

韦秀红,甄甄,张俊波,等. 咽喉反流性疾病动物模型和相关评价指标的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(5): 155–163.

Wei XH, Zheng Z, Zhang JB, et al. Research progress in animal models and related evaluation indexes of laryngopharyngeal reflux disease [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(5): 155–163.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.05.015

咽喉反流性疾病动物模型和相关评价指标的研究进展

韦秀红^{1,4}, 甄甄², 张俊波³, 马艳苗^{4*}, 李贤煜^{1*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700; 2. 北京大学第一医院, 北京 100034;
3. 清华大学附属北京长庚医院, 北京 102218; 4. 山西中医药大学基础医学院, 太原 030619)

【摘要】 咽喉反流性疾病 (laryngopharyngeal reflux disease, LPRD) 是一种在上呼吸道和上消化道共同发生的疾病。发病机制复杂, 尚缺乏有效治疗办法, 合理的动物模型和标准的评价方法对探究其发病机制和开发新型治疗药物尤为重要。新西兰兔是本病常用的造模动物, 球囊扩张术是常用的造模方法。本病较为标准的评价方法包括症状观察评价、影像学评价及 pH 监测等。通过查阅国内外文献, 对咽喉反流的动物模型和评价指标进行了详尽地综述, 以期对今后的研究提供参考。

【关键词】 咽喉反流性疾病; 动物; 模型; 指标评价; 进展

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 05-0155-09

Research progress in animal models and related evaluation indexes of laryngopharyngeal reflux disease

WEI Xiuhong^{1,4}, ZHEN Zhen², ZHANG Junbo³, MA Yanmiao^{4*}, LI Xianyu^{1*}

(1. Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China.
2. Peking University First Hospital, Beijing 100034. 3. Beijing Changgeng Hospital Affiliated to Tsinghua University, Beijing 102218. 4. School of Basic Medicine, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619)

【Abstract】 Laryngopharyngeal reflux disease (LPRD) occurs in the upper respiratory tract and the upper digestive tract. Its pathogenesis is complex and there a lack of effective treatments. Suitable animal models and standard evaluation method are needed to explore the pathogenesis of this disease and to develop new therapeutic drugs. New Zealand rabbits are commonly used to model LPRD, via balloon dilatation. The standard evaluation method for LPRD include symptom observation and evaluation, imaging evaluation, and pH monitoring. This review considers the animal models and evaluation indexes currently used for pharyngeal reflux with reference to the global literature, to provide a reference for future research.

【Keywords】 laryngopharyngeal reflux disease; animals; model; index evaluation; progress

【基金项目】 中药复杂作用解析协同创新团队项目 (XTCX2023001)。

【作者简介】 韦秀红 (1997—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 方剂的现代药理作用及其物质基础研究。

E-mail: wxh00925@163.com

【通信作者】 李贤煜 (1984—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 中药重定位蛋白质组学及中药复杂作用解析的研究。

E-mail: phd_xianyu@foxmail.com

马艳苗 (1982—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 方剂的现代药理作用及其物质基础研究。

E-mail: mymsxtcm@sxtcm.edu.cn * 共同通信作者

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

咽喉反流性疾病 (laryngopharyngeal reflux disease, LPRD) 是一种肠道内容物, 如胃酸、胃蛋白酶、脱氧胆酸等, 逆流进入食管上括约肌 (upper esophageal sphincter, UES) 以上部位, 如鼻、咽及气管黏膜, 导致组织部位水肿、溃疡或肉芽肿等症状和体征的总称^[1-2]。相比于食管, 咽喉黏膜受到反流物刺激的敏感性会更高。主要症状包括声音嘶哑、持续清嗓、咽喉疼痛、吞咽困难和慢性咳嗽等^[3]。文献报道 LPRD 与耳鸣、阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征、下咽癌和喉癌等密切相关^[4-7], 但其病理生理学机制尚不完全清楚, 目前认为的机制主要为 UES 和食管下括约肌 (low esophageal sphincter, LES) 短暂松弛, 及胃内容物损伤上消化道和咽喉。据报道在临床上被转诊给耳鼻喉科的患者中约 10% 被诊断为 LPRD^[8-10]。质子泵抑制剂 (proton pump inhibitor, PPI) 是目前国际公认的治疗 LPRD 的首选药物^[11-12], 但也存在部分患者服用 PPI 后症状并未缓解, 和长期使用具有明显不良反应、耐药性的缺陷^[3]。此外, 有研究表明, 冠状病毒病 (corona virus disease 2019, COVID-19) 患者的 UES 发生了明显损伤, 也由此增加了 LPRD 的患病率^[13]。LPRD 的病程长, 治疗费用高, 且伴随人们饮食习惯及生活方式的改变, 发病率逐年攀升, 由此探寻 LPRD 的发病机制, 找到安全有效地治疗方案是目前亟待解决的问题^[14]。

而建立有效的动物模型和选择正确的评价标准, 是临床前进行基础实验研究的前提, 也是临床上找寻合适治疗方法的理论基础。尽管 LPRD 动物建模和评价方法众多, 但目前尚缺乏详细的归纳、总结和整理, 本文查阅了国内外文献并对此进行总结, 以期今后的研究作为参考。

1 LPRD 建模动物的选择

LPRD 的建模动物主要是大鼠、豚鼠、兔和猪等^[15-18], 根据研究目的不同择优选择。胃酸、胃蛋白酶消化细胞间的链接蛋白, 如上皮细胞钙黏蛋白 (E-cadherin), 引起喉部屏障功能的破坏, 是 LPRD 引起喉部损伤的主要机制。研究发现, 大鼠的喉组织鳞状上皮部分角化, 对咽喉部位的反

流物有一定抵抗作用, 且对 E-cadherin 低表达, 故常通过调节饮食和昼夜节律来建模^[15]。豚鼠、兔子和猪的喉组织主要由纤毛、杯状细胞和复层鳞状上皮细胞组成, 与人类喉部组织相似^[19], 可作为建模动物的首选。这其中猪的体型较大、价格昂贵、饲养成本较高, 限制了规模化的开展动物建模, 一般用来研究反流物对离体喉组织损伤; 豚鼠咽部的感觉神经纤维与人类相似, 常用于研究反流物对咽喉神经的影响, 但也存在环境适应力差, 易受外界环境干扰等缺点^[18]; 而兔子是目前文献报道较多的 LPRD 建模动物。LPRD 相关机制见图 1。

2 LPRD 造模原理及动物模型的制备

制备 LPRD 动物模型主要有外源性方法、内源性方法、慢性睡眠剥夺和高脂饮食法。

2.1 内源性方法造模

内源性方法是通过手术破坏胃肠道的解剖结构, 引起生理功能的改变, 从而使胃内容物反流建模, 常包括球囊扩张术、鼻胃管插管法和颈咽肌切开术等。

2.1.1 球囊扩张术

UES 位于食管下端和胃的连接处, 宽约 1~3 cm 的高压区, 是组织胃内容物逆流入食管的第一道屏障。文献较多使用球囊扩张 LES 法: 球囊和导丝经胃管置入动物胃内, 调整球囊位置, 将球囊的中点置于动物的 LES 处, 缓慢注入适量蒸馏水, 使球囊得以完全扩大 LES 及膈的食管裂孔。扩张持续一段时间, 重复 2~3 次^[20]。LES 松弛后, 反流物迅速到达食管, 引起食管壁扩张和 UES 的松弛反射, 从而使反流物可以顺利到达咽喉部位^[21]。此方法还可用于 UES 扩张, 破坏 UES 的解剖结构。CAO 等^[22]认为长期使用 UES 和 LES 球囊扩张术可能会导致食管裂孔疝, 并在此基础上利用金属支架置入兔的食管中, 对 UES 稳定施加压力, 有效破坏 UES 的收缩功能和食管的蠕动功能。但固定金属支架也会存在困难, 如易脱落和变形等, 长期使用还可能损伤血管或落入胃中, 引起血管出血和干扰胃部正常的功能。总体

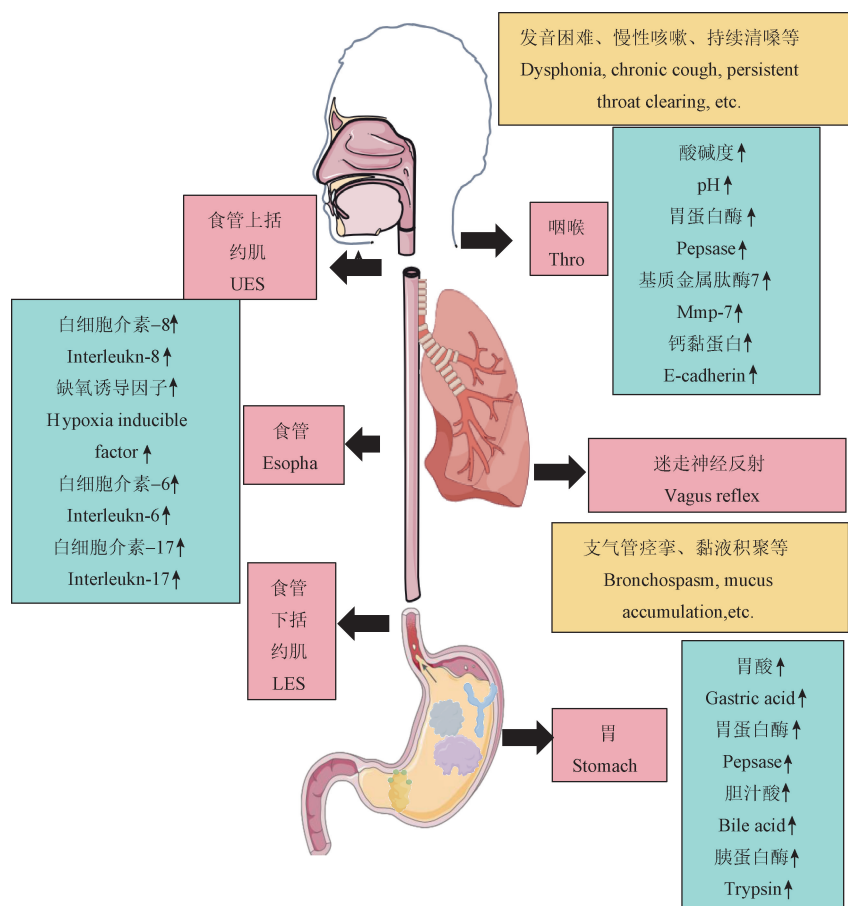


图1 LPRD 相关机制汇总示意图

Figure 1 Summary diagram of LPRD related mechanisms

而言,该方法微创、安全、成模率高、对动物的刺激相对较小,可以保证动物长时间存活,但容易造成动物的喉痉挛及误吸,引起部分动物死亡,因此需要在喉镜下进行操作。

2.1.2 鼻胃管插管法

鼻胃管在临床上应用广泛,常被用于吞咽困难的患者,但极易引起喉炎等并发症^[23]。而鼻胃管插管法恰巧利用了这一特点,用于 LPRD 的造模。采用合适大小的鼻胃管从鼻腔插入,经过咽喉、食管,最终到达胃里,将外头端缝合到鼻侧软骨上,使胃内容物直接通过食管流入咽喉,引起局部组织的水肿和炎症反应。这种没有机械性损伤的建模方法在大鼠和兔子上得到了有效验证^[24-26]。这其中,鼻胃管的粗细是造模成功的关键,太细的鼻胃管难以打开贲门,而太粗会引起鼻胃管和食管间隙狭窄,限制回流内容物的体积,从而导致 LPRD 建模失败;此外,还会阻碍食物吞咽,导致实验动物的体重减轻。LOU 等^[16]利

用不同尺寸的鼻胃管建立兔子的 LPRD 模型,最终确认 8 号鼻胃管是最为理想的尺寸。LIMA-RODRIGUES 等^[25]通过鼻胃管插管模型实验发现:引起的喉炎有两个重要因素,一是鼻胃管本身对喉黏膜有机械性刺激,二是反流物中的氢离子刺激喉黏膜感受器,促进炎症因子释放,导致血管通透性增加和血液外渗;他们还发现环氧合酶(cyclooxygenase2, COX-2)在单核细胞中的表达随着插管时间的增加而增加,首次证明除了白细胞介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)等炎症因子以外,COX-2 也参与了 LPRD 的咽喉反流机制。

2.1.3 颈咽肌切开术

UES 是防止反流物进入咽喉的最后一道防线。研究表明,在 LPRD 的患者中,UES 的压力是显著降低的^[27],证明了通过松弛 UES 建立 LPRD 动物模型在理论上的合理性。群颈咽肌是负责 UES 收缩力的主要肌。在临床上,对于 UES 收缩

障碍而引起吞咽困难的患者常采用颈咽肌切开术来缓解症状^[28]。SHI 等^[29]在内镜辅助下选择性切开颈咽肌纤维来松弛 UES,有效的建立了巴马猪 LPRD 模型。与对照组相比,手术组特征与临床特征相似,且喉黏膜中有明显的炎性细胞浸润和黏膜下腺体增生。此外,提示了咽喉黏膜上皮细胞间连接破坏后,暴露于反流物中,加重了咽喉反流的症状,这为 LPRD 发生机制提供了一个新见解。但是这种造模方法难度较大,对于手术精准操作要求较高,需要内镜辅助,难标准化。与此同时,猪的黏膜结构与人类最为相似,对手术的耐受性较高,因此,如选用该方法造模,猪即为首选实验动物^[19]。而由于饲养成本高、易产生并发症等,目前尚缺乏对于此类模型更为深入的研究报道。

2.1.4 其他内源性造模方法

HU 等^[30]将 8 只新西兰兔麻醉后,对其施行全肌切除术,即切除食管远端 2 cm 和胃近端 1 cm 的肌纤维,和全部来自食管和胃的肌纤维,并由此证明长时间的 LES 功能障碍与喉炎有关。此方法虽然有效,但是切除的肌纤维较多,影响食管除限制反流外的其他功能,如促进食物蠕动等,而且难以保证动物的存活率。HABESOGLU 等^[31]用导管覆盖 SD 大鼠的幽门及部分十二指肠,同时结扎前胃和腺体之间的过渡区造模。此方法以不仅限制了胃的容量也限制了胃排空,从而使胃内容物通过 LES 和食管,以确保造模成功,并进一步证明反流内容物会引起软腭的组织病理学变化。然而,该模型虽然限制了大鼠胃容量和胃排空,但同样也会减少饮食摄入,进而影响 LPR,难以完全复刻 LPRD。

2.2 外源性方法造模

外源性方法是将反流物:如胃酸、胃蛋白酶、胆盐等,涂抹于实验动物或离体组织的咽喉部位,刺激喉部组织引起炎症。王刚^[18]将 0.5%胃蛋白酶和 0.01 mmol/L 盐酸混合模拟胃液,通过硬膜外麻醉管经口插入雄性豚鼠的食管中上段,采用灌注方法,模拟咽喉反流的过程造模。灌注液均用美兰试剂标记每天 1 次,每次 20 min,连续 14 d 后,咽喉部呈现蓝色证明反流模型成功。

然而临床上 LPRD 是一个慢性疾病,涉及因素较多不同反流物对喉部损伤的效果也不完

全相同。LOU 等^[17]认为患者对 PPI 无效的原因之一可能是非酸反流物,对患者喉组织的持续损伤,因为 pH>4 时,胃蛋白酶的活性会受到抑制,而非酸反流物,如脱氧胆酸、胆汁酸等在此环境中更加具有活性。因此通过比较胃蛋白酶、脱氧胆酸对猪喉声带上皮的损伤结合 Franz 扩散池、荧光分子 FD4 和电子显微镜观察发现:胆汁酸组的声带上皮对 FD4 具有更大的渗透性,更易引起细胞死亡和细胞间隙扩张,从而破坏了声带上皮的完整性和屏障功能。这为临床上对 PPI 无效的患者提供了一个新的治疗思路。

2.3 慢性睡眠剥夺和高脂饮食造模

有研究显示,慢性睡眠障碍和高脂饮食是 LPRD 的高危因素^[32-33],因此有专家提出模仿临床 LPRD 患者的生活习惯造模。理论机制包括:睡眠不足激活下丘脑-垂体-肾上腺轴,促进氧化应激,触发消化道运动功能障碍引起 LPRD^[34];氧化应激还会释放炎症因子促进全身的炎症反应^[35];慢性快速眼动期(rapid eye movement, REM)睡眠障碍更会增加胃肠道不适的发生率。ZHANG 等^[36]通过实验组大鼠进行不同持续时间的慢性 REM 睡眠剥夺实现 LPRD 造模。具体流程为:将大鼠放入含有圆形平台的水槽中,水位在平台以下 1 cm,当动物达到 REM 阶段时,肌肉松弛而掉进水槽里,从而被唤醒,每天睡眠剥夺 8 h,持续训练 1~3 个月而实现。

张晨彬等^[15]认为高脂饮食会延缓胃的排空,且使 UES 压力下降,有利于胃内容物的反流,在慢性 REM 睡眠剥夺的基础上,给予实验组大鼠高脂饲料,模拟患者高脂饮食的习惯,结果发现实验组大鼠的毛发光泽度下降、暴躁易怒,反流次数增多。上述这种从病因学角度探索 LPRD 动物模型的方法,对动物没有任何创伤,且方法简单、容易操作,符合实验动物的 3R 原则。但是慢性睡眠剥夺和高脂饮食与 LPRD 的关系尚未得到完全证实,因此目前仅仅为模型构建的一种尝试,缺乏理论依据。建立不同动物的 LPRD 模型的方法及比较见表 1。

3 LPRD 模型的评价方法

目前评价 LPRD 模型的方法比较有限,常用的评价方法有一般状态、pH 监测、喉镜及反流体征评分、病理检查等。

表 1 建立不同动物 LPRD 模型的方法及比较

Table 1 Methods of establishing LPRD models of different animals and their comparison

造模动物 Animal model	模型构建方法 Model construction method	造模机制 Molding mechanism	表现 Manifestation	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
新西兰兔 ^[16,20,27] New Zealand rabbits	球囊经胃管置于动物的 LES 处,缓慢注入适量蒸馏水,使球囊得以完全扩大 LES Balloon was placed in the LES of the animal through a gastric tube, and an appropriate amount of distilled water was slowly injected to allow the balloon to fully enlarge the LES	扩张 LES Extended LES	食欲减退、紧张易激惹,声门下肉芽肿及弥漫性充血红斑 Loss of appetite, irritability of tension, subglottic granuloma and diffuse congestive erythema		
	鼻胃管从鼻腔插入,最终到达胃里将外头端缝合到鼻侧软骨上,使胃内容物直接通过食管流入咽喉 Nasogastric tube is inserted through the nasal cavity and ends up in the stomach where the outer tip is stitched to the lateral nasal cartilage, allowing the stomach contents to flow directly through the esophagus into the throat	开放 LES 和 UES Open LES and UES	体质量减轻、食欲减退,咽喉黏膜增厚、炎性细胞浸润 Weight loss, loss of appetite, thickening of the mucosa of the eye and throat, inflammatory cell infiltration	咽喉黏膜与人体组织相近,且反流抗性弱 Throat mucosa is similar to human tissue, and the reflux resistance is weak	群居性差,只能单笼饲养 Poor social, can only be kept in a single cage
	切除食管远端 2 cm 和胃近端 1 cm 的肌纤维 Muscle fibers of distal esophagus 2 cm and proximal stomach 1 cm were removed	松弛 LES 和 UES Relaxed LES and UES	声带水肿、声带下肉芽肿、喉黏膜下腺体增生 Vocal cord edema, subvocal cord granuloma, laryngeal submucous gland hyperplasia		
巴马猪 ^[26] Pama pig	选择性切开颈咽肌纤维 Selective incision of cervicopharyngeal muscle fibers	松弛 UES Relaxed UES	声带轻度水肿、喉内黏液分泌增多 Mild edema of vocal cords and increased mucus secretion in the larynx	喉黏膜上皮组织与人类最相似 Mucosal epithelium of the larynx is most similar to that of humans	体积较大,建模周期长,购买价格贵、养育成本高 Large volume, long modeling cycle, expensive purchase price, high rearing cost
SD 大鼠 ^[28,31] SD rats	导管覆盖幽门及部分十二指肠,同时结扎前胃和腺体之间的过渡区 Catheter covers the pylorus and part of the duodenum, while ligation the transition area between the anterior stomach and the gland	限制胃容量及胃排空 Restriction of gastric volume and gastric emptying	黏膜下腺肥大、上皮下水肿、血管充血等 Hypertrophy of submucosal glands, subepithelial edema, vascular congestion and so on	购买价格便宜、饲养成本低 Purchase price is cheap and the feeding cost is low	咽喉黏膜存在角化上皮,对反流物具有一定的抗性 Keratinized epithelium in throat mucosa, which is resistant to reflux
	慢性睡眠剥夺和高脂饮食 Chronic sleep deprivation and a high-fat diet	模仿 LPRD 患者生活习惯 Mimicking the lifestyle of LPRD patients	毛发光泽度下降、暴躁易怒、夜间撕扯打架 Decreased hair gloss, irritability, tearing and fighting at night		
豚鼠 ^[18] Guinea pig	将模拟胃液,经口灌注入雄性豚鼠的食管中上段 Simulated gastric juices were orally injected into the middle and upper esophagus of male guinea pigs	刺激喉部组织炎症 Stimulates throat tissue inflammation	体重减轻、喉黏膜下白细胞浸润 Weight loss and infiltration of submucous white blood cells in larynx	咽喉部感觉神经纤维与人类相似 Sensory nerve fibers in the throat are similar to those in humans	适应力差,易受环境干扰而死亡 Poor adaptability, susceptible to environmental interference and death

3.1 一般状态观察

在建立 LPRD 动物模型的过程中,动物大多数会死于窒息或者感染,时刻观察动物的一般情况有助于及时补救这些意外。造模成功的动物还会出现食欲减退、体重减轻等情况,内镜下可出现声带充血、水肿,喉内黏稠分泌物附着等表现。

3.2 pH 监测

24 h pH 监测包括咽喉食管 pH、阻抗-pH 和 DX-pH 监测,是主要的客观诊断手段^[37]。pH 监测系统能准确的监测出鼻、咽喉、气管中反流的微量酸或碱性气体,连续动态测量气道内 pH 值变化,协助判断气管内酸碱反流情况,是诊断 LPR 的“金标准”^[38-39]。关于 LPRD 的判定,目前认为当直立位 pH<5.5、卧位 pH<5.0 时,视为一次反流事件。代丽丽等^[20]采用球囊扩张术建立新西兰兔 LPRD 动物模型,在鼻黏膜表面麻醉后,将电极插入动物的口咽部和食道入口下方,固定好装置后,记录 2 h 咽部 pH 值,造模成功的标准为:直立位 2 h 内,反流事件>1 次。曹杰等^[40]采用 DX-pH 检测系统对模型组新西兰兔进行 24 h pH 监测通过统计反流的次数、最长反流时间和反流时间百分比,得出 Ryan 指数。以 Ryan 指数>9.41 分作为反流阳性的判断标准。

3.3 喉镜及 RSI 或 RSF 量表

反流症状指数量表 (reflux symptom index, RSI) 和/或反流体征评分 (reflux finding score, RSF) (见表 2) 是初步诊断的简单有效手段。目前国内外诊断 LPRD 的参考分数基本采用 BELAFSKY 等^[41-42]的研究结论,即 RSI>13 分和/或 RFS>7 分,由于不同患者对 LPRD 的敏感性和特异性不同,因此仍有很多学者对此标准存疑^[43]。使用 RSI 评分量表的人为主观因素的干扰较多,相比之下,RSF 喉镜的准确度可能更高、更客观。喉镜是一种内窥喉部的工具,通过喉镜可以在不损伤动物的前提下,随时观察到模型建立的过程和进度。孙喆喆等^[44]通过扩张新西兰兔的 LES 建模,他们记录了扩张前 1 周 RSF 评分 (3.1±1.2) 分,以及扩张后 8 周为 (8.6±2.5) 分。喉镜下,模型组的主要表现为声门下水肿、喉部黏液附着、弥漫性喉部水肿等,其中 1 例动物出现声突肉芽肿。

3.4 其他

除了上述的评价方法外还有 LES 压力测试^[29,44]、组织学评价^[20]等。

压力测试一般是在模型建立前后 1~2 周进行,即将动物麻醉后,经口置入测压导管,测量 LES 上缘和下缘的压力,再算出 LES 的平均静息压。比较扩张前后的 LES 的压力变化。这种方法对测压导管的精准度要求较高,模型建立后,LES 会出现较严重的松弛,并且收缩周期会变得不规律^[44]。对于组织学评价,除了之前所述的喉镜检查外,还有一些病理检查,即将动物处死后,取喉部黏膜和 LES 部分,用 10% 甲醛溶液固定,石蜡切片后,进行苏木素-伊红 (HE) 染色,镜下可见,喉部黏膜主要为淋巴细胞、浆细胞浸润性炎症,并且伴有腺体增生和间质水肿,食管黏膜主要为淋巴细胞浸润性慢性炎症^[20]局部鳞状上皮可见角化不全。

表 2 反流体征评分量表 Table 2 Reflux signs rating scale	
体征 Sign	评分 Score
声门下水肿 Subglottic edema	0=无 None 2=存在 Exist
喉室消失 Laryngeal disappearance	0=无 None 2=部分 Part 3=消失 Disappear
红斑/充血 Erythema/congestion	0=无 None 2=局限于杓状软骨 Restricted to arytenoid cartilage 4=弥漫 Diffuse
声带水肿 Vocal cord edema	0=无 None 1=轻度 Mild 2=中度 Medium 3=重度 Severe 4=声带息肉 Vocal cord polyp
弥漫性喉水肿 Diffuse laryngeal edema	0=无 None 1=轻度 Mild 2=中度 Medium 3=重度 Severe 4=阻塞 Blocking
后联合增生 Posterior synhyperplasia	0=无 None 1=轻度 Mild 2=中度 Medium 3=重度 Severe 4=阻塞 Blocking
肉芽肿 Granuloma	0=无 None 2=存在 Exist
喉内黏稠黏液附着 Sticky mucus sticks in the throat	0=无 None 2=存在 Exist

4 总结与展望

食管黏膜每天可以抵抗 50 次反流事件的发生,并且不会引起组织受损^[45],而每天 4 次的反流事件就足以对咽喉黏膜造成损伤,因此开放或者扩张 UES 是目前建立 LPRD 的关键。球囊扩张术、鼻胃管插管法、全肌切除术等,都是通过扩张或者松弛 UES,或者扩张 LES 来实现。但也存在问题,如:造模中同时伴随胃食管的反流(gastroesophageal reflux disease, GERD),胃内容反流进入食管,引起相应的病理损伤,可导致部分模型 LPRD 和 GERD 共存,也符合临床特征;颈咽肌切除术通过松弛 UES 来建模,可有效排除 GERD 影响,但是手术复杂,需要一定的外科解剖技术,难度较大;相比较而言,外源性方法简单易行,模拟 LPRD 的过程不够充分;慢性睡眠剥夺与高脂饮食的方法从病因学的角度考虑了发病机制,但是模型制作周期较长,过程混杂因素较多。LPRD 的造模方法有各自的优缺点,均从某一角度接近人的 LPRD 发生发展。总之,LPRD 造模难度较大,因此未来应该有较大空间创新和改良 LPRD 的动物模型,使其与临床症状更加贴切。

临床上,胃蛋白酶作为该疾病检测的金指标,提示 LPR 的发生发展,该方法简单、快捷。且迄今未在动物模型上应用,因此笔者认为,该方法理应成为 LPRD 动物模型的标准评价指标之一;此外,反流物中除胃酸、胃蛋白酶等酸性物质外,还存在胆汁酸等非酸性物质,而患者持续的非酸性物质刺激咽喉亦是咽喉组织损伤等症状的原因之一^[17],甚至比酸性物质的损伤更为严重,因此,现有单纯监测 pH 值来证明造模成功的方法不够全面,应该在加上模型动物喉黏膜或唾液中非酸性内容物的检测^[46-47]。而新兴多组学检测方法的兴起,有望从组织、体液等蛋白或者代谢层面增加模型鉴定的可靠性。

另外,基因编辑技术、转基因基因工程改造技术的兴起,使得疾病动物造模的改造相对容易,如阿尔茨海默病^[48]、坏死性筋膜炎^[49]、类风湿关节炎^[50]等。寻找特征基因,尝试利用基因改造技术建立 LPRD 模型是一个有前景和优势的方法。但该方法取决于疾病发病机制的深入研究,到目前为止,LPRD 的发病机制还没有完全阐明,

且 PPI 对部分 LPRD 患者无效的问题还没有彻底解决,因此,成熟的造模技术是当前的关键,未来的研究应当朝着 LPRD 的分子生物学机制和临床新药开发的方向发展。

参考文献:

- [1] SARUÇ M, AKSOY E A, VARDERELI E, et al. Risk factors for laryngopharyngeal reflux [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2012, 269(4): 1189-1194.
- [2] CUI N, DAI T, LIU Y, et al. Laryngopharyngeal reflux disease: Updated examination of mechanisms, pathophysiology, treatment, and association with gastroesophageal reflux disease [J]. World J Gastroenterol, 2024, 30(16): 2209-2219.
- [3] QADEER M A, PHILLIPS C O, ROCIO LOPEZ A, et al. Proton pump inhibitor therapy for suspected GERD-related chronic laryngitis: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Am J Gastroenterol, 2006, 101(11): 2646-2654.
- [4] 曹雅晨, 张瑾, 张文, 等. 耳鸣与咽喉反流相关性研究进展 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2021, 29(2): 226-228.
CAO Y C, ZHANG J, ZHANG W, et al. Research progress on correlation between tinnitus and throat reflux [J]. J Audiol Speech Pathol, 2021, 29(2): 226-228.
- [5] 谢冬雪, 张淑君. 咽喉反流与阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征相关研究进展 [J]. 承德医学院学报, 2021, 38(1): 63-66.
XIE D X, ZHANG S J. Research progress on correlation between throat reflux and obstructive sleep apnea hypopnea syndrome [J]. J Chengde Med Univ, 2021, 38(1): 63-66.
- [6] 程瑶, 张震, 赵锐, 等. 咽喉反流疾病与下咽癌的相关性的研究进展 [J]. 医学信息, 2022, 35(12): 65-67, 72.
CHENG Y, ZHANG Z, ZHAO R, et al. Research progress on the correlation between laryngopharyngeal reflux disease and hypopharyngeal carcinoma [J]. J Med Inf, 2022, 35(12): 65-67, 72.
- [7] 陈麒竹, 戴德, 罗国庆. 咽喉反流液中胃蛋白酶在喉癌诊断及治疗中的意义 [J]. 中国医学创新, 2021, 18(6): 185-188.
CHEN Q Z, DAI D, LUO G Q. Significance of pepsin in laryngopharyngeal reflux in the diagnosis and treatment of laryngeal cancer [J]. Med Innov China, 2021, 18(6): 185-188.
- [8] CHEN T, LU M, WANG X, et al. Prevalence and risk factors of gastroesophageal reflux symptoms in a Chinese retiree cohort [J]. BMC Gastroenterol, 2012, 12: 161.

- [9] HAMDAN A L, JABBOUR J, BARAZI R, et al. Prevalence of laryngopharyngeal reflux disease in patients with diabetes mellitus [J]. *J Voice*, 2013, 27(4): 495–499.
- [10] WANG Y, LIANG Q, LUO J, et al. Laryngopharyngeal reflux in otolaryngology-head and neck surgery clinic: an epidemiological survey [J]. *Ear Nose Throat J*, 2024; 1455613241301601.
- [11] GUO H, MA H, WANG J. Proton pump inhibitor therapy for the treatment of laryngopharyngeal reflux: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(4): 295–300.
- [12] CHEN Y Y, WANG C C, CHUANG C Y, et al. Link between pharyngeal acid reflux episodes and the effectiveness of proton pump inhibitor therapy [J]. *World J Gastroenterol*, 2024, 30(48): 5162–5173.
- [13] JIANG G, CAI Y, YI X, et al. The impact of laryngopharyngeal reflux disease on 95 hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective study [J]. *J Med Virol*, 2020, 92(10): 2124–2129.
- [14] WANG M, MO T, TAN J, et al. Risk factor-related lifestyle habits of patients with laryngopharyngeal reflux [J]. *Ear Nose Throat J*, 2024, 103(10): 640–649.
- [15] 张晨彬, 李木, 张延平, 等. 慢性睡眠剥夺和高脂饮食与咽喉反流性疾病相关性的实验研究 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2018, 26(1): 68–72.
- ZHANG C B, LI M, ZHANG Y P, et al. Upper gastrointestinal tract pH monitoring in rats with chronic sleep deprivation and high fat diet [J]. *J Audiol Speech Pathol*, 2018, 26(1): 68–72.
- [16] LOU Z, XUE C, KANG J, et al. Establishment of a novel and effective reflux laryngitis model in rabbits: a preliminary study [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 276(1): 175–183.
- [17] LOU Z, GONG T, ZHANG C, et al. The integrity and barrier function of porcine vocal fold epithelium: its susceptibility to damage by deoxycholic acid compared with pepsin [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2021, 278(12): 4893–4899.
- [18] 王刚. 神经源性炎症与 LPRD 相关性研究 [D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2020.
- WANG G. Correlation between neurogenic inflammation and LPRD [D]. Bangbu: Bengbu Medical College, 2020.
- [19] GILL G A, BUDA A, MOORGHEN M, et al. Characterisation of adherens and tight junctional molecules in normal animal larynx; determining a suitable model for studying molecular abnormalities in human laryngopharyngeal reflux [J]. *J Clin Pathol*, 2005, 58(12): 1265–1270.
- [20] 代丽丽, 汤维, 尤悦, 等. 内镜辅助新西兰兔咽喉反流病动物模型建立方法的改进与比较 [J]. *中国内镜杂志*, 2022, 28(5): 40–49.
- DAI L L, TANG W, YOU Y, et al. Endoscopic-guided establishment of the animal model of laryngopharyngeal reflux disease on New Zealand rabbits: comparison and improvement [J]. *China J Endosc*, 2022, 28(5): 40–49.
- [21] LANG I M, MEDDA B K, SHAKER R. Mechanism of UES relaxation initiated by gastric air distension [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307(4): G452–G458.
- [22] CAO J, ZHANG L, LIU Y J, et al. Properties of a novel animal model of LPR [J]. *J Voice*, 2021, 35(5): 805. e17–805. e26.
- [23] FRIEDMAN M, BAIM H, SHELTON V, et al. Laryngeal injuries secondary to nasogastric tubes [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1981, 90(5 Pt 1): 469–474.
- [24] LUO Y, TONG Y, WU L, et al. Alteration of gut microbiota in individuals at high-risk for rheumatoid arthritis associated with disturbed metabolome and the initiation of arthritis through the triggering of mucosal immunity imbalance [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2023, 75(10): 1736–1748.
- [25] LIMA-RODRIGUES M, VALLE-FERNANDES A, LAMAS N, et al. A new model of laryngitis: neuropeptide, cyclooxygenase, and cytokine profile [J]. *Laryngoscope*, 2008, 118(1): 78–86.
- [26] LOU Z, XUE C, KANG J, et al. Establishment of a novel and effective reflux laryngitis model in rabbits: a preliminary study [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 276(1): 175–183.
- [27] RICHTER J E. Computerized learning is a building block but we still have far to go [J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115(9): 1451–1452.
- [28] WU P I, SZCZESNIAK M M, OMARI T, et al. Cricopharyngeal peroral endoscopic myotomy improves oropharyngeal dysphagia in patients with Parkinson's disease [J]. *Endosc Int Open*, 2021, 9(11): E1811–E1819.
- [29] SHI Q, WANG Y, ZHOU J, et al. A novel laryngopharyngeal reflux disease model for Bama pigs [J]. *J Voice*, 2024; S0892–1997(24)00022–5.
- [30] HU Y, XU X B, CHEN S Y, et al. Laryngoscopy findings and histological results in a rabbit gastroesophageal reflux model [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2012, 269(8): 1939–1944.
- [31] HABESOGU T E, HABESOGU M, SÜRMELI M, et al. Histological changes of rat soft palate with exposure to experimental laryngopharyngeal reflux [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2010, 37(6): 730–736.
- [32] LECHIEN J R, BOBIN F, MULS V, et al. Patients with acid, high-fat and low-protein diet have higher

- laryngopharyngeal reflux episodes at the impedance-pH monitoring [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2020, 277(2): 511–520.
- [33] YAMASAKI T, QUAN S F, FASS R. The effect of sleep deficiency on esophageal acid exposure of healthy controls and patients with gastroesophageal reflux disease [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2019, 31(12): e13705.
- [34] VATAEV S I, OGANESIAN G A, GMIRO V E, et al. Effects of ionotropic glutamate receptor channel blockers ON sleep-waking organization in rats [J]. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 2012, 98(7): 809–818.
- [35] DAIBER A, KRÖLLER-SCHÖN S, OELZE M, et al. Oxidative stress and inflammation contribute to traffic noise-induced vascular and cerebral dysfunction via uncoupling of nitric oxide synthases [J]. *Redox Biol*, 2020, 34: 101506.
- [36] ZHANG Y, JIANG X, CHEN H, et al. Chronic REM-sleep deprivation induced laryngopharyngeal reflux in rats: a preliminary study [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2021, 48(4): 683–689.
- [37] 李科, 李可亮, 杨娟娟, 等. 咽喉反流性疾病诊断和治疗研究进展 [J]. *中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志*, 2020, 28(2): 157–160.
- LI K, LI K L, YANG J J, et al. Research progress in diagnosis and treatment of throat reflux disease [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Integr Med*, 2020, 28(2): 157–160.
- [38] ANDREWS T M, OROBELLO N. Histologic versus pH probe results in pediatric laryngopharyngeal reflux [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2013, 77(5): 813–816.
- [39] BANASZKIEWICZ A, DEMBINSKI L, ZAWADZKA-KRAJEWSKA A, et al. Evaluation of laryngopharyngeal reflux in pediatric patients with asthma using a new technique of pharyngeal pH-monitoring [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 755: 89–95.
- [40] 曹杰, 张立红, 王文伦, 等. 白细胞介素-8 在兔咽喉反流中的作用 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2020, 26(3): 278–282.
- CAO J, ZHANG L H, WANG W L, et al. A preliminary study on the role of interleukin-8 (IL-8) in laryngopharyngeal reflux of rabbits [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2020, 26(3): 278–282.
- [41] BELAFSKY P C, POSTMA G N, KOUFMAN J A. Validity and reliability of the reflux symptom index (RSI) [J]. *J Voice*, 2002, 16(2): 274–277.
- [42] BELAFSKY P C, POSTMA G N, KOUFMAN J A. The validity and reliability of the reflux finding score (RFS) [J]. *Laryngoscope*, 2001, 111(8): 1313–1317.
- [43] 韩悦, 张森, 皇甫辉, 等. 咽喉反流性疾病诊断量表的应用进展 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2023, 37(4): 313–317.
- HAN Y, ZHANG S, HUANGFU H, et al. The application progress on diagnostic scales of laryngopharyngeal reflux disease [J]. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2023, 37(4): 313–317.
- [44] 孙喆喆, 王刚, 黄鑫, 等. 下食管括约肌球囊扩张建立咽喉反流性疾病兔模型 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2021, 29(2): 184–189.
- SUN Z Z, WANG G, HUANG X, et al. Experimental study on the establishment of A rabbit model of laryngopharyngeal reflux disease by balloon dilation [J]. *J Audiol Speech Pathol*, 2021, 29(2): 184–189.
- [45] KAHIRILAS P J, SHAHEEN N J, VAEZI M F, et al. American Gastroenterological Association Medical Position Statement on the management of gastroesophageal reflux disease [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(4): 1383–1391.
- [46] KRAUSE A J, YADLAPATI R. Review article: Diagnosis and management of laryngopharyngeal reflux [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2024, 59(5): 616–631.
- [47] KRAUSE A J, GREYTAK M, KESSLER M, et al. Pilot study evaluating salivary bile acids as a diagnostic biomarker of laryngopharyngeal reflux [J]. *Dis Esophagus*, 2024, 37(7): doae021.
- [48] 谢晓露, 陈秀, 寇利秋, 等. AD 动物模型及其相关指标评价方法研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(8): 145–154.
- XIE X L, CHEN X, KOU L Q, et al. Research progress on animal models and evaluation methods of Alzheimer's disease [J]. *Chin J Comp Med*, 2022, 32(8): 145–154.
- [49] 邢宝杰, 贾代良. 坏死性筋膜炎动物模型构建研究进展 [J]. *济宁医学院学报*, 2024, 47(2): 155–157.
- XING B J, JIA D L. Research progress in animal model construction of necrotizing fasciitis [J]. *J Jining Med Univ*, 2024, 47(2): 155–157.
- [50] 江梦园, 闫敏, 李晓芳, 等. 类风湿性关节炎动物模型的研究进展 [J]. *世界中医药*, 2023, 18(24): 3597–3602.
- JIANG M Y, YAN M, LI X F, et al. Research progress in animal models of rheumatoid arthritis [J]. *World Chin Med*, 2023, 18(24): 3597–3602.

[收稿日期]2024-08-21