刘雨然,连科迅,谷新利. 几种炎症模型的小鼠造模方法研究进展［J］. 中国比较医学杂志, 2022, 32(12): 120-126.
Liu YR, Lian KX, Gu XL. Research progress in mouse models of inflammatory diseases［J］. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 120-126.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.12.017

# 几种炎症模型的小鼠造模方法研究进展

刘雨然,连科迅*,谷新利*

(石河子大学动物科技学院,新疆 石河子　832003)

【摘要】 动物炎症性疾病在疾病中比例最大,无论是传染性疾病还是免疫性疾病在临床上都会有炎症的发生。为了更加深入的了解疾病发生发展的机制以及寻找更好的预防治疗途径,采用体内试验非常必要。小鼠模型因其经济便宜,饲养周期短,操作简单以及与人类基因、生理结构等方面的相似性而广泛运用。本文以此为背景,主要围绕肺炎模型、结肠炎模型以及乳房炎模型的小鼠造模方法研究进展展开综述,以期为后续研究提供便捷。

【关键词】 小鼠模型;肺炎模型;结肠炎模型;乳房炎模型
【中图分类号】R-33　【文献标识码】A　【文章编号】1671-7856 (2022) 12-0120-07

# Research progress in mouse models of inflammatory diseases

LIU Yuran, LIAN Kexun*, GU Xinli*
(College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

【Abstract】 Inflammatory diseases account for a high proportion of all diseases in animals, including infectious and immune diseases. *In vivo* experiments are required to gain a deeper understanding of the mechanisms of disease occurrence and development and to find better preventive and therapeutic approaches. Mouse models are widely used for this purpose because of their relatively low cost, short feeding cycle, easy handling, and genetic and physiological similarities with human. In this context, we review research progress into the creation of mouse models of inflammation, pneumonia, colitis, and mastitis, as a reference for subsequent research.

【Keywords】 mouse model; pneumonia model; colitis model; mastitis model

炎症是多种生理反应及病理状态的基础,实质上是活的机体对于外界环境中不利因素的一种防御反应,是机体与外界刺激的损伤与抗损伤的病理过程,其目的是使机体内环境处于一种相对平衡的生理状态。

炎症在有利干预下一般是可控的,且对机体而言是有利的反应,但由于在生产生活中对炎症发现不及时或是治疗方法有误会导致炎症病情恶化,通常会由急性炎症转变为慢性炎症。在慢性炎症持续过程中,一些细胞因子持续分泌(例如 TNF-α、IL-11、IL-12 等)会加重对机体的损伤,严重时对机体产生恶劣且不易逆转的影响,对畜牧业而言则会导致严重的经济损失[1]。因此,为了能更全面的了解不同炎症的特点,更快速有效的研发治疗药物从而减少经济损失,开展动物实验是行之有效的解决方案。

[基金项目]兵团重大科技项目(2014AA001)。
[作者简介]刘雨然(1998—),男,硕士,研究方向:中兽药的研发与应用。E-mail:454809951@qq.com
[通信作者]连科迅(1986—),男,博士,研究方向:新型生物制剂的研发与应用。E-mail:liankexun@shzu.edu.cn
谷新利(1963—),男,博士,教授,博士生导师,研究方向:中草药防治动物疾病和中草药饲料添加剂的研究与应用等。
E-mail:xlgu@shzu.edu.cn　* 共同通信作者

小鼠与人有 95%的基因具有同源性,与其他经济动物基因也有高度的同源性且其生理结构也大致相同(例如小鼠乳腺与奶牛乳腺生理结构几乎相同),并且由于小鼠具有价格低廉,繁殖性能强等优势,因而无特定要求下通常以小鼠作为实验动物。在此,本文将主要介绍肺炎模型、结肠炎模型以及乳房炎模型的小鼠造模方法以及相关研究进展。

## 1　肺炎模型

肺是陆生动物进行气体交换的主要器官及场所。由于肺是机体与外界直接接触器官,从而为病原体入侵与定植提供了条件,虽然肺部的非特异性免疫系统可以消灭绝大多数的病原体,但也有一部分会逃脱免疫系统从而诱发肺炎等一系列疾病。肺炎是严重的、有时危及生命的主要疾病之一,其发生严重影响了人类健康以及畜牧业的发展。肺炎的生理病理学已被广泛研究,为这种疾病的新治疗方法的开发提供了信息。除了体外研究,动物模型已广泛应用于肺炎领域。

### 1.1　肺炎模型动物选择

在肺炎模型中,因哺乳动物在肺部的解剖结构以及生理功能大致相同,所以通常作为受试对象。在评估整体的生理心血管监测和血流动力学时,由于要进行肺的力学性测量,肺炎模型首选大型哺乳动物,如兔子、狗、猪、狒狒等[2],虽然已经在狒狒身上得到了成功的验证,但仔猪是目前使用最频繁的模型。相比之下,多菌感染主要在啮齿动物中进行评估,特别是小鼠和大鼠。啮齿动物体型小,繁殖率快,有利于实验室研究的许多实用性。近亲交配的小鼠品系(如 BALB/c 小鼠、C57BL/6J 小鼠等)通常用于排除基因的干扰,这些动物有助于使用遗传方法来了解疾病的分子机制。目前基因工程在小鼠胚胎干细胞的应用已有成功案例,并且已经产生了各种各样的携带功能丧失、功能获得的转基因小鼠[3]。本节就小鼠的肺炎模型构建方法进行综述。

### 1.2　肺炎模型造模方法

目前,已成功构建出一些可以很好模拟肺炎的动物模型,其中包括直接接触法、气雾接种法、气管注射法及经口插管法以及鼻腔滴入法,每种模型都有其优点以及缺点(见表 1),因此需要根据实验具体实际情况进行妥善选择。在此对小鼠肺炎模型的各种造模方法进行综述。

#### 1.2.1　直接接触法

一些呼吸道病原体可以通过液滴核或身体接触传播,方法是将未感染的动物与已感染动物放在相对密闭的环境中。这种方法具有模仿传染性感染的自然传播的吸引力,并且病原体通可过小鼠可以提高毒力[4]。小鼠微弱的咳嗽反射可能限制了呼吸道病原体的群居传播,这可能对自然的小鼠病原体最有用。这种实验设计的缺点包括无法控制接种量、感染时间或感染动物的数量。

#### 1.2.2　气雾剂接种法

许多下呼吸道感染是通过吸入传染性气雾剂而获得的,包括结核病、军团菌病、支原体和衣原体感染、真菌肺炎和呼吸道病毒感染。可通过将小鼠暴露于全身或仅鼻腔中的雾化微生物来模仿空气传播模式。在全身暴露系统中,将实验动物置于有窗或网状隔间的封闭房间内,由一个或多个喷雾器产生的可呼吸气雾剂被负压吸引进入到鼠笼中。调节总风量以满足动物的通风需求,并可通过控制湿度以优化微生物的生存能力。暴露的时间通常为 30~60 min。此外还可以将小鼠置于只暴露鼻子的特定装置或底部开口的 50 mL 离心管中,以便只有它们的鼻子暴露在气雾室中,暴露时间通常较短(5~15 min)[5]。通过此方法接种的微生物可在小鼠肺中均匀分布。

#### 1.2.3　气管注射法及经口插管法

这两种方法都需要全身麻醉。气管注射法是通过手术暴露已麻醉小鼠的气管,然后用针头为 25~30 G 规格的注射器,将微生物悬浮液按 5~50 μL 的体积注入气管内,然后对伤口进行缝合[6]。经口插管法是通过口-气管途径获得感染,第一步是将小鼠上门牙悬吊,使其处于垂直悬挂状态,然后用一个牵引器将舌头向前移位,在动物处于麻醉且稳定状态时,用 1 mm 金属钝针管与大小相似的塑料软管链接插入到小鼠气管内,将微生物悬浮液按 5~50 μL 的体积注入气管内。接种后的小鼠保持垂直姿势(细菌在重力作用下向肺泡的远端迁移),直到麻醉消失。这项技术已被证明可将 99%以上的接种物输送到肺部,但由于操作人员的手法及技术不同,有可能导致接种的微生物在小鼠左右两肺的分布沉积不均匀[7]。

#### 1.2.4　鼻腔滴入法

鼻腔滴入法是目前来说较为普及的一种小鼠肺炎模型构造方法,此方式可以很好的模拟上呼吸道以及下呼吸道的感染。在此方法中,使麻醉的小鼠保持垂直位置,将微生物悬浮液沉积在鼻孔中,

**表 1** 肺炎模型构建方法及其优缺点

**Table 1** Pneumonia model construction method and its advantages and disadvantages

| 方法<br>Method | 优点<br>Advantage | 缺点<br>Disadvantage |
|---|---|---|
| 直接接触法<br>Direct contact | (1)可以很好的还原传染性感染的自然传播<br>(1)Can well restore the natural spread of infectious infections<br>(2)病原体通过种鼠可以提高毒力,从而减少二次感染的感染剂量<br>(2)Virulence of pathogens can be increased by breeding mice, thereby reducing the infectious dose of secondary infection | (1)无法控制接种量<br>(1)Amount of inoculation cannot be controlled<br>(2)感染时间及感染动物的数量无法统一<br>(2)Time of infection and the number of infected animals cannot be unified |
| 气雾剂接种法<br>Aerosol vaccination | (1)模拟空气传播感染的自然传播<br>(1)Simulate the natural spread of airborne infections<br>(2)可以使动物群体的同时感染<br>(2)Simultaneous infection of animal populations<br>(3)病原体在两侧肺分布均匀<br>(3)Pathogen is evenly distributed in both lungs<br>(4)不需要麻醉<br>(4)No need for anesthesia | (1)气雾剂造模系统比较昂贵<br>(1)Aerosol modeling systems are more expensive<br>(2)病原体会在小鼠皮毛、眼睛等处沉积<br>(2)Pathogens deposit on mouse fur, eyes, etc.<br>(3)病原体在气雾中存活率较低<br>(3)Pathogens survive less in aerosols<br>(4)对病原体可接种量有限制<br>(4)There is a limit to the amount of pathogens that can be inoculated |
| 气管注射法<br>Tracheal injection | (1)模仿口咽吸入感染<br>(1)Mimics oropharyngeal inhalation infection<br>(2)可以给下呼吸道进行精确给药<br>(2)Allows precise dosing to the lower respiratory tract<br>(3)试验程序比较简单<br>(3)Test procedure is relatively simple | (1)需要进行麻醉和气管暴露手术<br>(1)Requires anesthesia and tracheal exposure surgery<br>(2)病原体在两侧肺分布不均匀<br>(2)Pathogens are unevenly distributed in both lungs<br>(3)试验开始时间不一致,不能同步进行<br>(3)Start time of the test is inconsistent and cannot be carried out synchronously |
| 经口插管法<br>Oral intubation | (1)模仿口咽吸入感染<br>(1)Mimics oropharyngeal inhalation infection<br>(2)可以给下呼吸道进行精确给药<br>(2)Allows precise dosing to the lower respiratory tract<br>(3)试验程序比较简单<br>(3)Test procedure is relatively simple<br>(4)没有手术创伤<br>(4)No surgical trauma | (1)需要全身麻醉才能进行<br>(1)Requires general anesthesia to perform<br>(2)技术难度较大<br>(2)Technically difficult<br>(3)病原体在两侧肺分布不均匀<br>(3)Pathogens are unevenly distributed in both lungs<br>(4)试验开始时间不一致,不能同步进行<br>(4)Start time of the test is inconsistent and cannot be carried out synchronously<br>(5)有口腔细菌污染的风险<br>(5)Risk of oral bacterial contamination |
| 鼻腔滴入法<br>Nasal instillation | (1)模仿口咽吸入感染<br>(1)Mimic oropharyngeal inhalation infection<br>(2)可以构建小鼠上、下呼吸道感染模型<br>(2)Can constructed a mouse model of upper and lower respiratory tract infection<br>(3)试验程序比较简单<br>(3)Test procedure is relatively simple | (1)需要全身麻醉才能进行<br>(1)Requires general anesthesia to perform<br>(2)肺内病原体沉积密度较大且不易控制<br>(2)Pathogen deposition in the lungs is dense and difficult to control<br>(3)病原体在两侧肺分布不均匀<br>(3)Pathogens are unevenly distributed in both lungs<br>(4)有鼻腔细菌污染的风险<br>(4)Risk of nasal bacterial contamination |

滴入后静止 1 min 左右,以确保接种病原体被吸入到呼吸道中。接种量从 5~50 μL 不等,但较小的接种量往往局限于上呼吸道。

## 2 炎症性肠炎模型

肠道是机体最大的免疫器官,能对进入肠道的病原体进行有效的免疫应答,是机体抵抗外来入侵物的第一道防线,而且还是机体进行全身性免疫功能调节的场所。肠道是与外界相通的器官,每天都会有不同的病原体、微生物入侵肠道,当机体发生应激、创伤或者机体抵抗力下降时,这些外来分子进入肠道,破坏肠粘膜屏障,使肠绒毛变短或者消

失,肠上皮细胞坏,导致炎性细胞大量聚集,释放出大量的促炎因子如 IL-6、IL-Iβ 和 TNF-α 等,这些炎性因子能使巨噬细胞发生趋化作用,进一步合成环氧化酶,导致动物肠道炎症的发生,进而导致腹痛、腹泻、便血的发生。

炎症性肠病(inflammatory bowel disease,IBD)是发生于肠道的慢性炎症性肠病,根据其发生部位以及病理学特点的不同,分为克罗恩病(Crohn's disease,CD)以及溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC),两者均出现腹泻、血便、体重减轻、精神不振、食欲减退、发热等症状。UC 在肠镜下可以发现其病变部位的溃疡主要发生在结肠粘膜,其组织学病变通常表现为粘膜溃疡,固有层炎性浸润和肉芽肿发展;而 CD 在病变处的粘膜观察不到明显的炎性症状,组织学观察科发现病变处有非干酪样肉芽肿性炎症[8]。因此在临床上 IBD 主要诊断方法采用肠镜以及活检相结合的方式来进行区分。

虽然有很多文献已经记录了 IBD 的发病机制,但仍然存在一些分歧。研究发现,结肠上皮细胞、粘膜屏障和上皮屏障缺陷与溃疡性结肠炎的发病机制密切相关[9]。由于对 IBD 诱发原因不甚了解,对预防疾病发生的工作造成了很大的困难,所以目前针对 IBD 的方法主要为药物以及手术治疗法[10]。为了开发出针对 IBD 的新型药物避免手术对身体造成的危害,动物模型成为此方法的关键,由于小鼠与人以及畜牧业经济动物的肠道结构及发病症状几乎相同,所以用小鼠构建 IBD 模型成为大众潮流。目前研究 IBD 的小鼠模型主要有基因工程类 IBD 模型、化学诱导类 IBD 模型、细菌诱导类 IBD 模型以及自发类 IBD 模型[11]。由于化学诱导的肠道炎症模型炎症的发生是即刻的且操作相对简单,所以常用化学诱导来模拟 IBD 疾病。

### 2.1　三硝基苯磺酸(TNBS)诱导肠炎造模方法

通过灌肠方法将溶解在乙醇中的 TNBS 注入小鼠直肠内,可以诱导结肠炎。乙醇作用是破坏肠道粘膜屏障,而 TNBS 作为半抗原与小鼠体内蛋白结合,使之宿主免疫系统产生免疫原性。由于 $CD4^+$ T 细胞已被证明在慢性 TNBS 结肠炎中起中心作用,该模型有助于研究 T 辅助细胞依赖的粘膜免疫反应[12]。

先将丙酮和橄榄油以 4∶1 的体积比充分混合,随后将 4 体积的丙酮/橄榄油与 1 体积的 5% TNBS 溶液充分混合后得到 1%(w/v)的 TNBS 预敏液。在背部或肩部预剃毛的小皮肤处均匀涂抹 150 μL TNBS 预敏液进行预致敏。在第 8 天,用肛门导管将 100 μL 与无水乙醇 1∶1 混合的 5% TNBS 溶液注入已麻醉小鼠肛门内 4 cm 左右处,缓慢拔出肛门导管,保持小鼠头部朝下姿势约 60 s[13]。TNBS 是一种危险化合物,易燃易爆且有致癌作用,因此在实验操作过程中要严格遵守实验室安全规定以及个人防护。

### 2.2　恶唑酮(Oxazolone)诱导结肠炎造模方法

直肠注射溶解于乙醇恶唑酮半抗原试剂可引起小鼠的严重结肠炎,症状为体重减轻、腹泻和杯状细胞明显丢失,在 SJL/J 小鼠中,炎症只影响远端结肠,特别是粘膜层[14]。未受刺激和 αCD3/αCD28 刺激的固有层 T 细胞的组织学特征和 Th2 细胞因子(IL-4、IL-5 和 IL-13)的产生在某些方面与人类 UC 相似。与其他几种小鼠结肠炎模型相比,中和抗 IL-4 抗体或诱骗 IL-13Rα2-Fc 蛋白治疗可以改善疾病[15]。因此,该模型常被用来研究 Th2 依赖的免疫反应在肠道炎症中的作用。

将丙酮和橄榄油以 4∶1 的体积比充分混合,将 60 mg 恶唑酮盐溶于 2 mL 丙酮/橄榄油中,充分混合后得到 3%(w/v)的恶唑酮预敏液。在背部或肩部预剃毛的小皮肤处均匀涂抹 150 μL TNBS 预敏液进行预致敏。第 8 天,用肛门导管将 100 μL 将溶于 50%乙醇中的 1%(w/v)恶唑酮盐溶液注入已麻醉小鼠肛门内 4 cm 左右处,缓慢拔出肛门导管,保持小鼠头部朝下姿势约 60 s。恶唑酮是一种危险化合物,易燃易爆且有致癌作用,因此在实验操作过程中同样要严格遵守实验室安全规定以及个人防护。

### 2.3　葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导结肠炎造模方法

在饮用水中给小鼠喂食 DSS 聚合物几天会导致以血性腹泻、溃疡和粒细胞渗入为特征的高度重复性急性结肠炎。研究认为,DSS 对肠道上皮的隐窝细胞有直接毒性从而影响肠道粘膜屏障的完整性[16]。由于此模型在缺乏 B 细胞和 T 细胞的 C.B17 SCID 以及 $RAG1^{-/-}$ 小鼠中同样可以引发严重的 IBD,适应性免疫系统在此模型中起的作用微乎其微[17]。因此,急性 DSS 结肠炎模型对于研究先天性免疫机制在结肠炎发病中的作用尤为有用。此外,DSS 模型已被证明适用于对结肠上皮修复机制的研究。

#### 2.3.1　急性 UC 造模方法

选取分子量(MW)为 36000~50000 的 DSS 试

剂,与无菌水配制呈 2%~5%的溶液,按每只小鼠每天 5 mL 的饮水量自由饮用 DSS 溶液,连续 7 d,期间每天都要更换新的 DSS 溶液,第 8 天更换为正常饮用水[18-19]。在造模过程中,有些小鼠采食量并没有太大变化,但是仍会出现便血消瘦症状,因此不宜通过采食量来估计造模成功与否。由于实验条件不同,所以造模浓度不是固定的,浓度过大小鼠会极度消瘦且一般会在 4 d 后陆续死亡,可能会对实验产生消极影响,通过在合理范围内调整浓度,找到适宜浓度,以此来减少损失保证试验的顺利进行。

2.3.2 慢性 UC 造模方法

药物配制同急性 UC 造模方法,当饮用 DSS 溶液连续 7 d 后(期间每天都要更换新的 DSS 溶液),于第 8 天更换为正常饮用水,连续 14 d。在第 22 天重新将小鼠饮水更换为相同浓度的 DSS 溶液至第 28 天;第 29 天时用正常饮水替代 DSS 溶液同样连续 14 d。在连续造模 50 d 后更换为正常饮水[19]。造模浓度同样需要根据实际情况合理调整。

## 3 乳房炎模型

奶牛乳房炎是指在奶牛乳腺中发生炎症的一种传染性疾病,可导致围产期奶牛产奶量降低、产奶质量下降,且慢性乳房炎可导致奶牛产奶量不可逆转的降低。虽然有研究表明噬菌体可以作为治疗奶牛乳房炎的新型治疗方法,但目前主要的治疗方法是抗生素疗法,而细菌耐药性的产生和休药期的必要性并不能有效的缓解全球奶牛乳房炎的发病率,对全球乳业产生的巨大的经济影响[20]。

为了更好的了解奶牛乳房炎的发病机制以及寻找更好的治疗药物,体内实验模型提供了有效的方法。虽然使用奶牛作为实验动物可以更好地还原疾病,但是由于奶牛价格昂贵,体积较大,操作困难等原因一般不用奶牛进行造模。啮齿动物如小鼠,具有 5 对乳腺,胸部 3 对,腹部 2 对,每对乳腺相对独立,一个乳头开口对应一条乳导管这与奶牛的乳腺结构相似,且在小鼠乳腺中的细菌计数、中性粒细胞和组织学上的变化与奶牛相似[21]。早在 1970 年 Chandler[21]通过实验成功建立了细菌性乳腺炎模型,随后该模型被广泛的运用于乳房炎的研究。随着研究的不断深入,构建了更多的乳腺炎模型例如浆细胞性乳腺炎模型、EchAMP 转基因小鼠乳腺炎模型等[22]。金黄色葡萄球菌和大肠杆菌是主要的乳房炎病原菌,已被证明分别用于奶牛亚临床性乳房炎和临床性乳房炎的体内研究模型[23-24]。

### 3.1 小鼠乳房炎模型病原体选择

奶牛乳房炎主要由细菌引起,但真菌、病毒或孢子也可引起乳房内感染。但小鼠乳房炎模型通常还是用细菌作为病原体来进诱导,此外,有研究表明真菌也可以用来诱导小鼠乳房炎,然而在真菌研究中,小鼠乳房炎模型是研究念珠菌病的合适工具[25]。在临床上,大多数奶牛乳房炎的是由细菌引起的,因此细菌性奶牛乳房炎的研究尤为重要。引起奶牛乳房炎的细菌主要分为 3 类。第一类为传染性细菌,最具代表性的是金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),在所有反刍动物的乳房内感染中,这种病原体的比例最大[26]。由于金葡菌的耐药性以及小菌落变异株(small colony variants, SCV)的产生,使得亚临床性奶牛乳房炎往往发展成为慢性奶牛乳房炎,给治疗带来了极大的困难。研究表明,金黄色葡萄球菌引起的小鼠乳房炎主要是急性型,动物通常在感染后几天内死亡,为了模拟在奶牛身上观察到的慢性感染,可以在小鼠接种细菌之前注射内毒素或脂多糖[26]。另一种奶牛乳房炎传染性细菌为无乳链球菌(*Streptococcus agalacae*),与金葡菌相比,无乳链球菌对抗生素非常敏感,在临床上可以很好地控制,因此只有少数研究使用无乳链球菌构建乳房炎模型[27]。引起奶牛乳房感染的第二种是环境细菌,与传染性细菌不同的是,这些细菌长期在奶牛体内存活和繁殖但并不会引起炎症的发生与机体处于互利共生的状态。在动物免疫力低下或免疫功能异常时会打破这种动态平衡,此时就可能发生环境病原体的感染,这些细菌主要引起奶牛的临床性乳房炎,而不是亚临床感染。大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)是一种广为人知的革兰氏阴性杆菌,可引起结肠性乳腺炎。有研究表明,通过在小鼠乳腺接种大肠杆菌可以用来构建乳房炎模型,其特征非常类似于奶牛临床性乳房炎的特征[21]。第三类可归结为次要病原体,主要包括牛棒状杆菌(*Corynebacterium bovis*),凝固酶阴性葡萄球菌(coagulase-negative *Staphylococci*, CoNS)等。与前两种致病菌相比,这一类细菌的致病性是微弱的,不会产生严重的感染症状,因此通常不用这类细菌来构建乳房炎模型[28-29]。

### 3.2 小鼠乳腺内接种技术

一般都使用乳腺注射技术来实现诱导小鼠乳

腺炎的目的,所有的接种方法都需要在小鼠麻醉后进行。第一种方法是将高浓度菌液滴在小鼠的乳头尖端,病原体沉积在乳头尖端后通过乳头开口,顺着乳导管进入到乳腺,从而诱导乳房炎[30]。由于病原体进入小鼠乳腺的机会不同,所以此方法的发病率较低。第二种方法是在体式显微镜下找到乳头管开口,随后用针头直径小于 75 μm 的注射器将病原体注射到小鼠乳腺内即可诱发小鼠乳房炎[31]。需要注意的是,哺乳期小鼠的乳口开口通常很容易观察到,而非哺乳期的小鼠其乳头覆盖有一层死皮,因此在操作前应该去除。此外,还可以先将小鼠乳头尖端剪去,用针头不大于 30 G 的注射器,通过乳导管插入几毫米(不宜过深以防穿过乳腺注射乳腹腔)将病原体输送到小鼠乳腺内。对于后两种技术,可以使用低至 10 个集落形成单位(CFU)来诱导乳房炎,而发病率很容易达到 100%[32]。尽管如此,接种数量的减少反而会导致更广泛的免疫反应,因此,需要接种更高数量的细菌,最高可达 $10^8$ CFU[33]。当然为了更好的反映乳房炎的病理状况,造模用的小鼠最好选用哺乳期 10~14 d 的雌鼠。

## 4　结语与展望

炎症一直以来都困扰着我们的生活,对畜牧业的生产也造成了巨大的危害。当然近年来通过科技工作者的不断努力创新在抗炎药物的研究上也已有了突出的成果。Veber 等[34]将肺炎链球菌 P4241 菌株通过气管注射法构建出小鼠急性肺炎模型,在此模型基础上对各抗生素疗效进行了比较即:阿奇霉素 > 螺旋霉素 = 克拉霉素 > 罗红霉素 = 红霉素,这一研究结果为治疗急性肺炎的治疗提供了有利的理论依据,对治疗急性肺炎是一项里程碑式的结果;Wang 等[35]在小鼠 DSS 急性溃疡性结肠炎模型中证明,中药方剂葛根芩连汤可以提高产短链脂肪酸肠道微生物的菌落丰度来调节肠道 Treg/Th17 平衡从而缓解急性溃疡性结肠炎的症状,这项研究为结肠炎的治疗提供了新思路;Geng 等[36]通过研究噬菌体 vBSM-A1 与 vBSP-A2 对金黄色葡萄球菌诱导的小鼠乳腺炎发现其治疗效果与头孢噻夫钠有相当的治疗效果,该发现开创了新型的治疗方案,且在日后有望取代抗生素疗法从而避免细菌耐药性的产生。

目前,对于各种炎症的机制还没有完全研究透彻且不同小鼠模型都具有不可避免的局限性。因此,为了更加客观真实的反映炎症的发生发展,新型动物模型的建立刻不容缓,转基因小鼠模型因为其更符合动物临床客观标准必定是未来发展的趋势。此外在构建所需动物模型过程中,前人的造模方法以及用药剂量仅作为参考,在实际实践工作中需以此为基础在不断发现以及探索的过程中找到与自己所处实验环境以及实验内容相契合的方式以及剂量。本文着重介绍了肺炎模型、结肠炎模型、乳房炎模型近几年的造模方法研究进展,以期为后续科研工作者的研究带来便利以及参考。

**参考文献:**


[1] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer [J]. Nature, 2002, 420(6917): 860-867.

[2] Hraiech S, Papazian L, Rolain JM, et al. Animal models of polymicrobial pneumonia [J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3279-3292.

[3] Muñoz-Fontela C, Dowling WE, Funnell SGP, et al. Animal models for COVID-19 [J]. Nature, 2020, 586(7830): 509-515.

[4] Goldblatt DL, Flores JR, Valverde Ha G, et al. Inducible epithelial resistance against acute Sendai virus infection prevents chronic asthma-like lung disease in mice [J]. Br J Pharmacol, 2020, 177(10): 2256-2273.

[5] Jakab GJ, Green GM. The effect of Sendai virus infection on bactericidal and transport mechanisms of the murine lung [J]. J Clin Invest, 1972, 51(8): 1989-1998.

[6] 张毅, 程晨, 苏景超, 等. 急性肺损伤大鼠模型制备及不同时段肺损伤比较 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(1): 27-34.

[7] Gingerich AD, Mousa JJ. Diverse mechanisms of protective anti-pneumococcal antibodies [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 824788.

[8] 方磊, 乔立超, 顾一帆, 等. 克罗恩病大小鼠动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(5): 688-694.

[9] Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, et al. Ulcerative colitis [J]. Lancet, 2017, 389(10080): 1756-1770.

[10] Miao Z, Chen L, Feng H, et al. Baitouweng Decoction ameliorates ulcerative colitis in mice partially attributed to regulating Th17/treg balance and restoring intestinal epithelial barrier [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 531117.

[11] Bang B, Lichtenberger LM. Methods of inducing inflammatory bowel disease in mice [J]. Curr Protoc Pharmacol, 2016, 72: 547-558.

[12] Wang S, Bai M, Shu Q, et al. Modulating effect of paeonol on piglets with ulcerative colitis [J]. Front Nutr, 2022, 9: 846684.

[13] 赖慧敏, 黄敏聪, 楼招欢, 等. 天台乌药对 TNBS 诱导的溃疡性结肠炎模型大鼠的抗炎作用研究 [J]. 中国比较医学杂

志, 2021, 31(2): 37-44.

[14] Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, et al. Oxazolone colitis: a murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4 [J]. J Exp Med, 1998, 188(10): 1929-1939.

[15] Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, et al. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells [J]. Immunity, 2002, 17(5): 629-638.

[16] Ordás I, Eckmann L, Talamini M, et al. Ulcerative colitis [J]. Lancet, 2012, 380(9853): 1606-1619.

[17] Dieleman LA, Ridwan BU, Tennyson GS, et al. Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice [J]. Gastroenterology, 1994, 107(6): 1643-1652.

[18] 马琪, 翁与竞, 李佳, 等. 参苓白术散对溃疡性结肠炎模型小鼠的疗效评价 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 785-792.

[19] Wirtz S, Popp V, Kindermann M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation [J]. Nature protocols, 2017, 12(7): 1295-1309.

[20] Shi Y, Zhao W, Liu G, et al. Bacteriophages isolated from dairy farm mitigated *Klebsiella pneumoniae*-induced inflammation in bovine mammary epithelial cells cultured *in vitro* [J]. BMC Vet Res, 2021, 17(1): 37.

[21] Chandler RL. Experimental bacterial mastitis in the mouse [J]. J Med Microbiol, 1970, 3(2): 273-282.

[22] Neerukonda M, Pavuluri S, Sharma I, et al. Functional evaluation of a monotreme-specific antimicrobial protein, EchAMP, against experimentally induced mastitis in transgenic mice [J]. Transgenic Res, 2019, 28(5-6): 573-587.

[23] Chen Q, Wang S, Guo J, et al. The protective effects of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0344 on LPS-induced mastitis *in vitro* and *in vivo* [J]. Front Immunol, 2021, 12: 770822.

[24] Li YP, Yuan SF, Cai GH, et al. Patchouli alcohol dampens lipopolysaccharide induced mastitis in mice [J]. Inflammation, 2014, 37(5): 1757-1762.

[25] Ingman WV, Glynn DJ, Hutchinson MR. Mouse models of mastitis-how physiological are they? [J]. Int Breastfeed J, 2015, 10: 12.

[26] De UK, Mukherjee R. Activity of cyclooxygenase-2 and nitric oxide in milk leucocytes following intramammary inoculation of a bio-response modifier during bovine *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis [J]. Vet Res Commun, 2014, 38(3): 201-207.

[27] Sherwin VE, Egan SA, Green MJ, et al. Survival of *Streptococcus uberis* on bedding substrates [J]. Vet J, 2021, 276: 105731.

[28] Ayemele AG, Tilahun M, Lingling S, et al. Oxidative stress in dairy cows: insights into the mechanistic mode of actions and mitigating strategies [J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(12): 1918.

[29] Taponen S, Liski E, Heikkilä AM, et al. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli* [J]. J Dairy Sci, 2017, 100(1): 493-503.

[30] Anderson JC. The mouse mastitis model: observations relevant to the treatment and control of coliform mastitis [J]. Vet Res Commun, 1983, 7(1-4): 223-227.

[31] Lai JL, Liu YH, Liu C, et al. Indirubin inhibits LPS-induced inflammation via TLR4 abrogation mediated by the NF-κB and MAPK signaling pathways [J]. Inflammation, 2017, 40(1): 1-12.

[32] Notebaert S, Meyer E. Mouse models to study the pathogenesis and control of bovine mastitis. A review [J]. Vet Q, 2006, 28(1): 2-13.

[33] Kan X, Liu J, Chen Y, et al. Protective effect of myricetin on LPS-induced mastitis in mice through ERK1/2 and p38 protein author [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2021, 394(8): 1727-1735.

[34] Veber B, Vallée E, Desmonts JM, et al. Correlation between macrolide lung pharmacokinetics and therapeutic efficacy in a mouse model of pneumococcal pneumonia [J]. J Antimicrob Chemother, 1993, 32(3): 473-482.

[35] Wang Y, Zhang J, Xu L, et al. Modified Gegen Qinlian Decoction regulates treg/Th17 balance to ameliorate DSS-induced acute experimental colitis in mice by altering the gut microbiota [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 756978.

[36] Geng H, Zou W, Zhang M, et al. Evaluation of phage therapy in the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice [J]. Folia Microbiol (Praha), 2020, 65(2): 339-351.

〔收稿日期〕2022-05-31