

## · 基础研究 ·

## 烟熏联合脂多糖制备大鼠慢性阻塞性肺疾病动物模型\*

顾延会, 欧阳瑶<sup>△</sup>

(遵义医学院附属医院呼吸一科, 贵州遵义 563003)

**摘要:**目的 通过动态观察大鼠慢性阻塞性肺疾病(COPD)动物模型制备过程中肺组织及小支气管的病理改变,以期进一步了解 COPD 疾病的发展过程。方法 采用 2 次气道内注入细菌内毒素脂多糖和连续被动吸烟 4 周的方法建立 COPD 大鼠模型。造模过程中取第 7、14、21、28、42 天大鼠肺组织进行病理 HE 染色。结果 造模 28 d COPD 大鼠模型均符合人类 COPD 的病理形态学特点,模型组大鼠在造模过程中逐渐出现肺气肿表现。结论 气道内注入脂多糖与烟熏的复合方法能成功制备较稳定大鼠 COPD 动物模型。

**关键词:**肺疾病,慢性阻塞性;模型,动物;脂多糖类;烟草烟污染

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.13.020

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)13-1295-02

## Establishment of rat chronic obstructive pulmonary disease model with cigarette inhalation and intratracheal instillation of LPS\*

Gu Yanhui, Ouyang Yao<sup>△</sup>

(Department of Respiratory Medicine, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

**Abstract: Objective** To dynamically observe the pathogenic changes of lung tissue and small bronchia during constructing process of the rat model of chronic obstructive pulmonary disease(COPD) to further understand the developing process of COPD.

**Methods** The COPD rat model was established by cigarette smoking inhalation for 4 weeks and twice intratracheal instillation of lipopolysaccharide(LPS). Then the model's lung tissues were taken on 7, 14, 21, 28, 42 d for pathological HE staining respectively.

**Results** The COPD rat model on 28 d accorded with the pathomorphological characteristics of human COPD. The rats of COPD models gradually developed the manifestations of emphysema during the model-constructing process. **Conclusion** The stable COPD rat model may be successfully established by this combined methods of cigarette smoking inhalation and intratracheal instillation of LPS.

**Key words:** pulmonary disease, chronic obstructive; models, animal; lipopolysaccharides; tobacco smoke pollution

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种有不完全可逆的气流受限,且以进行性发展为特征的疾病,多与肺部对有害颗粒和气体所产生的炎症反应有关,其本质是气道慢性非特异性炎症性疾病,以小气道阻力增加为特点。本实验采用 2 次气道内注入脂多糖和连续被动吸烟 4 周的方法建立 COPD 大鼠模型,动态观察模型制备过程中肺组织及小支气管的病理改变。COPD 动物模型的成功建立可为进一步研究人类 COPD 提供参考资料。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 自制熏烟箱(有机玻璃制成,30 cm×40 cm×90 cm 大小,72 L);香烟(焦油量 15 mg,烟气烟碱量 1.1 mg);脂多糖(美国 Sigma 公司生产, O55:B5),用生理盐水配制成 200 μg/200 μL 溶液。

**1.2 COPD 模型的制备** 选取雄性 SPF 级 Wistar 大鼠 64 只,体质量(200±20)g。随机分为 COPD 组 40 只和对照组 24

只。COPD 组大鼠第 1、15 天气道内注入 0.2 mL 脂多糖溶液;第 2~28 天(第 15 天除外)关在自制熏烟箱内被动吸烟 2 次,30 min×12 支烟/次,中间间隔 2 h 呼吸正常空气。对照组及第 28 天后 COPD 组大鼠正常喂养,不加任何干预措施。

**1.3 标本的制备** 于第 7、14、21、28、42 天分别取 COPD 组和对照组大鼠右下叶 1 cm×1 cm×1 cm 大小肺组织,4%多聚甲醛固定 24 h,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,切成 5 mm 厚的切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察其病理形态学改变。

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用单因素方差分析和秩和检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

两组大鼠第 7、14、21、28 天体质量、病理形态学变化见表 1 和封 4 图 1。

表 1 两组大鼠第 7、14、21、28 天体质量变化比较(g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	7 d	14 d	21 d	28 d
对照组	24	252.67±9.87	278.76±9.68	296.30±10.12	324.18±12.89
COPD 组	40	251.42±14.59	247.50±14.76*	245.83±15.17*	242.31±14.71*

\*:  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

### 3 讨 论

COPD 发病率和死亡率均较高<sup>[1]</sup>。发病机制不明,因此,有必要建立一种与人类 COPD 疾病的主要发病诱因及发病过程相似的实验动物模型,以对 COPD 发病机制和防治方法进行研究。有研究表明,引起 COPD 的危险因素中主要包括个体易感及环境 2 个方面,其中吸烟和感染被认为是环境因素中最重要的 2 个因素<sup>[2]</sup>。

宋一等<sup>[3]</sup>首次在国内报道,采用吸烟和气管内注入脂多糖的复合法建立 Wistar 大鼠 COPD 模型,各项结果证实这种大鼠的细胞学、组织病理学及肺功能均符合人类 COPD 的特征,可用于人类 COPD 发生、发展的研究。COPD 的病变累及气道、肺实质乃至肺血管等多级结构<sup>[4]</sup>。有研究用此复合法造模的结果均提示 COPD 动物模型在上述结构中均有相应的病理和病理生理学改变,该动物模型成功建立<sup>[5-8]</sup>。且有研究表明复合法建立的动物模型比单纯熏香烟法更符合 COPD 的自然发病过程<sup>[9]</sup>,气道炎症及气道重塑均更显著<sup>[10]</sup>。但该模型建立过程中烟雾浓度定为 5%<sup>[11]</sup>,该操作很难控制。本实验过程中选择在 72 L 的熏烟箱内,每次熏烟时香烟支数固定为 12 支,造模 28 d 时大鼠肺组织病理检查结果提示亦符合人类 COPD 的病理改变。

本研究造模过程中动态观察了不同的熏烟时间肺组织病理的变化,发现在该熏烟方法下,随着时间的迁延,大鼠咳、喘、累等症状逐渐加重,体质量明显减轻,病理切片可见气道分泌物逐渐增多,且气道慢性炎症、气道阻塞情况、肺泡结构改变等均提示病变逐渐加重,提示 COPD 组大鼠病理改变表现为慢性支气管炎和肺气肿的病理变化,与以往的研究相符<sup>[12-14]</sup>。且停止熏烟和气管内注入脂多糖 2 周后观察肺组织病理变化,结果提示该造模方法下肺组织病变呈不可逆性<sup>[15]</sup>。

总之,本研究证明,用烟熏及气管内注入脂多糖复合法能够建立符合 COPD 典型病理改变的大鼠模型,并使该模型成功制备,为进一步治疗和预防 COPD 的发生和发展的研究提供了基础。

#### 参考文献:

- [1] Fabbri LM, Luppi F, Beghe B, et al. Update in chronic obstructive pulmonary disease 2005[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 173(10):1056-1065.
- [2] Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic ob-

structive pulmonary disease GOLD executive summary [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(6):532-555.

- [3] 宋一等, 崔德健, 茅培英. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立及药物干预的影响[J]. *军医进修学院学报*, 2001, 22(2):99-102.
- [4] Wright JL, Farmer SG, Churg A. A neutrophil elastase inhibitor reduces cigarette smoke-induced remodeling of lung vessels[J]. *Eur Respir J*, 2003, 22(1):77-81.
- [5] 金焱, 庞宝森, 武维屏, 等. 一种实验性大鼠慢性阻塞性肺疾病模型的建立[J]. *心血管病杂志*, 2004, 23(3):179-181.
- [6] 邹海峰, 赵春玲, 陈燕, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠肺牵张反射对心率的影响[J]. *西部医学*, 2007, 19(1):9-11.
- [7] 田素增, 谢敏, 刘涛, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠 II 型肺泡上皮细胞凋亡水平的变化及吸入糖皮质激素对其的影响[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2007, 6(5):381-384.
- [8] 张莉, 李金田, 刘永琦, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型特点的研究[J]. *四川动物*, 2010, 29(2):285-287.
- [9] 宋小莲, 王昌惠, 白冲, 等. 脂多糖结合熏烟法和单纯熏烟法建立慢性阻塞性肺疾病大鼠模型比较[J]. *第二军医大学学报*, 2010, 31(3):246-249.
- [10] 权卓, 郑发展. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立和比较评估[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 9(10):1854-1856.
- [11] 李红梅, 崔德健, 佟欣, 等. 熏香烟加气管注内毒素和单纯熏香烟法建立大鼠 COPD 模型[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(7):808-812.
- [12] 姜威, 刘安梅, 王琳. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的肺功能及肺组织病理学变化评估[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 9(11):2067-2071.
- [13] 夏书月, 康健. 慢性阻塞性肺疾病的鼠模型与临床研究的关系[J]. *国际呼吸杂志*, 2007, 27(3):230-235.
- [14] Jeffery PK. Remodeling and inflammation of bronchi in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Proc Am Thorac*, 2004, 1(3):176-183.
- [15] 武红莉, 冯泽灵, 武维屏. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型气道炎症与重塑的实验研究[J]. *中日友好医院学报*, 2006, 120(2):95-98.

(收稿日期:2011-12-25 修回日期:2012-02-03)

(上接第 1294 页)

the staging and prognosis of inflammatory breast cancer [J]. *Cancer*, 2009, 115(21):5038-5047.

- [13] Kumar R, Halanaik D, Malhotra A. Clinical applications of positron emission tomography-computed tomography in oncology[J]. *Indian J Cancer*, 2010, 47(2):100-119.
- [14] Massimo I, Maria G, Gennaro L, et al. Dual-time-point <sup>18</sup>F-FDG PET/CT versus dynamic breast MRI of suspicious breast lesions[J]. *AJR*, 2008, 11(191):1323-1330.
- [15] Naruto T, Shozo O, Daisuke T, et al. Determination of in-

dication for sentinel lymph node biopsy in clinical node-negative breast cancer using preoperative <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography fusion imaging[J]. *Japn J Clin Oncol*, 2009, 39(1):16-21.

- [16] Pons F, Duch J, Fuster D. Breast cancer therapy: the role of PET/CT in decision making[J]. *QJ Nucl Med Mol Imaging*, 2009, 53(4):210-223.

(收稿日期:2011-12-11 修回日期:2012-01-29)