

喉痹动物模型的研究现状及评价分析

吴嘉宝¹, 黄栋芳¹, 王烨¹, 孟杰¹, 卢金福^{2*}, 赵霞^{1*}

(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏省儿童呼吸疾病(中医药)重点实验室, 南京 210023;

2. 南京中医药大学药学院, 南京 210029)

[摘要] **目的:**总结、分析现有的喉痹动物模型,以期为中医药治疗及研究喉痹提供理论基础。**方法:**中医喉痹与咽炎相对应,以“喉痹、咽炎、动物模型”为主题词在线检索中国知识资源总库(CNKI),中国生物医学文献库(SinoMed)和PubMed数据库近5年为主的文献资料进行总结、分析。**结果:**目前模型动物可选择大鼠、家兔、豚鼠、猕猴。造模方法中常用的氨水直接造模法、氨水加松节油复合造模法和细菌注射法已较为成熟,吡啶诱导法、辣椒素诱导法、沙尘诱导法等亦各具特色。喉痹相关病证动物模型已有阴虚型及肝郁脾虚型慢喉痹大鼠模型的探索。现有模型评价指标多样,包括表观行为学、组织病理学、生化指标、血液流变学等。主要问题有模型构建方法与临床咽炎形成的病因、机制等存在差异,缺乏分子水平的病理机制阐述;造模给药浓度、给药频率及周期的确定等缺乏统一标准;部分评价指标的判别存在主观性;用于研究中医证型相关的喉痹病证动物模型不足。**结论:**喉痹相关动物模型有待进一步研究与完善,如深入探讨模型分子病理机制与临床发病机制的相关性或一致性,同种模型应统一造模给药浓度、频率,规范造模后的评价指标等;其次,与中医证候相契合的喉痹相关病证动物模型亟待探索,以利于中医药的基础研究。

[关键词] 喉痹; 咽炎; 动物模型

[中图分类号] G353.11;R766.14;R318.13;R285.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)18-0189-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20191036

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190104.1108.001.html>

[网络出版时间] 2019-01-06 7:01

Overview on Animal Models of Throat Impediment

WU Jia-bao¹, HUANG Dong-fang¹, WANG Ye¹, MENG Jie¹, LU Jin-fu^{2*}, ZHAO Xia^{1*}

(1. *Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Key Laboratory of Pediatric*

Respiratory Disease of Jiangsu Province, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. *School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China*)

[Abstract] **Objective:** To summarize and evaluate the existing animal models of pharyngitis, in order to provide a theoretical basis for its treatment and research of traditional Chinese medicine (TCM) for throat impediment. **Method:** Nearly 5 years of literatures were retrieved from databases of Chinese national knowledge infrastructure (CNKI), SinoMed and Pubmed, with throat impediment, pharyngitis, and animal model as medicine subject headings terms. **Result:** At present, rats, rabbits, guinea pigs and macaques are available as model animals. The main methods for reproduction of pharyngitis animal model were direct ammonia molding, ammonia and turpentine combined molding and bacterial injection molding. The rarely used methods, such as pyridine induction method, capsaicin induction method and sand dust induction method, have their own characteristics. The pharyngitis animal models with the combination of TCM syndrome include YIN-deficiency type and stagnation of liver-Qi with deficiency of spleen type. These models evaluation indexes were diverse, including apparent behavior,

[收稿日期] 20181205(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81774367);江苏省高等学校大学生创新训练计划项目(201710315006)

[第一作者] 吴嘉宝,在读硕士,从事中医儿科学研究,E-mail:104736006@qq.com

[通信作者] *卢金福,博士,副教授,从事中药药理学研究,Tel:025-85811933,E-mail:nzylj909@126.com;

*赵霞,博士,教授,主任医师,从事小儿肺脾系疾病研究,Tel:025-86618946,Email:zhaoxiah@126.com

histopathology, biochemical indicator and hemorheology. The problems of these modeling methods included the differences in etiology and mechanism between the methods of modeling and the formation of clinical patients, the lack of molecular level of pathological mechanism elaboration, the non-uniform standard for concentration, frequency and cycle of drug administration during modeling, the subjectivity in judging partial evaluation indexes and the deficiency of the pharyngitis animal model with the combination of TCM syndrome. **Conclusion:** Firstly, the existing models needed to be further improved by such means as the exploration of the correlation or consistency between the molecular pathology mechanism and the clinical pathogenesis, and the concentration and frequency of uniform model administration and uniform standard for evaluation indexes. Secondly, the pharyngitis animal model with the combination of TCM syndrome and modern medicine disease was urgently needed to be explored, in order to facilitate the development of basic research in TCM.

[**Key words**] throat impediment; pharyngitis; animal model

喉痹是中医耳鼻咽喉科常见疾病之一,临床以咽喉不适(干燥、热痛、异物感)及吞咽不利为主要表现。中医对喉痹的认识与诊疗历史悠久,喉痹之病名始见于《五十二病方》,而后《黄帝内经》对其多有论述,如“一阴一阳结,谓之喉痹”。该论述含义较广、概念笼统,后世医家对疾病的分类渐趋详细,对“喉痹”认识也趋于统一:就近代中医所说的“喉痹”而言,主要分为急喉痹、慢喉痹,分别与以咽喉部红肿疼痛为特点的多种咽喉部急、慢性炎症相对应。

喉痹作为临床常见病易于复发,为更好地研究其发病机制、探索新的治疗方案,构建合适的喉痹动物模型具有重要意义。目前常用的造模方法多在彭顺林等^[1]造模法的基础上进行变化,如氨水直接造模法、氨水加松节油复合造模法等;从病原学角度研究喉痹时多采用细菌注射法;吡啶诱导法、辣椒素诱导法在国内外均有一定的研究基础;刘雨娟等^[2]建立了沙尘诱导的慢喉痹大鼠咽炎模型。在动物模型的评价分析方面,薛淑媛等^[3]就构建急、慢性咽炎动物模型的常见方法进行了论述;梁璐等^[4]在对模型进行总结的同时介绍了急、慢性咽炎的发病机制;苗明三等^[5]对急性咽炎动物模型制备规范拟出草案;何强亮等^[6]就慢性咽炎动物模型的构建及检测指标进行分析。中医对喉痹治疗的临证经验丰富,与中医证型相关的喉痹病证动物模型应运而生,当前已有阴虚型^[7]及肝郁脾虚型^[8]慢喉痹大鼠模型的探索。临床上喉痹在小儿中亦有较高发病率,为了研究适合儿童的治疗方案,不同于常规造模中选用成年动物作为实验对象,顾海鸥等^[9]和郭珊珊等^[10]分别在氨水直接喷雾法和细菌注射法中构建了幼年大鼠喉痹动物模型用于实验研究。

本文主要参阅了近 5 年来的国内外文献,以模型复制方法为纲,以急、慢性喉痹相关动物模型为

目,对急、慢喉痹动物模型的研究现状进行总结及评价,分析各模型的特点,以期为进一步改进及探索更多喉痹相关动物模型提供合理的参考依据。

1 资料来源

以“喉痹、咽炎、动物模型”为检索词,网络检索中国知识资源总库(CNKI),中国生物医学文献(SinoMed)和PubMed数据库,以近5年的文献资料为主。

2 喉痹相关咽炎动物模型的分类

中医急喉痹、慢喉痹与现代医学中咽喉部的急、慢性炎症基本对应,因此研究人员主要利用多种致炎剂造成咽喉局部炎症来复制喉痹动物模型。

2.1 氨水诱导法

2.1.1 氨水直接喷雾法 氨水直接喷雾法因其操作简便,在喉痹研究中较常采用。因成人咽炎多见,故多以成年大鼠、家兔作为实验对象。顾海鸥等^[9]在研究药物对小儿咽炎作用的动物实验中采用了幼龄大鼠,本法采用直接喷洒氨水在咽部黏膜的方法,促使咽喉感受化学刺激,引起咽部黏膜水肿并发生炎症反应。

急喉痹模型(急性咽炎模型),常用体积分数为15%~25%的氨水溶液,以一定给药频率对动物咽部进行定量喷雾,现有文献中氨水浓度与给药频率的选择存在差异。以大鼠为实验对象,孙静等^[11]选定体积分数15%,每次3下,每天2次,连喷3d;张清民等^[12]选定浓度12.5%,每次2下,每天1次,连喷2d;章晨峰等^[13]选定浓度25%,每天2次,连喷3d,使喷雾面积达到150 mm²;梁德东等^[14]选定浓度25%,每次1下,每天2次,重复3d。以家兔为实验对象,田华洁等^[15]在前述操作上进行改进,先用戊巴比妥钠麻醉家兔(40 mg·kg⁻¹),通过扩鼻器扩张其口腔,在咽后壁上约1 cm处用微量移液枪

滴入浓度为6%的氨水溶液50 μL ,缓慢滴加涂抹(速度为10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$),以防液滴流入气管。每天滴加涂抹1次,连续2 d。

慢喉痹模型(慢性咽炎模型):具体操作与上述类似,区别是采用的氨水体积分数较低(2.5%~5%),造模周期更长(2~3周)。通过长期对咽部喷洒氨水,反复刺激黏膜导致炎症并转为慢性。以大鼠为研究对象,曹景诚^[16]选定氨水体积分数为2.5%,每次3下,连喷16 d,前8 d,2次/d,后8 d,1次/d,王艺等^[17]选定氨水体积分数为5%,每次2下,每天3次,连喷21 d。以家兔为实验对象,李雪梅等^[18]选定氨水体积分数为4%,每次3下,每天2次,连喷14 d。

模型特点,单一因素造模,操作方法简便安全,重复性好,尤其适用于急喉痹动物模型构建,与临床喉痹的病理表现基本一致。但若操作不当可造成动物口腔黏膜灼伤甚至肺损伤,以致呼吸抑制。田华洁等^[15]采用局部定位的方法以减少对动物的伤害。

2.1.2 氨水+松节油复合因素法 氨水+松节油复合因素法主要用于慢喉痹模型的构建,大鼠、家兔为主要实验对象。在复合因素的局部刺激下,咽部黏膜组织水肿充血,反复刺激以诱导慢性炎症。松节油作为油质化学因子,亦可对黏膜产生刺激,以其较强的穿透力渗入深部组织而发挥刺激作用,促进血液循环,一定程度上兼可消毒与抑菌。故在咽喉黏膜下注射氨水与松节油,可形成持续刺激,实现慢喉痹模型的构建。

刘元献等^[19]以家兔为实验对象,选定氨水体积分数为2.5%,前15 d每天上、下午各喷洒1次,每次3下,第8天起同时注射松节油0.5 mL。尤献民等^[20]以家兔为实验对象,选定氨水体积分数为2.5%,前17 d每天上、下午各喷洒1次,每次3下,第8天起同时注射松节油0.2 mL。

2.2 微生物感染法 微生物感染法在急、慢性喉痹模型的构建中均有应用。多采用注射病原微生物(细菌)的方法,菌种主要选择乙型溶血链球菌或金黄色葡萄球菌。实验动物可用大鼠、猕猴^[21]等。此法模拟临床上患者咽部的菌群失调,通过人为注射相应微生物,使机会致病菌成为优势菌群引起咽部炎症。其中多见的革兰氏阳性菌在抗体、高渗环境等作用下可转变为细菌-L型(细菌细胞壁缺陷型),该型可在咽部组织不断繁殖导致损伤,尤其与咽部的慢性反复性炎症关系密切。

急喉痹模型,马建丽等^[22]给成年大鼠注射乙型溶血性链球菌(含菌量为 $1 \times 10^8 \sim 1 \times$

$10^9 \text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$)。具体操作是用镊子翻开大鼠上颌口颊,使部分黏膜暴露,将带菌注射针头水平点刺黏膜,注射量为每只0.02 mL,操作以略有点状出血为度,24 h后进行2次感染;郭姗姗等^[10]在研究药物对小儿咽炎疗效的实验中选用幼年大鼠,操作方法同上。

慢喉痹模型,梁璐^[23]向大鼠咽喉黏膜水平方向注射乙型溶血性链球菌,溶液浓度为 $1 \times 10^8 \text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,注射量为每只20 μL ,每3 d注射1次,持续15 d。

模型特点,该方法与人类发病机制较为接近,表征也与临床相近。但造模后的动物因携带病原体而具有一定的传染性,会对实验操作者造成感染风险,实验安全性要求较高。另有临床研究表明,细菌感染性咽炎患者咽部菌量前三位分别是 α -溶血链球菌、副流感嗜血菌和肺炎链球菌^[24-26],但目前用后两种病原体造模的研究稀少。

2.3 吡啶诱导法 吡啶诱导法用于构建急喉痹模型。吡啶通过皮肤和黏膜吸收,接触易引起眼睛、呼吸道刺激损伤。Viswanatha等^[27]在探索吡啶+巴豆油组合诱导大鼠急性咽炎时,将生理盐水制备的不同浓度的吡啶与巴豆油以1:1比例混合,应用于大鼠咽黏膜表面。具体操作是将大鼠舌头拉出,用钝钳打开深部口腔,用无菌棉签蘸取约50 μL 混合液涂抹在大鼠咽部3次,每次停留5 s。实验室检测与数据分析表明,吡啶与巴豆油组合没有表现出良好的诱导效果与剂量相关性,但单纯吡啶诱导的急性咽炎结果可靠,且其严重程度与剂量呈正相关。吡啶诱导法的特点是操作简单,造模效果可靠。但其具有恶臭,接触对眼及上呼吸道有刺激作用,对健康有一定危害。

2.4 辣椒素诱导法 辣椒素诱导法可用于构建急喉痹模型。辣椒素具有神经元刺激性,局部应用辣椒素使大鼠咽壁黏膜下传入神经兴奋,辣椒素受体激活,黏膜下血流量增加^[28]。王志琪等^[29]将大鼠以乌拉坦(25%,4 mL $\cdot\text{kg}^{-1}$)麻醉后,用棉签蘸取浓度为0.3 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 的辣椒素溶液(含10%甲醇,10%聚山梨酯,80%蒸馏水)涂抹至大鼠咽部黏膜,每天2次,每次停留10 s,间隔30 min,重复3 d。

2.5 沙尘诱导法 沙尘诱导法用于构建因沙尘导致的慢喉痹模型。其机制可能为通过加快空气流速使咽部黏膜长期处于干燥状态,同时吸入的沙尘颗粒停滞在鼻咽和口腔处,引起黏膜慢性刺激。具体操作为刘雨娟等^[2]将大鼠暴露在风速8 m $\cdot\text{s}^{-1}$ 的沙

尘模拟实验平台(颗粒直径 $\leq 10 \mu\text{m}$),每天 2 h,持续 45 d。临床因空气污染、职业暴露等因素导致的慢性咽炎发病率呈现升高趋势,该造模方法的原理与临床发病诱因具有较强相关性和一致性,对于研究空气污染、职业暴露等因素引发的慢喉痹模型建立具有指导意义。

2.6 去势法 去势法通过对动物进行去势处理(摘除双侧卵巢或睾丸),影响动物体内激素水平,构建萎缩性喉痹动物模型(现已不属于慢性咽炎分类^[30])。常见操作有戚本明等^[31]用 10% 水合氯醛对雌性大鼠进行麻醉($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)后,对大鼠行双侧卵巢摘除术。

3 喉痹相关病证动物模型的分类

当前中医药对喉痹疗效、机制等方面的研究多选用前述造模方法,但中医具有其辨证论治的独特诊疗体系,与中医证型相关的喉痹病证动物模型应运而生,目前主要研究方向为阴虚型及肝郁脾虚型慢喉痹大鼠模型。研究者多选用前述造模方法对实验动物咽部造成局部炎性损伤,同时加入其他干预

因素,使之与中医证型临床相应。

3.1 阴虚型慢喉痹大鼠模型 通过对模式生物灌以甲状腺素,模拟临床常见的甲状腺机能亢进病,以构建阴虚型慢喉痹大鼠模型。甲亢在临床上常有多汗、怕热、心率加快、基础代谢增加等表现,以此构建的阴虚型慢喉痹大鼠模型与中医阴虚证临床表现一致。李凯等^[7]对大鼠采用甲状腺片溶液(每 100 g 体质量给予 1.25 mg)施以灌胃,同时用 2.5% 的氨水咽部喷雾,每次 3 下,每天 1 次,持续 15 d。

3.2 肝郁脾虚大鼠慢喉痹模型 在氨水直接喷雾法构建慢喉痹模型的基础上,施行慢性束缚 + 饥饿法,基于“情志”致病理论构建肝郁脾虚大鼠慢性咽炎模型。氨水直接喷雾刺激导致咽部炎性损伤,慢性束缚大鼠于狭小空间影响其情志,联合采用饥饿法影响其脾胃功能。3 种因素长期刺激,诱导实验动物产生应激反应实现造模。王艺等^[8]在氨水直接喷雾的基础上,将大鼠限制于束缚桶内,每天 8 h,并隔日禁食,复合干预至造模第 21 天。喉痹相关咽炎动物模型的分类及特点见表 1。

表 1 喉痹相关咽炎动物模型分类及特点

Table 1 Classification and characteristics of animal models of throat impediment

造模方法	制备方法	原理	特点	参考文献
氨水直接喷雾法	氨水直接喷雾于动物咽喉部	化学刺激引起咽喉黏膜水肿及炎症反应	操作简便易重复,适用于急性模型	[32-33]
氨水 + 松节油复合因素法	前 1/2 造模周期单一氨水喷雾,后 1/2 周期同步注射松节油	氨水喷雾基础上,油质化学因子松节油渗入深部黏膜组织,对咽持续刺激	适用于慢性模型	[34-35]
细菌注射感染法	直接在咽部注射细菌	引发菌群失调,细菌-L 型反复繁殖导致咽部组织损伤	与人类发病机制接近,但操作时存在感染风险,对实验安全性要求较高	[36]
吡啶诱导法	用棉签蘸取涂抹咽部	化学刺激引起黏膜损伤	操作简单,但吡啶有恶臭,接触对眼及呼吸道有一定刺激	[37]
辣椒素诱导法	麻醉后棉签蘸取涂抹咽部	兴奋咽喉壁黏膜下传入神经,激活辣椒素受体,刺激黏膜	接触对眼及呼吸道有刺激性	[38-39]
沙尘诱导法	将动物暴露于沙尘模拟环境中	模拟环境导致黏膜干燥,沙尘附着黏膜引起慢性刺激	对实验条件要求较高,适用于研究沙尘导致的慢性咽炎	[40]
去势法	麻醉后去势处理(摘除双侧卵巢)	影响动物激素水平导致咽部黏膜萎缩	适用于构建萎缩性模型	[12]

4 喉痹动物模型的评价指标

4.1 表观行为学 实验动物可见精神委顿,反应淡漠,摄食减少,饮水量增加,尿量增多,体质量减轻,体温降低。全身毛色变差,口周皮毛可见干枯脱落,口腔内分泌物明显增多,搔抓口部活动频繁等^[6]。

4.2 组织病理学 咽部组织充血肿胀肥大,光泽欠

佳。黏膜结缔组织间可见明显的炎性细胞浸润(中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞为主),腺体充血肥大,细胞浆内含有大量分泌颗粒。黏膜下血管扩张,血管通透性增加,血浆渗出明显。另可见鳞状上皮明显增生,钉突延长^[41]。

4.3 生化指标 血常规(红细胞、白细胞、淋巴细

胞、单核细胞等)方面的变化结果与临床诊断咽喉的病理生理表现基本一致;病理状态下白细胞介素-1 β (IL-1 β),白细胞介素(IL)-6,前列腺素 E₂(PGE₂)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)明显增高^[42];基质金属蛋白(MMP-2)在咽部组织中呈强阳性表达,血 C 反应蛋白(CRP)明显高于造模前^[43];模型动物咽部组

织中一氧化氮(NO)和髓过氧化物酶(MPO)的水平升高。血清检测表皮生长因子 EGF^[44],IL-4,免疫球蛋白(Ig)E 和白三烯(LTC₄)水平明显增高,肺组织中 IgE 以及咽喉组织中 IL-4^[45],核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65)^[46]水平亦显著升高。喉痹动物模型的相关生化指标见表 2。

表 2 喉痹动物模型的相关生化指标

Table 2 Biochemical indicators in animal models of throat impediment

类别	名称	采样部位	作用	参考文献
炎症细胞	白细胞(淋巴细胞、单核巨噬细胞、中性粒细胞)	血清	在外界刺激下变形脱颗粒,分泌炎症介质,表达黏附分子,引发咽部炎症	[47-48]
白细胞介素类	IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10	血清、咽喉黏膜组织	IL-1, IL-2, IL-6 介导 T, B 细胞活化、增殖,促进免疫性炎症等,IL-4, IL-10 抑制细胞免疫性炎症	[49-50]
肿瘤坏死因子	TNF- α	血清	诱导淋巴细胞产生黏附分子及趋化因子,促使炎性细胞向咽部聚集,启动瀑布式炎症级联反应	[51]
花生四烯酸及其环氧合酶代谢产物	LTC ₄ , PGE ₂	血清、肺泡灌洗液	扩张血管,增加黏膜下血管通透性,同时对炎症细胞具有趋化作用,扩大炎症反应,引发咽部痛觉	[52-53]
免疫球蛋白	IgM, IgA, IgG, IgE	血清、肺组织	激活补体,促进吞噬细胞吞噬细菌	[54-56]
补体系统	C3, C4	血清	溶解细胞、免疫黏附、缓激肽样作用及趋化作用	[54]
其他	5-羟色胺(5-HT), NF- κ B p65, CRP, COX-2, NO, MPO	血清、咽喉黏膜组织	5-HT 增加黏膜下血管通透性,促使血浆外渗,加重充血水肿,引发痛觉;NF- κ B p65 调控炎症反应,放大炎症信号,加重咽部组织损伤;CRP 激活补体途径,增强白细胞吞噬作用,在细菌感染时显著升高;COX-2 作为诱导酶,在组织损伤、炎症情况下表达增强;NO 增加局部血流、促进水肿;MPO 反映中性粒细胞的功能与激活	[54-55]

4.4 血液流变学 实验动物全血黏度、血浆黏度、全血还原黏度、红细胞聚集指数和红细胞刚性指数等均可见升高,表明造模后模型动物的血液呈现一定程度的“凝、聚、黏”状态。其中血浆黏度、红细胞聚集指数及变形性等因素对血液流变学的影响相对较大^[57]。

4.5 其他 通过摘除双侧卵巢构建的萎缩性喉痹模型中^[31],大鼠血清雌二醇(E₂)含量在去势 15 d 后显著降低,卵泡刺激素(FSH)含量显著升高。在 30 d 后可见咽黏膜区域发生萎缩性改变,黏膜层变薄,腺体减少或消失。阴虚型慢喉痹造模结果^[7]中,模型组大鼠三碘甲状腺原氨酸(T₃),甲状腺素(T₄),TNF- α 和血管内皮生长因子(VEGF)含量较空白组升高。行为学及血液流变学表现同前述。

5 讨论

中医之“喉痹”与现代医学的“咽炎”相对应^[58]。急性咽炎即“急喉痹”,多由于感受外邪(风热为主)或肺胃热盛,内外邪毒搏结于咽喉所致;慢性咽炎即“慢喉痹”,乃脏腑虚损、咽喉失养、痰凝

血瘀结于咽喉所致。根据病机,中医“喉痹”主要分为外感风热(寒)型、肺胃热盛型、肺肾阴虚型、脾气虚弱型、脾肾阳虚型、痰瘀互结型。中医通过辨证论治,采用疏风祛邪、清热解毒、止痛利咽、养阴润燥、健脾升清、解郁散结、通络行瘀等方法取得了良好的效果。

动物模型是动物实验研究的基础,急慢性喉痹(急、慢性咽炎)模型的制备已形成一系列,但现有的喉痹动物模型仍具有研究完善的空间,第一,模型的制备方法与临床咽炎形成的病因、机制等存在差异。咽炎病因分为感染性和非感染性^[27]。前者包括多重细菌、病毒等的感染,后者涵盖过敏、鼻后滴漏、环境暴露(烟尘、粉尘、雾霾、空气湿度不足等)、咽喉反流疾病、异物等多种因素。现有动物模型的构建原理与临床病因、机制的关联有待进一步阐述。第二,造模时给药浓度、给药频率及周期的选定缺乏统一规范的标准,如 2.1.1 项中急喉痹模型构建,氨水体积分数在 15% ~ 25%,每次喷药 1 ~ 3 下,研究人员对给药浓度、频次、周期的不同选择缺

乏解释说明。第三,部分评价指标的判别存在主观性,如咽部颜色变化、唾液分泌情况等。苗明三等^[5]对表观指标进行分级,并对各项指标进行权重分配,有利于对模型构建效果的统一评价,但同一指标的程度判定无法避免主观因素带来的误差。第四,在实验动物方面,已有用大鼠、家兔、豚鼠、猕猴进行造模并取得成功的文献研究,但尚未有小鼠喉痹模型的探讨。小鼠遗传背景明确,个体差异小,品种品系丰富,容易饲养繁殖且费用低廉,鼠免疫球蛋白、细胞类型、细胞因子等试剂较易购买,相比大鼠虽然有个体小不易观察的不足,但实验小鼠仍有造模研究的价值。

中医病证模型构建大致有2种思路,一是研究具有“四诊”表征的中医证候模型,即以模型表征对应中医证候;二是通过“以药测证”之法,逆向验证证候相关模型的符合性。目前中医药研究时采用的喉痹动物模型,对证型方面的考虑不足,这与喉痹临床证型多变,证出多门不无关系,也为进一步研究中医中药治则治法、疗效观察等带来局限。因此,秉承中医理论精髓的病证结合喉痹动物模型亟待深入探讨^[59]。

目前,急、慢喉痹的治疗多采用抗生素、抗病毒和糖皮质激素类药物,长期西医治疗存在易耐药、毒副作用较大的不足且有2次感染的风险。而中药疗效确切,并具有不易耐药、毒副作用小、价格低廉等优点,部分中药尚具有抗菌和免疫调节^[60]的作用,中医药治疗特有的整体优势可见一斑。运用现代方法对中医药治疗急、慢喉痹的疗效评估、机制探究等具有重要意义,因而如何完善喉痹动物模型就显得非常迫切。

【参考文献】

[1] 彭顺林,钟渠,熊大经,等.慢性咽炎动物模型研究[J].成都中医药大学学报,1999,22(1):52-54.

[2] 刘雨娟,王莉,姚兰,等.TNF- α 介导的NF- κ B通路在沙尘导致大鼠慢性咽炎中的作用及射干对其影响[J].中国老年学杂志,2018,38(17):4254-4256.

[3] 薛淑媛,朱丹,姚兴凤,等.急、慢性咽炎动物实验研究概况[J].北方药学,2016,13(10):121-122.

[4] 梁璐,朴晋华,马建丽.急性和慢性咽炎的发病机制与动物模型建立的研究现状[J].临床医药实践,2012,21(7):540-543.

[5] 苗明三,常兵杰,白明,等.急性咽炎动物模型制备规范(草案)[J].中药药理学与临床,2018,4(1):175-178.

[6] 何强亮,刘元献,杨龙,等.慢性咽炎动物模型的建立及相关指标观察分析[J].中国中西医结合耳鼻咽喉

科杂志,2017,25(1):17-20.

[7] 李凯,牛乐,贾利利,等.黄连阿胶汤不同煎煮方法对慢性咽炎大鼠的影响[J].中华中医药杂志,2014,29(3):879-881.

[8] 王艺,周家璇,黄春江,等.基于“情志致病”理论建立慢性咽炎肝郁脾虚大鼠模型的研究[J].云南中医学院学报,2018,41(1):11-15.

[9] 顾海鸥,岳枫,陈会丛,等.金蓝颗粒对幼龄急性咽炎模型大鼠急性咽炎的保护作用[J].中医学报,2018,33(11):2160-2163.

[10] 郭姗姗,包蕾,高英杰,等.金蓝颗粒对病毒感染幼年动物致急性咽炎模型的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(13):105-109.

[11] 孙静,郭姗姗,赵荣华,等.咽喉宁口服液用于急、慢性咽炎的药效学研究[J].中国药物警戒,2017,14(3):137-141.

[12] 张清民,崔倩,吴清和.消炎利胆分散片治疗急性咽炎的药效学研究[J].今日药学,2016,26(3):156-158,161.

[13] 章晨峰,曹亮,衡晴晴,等.胆木叶片抗大鼠急性咽炎作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(23):97-100.

[14] 梁德东,马钦海,于青田,等.银翘马勃散对急性咽炎模型大鼠的治疗作用及其抗炎镇痛解热的作用[J].中药药理学与临床,2017,33(3):8-11.

[15] 田华洁,黄晓星,王一飞,等.新型急性咽炎家兔模型的建立[J].世界临床药物,2014,35(4):241-244.

[16] 曹景诚.慢性咽炎辨证规律和复方增液颗粒药效学研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2016.

[17] 王艺,张玲,周家璇.咽炎消合剂对慢性咽炎大鼠咽黏膜修复作用的研究[J].现代中西医结合杂志,2015,24(15):1600-1602.

[18] 李雪梅,周建平.清音片祛痰及对家兔慢性咽炎模型的作用[J].中药药理学与临床,2012,28(4):11-13.

[19] 刘元献,李许娜,吴新风,等.天竺雾化剂对慢性咽炎动物模型的行为学及病理形态学影响[J].中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志,2016,24(3):164-167.

[20] 尤献民,邹桂欣,赵金明,等.射干提取物对慢性咽炎家兔血清中白细胞介素-4和免疫球蛋白E表达的影响[J].中国药业,2016,25(7):3-4.

[21] Kimmo V, Stephen F, Porcella M R. Graham et al. Longitudinal analysis of the group A Streptococcus transcriptome in experimental pharyngitis in cynomolgus macaques[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(25):9014-9019.

[22] 马建丽,黎春彤,李翔,等.扁鹊口服液对急性咽炎大鼠咽喉组织基质金属蛋白-9及血清IL-1 β 和TNF- α 表达的影响[J].解放军药科学学报,2017,33(2):138-141.

[23] 梁璐.复方利咽口服液对实验性急、慢性咽炎的疗效与作用机制研究[D].太原:山西大学,2012.

[24] 郭学青,何洪,高宏伟,等.186例慢性咽炎患者咽部分泌物微生物培养结果分析[J].实用临床医药杂

- 志, 2017, 21(5): 215-217.
- [25] 陆小虎, 杨建, 张秋, 等. 慢性咽炎患者咽部分泌物病原菌感染状况及血液中嗜酸性粒细胞和中性粒细胞表达情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(17): 2134-2136, 2139.
- [26] 王瑜. 慢性咽炎的咽部菌群多样性特征分析[D]. 大连: 大连医科大学, 2015.
- [27] Viswanatha G L, Thippeswamy A H, Rafiq M, et al. Novel experimental model of non-infectious pharyngitis in rats [J]. J Pharmacol Toxicol, 2014, 69(2): 189-195.
- [28] Bathala S, Eccles R. A review on the mechanism of sore throat in tonsillitis [J]. J Laryngol Otol, 2013, 127(3): 227-232.
- [29] 王志琪, 李赛, 田雪飞, 等. 不同工艺喉咽清口服液抗大鼠急性咽炎作用及对炎症因子的影响[J]. 中药材, 2016, 39(7): 1658-1660.
- [30] 孔维佳, 周梁. 耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 391-392.
- [31] 戚本明, 田兴华, 王正强, 等. 葛根总黄酮治疗去势大鼠萎缩性咽炎的实验研究[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2002, 10(6): 267-270.
- [32] 刘红, 邱建平, 何琴, 等. 白花龙胆提取物对大鼠急性咽炎模型作用研究[J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(3): 1-4.
- [33] 段美秀, 王志义. 中药咽炎饮抗大鼠急性咽炎的实验研究[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2014, 35(3): 366-369.
- [34] 谭务华, 熊惠秀, 谢志明, 等. 痰湿方对慢性咽炎及痰湿阻络型颈椎病模型兔炎性因子及椎间盘退变的影响[J]. 中医学报, 2018, 33(8): 1467-1471.
- [35] 刘涛. 三素中药单体复方对慢性咽炎的治疗作用[D]. 唐山: 华北理工大学, 2015.
- [36] 曾嘉炜, 李瑞明, 何秋毅, 等. 复方广东土牛膝合剂对急性咽炎模型大鼠的疗效研究[J]. 今日药学, 2018, 28(2): 84-87.
- [37] Viswanatha G L, Mohamed R, Thippeswamy A H M, et al. Ameliorative effect of Koflet formulations against pyridine-induced pharyngitis in rats [J]. Toxicol Rep, 2014(1): 293-299.
- [38] 兰艳丽, 涂晓敏, 谭正怀. 甘桔冰梅片防治急性咽炎的主要药效学研究[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2013, 21(4): 290-292, 310.
- [39] Sakai H, Misawa M. Effect of sodium azulene sulfonate on capsaicin-induced pharyngitis in rats [J]. Basic Clin Pharmacol, 2005, 96(1): 54-59.
- [40] 王莉, 刘雨娟, 姚兰, 等. 山豆根对沙尘所致慢性咽炎 NF- κ B 信号传导通路的影响作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(4): 471-473.
- [41] 邓可斌, 雷西熙, 田波, 等. 咽部刺营对慢性咽炎动物模型病理形态学影响的实验研究[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(8): 180-182.
- [42] 杨铭, 赫慧, 于德伟, 等. 利咽灵对慢性咽炎大鼠治疗作用的实验研究[J]. 中国药师, 2017, 20(3): 442-446.
- [43] 张莉, 杨持. MMP-2 和 CRP 在咽炎动物模型中的表达与意义[J]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2009, 3(3): 259-264.
- [44] 张岳, 唐年亚. 润咽汤对慢性咽炎家兔模型 EGF 表达的影响[J]. 光明中医, 2015, 30(11): 2315-2317.
- [45] 温雯, 马跃海, 朱亮赫, 等. 射干传统功效考证及其实验药理学验证[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(5): 846-850.
- [46] 张岳. 润咽汤对慢性咽炎家兔模型 NF- κ B/p65 表达的影响[J]. 中医临床研究, 2015, 7(23): 17-18.
- [47] 李向宇, 王新帅, 王颖. 陈皮利咽合剂对急性咽炎模型大鼠白细胞和咽黏膜影响的研究[J]. 新中医, 2013, 45(9): 145-147.
- [48] 张宏. 蓝芩口服液对慢性咽炎患者 IL-2、TNF- α 、免疫细胞亚群及临床症状的改善作用研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(2): 125-127.
- [49] 刘岩, 刘志洋. 罗汉果水提液对于急性咽炎模型大鼠的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 159-162.
- [50] 刘雪艳, 毛志刚, 王平, 等. 咽炎清滴丸对急性咽炎大鼠模型抗炎机制研究[J]. 药学研究, 2016, 35(6): 319-321.
- [51] 张彩虹, 古锐, 韦婷, 等. 大花龙胆治疗急性咽炎的有效部位研究[J]. 成都中医药大学学报, 2018, 41(1): 30-33, 127.
- [52] 李婷婷, 李伟妮, 李莲华, 等. 新雪片对急性咽炎大鼠模型细胞因子及病理学影响的实验研究[J]. 药学研究, 2015, 34(5): 256-258.
- [53] YU Z Y, XU W, WANG H B, et al. Resveratrol treatment inhibits acute pharyngitis in the mice model through inhibition of PGE₂/COX₂ expression [J]. Saudi J Biol Sci, 2017.
- [54] 武毛毛, 李春燕, 李凤英, 等. 蒙药玉簪花对急性咽炎模型大鼠的治疗作用及对细胞因子的影响[J]. 内蒙古大学学报: 自然科学版, 2018, 49(5): 507-514.
- [55] 孔庆新, 东方, 李思阳, 等. 荔枝草提取物治疗慢性咽炎的作用及机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(1): 109-113.
- [56] 温雯, 张颖, 邹桂欣, 等. 兔慢性咽炎模型实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(6): 1313-1315.
- [57] 王颖, 王新帅, 李向宇, 等. 陈皮利咽合剂对慢性咽炎模型家兔全血黏度和咽黏膜的影响[J]. 中医杂志, 2013, 54(12): 1051-1053.
- [58] 杨景森, 穆俊霞. 中医药治疗喉痹的临床研究进展[J]. 山西中医学院学报, 2017, 18(4): 70-74.
- [59] 彭丹虹, 王燕萍, 刘晓琪, 等. 中医病证结合动物模型评价体系的现状分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(8): 2027-2030.
- [60] 周悦芳, 范培红. 中药免疫调节作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 204-207.