

# SD 大鼠哮喘模型建立方法及评价的比较研究

史琦 李春雷 孔艳华 龙泓竹 李阳溪 阎玥 李友林

(中日友好医院中医肺病二部/国家中医药管理局重点研究室/中医药防治过敏性疾病北京市重点实验室/  
中日友好医院呼吸中心/国家呼吸疾病临床研究中心,北京,100029)

**摘要** 目的:观察不同致敏液成分、致敏液注射部位、激发液浓度、激发时长所造成的 SD 大鼠哮喘模型的差异,旨在建立一种较为成功的哮喘大鼠模型。方法:分别以 10% OVA/Al(OH)<sub>3</sub> 混合液 1 mL 和 10% OVA/Al(OH)<sub>3</sub> + 百日咳杆菌混合液 1 mL 作为致敏液;注射部位分为腹腔注射和五点注射(双侧足心、双侧腹股沟皮下、腹腔);以 1% OVA 或 2% OVA 作为激发液;激发时间包括 7 d 和 21 d;经上述方法不同组合叠加造模后评价大鼠的一般活动状态、肺组织病理及肺功能检测结果。结果:OVA + 百日咳腹腔注射组和 OVA + 百日咳五点注射组大鼠出现呼吸急促,呼吸困难等典型的哮喘症状,OVA 腹腔注射组 1 部分大鼠出现较轻程度的哮喘症状,其余各组哮喘症状不明显。病理结果显示:OVA + 百日咳五点注射组大鼠可见大量的嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润、管腔狭窄、黏液栓生成、支气管痉挛;OVA 腹腔注射组 1 和 OVA + 百日咳腹腔注射组主要表现为淋巴细胞浸润和杯状细胞较多;其余各组病理改变不明显。肺功能结果显示:叠加了百日咳后的腹腔注射组和五点注射组大鼠的 I 值和 Rn 值均较单纯 OVA 腹腔注射组升高,五点注射组大鼠的气道高反应性升高更加明显( $P < 0.01$ )。结论:OVA 结合灭活百日咳杆菌共同致敏、多点皮下注射联合腹腔注射能比较成功的构建 SD 大鼠哮喘模型。

**关键词** SD 大鼠;哮喘;造模;模型评价

## Comparative Study on the Establishment Method and Evaluation of SD Rat Asthma Model

Shi Qi, Li Chunlei, Kong Yanhua, Long Hongzhu, Li Yangxi, Yan Yue, Li Youlin

(Chinese Medicine Pulmonary Disease 2nd Department of Chinese-Japanese Friendship Hospital, Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine (Lung Disease, Chronic Cough and Asthma), Beijing Key Laboratory of Chinese Medicine for Allergic Disease Prevention and Treatment (BZ0321), Respiratory Center of China-Japan Friendship Hospital; National Research Center for Respiratory Diseases, Beijing 100029, China)

**Abstract Objective:** To observe the differences of SD rat asthma models with different methods of sensitization fluid composition, sensitized injection site, atomization liquid concentration and time, aiming to establish a more successful asthma rat model. **Methods:** The 10% OVA/Al(OH)<sub>3</sub> mixture 1 mL or 10% OVA/Al(OH)<sub>3</sub> + pertussis mixture 1 mL were taken as the sensitization fluid respectively; sensitized injection site was abdominal injection or 5 points injection (bilateral foot heart, bilateral inguinal subcutaneous and abdominal injection); using 1% OVA or 2% OVA as the excitation liquid; excitation time including 7 days and 21 days. General activities, pulmonary pathology and pulmonary function detection were evaluated by different combination methods of factors above. **Results:** Typical asthmatic symptoms such as shortness of breath, dyspnea and so on in OVA + pertussis abdominal injection group and OVA + pertussis 5 points injection group rats were obvious. Mild asthma symptoms were observed in the first OVA group rats, and asthma symptoms in other groups were not obvious. The pathological results showed that OVA + pertussis 5 points injection group rats showed a large number of eosinophils and lymphocytes infiltration, bronchostenosis, mucus production and bronchospasm. The first OVA group and the OVA + pertussis abdominal injection group rats showed infiltration of lymphocytes and goblet cells. The pathological changes in the other groups were not obvious. Results of lung function showed that: I and Rn values of OVA + pertussis 5 points injection group and OVA + pertussis abdominal injection group rats increased compared with those of the OVA abdominal injection group. Hyperresponsiveness of OVA + pertussis 5 points injection group increased more significantly ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Sensitization with both OVA and pertussis, multipoint subcutaneous injections combined with abdominal injection can successfully construct the asthma model in SD rats.

**Key Words** SD rats; Asthma; Model building; Model evaluation

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81403377);北京市科学技术委员会“十病十药”研发项目(Z161100001816004)

作者简介:史琦(1983.09—),女,博士研究生,主治医师,研究方向:中医药防治肺系及过敏性疾病的临床及基础研究,E-mail:shiqi19830910@163.com

通信作者:李友林(1961.07—),男,硕士研究生,主任医师,中日友好医院中医肺病二部主任,国家中医药管理局重点研究室(肺病慢性咳嗽)主任,中医药防治过敏性疾病北京市重点实验室主任,研究方向:中医药防治肺系及过敏性疾病的临床及基础研究,Tel:(010)84206023,E-mail:lly19610721@163.com

中图分类号: R285.5; R256.12; R-332

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.11.014

支气管哮喘 (Bronchial Asthma, BA) 简称哮喘, 是由多种细胞包括嗜酸粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞、平滑肌细胞、气道上皮细胞等及细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病。临床表现为反复发作的喘息、气急、胸闷或咳嗽, 近年来认识到哮喘是一种异质性疾病。全球哮喘患病率呈逐年增长的趋势, 西欧近 10 年间哮喘患者增加了 1 倍, 美国自 20 世纪 80 年代初以来哮喘患病率增加了 60% 以上, 亚洲的成人哮喘患病率为 0.7% ~ 11.9% (平均  $\leq 5\%$ )。我国目前至少有 3 000 万左右的哮喘患者, 其中老年人是继青少年之后的第二大哮喘发病高峰人群<sup>[1-3]</sup>。《全球哮喘病负担报告》的研究数据来自全球 80 多个国家和地区, 该报告显示当时全球范围内约有 3 亿人患有哮喘病。预计到 2025 年, 如果全球人口的城市化比例从 45% 升至 59%, 则哮喘病患者将有可能达到 4 亿人<sup>[4]</sup>。

BA 是临床常见、多发、难治病, 如何提高 BA 的防控水平、减轻患者经济负担、减少患者致残率和降低劳动力丧失等已成为众多学者探讨的重点和热点。动物模型是用来识别和检测哮喘发病机制与哮喘表型发展关系的理想的工具, 人类利用动物模型研究哮喘已百余年的历史<sup>[5]</sup>。在研究探索 BA 防治过程中, 稳定的动物模型的建立、复制及科学评价成为 BA 实验研究成功与否的关键点。目前啮齿动物 (近交系小鼠和大鼠) 和豚鼠模型是最常用的 BA 动物模型。近年来转基因技术及物种特有的探针的发展, 也有利于哮喘详细的机制研究<sup>[6]</sup>。目前, BA 动物模型仍存在着造模方法不一、动物种类繁多、模型评价指标不统一以及动物与人类哮喘发病过程差异性大等诸多问题。

本研究在综合了相关文献调研及前期研究结果<sup>[7-9]</sup>的基础上, 比较不同致敏液成分 (不同佐剂)、致敏注射部位、激发液浓度及激发时长所制备的 SD 大鼠哮喘模型的差异, 并结合大鼠一般活动状态、肺组织病理及肺功能检测进行模型综合评价, 以期建立起稳定、可复制的 SD 大鼠哮喘模型, 规范评价方法, 为后期的中药干预性机制、机制研究奠定良好基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级健康雄性 SD 大鼠共 48 只, 平均体质量 ( $170 \pm 10$ ) g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司 [合格证书号: SCXK (京) 2009-0007], 于中日友好医院临床研究所动物室常规饲养。

1.1.2 试剂与仪器 血清卵蛋白干粉 (ovalbumin, OVA, Alfa, USA, 批号: A16951); 氢氧化铝  $\text{Al}(\text{OH})_3$  (Sigma, 批号: A4682); 百日咳类毒素 (Sigma, 批号: P7208); 3% 戊巴比妥钠 (上海国药集团化学试剂有限公司, 批号: WS20050411)。超声雾化器 (江苏省鱼跃医疗设备有限公司, 型号: 402AI); 倒置光学显微镜、普通光学显微镜 (Olympus, Japan, 型号: BX51); 动物呼吸动力参数及肺功能测定系统 (SCI-REQ, Canada, 型号: flexiVent FX), 由中国医学科学院药物研究所提供。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 动物分组采用 Excel 表随机数字分组法。造模采用卵蛋白与氢氧化铝混合液致敏大鼠后再行卵蛋白激发, 并结合百日咳杆菌注射的方法。根据注射部位、致敏药物及药量、雾化天数及药量的不同, 造模过程共分为 2 次实验, 具体分组及操作方法见表 1、表 2。

表 1 SD 大鼠哮喘造模实验 1

组别	只数	致敏 (第 1, 8 天)	雾化吸入激发 (第 15 ~ 35 天, 共 21 d)
正常组 1	8	腹腔注射 0.9% 生理盐水 1 mL	0.9% 生理盐水, 1 次/d, 30 min/次
OVA 腹腔注射组 1	8	腹腔注射 10% OVA/ $\text{Al}(\text{OH})_3$ 混合液 1 mL	2% OVA, 1 次/d, 30 min/次

表 2 SD 大鼠哮喘造模实验 2

组别	只数	致敏 (第 1, 8 天)	雾化吸入激发 (第 9 ~ 15 天, 共 7 d)
正常组 2	8	腹腔注射 0.9% 生理盐水 1 mL	0.9% 生理盐水, 1 次/d, 30 min/次
OVA 腹腔注射组 2	8	腹腔注射 10% OVA/ $\text{Al}(\text{OH})_3$ 混合液 1 mL	1% OVA, 1 次/d, 30 min/次
OVA + 百日咳腹腔注射组	8	腹腔注射 10% OVA/ $\text{Al}(\text{OH})_3$ + 百日咳杆菌混合液 1 mL	1% OVA, 1 次/d, 30 min/次
OVA + 百日咳五点注射组	8	分五点 (双侧足心、双侧腹股沟皮下、腹腔) 注射 10% OVA/ $\text{Al}(\text{OH})_3$ + 百日咳杆菌混合液 1 mL	1% OVA, 1 次/d, 30 min/次

1.2.2 取材与标本制备 各组大鼠最后1次雾化激发后用戊巴比妥钠按50 mg/kg 体质量剂量麻醉。迅速打开胸腔,迅速分离出右肺上、中、下叶。其中,右肺中叶置于新鲜配制的中性4%多聚甲醛固定液中放置72 h(室温)后,石蜡包埋,连续切片,厚度4  $\mu\text{m}$ ,常规苏木素-伊红(HE)染色。

### 1.2.3 模型评价指标

1.2.3.1 大鼠一般情况 记录大鼠是否出现烦躁、搔鼻、呼吸加快、口唇发绀、腹肌痉挛、点头呼吸及四肢瘫软等表现。

1.2.3.2 肺组织病理变化 观察造模后肺组织病理切片HE染色是否表现为气道大量炎性细胞浸润,支气管黏膜上皮肿胀、成片脱落、黏膜腺体细胞(杯状细胞)增生,部分肺泡间隔增厚,支气管痉挛等。

1.2.3.3 肺功能检测方法及评价指标 末次雾化激发24 h后以10%水合氯醛(10 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,喉镜行气管插管,确认插管成功后(与喉镜配套使用的手持镜片,插管成功后镜片上大鼠呼出气体清晰可见)将其与肺功能仪固定,进行肺功能测定。相关参数设定为:强力呼吸频率120次/min,深呼吸频率30次/min。所测得的指标:IC(深吸气量),Crs(动态顺应性),Rn(中心气道阻力),G(组织阻尼),H(组织迟滞),I(气道高反应性),Cst(静态顺应性)。观察造模后大鼠肺功能检测是否表现为气道阻力增加、气道高反应性等。

1.3 统计学方法 采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析。结果以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。若符合正态分布和方差齐性,则采用独立样本 $t$ 检验或方差分析;若不符合正态分布或方差不齐,则进行非参数检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠一般情况 1)2次造模实验中,正常组大鼠均表现为精神活泼,反应灵敏,呼吸平稳,皮毛光洁,未出现呼吸急促、困难或喘鸣音等症状。其余造模组大鼠均不同程度出现精神萎靡、拱背蜷缩等表现。2)OVA+百日咳腹腔注射组和OVA+百日咳五点注射组大鼠出现躁动不安、搔抓颜面皮毛等过敏症状,继而俯伏不动,出现呼吸急促,呼吸困难伴轻度紫绀,部分大鼠可闻及响亮的呼气相哮鸣音,口鼻流出黏液,可出现呼吸不规则、排尿排便增多等症状。反复激发后大鼠消瘦、咳嗽喘息、毛色黄

涩失去光泽且时有脱落,严重者精神不振、反应迟钝、四肢瘫软,2组中以后者症状更加明显。3)OVA腹腔注射组2大鼠仅表现为精神萎靡、拱背蜷缩,未观察到明显的哮喘症状。OVA腹腔注射组1部分大鼠出现打喷嚏、焦躁不安、挠鼻、呼吸急促、腹肌痉挛等肉眼可见症状,但哮喘程度明显弱于OVA+百日咳复合注射组。

2.2 肺组织HE染色结果 1)正常组大鼠肺组织HE染色结果未见炎性细胞浸润,肺泡扩张良好,支气管黏膜和管壁厚度正常,且肺泡、支气管黏膜上皮结构完整清晰,支气管无痉挛。2)OVA+百日咳五点注射组大鼠可见肺组织内有不规则暗红色充血区,支气管和血管平滑肌轻度增生,在大中气道和血管周围伴有大量红染的嗜酸性粒细胞及紫蓝色簇状淋巴细胞为主的炎性细胞浸润,管腔狭窄,管壁明显增厚,支气管黏膜上皮细胞排列紊乱、成片脱落,杯状细胞增生明显,支气管内有大量黏液栓生成,支气管痉挛,巨噬细胞增多等典型BA病理表现。3)其余3个造模组可见肺组织炎性细胞浸润,支气管黏膜上皮细胞排列紊乱、成片脱落,肺泡间隔增厚,支气管痉挛,巨噬细胞增多等病理表现,但病理损害轻重程度不同,且均较OVA+百日咳五点注射组程度轻。其中,OVA腹腔注射组2大鼠支气管管腔基本正常,上皮轻度增生,管腔未见明显狭窄,管壁炎性反应较轻,少数支气管周围有淋巴细胞浸润灶,支气管和血管平滑肌轻度增生,杯状细胞较少;OVA腹腔注射组1和OVA+百日咳腹腔注射组肺组织哮喘病理程度较上述2组稍重,主要表现为淋巴细胞浸润和杯状细胞较多。见图1。

2.3 大鼠肺功能检测结果 肺功能结果显示:同正常组比较,OVA腹腔注射组1大鼠I(气道高反应性)和Rn(中心气道阻力)升高,G(组织阻尼)和H(组织迟滞)降低;OVA腹腔注射组2大鼠I值和Rn值降低,G值和H值升高,说明单纯OVA腹腔注射造模方法后,大鼠的气道高反应性指标和阻力指标出现升降不同的变化,不能完全符合哮喘病变特点。实验2中叠加了百日咳后的腹腔注射组和五点注射组大鼠的I值和Rn值均较单纯OVA腹腔注射组升高,五点注射组大鼠的气道高反应性升高更加明显( $P < 0.01$ );同时,这2个组大鼠的IC(深吸气量)和Cst(静态顺应性)较OVA腹腔注射组有不同程度的降低,但差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1、表2。

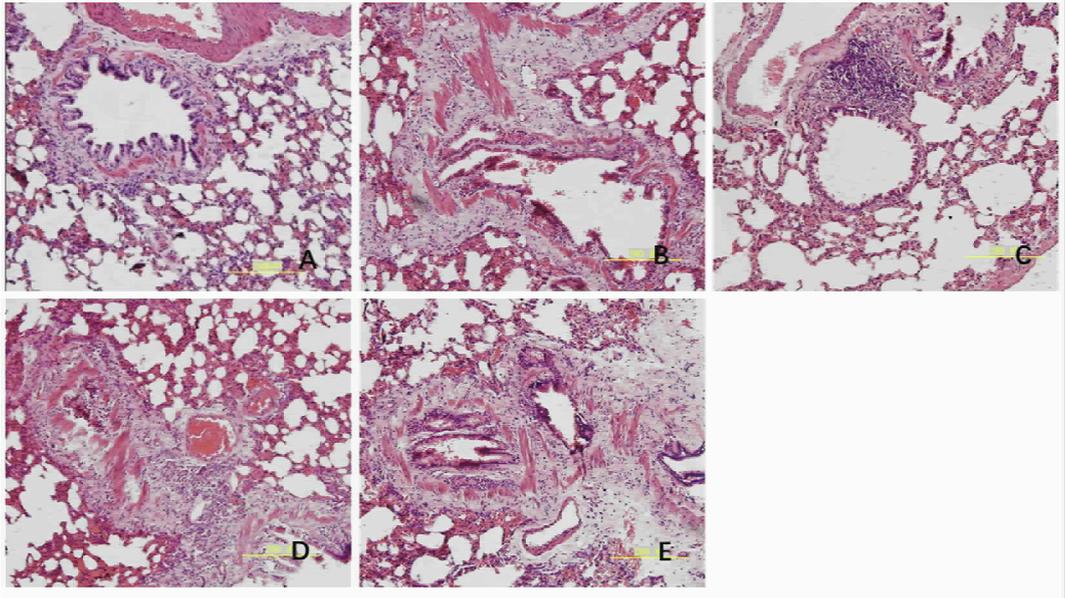


图1 SD大鼠肺组织病理组织学结果(HE染色, ×20)

注:正常组;B:OVA腹腔注射组2;C:OVA腹腔注射组1;D:OVA+百日咳腹腔注射组;E:OVA+百日咳五点注射组;标尺=200 μm

表1 哮喘造模实验1大鼠肺功能检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	IC(mL)	I(cm H <sub>2</sub> O. s./mL)	Rn(cm H <sub>2</sub> O. s./mL)	G(cm H <sub>2</sub> O/mL)
正常组1(n=8)	10.5914 ± 0.6522	0.00013 ± 0.00002	0.0530 ± 0.0187	0.3857 ± 0.0238
OVA腹腔注射组1(n=8)	10.8175 ± 0.6079	0.00015 ± 0.00006	0.0849 ± 0.0613	0.3660 ± 0.0498
t/Z值	-0.5251	-0.4201	-1.1552	1.0089
P值	0.5995	0.6744	0.2480	0.3301

组别	H(cm H <sub>2</sub> O/mL)	Crs(mL/cm H <sub>2</sub> O)	Cst(mL/cm H <sub>2</sub> O)
正常组1(n=8)	1.8448 ± 0.2804	0.6152 ± 0.0764	1.1387 ± 0.0975
OVA腹腔注射组1(n=8)	1.7726 ± 0.2173	0.6354 ± 0.0398	1.1301 ± 0.0729
t/Z值	0.5759	-0.6651	0.2002
P值	0.5738	0.5203	0.8444

表2 哮喘造模实验2肺功能检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	IC(mL)	I(cm H <sub>2</sub> O. s./mL)	Rn(cm H <sub>2</sub> O. s./mL)	G(cm H <sub>2</sub> O/mL)
正常组2(n=8)	10.3033 ± 0.7131	0.00010 ± 0.00002	0.0537 ± 0.0386	0.3432 ± 0.0448
OVA腹腔注射组2(n=7)	10.5213 ± 0.7088	0.00008 ± 0.00002*	0.0250 ± 0.0147	0.3796 ± 0.0358
OVA+百日咳腹腔注射组(n=8)	10.2083 ± 0.5506	0.00008 ± 0.00002*	0.0329 ± 0.0254	0.3595 ± 0.0598
OVA+百日咳五点注射组(n=6)	10.3676 ± 0.8457	0.00011 ± 0.00003	0.0400 ± 0.0131	0.3537 ± 0.0505
F/χ <sup>2</sup> 值	0.2607	4.3990	4.7774	0.7197
P值	0.8530	0.0129	0.4389	0.5496

组别	H(cm H <sub>2</sub> O/mL)	Crs(mL/cm H <sub>2</sub> O)	Cst(mL/cm H <sub>2</sub> O)
正常组2(n=8)	1.8089 ± 0.1760	0.6170 ± 0.0487	1.0347 ± 0.1026
OVA腹腔注射组2(n=7)	1.8969 ± 0.0727	0.5885 ± 0.0155	1.0848 ± 0.1114
OVA+百日咳腹腔注射组(n=8)	1.8374 ± 0.1677	0.5936 ± 0.0552	1.0134 ± 0.1341
OVA+百日咳五点注射组(n=6)	1.7714 ± 0.2171	0.6580 ± 0.0600	1.0642 ± 0.2200
F/χ <sup>2</sup> 值	0.6844	2.8250	0.1888
P值	0.5699	0.0592	0.9321

注:与OVA+百日咳五点注射组比较,\*P<0.01

### 3 讨论

目前,大多数BA动物模型复制的是“经典”的Th2哮喘表型,这些模型的特征是具有高水平的特

异性抗原IgE,以嗜酸粒细胞为主的呼吸道炎症反应,Th2细胞因子包括IL-4、IL-5和IL-13<sup>[6]</sup>。用于哮喘研究的动物模型主要有小鼠、大鼠、豚鼠,体积

较大的动物如猫、兔、羊、犬及灵长类动物。不同种类的造模动物各具优缺点。实验用大鼠品系纯、来源广、易饲养,相关生物学试剂易获得,标本采集量较小鼠充足,对抗原反应较为一致,可在麻醉条件下进行气道高反应性检测及评价,能出现与人类哮喘类似的迟发相哮喘反应且反应出现的时间与哮喘患者接近,有气道反应性增加和嗜酸粒细胞浸润等优点,因而成为近年来研究的热点,我国主要使用SD和Wistar大鼠<sup>[10-13]</sup>。

OVA是最早的并且是目前建立BA动物模型中使用最广泛的致敏原,分为单纯OVA和复合OVA(含佐剂,主要是氢氧化铝)2种。最为经典的模型为给予豚鼠腹腔注射10%OVA致敏14d后再以1%OVA雾化吸入激发,雾化过程中持续至豚鼠出现烦躁不安、呼吸急促、腹肌抽搐、大小便失禁等BA症状为止,1次/d,共7d。以往研究显示,按照上述经典方法造模,模型动物肺组织病理观察可见细支气管及周围炎性细胞浸润明显,管腔中炎性细胞及黏液增多,管腔变小<sup>[14-15]</sup>。本研究中,OVA腹腔注射1、2组均为参考经典方法进行SD大鼠造模,2组的区别在于雾化激发的开始时间、雾化天数及雾化液浓雾的不同。OVA腹腔注射组2大鼠经造模后气管管腔基本未见狭窄,炎性细胞浸润程度较轻,与以往研究结果不完全相符合。OVA腹腔注射组1大鼠造模后病理变化较组2加重,表现为淋巴细胞浸润明显增多、杯状细胞增多,肺功能的结果也显示,OVA腹腔注射组1大鼠的气道高反应性和中心气道阻力升高,但这种造模方法雾化OVA浓度加倍,实验过程中更容易造成动物的死亡,且雾化时间共计21d,加重实验负担。

佐剂作为免疫增强剂,常与抗原物质一起注射或预先注入机体后,影响机体免疫调节网络,使机体更早、更有效、更持久地产生免疫应答。具有免疫原性的佐剂有百日咳杆菌、结核分枝杆菌和枯草杆菌等;非免疫原性佐剂有氢氧化铝、液态铝、硫酸铝钾和明矾等。多数文献中采用的氢氧化铝作为OVA致敏哮喘模型佐剂的方法,常因两者的混合度差而影响致敏的效果<sup>[16]</sup>。哮喘病因复杂、发病机制涉及多种细胞和细胞组分的参与,必须根据研究的需要选择合适的哮喘动物模型,经典的卵蛋白激发哮喘模型不是适用于所有情况,必要时要根据实验目的进行改进或创立新的哮喘模型。其实验中采用了卵蛋白、氢氧化铝及灭活的百日咳杆菌混合为造模液,同时提高雾化液的浓度,结果显示成功复制了BA

大鼠模型<sup>[17]</sup>。采用3种不同的方法进行哮喘模型的建立研究显示,OVA+百日咳杆菌共同致敏和OVA单独致敏均可以显著增加大鼠BALF中的白细胞数量,同时可增加嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞的数量,而百日咳单独致敏仅仅嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的数量有影响,且增加作用不明显,可知OVA致敏在哮喘模型复制中仍起关键作用<sup>[18]</sup>。本次实验研究中,OVA+百日咳腹腔注射组肺组织病理程度与OVA腹腔注射组1类似,较OVA腹腔注射组2稍重,主要表现为淋巴细胞浸润和杯状细胞较多,但并未显著提高造模的成功率。

综合目前国内BA动物模型的研究情况,模型制备的影响因素主要包括:实验动物种类、品系、性别、体质量、年龄差别;雾化液成分虽有不同,但仍以卵蛋白激发最为常用;多数造模过程中均加用致敏佐剂氢氧化铝和灭活百日咳杆菌;致敏液的浓度以10%的卵蛋白1mL或100g/L卵蛋白1mL居多;激发的方式一般分为雾化激发或滴鼻激发;激发频率的差异较大,如激发2次/d、每天激发、隔天激发、1周激发1次等;每次激发时间为20s至1h不等;激发的总时长为1~6周不等,慢性哮喘模型制备连续激发12周<sup>[19]</sup>。有学者采用组胺激发对SD大鼠进行筛选建立哮喘急性和慢性模型,在大鼠最后1次激发后5h,背部皮内多点注射OVA生理盐水溶液。被动皮肤过敏反应结果显示,模型组皮肤蓝斑面积较正常对照组显著增大,慢性模型组皮肤蓝斑面积明显大于急性模型组。说明多点注射、反复激发的方法可能使模型处于更严重的致敏状态<sup>[20]</sup>。在本次研究中,OVA+百日咳五点注射组大鼠在本次实验中呼吸急促、轻度发绀及咳嗽喘息最为明显,病理染色结果显示嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润程度最重,可见明显的支气管管腔狭窄、管壁增厚和大量黏液栓生成等典型的哮喘病理表现,同时肺功能检测中气道高反应性升高也更加明显。

综上所述,OVA结合灭活百日咳杆菌共同致敏较单独使用OVA致敏效果突出,多点皮下注射联合腹腔注射的造模成功率高于单纯腹腔注射,同时适当提高雾化激发液的浓度可以加重模型大鼠的肺病理损伤程度。

#### 参考文献

- [1]中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.支气管哮喘防治指南(2016年版)[J].中华结核和呼吸杂志,2016,39(9):675-697.
- [2]严峻,蔡永辽,陈永谦,等.肺功能检查在老年支气管哮喘诊断中

- 的意义[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(11): 1973-1974.
- [3] 杨世刚. 老年支气管哮喘临床特点及治疗效果观察[J]. 中国伤残医学, 2013, 21(9): 234-235.
- [4] 常爱玲. 全球约3亿人患有哮喘病[J]. 首都医药, 2004, 11(5): 25.
- [5] Karol MH. Animal models of occupational asthma[J]. Eur Respir J, 1994, 7(3): 555-568.
- [6] 吕洪臻, 黄诚. 支气管哮喘动物模型的研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(19): 3216-3220.
- [7] 李新辰, 张妍迪, 白根本, 等. 高浓度臭氧暴露法建立大鼠哮喘模型[J]. 热带医学杂志, 2014, 14(1): 23-25, 封4.
- [8] 陈馨馨, 李友林. 仙味保金方治疗过敏性支气管哮喘模型家兔的血清代谢组学研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(2): 579-581.
- [9] 张亚娟, 王亚楠, 丁亚骏, 等. 卵清蛋白诱导小鼠建立支气管哮喘模型[J]. 河南医学研究, 2012, 21(3): 268-270.
- [10] Waserman S, Olivenstein R, Renzi P, et al. The relationship between late asthmatic responses and antigen-specific immunoglobulin[J]. J Allergy Clin Immunol, 1992, 90(4 Pt 1): 661-669.
- [11] 施焕中. 正确认识和合理应用支气管哮喘的动物模型[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(11): 749-750.
- [12] Bellofiore S, Martin J G. Antigen Challenge of Sensitized Rats Increases Airway Responsiveness to Methacholine[J]. J Appl Physiol, 1988, 65: 1642-1646.
- [13] Ceyhan B B, Sungur M, Celikel C A, et al. Effect of Inhaled Cyclosporine on the Rat Airway: Histologic and Bronchoalveolar Lavage Assessment[J]. Respiration, 1998, 65: 71-78.
- [14] 李国豪, 徐邦牢, 雷秀霞, 等. 壁虎粉对哮喘豚鼠模型干预作用的实验研究[J]. 热带医学杂志, 2007, 7(2): 143-144, 168.
- [15] 何会霞, 李自红. 支气管哮喘实验动物模型的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(20): 2074-2076.
- [16] 刘佳, 郑健, 于涛. 小鼠过敏性哮喘模型的研究进展及评价[J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(2): 65-68.
- [17] 刘贵颖, 张慧琪, 朱振刚, 等. 卵清蛋白致敏大鼠支气管哮喘模型的制备[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(7): 1167-1169.
- [18] 王雅娟. 3种大鼠哮喘模型比较[C]. 中医药理论与应用研究——安徽中医药继承与创新博士科技论坛论文集, 2008: 464-467.
- [19] 钱振福, 崔芳因. 国内支气管哮喘气道重塑动物模型的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(1): 14-18.
- [20] 刘中成, 张艳芬. 一种大鼠慢性哮喘模型的建立与评价[J]. 药学报, 2010, 45(6): 718-723.

(2018-11-06 收稿 责任编辑: 芮莉莉)

#### (上接第2886页)

- [2] 马饶, 周显礼. 糖尿病周围神经病变诊断方法的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(17): 3462-3466.
- [3] Costa YM, Karlsson P, Bonjardim LR, et al. Trigeminal nociceptive function and oral somatosensory functional and structural assessment in patients with diabetic peripheral neuropathy[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 169.
- [4] 石蓓, 王彩梅, 石立鹏, 等. 中医药治疗糖尿病周围神经病变的研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(10): 194-196.
- [5] Jia L, Chopp M, Wang L, et al. Exosomes derived from high-glucose-stimulated Schwann cells promote development of diabetic peripheral neuropathy[J]. FASEB J, 2018: fj201800597R.
- [6] Rachana KS, Manu MS, Advirao GM. Insulin-induced upregulation of lipoprotein lipase in Schwann cells during diabetic peripheral neuropathy[J]. Diabetes Metab Syndr, 2018, 12(4): 525-530.
- [7] 曹晓红, 李霞, 翟卷平. 中西医结合治疗糖尿病周围神经病变临床研究[J]. 河北医药, 2018, 40(16): 2411-2415.
- [8] 莫于才. 糖尿病周围神经病变治疗的研究进展[J]. 医药前沿, 2017, 7(27): 8-9.
- [9] 王可天, 岳蛟, 周培, 等. 糖尿病周围神经病变的中西医疗综合[J]. 按摩与康复医学, 2017, 8(16): 8-11.
- [10] 辜沅. 糖尿病中医治疗研究进展[J]. 饮食保健, 2018, 5(4): 295.
- [11] 辛欢. 消渴痹通胶囊治疗糖尿病周围神经病变(气虚血瘀证)的疗效及对炎症反应因子 hs-CRP、IL-6、TNF- $\alpha$  的影响[D]. 长春: 长春中医药大学, 2017.
- [12] Yilmaz M, Aktug H, Oltulu F, et al. Neuroprotective effects of folic acid on experimental diabetic peripheral neuropathy[J]. Toxicol Ind Health, 2016, 32(5): 832-840.
- [13] Li X, Zhang J, Zhao W, et al. Effect of Tongxinluo on nerve regeneration in mice with diabetic peripheral neuropathy[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2015, 61(5): 103-107.
- [14] 李江雁, 李青菊. 不同糖浓度培养雪旺细胞对 NGF 及 CGT 基因表达的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2010, 13(7): 16-18.
- [15] Li R, Ma J, Wu Y, et al. Dual Delivery of NGF and bFGF Coacervate Ameliorates Diabetic Peripheral Neuropathy via Inhibiting Schwann Cells Apoptosis[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(5): 640-651.
- [16] Sun Q, Tang DD, Yin EG, et al. Diagnostic Significance of Serum Levels of Nerve Growth Factor and Brain Derived Neurotrophic Factor in Diabetic Peripheral Neuropathy[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 5943-5950.
- [17] Chen L, Gong HY, Xu L. PVT1 protects diabetic peripheral neuropathy via PI3K/AKT pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(20): 6905-6911.
- [18] 徐敏, 庄向华, 孙爱丽, 等. 高糖对 RSC96 雪旺细胞的损伤机制[J]. 山东大学学报: 医学版, 2014, 52(5): 44-48.

(2019-05-31 收稿 责任编辑: 王明)