

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.03.0302

· 综述 ·

慢性阻塞性肺疾病动物模型研究进展

张迪, 管宇, 夏艺, 范丽, 刘士远*

海军军医大学(第二军医大学)长征医院影像科, 上海 200003

[摘要] 慢性阻塞性肺疾病(COPD)具有较高的发病率及病死率, 给患者及社会带来沉重负担。目前尚没有阻止或逆转 COPD 疾病进程的有效治疗方法, 因此通过动物模型探究其病理过程及新的治疗途径具有重要的临床意义。本文对几种常用 COPD 动物模型及建立方法的研究进展作一综述。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 动物模型; 生物标志物; 靶点

[中图分类号] R 563; R 332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)03-0302-06

Advances in animal models of chronic obstructive pulmonary disease

ZHANG Di, GUAN Yu, XIA Yi, FAN Li, LIU Shi-yuan*

Department of Imaging, Changzheng Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

[Abstract] Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) has high morbidity and mortality, and it poses heavy burdens on the patients and society. Currently, there are no effective therapies to prevent or reverse the progression of COPD. Therefore, it is significant in clinic to explore the pathological process and new therapeutic approaches of COPD using animal models. In this review, we summarized the recent progress in several frequently-used COPD animal models and their establishment methods.

[Key words] chronic obstructive pulmonary disease; animal model; biomarker; target

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(3): 302-307]

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种以持续气流受限为特征的进行性疾病, 其发病率及病死率均较高。据世界卫生组织估计, 目前全球有 6 500 万人罹患中重度 COPD^[1]。2015 年约有 320 万人死于 COPD, 占全球死亡人数的 5.6%^[2]。据预测, COPD 将在 2020 年位居全球主要死亡原因第 3 位及世界疾病经济负担第 5 位^[2]。因此, 越来越多的研究者开始关注 COPD 的发生和发展过程、形态学与功能学变化特点, 以及治疗方法。这使得创建一种制作简便、经济, 构建标准化并与实际临床特征相符的 COPD 动物模型十分重要。基于此, 本文对 COPD 动物模型的研究进展作一综述。

1 构建 COPD 模型的动物种类

被用于构建 COPD 模型的动物有很多种, 如豚鼠、小鼠、大鼠、猴、羊、牛、猪等。其中啮齿类动物因价格低廉、易获得, 以及在烟熏等诱因下呈现出与人类相似的免疫学反应和病理变化等特征而被广泛应用。但因其呼吸道的解剖、生理结构与人类存在差异, 亦有一定的局限性。

1.1 豚鼠 豚鼠对烟雾较敏感, 研究发现烟熏 2~6 个月后, 豚鼠逐渐出现肺部炎症、肺动脉高压、小气道重塑、肺气肿等病理变化, 这与 COPD 患者临床表现一致^[3]。但其价格相对较高, 且缺乏研究分子学的工具和相关蛋白抗体, 故逐渐被小鼠、大鼠所替代。

[收稿日期] 2017-10-15 **[接受日期]** 2017-12-19

[基金项目] 国家自然科学基金(81370035,81501470,81501618,81230030),上海市浦江人才计划(15PJD002)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81370035, 81501470, 81501618, 81230030) and Shanghai Pujiang Talent Program (15PJD002)。

[作者简介] 张迪, 硕士生。E-mail: rinzy369@163.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-63587668, E-mail: cjr.liushiyuan@vip.163.com

1.2 小鼠 小鼠作为常用 COPD 动物模型具有一定优势: 易饲养, 成本低; 有很多基因变种实验小鼠可供不同目的的实验选用; 有很多与人类相似的基本生理过程, 可以很好地还原人类 COPD 的特征性表现。此外, 目前对小鼠的基因信息、分子水平酶活性抗体及基因探针的研究也较为透彻。

1.3 大鼠 目前已有众多实验使用烟熏、蛋白酶气管注入等方法成功构建 COPD 大鼠模型, 并运用于探索疾病发生、发展机制及治疗方法等众多方面, 均取得较好的实验效果。有研究发现, 大鼠仅接受 2 个月的烟熏即出现肺气肿, 较豚鼠和小鼠的常规用时大幅度缩短^[4]。使用自发性高血压大鼠可进一步缩短 COPD 病理改变的出现时间, 烟熏不超过 4 周就能观察到炎症反应、黏液细胞分泌增多、肺气肿、肺功能下降等^[5]。这些研究表明大鼠可以用于快速构建 COPD 模型, 节省实验时间。

1.4 其他动物 研究表明烟熏会使猕猴产生类似于人类 COPD 患者的气道改变, 如气道炎症、腺体增生肥大、小气道纤维化等^[6]。不同于啮齿类动物, 猕猴可耐受连续的支气管肺泡灌洗采样, 更有利于研究 COPD 生物标志物^[6]。羊的肺功能、气道阻力、顺应性等与人相似, 滴注脂多糖、弹性蛋白酶或木瓜蛋白酶后, 均可产生肺气肿表现^[7]。牛因肺结构、成熟度及感染后的病理变化与人相似而被用于 COPD 模型制作, 但与人相比, 牛的肺泡间通气少, 肺血管内巨噬细胞更丰富, 实验时应考虑这些差别^[8]。近年来, 小型猪因具有呼吸性细支气管, 易感染呼吸道相关疾病等优势, 逐渐被应用, 成为研究 COPD 外科治疗的较理想模型。

2 构建 COPD 模型的常用方法

2.1 烟熏模型 吸烟是 COPD 的主要诱因, 烟熏模型可以准确反映疾病的病理生理特征, 因此被广泛应用^[9]。

根据产生方式不同, 可将烟雾分为主流烟雾和侧流烟雾。这两种烟雾成分相同, 但相对浓度不同, 这种差异是否会影响细胞反应及 COPD 病情发展, 目前尚无定论。烟熏过程中常用的暴露方法是全身暴露和鼻暴露; 其中鼻暴露减少了动物通过皮毛摄入尼古丁等化学药剂的可能, 同时因呼吸的不连续性产生间断烟雾暴露模式, 更加接近人类吸烟者的实际情况。两种暴露方法均能诱导出 COPD

模型, 但鼻暴露系统可产生更多明显的表型, 能更加清晰地判断治疗干预效果^[10]。实验中香烟用量没有特定标准, 不同实验差异较大, 烟雾暴露时间为 8~36 周, 总体来说, 长期暴露 (>6 个月) 均可获得良好效果^[10]。有些研究将烟雾暴露频率设为每周 3~5 d, 这不足以模仿日常吸烟量^[11]。Kozma 等^[12]将大鼠暴露于 12 根香烟产生的烟雾中, 每天 3 次, 每次 1 h, 持续 30 周, 发现烟熏鼠的肺泡平均截距较对照组高 25%, 肺功能恶化。Beckett 等^[13]采用鼻暴露方法, 按每周 5 d、每天 2 次的频率将小鼠暴露于 12 根香烟产生的烟雾中, 每次持续 75 min, 8 周后小鼠出现黏液分泌亢进、气道重塑、肺气肿和肺功能下降。有研究表明, 当烟雾暴露停止后人类 COPD 病情会继续进展, 而模型动物病情趋于稳定^[14]。但曹君等^[15]烟熏小鼠 3 个月, 随后停止, 发现其肺组织出现肺气肿, 且病变仍呈进行性发展。

烟熏结合病毒或细菌感染可诱导 COPD 急性加重模型。用未分化流血嗜血杆菌感染烟熏 8 周及未经烟熏的 C57BL/6 小鼠, 发现烟熏小鼠的炎症反应和肺泡破坏更为严重^[16]。

烟熏模型仍存在以下不足: (1) 标准化问题, 不同实验中香烟种类、数量、烟熏频率、总时间等不同, 研究间的比较相对困难, 实验可重复性不佳; (2) 模型建立耗时较长, 造价高且低效。因此越来越多的学者转而探索应用其他造模方法。

2.2 蛋白酶模型 蛋白酶-抗蛋白酶失衡学说是 COPD 发病机制的经典学说。当蛋白酶和抗蛋白酶的正常平衡状态被打破, 如吸烟致蛋白酶大量释放时, 会导致细胞外基质破坏增加, 进而产生肺气肿。基于此学说, 猪胰弹性蛋白酶、人类中性粒细胞弹性蛋白酶、木瓜蛋白酶, 及丝氨酸/半胱氨酸蛋白酶等弹性蛋白酶均被用于 COPD 模型的建立, 其中应用最广泛的是猪胰弹性蛋白酶。蛋白酶诱导 COPD 还存在炎症反应等机制, 并非单一机制作用^[17]。其给药途径有气管内滴入、雾化吸入、静脉注射等多种方式, 诱导出的模型除肺部病变, 还会出现体质量下降、肌肉萎缩、全身炎症等多系统异常, 这与 COPD 患者表现一致^[18]。与烟熏模型多诱导小叶中央型肺气肿不同, 气管滴注蛋白酶多产生全小叶型肺气肿。这两种类型发病与基因有关, 两种模型在 COPD 的研究中均有重要作用,

因此蛋白酶模型弥补了烟熏模型的局限。以往研究表明,弹性蛋白酶诱导啮齿类动物出现 COPD 病理改变需 21~45 d^[18],明显短于烟熏模型所需时间。除有效缩短造模时间、成本低等优势外,反复给予弹性蛋白酶会诱发更严重的肺气肿表现,提示 COPD 严重程度与蛋白酶剂量有关,可通过这种方法模拟严重 COPD^[17]。有研究将单剂量弹性蛋白酶与鼻病毒结合,诱导的模型成功复制淋巴细胞、炎性细胞因子增多、肺顺应性下降等人类 COPD 急性加重期的炎症及病理特征^[19]。同种动物不同品系对蛋白酶的敏感性不同,就小鼠而言,BALB/cJ 小鼠较 C57BL/6J 小鼠更易被弹性蛋白酶诱导出 COPD^[20]。蛋白酶模型也存在缺陷,如雾化吸入法诱导的均一肺气肿无法完全复制人类肺气肿的肺动力学改变;气管滴注法需切开气管,创伤大、易感染。

2.3 脂多糖模型 脂多糖即内毒素,是细菌细胞壁的组成成分,也存在于香烟烟雾及空气污染颗粒中,可刺激中性粒细胞等炎性细胞产生并释放一系列炎性介质,介导呼吸系统炎性反应,从而打破蛋白酶-抗蛋白酶系统平衡,导致肺气肿形成。脂多糖诱导 COPD 模型多采用气管内滴注及鼻内滴注的方法,以反复滴注的方式模拟反复感染,发现模型肺内白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-8 及 TGF- β 1 等炎性介质水平升高,中性粒细胞、杯状细胞数量增多,支气管上皮细胞脱落,产生黏液高分泌状态,以及气道纤维化等典型 COPD 病理改变,还出现右心室肥厚,提示肺动脉高压形成^[21]。脂多糖可单独^[22]或与烟熏联合^[21]诱导 COPD 模型。当其单独大剂量使用时会发生炎性反应,体温升高、黏液高分泌及支气管狭窄,并在 CT 影像上观察到急性加重期表现^[23]。脂多糖模型造模时间较短,但只能观察到 COPD 部分病理改变,提示其作用机制与人 COPD 产生机制有差别。

2.4 基因相关模型 基因相关模型可帮助研究特定基因在 COPD 发病中的作用。最初发现多种品系的天然基因突变小鼠(如 Tight Skin、Beige、Pallid 等品系)会出现自发性肺气肿,其主要原因为抗蛋白酶表达下调或肺生长发育关键基因失衡,导致肺结构功能异常。1992 年转基因技术就已经用于 COPD 的研究,发现表达人基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)1 的小鼠肺部出现 COPD 样表现^[24],但结果未排除肺本身

发育的影响。为弥补这一不足,构建出 *IL-13* 过表达的转基因小鼠,这种小鼠只有在接触四环素时 *IL-13* 才会过表达,刺激 MMPs、组织蛋白酶生成,抑制 α 1 抗胰蛋白酶,导致肺气肿。因此可人为控制肺气肿在肺完全发育成熟时发病^[25]。基因相关模型也可与烟熏模型等结合,探究易感基因及其作用机制。有研究构建出家族序列相似性 13a (*Fam13a*) 基因缺乏 (*Fam13a*^{-/-}) 小鼠并将其暴露于香烟烟雾,比较其与 *Fam13a*^{+/+} 小鼠的肺部炎症、气道大小,发现 *Fam13a*^{-/-} 小鼠对烟熏诱导的肺气肿有抵抗能力,并证实与 *Fam13a* 抑制 β -链蛋白作用有关,提示 *Fam13a* 为 COPD 易感基因^[26]。另有研究将胎盘生长因子基因缺失小鼠与蛋白酶诱导 COPD 的方法结合,发现此基因缺失的个体更不易患有 COPD^[27]。制作基因模型时,为排除物种间差异的影响,可先将动物相关基因敲除,再将人类相应基因插入,这种方法已较早被应用。模型动物在生长发育过程中可能因基因缺陷加速衰老,导致肺泡扩大,形成肺气肿。此外,特定基因过度表达产生的无关蛋白会对药物剂量产生影响,实验时应考虑这些因素。

2.5 免疫模型 严重 COPD 的肺部炎症在吸烟停止后仍会持续数年,涉及 Th1 细胞、B 淋巴细胞、CD8⁺ 淋巴细胞等。这一过程提示 COPD 病程中的免疫反应可能为自身免疫。随后的研究证实自身免疫与 COPD 严重程度相关^[28]。免疫模型可帮助研究者探索免疫在 COPD 发生和发展中的作用,并据此寻求新的治疗方法。Taraseviciene-Stewart 等^[29]成功构建免疫大鼠模型,证实体液免疫和 CD4⁺ T 细胞介导的免疫反应可诱导出 COPD 并可能破坏肺泡隔细胞,推动 COPD 的发展。目前研究多采用腹腔内注射异种内皮细胞的方法构建 COPD 自身免疫模型,已发现 MMP-9 在此过程中起重要作用^[30]。有研究将免疫方法与烟熏结合,发现烟熏可诱导小鼠产生主动免疫,其增殖活化的致病性 T 细胞又可使未经烟熏的小鼠出现蛋白酶表达上调、肺泡上皮细胞凋亡、肺气肿等 COPD 样改变^[31]。免疫模型的制作耗时短,但其作用机制尚不完全清楚。

3 COPD 合并症模型

COPD 是一个多系统病变,其合并症(恶病

质、心血管病变、骨质疏松等)可严重影响患者生活质量,增加病死率,现已受到越来越多的重视。

COPD 患者中约 25% 发展为恶病质,导致患者平均生存时间减少 50%。恶病质早期即可出现肌肉功能损害,且严重骨骼肌萎缩有死亡风险,因此目前关于 COPD 合并恶病质的动物实验多集中于骨骼肌。小鼠烟熏 3 个月后即出现肌肉弹力下降,6 个月后肌纤维组成明显改变^[32]。烟熏还可导致小鼠骨强度降低,使破骨细胞及成骨细胞发生形态及功能上的变化。此外,制作烟熏模型时发现小鼠心脏体积、质量增加,心室扩大,收缩功能降低,心肌纤维化^[14]。这些研究表明,烟熏模型可模拟 COPD 相关心血管疾病及骨质疏松,为进一步揭示 COPD 机制、探寻有效治疗方法提供了途径。

4 COPD 动物模型评价

理想的 COPD 动物模型应满足以下特点:

(1) 致病诱因及发病机制与人相似;(2) 存在以持续不可逆的气流受限为特征的肺功能改变;(3) 存在慢性支气管炎、肺气肿、小气道重塑、肺动脉高压等病理改变。需要对模型的肺功能、病理改变等进行评估,在评价其标准性的同时探究发病机制及评价治疗干预的效果。

COPD 动物模型可通过肺功能测定、支气管肺泡灌洗、免疫组化及影像学方法等进行评价。肺功能测定分为无创测定(包括脉冲振荡肺功能法及体描法)和有创测定。无创测定优势在于可重复且测量结果符合生理情况,而有创测定可直接测量相关指标,故更精确。评估气道炎症情况可通过计算支气管肺泡灌洗液中白细胞数量及比例的方法,或者采用流式细胞术分析支气管肺泡灌洗液及肺组织细胞悬液。还可同时行免疫组化检查,探究免疫因素的影响。判断组织重塑情况需通过测定细胞外基质降解产物结合组织学技术,如马松三色染色,评估气道及肺实质胶原沉积程度^[14]。啮齿类动物模型常测定肺泡平均截距和破坏指数,定量分析薄壁组织破坏程度。此外,可应用影像学手段,如 Micro-CT、同步辐射光源,对模型肺部或多系统病变进行定性或定量的评价。Micro-CT 分辨率达到微米级别,可无创、清晰地观测样本内部显微结构,展示疾病动态过程。已有多项研究使用 Micro-CT 评估肺损伤进展,并证实了其可行性^[33-34]。Sasaki 等^[35]首

次将 Micro-CT 用于描述烟熏肺气肿模型的动态变化,得到与组织学一致的结果。此外, Micro-CT 是定量分析骨组织 3D 形态学改变的金标准,能准确评估 COPD 小鼠模型的骨密度、体积及骨小梁形态变化^[36]。同步辐射光源作为一种新型强光源,在空间及时间分辨上均有很大优势,在其基础上应用衍射增强成像方法可对早期肺气肿进行评估,发现微观结构改变^[37]。

5 展望

目前对 COPD 发生和发展的机制认识不清,需要建立动物模型探寻疾病进展过程中的影响因素,发现新的生物标志物,确定新的治疗靶点以及检测新的治疗方法。短程动物模型的应用有利于寻找生物标志物,可与蛋白质组学、全基因组序列相结合^[38]。此外,动物模型能帮助认识 COPD 的发病机制,发现新的治疗靶点。同时,动物模型的成果转化方法日渐成熟^[39],模型应用前景也更加可观。通过动物模型研发的有效药物,如炎性介质阻滞剂、磷酸二酯酶阻滞剂、激酶阻滞剂等,已进入临床试验阶段。

在众多 COPD 动物模型中烟熏小鼠最常用,目前已成功构建出可全面模拟人 COPD 主要特点的小鼠模型^[40]。COPD 动物模型被广泛应用,但因动物和人的呼吸生理过程存在差异,如小鼠的支气管树分叉较少,模型不能完全模拟人类真实情况。同时诱导模型的方法也存在缺陷,如烟熏模型的方法参数不统一,故动物模型的构建还需进一步完善。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Burden of COPD[EB/OL]. [2017-09-02]. <http://www.who.int/respiratory/copd/burden/en>.
- [2] World Health Organization. The top 10 causes of death: fact sheet[EB/OL]. (2017-01)[2017-12-10]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>.
- [3] DOMÍNGUEZ-FANDOS D, PEINADO V I, PUIGPEY R, FERRER E, MUSRI M M, RAMÍREZ J, et al. Pulmonary inflammatory reaction and structural changes induced by cigarette smoke exposure in the Guinea pig[J]. COPD, 2012, 9: 473-484.
- [4] KRATZER A, SALYS J, NOLD-PETRY C, COOL C, ZAMORA M, BOWLER R, et al. Role of IL-18 in second-hand smoke-induced emphysema[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 48: 725-732.

- [5] WANG L, YANG J, GUO L, UYEMINAMI D, DONG H, HAMMOCK B D, et al. Use of a soluble epoxide hydrolase inhibitor in smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 46: 614-622.
- [6] POLVERINO F, DOYLE-EISELE M, McDONALD J, WILDER J A, ROYER C, LAUCHO-CONTRERAS M, et al. A novel nonhuman primate model of cigarette smoke-induced airway disease[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185: 741-755.
- [7] VAN DER VELDEN J, SNIBSON K J. Airway disease: the use of large animal models for drug discovery[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, 24: 525-532.
- [8] RAMÍREZ-ROMERO R, NEVÁREZ-GARZA A M, RODRÍGUEZ-TOVAR L E, WONG-GONZÁLEZ A, LEDEZMA-TORRES R A, HERNÁNDEZ-VIDAL G. Histopathological analogies in chronic pulmonary lesions between cattle and humans: basis for an alternative animal model[J/OL]. *ScientificWorldJournal*, 2012, 2012: 647403. doi:10.1100/2012/647403.
- [9] STEVENSON C S, BIRRELL M A. Moving towards a new generation of animal models for asthma and COPD with improved clinical relevance[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 130: 93-105.
- [10] WRIGHT J L, COSIO M, CHURG A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295: L1-L15.
- [11] TOLEDO A C, MAGALHAES R M, HIZUME D C, VIEIRA R P, BISELLI P J, MORIYA H T, et al. Aerobic exercise attenuates pulmonary injury induced by exposure to cigarette smoke[J]. *Eur Respir J*, 2012, 39: 254-264.
- [12] KOZMA R D E, ALVES E M, BARBOSA-DE-OLIVEIRA V A, LOPES F D, GUARDIA R C, BUZO H V, et al. A new experimental model of cigarette smoke-induced emphysema in Wistar rats[J]. *J Bras Pneumol*, 2014, 40: 46-54.
- [13] BECKETT E L, STEVENS R L, JARNICKI A G, KIM R Y, HANISH I, HANSBRO N G, et al. A new short-term mouse model of chronic obstructive pulmonary disease identifies a role for mast cell tryptase in pathogenesis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131: 752-762.
- [14] GASCHLER G J, BAUER C M, ZAVITZ C C, STÄMPFLI M R. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations[J]. *Contrib Microbiol*, 2007, 14: 126-141.
- [15] 曹君,陈平,杨悦,欧阳若芸,彭红. 烟雾暴露所致肺气肿小鼠模型的建立与评价[J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18: 278-282.
- [16] GASCHLER G J, ZAVITZ C C, BAUER C M, STÄMPFLI M R. Mechanisms of clearance of nontypeable *Haemophilus influenzae* from cigarette smoke-exposed mouse lungs[J]. *Eur Respir J*, 2010, 36: 1131-1142.
- [17] GAMZE K, MEHMET H M, DEVECI F, TURGUT T, IIHAN F, OZERCAN I. Effect of bosontan on the production of proinflammatory cytokines in a rat model of emphysema[J]. *Exp Mol Med*, 2007, 39: 614-620.
- [18] LÜTHJE L, RAUPACH T, MICHELS H, UNSÖLD B, HASENFUSS G, KÖGLER H, et al. Exercise intolerance and systemic manifestations of pulmonary emphysema in a mouse model[J]. *Respir Res*, 2009, 10: 7.
- [19] SINGANAYAGAM A, GLANVILLE N, WALTON R P, ANISCENKO J, PEARSON R M, PINKERTON J W, et al. A short-term mouse model that reproduces the immunopathological features of rhinovirus-induced exacerbation of COPD[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129: 245-258.
- [20] LIMJUNYAWONG N, CRAIG J M, LAGASSÉ H A, SCOTT A L, MITZNER W. Experimental progressive emphysema in BALB/cJ mice as a model for chronic alveolar destruction in humans[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309: L662-L676.
- [21] 曹淑花,玄玲玲,王冬梅,谢建林,姜仁涛,白金叶,等. 腺苷衍生物 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: 986-992.
- [22] KAO S T, LIU C J, YEH C C. 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.
- [23] KOBAYASHI S, FUJINAWA R, OTA F, KOBAYASHI S, ANGATA T, UENO M, et al. A single dose of lipopolysaccharide into mice with emphysema mimics human chronic obstructive pulmonary disease exacerbation as assessed by micro-computed tomography[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 49: 971-977.
- [24] D' ARMIENTO J, DALAL S S, OKADA Y, BERG R A, CHADA K. Collagenase expression in the lungs of transgenic mice causes pulmonary emphysema[J]. *Cell*, 1992, 71: 955-961.
- [25] ELIAS J A, KANG M J, CROTHERS K, HOMER R, LEE C G. State of the art. Mechanistic heterogeneity in chronic obstructive pulmonary disease: insights from transgenic mice[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3: 494-498.
- [26] JIANG Z, LAO T, QIU W, POLVERINO F, GUPTA K, GUO F, et al. A chronic obstructive pulmonary disease susceptibility gene, *FAM13A*, regulates protein stability of β -catenin[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194: 185-197.
- [27] CHENG S L, WANG H C, YU C J, TSAO P N, CARMELIET P, CHENG S J, et al. Prevention of

- elastase-induced emphysema in placenta growth factor knock-out mice[J]. *Respir Res*, 2009, 10: 218-225.
- [28] KHERADMAND F, SHAN M, XU C, CORRY D B. Autoimmunity in chronic obstructive pulmonary disease: clinical and experimental evidence[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2012, 8: 285-292.
- [29] TARASEVICIENE-STEWART L, SCERBAVICIUS R, CHOE K H, MOORE M, SULLIVAN A, NICOLLS M R, et al. An animal model of autoimmune emphysema[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171: 734-742.
- [30] ZHANG C, YAN M Y, LU P, CHEN P, YANG M, YE X W, et al. Hypomethylation of perforin regulatory elements in CD4⁺ T cells from rat spleens contributes to the development of autoimmune emphysema[J]. *Respirology*, 2014, 19: 376-381.
- [31] EPPERT B L, WORTHAM B W, FLURY J L, BORCHERS M T. Functional characterization of T cell populations in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Immunol*, 2013, 190: 1331-1340.
- [32] RINALDI M, MAES K, DE VLEESCHAUWER S, THOMAS D, VERBEKEN E K, DECRAMER M, et al. Long-term nose-only cigarette smoke exposure induces emphysema and mild skeletal muscle dysfunction in mice[J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5: 333-341.
- [33] CHEN Y J, CHEN C M, WANG C, CHOU H C. Microcomputed tomography assessment of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rat[J]. *Exp Lung Res*, 2016, 42: 103-109.
- [34] VAN DE VELDE G, POELMANS J, DE LANGHE E, HILLEN A, VAN OIRBEEK J, HIMMELREICH U, 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: 91-98.
- [35] SASAKI M, CHUBACHI S, KAMEYAMA N, SATO M, HARAGUCHI M, MIYAZAKI M, et al. Evaluation of cigarette smoke-induced emphysema in mice using quantitative micro-computed tomography[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308: L1039-L1045.
- [36] DUSAD A, THIELE G M, KLASSEN L W, GLEASON A M, BAUER C, MIKULS T R, et al. Organic dust, lipopolysaccharide, and peptidoglycan inhalant exposures result in bone loss/disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49: 829-836.
- [37] DONG L, LI J, JIAN W, ZHANG L, WU M, SHI H, et al. Emphysema early diagnosis using X-ray diffraction enhanced imaging at synchrotron light source[J/OL]. *Biomed Eng Online*, 2014, 13: 82. doi: 10.1186/1475-925X-13-82.
- [38] ZHANG S, XU N, NIE J, DONG L, LI J, TONG J. Proteomic alteration in lung tissue of rats exposed to cigarette smoke[J]. *Toxicol Lett*, 2008, 178: 191-196.
- [39] BUHL R, MALTAIS F, ABRAHAMS R, BJERMER L, DEROM E, FERGUSON G, et al. Tiotropium and olodaterol fixed-dose combination versus mono-components in COPD (GOLD 2-4)[J]. *Eur Respir J*, 2015, 45: 969-979.
- [40] HAW T J, STARKEY M R, NAIR P M, PAVLIDIS S, LIU G, NGUYEN D H, et al. A pathogenic role for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9: 859-872.

[本文编辑] 商素芳