

急性肺损伤小鼠模型构建

1.测量体重

1.小鼠在实验前禁食12 h。在平稳的桌面摆好电子秤，将玻璃烧杯放在电子秤上，去皮调零。称量后，要对应做好记录。

2.麻醉小鼠

2.按照50mg/kg计算好小鼠的戊巴比妥钠注射剂量，并用1mL注射器吸取该体积的戊巴比妥钠。小鼠头朝下；注射器，呈约30°扎入小鼠腹腔，有落空感并且回抽无血后，再将麻醉剂缓慢注入。

3.暴露气管

3.小鼠呈仰卧位固定于在操作台，剃除颈部区域的鼠毛，并用碘伏做消毒处理。沿颈部中线剪开，缓慢钝性分离各层组织，直至气管暴露。

4.注射LPS

4.按照称取的小鼠体重，计算LPS（5mg/kg）的注射量，再用微量注射器吸取LPS。将小鼠手术台呈45°角摆放，注意小鼠头在上。在小鼠气管软骨间呈接近平行缓慢进针，进针方向朝向心脏，注射器回抽无阻力后，将LPS注射进气管内。

5.旋转小鼠

5.气管滴注后迅速将小鼠直立，垂直旋转小鼠。15s后，迅速将切开部分逐层缝合，并用碘伏消毒。将小鼠从实验操作台取下，放置在恒温加热板上。

6.收集样本

6.LPS注射6h后，收集支气管肺泡灌洗液或者肺组织样本。

常见问题解析

1.进行正式动物实验前，小鼠通常要禁食12 h,为什么？

正式动物实验前，尤其是对小鼠称量体重前，小鼠通常要禁食12 h，其目的是防止小鼠胃肠道胀气、呼吸道分泌物过多，常见的实验动物先天性无呛咳反应。禁食禁水也更方便我们在麻醉前准备称量动物体重，此时麻醉用量更为准确。

2.通过注射LPS构建ALI动物模型的优缺点是什么？

优点：使用细菌来源的LPS作为模拟革兰氏阴性菌在动物和人体内效应的方法具有多方面优势。LPS具有易于给药的特点，且实验结果往往具有可重复性。作为TLR4信号通路的强效激活剂，LPS在体外对细胞几乎无直接毒性。因此，使用LPS能揭示细菌感染引发的宿主炎症反应机制。不过LPS也存在明显缺陷：其纯度参差不齐，可能被细菌脂蛋白等污染。

3.通过注射LPS建立ALI动物模型，一般选用什么动物更合适？

正如《动物物种在人类肺损伤建模中的独特特征》所述，不同物种对LPS的反应存在显著差异，且携带或不携带肺部感染模型的动物表现各异。实验表明，当使用小剂量LPS处理时，绵羊、牛犊、猪和猫会出现肺部炎症，而啮齿类动物和犬类则不会^[2]。除物种易感性差异外，同一物种的不同品系间对LPS的反应也存在区别。例如，BALB/c小鼠对LPS极为敏感，而C57BL/6小鼠则表现出更强的抵抗力。

参考文献

- [1] Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008, 295(3):L379-99.
- [2] Winkler GC. Review of the significance of pulmonary intravascular macrophages with respect to animal species and age [J]. *Exp Cell Biol*. 1989, 57: 281–286, .