

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.12.014

论著·实验研究

## 卵清蛋白诱导宫内发育迟缓小鼠发生 支气管哮喘动物模型的建立

魏红玲<sup>1</sup> 邢燕<sup>2</sup> 周薇<sup>2</sup> 王新利<sup>2</sup> 张慧<sup>2</sup> 丁洁<sup>1</sup>

(1. 北京大学第一医院儿科, 北京 100034; 2. 北京大学第三医院儿科, 北京 100191)

**[摘要]** **目的** 为了研究宫内发育迟缓(IUGR)与哮喘发生的相关分子机制,本研究在IUGR模型基础上建立卵清蛋白(OVA)诱导的支气管哮喘小鼠模型,并且对此模型进行了评价。**方法** 将受孕后的16只BALB/c雌鼠分成低蛋白饮食组和正常蛋白饮食组( $n=8$ )。分别接受8%低蛋白饮食和20%正常蛋白饮食。仔鼠出生后6h称体重。随机选取低蛋白饮食组中符合IUGR标准的16只雄性仔鼠纳入IUGR组,正常蛋白饮食组中16只雄性小鼠纳入对照组。留取两组小鼠血样测定血糖,ELISA法检测血清胰岛素水平。将对照组小鼠随机分为对照+PBS组和对照+OVA组( $n=8$ ),将IUGR组小鼠随机分为IUGR+PBS组和IUGR+OVA组( $n=8$ )。给予对照+OVA组和IUGR+OVA组6周龄小鼠腹腔注射2mg/m LOVA致敏和雾化吸入1%OVA激发,对照+PBS组和IUGR+PBS组以等量PBS代替。ELISA法检测各组小鼠血清IgE水平;收集各组小鼠肺泡灌洗液行各类细胞计数;苏木素-伊红染色观察各组小鼠肺组织病理变化。**结果** 低蛋白饮食组仔鼠出生后6h体重低于正常蛋白饮食组( $P<0.01$ )。IUGR组小鼠血清胰岛素水平低于对照组( $P<0.01$ )。IUGR+PBS组IgE水平低于对照+PBS组( $P<0.01$ );与对照+PBS组和IUGR+PBS组相比,对照+OVA组和IUGR+OVA组IgE水平均明显升高,且IUGR+OVA组IgE水平高于对照+OVA组( $P<0.01$ )。与对照+PBS组和IUGR+PBS组相比,对照+OVA组和IUGR+OVA组肺泡灌洗液中白细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞计数均明显升高( $P<0.01$ )。OVA诱导的IUGR小鼠肺泡组织呈现大量炎性细胞浸润,细胞间连续性被破坏;气道上皮细胞增生,支气管壁增厚,管腔狭窄;在支气管和血管壁周围亦观察到大量的炎性细胞浸润。**结论** 在低蛋白饮食建立的IUGR小鼠模型基础上,成功建立OVA诱导的支气管哮喘动物模型,为进一步研究IUGR和气道炎症之间的分子机制建立基础。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(12): 1223-1228]

**[关键词]** 宫内发育迟缓;支气管哮喘;卵清蛋白;小鼠

### Establishment of an ovalbumin-induced bronchial asthma model in mice with intrauterine growth retardation

WEI Hong-Ling, XING Yan, ZHOU Wei, WANG Xin-Li, ZHANG Hui, DING Jie. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China (Ding J, Email: djnc\_5855@126.com)

**Abstract: Objective** To establish and evaluate an ovalbumin (OVA)-induced bronchial asthma model in mice with intrauterine growth retardation (IUGR), and to explore the molecular mechanism of relationship between IUGR and asthma. **Methods** A total of 16 pregnant BALB/c female mice were divided into a low-protein diet group ( $n=8$ ) and a normal-protein diet group ( $n=8$ ), which were fed with low-protein (8%) diet and normal-protein (20%) diet respectively. The neonatal mice were weighed 6 hours after birth. Sixteen male neonatal mice with IUGR were randomly chosen from the low-protein diet group and enrolled in the IUGR group, and 16 male neonatal mice from the normal-protein diet group were enrolled in the control group. Blood samples were collected from the mice in both groups for testing of blood glucose. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine serum insulin level. The mice in the control group were randomized into a control + PBS group and a control + OVA group ( $n=8$  each). The mice in the IUGR group were randomized into an IUGR + PBS group and an IUGR + OVA group ( $n=8$  each). Six-week-old

[收稿日期] 2019-06-10; [接受日期] 2019-09-27

[作者简介] 魏红玲,女,硕士,主治医师。

[通信作者] 丁洁,女,教授。Email: djnc\_5855@126.com。

mice in the control + OVA and IUGR + OVA groups were subjected to intraperitoneal injection of 2 mg/mL OVA for sensitization and aerosol inhalation of 1% OVA for challenge. Mice in the control + PBS group and the IUGR + PBS group were treated with an equivalent amount of PBS. ELISA was used to determine serum IgE level in the mice in each group. Bronchoalveolar lavage fluid (BLF) was collected from the mice in each group for cell counting. The lung tissue of the mice in each group was stained with hematoxylin and eosin to observe pathological changes. **Results** The body weight at 6 hours after birth was significantly lower for neonatal mice in the low-protein diet group compared with those in the normal-protein diet group ( $P<0.01$ ). The IUGR group had a significantly lower serum insulin level than the control group ( $P<0.01$ ). The IUGR + PBS group had a significantly lower IgE level than the control + PBS group ( $P<0.01$ ). Compared with the control + PBS and IUGR + PBS groups, the control + OVA and IUGR + OVA groups had a significantly increased IgE level, and the IgE level was significantly higher in the IUGR + OVA group than in the control + OVA group ( $P<0.01$ ). Compared with the control + PBS and IUGR + PBS groups, the control + OVA and IUGR + OVA groups had significantly increased counts of leukocytes, eosinophils, lymphocytes, and macrophages in the BLF ( $P<0.01$ ). The pulmonary alveoli of OVA-induced IUGR mice showed massive inflammatory cell infiltration and damage of intercellular continuity. Meanwhile, airway epithelial cell proliferation, bronchial wall thickening, bronchial lumen narrowing, and massive inflammatory cell infiltration around the bronchi and the vascular wall were observed. **Conclusions** An OVA-induced bronchial asthma model has been successfully established in the mice with IUGR induced by low-protein diet, which provides a basis for further study of the molecular mechanism of relationship between IUGR and airway inflammation. [Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(12): 1223-1228]

**Key words:** Intrauterine growth retardation; Bronchial asthma; Ovalbumin; Mice

宫内发育迟缓 (intrauterine growth restriction, IUGR) 在孕期发生率高达 8%, 是导致新生儿死亡和发生合并症的第 2 位原因, 仅次于早产<sup>[1]</sup>。宫内发生发育迟缓的新生儿为小于胎龄儿 (small for gestational age, SGA), 是指出生体重在同性别同胎龄正常体重的第 10 百分位数以下或低于平均值的 2 个标准差<sup>[2]</sup>。IUGR 的新生儿容易发生近期或远期的合并症, 并且越来越多的研究表明 IUGR 与其成年后发生 2 型糖尿病、肥胖、高血压等密切相关<sup>[3]</sup>。Ronkainen 等<sup>[4]</sup>研究关注了 IUGR 对肺功能的影响, 以及其与喘息或哮喘的关系, 此项研究基于 5000 名儿童群体, 证实儿童 3~4 岁时出现的喘息症状可能与 IUGR 相关。近年来越来越多的研究表明 IUGR 能够影响肺脏成熟, 从而引发呼吸系统结构和 (或) 功能改变<sup>[5]</sup>, 在学龄期儿童可表现为哮喘<sup>[6]</sup>。为了研究 IUGR 与哮喘发生的相关分子机制, 本研究在 IUGR 模型基础上建立卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 诱导的支气管哮喘小鼠模型, 对建立 IUGR 哮喘模型的方法进行了探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物、饲料及环境

8~10 周龄雌性 BALB/c 小鼠 (清洁级), 购自北京维通利华实验动物有限公司, 饲养于北京大学医学部动物实验中心。动物饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 饲料包括两种: 低

蛋白饲料 (8% 酪蛋白) 和普通饲料 (20% 蛋白)。饲料配方参照本课题组既往研究基础<sup>[7]</sup>, 详见表 1。动物饮用水为动物中心提供的纯净水。饲养温度  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , 湿度 50%~70%, 12 h 自动昼夜循环。干预前所有小鼠均适应性喂养 7 d。

表 1 实验中应用饲料配方

饲料配方	普通饲料	低蛋白饲料
玉米 (%)	38.95	38.95
玉米淀粉 (%)	31.10	43.49
干酪素 (%)	16.73	4.34
面粉 (%)	5.00	5.00
植物油 (%)	3.76	3.76
碳酸钙 (%)	0.38	0.38
磷酸氢钙 (%)	3.23	3.23
微量元素 (%)	0.50	0.50
食盐 (%)	0.30	0.30
多种维生素 (%)	0.05	0.05
粗蛋白 (%)	20.00	8.00
能量密度 (kcal/g)	3.50	3.50

### 1.2 动物分组及模型建立

参照文献<sup>[8]</sup>的方法, 将适应性喂养后的 16 只 BALB/c 雌鼠按照 2:1 与雄鼠合笼, 次日晨查孕栓, 查到孕栓则记录为受孕雌鼠, 记为孕 0 d。采用随机分组方法将受孕雌鼠分成低蛋白饮食组和正常蛋白饮食组, 每组 8 只。两组孕鼠均单笼喂养, 每日分别添加低蛋白饲料及正常蛋白饲料, 自由

摄食, 摄食量及饮水量不受限制, 直至分娩。两组孕鼠分娩后及仔鼠 21 d 断奶后均饲以正常蛋白饮食。仔鼠出生后 6 h 测量体重, 依据文献<sup>[8]</sup>中描述, IUGR 模型评估鉴定的标准是出生体重低于同胎龄平均体重的第 10 百分位或 2 个标准差。仔鼠 6 周龄时, 随机选取低蛋白饮食组中符合 IUGR 标准的 16 只雄性仔鼠纳入 IUGR 组, 正常蛋白饮食组中 16 只雄性小鼠纳入对照组。

将对照组小鼠随机分对照 +PBS 组和对照 +OVA 组 ( $n=8$ ), 将 IUGR 组小鼠随机分为 IUGR+PBS 组和 IUGR+OVA 组 ( $n=8$ )。参照文献<sup>[9]</sup>的方法, 在实验第 0 天、第 14 天, 对照 +OVA 组和 IUGR+OVA 组小鼠腹腔注射 100  $\mu\text{L}$  含有 OVA 的 PBS 溶液 (OVA 浓度为 2 mg/mL) 进行致敏; 对照 +PBS 组和 IUGR+PBS 组腹腔注射等体积 PBS。从第 21 天至第 30 天, 将对照 +OVA 组和 IUGR+OVA 组小鼠置于雾化箱中, 雾化吸入 50  $\mu\text{L}$  OVA 溶液 (OVA 浓度为 1%), 每次激发 30 min, 每日 1 次, 连续 10 d。对照 +PBS 组和 IUGR+PBS 组小鼠予以等量的 PBS 溶液进行雾化吸入。诱导发生哮喘模型时无小鼠死亡, 成活率 100%。本研究通过检测肺泡灌洗液中炎症细胞计数、血清 IgE 水平及肺组织形态学改变等多个方面, 鉴定哮喘模型是否成功建立<sup>[9]</sup>。

### 1.3 小鼠血糖、血清胰岛素和血清 IgE 水平检测

IUGR 建模结束后 (即小鼠生后 6 周), 进食后约 2 h, 一次性采血针取小鼠尾静脉微量血, 通过微量血糖仪测定末梢血糖水平; 采用眼静脉丛采血法采集小鼠血液标本并收集于未添加抗凝剂的试管中, 凝固后留取血清, 采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测小鼠血清胰岛素水平。OVA 诱导哮喘模型建模结束后 24 h, 采用眼静脉丛采血法采集小鼠血液标本收集于未加抗凝剂的试管中, 凝固后留取血清, 采用 ELISA 法检测小鼠血清 IgE 水平。胰岛素和 IgE 抗体 ELISA 试剂盒均购自美国 ALPCO 公司。实验步骤严格按照试剂盒说明书操作。

### 1.4 小鼠肺泡灌洗液细胞含量测定

采集静脉血后, 将小鼠气管切开, 22 号套管针置入并且固定, 用无菌生理盐水对气管、支气管和肺脏进行灌洗, 共 2 次, 保证肺泡灌洗液回收率在 75% 以上。肺泡灌洗液离心后, 在 1 h 内

将细胞与上清液进行分离, 将沉淀细胞涂片、固定、苏木精 - 伊红 (HE) 染色, 光镜下按照细胞形态进行嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞和总细胞的分类计数 (至少计数 200 个细胞)。

### 1.5 小鼠肺组织标本 HE 染色

哮喘模型建模结束后 24 h 取小鼠右肺组织固定于 10% 甲醛溶液中, 经过洗涤、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、HE 染色, 最后进行透明和封片, 通过显微镜拍照, 进行图像采集。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 24.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用两样本  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK- $q$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 低蛋白饮食法构建小鼠 IUGR 模型

正常蛋白饮食组新生仔鼠 73 只, 低蛋白饮食组新生仔鼠 43 只, 其中死亡 9 只, 成活率 79%。正常蛋白饮食组平均体重  $1.99 \pm 0.19$  g, 低蛋白饮食组平均体重  $1.67 \pm 0.18$  g (全部达到 IUGR 标准), 两组比较差异有统计学意义 ( $t=8.490$ ,  $P < 0.01$ )。

### 2.2 对照组和 IUGR 组小鼠血糖及血清胰岛素水平变化

与对照组相比, IUGR 组小鼠血糖值降低, 但差异无统计学意义 ( $P=0.290$ ); IUGR 组小鼠血清胰岛素水平降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 对照组和 IUGR 组小鼠血糖及血清胰岛素水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	血糖 (mmol/L)	胰岛素 (ng/mL)
对照组	73	$8.34 \pm 0.26$	$1.37 \pm 0.09$
IUGR 组	34	$7.78 \pm 1.07$	$0.76 \pm 0.35$
$t$ 值		1.134	3.795
$P$ 值		0.290	0.005

### 2.3 经过 OVA 诱导后各组小鼠血清 IgE 含量测定结果

对照 +PBS 组、对照 +OVA 组、IUGR+PBS

组和 IUGR+OVA 组 IgE 含量比较差异有统计学意义 ( $F=317.14, P<0.001$ )。IUGR+PBS 组 IgE 含量 ( $3.58 \pm 0.27 \mu\text{g/mL}$ ) 较对照 +PBS 组 ( $5.50 \pm 0.35 \mu\text{g/mL}$ ) 降低 ( $P<0.01$ )；与对照 +PBS 组和 IUGR+PBS 组相比，对照 +OVA 组 IgE 含量 ( $12.89 \pm 1.21 \mu\text{g/mL}$ ) 和 IUGR+OVA 组 IgE 含量 ( $25.00 \pm 2.07 \mu\text{g/mL}$ ) 均明显升高 ( $P<0.01$ )，且 IUGR+OVA 组 IgE 含量高于对照 +OVA 组 ( $P<0.01$ )。

## 2.4 各组小鼠肺泡灌洗液细胞分类计数

与对照 +PBS 组相比，IUGR+PBS 组肺泡灌洗液中白细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞计数均无变化，差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )；与对照 +PBS 组和 IUGR+PBS 组相比，对照 +OVA 组和 IUGR+OVA 组白细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞计数均明显增加 ( $P<0.01$ )，且对照 +OVA 组的白细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞计数均多于 IUGR+OVA 组 ( $P<0.01$ )，见表 3。

表 3 各组小鼠肺泡灌洗液细胞分类计数比较 ( $\bar{x} \pm s, \times 10^4/L$ )

组别	n	白细胞计数	嗜酸性粒细胞计数	淋巴细胞计数	巨噬细胞计数
对照 +PBS 组	8	$5.8 \pm 0.8$	$0.8 \pm 0.4$	$0.7 \pm 0.4$	0
IUGR+PBS 组	8	$6.8 \pm 0.8$	$0.8 \pm 0.4$	0	$0.42 \pm 0.20$
对照 +OVA 组	8	$31.2 \pm 2.6^{a,b}$	$18.6 \pm 1.1^{a,b}$	$4.6 \pm 1.1^{a,b}$	$1.60 \pm 0.89^{a,b}$
IUGR+OVA 组	8	$16.6 \pm 2.4^{a,b,c}$	$11.8 \pm 2.9^{a,b,c}$	$2.4 \pm 0.5^{a,b,c}$	$1.40 \pm 0.54^{a,b,c}$
F 值		199.923	148.184	45.741	10.256
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.001

注：a 示与对照 +PBS 组相比， $P<0.01$ ；b 示与 IUGR+PBS 组相比， $P<0.01$ ；c 示与对照 +OVA 组相比， $P<0.01$ 。

## 2.5 各组小鼠 HE 染色后的变化

对照 +PBS 组：肺泡隔膜正常，肺泡壁结构完整，肺泡间隔和支气管均未发现炎症渗出物；支气管形态规则，支气管内膜光滑，上皮细胞无明显增生，支气管和血管壁周围无明显炎症细胞浸润。对照 +OVA 组：肺泡壁增厚，肺泡空间缩小，肺泡间隙可见炎症细胞浸润；气道上皮细胞未融合，气道黏膜明显水肿，气道平滑肌增生增厚，支气管壁增厚，管腔狭窄，在管腔中观察到许多

炎症分泌物，在支气管和血管壁周围观察到大量的炎症细胞浸润。IUGR+PBS 组：肺泡组织结构及支气管组织结构特征与对照 +PBS 组基本相似。IUGR+OVA 组：肺泡组织中呈现严重的炎症细胞浸润，肺泡壁增厚，肺泡空间缩小，肺泡上皮细胞肿大，细胞间连续性被破坏；气道上皮细胞增生，气道黏膜水肿，支气管壁增厚，管腔狭窄，在支气管和血管壁周围可见大量的炎症细胞浸润。见图 1。

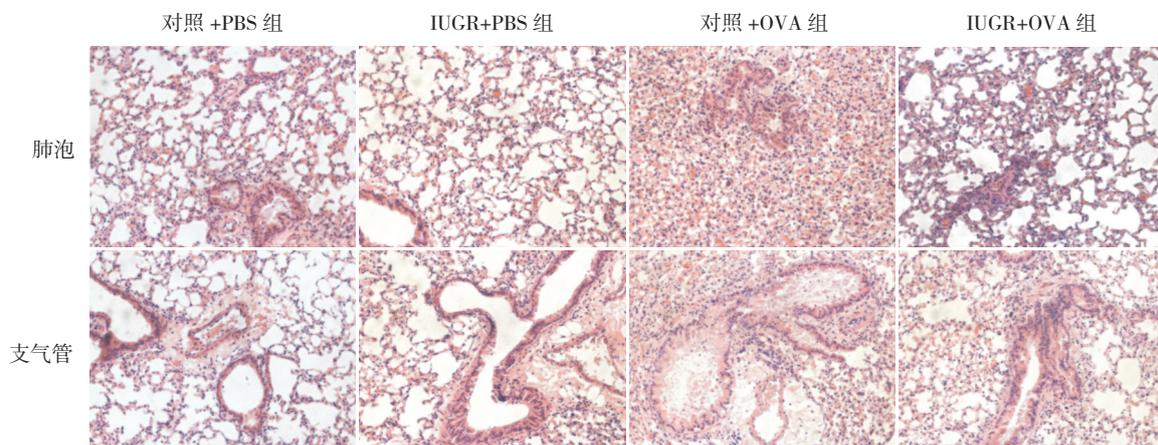


图 1 各组小鼠肺组织 (肺泡及支气管) 病理变化 (苏木精-伊红染色,  $\times 200$ ) 对照 +PBS 组及 IUGR+PBS 组肺泡结构正常；对照 +OVA 组肺泡壁增厚；IUGR+OVA 组肺泡壁增厚，炎症细胞浸润。对照 +PBS 组及 IUGR+PBS 组支气管结构正常；对照 +OVA 组支气管壁增厚，炎症细胞浸润；IUGR+OVA 组支气管壁增厚、狭窄，大量炎症细胞浸润。

### 3 讨论

本研究应用 OVA 诱导 IUGR 小鼠发生支气管哮喘,成功建立了 IUGR 哮喘动物模型,为研究小于胎龄儿肺功能降低及未来发生哮喘风险的机制提供了动物实验基础。建立 IUGR 合并哮喘动物模型,主要需要考虑 3 个方面。首先,需要选择兼顾 IUGR 和哮喘两种疾病的动物种系。本课题组曾应用 Wistar 大鼠和 BALB/c 小鼠进行预实验,为了更贴近 IUGR 发生哮喘的临床实践,后续进行转基因或基因敲除等进一步研究,本课题组选用 BALB/c 小鼠作为建立模型的动物品种。国内外建立 IUGR 动物模型多用 Sprague-Dawley (SD) 大鼠<sup>[10]</sup>和 Wistar 大鼠<sup>[11-12]</sup>,而用于建立支气管哮喘模型常用 BALB/c 小鼠<sup>[13]</sup>、Brown-Norway (BN) 大鼠<sup>[14]</sup>、豚鼠<sup>[15]</sup>等。Yue 等<sup>[16]</sup>研究发现,暴露于 NO<sub>2</sub> 气体的 BALB/c 孕鼠的子代小鼠,更容易由 OVA 诱导发生哮喘。Wang 等<sup>[17]</sup>研究发现,通过将 BALB/c 孕鼠置于低氧环境中,导致仔鼠发生 IUGR,进而将子代 BALB/c 小鼠通过 OVA 诱导发生哮喘,与正常对照小鼠相比,发生 IUGR 的 BALB/c 小鼠表现出更强烈的气道高反应。结合本研究结果,可见 BALB/c 小鼠适合作为研究 IUGR 及哮喘相关机制的动物模型。

选好动物种系后,需要解决的第二个问题就是选择恰当的 IUGR 动物模型建立方法。本课题组既往成功的通过低蛋白饮食法建立了大鼠 IUGR 动物模型<sup>[18]</sup>,同时应用 IUGR 大鼠模型进行了相关分子机制的研究<sup>[19-20]</sup>,研究结果可靠,模型稳定。本研究选择低蛋白饮食法建立 IUGR 小鼠模型。低蛋白饮食法建立 IUGR 模型的关键问题是低蛋白饲料的获取,本研究结合既往的实验基础,参考国外 IUGR 小鼠动物模型建立的经验<sup>[21]</sup>,应用 20% 正常蛋白饮食和 8% 低蛋白饮食进行研究, BALB/c 小鼠经过不同蛋白含量的饲料喂养后,低蛋白饮食组新生小鼠在生后 6h 体重显著低于正常蛋白饮食组, IUGR 模型成功建立。国内外常用的 IUGR 模型制作方法包括酒精干预法、子宫动脉结扎法、低蛋白饮食法。高琳琳等<sup>[22]</sup>比较了这 3 种模型制作方法,提示低蛋白饮食建立的 IUGR 动物模型成功率高,死胎率低,而且亦能很好的模拟 IUGR 的病理生理过程。本研究结果提示, IUGR 组小鼠

血糖及胰岛素水平较对照组降低,提示 IUGR 小鼠糖原储备不足,胰岛素分泌水平较低。与本研究结果一致,Boehmer 等<sup>[23]</sup>证实了鼠类和羊 IUGR 动物模型具有胰岛发育障碍和  $\beta$  细胞功能不全, IUGR 动物模型表现为胰腺体积减少、 $\beta$  细胞数量减少和胰岛素分泌减少。Berends 等<sup>[24]</sup>研究发现,宫内发育迟缓小鼠表现出中枢及外周胰岛素抵抗,其原因可能与其影响下丘脑胰岛素分泌的信号通路有关。

如何在 IUGR 模型基础上诱导发生哮喘是本研究需要解决的第三个问题。虽然国内建立哮喘小鼠动物模型的方法已较成熟,但缺乏在 IUGR 模型基础上建立哮喘动物模型的经验。本研究在 BALB/c 小鼠 IUGR 模型基础上,选择 OVA 腹腔注射致敏,然后雾化吸入 OVA 激发炎症反应,通过此种方法建立支气管哮喘模型。支气管哮喘是由多种细胞(如嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等)和细胞成分参与的气道慢性炎症性疾病,其典型的临床特征有气道炎症、气道重塑及气道高反应性<sup>[25]</sup>。因此,支气管哮喘模型成功的评价指标体现在肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞计数,以及肺组织肺泡及支气管病理形态的改变<sup>[26]</sup>。本研究结果提示, IUGR 组小鼠经过 OVA 诱导后, IgE 含量较 IUGR 组升高,肺泡灌洗液的炎症细胞明显增多,并且肺组织病理形态学改变显示肺泡及气道炎症,提示支气管哮喘模型建立成功。Chen 等<sup>[27]</sup>通过小鼠雾化吸入 OVA,成功的建立了支气管哮喘小鼠的气道炎症和高反应,肺泡灌洗液中炎症细胞明显增多。Zhang 等<sup>[28]</sup>在 OVA 诱导的支气管哮喘小鼠模型中发现,除了肺泡灌洗液中炎症细胞增多以外,肺组织形态学提示明显的气道炎症反应。这些研究结果与本研究哮喘模型结果一致。

总之,本研究在低蛋白饮食法诱导的 IUGR 模型基础上采用雾化和腹腔注射 OVA 成功建立了 IUGR-支气管哮喘合为一体的小鼠模型,为研究 IUGR 与气道炎症之间的分子机制建立了实验基础,亦为阐明 IUGR 发生支气管哮喘的可能分子机制奠定了实验室基础。

#### [参 考 文 献]

[1] Swanson AM, David AL. Animal models of fetal growth

- restriction: considerations for translational medicine[J]. *Placenta*, 2015, 36(6): 623-630.
- [2] Sharma D, Sharma P, Shastri S. Genetic, metabolic and endocrine aspect of intrauterine growth restriction: an update[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2017, 30(19): 2263-2275.
- [3] Salam RA, Das JK, Bhutta ZA. Impact of intrauterine growth restriction on long-term health[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2014, 17(3): 249-254.
- [4] Ronkainen E, Dunder T, Kaukola T, et al. Intrauterine growth restriction predicts lower lung function at school age in children born very preterm[J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2016, 101(5): F412-F417.
- [5] Thangaratnarajah C, Dinger K, Vohlen C, et al. Novel role of NPY in neuroimmune interaction and lung growth after intrauterine growth restriction[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313(3): L491-L506.
- [6] Sonnenschein-van der Voort AM, Gaillard R, de Jongste JC, et al. Foetal and infant growth patterns, airway resistance and school-age asthma[J]. *Respirology*, 2016, 21(4): 674-682.
- [7] 关育红, 邢燕, 王新利, 等. 胎儿生长受限大鼠胰岛素敏感性的动态变化[J]. *中华围产医学杂志*, 2011, 14(4): 221-226.
- [8] Woodall SM, Breier BH, Johnston BM, et al. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth[J]. *J Endocrinol*, 1996, 150(2): 231-242.
- [9] Daubeuf F, Frossard N. Acute asthma models to ovalbumin in the mouse[J]. *Curr Protoc Mouse Biol*, 2013, 3(1): 31-37.
- [10] 郑锐丹, 汪无尽, 应艳琴, 等. 生长追赶宫内发育迟缓大鼠早期糖脂代谢及脂肪细胞功能的改变[J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(7): 543-547.
- [11] 曲香, 贺宝平, 王华. 宫内发育迟缓对大鼠脑内 NGF 及 TrkA 表达影响的研究[J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13(5): 415-418.
- [12] Camprubí Camprubí M, Balada Caballé R, Ortega Cano JA, et al. Learning and memory disabilities in IUGR babies: functional and molecular analysis in a rat model[J]. *Brain Behav*, 2017, 7(3): e00631.
- [13] Li L, Hua L, He Y, et al. Differential effects of formaldehyde exposure on airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness in BALB/c and C57BL/6 mice[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179231.
- [14] 朱庆龄, 李锋, 王俊丽, 等. 经口食物过敏大鼠动物模型的建立[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(8): 757-761.
- [15] Kondo M, Tsuji M, Hara K, et al. Chloride ion transport and overexpression of TMEM16A in a guinea-pig asthma model[J]. *Clin Exp Allergy*, 2017, 47(6): 795-804.
- [16] Yue H, Yan W, Ji X, et al. Maternal exposure of BALB/c mice to indoor NO<sub>2</sub> and allergic asthma syndrome in offspring at adulthood with evaluation of DNA methylation associated Th2 polarization[J]. *Environ Health Perspect*, 2017, 125(9): 097011.
- [17] Wang KCW, Larcombe AN, Berry LJ, et al. Foetal growth restriction in mice modifies postnatal airway responsiveness in an age and sex-dependent manner[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(2): 273-284.
- [18] 张金, 邢燕, 王新利, 等. 宫内发育迟缓致大鼠肝细胞胰岛素敏感性降低及体外胰岛素抵抗模型的建立[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2014, 46(3): 464-468.
- [19] 邢燕, 关育红, 张金, 等. 肝脏组织磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路参与降低胎儿生长受限大鼠的胰岛素敏感性[J]. *中华围产医学杂志*, 2012, 15(12): 743-749.
- [20] 邢燕, 齐婧, 王新利, 等. 肝脏过氧化物体增殖物激活受体  $\gamma$  基因启动子甲基化及其 mRNA 表达下调降低胎儿生长受限大鼠胰岛素敏感性[J]. *中华围产医学杂志*, 2012, 15(11): 683-688.
- [21] Duran Fernandez-Feijoo C, Carrasco Carrasco C, Villalazo Francisco N, et al. Influence of catch up growth on spatial learning and memory in a mouse model of intrauterine growth restriction[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177468.
- [22] 高琳琳, 王军, 李子英, 等. 不同方法制备大鼠宫内发育迟缓模型的比较[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(1): 1-7.
- [23] Boehmer BH, Limesand SW, Rozance PJ. The impact of IUGR on pancreatic islet development and  $\beta$ -cell function[J]. *J Endocrinol*, 2017, 235(2): R63-R76.
- [24] Berends LM, Dearden L, Tung YCL, et al. Programming of central and peripheral insulin resistance by low birthweight and postnatal catch-up growth in male mice[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(10): 2225-2234.
- [25] Mims JW. Asthma: definitions and pathophysiology[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2015, 5 (Suppl 1): S2-S6.
- [26] Daubeuf F, Frossard N. Eosinophils and the ovalbumin mouse model of asthma[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1178: 283-293.
- [27] Chen WQ, Xie ZZ, Wang X, et al. Influences of PON1 on airway inflammation and remodeling in bronchial asthma[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(1): 793-805.
- [28] Zhang Q, Wang L, Chen B, et al. Propofol inhibits NF- $\kappa$ B activation to ameliorate airway inflammation in ovalbumin (OVA)-induced allergic asthma mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 51: 158-164.

( 本文编辑: 万静 )