

## · 基础论著 ·

## 气管滴注法与雾化吸入法建立小鼠急性肺损伤模型及其效果比较

苑少欣 孔雅娴 李蕊 刘三海 朱安妮 乔艳雪 张剑平

**【摘要】目的** 比较脂多糖(LPS)气管滴注法与雾化吸入法建立的小鼠急性肺损伤(ALI)模型,确立更为有效的小鼠肺损伤建模方法。**方法** 20只健康雄性C57BL/6小鼠随机分为生理盐水(NS)气管滴注组、NS雾化吸入组、LPS气管滴注组和LPS雾化吸入组。分别采用气管滴注法和雾化吸入法建立肺损伤模型,5h后进行小鼠肺湿重/干重(W/D)比值测定、支气管肺泡灌洗液(BALF)蛋白含量测定、细胞分类计数及炎症细胞因子检测。**结果** 与对照组相比,LPS气管滴注组和LPS雾化吸入组小鼠肺W/D比值,BALF中总蛋白浓度,TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1和IL-1 $\beta$ 等多项炎症细胞因子以及中性粒细胞数目均显著升高( $P$ 均 $< 0.05$ );NS气管滴注组较NS雾化吸入组炎症背景高;LPS气管滴注组较LPS雾化吸入组各项肺部炎症指标组内差异大。**结论** 雾化吸入方法对于建立小鼠ALI模型更有效。

**【关键词】** 脂多糖;气管滴注法;雾化吸入法;急性肺损伤

**Establishment and effectiveness comparison of mouse models of acute lung injury by intratracheal instillation and aerosol inhalation** YUAN Shaoxin\*, KONG Yaxian, LI Rui, LIU Sanhai, ZHU Anni, QIAO Yanxue, ZHANG Jianping. \*Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; \*Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Beijing 100015, China

Corresponding author: ZHANG Jianping, Email: zhjp2358@126.com

**【Abstract】 Objective** To compare the mouse models of acute lung injury (ALI) established by intratracheal instillation (IT) and aerosol inhalation (IH) of lipopolysaccharide (LPS), and to investigate which method was more effective. **Methods** Twenty male mice were randomly divided into normal saline (NS)-IT group, NS-IH group, LPS-IT group and LPS-IH group. The mice of LPS-IT and LPS-IH groups were exposed to LPS via intratracheal instillation and aerosol inhalation, respectively. The analysis of lung wet/dry weight (W/D) ratio, total protein concentration of bronchoalveolar lavage fluid (BALF), inflammatory cytokines in BALF and multiple cell countings in BALF were performed 5 h after exposed. **Results** The lung W/D ratio, total protein concentration of BALF, inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 and IL-1 $\beta$  in BALF, and the amount of neutrophils in BALF were significantly increased in the LPS-IT and LPS-IH groups compared with the NS-IT and NS-IH groups ( $P$  all  $< 0.05$ ). Compared with the intratracheal instillation method, the aerosol inhalation method appeared to have lower background inflammation in the controls and less inter-animal variability. **Conclusion** The aerosol inhalation is proved to be more effective to establish the mouse model of ALI.

**【Key words】** Lipopolysaccharide; Intratracheal instillation; Aerosol inhalation; Acute lung injury

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.02.003

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 81071587)

作者单位: 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所(苑少欣、孔雅娴、李蕊、张剑平); 新发突发传染病研究北京市重点实验室(苑少欣、孔雅娴、李蕊、张剑平); 北京中医药大学基础医学院(刘三海、朱安妮、乔艳雪)

通讯作者: 张剑平, Email: zhjp2358@126.com

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) / 急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是指由心源性以外的各种肺内外致病因素导致的急性、进行性缺氧性呼吸衰竭。ALI 和 ARDS 具有性质相同但程度不同的病理和生理改变, 主要表现为由多种炎性细胞 (巨噬细胞、中性粒细胞和淋巴细胞等) 介导的肺部局部炎症反应和炎症反应失控所致的肺毛细血管膜损伤。严重的 ALI 或 ALI 的最终严重阶段为 ARDS, 病死率高达 50% 以上<sup>[1-4]</sup>, 一直是危重症医学关注的焦点之一。由于 ALI 发病诱因及疾病过程复杂, 发病机制迄今尚未明确, 因此, 建立有效的动物模型对其发病机制具有重要意义<sup>[5-6]</sup>。

脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是导致 ALI 的重要因素<sup>[7]</sup>, 由于气管滴注操作简单和方便, 气管滴注 LPS 被广泛应用于制作多种肺损伤动物模型<sup>[8-13]</sup>。依据操作时是否暴露气管, 分为非暴露式和暴露式气管滴注法<sup>[14]</sup>。目前实验室中广泛采用更加有效的暴露式气管滴注方法。但此种方法为有创操作, 产生的肺部炎症比较局限于滴注点附近, 并不能模拟真实的感染过程<sup>[15]</sup>。雾化吸入法模拟患者暴露于环境中发生感染的自然途径<sup>[18]</sup>, 能够弥补气管滴注法的不足, 更好地控制到达各肺叶内 LPS 的有效浓度<sup>[12, 16-17]</sup>。但迄今为止, 对于 LPS 气管滴注和雾化吸入两种方法的造模效果尚缺乏客观、系统的评价。

本研究拟分别采用 LPS 气管滴注法和 LPS 雾化吸入法建立小鼠 ALI 模型, 对两种方法造模的效果进行评价, 为进一步研究 ALI 发病机制选择更为稳定有效的动物模型。

## 材料和方法

### 一、实验动物

本研究采用 SPF 级 6 ~ 8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠 20 只, 体重 20 ~ 23 g, 购于中国医学科学院动物所。动物许可证号为: SCXK 京 2009-0007。

### 二、主要试剂和设备

LPS (*B.E. coli* 0111:B4) 和戊巴比妥钠 (生理盐水配制 0.4% 浓度) 购自美国 Sigma 公司; 抗-F4/80-FITC、抗-CD48-APC 和抗-Gr-1-Percp 荧光抗体均购自美国 eBioscience 公司; 抗-CD45-APC-Cy7、抗-CD11b-PE-CF594 和抗-CD11c-PE 荧光抗体, 小鼠 CBA (Cytometric Beads Array) 试剂盒和小鼠 IL-1 $\beta$  ELISA 检测试剂盒, 绝对细胞计数管

(TruCount Tube) 均购自美国 BD Bioscience 公司; BCA (bicinchoninic acid) 蛋白定量试剂盒购自美国 Bender 公司; 自动雾化吸入装置 (用 403C 压缩空气式雾化器改装而成) 购自江苏鱼跃医疗设备股份有限公司。

### 三、实验方法

1. 实验分组及模型制备: 20 只健康雄性 C57/BL6 小鼠随机分为生理盐水 (normal saline, NS) 气管滴注组 (NS-IT)、NS 雾化吸入组 (NS-IH)、LPS 气管滴注组 (LPS-IT) 和 LPS 雾化吸入组 (LPS-IH), 每组 5 只, 重复 3 次。以 LPS 作为刺激物 (对照组采用 NS), 分别采用暴露式气管滴注法和雾化吸入法建立 ALI 模型。各组于造模 5 h 后收集样本。

(1) 暴露式 LPS 气管滴注法建立小鼠 ALI 模型: 小鼠腹腔注射 100 ml 戊巴比妥钠 (0.4%), 麻醉生效后进行气管滴注: 将小鼠仰卧固定于操作台上, 正中切开颈前皮肤, 钝性分离皮下组织, 暴露气管。采用静脉套管代替气管导管, 实验组气管内滴注 LPS 0.5 mg/kg (用 NS 配制, LPS 浓度为 100 mg/ml), 对照组气管内滴注等体积 NS (5 ml/kg), 滴注后立即将动物直立并旋转, 使药物均匀分布于两肺。

(2) LPS 雾化吸入法建立小鼠 ALI 模型: 自动雾化吸入装置启动后, 空气压缩机将压缩后的空气送到装有 LPS 浓度为 2.5 mg/ml 的塑料管中, 使 LPS 成为雾状液体, 进一步被雾化器送入装有小鼠的密闭盒中, 持续雾化 30 min。对照组雾化吸入相同时间的 NS。

2. 小鼠肺叶及支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 的获得: 造模 5 h 后给予小鼠腹腔注射 100 ml 戊巴比妥钠 (0.4%), 开胸, 结扎小鼠左主支气管, 取左肺。颈部分离气管进行插管后, 用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer solution, PBS) 灌洗右肺 3 次, 1 ml/次, 回收率大于 80%。将回收的 BALF 离心后分别获得上清及细胞。

3. 小鼠多项肺部炎性指标的检测: (1) 小鼠肺湿重/干重 (W/D) 比值测定: 完整获取小鼠左肺后, 称湿重 (W), 然后将肺组织置于 95 °C 恒温箱中干燥, 10 h 后取出称干重 (D), 计算 W/D 比值。

(2) BALF 上清总蛋白浓度检测: 按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明书进行操作, 检测 BALF 上清中总蛋白浓度。

(3) BALF 上清炎性细胞因子检测: 应用小鼠

CBA 试剂盒和小鼠 IL-1 $\beta$  ELISA 检测试剂盒, 按试剂盒说明书进行操作, 检测 BALF 上清炎性细胞因子, 包括 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1 和 IL-1 $\beta$  等。

(4) BALF 细胞分类及计数: 对 BALF 离心后获得的细胞进行混合流式抗体 (CD45/CD11b/F4/80/Gr-1/CD48) 避光染色 15 min。用 2 ml PBS 重悬 BD 绝对计数管, 其内含有已知数目的荧光微球。充分混匀后于每个样本管内加入 200 ml 重悬液体, 应用 FACS Aria II 流式细胞分选仪 (BD Bioscience 公司) 对 BALF 中各群细胞及荧光微球进行检测。获得各群细胞包括所有有核细胞 (CD45<sup>+</sup>)、多形核中性粒细胞 (CD45<sup>+</sup>CD11b<sup>high</sup>Gr-1<sup>high</sup>)、单核细胞 (CD45<sup>+</sup>CD11b<sup>high</sup>CD48<sup>high</sup>) 和巨噬细胞 (CD45<sup>+</sup>F4/80<sup>high</sup>) 及荧光微球百分比, 利用下面公式计算出 BALF 中各群细胞绝对数目:

BALF 中各群细胞绝对数目 =

$$\frac{\text{各群细胞百分比}}{\text{荧光微球百分比}} \times \frac{\text{荧光微球总数目}}{10}$$

#### 四、统计学处理

采用 GraphPad Prism V 5.01 软件系统对数据进行统计分析, 每两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

#### 一、肺湿重/干重 (W/D) 比值测定

肺 W/D 比值用来评估肺水肿的严重程度。LPS 气管滴注组和 LPS 雾化吸入组肺 W/D 比值均较相应对照组显著升高 ( $P < 0.05$ ), 提示两种造模方法均造成不同程度肺水肿。同 NS 雾化吸入组相比,

NS 气管滴注组 W/D 比值显著升高 ( $P < 0.05$ ), 表明气管滴注操作本身即可诱发肺水肿。LPS 气管滴注组肺 W/D 比值的变异系数显著大于 LPS 雾化吸入组: 前者变异系数  $CV_a = 0.0776$ , 后者变异系数  $CV_b = 0.0187$ ,  $CV_a > CV_b$ , 表明气管滴注法产生的组内差异显著高于雾化吸入法, 见图 1。

#### 二、BALF 中总蛋白浓度的测定

BALF 中总蛋白浓度变化反映了肺部血气屏障的完整性。LPS 气管滴注组 BALF 中总蛋白浓度较 NS 气管滴注组略有升高, 但差异无统计学意义; LPS 雾化吸入组 BALF 中总蛋白浓度较 NS 雾化吸入组显著升高 ( $P < 0.001$ ), 提示两种方法均不同程度破坏肺部血气屏障, 导致通透性增加。NS 气管滴注组 BALF 中总蛋白浓度较 NS 雾化吸入组显著升高 ( $P < 0.05$ ), 表明气管滴注操作本身可能引发上皮细胞损伤, 导致肺血气屏障破坏。LPS 气管滴注组 BALF 中总蛋白浓度的变异系数显著大于 LPS 雾化吸入组: 前者变异系数  $CV_c = 0.7240$ , 后者变异系数  $CV_d = 0.0497$ ,  $CV_c > CV_b$ , 表明气管滴注法产生的组内差异显著高于雾化吸入法, 见图 2。

#### 三、BALF 中炎性细胞因子检测

BALF 中炎性细胞因子的浓度直接反映肺泡腔内炎症反应的程度。LPS 气管滴注组和 LPS 雾化吸入组 BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1 和 IL-1 $\beta$  等多种炎性细胞因子均较相应对照组显著升高 ( $P$  均  $< 0.05$ ), 表明两种造模方法均有效激活天然免疫应答, 分泌大量炎性细胞因子。LPS 气管滴注组 BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1 和 IL-1 $\beta$  等多项炎性细胞因子的变异系数均显著大于 LPS 雾化吸入组, 表明气管滴注法产生的组内差异显著高于雾化吸入法, 见图 3 和表 1。

表 1 两种造模方法 BALF 中炎性细胞因子含量的变异系数比较 (%)

| 组别        | TNF- $\alpha$ | IL-6  | MCP-1 | IL-1 $\beta$ |
|-----------|---------------|-------|-------|--------------|
| LPS 气管滴注组 | 54.38         | 66.52 | 62.77 | 62.46        |
| LPS 雾化吸入组 | 7.19          | 13.80 | 9.77  | 7.29         |

表 2 BALF 中细胞分类计数 ( $\times 10^5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

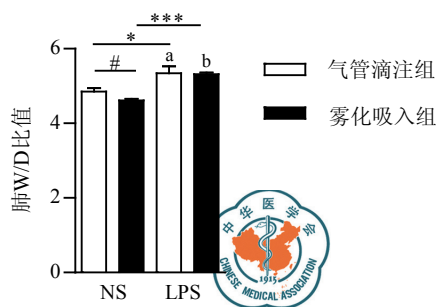
| 组别        | 有核细胞                           | 中性粒细胞                          | 单核细胞                            | 巨噬细胞                           |
|-----------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| NS 气管滴注组  | 1.788 $\pm$ 1.433              | 0.892 $\pm$ 0.717              | 0.016 $\pm$ 0.013               | 0.768 $\pm$ 0.618              |
| NS 雾化吸入组  | 1.444 $\pm$ 0.028              | 0.001 $\pm$ 0.000 <sup>a</sup> | 0.012 $\pm$ 0.001               | 1.381 $\pm$ 0.038              |
| LPS 气管滴注组 | 4.000 $\pm$ 4.351 <sup>b</sup> | 3.608 $\pm$ 3.939 <sup>c</sup> | 0.010 $\pm$ 0.011               | 0.209 $\pm$ 0.227              |
| LPS 雾化吸入组 | 7.589 $\pm$ 0.283 <sup>d</sup> | 6.887 $\pm$ 0.254 <sup>e</sup> | 0.018 $\pm$ 0.0007 <sup>f</sup> | 0.381 $\pm$ 0.014 <sup>g</sup> |

注: 同 NS 气管滴注组相比, <sup>a</sup>:  $t = 2.778$ ,  $P = 0.0240$ , <sup>b</sup>:  $t = 1.080$ ,  $P = 0.3118$ , <sup>c</sup>:  $t = 1.157$ ,  $P = 0.1678$ ; 同 NS 雾化吸入组相比, <sup>d</sup>:  $t = 48.38$ ,  $P < 0.0001$ , <sup>e</sup>:  $t = 60.50$ ,  $P < 0.0001$ , <sup>f</sup>:  $t = 9.190$ ,  $P < 0.0001$ , <sup>g</sup>:  $t = 55.65$ ,  $P < 0.0001$

表 3 BALF 中各群细胞数目的变异系数比较 (%)

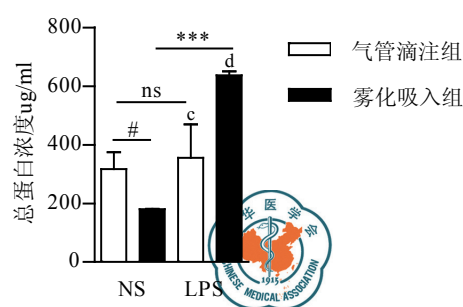
| 组别        | 有核细胞   | 中性粒细胞  | 单核细胞   | 巨噬细胞   |
|-----------|--------|--------|--------|--------|
| NS 气管滴注组  | 80.11  | 80.44  | 80.88  | 80.45  |
| NS 雾化吸入组  | 1.96   | 5.49   | 11.80  | 2.73   |
| LPS 气管滴注组 | 108.80 | 109.20 | 111.70 | 108.60 |
| LPS 雾化吸入组 | 3.72   | 3.69   | 3.85   | 3.61   |





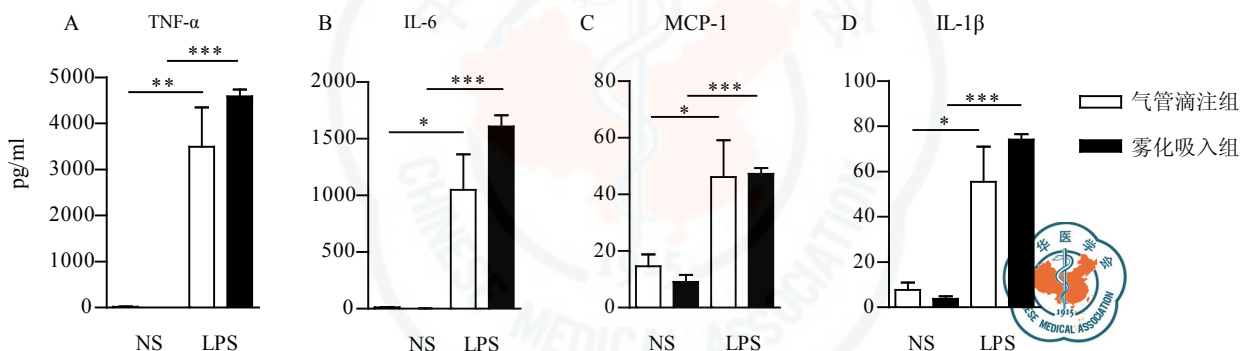
注: \*: LPS 组与相应 NS 对照组相比差异具有统计学意义; #: 两 NS 组间差异具有统计学意义; <sup>a</sup> 和 <sup>b</sup> 分别代表所对应 LPS 组数值的变异系数。\*:  $t = 2.386$ ,  $P = 0.0442$ , \*\*\*:  $t = 10.80$ ,  $P < 0.0001$ , #:  $t = 2.454$ ,  $P = 0.0397$ , <sup>a</sup>:  $CV = 0.0776$ , <sup>b</sup>:  $CV = 0.0187$

图 1 各组小鼠肺 W/D 比值测定



注: \*: 代表 LPS 组与相应 NS 对照组相比具有统计学差异; ns: 代表 LPS 组与相应 NS 对照组比较差异无统计学; #: 代表两 NS 组间具有统计学差异; <sup>c</sup> 和 <sup>d</sup> 分别代表所对应 LPS 组数值的变异系数。 (ns:  $t = 0.2950$ ,  $P = 0.7755$ , \*\*\*:  $t = 32.12$ ,  $P < 0.0001$ , #:  $t = 2.361$ ,  $P = 0.0459$ , <sup>c</sup>:  $CV = 0.7240$ , <sup>d</sup>:  $CV = 0.0497$ )

图 2 各组小鼠 BALF 中总蛋白浓度测定



注: \*: LPS 组与相应 NS 对照组相比具有统计学差异; A: BALF 中 TNF- $\alpha$  含量 (\*\*:  $t = 4.094$ ,  $P = 0.0035$ , \*\*\*:  $t = 31.06$ ,  $P < 0.0001$ ); B: BALF 中 IL-6 含量 (\*:  $t = 3.323$ ,  $P = 0.0105$ , \*\*\*:  $t = 16.17$ ,  $P < 0.0001$ ); C: BALF 中 MCP-1 含量 (\*:  $t = 2.313$ ,  $P = 0.0495$ , \*\*\*:  $t = 12.07$ ,  $P < 0.0001$ ); D: BALF 中 IL-1 $\beta$  含量 (\*:  $t = 3.020$ ,  $P = 0.0166$ , \*\*\*:  $t = 26.50$ ,  $P < 0.0001$ )

图 3 各组小鼠 BALF 中多种炎症细胞因子测定

#### 四、BALF 中细胞分类计数

BALF 中细胞分类计数用于评价小气道和肺泡腔内炎症细胞浸润的种类和数量。同 NS 气管滴注组相比, LPS 气管滴注组 BALF 中有核细胞总数、中性粒细胞数目均升高; 同 NS 雾化吸入组相比, LPS 雾化吸入组 BALF 中有核细胞总数、中性粒细胞、单核细胞数目均显著升高, 巨噬细胞数目显著降低 ( $P < 0.001$ ), 提示两种方法均可引起炎症细胞向肺部的迁移和募集。

NS 气管滴注组 BALF 中性粒细胞数目显著高于 NS 雾化吸入组 ( $P < 0.05$ ), 表明气管滴注本身即可引发中性粒细胞向肺部迁移和募集; 气管滴注组各项细胞数目的变异系数显著大于雾化吸入组, 表明气管滴注组产生的组内差异显著高于雾化

吸入组, 见表 2 ~ 3。

#### 讨 论

ALI 由于致病因素的多样性和高病死率已经引起人们的普遍关注, 是重症医学的研究热点之一, 但发病机制尚未完全明确<sup>[18-20]</sup>。因此, 建立更为完善的动物模型是阐明其发病机制的前提和重要保证。

LPS 气管滴注法与 LPS 雾化吸入法均为建立小鼠 ALI 模型的有效方法<sup>[11]</sup>。本研究从肺湿重/干重比值、BALF 中总蛋白浓度、促炎细胞因子及炎症细胞分类计数等 4 个方面同时对两种方法的造模效果进行比较。结果表明, 两种方法均导致肺部产生大量炎症细胞因子、趋化因子, 大量炎症细胞在

肺部浸润及肺水肿形成,说明两种造模方法均可以成功建立小鼠ALI模型。然而,NS气管滴注组同NS雾化吸入组相比,以上各项指标均显著升高,提示气管滴注方法本身即可对机体造成刺激,产生较高的炎症背景,尤其是引起大量中性粒细胞向肺部的募集。在此过程中,侵入性有创操作及注入气道内液体的体积等造成的影响是不可忽视的。此外,Smith等<sup>[18]</sup>研究发现,雾化吸入法应用较低的LPS剂量即可产生较高的炎症和较明显的气道上皮化生现象,同样表明气管滴注和雾化吸入两种方法造模效果的不同。

其次,本研究发现,同LPS雾化吸入组相比,LPS气管滴注组以上炎症指标的变异系数较大,组内差异显著。气管滴注法的操作过程复杂、步骤多,因此,小鼠的麻醉状态、气道反应的个体差异、操作的不稳定性等多种原因均可能造成进入气道内的LPS有效剂量不同以及LPS在肺内的分布不均。相比之下,LPS雾化吸入组小鼠处于同一密闭环境中,自然吸入LPS,实验操作过程稳定、人为因素小、无需麻醉或进行有创操作,肺部各项炎症指标组内差异小,模型更加稳定。

综上所述,尽管LPS气管滴注法存在多种优点,雾化吸入法建立的小鼠ALI模型更为稳定,各项炎症指标组内差异小;操作本身对机体无明显刺激,对照组产生炎症背景低,产生的结果更加稳定可靠,并且能够更好地模拟患者ALI发病过程。因此,在拥有完善的雾化吸入设备及实验室防护措施健全的前提下,雾化吸入法是一种更加行之有效的建模方法。

### 参考文献

- 1 Luh SP, Chiang CH. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2007, 8(1): 60-69.
- 2 Goodman RB, Pugin J, Lee JS, et al. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2003, 14(6): 523-535.
- 3 Rubenfeld GD. Epidemiology of acute lung injury[J]. Crit Care Med, 2003, 31(4): S276-S284.
- 4 Goss CH, Brower RG, Hudson LD, et al. Incidence of acute lung injury in the United States[J]. Crit Care Med, 2003, 31(6): 1607-1611.
- 5 Matthay MA, Zimmerman GA, Esmon C, et al. Future research directions in acute lung injury: summary of a National Heart, Lung, and Blood Institute working group[J]. Am J Resp Crit Care Med, 2003, 167(7): 1027-1035.
- 6 Kim HA, Park JH, Lee S, et al. Combined delivery of dexamethasone and plasmid DNA in an animal model of LPS-induced acute lung injury[J]. J Control Release, 2011, 156(1): 60-69.
- 7 冯英凯, 杨庆华, 徐剑铖, 等. 炎症介质与内毒素肺损伤[J]. 国外医学: 呼吸系统分册, 2004, 24(5): 329-331.
- 8 Rocco PRM, Zin WA. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome: are they different?[J]. Curr Opin Crit Care, 2005, 11(1): 10-17.
- 9 Lipka J, Semmler-Behnke M, Sperling RA, et al. Biodistribution of PEG-modified gold nanoparticles following intratracheal instillation and intravenous injection[J]. Biomaterials, 2010, 31(25): 6574-6581.
- 10 Anagnostopoulou P, Dai L, Schatterny J, et al. Allergic airway inflammation induces a pro-secretory epithelial transport phenotype in mice[J]. Eur Respir J, 2010, 36(6): 1436-1447.
- 11 Driscoll KE, Costa DL, Hatch G, et al. Intratracheal instillation as an exposure technique for the evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations[J]. Toxicol Sci, 2000, 55(1): 24-35.
- 12 Liu F, Li W, Pauluhn J, et al. Lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats: comparative assessment of intratracheal instillation and aerosol inhalation[J]. Toxicology, 2013, 304: 158-166.
- 13 Da CA, Nunes FB, Lunardelli A, et al. Treatment with N-methyl-D-aspartate receptor antagonist (MK-801) protects against oxidative stress in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in the rat[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(6): 706-711.
- 14 苗雨丹, 董春玲, 刘玲, 等. 暴露式与非暴露式气管滴注方法建立小鼠急性肺损伤模型及其效果比较[J]. 吉林大学学报(医学版), 2012, 38(3): 414-418.
- 15 Ho W, Furst A. Intratracheal instillation method for mouse lungs[J]. Oncology, 1973, 27(5): 385-393.
- 16 Dorato MA, Wolff RK. Inhalation exposure technology, dosimetry, and regulatory issues[J]. Toxicol Pathol, 1991, 19(4 Pt 1): 373-383.
- 17 Fraser DA, Bales RE, Lippmann M, et al. Exposure chambers for research in animal inhalation: design, construction, operation, and performance[J]. Public health monogr, 1959, 57: 1-54.
- 18 Smith KR, Leonard D, McDonald JD, et al. Inflammation, mucous cell metaplasia, and Bcl-2 expression in response to inhaled lipopolysaccharide aerosol and effect of rolipram[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2011, 253(3): 253-260.
- 19 Chung KF. Cytokines as targets in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Curr Drug Targets, 2006, 7(6): 675-681.
- 20 Ameredes BT, Caihoun WJ. Modulation of GM-CSF release by enantiomers of  $\beta$ -agonists in human airway smooth muscle[J]. J Allergy Clin Immunol, 2005, 116(1): 65-72.

(收稿日期: 2013-02-17)

(本文编辑: 孙荣华)

苑少欣, 孔雅娴, 李蕊, 等. 气管滴注法与雾化吸入法建立小鼠急性肺损伤模型及其效果比较[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(2): 163-167.