

张奕星,姜之炎,刘安琪,等. 大鼠腺样体肥大实验动物模型建立的探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(7): 9-16.  
Zhang YX, Jiang ZY, Liu AQ, et al. Experimental animal model of adenoid hypertrophy [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(7): 9-16.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.07.002

# 大鼠腺样体肥大实验动物模型建立的探讨

张奕星<sup>1</sup>, 姜之炎<sup>2\*</sup>, 刘安琪<sup>1</sup>, 王淑敏<sup>1</sup>, 孙程辉<sup>1</sup>

(1.上海中医药大学,上海 200000;2.上海中医药大学附属龙华医院 儿科,上海 200030)

**【摘要】** 目的 通过复合过敏性鼻炎和慢性咽炎动物模型建立模拟腺样体肥大大鼠模型,并评价模拟模型的可行性。**方法** 通过卵白蛋白腹腔注射基础致敏及滴鼻强化致敏制造过敏性鼻炎大鼠模型,同时予氨水进行大鼠咽喉部喷雾制造慢性咽炎模型,复合成模拟腺样体肥大大鼠模型。造模结束后通过动物行为学评分评估模型动物症状表现;将鼻、咽黏膜及鼻咽淋巴结组织 HE 染色后观察其组织病理形态学改变;造模结束取大鼠全血检测嗜酸性粒细胞百分比,ELISA 法检测大鼠血清及粘膜组织 IL-4、IgE 水平。**结果** 两组模型组动物行为学评分、嗜酸性粒细胞百分比、血清及组织 IL-4、IgE 水平均较空白对照组上调( $P<0.01$ );与模型 A 组对比,模型 B 组嗜酸性粒细胞百分比、血清及组织 IgE 水平上调更加明显( $P<0.01$ );两组模型组鼻、咽黏膜及鼻咽部淋巴结都出现不同程度的疾病相关组织病理改变。**结论** 模拟腺样体肥大大鼠模型在症状表现及病理改变上与腺样体肥大类似,可以通过复合过敏性鼻炎和慢性咽炎动物模型模拟腺样体肥大动物模型,但仍需进一步探索完善。

**【关键词】** 腺样体肥大;过敏性鼻炎;慢性咽炎;动物模型

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 07-0009-08

## Experimental animal model of adenoid hypertrophy

ZHANG Yixing<sup>1</sup>, JIANG Zhiyan<sup>2\*</sup>, LIU Anqi<sup>1</sup>, WANG Shumin<sup>1</sup>, SUN Chenghui<sup>1</sup>

(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200000, China. 2. Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Department of Paediatrics, Shanghai 200030)

**【Abstract】 Objective** To evaluate the feasibility of an animal model of simulated adenoid hypertrophy by combining animal models of allergic rhinitis and chronic pharyngitis. **Methods** A rat model of allergic rhinitis was established by basal sensitization through intraperitoneal OVA injection and nasal enhanced sensitization. A model of chronic pharyngitis was established simultaneously by a throat spray of ammonia, both models were combined into a rat model of simulated adenoid hypertrophy. The symptom performance of model animals was assessed by the animal behavioral score after modeling. Pathomorphological changes of nasal and pharyngeal mucosae and nasopharyngeal lymph nodes were observed by HE staining. The percentage of eosinophils was assess in rat whole blood. IL-4 and IgE levels in rat serum and mucosal tissue were measured by ELISA. **Results** The behavior score, eosinophil percentage, and IL-4 and IgE levels in serum and tissue were increased compared with the control group ( $P<0.01$ ). Compared with model group A, the eosinophil percentage and serum IgE level were increased in model group B ( $P<0.01$ ). In the model groups, nasal and

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(82174433);上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划项目(ZY(2021-2023)-0206-01);上海市市级医院新兴前沿技术联合攻关项目(SHDC12021102);上海市中医药三年行动计划项目(ZY(2021-2023)-0209-05)。

**【作者简介】** 张奕星(1988—),女,主治医师,在读博士研究生,研究方向:中医药防治儿童鼻病。E-mail:ybjzyx@163.com

**【通信作者】** 姜之炎(1960—),女,教授,主任医师,研究方向:中医药治疗儿童常见病、多发病,徐氏儿科传承。E-mail:lhjzycm@163.com

pharyngeal mucosae and nasopharyngeal lymph nodes showed different degrees of disease-related histopathological changes.

**Conclusions** The rat model had symptom manifestations and pathological changes similar to adenoid hypertrophy. This animal model of simulated adenoid hypertrophy can be used as a combined animal model of allergic rhinitis and chronic pharyngitis, but requires further exploration and improvement.

**[Keywords]** adenoid hypertrophy; allergic rhinitis; chronic pharyngitis; animal model

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

腺样体位于鼻咽顶壁与后壁交界处,既是鼻咽部具有防御作用的一团淋巴组织,也是人体重要免疫器官扁桃体组织的一部分,具有体液免疫和细胞免疫的双重作用<sup>[1]</sup>,正常儿童 2~6 岁时会出现腺样体生理性肥大,学龄期后逐渐缩小,但当外界病原体入侵机体,刺激腺样体淋巴组织病理性增生,则称为腺样体肥大(adenoid hypertrophy, AH)<sup>[2]</sup>。有研究表明在随机代表性样本中儿童和青少年 AH 的临床患病率为 34.46%,在样本中高达 70%,且男童发病率高于女童<sup>[3-4]</sup>。肿大的腺样体阻塞气道,造成鼻塞、打鼾、张口呼吸、睡眠呼吸困难等临床症状,久之导致听力下降、睡眠呼吸障碍和颌面畸形,影响儿童正常生长发育、智力发育,甚至会诱发心血管系统早期的病理性改变<sup>[5-6]</sup>。另一方面,AH 的堵塞不通,导致分泌物或各类变应原、病原体长期滞留鼻咽腔、咽鼓管,容易并发儿童慢性鼻窦炎、过敏性鼻炎、分泌性中耳炎等疾病。儿童 AH 目前治疗方案以鼻用糖皮质激素、抗白三烯、抗组胺类药物及手术治疗为主。由于手术可能损害小儿鼻咽部的局部免疫功能,且少数患儿手术后可能出现寰枢关节半脱位等风险<sup>[7]</sup>,多数家长更偏向选择内科治疗,故寻求更加有效、安全的药物治疗方法是儿科临床急需解决的问题,而中医药治疗儿童 AH 重在消除痰、瘀等病理产物,调整患儿肺脾两虚的体质状态,凭借其良好的临床疗效及安全性也越来越受到患儿及家长的认可。

儿童 AH 的发病机制并不明确,药物疗效及药物作用机制均难以评价,需要大量实验医学方面的验证。动物模型是实验医学开展的基础,但查阅文献,目前并无可行的用于评价药物疗效的 AH 动物模型报道,主要原因在于常见的实验动物鼠类缺乏腺样体或者扁桃体组织,而存在腺样体组织的大型哺乳动物由于形体等诸多限制又难以开展广泛的动物实验研究,且目前尚无公认的造成动物腺样体或类似组织出现与人类 AH 相似的病理表现的造模方式,这些都限制了对儿童 AH 病理机制及药物治疗方案的进一步探索。

由于实验动物本身组织结构难以改变,故本课题组提出“模拟模型”的想法,希望建立在临床表现及组织病理改变上与 AH 相类似的可行的模拟动物模型。

## 1 过敏性鼻炎联合慢性咽炎动物模型模拟 AH 动物模型的理论依据

### 1.1 临床表现的一致性

儿童 AH 的主要临床表现有两方面:一是鼻塞、打鼾等气道通气障碍;二是由于堵塞造成分泌物或各类变应原、病原体长期滞留引起的症状<sup>[8]</sup>,如流涕、慢性咳嗽等,均与局部慢性炎症相关<sup>[5]</sup>。有研究发现 AH 与小儿耳鼻喉科众多疾病均有密切联系,如过敏性鼻炎(allergic rhinitis, AR)、急性慢性鼻-鼻窦炎(acute and chronic rhino-sinusitis, ARS/CRS)、分泌性中耳炎、儿童阻塞性睡眠呼吸暂停(obstructive sleep apnea, OSA)等<sup>[9]</sup>,其中以 AR 的发病率最高,国外有学者甚至认为 AH 与 AR 互为因果,AH 患儿即使没有 AR 临床表现,也有 AR 的病理特征或其他变态反应<sup>[10]</sup>。慢性咽炎(chronic pharyngitis, CP)则是以清嗓样咳嗽为主要临床表现,是慢性咳嗽常见病因之一,虽无流行病学研究证实 AH 和 CP 的伴发情况,但两者均归属于上气道综合征范畴,病位均处于咽喉部,均有慢性咳嗽的临床表现,均与局部慢性炎症相关,故能认为两者有密切联系。

### 1.2 组织病理的一致性

现代医学对儿童 AH 发病机制尚未明确阐述,目前研究主要集中在免疫反应和过敏反应两方面。腺样体属于粘膜相关性免疫淋巴组织,属于咽扁桃体的一部分,口咽淋巴组织的集合被称为沃尔德耶淋巴环(Waldeyer ring, WR),包括了扁桃体、腺样体及口咽部淋巴组织。由于鼠类无扁桃体及腺样体,有学者对大鼠鼻咽部淋巴组织进行研究,提出 WR 等效淋巴组织(WR equivalent lymphoid tissue, WRE)的概念<sup>[11]</sup>,研究表明该组织由不同的 T 细胞和 B 细胞组成,在组织学上可以被认为是一

种具有免疫活性的淋巴器官和粘膜相关淋巴组织,与人类扁桃体的相似,而免疫学检查结果显示大鼠 WRE 更像人类咽扁桃体而不是腭扁桃体。而 Cleary 等<sup>[12]</sup>利用链球菌小鼠鼻内感染作链球菌性咽炎的模型,同样基于小鼠的鼻相关淋巴组织(nasal-associated lymphoid tissue, NALT)与人类扁桃体类似的特点,NALT 是鼠类在外鼻孔底部下方和硬腭上方的两个淋巴组织叶,研究证实了 A 组链球菌是优先定植或入侵 NALT,再次验证了 NALT 在结构和功能上均与人类扁桃体相似。从病理过程而言,当外界病原体侵袭机体时,B 淋巴细胞受到感应而进行复制,继而侵入循环,累及全身淋巴组织及具有淋巴细胞的组织和器官,从而刺激 T 细胞增殖。腺样体、扁桃体或其他部位淋巴结均为淋巴器组织,当机体受炎症侵袭时,同时受累或先后受累是可预测的病理过程,在试验动物缺乏某些淋巴组织的情况下,原则上可以用机体其他淋巴组织代替。如 Qu 等<sup>[13]</sup>就用腹部淋巴结制备树突状细胞,用于研究树突状细胞对气道炎症和免疫调节的影响。基于 WRE(或 NALT)在组织病理和免疫功能上与扁桃体的相似性,课题组提出以大鼠鼻咽部淋巴组织模拟大鼠腺样体的设想。

### 1.3 中医理论的一致性

古代中医文献中无“腺样体肥大”相关病名记载,但根据其临床表现及常见并发症可归属于“鼻塞”“窠囊”“鼾眠”“痰核”等疾病中。许多医家认为儿童 AH 形成与“痰”“瘀”密切相关<sup>[14-15]</sup>,故本病病机及治疗可参照古籍对“痰核”“窠囊”等疾病的描述。元代朱丹溪《丹溪心法·卷二·痰十三》中云:“凡人身结核不红、不痛、不做脓,皆痰注也”,故无论是肥大的腺样体、扁桃体,或是肿大的机体淋巴结,都可称之为“痰核”;喻嘉言《寓意草》中也有相关描述:“至于窠囊之痰,……生长则易,剥落则难,……窠囊之来,始于痰聚胃口,呕时数动胃气,胃气动,则半从上出于喉,半从内入于络,……痰入既久,则阻碍气道,而气之奔入者,复结一囊也”,脾作为生痰之源,故中医认为此类疾病病机关键均在于脾运失健,痰浊互结。另《类经·二十一卷·四十五》注言:“顽颞,即颈中之喉颞。当咽喉之上,悬雍之后……颞前有窍,息通于鼻”,由此可见“顽颞”解剖位置近鼻咽部腺样体处,是口、鼻、咽、喉贯通之地,经络相连,均属上焦肺系。故从中医理论而言,鼻咽部淋巴结和腺样体均属于“痰

核”,病机均与“脾虚痰阻”相关,在解剖位置上也是一致的。

综上,我们认为可以尝试通过复合 AR 和 CP 动物模型模拟 AH 大鼠模型。

## 2 材料和方法

### 2.1 实验动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠 18 只,4~5 周龄,体重 120~140 g,由浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001]提供,适应性喂养 1 周,饲养于屏障环境,房间每 12 h/12 h 明暗交替,室温保持在 20~26℃,相对湿度为 40%~70%,自由进食和饮水。实验动物饲养及观察于上海中医药大学实验动物中心[SYXK(沪)2020-0009]进行,操作符合上海中医药大学实验动物福利与伦理委员会的相关审批(PZSHUTCM210709003),动物实验方法和目的符合人类的道德伦理标准和国际惯例,实验动物饲养和实验过程中按实验动物 3R 原则给予人道关怀。

### 2.2 主要试剂与仪器

卵白蛋白(OVA, Sigma 公司, A5503-5G);氢氧化铝粉末(南京化学试剂股份有限公司, C0151520323);氨水(南京化学试剂股份有限公司, C0700110123);注射用盐酸替来他明盐酸唑拉西洋(舒泰 50,法国维克有限公司,2020 外兽药证字 06 号);ELISA 试剂盒 IL-4(美国 R&D systems 公司, R4000);ELISA 试剂盒 IgE(美国 Abcam 公司, ab157736);实验所需其他溶液如多聚甲醛、PBS 等均于上海中医药大学附属龙华医院中心实验室配制。

实验所需仪器及设备如多功能酶标仪(美国 Bio Tek 公司, Synergy2 型)、病理切片机(上海徠卡仪器有限公司, RM2016 型)、全自动血细胞分析仪(日本 Celltac $\alpha$ , MEK-6450)等同样由上海中医药大学附属龙华医院中心实验室提供。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 分组

适应性喂养 1 周后,采用随机数字表将 18 只 SD 大鼠随机分成空白对照组、模型 A 组及模型 B 组,每组各 6 只。由于本次实验为探索性造模实验,且为同时建立 2 种模型的“复合性动物模型”,参阅文献<sup>[16-18]</sup>发现 AR 造模方法有给药时间及剂量的差异,故分模型 A、B 组,以探索最适剂量。

### 2.3.2 造模

建立 AR 大鼠模型同时建立 CP 大鼠模型:(1) AR 大鼠模型:模型 A 组以 OVA 0.3 mg 作抗原,氢氧化铝粉末 30 mg 作佐剂,加入 1 mL NS 中形成混悬液,隔日 1 次腹腔注射进行基础致敏,共 8 次,第 16 天起大鼠取头低位,用微量加样器予每侧鼻腔滴 5% OVA 溶液 50  $\mu$ L 作为激发,每日 1 次,连续 7 d;模型 B 组则以 OVA 1 mg+氢氧化铝粉末 10 mg+1 mL NS 混悬液作为基础致敏,在第 1、8、15 天进行腹腔注射,第 16~22 天,每天 1 次,每侧鼻腔滴 10 mg/mL 浓度的 OVA 溶液 25  $\mu$ L 作为激发;空白对照组大鼠以模型 A 组同时段同等量 NS 腹腔注射及鼻腔滴注。(2) CP 大鼠模型:固定大鼠,模型 A、B 组均用喷雾器将 5% 氨水喷入大鼠咽腔,每天 2 次,每次 2 揆(约 200  $\mu$ L),刺激时间间隔 8 h,连续 22 d;空白对照组则以等量 NS 咽腔喷雾。

### 2.3.3 动物行为学观察

最后一次激发致敏及喉腔喷雾结束后 1 h 内,进行大鼠行为学观察评分。各指标采用叠加量计分法,鼻痒:抓口鼻 1~5 次计 1 分,抓口鼻 6~10 次计 2 分,抓口鼻 11 次以上计 3 分;喷嚏或咳嗽:1~3 个计 1 分,4~10 个计 2 分,11 个以上计 3 分;清涕或口腔分泌物:流至前鼻孔或仅在口周计 1 分,超出前鼻孔或超出口周计 2 分,涕流满面计 3 分,总分超过 5 分表示造模成功。

### 2.3.4 组织病理学检查

造模结束后采用舒泰 50 按说明书配制后以 0.1 mL/100 g 体重腹腔注射麻醉大鼠,采血致死后在大鼠鼻背正中缝处裂开鼻腔,剖析出鼻、咽黏膜组织,剖开整个上颌,寻找并分离鼻咽部淋巴组织,在清洁 PBS 轻轻摇动,洗去血液,一部分迅速置于 4% 多聚甲醛中固定,另一部分置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。固定后的鼻、咽黏膜组织及淋巴组织,常规石蜡包埋,切片,经 HE 染色后,200 倍显微镜观察病

理组织形态学改变。

### 2.3.5 EOS 水平检测

造模结束并麻醉大鼠后取大鼠腹主动脉血,5 mL 左右 4 $^{\circ}$ C、3000 r/min 离心后取血清,-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存;抗凝管接 1 mL 左右并迅速置于全自动血细胞分析仪测全血细胞计数。

### 2.3.6 IL-4、IgE 水平检测

取鼻咽黏膜组织,复温后研磨匀浆后取上清液,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清及组织上清液中 IL-4、IgE 水平。操作严格按试剂盒说明书进行。

## 2.4 统计学方法

本研究采用 SPSS 21.0 统计分析软件进行统计学处理,数据用平均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。资料正态分布且方差齐时,多组比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间两两比较采用 LSD 法;资料偏态分布或方差不齐时,多组比较采用秩和检验(Kruskal-Wallis 法),用中位数(M)、25 百分位数(P25)和 75 百分位数(P75)表达,组间两两比较用 Nemenyi 法。以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 大鼠行为学评分

统计各组大鼠每小时抓鼻、咳嗽或喷嚏的次数,结果不符合正态分布,故采用秩和检验。与空白对照组动物相比,模型 A 组与模型 B 组动物抓鼻、喷嚏等行为次数明显增多,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),两模型组相比,模型 B 组大鼠每小时抓鼻次数更多( $P<0.05$ ),但两模型组咳嗽或喷嚏次数相当,差异无统计学意义( $P=1.000$ ),两模型组口鼻溢液更明显,根据行为学评分结果可知,模型 A 组与模型 B 组动物行为学评分均较空白对照组增高,且差异均有统计学意义( $P<0.01$ ),但模型 A 组与模型 B 组相比无统计学差异( $P=0.459$ )。见表 1。

表 1 各组动物行为学评分比较

Table 1 Comparison of animal behavioral scores in each group

组别 Groups	抓鼻(times/h) Number of nose scratches per hour	咳嗽或喷嚏(times/h) Number of coughs or sneezing per hour	行为学评分 Behavioral score
空白对照组 Control group	0.00(0.00,1.25)	0	1.00 $\pm$ 0.63
模型 A 组 Model group A	8.75(8.00,11.50)*	3.00(2.00,3.75)**	6.33 $\pm$ 1.03**
模型 B 组 Model group B	16.50(16.00,19.25)**#	3.00(2.25,3.75)**	6.67 $\pm$ 0.52**

注:与空白对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型 A 组比较,# $P<0.05$ 。

Note. Compared with control group,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ . Compared with model group A,# $P<0.05$ .

### 3.2 大鼠全血 EOS%计数水平

经统计发现组间比较有差异,模型 A 组 EOS% 较空白对照组上调 ( $P < 0.05$ ),但模型 B 组较空白组上调更加明显 ( $P < 0.01$ ),且模型 B 组与模型 A 组相比,差异同样具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),见表 2。

### 3.3 大鼠鼻、咽黏膜及鼻咽部淋巴结组织病理改变

空白对照组鼻粘膜组织结构正常,黏膜表明纤毛致密、完整,黏膜固有层中含有小的混合性腺体、浆细胞及肥大细胞等,间质无水肿变性;模型 A 组纤毛数量减少,部分上皮细胞脱落,结构界限模糊,间质水肿,黏膜内可见嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及淋巴细胞浸润;模型 B 组与模型 A 组类似,纤毛破坏严重,上皮细胞变性,部分胞质溶解、边缘不

表 2 各组动物 EOS%水平比较

Table 2 Comparison of EOS% levels in each group

组别 Groups	嗜酸性粒细胞百分比 (%) EOS%	F	P
空白对照组 Control group	1.23±0.57		
模型 A 组 Model group A	3.82±0.43*	40.232	0.000
模型 B 组 Model group B	10.05±2.95**##		

注:与空白对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ;与模型组 A 比较, ##  $P < 0.01$ 。

Note. Compared with control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Compared with model group A, ##  $P < 0.01$ .

清,黏膜内出现明显的小血管扩张和间质水肿现象,炎性细胞浸润明显。

空白对照组咽黏膜固有层完整,可见少量浆细胞、淋巴细胞浸润,未见明显病理性损伤;模型 A 组黏膜固有层破坏,少量黏膜脱落,黏膜组织可见炎性细胞浸润,黏膜上皮细胞增生,腺体可见充血肥大,黏膜下可见少许血管扩张;模型 B 组咽部损伤严重,广泛黏膜坏死,黏膜下层高度水肿,结构紊乱,同样有炎性细胞浸润,腺体间质可见出血。

空白对照组淋巴结组织结构正常,淋巴细胞排列紧密;模型 A 组及模型 B 组见淋巴小结体积增大,数量增多,小结内生发中心不明显,淋巴细胞不均匀。

总体而言,空白对照组鼻、咽黏膜及淋巴结结构基本正常,两组模型组均有不同程度病理改变,但模型 B 组更加明显。见图 1。

### 3.4 大鼠血清及鼻咽黏膜组织 IL-4、IgE 水平

统计显示,模型 A 组与模型 B 组血清及组织 IL-4、IgE 水平均较空白对照组均显著上调 ( $P < 0.01$ );两组模型组之间对比,血清 IL-4 水平,模型 A 组较模型 B 组高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),组织 IL-4 水平两组之间无统计学差异 ( $P > 0.05$ ),血清及组织 IgE 水平模型 B 组较模型 A 组高 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

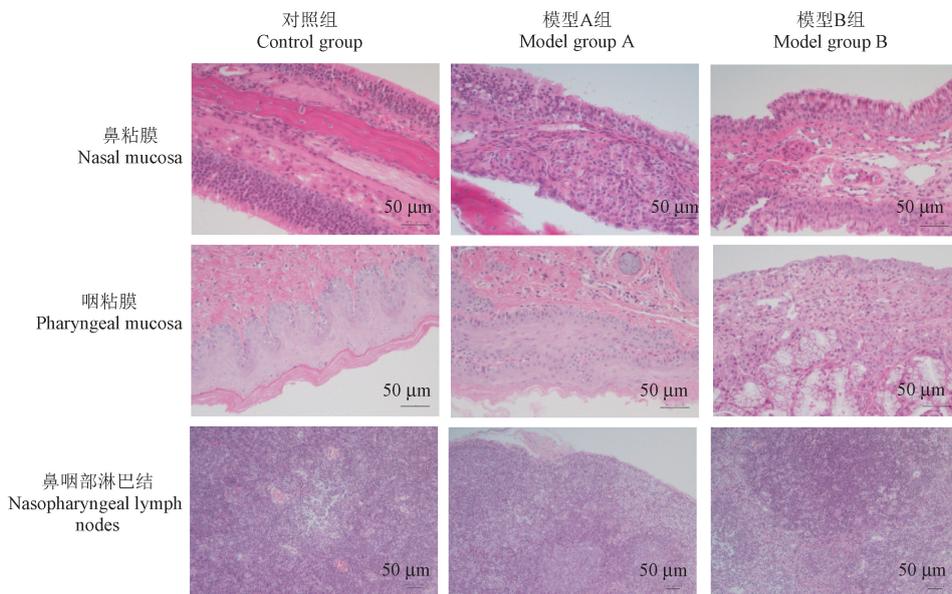


图 1 HE 染色后大鼠鼻、咽黏膜及鼻咽部淋巴结组织病理改变

Figure 1 The histopathological changes of nasal mucosa, pharyngeal mucosa and nasopharyngeal lymph nodes by HE staining

表 3 各组动物血清及组织 IL-4、IgE 水平  
Table 3 Serum and mucosal tissue IL-4 and IgE levels in each group

组别 Groups	血清 IL-4 (pg/mL) IL-4 levels of serum	血清 IgE (μg/mL) IgE levels of serum	组织 IL-4 (pg/mL) IL-4 levels of tissues	组织 IgE (μg/mL) IgE levels of tissues
空白对照组 Control group	15.897±3.133	1.091±0.141	37.042±11.637	2.103±0.141
模型 A 组 Model group A	42.877±4.581 <sup>**</sup>	1.579±0.092 <sup>**</sup>	117.112±8.709 <sup>**</sup>	2.591±0.092 <sup>**</sup>
模型 B 组 Model group B	39.610±5.210 <sup>**#</sup>	2.021±0.124 <sup>**##</sup>	118.941±12.277 <sup>**</sup>	3.033±0.124 <sup>**##</sup>

注:与空白对照组比较, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与模型 A 组比较, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$ 。

Note. Compared with control group, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ . Compared with model group A, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$ .

## 4 讨论

AH 是儿童常见呼吸道疾病之一,近年来发病率更是逐年攀升,并与儿童反复上呼吸道感染、鼻窦炎、中耳炎等耳鼻咽喉科疾病相关。目前 AH 的发病机制并不明确,但多数学者认为与免疫功能紊乱,诱导炎症细胞激活,局部炎症从而引起病理性肥大相关,故在药物治疗上多选用鼻用激素局部抗炎,或使用白三烯受体拮抗剂抑制其引发的炎症反应<sup>[19]</sup>,对于中重度 AH,则建议进行腺样体切除手术,以期迅速消除临床症状。中医药治疗儿童 AH 以其良好的临床疗效也越来越受到关注,中医文献中无“腺样体肥大”相关病名记载,只能根据其临床表现及常见并发症归属于“鼻塞”“窠囊”“鼾眠”“乳蛾”“痰核”“颌颞不开”等疾病中,虽目前尚无统一辨证分型,但多从“痰、瘀”论治<sup>[20-21]</sup>。无论中、西医,寻求有效、安全的 AH 药物治疗方法都是儿科临床急需解决的问题,对于本病无论是临床研究还是实验室研究均需进一步开展。

### 4.1 AH 动物模型研究现状

动物实验是医学科学从“经验科学”转化到“实验医学”过程中的重要手段和途径,实验动物模型对于某样疾病基本规律和机理的阐明,对于其诊断、治疗、药物研发所起的作用不可取代<sup>[22]</sup>,只有经过严格、系统的动物实验才能把医学置于真正的科学基础上。通过对 AH 研究进展的回顾,发现目前鲜有关于 AH 动物模型报道。主要原因在于实验动物本身条件限制,腺样体作为 WR 组成之一,鼠类却缺乏 WR,故不能在大鼠、小鼠或豚鼠咽喉部直接找到腺样体组织<sup>[12]</sup>,但鼠类淋巴组织丰富,是进行慢性炎症及免疫性炎症实验及抗炎药物筛选和评价最适宜的实验动物;一些大型的哺乳动物如猪、狗有类似 WR 扁桃体组织,但由于形体等诸多限制,同样不适合开展广泛的 AH 动物实验。另一原因在

于造模方式,如赵婷婷等<sup>[23]</sup>对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS) 动物模型进行综述,而 OSAHS 是 AH 的最严重表现,本病的造模主要依靠物理方式达到“梗阻”表现,如硅胶阻塞<sup>[24]</sup>、灼烧外鼻孔<sup>[25]</sup>等引起鼻阻塞-口呼吸症状,或在动物上气道特定部位注射凝胶、胶原和安装计算机控制活塞等方法,人为造成上气道狭窄或闭合从而模拟人类 OSAHS 患者的气道情况,此类模型一方面存在阻塞精确度难以控制、创伤性等缺点,重要的是不能模拟疾病发生时的病理状态,如炎症、渗出、变态反应等,对研究药物对疾病的治疗作用没有意义,同时这类模型同样多采用犬、猪、猴等大型动物。因此目前缺乏公认的腺样体肥大或扁桃体肥大相关的可行的动物模型,其严重症状 OSAHS 的动物模型尚属于探索阶段,没有能够进行病理和药理研究的此类动物模型,限制了对儿童 AH 病理机制、治疗方案的探索,同时为新药的研发带来困难。

### 4.2 AH 动物模型的建立

基于 AR 和 CP 在临床表现上与 AH 有诸多交叉,且 AH 患儿多数伴有 AR 或 CP,加之 AH 在病理特点是免疫介导的过敏反应,与 AR 及 CP 病理机制相一致。就实验大鼠而言,WRE 作为一种有免疫活性的淋巴器官,其组织病理上和人类扁桃体相似,免疫学检查上类似人类腺样体<sup>[11]</sup>,因此,鼻咽淋巴结组织在实验大鼠腺样体缺乏的情况下可以作为腺样体的代替组织。而在中医理论中,“凡人身结核不红、不痛、不做脓,皆痰注也”,即肿大的扁桃体、腺样体或淋巴结,均属于“痰核”,源于脾虚不能运化水湿,水湿聚而成痰,痰气凝聚于鼻咽而成“痰核”,痰核阻塞气道,气机不畅而出现咳嗽、张口呼吸、夜眠打鼾等一系列临床表现,故从中医理论而言,鼻咽部淋巴结和腺样体均属于“痰核”,病机均与“脾虚痰阻”相关,在解剖位置上也是一致的。

故通过联合 AR 大鼠模型和 CP 大鼠模型建立在临床表现及组织病理改变上与 AH 相类似的动物模型在理论上是可行的。

### 4.3 AH 动物模型的评价

由于本次实验选择的实验动物大鼠缺乏腺样体组织,故无法直接通过腺样体组织病理结构改变验证模型是否成功,故课题组通过动物行为学观察证明模型动物有疾病相关症状,通过组织病理学检查证明模型动物存在 AH 相关病理性改变,通过血清及组织炎症指标、变态反应性指标水平的变化从发病机制方面作为造模是否有效的佐证。

从最终结果来看,两组模型组均同时出现较明显的 AR 和 CP 的临床表现和组织病理性改变,说明 AR 和 CP 的动物模型是成功的,且在同一动物身上同时建立两种不同疾病的模型也是可行的。特别是在组织病理上,模型组大鼠鼻、咽黏膜出现明显纤毛或黏膜固有层破坏,间质水肿及炎性细胞浸润,而大鼠的鼻咽淋巴结病理结果显示模型组存在淋巴结组织结构改变,而大鼠鼻咽淋巴结作为 WRE 的一部分,在病理上与腺样体最为接近,组织病理改变,可以作为造模成功的重要依据之一。

从病理过程而言,AH 的产生、发展与慢性炎症刺激及变态反应密不可分,有学者通过对腺样体上细菌的培养,发现其与鼻腔外侧壁细菌相同,证实腺样体可能是细菌隐藏的场所,也有研究证实腺样体组织内有含量较高的白三烯受体<sup>[26]</sup>。因此炎症性指标及变应性指标的改变可以证实 AH 模型大鼠发生的病理过程<sup>[27]</sup>。IgE 在变态反应性疾病发病机制中的作用是公认的,当人体接触过敏原后,激活从而 B 淋巴细胞,产生特异性 IgE 并依附于肥大细胞和嗜酸性粒细胞(eosinophil, EOS)表面,当在次接触同种过敏原,过敏原快速与细胞表面 IgE 结合,使 IgE 产生桥联,破坏靶细胞结构并脱颗粒释放 Th2 细胞因子、组胺及白三烯炎症介质,从而产生一系列过敏性症状<sup>[28]</sup>。EOS 是一类人体固有免疫细胞,与变应性炎症严重程度有关,是过敏性疾病发生、发展及迁延不愈的重要原因,并常与呼吸道上皮脱落、基底膜增厚、黏液细胞增生和间质水肿等慢性炎症病理变化相伴<sup>[29]</sup>。IL-4 作为 Th2 淋巴细胞的特征性细胞因子,有促进 Th2 生成功能,参与机体体液免疫,其又是 Ig 转换因子,诱导 Th2 淋巴细胞分化,能将活化信号传达给 B 细胞,使 B 细胞由生成 IgM 切换为生成 IgE,故 IL-4 是促进 IgE 合成的最主

要细胞因子,而 IgE 型过敏反应是机体再次接触过敏原时,Th2 细胞功能失调,产生大量 IL-4,进而释放炎性介质所致<sup>[30]</sup>,故 IL-4 是参与气道过敏性炎症的发生、发展的重要因子,目前市场上已有一种针对 IL-4 $\alpha$  受体的治疗慢性鼻窦炎的单克隆抗体<sup>[31]</sup>,也说明 IL-4 水平与鼻病之间存在重要关联。因此 EOS、IgE、IL-4 可以作为评估 AH 变态性炎症程度的指标。从造模结果可以看出两组模型动物 EOS、血清及鼻咽黏膜组织的 IL-4 和 IgE 水平均升高,证实模型大鼠存在炎症反应及变应性反应变化,且模型 B 组的变应性反应相关指标,如 EOS%、IgE 变化更为显著,推测与 AR 模型不同的给药剂量及时间有关。

综上,本研究的“模拟模型”在症状表现、病理改变及病理变化上都与 AH 类似,在目前缺乏 AH 动物模型的情况下,可以尝试通过复合 AR 和 CP 动物模型模拟 AH 动物模型。本研究是对此类模型的初探,尤其局限性,仍需后期大量实验进行给药时间、剂量或联合其他疾病如慢性鼻窦炎等动物模型的探索和验证。

### 参考文献:

- [1] Nicholas L. Anatomy, head and neck, nasopharynx [EB/OL]. [2022 - 08 - 08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557635/>.
- [2] Zachary G, Nagendra G. Adenoid hypertrophy [EB/OL]. [2022 - 05 - 08] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536984/>.
- [3] Pereira L, Monyror J, Almeida FT, et al. Prevalence of adenoid hypertrophy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sleep Med Rev*, 2018, 38: 101-112.
- [4] Gerhardsson H, Stalfors J, Odhagen E, et al. Pediatric adenoid surgery in Sweden 2004-2013: incidence, indications and concomitant surgical procedures [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2016, 87: 61-66.
- [5] Shen L, Lin Z, Lin X, et al. Risk factors associated with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome in Chinese children: a single center retrospective case-control study [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0203695.
- [6] 郭向东,王彦华,姚卫杰,等.学龄期睡眠呼吸障碍儿童的神经行为功能分析[J].*临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(15): 1158-1162.
- [7] Pagella F, Lizzio R, Pusateri A, et al. Adenoidectomy: Anatomical variables as predictive factors of intraoperative adenoid residues [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2021, 140: 110493.
- [8] 李晓艳. 调节性 T 细胞在儿童腺样体肥大发病中的作用及其与过敏性鼻炎的关系 [D]. 上海: 上海交通大学, 2016.

- [ 9 ] 刘燕, 魏萍, 寇巍, 等. 儿童腺样体肥大与耳鼻咽喉科常见疾病关系的研究进展 [J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2019, 33(4): 149-154.
- [ 10 ] Marazzato M, Zicari AM, Aleandri M, et al. 16S metagenomics reveals dysbiosis of nasal core microbiota in children with chronic nasal inflammation: role of adenoid hypertrophy and allergic rhinitis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 458.
- [ 11 ] Koornstra PJ, Duijvestijn AM, Vlek LFM, et al. Immunohistology of nasopharyngeal (waldeyer's ring equivalent) lymphoid tissue in the rat [J]. *Acta Oto Laryngol*, 1993, 113(5): 660-667.
- [ 12 ] Cleary PP, Zhang Y, Park HS. Nasal associated lymphoid tissue & M cells, a window to persistent streptococcal infections [J]. *Indian J Med Res*, 2004, 119: 57-60.
- [ 13 ] Qu SY, Ou-Yang HF, He YL, et al. Der p2 recombinant bacille Calmette-Guérin targets dendritic cells to inhibit allergic airway inflammation in a mouse model of asthma [J]. *Respiration*, 2013, 85(1): 49-58.
- [ 14 ] 王剑锋, 张士卿. 张士卿教授以痰瘀互结理论治疗小儿腺样体肥大经验 [J]. 吉林中医药, 2020, 40(4): 460-462.
- [ 15 ] 顾静雯, 施晓燕, 庄承, 等. 姜之炎教授“运脾治鼻”法治疗小儿腺样体肥大临床经验 [J]. 中医药导报, 2018, 24(9): 125-126.
- [ 16 ] 刘书芹, 李桂华, 赵娜, 等. 黄连解毒汤对变应性鼻炎大鼠 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路及黏膜杯状细胞的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(1): 140-145.
- [ 17 ] 刘宝, 黄翔明, 王丹丹, 等. 变应性鼻炎病证结合模型的构建与评价 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(10): 4952-4956.
- [ 18 ] Wang JC, Huang Y, Zhang RX, et al. miR-338-3p inhibits autophagy in a rat model of allergic rhinitis after PM<sub>2.5</sub> exposure through AKT/mTOR signaling by targeting UBE2Q1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 554: 1-6.
- [ 19 ] 黎润球, 何锦添, 叶贝华. 孟鲁司特钠联合糠酸莫米松对轻度腺样体肥大患儿 TGF- $\beta$ 1、IL-17 及 Th17/Treg 的影响 [J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(4): 434-439.
- [ 20 ] 姜之炎, 刘俊俊, 石李, 等. 运脾化痰通窍方联合鼻部按摩治疗儿童腺样体肥大的临床疗效及免疫调节作用 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(1): 42-46.
- [ 21 ] 李伟伟, 史正刚. 张士卿治疗儿童腺样体肥大临床经验 [J]. 中医临床杂志, 2018, 30(12): 2238-2240.
- [ 22 ] 张红亚. 实验动物在医学科研设计中的应用 [J]. 国际外科学杂志, 2020, 47(1): 71-72.
- [ 23 ] 赵婷婷, 贺红, 陈雄. 颅颌面发育相关的阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征动物模型研究进展 [J]. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(2): 341-344.
- [ 24 ] Harvold EP, Tomer BS, Vargervik K, et al. Primate experiments on oral respiration [J]. *Am J Orthod*, 1981, 79(4): 359-372.
- [ 25 ] Uchima Koecklin KH, Kato C, Funaki Y, et al. Effect of unilateral nasal obstruction on tongue protrusion forces in growing rats [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2015, 118(9): 1128-1135.
- [ 26 ] Bernstein JM, Dryja D, Murphy TF. Molecular typing of paired bacterial isolates from the adenoid and lateral wall of the nose in children undergoing adenoidectomy: implications in acute rhinosinusitis [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2001, 125(6): 593-597.
- [ 27 ] Goldbart AD, Goldman JL, Li RC, et al. Differential expression of cysteinyl leukotriene receptors 1 and 2 in tonsils of children with obstructive sleep apnea syndrome or recurrent infection [J]. *Chest*, 2004, 126(1): 13-18.
- [ 28 ] 蒲玉铃. 撤针对过敏性鼻炎模型大鼠血清 IgE、IL-4、IL-2 的影响 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [ 29 ] 刘瑾, 祝戎飞. 嗜酸性粒细胞与过敏性鼻炎 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2021, 15(6): 707-708.
- [ 30 ] Branchett WJ, Stölting H, Oliver RA, et al. A T cell-myeloid IL-10 axis regulates pathogenic IFN- $\gamma$ -dependent immunity in a mouse model of type 2-low asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(2): 666-678.
- [ 31 ] 梁旭, 史丽. 慢性鼻窦炎生物靶向药物治疗的研究进展 [J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2022, 36(3): 30-35.

[ 收稿日期 ] 2022-08-15