

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.08.001
文章编号: 1005-8982(2020)08-0001-06

基础研究·论著

不同剂量博来霉素滴鼻诱导 C57BL/6 小鼠 肺纤维化模型的研究*

李梦媛, 韦荣飞, 杨星九, 朱瑞敏, 高苒

(中国医学科学院 医学实验动物研究所, 北京 100121)

摘要: 目的 探讨以鼻腔滴注博来霉素(BLM)的方式诱导 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型的最佳方法。
方法 7~8 周龄雄性小鼠 30 只, 分为 0.10 u BLM 组、0.25 u BLM 组、0.40 u BLM 组, 每组 8 只, 麻醉后分别一次性滴鼻 0.10、0.25 及 0.40 u BLM; 对照组 6 只, 给予等体积的磷酸盐缓冲液。观察并记录小鼠体重变化与生存率, 实验结束后处死小鼠。用甲醛固定肺组织, 苏木精-伊红染色评价肺组织炎症变化; Masson 染色评价肺纤维化变化。**结果** 给药后小鼠体重逐渐下降, 并在第 8 和 9 天再次上升, 第 14 天逐渐趋近于对照组, 第 28 天 BLM 组所有小鼠肺部组织产生纤维化。各组肺纤维化评分比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。但给药 0.25 与 0.40 u BLM 的小鼠死亡率高, 个体间差异较大, 不利于实验样本的收集与数据的统计分析。**结论** 0.10 u BLM 滴鼻给药是复制 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型便捷、理想的实验方法。
关键词: 肺纤维化; 博来霉素; 小鼠, C57BL/6; 滴注, 药物
中图分类号: R563.9 **文献标识码:** A

Research on C57BL/6 mice model of pulmonary fibrosis induced by nasal instillation of different dose-bleomycin*

Meng-yuan Li, Rong-fei Wei, Xing-jiu Yang, Rui-min Zhu, Ran Gao

(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Science Comparative Medical Center, Peking Union Medical College, Beijing, 100021, China)

Abstract: Objective To explore the optimal methods of pulmonary fibrosis model induced by nasal instillation of bleomycin in C57BL/6 mice. **Methods** Thirty 7 to 8-week-old male mice were divided into four groups. Three experimental groups were respectively treated with different doses of 0.10 unit, 0.25 unit, 0.40 unit of bleomycin by nasal instillation after anesthesia (eight mice in each group). The control group were treated with the same volume of PBS (six mice in the group). The body weight and survival rate in each group were examined. At the end of the experiment, all of the mice were sacrificed, and we fixed the lung tissues in formalin, then cut them into slices. The extent of pulmonary inflammation was evaluated by HE staining. And the extent of pulmonary fibrosis was evaluated by Masson staining. **Results** The body weights of mouse declined gradually but increased on the 8 to 9th day. Until the 14th day, the body weights of drugs were nearly at the same level as the controls. At the 28th day, all of the mice got pulmonary fibrosis in BLM groups, and there was no significant statistical difference between pulmonary fibrosis scores of each group ($P > 0.05$). But the death rates were higher in groups of 0.25 unit and 0.4 unit, and there was a big difference in each individual. It was not good for the collection of experimental samples and statistical analysis of data. **Conclusions** Nasal instillation of 0.10 unit bleomycin is a convenient and ideal method in establishing C57BL/6 mice model of pulmonary fibrosis.

Keywords: pulmonary fibrosis; bleomycin; C57BL/6 mice; infusion, drugs

收稿日期: 2019-10-24

* 基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (No: 81602460)

[通信作者] 高苒, E-mail: gaoran26@hotmail.com; Tel: 010-67776529

特发性肺间质纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种进展性和致死性的弥漫性肺间质疾病。早期以肺泡炎症为特征, 后期发展为大量成纤维细胞异常增殖和细胞外基质大量沉积^[1-4]。博来霉素 (Bleomycin, BLM) 是一种广谱抗肿瘤药物, 使用后期会导致肺纤维化, 广泛用于肺纤维化模型的相关研究^[5-8]。本实验采用一次性滴鼻不同剂量 BLM 的方式诱导 C57BL/6 小鼠的肺部纤维化模型, 旨在探讨复制肺纤维化模型的最优条件与方法, 为相关疾病的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 30 只, 7 ~ 8 周龄, 体重 18 ~ 20 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司 [SCXK (京) 2014-0004], 饲养于中国医学科学院医学实验动物研究所动物实验室 [SYXK (京) 2015-0035], 由实验动物管理与使用委员会批准 (IACUC 号 GR16001)。

1.1.2 主要仪器 微量移液器购自德国 Eppendorf 公司, Olympus BX50 显微镜购自日本奥林巴斯株式会社, Photometrics Scientific Cool SNAP 数码成像系统购自美国 Photometrics 公司。

1.1.3 主要试剂 硫酸博来霉素购自美国 Sigma 公司, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 购自美国 Gibco 公司, 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司, Masson 三色染色试剂盒购自北京雷根生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及给药处理 对照组 6 只小鼠, 每只鼻腔滴注 20 μ l PBS; 其余小鼠分为 3 组, 每组 8 只, 分别将 0.10、0.25、0.40 μ g BLM 溶解于 20 μ l PBS 鼻腔滴注。腹腔注射戊巴比妥钠麻醉小鼠后, 左手固定全身麻醉的小鼠, 保持其身体呈头上尾下的垂直状态, 右手执微量移液器, 选择 20 或 10 μ l 的一次性微量吸头进行操作。将 20 μ l BLM 溶液轻轻滴于小鼠鼻孔处, 若小鼠正常呼吸且逐渐吸入液体, 则可继续滴鼻操作, 直至 20 μ l 药物全部进入鼻腔。给药结束后, 持续饲养并观察小鼠, 每 2 天测量 1 次体重, 统计小鼠体重变化与生存率。计算小鼠给药后体重变

化百分比, 百分比 = 小鼠给药后第 1 天起每次测量的体重 / 第 0 天的体重 \times 100%。给药当天记作第 0 天, 第 28 天时处死小鼠, 解剖取其左肺放入 10% 中性甲醛中固定, 用于病理学检查。

1.2.2 HE 染色 取经甲醛固定的肺组织, 常规石蜡包埋、切片, 贴附于阳离子载玻片上。将石蜡切片置于烘箱中 60 $^{\circ}$ C 烘烤 1 ~ 2 h; 经二甲苯脱蜡, 各级乙醇至水洗, 步骤如下: 二甲苯 (I) 10 min, 二甲苯 (II) 10 min, 100% 乙醇 (I) 3 min, 100% 乙醇 (II) 3 min, 95% 乙醇 3 min, 80% 乙醇 3 min, 75% 乙醇 3 min, 蒸馏水洗涤, 苏木精染色 2 min, 流水冲洗, 1% 盐酸乙醇分化 10 s; 返蓝后, 用伊红染色液染色 2 min; 脱水, 透明: 80% 乙醇 2 min, 95% 乙醇 2 min, 100% 乙醇 (I) 2 min, 100% 乙醇 (II) 2 min, 二甲苯 (I) 5 min, 二甲苯 (II) 5 min。最后用中性树脂固定, 盖上盖玻片封片。

1.2.3 Masson 染色 将中性甲醛固定的肺组织用石蜡包埋后制成切片, 步骤同 1.2.2; 用 Weigert 铁苏木素染色液染色 5 ~ 10 min, 盐酸乙醇分化; 经氨水返蓝并水洗后, 用丽春红品红染色 5 ~ 10 min; 2% 乙酸溶液浸洗 1 min, 1% 磷钼酸水溶液分化 1 ~ 2 min; 2% 乙酸溶液浸洗片刻, 苯胺蓝染色液染色 1 ~ 2 min, 继续用 2% 乙酸溶液浸洗 1 min; 随后经脱水、透明, 中性树脂固定、封片。

1.2.4 肺组织炎症与纤维化评分 分别通过 HE 染色与 Masson 染色对各组小鼠的肺组织炎症和肺纤维化程度进行评价。肺组织炎症: 肺组织结构正常清晰, 肺泡完整, 未见病变, 计 0 分; 肺泡腔内有炎症细胞渗出, 少量炎症细胞浸润, 计 1 分; 肺泡间隔增宽, 肺泡腔内可见渗出的纤维素, 中量炎症细胞浸润, 计 2 分; 广泛性肺泡间隔增宽及融合, 纤维组织增生, 大量炎症细胞浸润, 计 3 分。肺纤维化: PBS 对照组肺组织结构正常, 仅在大血管和气管周围有少许蓝色胶原纤维, 计 0 分; 纤维组织增生仅局限性分布在肺泡间隔, 范围小, 计 1 分; 纤维组织为局灶性或小片状分布, 计 2 分; 纤维组织成片弥漫性分布, 重度纤维化, 计 3 分^[8]。

1.3 统计学方法

数据分析采用 GraphPad Prism 5.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 *t* 检验或方差分析; 计数资料以率 (%) 表示, 比较用

Log-rank χ^2 检验, 用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

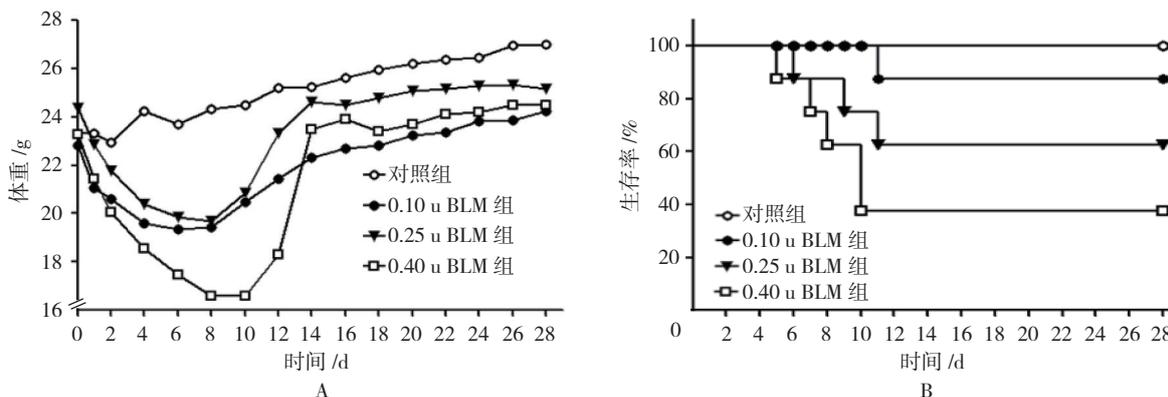
2.1 给药后小鼠的临床表现

给药后对照组小鼠皮毛光洁, 饮食饮水正常, 呼吸平稳, 体重逐渐增加, 表现正常。BLM 组小鼠皮毛暗淡杂乱, 饮食饮水均减少, 呼吸急促, 身体颤栗, 反应灵敏度下降, 体重逐渐降低, 甚至出现死亡, 存活的小鼠实验后期表现有所好转。

2.2 不同剂量 BLM 组小鼠的体重与生存率变化

第 0 天开始, 对照组小鼠体重逐渐增加, 其他各组小鼠的体重均呈下降趋势。第 6 ~ 8 天, BLM 组小

鼠体重最低, 并在第 8 和 9 天开始上升, 第 14 天逐渐趋近于对照组 (见图 1A)。对照组小鼠开始无死亡; 0.10 μ BLM 组第 11 天有 1 只小鼠死亡, 至实验结束生存率为 87.5%; 0.25 μ BLM 组小鼠第 6 天出现死亡, 第 28 天生存率为 62.5%; 0.40 μ BLM 组小鼠第 5 天开始出现死亡, 第 28 天仅剩 3 只存活, 生存率为 37.5%。0.10 与 0.40 μ BLM 组小鼠生存率比较, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.521$, $P=0.011$); 而 0.10 μ BLM 组与对照组小鼠生存率比较, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($\chi^2=1.000$, $P=0.317$) (见图 1B)。0.25 与 0.40 μ BLM 组小鼠实验中途出现死亡或呈现濒死状态的个体较多, 相同时间点内同组个体体重差异过大, 数据离散且缺失较多, 故无法有效地进行统计分析 (见表 1)。



A: 小鼠的体重变化; B: 小鼠的生存率变化。

图 1 各组小鼠的体重与生存率变化

表 1 各组小鼠体重变化百分比 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
对照组	99.923 \pm 0.417	98.287 \pm 0.306	103.933 \pm 0.414	101.564 \pm 0.885	104.365 \pm 0.947
0.10 μ BLM 组	92.098 \pm 2.459	90.365 \pm 3.608	86.427 \pm 3.755	85.443 \pm 4.122	85.850 \pm 4.087
0.25 μ BLM 组	93.726 \pm 1.428	89.444 \pm 4.404	83.927 \pm 5.740	81.733 \pm 7.355	81.123 \pm 8.129
0.40 μ BLM 组	92.200 \pm 0.554	86.301 \pm 0.743	79.565 \pm 3.278	74.888 \pm 4.440	71.545 \pm 7.659
组别	10 d	12 d	14 d	16 d	18 d
对照组	105.011 \pm 1.095	108.002 \pm 1.214	108.103 \pm 1.492	109.812 \pm 1.351	111.111 \pm 1.315
0.10 μ BLM 组	90.671 \pm 4.835	95.777 \pm 5.169	99.982 \pm 4.887	102.045 \pm 4.762	102.589 \pm 4.829
0.25 μ BLM 组	86.011 \pm 9.590	96.793 \pm 5.402	102.546 \pm 1.326	102.101 \pm 1.793	103.333 \pm 1.564
0.40 μ BLM 组	70.982 \pm 12.051	78.155 \pm 16.896	79.181 \pm 17.922	80.014 \pm 18.755	83.978 \pm 12.739

续表 1

组别	20 d	22 d	24 d	26 d	28 d
对照组	112.258 ± 1.650	113.031 ± 1.635	113.333 ± 1.847	115.545 ± 1.439	115.821 ± 1.320
0.10 u BLM 组	104.372 ± 5.054	105.067 ± 4.723	107.149 ± 4.766	107.556 ± 5.014	109.720 ± 5.087
0.25 u BLM 组	104.654 ± 1.662	104.901 ± 1.358	105.460 ± 1.721	105.524 ± 1.775	104.988 ± 1.723
0.40 u BLM 组	84.595 ± 13.357	85.412 ± 14.174	89.645 ± 10.367	95.263 ± 5.977	97.471 ± 3.773

2.3 小鼠肺组织的病理形态改变

给药后第 28 天,取小鼠的肺组织进行分析。对照组小鼠肺组织有完整清晰的肺泡结构和正常肺泡间隔,未见渗出物与病变(见图 2A)。0.10 u BLM 组小鼠的肺组织与对照组相比,肺泡间隔增宽,有炎细胞浸润现象(见图 2B)。0.25 u BLM 组小鼠肺组织有组织内出血、炎细胞浸润,肺泡间隔增宽及融合,肺泡结构被破坏(见图 2C)。实验中濒死的小鼠肺组织可观察到广泛性肺泡间隔增宽及融合,与对照组正常组织相比,肺泡已被完全破坏,大量炎细胞浸润(见图 2D)。

对照组小鼠的肺组织结构正常,仅在大血管和气管周围有少许蓝色胶原纤维,有完整清晰的肺泡结构和正常肺泡间隔(见图 3A)。0.10 u BLM 组小鼠肺组织有局灶性的肺泡间隔增宽,纤维组织增生现象(见图 3B)。0.25 u BLM 组小鼠肺组织有肺泡间隔增宽及融合,与对照组正常结构相比,肺泡结构被破坏,有纤维组织增生(见图 3C)。实验中濒死小鼠的肺组织与对照组相比,可见广泛性的肺泡间隔增宽并融合,结构被完全破坏,组织被大量的蓝色胶原纤维填充(见图 3D)。

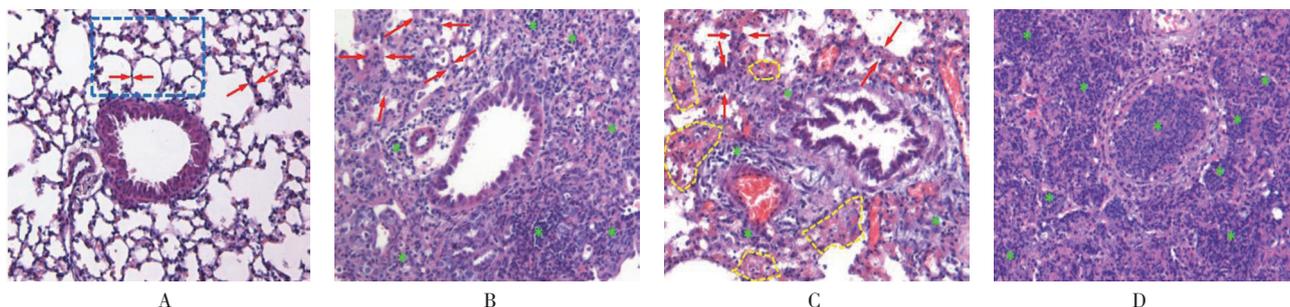


图 2 小鼠肺组织的炎症变化 (HE 染色 × 100)
 A: 对照组,虚线方框内为完整肺泡结构,箭头示正常肺泡间隔; B: 0.10 u BLM 组,箭头示肺泡间隔增宽,星号示蓝染细胞为炎症细胞浸润; C: 0.25 u BLM 组,虚线范围内的红色位置为组织内出血,星号示蓝染细胞为炎症细胞浸润,箭头示肺泡间隔增宽及融合,肺泡结构被破坏; D: 濒死小鼠肺组织,星号示炎症细胞浸润。

图 2 小鼠肺组织的炎症变化 (HE 染色 × 100)

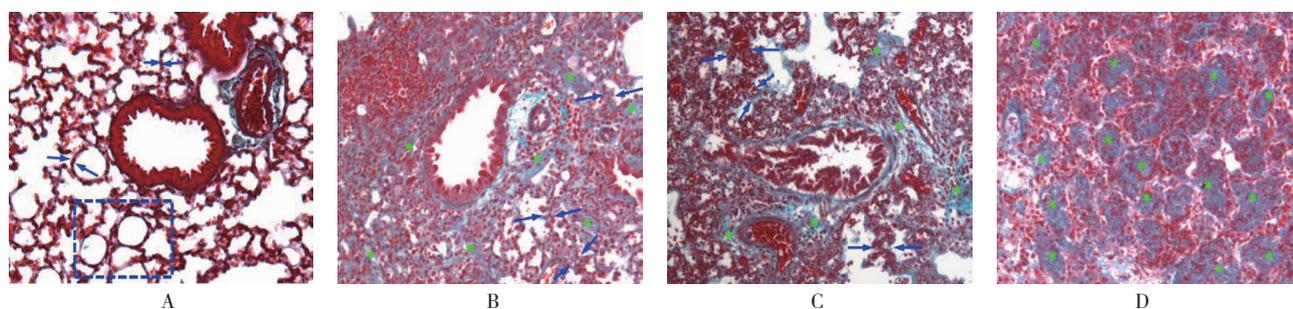


图 3 小鼠肺组织的纤维化变化 (Masson 染色 × 100)
 A: 对照组,虚线方框内为完整肺泡结构,箭头示正常肺泡间隔; B: 0.10 u BLM 组,箭头示肺泡间隔增宽,星号示纤维组织增生; C: 0.25 u BLM 组,箭头示肺泡间隔增宽及融合,星号示纤维组织增生; D: 濒死小鼠肺组织,星号示蓝色胶原纤维填充。

图 3 小鼠肺组织的纤维化变化 (Masson 染色 × 100)

2.4 肺组织炎症与纤维化评分

由于死亡小鼠的肺部组织会因变质等原因影响染色效果, 濒死小鼠的肺部组织不易收集, 故实验中未对所有死亡的个体逐一进行分析, 表 2 未对死亡个体做出评价。除对照组 6 只小鼠肺组织未发现炎症与纤维化以外, 其他 3 组小鼠生存至第 28 天时肺组织均发现不同程度的炎症与纤维化变化。3 组小鼠肺组织炎症反应与纤维化程度评分比较, 经方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 3 组小鼠肺组织炎症与纤维化评分比较
(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	炎症	纤维化
0.10 u BLM 组	7	1.714 ± 0.286	2.143 ± 0.261
0.25 u BLM 组	5	2.000 ± 0.316	2.200 ± 0.374
0.40 u BLM 组	3	2.333 ± 0.333	2.333 ± 0.333
F 值		0.825	0.072
P 值		0.462	0.931

3 讨论

采用 BLM 一次性给药的方式诱导小鼠肺纤维化模型的实验方法操作简便、可重复性强, 在探索肺纤维化相关细胞因子和信号通路等机制的研究中具有重要意义, 能够广泛应用于潜在药物与治疗手段的筛选^[9]。但 IPF 具有进展慢、不可逆的特点, 是目前 BLM 肺纤维化模型所不具备的^[10], 因此该模型还需继续完善。

不同种属的动物对于 BLM 诱导肺纤维化的反应也存在差异, C57BL/6、ICR、BALB/C 及 KM 等小鼠品系都能够作为实验对象用于肺纤维化的研究^[11-14]。有研究显示, 与其他品系小鼠相比较, C57BL/6 小鼠对 BLM 反应更加敏感, 肺纤维化变化明显, 因此更适合作为研究对象复制 BLM 诱导的肺纤维化模型^[14-16]。

本实验采取动物麻醉后一次性鼻腔滴注的给药方式, 使药物直接进入呼吸道, 剂量小, 操作便捷、可控, 麻醉时间较短, 对动物造成的伤害小。涂常力等^[8]采用多次尾静脉注射 BLM 的方式成功诱导肺纤维化, 但多次注射可能导致小鼠尾部组织溃烂坏死, 增加后期操作的难度, 还有可能导致小鼠感染死亡。经气管给药方式也是目前常用的肺纤维化模型复制方法之一, 该方法需要进行支气管插管或手术, 使支气管暴露便于注入药物。前者对实验人员的操作技巧要求较高, 多次插管失败可能直接导致实验动物死亡;

后者通过手术使支气管暴露在体外环境中, 存在一定的感染风险^[5, 13, 17]。苏敏红等^[18]采用腹腔多次注射 BLM 的方式复制模型, 操作简便, 但对药物的消耗量较大, 且存在一定的局限性^[5]。LI 等^[19]通过鼻腔滴注 BLM 的给药方式诱导小鼠肺纤维化模型, 但出于其他研究目的在给药的第 14 天即杀死实验动物收集样本。一般通过气道给予 BLM 后, 初期肺部组织以炎症反应为主, 给药后第 9 和 10 天左右炎症会向肺纤维化转换, 在第 28 天肺纤维化形成^[3, 11]。因此在第 14 天终止实验, 小鼠可能尚处在肺纤维化的初始阶段, 不能充分证明模型复制效果。本实验中, 第 11 天濒死小鼠的肺组织已有严重的纤维化变化, 表明小鼠肺组织在第 14 天左右已产生纤维化反应, 分析第 28 天的肺部组织样本后发现各 BLM 组小鼠均产生不同程度的肺纤维化, 证实该方法能够成功复制模型。

实验中采用 0.10 u BLM/ 只的给药剂量, 给药后该组小鼠体重逐渐下降, 第 6 ~ 8 天开始上升, 第 14 天逐渐与对照组比较无差异, 小鼠未出现死亡个体。小鼠第 14 天已产生肺纤维化反应, 但其他临床表现有所好转, 仍能继续生存。证实 BLM 0.10 u/ 只能够诱导所有小鼠肺组织产生炎症反应与稳定的纤维化变化; 同时不会造成过多的个体死亡, 保证整个实验过程中样本与数据的完备, 也利于后期的其他实验研究。虽然各 BLM 组肺纤维化程度评分比较无差异, 但 0.25 与 0.40 u BLM 导致小鼠死亡概率相对增加, 并造成死亡个体、濒死个体与生存个体间的各项实验指标差异较大, 对实验期间样本的收集与统计分析造成困难, 并且不利于后续实验的进行。因此, BLM 诱导肺纤维化模型的效果除与实验动物的种属及给药方式有关外, 也依赖于给药剂量。

综上所述, 采用 0.10 u BLM/ 只一次性滴鼻给药的方式复制 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型是便捷、理想的实验方法。虽然 IPF 的发病机制尚不完全明确, 临床上仍缺乏高效的治疗手段, 但是本实验中复制的动物模型可作为有效的技术手段, 为今后进一步研究 IPF 与其他相关疾病的发病机制及治疗手段提供有利条件。

参 考 文 献:

- [1] ANDRADE-SOUSA A S, ROGERIO PEREIRA P, MACKENZIE B, et al. Aerobic exercise attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis in Th2-dominant mice[J]. PLoS One, 2016, DOI: 10.1371/journal.pone.0163420.

- [2] HUANG X, WANG W, YANG H, et al. Sunitinib, a small-molecule kinase inhibitor, attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2016, 239(4): 251-261.
- [3] 陈孟毅, 孟爱民. 肺纤维化动物模型及研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(6): 88-93.
- [4] 白艳玲, 王春媛, 侯衍修, 等. 特发性肺纤维化体液免疫学变化的临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2015, 25(18): 41-45.
- [5] 李燕飞, 胡长平, 李峰. 肺纤维化动物模型研究进展 [J]. *中南医学科学杂志*, 2016, 44(2): 211-215.
- [6] 谢新宇, 王晶珂, 邓佩佩, 等. 抗肿瘤抗生素博来霉素的研究进展 [J]. *煤炭与化工*, 2016, 39(3): 76-78.
- [7] Latta V D, Cecchetti A, Ry S D, et al. Bleomycin in the setting of lung fibrosis induction: from biological mechanisms to counteractions[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 97(3): 122-130.
- [8] 涂常力, 刘香, 郑晓滨, 等. 静脉注射博来霉素诱导肺纤维化模型小鼠的稳定性评价 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(40): 6436-6443.
- [9] YILMEZ O, OZTAY F, KAYALAR O. Dasatinib attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. *Growth Factors*, 2015, 33(5/6): 366-375.
- [10] CHUA F, GAULDIE J, LAURENT G J. Pulmonary fibrosis: searching for model answers[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33(1): 9-13.
- [11] 张成华, 朱庆均, 田景振. 博来霉素诱导的肺纤维化动物模型评价及应用研究进展 [J]. *中南药学*, 2017, 15(4): 472-475.
- [12] GHARAEI M, ULENBRUCH M, PHAN S H. Animal models of pulmonary fibrosis[J]. *Methods Mol Med*, 2005, 117(4): 251-259.
- [13] 徐昌君, 万安霞, 朱星, 等. 不同剂量博来霉素诱导 KM 小鼠肺纤维化模型的比较 [J]. *广东医学*, 2016, 37(5): 15-18.
- [14] 肖洋, 张俊威, 王伟明. 特发性肺间质纤维化动物模型制作探讨 [J]. *吉林医学*, 2016, 37(4): 941-943.
- [15] 宋淑范, 张晓晔. 博来霉素诱导 C57BL/6 与 ICR 小鼠肺间质纤维化模型的比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(4): 289-291.
- [16] 宋桂芹, 徐志伟, 李泽, 等. 不同品系小鼠肺纤维化模型的比较研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(4): 13-16.
- [17] 陈孟毅, 林帅, 杜朋, 等. 博来霉素气管多次给药诱导小鼠肺纤维化模型 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14(2): 8-11.
- [18] 苏敏红, 江宁, 李洪涛, 等. 腹腔注射博来霉素诱导小鼠肺纤维化模型的长期稳定性 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(4): 512-519.
- [19] LI D, GUABIRABA R, BESNARD A G, et al. IL-33 promotes ST2-dependent lung fibrosis by the induction of alternatively activated macrophages and innate lymphoid cells in mice[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(6): 1422-1432.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 李梦媛, 韦荣飞, 杨星九, 等. 不同剂量博来霉素滴鼻诱导 C57BL/6 小鼠肺纤维化模型的研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(8): 1-6.