

肺纤维化小鼠模型构建

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.注射博来霉素

4.按照博来霉素（2.5 U博来霉素/kg体重或者5mg博来霉素/kg体重）的注射量，用微量注射器在小鼠气管软骨间呈5°缓慢进针（尽量使针头与气管长轴平行），针头呈向心方向，回抽无阻力后，将博来霉素注射进气管内。

5.振动小鼠

5.注射完毕后，将动物直立1-3 min，适度左右转动，并轻轻按摩小鼠胸部，保证博来霉素在肺内均匀分布。15s后，迅速将切开的部分逐层缝合，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。动物清醒后常规饲养。

6.收集样本

6.第14-28d后(如第14 d、21 d、28 d)，收集支气管肺泡灌洗液或者肺组织样本。样本分装后，-80°保存。

常见问题解析

1. 利用气管注射博来霉素构建IPF，用什么小鼠更合适，为什么？

在小鼠模型中值得注意的是博来霉素后发生纤维化的易感性存在显著的菌株差异，其中CBA和 C57BL/6小鼠是强反应者，而 Balb/c 小鼠相对抗纤维化。这些差异可能是由于细胞因子和蛋白酶/抗蛋白酶的不同表达模式造成的，所以利用气管注射博来霉素构建小鼠IPF，建议使用 C57BL/6小鼠^[2]。

2. 经气管给小鼠注射博来霉素后，在第14-28 d收集样本更好，为什么？

因为，给小鼠注射博来霉素后，小鼠肺组织会出现持续长7天的急性炎症反应，第14 d发生肺纤维化，随后出现纤维化变化，导致基质沉积和肺结构扭曲长达28或35天，其中以第21-28d肺纤维化病变最明显，所以在第14-28d收集样本更好。

3. 小鼠在第0 d注射博来霉素后，干预性药物在第1-7 d，或者第8-28 d之间使用有不同意义，为什么？

小鼠在注射博来霉素后，小鼠肺组织会出现持续长达7天的急性炎症反应，第8 d出现纤维化，第14 d时出现明显的肺纤维化灶。因此，在前7天的使用干预性药物将被视为“预防肺纤维化”，而第7-10 d后期阶段的使用干预性药物将被视为“治疗肺纤维化”。因此，要根据课题是重点探讨干预性药物对肺纤维化发生的预防作用，或是对肺纤维化的治疗作用，选择干预性药物在动物实验中作用的时间点。

参考文献

- [1] American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165: 277-304.
- [2] Moeller A, Ask K, Warburton D, Gauldie J, Kolb M. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? [J]. Int J Biochem Cell Biol. 2008, 40(3):362-82.