

周利润,崔晓兰. 慢性阻塞性肺疾病相关动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(8): 1121-1127.

Zhou LR, Cui XL. Development of an animal model for chronic obstructive pulmonary-related disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(8): 1121-1127.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.08.015

慢性阻塞性肺疾病相关动物模型研究进展

周利润,崔晓兰*

(中国中医科学院中药研究所,北京 100700)

【摘要】 慢性阻塞性肺疾病急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)是指在慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的基础上持续恶化,并超出了日常变异范围,目前尚无标准 COPD 及 AECOPD 动物模型。AECOPD 动物模型是研究 AECOPD 病理机制及寻找有效诊疗手段的基础。COPD 制备方法包括单纯烟熏法、烟熏联合气管滴注脂多糖法、汽车尾气吸入法等。AECOPD 制备方法主要是在 COPD 模型基础上进行细菌病毒感染。该文梳理总结了国内外 COPD 及 AECOPD 动物模型的制备方法、评价指标,力争为科研和医务工作者提供有益参考。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;慢性阻塞性肺疾病急性加重期;动物模型建立

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 08-1121-07

Development of an animal model for chronic obstructive pulmonary-related disease

ZHOU Lirun, CUI Xiaolan*

(Institute of Traditional Chinese Medicine, Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Corresponding author: CUI Xiaolan. E-mail: xiaolancui2812@163.com

【Abstract】 Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) refers to the continuous deterioration of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) beyond the scope of daily variation. At present, there are no standard animal models for COPD or AECOPD. The animal model for AECOPD is applied in studying the pathological mechanisms of AECOPD and determining effective diagnosis and treatment method. COPD preparation method include simple passive smoking, passive smoking combined with tracheal instillation of the lipopolysaccharide method, and automobile exhaust inhalation. AECOPD model preparation is usually bacterial or viral infection of the COPD model. This brief review focuses on COPD and AECOPD animal models from the perspectives of model creation and evaluation, providing useful information for researchers and medical practitioners.

【Keywords】 chronic obstructive pulmonary disease; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; establishment of animal model

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

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种进行性、以持续性呼吸症状和气流受限为特征的慢性呼吸系统疾病,并与气道和肺部对氮氧化物颗粒或有害气体的慢性炎症反应增强有关,慢性气流受限由小气

道阻塞、慢性支气管炎和肺实质破坏(肺气肿)共同作用所致,可影响日常活动和总体生活质量^[1-2]。在全球范围内受影响人口约 3.28 亿,且高龄时患病率更高,约 10%为中年人、25%是大于 70 岁的老年

【基金项目】 国家重点研发计划(2018YFE0102300),中国中医科学院科技创新工程(C12021A04606)。

Funded by National Key Research and Development Plan (2018YFE0102300), Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Chinese Medicine Science (C12021A04606).

【作者简介】 周利润(1998—),男,硕士,研究方向:中药学。Email:1250414614@qq.com

【通信作者】 崔晓兰,女,博士,研究员,博士生导师,研究方向:中药抗病毒及抗感染药理研究。Email:xiaolancui2812@126.com

人^[3]。COPD 目前是第三大死亡原因,死亡人数超过 300 万人/年^[4]。由于人口老龄化日益严重以及历史和当前的吸烟率较大,导致 COPD 的全球死亡率正在逐年上升,并且世界卫生组织预测到 2030 年 COPD 的患病率和死亡率将总体上升 30%^[5-6]。吸烟每年导致约 500 万例死亡,是 COPD 发生的主要内在风险因素,但也有其他外部风险因素,包括暴露于烟草烟雾环境下的二级和三级吸烟,以及职业暴露于灰尘、有毒烟雾和蒸汽、燃烧生物燃料造成的室内空气污染和室外空气污染^[7-9]。

COPD 与破坏肺实质组织有关,破坏正常的修复和防御机制,这种肺损伤导致慢性空气滞留、进行性气流受限和对入侵病原体的易感性增加^[10]。研究表明,COPD 患者的肺部可能比健康肺部更容易感染更多的致病菌,46% ~ 72% 的 COPD 患者的痰液中发现了细菌,并且大约 50% 的 COPD 的恶化由细菌引起,细菌过度生长可能是 COPD 加重的诱因^[1,11]。气道细菌感染使大多数 COPD 患者的病程复杂化,导致症状加重、肺功能进一步受限、急性发作以及生活质量下降^[5]。COPD 的急性加重(AECOPD)是指患者咳嗽、咳痰、呼吸困难持续恶化并超出了日常变异范围,随着病情进展而不断加剧,降低了机体的气体交换能力,导致低血氧症、高碳酸血症、肺组织纤维化等,最终发展为肺源性心脏病,导致全身多器官衰竭,最后造成生活质量下降甚至会引起死亡。在疾病进行过程中可能出现发热、炎痛等明显合并加重症状,其主要诱因是细菌病毒感染^[12]。细菌病毒感染 COPD 患者所致 AECOPD 会使病情进一步加重,临床治疗难度进一步加大,死亡率进一步增加^[13]。

本文将分析 COPD 以及 AECOPD 动物模型的建立方法,以期构建适宜稳定的 AECOPD 动物模型,为深入研究 AECOPD 的致病机理、耐药菌感染相关机制及开发新的抗 AECOPD 药物奠定基础。

1 慢性阻塞性肺疾病动物模型建立方法与评价指标

1.1 常见慢性阻塞性肺疾病动物模型

目前 COPD 动物模型常用的实验动物包括:小鼠、大鼠、豚鼠、果蝇、犬、猪、雪貂、猴等,其中应用最为广泛的为啮齿类动物^[14]。

1.1.1 慢性阻塞性肺疾病鼠类模型

鼠类与人有大约 90% 的相似基因,许多生理通路和过程在临床上相关的^[8]。鼠类品种繁多包

括大小鼠、豚鼠、仓鼠、金黄地鼠等^[15],繁殖周期短、利于繁殖、饲养简单、成本较低以及目前对鼠类基因组的研究比较透彻^[16]。豚鼠的肺部解剖结构类似于人的呼吸道结构,呼吸上皮细胞排列均匀,可建立与人类相似 COPD 的疾病发作特点^[17]。临床上 COPD 患者多由于吸烟引起的,大小鼠为专属性用鼻呼吸动物,对烟的滤过效率较低,建模方便快捷^[18],炎症反应明显,造模稳定性高。某些品种经过基因修饰后对烟雾更为敏感,可用于研究参与 COPD 病理生理过程性病变的某些特定基因和蛋白的变化^[19]。

1.1.2 慢性阻塞性肺疾病小型猪模型

小型猪的肺组织比鼠类动物更为发达,是目前建立 COPD 模型较为理想的动物,其肺叶明显,左二右三的结构与人类类似,具有呼吸性的细支气管,呼吸道黏膜下腺体较为丰富,容易感染呼吸道的相关疾病,气管较为粗大,易于相关操作和评价,诱导 COPD 模型相对容易^[20-21]。

1.1.3 慢性阻塞性肺疾病果蝇模型

果蝇的呼吸系统与哺乳动物的肺部系统相似,在发育和功能方面有很多相似之处,可以很清晰地观察到气道的早期结构损伤,可以对其所涉及的信号通路和细胞过程进行相关遗传和药理学操作,其可以关联人类疾病基因,可通过果蝇筛选人 COPD 的相关基因^[22]。可以研究气道上皮屏障功能和先天性免疫的异常^[23]。

1.1.4 慢性阻塞性肺疾病犬模型

犬极易发生自发性过敏反应,受到刺激后支气管收缩反应的时间过程与患者相似,并且支气管痉挛的程度与刺激的持续时间和强度成正比^[24]。人类吸烟是导致 COPD 的主要原因,犬暴露于香烟烟雾后出现的肺部病变与人类 COPD 中出现的病变类似^[25-26]。目前犬已被广泛用于 COPD 领域的研究,长期研究显示这些肺功能参数随着时间的推移具有显著的稳定性^[27-29]。因此,可以在 COPD 的慢性犬模型中评估肺功能的变化,包括评估气道高反应性。犬像小型猪一样体型相对较大且易于操作。

1.1.5 慢性阻塞性肺疾病雪貂模型

雪貂作为十分适合研究呼吸系统疾病的动物,有数据表明它们与人类气道生理学和粘膜下腺体的分布十分相似。研究表明将雪貂暴露于香烟烟雾中后,发现它们与人类 COPD 的复杂临床特征接近,暴露在烟雾中的雪貂表现出较高水平的气道阻

塞,伴有杯状细胞化生、增生和小气道粘液表达增加^[30],具有明显的慢性支气管炎和肺气肿的特征。

1.1.6 慢性阻塞性肺疾病猴模型

灵长类动物在生理学、遗传学、解剖学、肺部免疫系统等方面都与人类有着高度的一致性,猴常被用作实验动物,其中恒河猴具有与人类及其相似的肺部结构,具有二分支的细支气管,肺泡分布广泛,纤毛、杯状细胞排列顺序与人类极为类似,在吸入香烟烟雾后可表现出慢性细支气管、肺气肿以及其他气道病理学改变,所具备的独特优势用于建立 COPD 最为合适^[31-33]。

1.2 慢性阻塞性肺疾病动物模型常见建立方法

COPD 临床发病机制复杂,已有多种建立方法,常见的建模方法为将实验动物暴露于香烟烟雾、脂多糖、蛋白酶、菌毒株以及大气颗粒物等。

1.2.1 香烟诱导

香烟是导致 COPD 的主要原因,临床上大约有 90% 的患者由吸烟引起,流行病学研究表明吸烟者比不吸烟者更容易患 COPD^[34]。香烟烟熏造模的方法主要有两种:(1)直接经鼻烟熏:将烟雾直接输入动物鼻腔内;(2)全身暴露法:将动物置于连接烟雾发生装置的容器进行全身暴露烟熏。研究表明单纯鼻接触和全身接触烟雾导致肺损伤的机制可能是相同的^[35]。香烟烟雾可直接损害气道上皮细胞,使纤毛结构和功能受损,引起支气管平滑肌痉挛收缩和粘液分泌,气道阻力增加,颗粒物会沉积在小气道中,引起慢性炎症反应。这种慢性炎症反应会破坏肺实质、肺泡壁,并永久扩张小气道,从而诱发肺气肿和气道重塑^[36]。

单纯的香烟烟熏进行造模,造模时间长、成模慢,持续时间多为 4 ~ 6 个月甚至更长时间^[37],且烟熏过程稳定性不易保证,易出现死亡等不良情况。

1.2.2 弹性蛋白酶诱导

COPD 主要临床表现症状为肺气肿,目前蛋白酶作用是肺气肿、急性肺损伤模型建立最常见的方法,蛋白酶—抗蛋白酶失衡也是 COPD 发病机制最经典的学说,所以蛋白酶(弹性蛋白酶或木瓜蛋白酶或猪胰腺弹性蛋白酶)的气管内滴注也可用于研究 COPD 的相关症状的近似表现^[38]。木瓜蛋白酶是最常用于诱导肺部肺气肿病变的蛋白水解酶。通过接触性给予蛋白酶可诱导单纯性肺部症状外,还有肌肉萎缩、体重减轻以及全身性炎症反应^[39]。有研究表明通过气管内滴注蛋白酶会使模型动物肺泡腔扩大、肺水肿、炎症浸润、血氧饱和度下降等

症状,与临床症状具有一致性^[40]。

此方法相比于香烟烟熏法具有成模时间短、成本较低以及易于操作等优点,气管滴注弹性蛋白酶仅需要 21 d 即可建立肺气肿模型,用来代替慢性阻塞性肺疾病模型^[41]。蛋白酶进行造模虽然具有成模时间短操作方便等优点,但其只能出现部分病理症状改变,与临床 COPD 发病机制仍有差别。

1.2.3 脂多糖诱导

作为内毒素属的一种重要物质,脂多糖是革兰氏阴性菌的细胞壁成分,能刺激炎性细胞产生并释放炎性介质,产生一系列的炎性反应,引起黏液分泌过多、气道高反应、炎性细胞浸润、肺功能下降、肺气肿、肺部纤维化等 COPD 典型症状^[42]。目前脂多糖常单独气管注射或香烟烟熏联合气管滴注脂多糖来建立 COPD 动物模型,严重的可出现肺动脉高压等严重症状^[43-44]。脂多糖进行造模的缺点与蛋白酶诱导的慢性阻塞性肺疾病模型基本一致。

1.2.4 空气颗粒物诱导

空气中的污染物如 PM_{2.5}、SO₂、NO₂、汽车尾气、臭氧等物质均能对肺部产生不同程度的影响,也是慢性阻塞性肺疾病形成的重要原因。PM_{2.5} 可参与慢阻肺、支气管哮喘等多种呼吸系统疾病的发生和发展,研究表明,PM_{2.5} 的浓度升高可增加慢阻肺的患病率,并且慢阻肺的死亡率随着其浓度的增加而升高,目前常见的 PM_{2.5} 造模方法有吸入和做成混悬液滴鼻或者气管滴注进行^[45]。SO₂ 是工业烟雾的主要成分,在阻塞性气道疾病的发病机制中起着重要作用。吸入 SO₂ 会产生多种病理、炎性以及生理反应,与慢性支气管炎症状相似^[46]。同时 NO₂ 吸入、香烟尘雾滴鼻、臭氧熏蒸以及汽车尾气的吸入和滴鼻以及与 LPS 联合应用也曾应用于慢性阻塞性肺疾病的模型建立^[47-50]。

1.3 慢性阻塞性肺疾病动物模型常见评价方法

1.3.1 一般体征评价

COPD 动物模型建立过程中会出现体重减轻、饮水量减少、饮水量增多的一般表现,还会出现咳嗽、黏液分泌增多、毛色暗淡枯槁无光泽、精神萎靡、运动量下降等表现。有研究表明临床慢性阻塞性肺疾病患者还会出现体重指数下降、皮下脂肪、内部储备脂肪以及白蛋白减少等状况^[51]。模型建立动物表现与临床基本一致。

1.3.2 肺功能评价

肺功能检测是 COPD 患者临床诊断的黄金标

准,是检测患者肺容积大小以及是否存在呼吸受限的重要指标,随着技术水平的发展,动物适配的肺功能检测设备应用也越来越广泛。有创无创设备均能实现对于肺功能的检测,有创检测可在麻醉条件下通过呼吸机辅助测量动物每秒用力呼气容积/用力肺活量的比值来表示气道受限情况,与临床基本一致^[52]。无创检测可通过相关肺功能仪检测呼气峰流速、潮气量、吸气阻力、动态肺顺应性、呼气量、50%呼气峰流速、呼吸频率等相关肺功能指标^[53-55]。

1.3.3 病理组织评价

肺部实质性病理变化能直观表现肺组织的病变情况,测定平均线性间隔、平均肺泡数和支气管壁厚/直径比值能较好的表现出肺部病变情况。COPD 模型动物会出现肺泡管、肺泡囊和肺泡的明显扩张,肺泡结构紊乱,肺泡壁有变薄和破裂的迹象,有些已经融合成肺大疱。并且出现纤毛细胞变性坏死以及纤毛倒伏、断裂、粘连、脱落等情况,上皮细胞脱落、杯状细胞化生、黏液分泌增多等。肺动脉壁增厚,管腔变窄,有不同程度的外周中性粒细胞、淋巴细胞和单核巨噬细胞浸润^[56]。

1.3.4 其他评价

血气分析、血氧饱和度、炎性因子、炎性细胞等也可以用来辅助评价慢性阻塞性肺疾病模型是否建立成功。如肺组织和肺支气管可出现多种炎性细胞浸润,炎性细胞的浸润聚集也是炎症发展过程中的重要环节;各种细胞因子在慢阻肺初期也会有较大变化,对模型的鉴定和评价也有重要意义;在 COPD 后期还会出现血氧饱和度下降、低血氧症和高碳酸血症等表现,所以在评价慢性阻塞性肺疾病模型时血氧饱和度也是重要的实验指标^[57-59]。

2 慢性阻塞性肺疾病急性加重期动物模型建立方法与评价

AECOPD 模型的建立在 COPD 模型建立的基础上进行,所以 AECOPD 模型建立和 COPD 模型所用动物相互重合。本段只对 AECOPD 模型建立方法和评价进行讨论。

2.1 慢性阻塞性肺疾病急性加重期动物模型建立方法

感染是导致 COPD 急性加重的重要原因,其中细菌感染约占 60%,病毒感染占 30%左右,其他非典型感染占 10%^[60-61]。

在 AECOPD 患者的痰液中分离到的主要细菌株有铜绿假单胞菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌等,

分离到的病毒主要有甲型流感病毒、鼻病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒等^[62-65]。目前临床常见的 AECOPD 模型的建立均是在 COPD 模型的基础上进行滴鼻或者气管滴注细菌病毒来诱导。

如祁海燕等^[66]采用弹性蛋白酶气管滴注建立肺气肿大鼠模型,COPD 模型建立成功后第 2 天肺气肿大鼠气管内滴注 0.15 mL 1×10^{12} CFU/mL 的肺炎链球菌琼脂悬液,构建 AECOPD 大鼠模型。Wang 等^[67]则通过采用气管内注射 18 单位的猪胰腺弹性蛋白酶建立金黄地鼠肺气肿模型,并在模型建立的基础上右肺内注射含有 3×10^8 CFU/mL 流感嗜血杆菌的琼脂珠 100 μ L。张甜甜等^[68]采用香烟烟熏法建立慢阻肺大鼠模型,模型建立成功后第 2 天,COPD 大鼠气管内滴注 0.2 mL 浓度为 2.4×10^9 CFU/mL 的肺炎链球菌琼脂悬液或浓度为 6×10^8 CFU/mL 铜绿假单胞菌悬液。Guan 等^[69]采用香烟烟熏法建立慢阻肺小鼠模型后鼻腔缓慢滴入 30 μ L 10^8 CFU/mL 的流感嗜血杆菌菌液, Roos 等^[64]则在 COPD 模型基础上采用 35 μ L 10^6 CFU/mL 的流感嗜血杆菌菌液建立模型。Xiao 等^[62]采用香烟烟熏法建立慢阻肺小鼠模型后鼻腔缓慢滴入 50 μ L 2LD50 的甲型 H1N1 流感病毒感染建立模型。

香烟烟雾和细菌、病毒感染对气道损伤有协同作用,这种损伤可能是通过对弹性蛋白酶活性的影响介导的,且感染性物质的入侵会使气道炎症和全身炎症进一步增加。细菌或病毒感染激活相关信号通路,可调控细胞因子和趋化因子的基因表达,进一步促进疾病的发展,COPD 咳痰困难粘液分泌过度更易于细菌病毒的定植,且细菌感染相关病理变化与 COPD 进行和发展也具有高度一致性^[62]。

2.2 慢性阻塞性肺疾病急性加重期动物模型评价方法

有研究表明 AECOPD 动物模型在滴入菌液后会出现活动能力下降、呼吸急促、活动后加剧、出现哮喘音、咳嗽进一步加重,与临床表现一致^[70]。细菌标志物如 C 反应蛋白、降钙素原等因子的急剧增加,呼吸频率、呼吸气峰流速进一步增加,而潮气量和呼气量均减少,50%呼气峰流速也下降明显^[71]。并且可以在肺组织匀浆中培养出相关菌落^[72]。

3 小结

临床上吸烟是导致慢性阻塞性肺疾病的主要原因,所以目前最常用的模型为单纯香烟烟熏和烟熏联合气管注射脂多糖来进行造模。但单纯被动

吸烟法具有造模时间长、难度大,饲养过程中动物状态不容易保证,烟熏过程中容易死亡等缺点,而被动吸烟联合气管注射脂多糖虽然能很大程度上节省时间但 LPS 主要是引起急性肺损伤,而临床上 COPD 患者多由吸烟等颗粒物沉积造成的,不能更好的还原临床,所以急需一种能够更好的还原临床发病机制的动物模型来进行药物筛选和评价实验。目前急性加重期模型建立还处于初期阶段,甚至慢性阻塞性肺疾病还未见统一标准,标准的动物模型的缺失仍然是阻碍 COPD、AECOPD 研究发展的关键原因之一。

参 考 文 献(References)

- [1] Janjua S, Mathioudakis AG, Fortescue R, et al. Prophylactic antibiotics for adults with chronic obstructive pulmonary disease: a network meta-analysis [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2021, 1(1): CD013198.
- [2] Raheerison C, Girodet PO. Epidemiology of copd [J]. *Eur Respir Rev*, 2009, 18(114): 213-221.
- [3] Global Health Estimates 2016; Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016 [M]. Geneva: World Health Organization; 2018.
- [4] Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2012, 380(9859): 2163-2196.
- [5] Shukla SD, Walters EH, Simpson JL, et al. Hypoxia-inducible factor and bacterial infections in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respirology*, 2020, 25(1): 53-63.
- [6] Keely S, Talley NJ, Hansbro PM. Pulmonary-intestinal cross-talk in mucosal inflammatory disease [J]. *Mucosal Immunol*, 2012, 5(1): 7-18.
- [7] Fischer BM, Voynow JA, Ghio AJ. COPD: balancing oxidants and antioxidants [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2015, 10: 261-276.
- [8] Jones B, Donovan C, Liu G, et al. Animal models of COPD: what do they tell us? [J]. *Respirology*, 2017, 22(1): 21-32.
- [9] López-Campos JL, Tan W, Soriano JB. Global burden of COPD [J]. *Respirology*, 2016, 21(1): 14-23.
- [10] Nseir S, Pompeo CD, Cavestri B, et al. Multiple-drug-resistant bacteria in patients with severe acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: prevalence, risk factors, and outcome [J]. *Crit Care Med*, 2006, 34(12): 2959-2966.
- [11] Parameswaran G, Sethi S. Long-term macrolide therapy in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Can Med Assoc J*, 2014, 186: 1148-1152.
- [12] 李桂民, 李耀辉, 曾璐. 疏风解毒胶囊治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的 Meta 分析 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(7): 1513-1522.
- Li GM, Li YH, Zeng L. Meta-analysis of Shufeng Jiedu Capsule in treatment of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(7): 1513-1522.
- [13] 赵丽芹. 136 例慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者呼吸道深处痰液标本的细菌培养结果及其耐药性分析 [J]. *抗感染药学*, 2021, 18(2): 230-232.
- Zhao LQ. Bacterial culture results and drug resistance analysis of sputum samples from deep respiratory tract of 136 patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Anti Infect Pharm*, 2021, 18(2): 230-232.
- [14] 刘迪, 张洪春. 慢性阻塞性肺疾病基因工程动物模型研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2020, 40(4): 59-68.
- Liu D, Zhang HC. Advances in genetically engineered animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin Biotechnol*, 2020, 40(4): 59-68.
- [15] 姜友军, 张培蓓, 叶贤伟. 慢性阻塞性肺疾病鼠类动物模型研究进展 [J]. *医学综述*, 2021, 27(7): 1350-1357.
- Jiang YJ, Zhang PB, Ye XW. Research progress in rat model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Med Recapitul*, 2021, 27(7): 1350-1357.
- [16] 林敏聪, 张胜军. 慢性阻塞性肺疾病动物模型及评价方法研究进展 [J]. *海南医学*, 2020, 31(15): 2006-2010.
- Lin MC, Zhang SJ. Advances in animal models and evaluation methods of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Hainan Med J*, 2020, 31(15): 2006-2010.
- [17] 陈美凤, 加慧, 夏书月. 不同 COPD 动物模型特点及应用的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 563-569.
- Chen MF, Jia H, Xia SY. Research progress on the characteristics of animal models of chronic obstructive pulmonary disease and related clinical applications [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(4): 563-569.
- [18] Rydell-Törmänen K, Johnson JR. The applicability of mouse models to the study of human disease [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1940: 3-22.
- [19] Barreiro E, Wang X, Tang J. COPD: preclinical models and emerging therapeutic targets [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(10): 829-838.
- [20] 张迪, 管宇, 夏艺, 等. 慢性阻塞性肺疾病动物模型研究进展 [J]. *第二军医大学学报*, 2018, 39(3): 302-307.
- Zhang D, Guan Y, Xia Y, et al. Advances in animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2018, 39(3): 302-307.
- [21] Wemyss-Holden SA, Porter KJ, Baxter P, et al. The laryngeal mask airway in experimental pig anaesthesia [J]. *Lab Anim*, 1999, 33(1): 30-34.
- [22] Tanner L, Single AB. Animal models reflecting chronic obstructive pulmonary disease and related respiratory disorders: translating pre-clinical data into clinical relevance [J]. *J Innate Immun*, 2020, 12(3): 203-225.
- [23] Loxham M, Davies DE. Phenotypic and genetic aspects of epithelial barrier function in asthmatic patients [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(6): 1736-1751.
- [24] Chapman RW. Canine models of asthma and COPD [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2008, 21(5): 731-742.

- [25] Park SS, Kikkawa Y, Goldring IP, et al. An animal model of cigarette smoking in beagle dogs: correlative evaluation of effects on pulmonary function, defense, and morphology [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1977, 115(6): 971-979.
- [26] Zwicker GM, Filipy RE, Park JF, et al. Clinical and pathological effects of cigarette smoke exposure in beagle dogs [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1978, 102(12): 623-628.
- [27] House A, Celly C, Young S, et al. Bronchoconstrictor reactivity to NKA in allergic dogs: a comparison to histamine and methacholine [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2001, 14(2): 135-140.
- [28] Snapper JR, Drazen JM, Loring SH, et al. Distribution of pulmonary responsiveness to aerosol histamine in dogs [J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1978, 44(5): 738-742.
- [29] Snapper JR, Drazen JM, Loring SH, et al. Vagal effects on histamine, carbachol, and prostaglandin F₂ alpha responsiveness in the dog [J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1979, 47(1): 13-16.
- [30] Raju SV, Kim H, Byzek SA, et al. A ferret model of COPD-related chronic bronchitis [J]. *JCI Insight*, 2016, 1(15): e87536.
- [31] Cai Y, Sugimoto C, Arainga M, et al. *In vivo* characterization of alveolar and interstitial lung macrophages in rhesus macaques: implications for understanding lung disease in humans [J]. *J Immunol*, 2014, 192(6): 2821-2829.
- [32] Plopper CG, Hyde DM. The non-human primate as a model for studying COPD and asthma [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2008, 21(5): 755-766.
- [33] 蒋超文, 陈琰, 王斌. 慢性阻塞性肺疾病动物模型研究进展 [J]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2018, 11(4): 499-501. Jiang CW, Chen Y, Wang B. Research progress of animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin J Lung Dis (Electron Ed)*, 2018, 11(4): 499-501.
- [34] Carraro S, Scheltema N, Bont L, et al. Early-life origins of chronic respiratory diseases: understanding and promoting healthy ageing [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(6): 1682-1696.
- [35] Shu J, Li D, Ouyang H, et al. Comparison and evaluation of two different methods to establish the cigarette smoke exposure mouse model of COPD [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15454.
- [36] Caramori G, Kirkham P, Barczyk A, et al. Molecular pathogenesis of cigarette smoking-induced stable COPD [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1340: 55-64.
- [37] Cloonan SM, Glass K, Lauchó-Contreras ME, et al. Mitochondrial iron chelation ameliorates cigarette smoke-induced bronchitis and emphysema in mice [J]. *Nat Med*, 2016, 22(2): 163-174.
- [38] Khedoe PPSJ, Rensen PCN, Berbée JFP, et al. Murine models of cardiovascular comorbidity in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310(11): L1011-L1027.
- [39] Lüthje L, Raupach T, Michels H, et al. Exercise intolerance and systemic manifestations of pulmonary emphysema in a mouse model [J]. *Respir Res*, 2009, 10(1): 7.
- [40] Takata F, Tominaga K, Koga M, et al. Elevated permeability of the blood-brain barrier in mice intratracheally administered porcine pancreatic elastase [J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 129(1): 78-81.
- [41] Longhini-dos-Santos N, Barbosa-de-Oliveira VA, Kozma RH, et al. Cell therapy with bone marrow mononuclear cells in elastase-induced pulmonary emphysema [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2013, 9(2): 210-218.
- [42] 李竹英, 田春燕, 高凤丽. 单因素诱导的慢性阻塞性肺疾病动物模型研究进展 [J]. *中国中医急症*, 2018, 27(3): 552-554.
- Li ZY, Tian CY, Gao FL. Research progress of animal model of chronic obstructive pulmonary disease induced by single factor [J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2018, 27(3): 552-554.
- [43] 曹淑花, 玄玲玲, 王冬梅, 等. 腺苷衍生物化合物 WS070117M1 对小鼠慢性阻塞性肺疾病的影响及其抗炎机制 [J]. *药学报*, 2015, 50(8): 986-992.
- Cao SH, Xuan LL, Wang DM, et al. Effect of WS070117M1 on chronic obstructive pulmonary disease in mice and the underlying mechanisms of anti-inflammation [J]. *Acta Pharm Sin*, 2015, 50(8): 986-992.
- [44] Kao ST, Liu CJ, Yeh CC. Protective and immunomodulatory effect of flos *Lonicerae japonicae* by augmenting IL-10 expression in a murine model of acute lung inflammation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 168: 108-115.
- [45] 褚旭. PM_{2.5} 加剧慢性阻塞性肺疾病小鼠肺泡巨噬细胞吞噬功能障碍及对免疫炎症反应的影响 [D]. 兰州: 兰州大学; 2017.
- Chu X. PM_{2.5} in aggravation of defective phagocytosis of alveolar macrophages and its effects on immune inflammation in chronic obstructive pulmonary disease mice [D]. Lanzhou: Lanzhou University; 2017.
- [46] Nikula KJ, Green FH. Animal models of chronic bronchitis and their relevance to studies of particle-induced disease [J]. *Inhal Toxicol*, 2000, 12: 123-153.
- [47] 贾敏, 樊文花, 秦巧红, 等. 香烟尘雾颗粒经鼻腔滴入建立小鼠 COPD 肺功能损伤模型 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(10): 1915-1920.
- Jia M, Fan WH, Qin QH, et al. Cigarette dust particles induced lung function injury of chronic obstructive pulmonary disease in mice [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2019, 35(10): 1915-1920.
- [48] 张子丽. NO₂ 对慢性阻塞性肺疾病发病的影响及机制研究 [D]. 广州: 广州医科大学; 2018.
- Zhang ZL. Effects and mechanisms of MMP16 on chronic obstructive pulmonary diseases based on model induced by NO₂ [D]. Guangzhou: Guangzhou Medical University; 2018.
- [49] Gao W, Yuan C, Zhang J, et al. Klotho expression is reduced in COPD airway epithelial cells: effects on inflammation and oxidant injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(12): 1011-1023.
- [50] Shu J, Lu W, Yang K, et al. Establishment and evaluation of chronic obstructive pulmonary disease model by chronic exposure to motor vehicle exhaust combined with lipopolysaccharide

- instillation [J]. *Exp Physiol*, 2018, 103(11): 1532–1542.
- [51] Cochrane WJ, Afolabi OA. Investigation into the nutritional status, dietary intake and smoking habits of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Hum Nutr Diet*, 2004, 17(1): 3–11.
- [52] 毛峪泉. 健脾益肺 II 号对 COPD 大鼠骨骼肌萎缩作用机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2017.
Mao YQ. The study of effect of jianpiyifei-II on COPD rat skeletal muscle atrophy [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2017.
- [53] Vande Velde G, Poelmans J, De Langhe E, et al. Longitudinal micro-CT provides biomarkers of lung disease that can be used to assess the effect of therapy in preclinical mouse models, and reveal compensatory changes in lung volume [J]. *Dis Model Mech*, 2016, 9(1): 91–98.
- [54] Ramírez-Ramírez E, Torres-Ramírez A, Alquicira-Mireles J, et al. Characteristic plethysmographic findings in a Guinea pig model of COPD [J]. *Exp Lung Res*, 2017, 43(2): 57–65.
- [55] Xu X, Huang H, Yin X, et al. Effect of lentivirus-mediated CFTR overexpression on oxidative stress injury and inflammatory response in the lung tissue of COPD mouse model [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(1): BSR20193667.
- [56] Liu X, Ma C, Wang X, et al. Hydrogen coadministration slows the development of COPD-like lung disease in a cigarette smoke-induced rat model [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 1309–1324.
- [57] 龙颖姣, 陈燕, 陈平. 慢性阻塞性肺疾病动物模型构建及评价 [J]. *国际呼吸杂志*, 2014, 34(17): 1327–1330.
Long YJ, Chen Y, Chen P. Building and evaluation of COPD animal models [J]. *Int J Respir*, 2014, 34(17): 1327–1330.
- [58] Kirkham PA, Barnes PJ. Oxidative stress in COPD [J]. *Chest*, 2013, 144(1): 266–273.
- [59] 傅玉琼, 周伟. 转化生长因子 β_1 及成纤维细胞生长因子基因敲除对尘肺小鼠肺纤维化的影响 [J]. *解放军医药杂志*, 2017, 29(1): 27–30.
Fu YQ, Zhou W. Effect of TGF- β_1 and *FGF* gene knockout in treatment of pneumoconiosis mice with pulmonary fibrosis [J]. *Med Pharm J Chin People's Liberation Army*, 2017, 29(1): 27–30.
- [60] Pavord ID, Jones PW, Burgel PR, et al. Exacerbations of copd [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2016, 11: 21–30.
- [61] Hillas G, Perlikos F, Tzanakis N. Acute exacerbation of COPD: is it the stroke of the lungs? [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2016, 11: 1579–1586.
- [62] Xiao C, Cheng S, Li R, et al. Isoforskolin alleviates AECOPD by improving pulmonary function and attenuating inflammation which involves downregulation of Th17/IL-17A and NF- κ B/NLRP3 [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 721273.
- [63] Gaschler GJ, Bauer CMT, Zavitz CCJ, et al. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations [J]. *Contrib Microbiol*, 2007, 14: 126–141.
- [64] Roos AB, Sethi S, Nikota J, et al. IL-17A and the promotion of neutrophilia in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 192(4): 428–437.
- [65] Oostwoud LC, Gunasinghe P, Seow HJ, et al. Apocynin and ebselen reduce influenza A virus-induced lung inflammation in cigarette smoke-exposed mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20983.
- [66] 祁海燕, 封继宏, 李美凤, 等. 肺宁颗粒对 AECOPD 大鼠肺组织肺保护作用 and 血清 TLR4, NF- κ B, SOD 水平的影响 [J]. *陕西中医*, 2016, 37(11): 1557–1559.
Qi HY, Feng JH, Li MF, et al. Effects of Feining Granule on lung protection and serum levels of TLR4, NF- κ B and SOD in AECOPD rats [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med*, 2016, 37(11): 1557–1559.
- [67] Wang D, Wang Y, Liu YN. Experimental pulmonary infection and colonization of *Haemophilus influenzae* in emphysematous hamsters [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2010, 23(4): 292–299.
- [68] 张甜甜, 王惠琴, 薛佩妮, 等. 铜绿假单胞菌及肺炎链球菌诱发 AECOPD 大鼠血清 PCT 和 IL-6 水平的变化及意义 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2018, 13(11): 1198–1201, 1206.
Zhang TT, Wang HQ, Xue PN, et al. Levels and significance of serum PCT and IL-6 in AECOPD rats induced by *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* [J]. *J Pathog Biol*, 2018, 13(11): 1198–1201, 1206.
- [69] Guan X, Yuan Y, Wang G, et al. Ginsenoside Rg3 ameliorates acute exacerbation of COPD by suppressing neutrophil migration [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106449.
- [70] 张甜甜, 田王斌, 李媛媛, 等. 烟熏联合不同细菌建立大鼠慢性阻塞性肺疾病急性加重期动物模型 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2018, 32(8): 743–746.
Zhang TT, Tian WB, Li YY, et al. Establishment of rat models of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease by fumigation combined with different bacteria [J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2018, 32(8): 743–746.
- [71] 李建生, 周红艳, 乔翠霞, 等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期痰热证模型的建立与评价 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2010, 16(7): 553–556.
Li JS, Zhou HY, Qiao CX, et al. Establishment and evaluation of model of chronic obstructive pulmonary diseases with phlegm syndrome during acute exacerbation period [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2010, 16(7): 553–556.
- [72] 王东, 王瑛, 刘又宁. 流感嗜血杆菌感染致慢性阻塞性肺病急性发作动物模型的建立 [J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2011, 10(2): 156–160.
Wang D, Wang Y, Liu YN. A golden hamster model of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease infected by *Haemophilus influenzae* [J]. *Chin J Mult Organ Dis Elder*, 2011, 10(2): 156–160.