试剂用量等多个方面存在紧密的联系。由文献挖掘可知,目前 CB 动物模型的制备常选择大鼠,其中 SD 大鼠和 Wistar 大鼠占比较高。鼠类具有易饲养繁殖和成模周期短的优势,与人类具有高度相似的基因序列,有很多酶能够与基因的抗体和探针进行互补,给基因表达的实验研究提供了很大的便利^[11-12]。各种鼠类的气管组织结构特征均存在一定程度的差异,大鼠的气道表面积和体积相比小鼠大,在进行烟熏法、LPS 气管内注射法等方法进行模型制备时,更容易出现炎症浸润、纤维化沉积和支气管壁增厚等病理改变^[7]。小鼠气道比大鼠更易受刺激性气味气体的影响,且成本低,故对于刺激性气味诱导 CB 动物模型的实

验中常选择小鼠^[13-14]。此外,小鼠不利于气道顺应性实验的检测,主要因其气道体积和气道内压力小^[15-16]。

CB 动物模型制备多选用雄性动物,少数文献采用雌性动物或雌雄动物各半。临床研究表明,女性较男性更容易患 CB 疾病,2009 年国家卫生统计中心报告,67.8% 的 CB 患者为女性^[17]。女性具有较高的 CB 发病率,可能与雌性动物分泌的雌二醇影响了烟雾中化学物质的代谢相关,会使雌性动物的气道遭受氧化应激的损害更容易^[17-18]。人类免疫反应的性别二态性也可能是导致雌性较雄性更容易患 CB 疾病的原因,故在实验研究开展过程中应充分考虑模型动物性别差异可能会对实验结果造成的影响^[19-20]。因此,CB 动物模型的制备常选择雄性鼠,避免了因性别可能会造成的研究结果偏差,与本文文献研究结果相符合^[21-22]。

3.2 造模方法分析

经上述文献分析可知,CB 动物模型的制备常选用的造模方法包括烟熏法、气管内注射 LPS 法以及气管内注射 LPS 联合烟熏法。烟熏法是目前 CB 动

物模型制备使用率最高的方法,具有操作简单和可高度重现人类 CB 疾病的病理变化和疾病特征的优势,对病理变化的过程可动态的进行观察^[23-24]。烟雾中存在焦油、氢氰酸、尼古丁等多种化学物质,可破坏呼吸道屏障功能、增加氧化应激反应、提高副交感神经兴奋性,从而对气管黏膜造成损伤,并产生气道重塑、气道顺应性下降等 CB 病变特征^[25-28]。气管内注射 LPS 法进行 CB 动物模型制备的作用机制为激活炎性细胞并释放炎性因子,诱导气道炎症,从而引起气道上皮损伤^[29-30]。气管内注射 LPS 联合烟熏法与单纯烟熏法或气管内注射 LPS 法相比,此方法既降低机体呼吸系统的屏障功能,增加病原菌感染因素,同时使气道内部炎症机制激活,可增加 CB 动物模型构建的成功率^[31-32]。

此外,其它模型制备方法,如二氧化硫吸入法、氨水雾化吸入法、烟熏联合二氧化硫吸入法、烟熏联合甲醛刺激法、鼻腔滴注大气颗粒物 2.5 (particulate matter 2.5, PM_{2.5}) 悬液法。其中二氧化硫吸入法、氨水雾化吸入法、甲醛刺激法造模原理为刺激性气味气体吸入后刺激气道黏膜,促进炎症介质的释放,从而达到造模作用^[33-34]。鼻腔滴注 PM_{2.5} 悬液其造模原理与烟熏法基本一致。其余多因素的模型制备方法多为在单因素基础上增加烟熏法,主要是与人类 CB 疾病致病的主要病因为环境空气污染,增加烟熏因素可提高动物模型与人类 CB 疾病的高度吻合性^[35-37]。

与此同时,单因素烟熏法在模型制备过程中也暴露出一些问题,烟熏法动物模型的制备需考虑熏箱体积、烟熏时长、烟熏周期、烟熏材料、烟熏动物种属等多种影响因素。但在文献检索分析中发现,烟熏法动物模型的建立多采用自制熏箱,熏箱体积不一,烟熏材料、烟熏周期、烟熏方法等多不一,且最终没有标准成模检测指标,无法保证造模的科学性、严谨性,故在今后的研究中应当不断改进烟熏法的造模方法,确保模型建立的高效性^[38-39]。

3.3 常用成模检测指标分析

经文献挖掘分析可知,CB 动物模型的检测指标多为支气管肺组织病理、血清、支气管肺泡灌洗液、一般状况、支气管肺组织免疫组化、肺组织匀浆、肺组织抗氧化指标、肺组织 PCR 等。CB 疾病具有杯状细胞增生、气道粘液分泌过多、纤毛运动受阻、气道重塑、肺泡破裂并大量融合等病理变化特征,这些病理表现可通过支气管肺组织病理检查、血清或

肺组织匀浆、肺泡灌洗液、肺组织抗氧化指标、肺功能等检测指标证实^[29-40]。支气管肺组织病理的检查是模型研究中应用最多的检查,可以观察疾病进展各阶段的病理变化,对气道重塑和肺实质变化观察更加细致。其次为血清、肺泡灌洗液、一般状况的疾病改变(表 5),若变化趋于一致,同时与人类 CB 疾病的特征吻合度高,则更能体现模型建立的高重现性。

3.4 常用阳性对照药使用分析

CB 动物模型的构建对于药物的研发极其重要,动物模型的制备是研发药物的基础。本文统计分析了文献中阳性药物的使用及其给药时间,研究中使用较多的阳性对照药物为桂龙咳喘宁胶囊、醋酸地塞米松、急支糖浆,其中以中药或中成药药物使用居多。由表 5 可知,当前研究用药时间多为 14 d 和 21 d,而 CB 属于慢性非特异性炎症性疾病,病程较长,因此治疗过程中可以通过提高用药时长来增加治疗效果。

3.5 中医证型动物模型分析

中医证候方面,本研究主要涉及 CB 动物模型的中医证型有肺气虚证和肺阴虚证,其中肺气虚证方面动物模型的建立较肺阴虚证多。CB 属于中医诊断中的“咳嗽”或“喘证”范畴,肺气虚证和肺阴虚证为虚证属于疾病的缓解期,而疾病的实证(急性加重期)在实验研究中鲜有记载。目前动物模型的研究建立多体现在西医的病,中医的证极少涉及,中医证候的判断多体现在宏观指标的观察,相应证型微观指标的诊断尚不能完整的复现中医证型特征。同时病证结合动物模型的建立目前尚不成熟,缺乏统一的判断指标以及造模方法和流程,对于病和证的建立先后顺序尚未达到统一。因此,现阶段的主要任务是能够建立合理完善的“病证结合”动物模型,使其既具有中医的证候特点,也具备西医的病理特点,既能够体现出疾病的特征,也能够产生便于中医辨证的证候表现,避免单纯疾病模型的局限性,丰富证候模型的内容。

4 总结

本文通过对近 22 年 CB 动物模型的文献研究中发现,选择 SD/Wistar 大鼠与昆明小鼠作为实验动物,应用单因素烟熏法或气管内注射 LPS 联合烟熏法,造模周期控制在 20 ~ 30 d,可以有效的提高实验的效率^[41]。模型的评价标准可以结合支气管

肺组织病理、一般状况、血清、肺泡灌洗液等指标进行。当然,不同的实验根据其目的及实验方法的区别,检测指标的选用也会做出改变。总之,使用单因素烟熏或复合因素方法造模,增加中医因素的干预,构建出重现性好、成功率高与临床疾病高度吻合的病证结合动物模型是后续研究的关键。

参 考 文 献(References)

- [1] Andelid K, Öst K, Andersson A, et al. Lung macrophages drive mucus production and steroid-resistant inflammation in chronic bronchitis [J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 172.
- [2] Chamitava L, Cazzoletti L, Ferrari M, et al. Biomarkers of oxidative stress and inflammation in chronic airway diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4339.
- [3] 赵润芝, 张皓, 袁姝华, 等. 桑贝止咳方联合西医常规疗法治疗小儿耐药性肺炎支原体肺炎疗效观察 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(15): 2868-2871.
Zhao RZ, Zhang H, Yuan SH, et al. Clinical observation of SangBeiZhiKe *Granula* combined with routine western medicine in the treatment of macrolide resistant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children [J]. *Prog Mod Biomed*, 2020, 20(15): 2868-2871.
- [4] Kim V, Criner GJ. The chronic bronchitis phenotype in chronic obstructive pulmonary disease: features and implications [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2015, 21(2): 133-141.
- [5] GBD Chronic Respiratory Disease Collaborators. Prevalence and attributable health burden of chronic respiratory diseases, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(6): 585-596.
- [6] Zarogoulidis P, Papanas N, Kioumis I, et al. Macrolides: from *in vitro* anti-inflammatory and immunomodulatory properties to clinical practice in respiratory diseases [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2012, 68(5): 479-503.
- [7] Kim V, Dolliver WR, Nath HP, et al. Mucus plugging on computed tomography and chronic bronchitis in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 110.
- [8] 李振卿, 倪静, 方朝义. 慢性支气管炎肺气虚证大鼠转化生长因子- β_1 的变化及其意义 [J]. *河北中医*, 2011, 33(2): 265-266.
Li ZQ, Ni J, Fang CY. Changes of TGF- β_1 and its significance of chronic bronchitis rats with syndrome of insufficiency of lung-Qi [J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2011, 33(2): 265-266.
- [9] 彭青和, 蔡圣荣, 赵蜀军, 等. 玉屏风散合六君子汤对慢性支气管炎肺气虚证大鼠 TNF- α 及 IL-10 的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2013, 15(10): 95-98.
Peng QH, Cai SR, Zhao SJ, et al. Effect of jade screen powder combined with six gentlemen decoction of TNF- α and IL-10 on qi deficiency of chronic bronchitis rats [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2013, 15(10): 95-98.
- [10] 洪素兰, 陈玉龙, 邵雷, 等. 沙参麦冬汤对肺阴虚型慢性支
- 气管炎模型大鼠 SIgA 与 IL-1、IL-6、TNF- α 的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(12): 948-949.
Hong SL, Chen YL, Shao L, et al. Effects of Shashen Maidong Decoction on SIgA, IL-1, IL-6 and TNF- α in chronic bronchitis model rats with lung Yin deficiency [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2009, 15(12): 948-949.
- [11] Chenouard V, Remy S, Tesson L, et al. Advances in genome editing and application to the generation of genetically modified rat models [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 615491.
- [12] Meek S, Mashimo T, Burdon T. From engineering to editing the rat genome [J]. *Mamm Genome*, 2017, 28(7-8): 302-314.
- [13] 王宏英, 陈林. 甘草甜素抑制小鼠慢性支气管炎模型肺组织中炎性细胞因子表达的作用机制 [J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(3): 372-374.
Wang HY, Chen L. Mechanism of glycyrrhizin inhibiting the expression of inflammatory cytokines in lung tissue of mice with chronic bronchitis [J]. *Chin J Lab Diagn*, 2016, 20(3): 372-374.
- [14] 贺立立, 陈勤, 彭申明, 等. 桔梗皂苷对慢性支气管炎小鼠肺细胞中的 IL-1 β 和 TNF- α 表达的影响 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(1): 17-23.
He LL, Chen Q, Peng SM, et al. The effect of kikyosaponin on expression of IL-1 β and TNF- α from pneumocyte of chronic bronchitis (CB) mice [J]. *Chin J Cell Biol*, 2013, 35(1): 17-23.
- [15] Robichaud A, Fereydoonad L, Collins SL, et al. Airway compliance measurements in mouse models of respiratory diseases [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321(1): L204-L212.
- [16] 高妙然, 尚立芝, 谢文英, 等. 二陈汤对慢性支气管炎大鼠肺功能及病理变化的影响 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2016, 14(14): 143-145.
Gao MR, Shang LZ, Xie WY, et al. Effect of Erchen decoction on lung function and pathological changes of chronic bronchitis model rats [J]. *Chin Med Mod Distance Educ China*, 2016, 14(14): 143-145.
- [17] Kim V, Sternberg AL, Washko G, et al. Severe chronic bronchitis in advanced emphysema increases mortality and hospitalizations [J]. *COPD*, 2013, 10(6): 667-678.
- [18] Raghavan D, Varkey A, Bartter T. Chronic obstructive pulmonary disease: the impact of gender [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2017, 23(2): 117-123.
- [19] Han MK, Postma D, Mannino DM, et al. Gender and chronic obstructive pulmonary disease: why it matters [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(12): 1179-1184.
- [20] Lavolette L, Lacasse Y, Doucet M, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in women [J]. *Can Respir J*, 2007, 14(2): 93-98.
- [21] Yang WK, Kim SH, Jung IC, et al. Effects of *Scutellaria baicalensis* extract on cigarette smoke-induced airway inflammation in a murine model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Med Food*, 2019, 22(1): 87-96.

- [22] Mo R, Li J, Chen Y, et al. lncRNA GAS5 promotes pyroptosis in COPD by functioning as a ceRNA to regulate the miR-223-3p/NLRP3 axis [J]. Mol Med Rep, 2022, 26(1): 219.
- [23] 尚立群, 张永庆, 杨淑梅, 等. 安石榴苷对慢性支气管炎大鼠抗氧化能力的影响 [J]. 四川中医, 2017, 35(5): 73-76.
Shang LQ, Zhang YQ, Yang SM, et al. Effect of punicalagin on the activity of antioxidant in chronic bronchitis rats and the underlying mechanism [J]. J Sichuan Tradit Chin Med, 2017, 35(5): 73-76.
- [24] Luo YL, Zhang CC, Li PB, et al. Naringin attenuates enhanced cough, airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a Guinea pig model of chronic bronchitis induced by cigarette smoke [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 13(3): 301-307.
- [25] Lugg ST, Scott A, Parekh D, et al. Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: mechanisms for lung disease [J]. Thorax, 2022, 77(1): 94-101.
- [26] John G, Kohse K, Orasche J, et al. The composition of cigarette smoke determines inflammatory cell recruitment to the lung in COPD mouse models [J]. Clin Sci (Lond), 2014, 126(3): 207-221.
- [27] Jasper AE, Sapey E, Thickett DR, et al. Understanding potential mechanisms of harm: the drivers of electronic cigarette-induced changes in alveolar macrophages, neutrophils, and lung epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2021, 321(2): L336-L348.
- [28] Kim HJ, Choi MG, Park MK, et al. Predictive and prognostic biomarkers of respiratory diseases due to particulate matter exposure [J]. J Cancer Prev, 2017, 22(1): 6-15.
- [29] 咎琼, 胡荣, 罗先钦. 小儿肺咳颗粒对脂多糖大鼠慢性支气管炎的防治作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(8): 2112-2118.
Zan Q, Hu R, Luo XQ. Preventive and therapeutic effects and mechanism of Xiaer Feike Granules on chronic bronchitis induced by lipopolysaccharide in rats [J]. Chin J Chin Mater Med, 2021, 46(8): 2112-2118.
- [30] Cervilha DAB, Ito JT, Lourenço JD, et al. The Th17/treg cytokine imbalance in chronic obstructive pulmonary disease exacerbation in an animal model of cigarette smoke exposure and lipopolysaccharide challenge association [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1921.
- [31] 张新迪, 魏彩红, 俞晓英. 蒙药紫花高乌头不同溶剂萃取部分对慢性支气管炎大鼠的治疗作用 [J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(9): 191-194.
Zhang XD, Wei CH, Yu XY. Therapeutic effect of different extraction parts of *Aconitum excelsum* reichb on chronic bronchitis rats [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2020, 47(9): 191-194.
- [32] 罗明, 阳仁达, 谭静, 等. 隔药饼灸对慢性支气管炎模型大鼠外周血中 T 细胞亚群的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(1): 37-40.
- [33] Luo M, Yang RD, Tan J, et al. Effect of cake separated moxibustion on T cell subsets in peripheral blood of rats with chronic bronchitis [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2020, 26(1): 37-40.
- [33] 杨帆, 黄瑞松, 陆益, 等. 固本止咳膏对小鼠慢性支气管炎的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(3): 32-34.
Yang F, Huang RS, Lu Y, et al. Effect of Guben Zhike ointment on chronic bronchitis in mice [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2006, 12(3): 32-34.
- [34] Tao S, Xu Y, Chen M, et al. Exposure to different fractions of diesel exhaust PM_{2.5} induces different levels of pulmonary inflammation and acute phase response [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2021, 210: 111871.
- [35] Kim V, Criner GJ. Chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2013, 187(3): 228-237.
- [36] Cao LH, Zhao YY, Miao JX, et al. Effect of fresh Phragmitis Rhizoma on airway inflammation in chronic bronchitis based on TGF- β signaling pathway [J]. Chin J Chin Mater Med, 2021, 46(22): 5887-5894.
- [37] 张金波, 王新陆, 孙丽, 等. 清肺化浊行血宽中方对 PM_{2.5} 引起慢性支气管炎大鼠肺组织病理学及血清 IL-8、TNF- α 的影响 [J]. 中华全科医学, 2017, 15(12): 2028-2031.
Zhang JB, Wang XL, Sun L, et al. Effects of TCM Qing Fei Hua Zhuo Xing Xue Kuan Zhong prescription on pulmonary histopathology and serum IL-8 and TNF- α level in rats with chronic bronchitis caused by PM_{2.5} [J]. Chin J Gen Pract, 2017, 15(12): 2028-2031.
- [38] Zhong XN, Bai J, Shi HZ, et al. An experimental study on airway inflammation and remodeling in a rat model of chronic bronchitis and emphysema [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2003, 26(12): 750-755.
- [39] 王博, 齐绪交, 张俊威, 等. 芪风固表颗粒对慢性支气管炎模型小鼠肺泡灌洗液及肺组织病理学影响 [J]. 黑龙江中医药, 2018, 47(5): 155-156.
Wang B, Qi XJ, Zhang JW, et al. Effect of Qifenggubiao Granule on alveolar lavage fluid and lung histopathology in mice with chronic bronchitis [J]. Heilongjiang J Tradit Chin Med, 2018, 47(5): 155-156.
- [40] Ma J, Rubin BK, Voynow JA. Mucins, mucus, and goblet cells [J]. Chest, 2018, 154(1): 169-176.
- [41] Lee MY, Park E, Jeon WY, et al. Yukgunja-Tang, a traditional herbal formula, attenuates cigarette smoke-induced lung inflammation in a mouse model [J]. Phcog Mag, 2018, 14(56): 275.

[收稿日期] 2022-12-07