文章编号:1000-5404(2012)12-1189-03

论著

建立矽肺犬动物模型的实验研究

李永强[1],粟永萍[2],李 蓉[2],熊 玮[1],戴晓天[1] (400038 重庆,第三军医大学:西南医院呼吸内科[1],军事预防医学院防原医学教研室,全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2])

[摘要] **目的** 模拟矽肺的致病过程,建立初步的矽肺犬动物模型。**方法** 利用气管插管及呼吸机通气,将二氧化硅粉末吹入实验犬肺内,观察不同染尘剂量、不同染尘频次下,各持续时间段内(染尘前,染尘1、2、3个月)实验犬的动脉血气、胸部CT影像学、肺组织病理形态学改变。**结果** 各组实验犬染尘前后的动脉血气水平无明显差异($P>0.05$),但染尘后实验犬胸部CT均有不同程度的磨玻璃样改变,肺组织病理可见肺间质增厚,终末细支气管壁周围大量吞尘巨噬细胞聚集,有成纤维细胞增生及网状胶原纤维形成,偏光显微镜下可见肺间质内二氧化硅颗粒沉积,且染尘犬胸部CT及肺组织病理改变程度与染尘剂量、染尘频次、染尘时间呈正相关。**结论** 经气管插管后呼吸机通气,每次按400 mg/kg称取二氧化硅粉尘吹入实验犬肺内,每周染尘1次,持续染尘3个月,可建立初步的矽肺犬动物模型。

[关键词] 矽肺;犬;动物模型
[中图法分类号] R-332;R135.2 [文献标志码] A

Establishment of a dog model of silicosis

Li Yongqiang[1], Su Yongping[2], Li Rong[2], Xiong Wei[1], Dai Xiaotian[1] ([1] Department of Respiratory Diseases, Southwest Hospital; [2] State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To establish a preliminary dog animal models of silicosis in order to simulate silicosis disease process. **Methods** After making the silica particles blowing in the lung of the dog, tracheal intubation and breathing machine ventilation, we observed in different doses, different frequencies, different durations, the modifications of experimental dogs of arterial blood gas, Chest CT imaging, lung tissue pathological morphology. **Results** There was no significant difference in the arterial blood gas levels of experimental dogs ($P>0.05$), but the chest CT imaging had different degrees of ground glass samples change after dyed silica. Lung tissue pathology showed the interstitial lung thickening, many swallowed dust macrophages gathered around the final fine bronchial wall, fibroblasts hyperplasia, and mesh collagen fibers formation. Polarized light microscopy displayed lots of silica particles deposit in the interstitial lung. **Conclusion** Use of tracheal intubation and breathing machine ventilation, weigh silica particles according to 400 mg/kg and make them blowing in the lung of the dog, once a week for three months, we can establish a preliminary dog animal models of silicosis.

[**Key words**] silicosis; dog; animal model

Supported by the Tackling Project for Sci & Tech Research of Chongqing (2010GGB428) and the Foundation of the Scientific Achievements Commercialization of Third Military Medical University (2010XZH09). Corresponding author: Xiong Wei, E-mail: xiongwei64@126.com; Dai Xiaotian, E-mail: daixt1973@yahoo.com.cn

矽肺病(silicosis)是一种由于在生产过程中长期吸入游离二氧化硅(SiO_2)含量较高的粉尘而引起的以肺组织纤维化和肺部炎症为主的慢性职业病[1]。据2010年卫生部全国职业病报告:2009年我国新发各类职业病18 128例,其中尘肺病例数占总例数的79.96%,在14 495例尘肺病例中,煤工尘肺和矽肺占91.89%[2]。目前尘肺病仍是我国最严重的职业病,而矽肺病在其中也占据了较大比例。现阶段矽肺病尚无特效根治方法,通常采用肺灌洗、药物及中医中药等综合性治疗措施,其中大容量肺灌洗术针对矽肺早期病理过程中的肺泡炎,可清除粉尘、吞尘巨噬细胞和致炎、致纤维化因子[3],是较有效的治疗策略。因此建立规范的矽肺犬动物模型,对于开展矽肺病治疗的临床研究具有重要意义。以往文献[4-6]报道用小鼠、大鼠、家兔等动物复制矽肺动物模型,但因其个体较小,不利于临床研究的开展(如需应用呼吸机的肺灌洗治疗等),而且国内外有关建立矽肺大动物模型的文献报道也甚少,本实验旨在探索这一领域,建立初步

[基金项目] 重庆市科技攻关项目(2010GGB428);第三军医大学科技成果转化基金(2010XZH09)
[通信作者] 熊 玮, E-mail:xiongwei64@126.com
戴晓天, E-mail:daixt1973@yahoo.com.cn

的矽肺犬大动物模型。

1 材料与方法

1.1 动物分组及动物处理

1.1.1 动物分组 本地健康成年杂种犬20只(第三军医大学实验动物中心提供),雌雄不限,体质量10~15 kg,分为4组:对照组(无染尘组,$n=5$),低剂量低频次组(每2周染尘1次,每次按200 mg/kg吹入二氧化硅粉末,$n=5$),高剂量低频次组(每2周染尘1次,每次按400 mg/kg吹入二氧化硅粉末,$n=5$),高剂量高频次组(每1周染尘1次,每次按400 mg/kg吹入二氧化硅粉末,$n=5$)。

1.1.2 动物处理 实验犬以饲料喂养,染尘或肺灌洗前空腹过夜,染尘前以速眠新注射液(长春市军需大学兽医研究所提供)按0.1 ml/kg肌肉注射,待实验犬麻醉后送实验室,在实验台上以仰卧位固定四肢。在喉镜直视下经口插入单腔气管插管(河南省新乡市驼人医疗器械有限公司提供),填充插管气囊并固定插管位置后,接呼吸机控制通气,按实验分组称取已高压灭菌的二氧化硅粉末(天津市博迪化工股份有限公司提供),经气管插管以少量多次的方式,利用呼吸机通气将二氧化硅粉末吹入实验犬肺内,每次染尘时间持续约1 h,术后实验犬归圈饲养。

1.1.3 实验犬动脉血气检测 待实验犬麻醉后抽取股动脉血送检。在实验犬染尘前,染尘1、2、3个月,4个时间点取动脉血气标本送检,观察肺功能情况。动脉血标本抽取后送西南医院呼吸内科血气分析仪(美国GEM Premier 3000)检测。

1.1.4 实验犬胸部CT影像学检查 于实验犬染尘前、染尘2个月、染尘3个月,3个时间点行胸部CT检查,观察实验犬肺部的影像学改变。实验犬麻醉后送西南医院放射科行胸部CT检查。

1.1.5 实验犬肺组织病理学检查 实验犬染尘3个月后,分别以放血休克的方式处死实验犬,取各段肺组织标本,以10%福尔马林溶液固定、石蜡包埋切片、HE染色后,常光及偏光显微镜下镜检,观察肺组织病理学改变。

1.2 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件完成,均与对照组比较,采用两个独立样本的t检验。

2 结果

2.1 实验犬动脉血气在染尘后的变化

与对照组(无染尘组)相比,染尘各组在染尘前,染尘1、2、3个月时,动脉血气的血二氧化碳分压[$p(CO_2)$]、血氧分压[$p(O_2)$]及血氧饱和度(SaO_2)均无显著差异($P>0.05$)。见表1~3。

表1 实验犬动脉血$p(CO_2)$的变化 (mmHg,$n=5$,$\bar{x}\pm s$)

组别	染尘前	染尘1个月	染尘2个月	染尘3个月
对照组	33.7±5.1	35.7±5.1	34.0±3.9	35.0±4.2
低剂量低频次组	37.5±2.6	37.7±4.1	33.5±5.5	41.0±4.2
高剂量低频次组	36.7±2.9	41.2±2.6	39.7±4.4	32.0±8.4
高剂量高频次组	33.7±2.2	31.2±3.6	31.0±2.6	31.5±2.9

表2 实验犬动脉血$p(O_2)$的变化 (mmHg,$n=5$,$\bar{x}\pm s$)

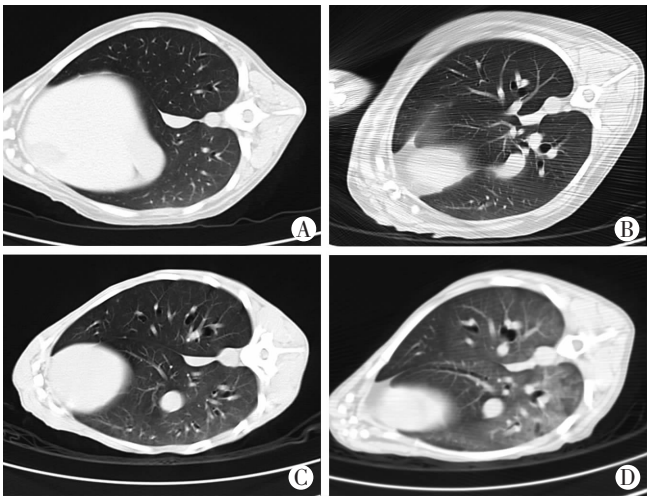
组别	染尘前	染尘1个月	染尘2个月	染尘3个月
对照组	80.5±6.1	78.2±2.1	80.5±2.5	77.7±3.5
低剂量低频次组	77.7±5.4	74.0±6.4	79.2±6.8	76.0±5.6
高剂量低频次组	77.5±6.2	72.0±9.1	75.5±6.2	80.5±12.0
高剂量高频次组	78.5±5.0	72.7±8.3	69.5±10.5	71.5±8.9

表3 实验犬动脉血SaO_2的变化 (%,$n=5$,$\bar{x}\pm s$)

组别	染尘前	染尘1个月	染尘2个月	染尘3个月
对照组	94.2±1.7	94.3±0.9	94.7±1.2	94.0±0.8
低剂量低频次组	93.2±1.2	93.7±1.7	94.0±1.8	93.5±0.7
高剂量低频次组	93.7±1.7	92.0±2.4	94.7±2.2	95.5±0.7
高剂量高频次组	95.5±1.0	93.5±2.5	92.7±3.3	93.5±3.1

2.2 实验犬胸部CT影像学变化

各组实验犬分别于染尘前,染尘2、3个月行胸部CT检查,影像学结果显示:实验犬染尘后,CT肺窗内均有不同程度的肺磨玻璃样改变,肺纹理增粗,部分可见局灶性炎性渗出,且染尘剂量越大、染尘频次越高、染尘时间越长,其胸部CT的改变越明显,但各组实验犬胸部CT均未见典型肺纤维化实变、肺不张及矽肺结节样表现。见图1。



A:对照组;B:低剂量低频次组;C:高剂量低频次组;D:高剂量高频次组

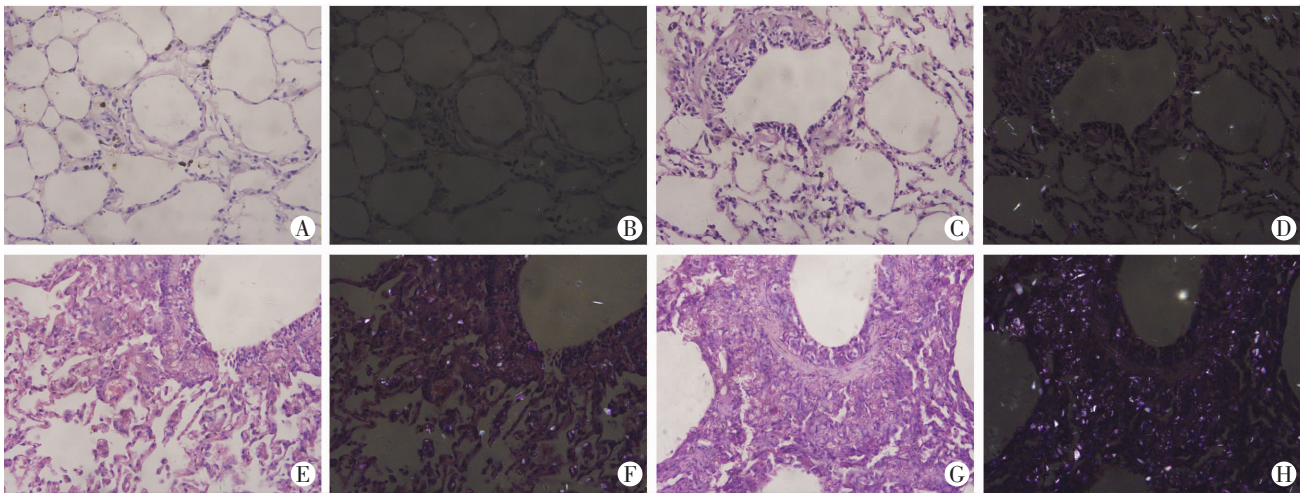
图1 各组实验犬染尘3个月的胸部CT影像学表现

2.3 实验犬肺组织病理学变化

各组实验犬于染尘3个月后处死,取肺组织病理标本行HE染色,并于常光及偏光显微镜下观察肺病理学变化,结果显示:与正常犬肺组织相比,染尘犬肺泡间隔增宽,肺间质增厚,可见局灶炎性渗出增多,终末细支气管壁增厚,管壁周围大量吞尘巨噬细胞聚集,有成纤维细胞增生及网状胶原纤维形成。偏光显微镜下,可见染尘犬肺间质内大量二氧化硅颗粒沉积。实验犬染尘剂量越大、染尘频次越高、染尘时间越长,其肺组织病理学改变越明显。见图2。

3 讨论

矽肺病作为我国主要职业病之一,不仅给农民工患者本人及其家庭带来痛苦,还给社会、国家造成了巨大的经济负担。据卫生部统计,我国每年因职业病造



A、B:对照组; C、D:低剂量低频次组;E、F:高剂量低频次组;G、H:高剂量高频次组;A、C、E、G:常光显微镜;B、D、F、H:偏光显微镜

图 2 常光及偏光显微镜下各组实验犬染尘 3 个月的肺组织病理学变化 (HE ×400)

成的直接经济损失至少 100 多亿元[7]。一旦确诊矽肺病,则需终身治疗,目前尚无特效根治方法,通常采用肺灌洗、药物及中医中药等综合性治疗措施,其中肺灌洗术是较为有效的治疗策略。为更好地开展肺灌洗术治疗矽肺的临床研究,就需要规范的大动物模型作为基础。本实验通过将实验犬麻醉后,利用呼吸机通气,经气管插管将二氧化硅粉末直接吹入肺内,来模拟矽肺的致病过程,建立矽肺犬大动物模型。与既往报道的以二氧化硅混悬液灌注入实验动物肺内的染尘方法不同,本实验研究采用通过呼吸机通气,将二氧化硅粉尘吹入实验犬肺内的染尘方法,能更真实地模拟粉尘的吸入过程,具有更好的肺内粉尘分布,更符合实际致病环境及机体对吸入粉尘的生理反应。而以犬为矽肺大动物模型,相比鼠、兔等小动物,更有利于矽肺病临床实验研究的开展,特别是需要呼吸机辅助通气的肺灌洗治疗等。规范矽肺犬大动物模型的建立,无疑将推进矽肺病临床研究的进展。

本实验研究中,4 个分组在 4 个时间段的动脉血气 $p(CO_2)$、$p(O_2)$、SaO_2 均无统计学差异($P>0.05$),说明在染尘 3 个月的时间段内,由于实验犬机体自身的代偿和调节,尚未出现导致肺脏失代偿的血气改变。从实验犬胸部 CT 影像学表现看,染尘犬肺窗内均有不同程度的肺磨玻璃样改变,肺纹理增粗,部分可见局灶性炎性渗出。从实验犬肺组织病理学表现看,染尘犬肺泡间隔增宽,肺间质增厚,可见局灶炎性渗出增多,终末细支气管壁增厚,管壁周围大量吞尘巨噬细胞聚集,有成纤维细胞增生及网状胶原纤维形成,偏光显微镜下可见大量二氧化硅颗粒在肺间质内沉积。染尘犬胸部 CT 及肺组织病理改变程度均与其染尘剂量、染尘频次、染尘时间呈正相关。通过实验犬动脉血气、CT 影像学及病理学评估,证明本实验的矽肺犬建模方法可行,胸部 CT 及肺组织病理均有不同程度的矽肺早期改变。实验犬 CT 及肺组织病理中,未见典型的肺纤维化、肺实变、矽肺结节等表现,考虑与本实验中实验犬染尘时间相对较短有关,毕竟矽肺的病变进展非常缓慢,多在接触矽尘后 5 ~ 10 年才开始发病,即使在某些硅含量高,粉尘浓度大又缺乏有效防护措施的环境中,出现“速发性矽肺”[8],也需至少 1 ~ 2 年时间,而我们的建模时间为 3 个月,仅能制备早期矽肺大动物模型,要想使实验犬具有典型矽肺改变,尚需要更长的反应时间。总之,本实验旨在为更好开展矽肺病的临床研究,建立规范的大动物模型,而通过气管插管后呼吸机送气,每次按 400 mg/kg 称取二氧化硅粉尘吹入实验犬肺内,每周染尘 1 次,持续染尘 3 个月,可建立初步的矽肺犬大动物模型。

参考文献:

[1] 刘红军, 王瑞. 矽肺早期诊断生物标志物研究进展[J]. 中国职业医学, 2011, 38(3): 256 -258.
[2] 李强, 蒋承林, 翟果红. 我国煤炭行业尘肺病现状分析及防治对策[J]. 中国安全生产科学技术, 2011, 7(4): 148 -151.
[3] 吴晓丹, 李善群, 白春学. 全肺灌洗术的临床应用[J]. 中国临床医学, 2006, 13(1): 52 -54.
[4] 向军俭, 孙佳寅, 邓宁, 等. 小鼠矽肺模型的建立及 bFGF 参与矽肺形成的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(4): 647 -650.
[5] 邹昌淇, 杜庆成, 周培宏. 联合用药治疗大鼠早期矽肺的疗效观察[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, 19(1): 7 -9.
[6] 吴逸明, 许东, 徐玉宝, 等. 无损伤性兔矽肺模型制备[J]. 中国职业医学, 2002, 29(4): 52 -53.
[7] 郑木林, 胡天桥. 我国尘肺病流行现状与控制对策[J]. 职业与健康, 2010, 26 (17) : 1932 -1934.
[8] 袁永新, 贾西平, 田晓燕. 速发性矽肺 4 例报告[J]. 职业与健康, 2003, 19(1): 29 -30.

(**收稿**:2012-02-29;**修回**:2012-03-04)
(编辑 邓强庭)