

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.02.013

感染后咳嗽寒饮伏肺证豚鼠模型的构建及验证

王亚杰¹, 史利卿^{2△}, 马建岭^{3□}, 季坤², 董尚娟², 李扭扭², 王丽云², 白逸晨³, 范钰晗²

1. 北京中医药大学第三附属医院, 北京市朝阳区安外小关街 51 号, 100029; 2. 北京中医药大学东方医院; 3. 中国中医科学院中医药信息研究所

[摘要] **目的** 建立感染后咳嗽寒饮伏肺证豚鼠模型并对其验证。**方法** 18 只实验豚鼠随机分为空白组、咳嗽寒饮组、中药组, 每组 6 只。除空白组外, 其余两组采用烟熏、脂多糖滴鼻及柠檬酸雾化法建立感染后咳嗽豚鼠疾病模型, 并在此基础上通过寒冷环境及喂食冰水联合干预 14 天建立寒饮伏肺证模型。造模结束次日, 中药组给予疏风温肺止咳颗粒 5.5 g/(kg·d) 灌胃, 空白组及咳嗽寒饮组均以等体积纯水灌胃, 各组均每日 1 次, 共 7 天。干预结束次日观察各组豚鼠一般情况, 采用柠檬酸激发咳嗽记录 5 min 内咳嗽次数, HE 染色观察肺组织病理改变, ELISA 法检测豚鼠血清中炎症因子 [包括白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 8 (IL-8)] 水平和肺泡灌洗液中瞬时受体电位 A1 (TRPA1) 通路及气道神经源性炎症相关因子 [包括 P 物质 (SP)、神经激肽 A (NKA)] 蛋白水平, RT-PCR 法检测气管及肺组织 TRPA1、SP、NKA mRNA 表达水平。**结果** 与空白组比较, 咳嗽寒饮组豚鼠出现明显的精神萎靡, 咳嗽, 口鼻可见白色黏液分泌物, 四肢不温, 蜷卧不动, 毛发凌乱无光泽、脱落, 耳口唇欠红润, 大便稀溏; 中药组上述表现较咳嗽寒饮组减轻。HE 染色显示咳嗽寒饮组肺泡壁增厚, 并可见大量炎症细胞浸润, 支气管管腔狭窄, 局部支气管管壁不完整, 有上皮细胞脱落; 中药组支气管管壁增厚, 有炎性细胞浸润, 但整体较咳嗽寒饮组有改善。与空白组相比, 咳嗽寒饮组豚鼠激发咳嗽次数明显增多, 血清中 IL-8、IL-1 β 水平升高, 肺泡灌洗液中 TRPA1、SP、NKA 蛋白及气管与肺组织 TRPA1、SP、NKA mRNA 表达均升高 ($P<0.01$); 与咳嗽寒饮组比较, 中药组豚鼠激发咳嗽次数明显减少, 血清中 IL-8、IL-1 β 表达升高, 肺泡灌洗液 TRPA1、SP、NKA 蛋白及气管与肺组织 TRPA1、SP、NKA mRNA 表达均降低 ($P<0.01$)。**结论** 采用联合烟熏+脂多糖滴鼻+柠檬酸雾化、寒冷刺激联合喂食冰水法可成功制备感染后咳嗽寒饮伏肺证病证结合模型。

[关键词] 感染后咳嗽; 寒饮伏肺证; 病证结合模型; 豚鼠

感染后咳嗽 (postinfectious cough, PIC) 是指呼吸道感染的急性症状消失后, 咳嗽仍迁延不愈, 临床多表现为刺激性干咳或少量白色黏液痰, 通常持续 3~8 周, 胸部 X 线片检查无异常, 属于亚急性咳嗽范畴, 部分患者咳嗽顽固, 甚至发展为慢性咳嗽, 对患者及社会造成沉重的经济负担^[1]。PIC 属于中医学“咳嗽”范畴, 中医学对咳嗽的认识历史悠久, 对其病因、症状、分类、转归都有详细论

述, 且积累了大量有效方药。在 2015 年及 2021 年的《咳嗽的诊断与治疗指南》^[2-3] 中也增加了中医药内容, 其指导内容逐渐深入细化, 中医药疗效优势逐渐得到重视和认可。《难经》云: “形寒饮冷则伤肺。” 课题组既往研究发现, 寒饮伏肺证占成人 PIC 的 12.4%, 为临床常见证型^[4], 据此提出寒饮伏肺证 PIC 的病机为外感、内伤或先天因素基础上出现肺脾阳虚、寒饮内伏, 复感形寒饮冷, 内外合邪, 致肺失宣降, 肺气上逆发为咳嗽, 且该证病机具有内外合邪、兼夹风邪、脏腑相关、虚实夹杂的特点。病证结合评价模式是现代医学背景下中医证候疗效研究的重要形式, 中医药病证研究中所应用的疾病动物模型应该具有相应的中医证候特征, 且

基金项目: 国家自然科学基金 (82474472); 中央高水平中医医院临床科研业务费 (2023-DYXY-005); 北京中医药大学“岐黄英才·名医培育计划” (Y2023B03)

□ 通讯作者: ponymlj@sina.com

△ 同等贡献

与人体临床证型相符^[5]。因此,本研究基于感染后咳嗽寒饮伏肺证风邪伏肺的疾病病机及寒饮伏肺的证候病机,采用寒冷环境及喂食冰水联合法建立寒饮伏肺证 PIC 模型,并借助瞬时受体电位 (TRP) 通路中的血管舒张相关因子瞬时受体电位锚蛋白 1 (TRPA1),结合本团队基于多年临床经验创立的针对寒饮伏肺病机的“疏风温肺止咳方”进行模型的评价,为该病证结合模型的深入研究提供依据。本研究通过北京中医药大学实验动物伦理审查 (审批号: 2023112810-4195)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 2 周龄雄性健康 Hartley 豚鼠 18 只, 体重 200~250 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2016-0011。饲养于北京中医药大学东方医院 SPF 级动物房, 温度 (22±2) °C, 湿度 60%, 光照时间白昼 12 h、黑夜 12 h。

1.2 药物

疏风温肺止咳方药物组成: 炙麻黄 6 g, 青风藤 15 g, 厚朴 6 g, 前胡 10 g, 茯苓 15 g, 桂枝 5 g, 白术 15 g, 炙紫苑 15 g, 炙款冬花 15 g, 清半夏 9 g, 黄连 3 g, 炙甘草 9 g, 上药浓缩制备为颗粒剂, 由河北晨光神农医药科技有限公司提供。

1.3 主要试剂及仪器

白细胞介素 8 (IL-8) ELISA 检测试剂盒 (批号 EK108-03)、白细胞介素 1β (IL-1β) ELISA 检测试剂盒 (批号 EK201B/3-01), 中国联科生物公司; 瞬时受体电位 A1 (TRPA1) ELISA 检测试剂盒 (批号 JM-07020G1), 中国江苏晶美生物科技有限公司; P 物质 (SP) ELISA 检测试剂盒 (批号 583751), 美国 Cayman chemical 公司; 神经激肽 A (NKA) ELISA 检测试剂盒 (批号 E-EL-H1884), 中国 Elab-science 公司; 脂多糖 (批号 713A032), 中国 Solar-bio 公司; 水合柠檬酸 (批号 5949-29-1), 中国沪试; 抗 TRPA1 (批号 nb110-40763), 美国 NOVUS 公司; HE 染色液 (批号 ZLI-9609), 中国中杉金桥生物科技有限公司; 抗 SP (批号 ab14184)、抗神经激肽 A (NKA, 批号 ab239503), 英国 Abcam 公司; Trizol (批号 10296028)、SuperScript III RT 反转录试剂盒 (批号 11752050)、UltraPure Agarose (批号 16500100)、Sybr qpcr mix (批号 4472920), 美国 ABI-Invitrogen 公司; 黄山香烟 (20 支/盒, 安

徽中烟工业有限责任公司)。

空气压缩式医用级雾化吸入机 (型号: PARITurboBOY N085), PARI GmbH 公司; 组织脱水机 (型号: ASP-300)、石蜡包埋机 (型号: EG-1150), 购于 LEICA 公司; 脱色摇床 (型号: TS-100), 中国海门其林贝尔仪器公司; 荧光定量 PCR 仪 (型号: Step One Software), 美国 Applied Biosystems 公司; 正置荧光显微镜 (型号: DM3000), 丹麦 LEICA 公司。

1.4 动物分组及造模

18 只 SPF 级豚鼠适应性饲养 3 天后, 采用随机数字表法分为空白组、咳嗽寒饮组、中药组, 每组 6 只。空白组豚鼠全程正常环境下饮食、进水, 不进行任何干预。咳嗽寒饮组及中药组豚鼠按照烟熏、脂多糖滴鼻、柠檬酸雾化^[6]建立感染后咳嗽豚鼠咳嗽高敏感性疾病模型, 再联合全程“形寒+饮冷”刺激^[7]建立寒饮伏肺证模型, 造模总时间 14 天。具体造模方法: 1) 烟熏: 造模第 1~7 天, 豚鼠放置于自制烟熏箱中, 黄山香烟 (每支含焦油 10 mg, 烟碱量 0.8 mg) 13 支以电动鼓风机持续送烟, 烟熏 15 min, 每日 1 次, 共 7 天。2) 脂多糖滴鼻: 造模第 8、11、14 天, 将豚鼠放入玻璃麻醉箱内, 把装有浸润乙醚棉球的小烧杯放入麻醉箱, 进行乙醚吸入浅麻醉后, 0.4 mg/ml 的脂多糖溶液以 1 ml/kg 滴入豚鼠单侧鼻腔 1 次。3) 柠檬酸雾化: 造模第 9、10、12、13 天, 将豚鼠置于自制动动物雾化箱 (长 73 cm、宽 54 cm、高 44 cm) 内, 用 0.8 mol/L 柠檬酸雾化 3 min, 每日 1 次激发豚鼠咳嗽。4) “形寒+饮冷”刺激: 造模第 1~14 天, 将豚鼠置于气温为 0 °C 的寒冷环境中每日 3 h, 并持续喂食冰水每日 12 h。每日观察豚鼠状态, 并于造模结束 24 h 内用 0.8 mol/L 柠檬酸雾化 3 min, 测定 5 min 内的咳嗽次数^[8]。

1.5 干预方法

自豚鼠造模结束次日开始, 中药组豚鼠予疏风温肺止咳颗粒灌胃, 以成人临床等效剂量, 折合生药量为 5.5 g/(kg·d), 按照 0.2 ml/100 g 配置为纯水溶液, 每日 1 次, 连续 7 日。空白组及咳嗽寒饮组豚鼠同时予纯水灌胃。

1.6 检测指标与方法

1.6.1 豚鼠一般情况 观察各组豚鼠形体消瘦, 精神萎靡, 咳嗽, 口鼻白色黏性分泌物, 四肢不温、蜷卧不动, 皮毛凌乱、无光泽、脱落, 耳口唇欠红润、大便稀溏^[9]等症状体征是否出现, 由上述表现观察其严重程度。

1.6.2 激发咳嗽次数 干预结束次日, 将各组豚鼠置于自制雾化箱内, 雾化吸入柠檬酸溶液(浓度为 0.8 mol/L) 3 min 激发咳嗽。豚鼠出现明显的腹部收缩伴伸脚、伸颈、张口甚则伴有清脆咳嗽声等特征性表现时, 则可记录咳嗽次数 1 次, 观测记录 5 min (含雾化时间 3 min) 内咳嗽的总次数。

1.6.3 ELISA 法检测豚鼠血清 IL-8、IL-1 β 水平 激发咳嗽次日, 各组豚鼠行腹主动脉取血, 采血针另一端连接采血管。静置 2 h 后, 4℃分离血清, -20℃冰箱保存。分别采用 IL-8、IL-1 β ELISA 试剂盒检测血清中 IL-8、IL-1 β 水平, 严格按照试剂盒说明书规范操作。

1.6.4 ELISA 法检测豚鼠肺泡灌洗液中 TRPA1、SP、NKA 蛋白水平 腹主动脉取血后处死豚鼠, 开胸暴露豚鼠气管及肺脏, 止血钳夹闭右侧肺门。5 ml 注射器吸取 5 ml 生理盐水后连接气管插管接口, 经气管将生理盐水缓慢注入左肺, 行左肺肺泡灌洗, 注入完毕停留 30 s 后回吸, 收集回吸的肺泡灌洗液。重复上述步骤 2 次, 共累计回吸 3 次肺泡灌洗液, 记录回吸总量。将取得的肺泡灌洗液 4℃、3000 r/min、半径 10 cm, 离心 10 min, 分离上清液, -80℃冰箱保存。分别采用 TRPA1、SP、NKA ELISA 试剂盒检测肺泡灌洗液中 TRPA1、SP、NKA 水平, 严格按照试剂盒说明书规范操作。

1.6.5 RT-PCR 法检测肺及气管组织 TRPA1、SP、NKA mRNA 表达 各组豚鼠以止血钳夹闭左侧肺门, 松开右侧肺门。暴露心脏, 连接注射器的灌注针插入右心室后用止血钳固定, 于左心耳剪一切口, 经右心室行肺循环灌流生理盐水, 直至灌流出的液体澄清结束灌注。剪下整个右肺及部分气管, 置于培养皿中, 分离右肺各叶, 取右肺中叶, 将其置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h; 将其余各肺叶组织剪成黄豆粒大小放入冻存管中, 置于液氮中, 后转移至 -80℃冰箱保存。严格按照试剂盒说明书提取组织 RNA, 检测吸光度及纯度, 计算浓度, 按照 cDNA 第一链合成试剂盒说明书经逆转录、PCR 扩增。结果采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法进行相对定量分析, 内参选择 β -Actin。引物序列信息见表 1。

1.6.6 肺组织病理形态 采用随机数字表法每组选取 4 只豚鼠, 肺及气管组织固定 48 h 后, 进行常规石蜡包埋、切片、HE 染色, 采用病理评分的方法^[10], 光镜下观察肺组织 HE 染色切片组织形态学改变, 根据上皮损伤、黏膜下水肿、炎症浸润程度判断炎症严重程度。

表 1 豚鼠肺及气管组织 TRPA1、SP、NKA mRNA 引物序列
Table 1 Primer sequence of TRPA1, SP, and NKA mRNA expression in lung and tracheal tissues among guinea pigs

引物名称	引物名称	产物长度/bp
TRPA1	上游 AACAAGGGCAGCACA	190
	下游: ATCAAACAGACACGACGAA	
SP	上游: ATCAGCATCCCGTTT	132
	下游: TGGTCCGACTGGTCTGAGTTCGTAGGCA	
NKA	上游: GAGTTCGTAGGCATCAGTTC	130
	下游: GTGGCTAAGACTCAGGAAAC	
β -Actin	上游: CAGAGGCATACAGGGACAG	271
	下游: GACGAAGCCCAGAGCA	

注: TRPA1, 瞬时受体电位 A1; SP, P 物质; NKA, 神经激肽 A。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。本研究所有数据均符合正态分布且方差齐, 采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组豚鼠一般情况比较

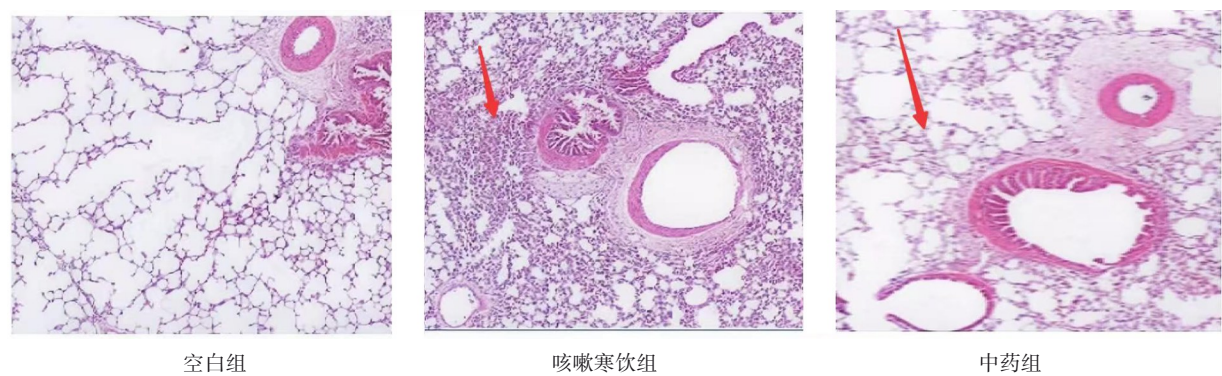
至测定咳嗽次数时, 各组豚鼠无死亡事件。咳嗽寒饮组形体消瘦, 精神萎靡, 时有咳嗽, 口鼻有白色黏性分泌物, 四肢不温, 蜷卧不动, 皮毛凌乱、无光泽, 耳口欠红润, 大便稀溏。中药组咳、口鼻白色黏性分泌物、四肢不温表现明显缓解, 无形体消瘦、精神萎靡、蜷卧不动。空白组豚鼠形体适中, 精神饱满, 呼吸平顺无声, 口鼻洁净干燥, 四肢温暖, 活动自如, 姿态舒展, 皮毛整洁、有光泽, 耳口红润, 大便成形。

2.2 各组豚鼠激发咳嗽次数比较

空白组豚鼠平均咳嗽次数为 (1.40 $\pm$ 0.35) 次, 中药组的平均咳嗽次数为 (2.69 $\pm$ 0.94) 次, 咳嗽寒饮组的平均咳嗽次数为 (13.86 $\pm$ 4.23) 次。与咳嗽寒饮组比较, 空白组、中药组的咳嗽次数均明显减少 ($P<0.01$); 中药组和空白组豚鼠平均咳嗽次数差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.3 各组豚鼠肺组织病理结果比较

图 1 示, 空白组肺泡壁正常, 无明显增厚, 肺泡之间的连接结构清晰, 未见炎症细胞浸润与出血, 支气管管腔内光滑, 黏膜上皮较为完整, 黏膜壁无增生及炎性细胞浸润。咳嗽寒饮组肺泡壁增厚, 并可见大量炎症细胞浸润, 支气管管腔狭窄,



注：箭头表示肺泡壁增厚，并可见炎症细胞浸润。

图1 各组豚鼠肺组织病理结果（HE染色，×100）

Figure 1 Histopathological results of lung tissue in guinea pigs from each group (HE Staining, ×100)

局部支气管管壁不完整，有上皮细胞脱落。中药组支气管管壁增厚，有炎性细胞浸润，但整体较咳嗽寒饮组有改善。

2.4 各组豚鼠血清IL-8、IL-1β水平比较

表2示，与空白组比较，咳嗽寒饮组、中药组血清IL-8、IL-1β水平均升高（ $P<0.01$ ）；与咳嗽

表2 各组豚鼠血清IL-8、IL-1β水平比较

Table 2 Comparison of serum IL-8 and IL-1β levels among guinea pigs in each group (pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	IL-8	IL-1β
空白组	6	36.00±0.87	19.88±0.63
咳嗽寒饮组	6	62.89±1.11 ^{a)}	36.44±1.17 ^{a)}
中药组	6	42.37±1.31 ^{a) b)}	24.56±1.30 ^{a) b)}

注：IL-8，白细胞介素8；IL-1β，白细胞介素1β。

a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与咳嗽寒饮组比较， $P<0.01$ 。

表3 各组豚鼠肺泡灌洗液中TRPA1、SP、NKA蛋白水平比较

Table 3 Comparison of TRPA1, SP, and NKA levels in bronchoalveolar lavage fluid among guinea pigs in each group (pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	TRPA1	SP	NKA
空白组	6	52.81±1.27	29.84±0.21	275.13±7.04
咳嗽寒饮组	6	93.22±1.43 ^{a)}	54.39±0.48 ^{a)}	427.31±6.94 ^{a)}
中药组	6	63.22±1.43 ^{a) b)}	36.78±0.50 ^{a) b)}	414.81±6.67 ^{a) b)}

注：TRPA1，瞬时受体电位A1；SP，P物质；NKA，神经激肽A。

a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与咳嗽寒饮组比较， $P<0.01$ 。

表4 各组豚鼠肺及气管组织TRPA1、SP、NKA mRNA表达比较

Table 4 Comparison of TRPA1, SP, and NKA mRNA expression in lung and tracheal tissues among guinea pigs in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	肺组织			气管组织		
		TRPA1	SP	NKA	TRPA1	SP	NKA
空白组	6	1.02±0.26	0.99±0.20	1.01±0.02	1.03±0.38	0.99±0.42	1.00±0.15
咳嗽寒饮组	6	1.75±0.46 ^{a)}	1.56±0.61 ^{a)}	1.76±0.59 ^{a)}	1.62±0.36 ^{a)}	1.63±0.61 ^{a)}	1.88±0.29 ^{a)}
中药组	6	1.35±0.33 ^{a) b)}	1.27±0.35 ^{a) b)}	1.44±0.31 ^{a) b)}	1.29±0.46 ^{a) b)}	1.25±0.26 ^{a) b)}	1.24±0.10 ^{a) b)}

注：TRPA1，瞬时受体电位A1；SP，P物质；NKA，神经激肽A。

a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与咳嗽寒饮组比较， $P<0.01$ 。

寒饮组比较，中药组IL-8、IL-1β水平均降低（ $P<0.01$ ）。

2.5 各组豚鼠肺泡灌洗液中TRPA1、SP、NKA蛋白水平比较

表3示，与空白组比较，咳嗽寒饮组肺泡灌洗液中TRPA1、SP、NKA蛋白水平均升高（ $P<0.01$ ）；与咳嗽寒饮组比较，中药组肺泡灌洗液中TRPA1、SP、NKA蛋白水平均下降（ $P<0.01$ ）。

2.6 各组豚鼠肺和气管组织中TRPA1、SP、NKA mRNA表达比较

表4示，与空白组比较，咳嗽寒饮组肺及气管组织中TRPA1、SP、NKA mRNA表达升高（ $P<0.01$ ）；与咳嗽寒饮组比较，中药组肺及气管组织中TRPA1、SP、NKA mRNA表达下降（ $P<0.01$ ）。

3 讨论

病证结合动物模型是指在中医药理论、现代医学理论与实验动物学知识的有机结合下,模拟出的与人类疾病表现和证候特征相同或相似的实验动物。目前在咳嗽领域的病证结合模型探索与研究也相继得以报道^[7, 11]。因小鼠气道上皮中较少的视黄酸受体(retinoic acid receptor, RARs),致其咳嗽声音微弱而难以与正常状态下的呼气反射做出分辨,大鼠的咳嗽测定也存在较多难点^[12];而豚鼠以其呼吸道黏膜更易受到外界刺激而出现咳嗽反射,即使在麻醉状态下也可正常表达其咳嗽反射功能,故建立咳嗽模型成功率高,因而近年来咳嗽相关研究多选择豚鼠为模型动物^[12-13]。故本研究采用豚鼠建立 PIC 寒饮伏肺证模型,并比较模型动物疾病及证候的相关症状、体征,分析气道炎症差异及寒冷通道 TRPA1 介导的气道神经源性炎症相关因子表达变化。课题组在多年临床经验的基础与“形寒饮冷则伤肺”及“病痰饮者,当以温药和之”的理论指导下,联合前期临床经验方祛风温肺方^[14]及经典方苓桂术甘汤创立了疏风温肺止咳方,已开展临床研究验证了其有效性及安全性^[15]。疏风温肺止咳方针对 PIC 寒饮伏肺的病机,针对病证进行处方用药。因此,针对病证的疏风温肺止咳方可作为干预药物以方测证,进行治疗 PIC 寒饮伏肺证的动物模型验证。

本团队根据《素问·至真要大论篇》中“诸病水液,澄澈清冷,皆属于寒”的理论基础,制订了基于病证结合的豚鼠行为学症状和体征表现,包含咳嗽,形体消瘦,精神萎靡,蜷卧不动,毛发凌乱无光泽、脱落为 PIC 疾病状态,而口鼻白色黏性分泌物、四肢不温、耳口唇欠红润、大便稀溏为寒饮伏肺证证型建立后证候状态。

咳嗽敏感性增高是感染后咳嗽的重要特征,而中医学咳嗽寒饮伏肺证的临床表现除了咳嗽外,还兼具遇冷则咳,或背冷,或咳痰清稀,或畏寒肢冷等特点。TRPA1 作为代表性的冷敏感通路,在受到寒冷刺激等外源或内源物质刺激时,继发通道开放及细胞外 Ca^{2+} 内流,进一步促使神经纤维去极化进而产生动作电位,刺激纤维末梢释放 SP、NKA 等神经肽递质,继而出现神经源性炎症^[16]。有研究^[17]指出,激活的 TRPA1 调控 SP、NKA 等炎症介质的释放从而刺激肥大细胞,进一步促进免疫淋巴细胞产生炎症因子,诱发神经源性炎症导致咳嗽敏感性增高,引发咳嗽持续发作。本研究结果显示,

咳嗽寒饮组 HE 染色可见肺组织结构破坏及炎症反应明显,ELISA 法测血清中炎症因子表达升高,肺泡灌洗液、气管、肺组织中冷通道 TRPA1 及其介导的气道神经源性因子 SP、NKA 的蛋白及基因表达水平升高;而中药组上述表达均明显降低,提示本研究联合造模方式可模拟 PIC 疾病过程中的病理变化,豚鼠出现神经源性炎症从而导致咳嗽敏感性增高,且针对 PIC 寒饮伏肺证病机的疏风温肺止咳方可降低神经源性炎症水平,有效降低模型动物咳嗽敏感性。本研究也存在一定局限性,因 PIC 涉及的机制较多, PIC 寒饮伏肺证的特征性机制仍不明确,后续将通过体外实验完善探索该模型的机制内涵。

综上,本研究通过烟熏、脂多糖滴鼻、柠檬酸雾化、0℃冷冻及喂食冰水法建立了 PIC 寒饮伏肺病证结合模型,通过行为学、病理学以及以方测证方法进行验证,认为本模型可模拟与人类疾病 PIC 疾病表现和寒饮伏肺证候特征相似的病理特点,可为该病证的实验研究提供模型制备参考。

参考文献

- [1] KWON NH, OH MJ, MIN TH, et al. Causes and clinical features of subacute cough [J]. Chest, 2006, 129 (5): 1142-1147.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2015)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(5): 323-354.
- [3] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2021)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2022, 45(1): 13-46.
- [4] 王亚杰, 史利卿, 季坤, 等. 基于因子分析及聚类分析的 241 例感染后咳嗽中医证素证型研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(8): 2795-2801.
- [5] 别玉龙, 赵福海, 史大卓. 浅论中西医现代临床“病证结合”思维模式[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(3): 561-562.
- [6] 仲坤, 齐越, 李昭, 等. 感染后咳嗽大鼠模型建立研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(2): 23-26.
- [7] 王丽云, 史利卿, 王颖, 等. 慢性咳嗽寒饮伏肺病证结合动物模型的建立与评价[J]. 现代中医临床, 2021, 28 (1): 44-50.
- [8] 潘宗奇, 蔡陈浩, 冯贤慧, 等. 寒饮蕴肺证大鼠模型建立方法探索[J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(5): 919-922, 972.
- [9] 崔钰伟, 臧凝子, 李品, 等. 病证结合动物模型宏观表征指标评价方法研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42 (6): 195-198.
- [10] 张庆祥, 于少泓, 孙广仁, 等. 哮喘病寒饮蕴肺证大鼠

- 病理模型的建立与评价[J]. 山东中医杂志, 2006, 25(2): 120-122.
- [11] 周婷, 王孟清, 罗银河. 肺热阴虚型感染后慢性咳嗽大鼠模型的建立及评价[J]. 中医药导报, 2016, 22(5): 16-20.
- [12] 陆月明. 咳嗽的动物模型研究方法[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12(5): 480-481.
- [13] MORICE A. Chronic cough: epidemiology [J]. Chron Respir Dis, 2008, 5(1): 43-47.
- [14] 季坤. 祛风宣肺方治疗感染后咳嗽的疗效观察及对气道神经源性炎症的作用研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [15] 王亚杰. 疏风温肺止咳方治疗感染后咳嗽寒饮伏肺证的临床及药效机理研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.
- [16] GRACE MS, DUBUIS E, BIRRELL MA, et al. Pre-clinical studies in cough research: role of transient receptor potential (TRP) channels [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2013, 26(5): 498-507.
- [17] DE LOGU F, PATACCHINI R, FONTANA G, et al. TRP Functions in the broncho-pulmonary system [J]. Semin Immunopathol, 2016, 38(3): 321-329.

Establishment and Validation of a Guinea Pig Model of Post-Infectious Cough with the Cold-Fluid Retention in the Lung Syndrome

WANG Yajie¹, SHI Liqing², MA Jianling², JI Kun², DONG Shangjuan², LI Niuniu², WANG Liyun², BAI Yichen³, FAN Yuhan²

1. Beijing University of Chinese Medicine Third Affiliated Hospital, Beijing, 100029; 2. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 3. Institute of Information on Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences

ABSTRACT Objective To explore the establishment and validation of a guinea pig model of post-infectious cough with the cold-fluid retention in the lung syndrome. **Methods** Eighteen experimental guinea pigs were randomly divided into a blank group, a cough with cold-fluid group, and a traditional Chinese medicine (TCM) group, with six guinea pigs in each group. Except for the blank group, guinea pigs were subjected to smoke exposure, intranasal lipopolysaccharide instillation, and citric acid aerosol inhalation to establish a post-infectious cough disease model. Based on this, combined cold exposure and administration of ice water were applied for 14 days to induce the cold-fluid retention in the lung syndrome. On the day following model establishment, the TCM group was given *Shufeng Wenfei Zhike Granules* (疏风温肺止咳颗粒) at a dose of 5.5 g/(kg·d) by gavage, while the blank group and the cough with cold-fluid group received equal volume of distilled water. All groups were treated once daily for 7 consecutive days. On the day after intervention, the general condition of the guinea pigs was observed. Citric acid challenge was used to induce coughing, and the number of coughs within 5 minutes was recorded. Lung tissue pathological changes were examined by hematoxylin-eosin (HE) staining. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure serum inflammatory cytokines, including interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-8 (IL-8), as well as protein levels of the transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) pathway and airway neurogenic inflammation-related factors, including substance P (SP) and neurokinin A (NKA), in bronchoalveolar lavage fluid. The mRNA expression levels of *TRPA1*, *SP*, and *NKA* in tracheal and lung tissues were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Compared with the blank group, the guinea pigs in the cough with cold-fluid group showed significant lethargy, coughing, white mucous secretions from the mouth and nose, lukewarm limbs, curled and inactive posture, disheveled and dull hair with shedding, pale ears, mouth, and lips, and loose stools. These manifestations were alleviated in the TCM group compared with the cough with cold-fluid group. HE staining showed thickening of the alveolar walls with extensive inflammatory cell infiltration, narrowed bronchial lumens, partial disruption of bronchial walls, and epithelial cell shedding in the cough with cold-fluid group. In the TCM group, bronchial wall thickening and inflammatory cell infiltration were observed, but overall pathological changes were improved when compared with the cough with cold-fluid group. Compared with the blank group, the cough with cold-fluid group showed a significantly increased number of induced coughs, elevated serum levels of IL-8 and IL-1 β , and increased protein and mRNA expression of TRPA1, SP, and NKA in bronchoalveolar lavage fluid, tracheal tissue, and lung tissue ($P < 0.01$). Compared with the cough with cold-fluid group, the TCM group showed a significantly reduced number of induced coughs, decreased serum levels of IL-8 and IL-1 β , and reduced protein and mRNA expression of TRPA1, SP, and NKA in bronchoalveolar lavage fluid, tracheal tissue, and lung tissue ($P < 0.01$). **Conclusion** A combined approach of smoke exposure, intranasal lipopolysaccharide instillation, and citric acid aerosol inhalation, together with cold stimulation and ice-water administration, can be used to establish a disease-syndrome combined model of post-infectious cough with the cold-fluid retention in the lung syndrome.

Keywords post-infectious cough; cold-fluid retention in the lung syndrome; disease-syndrome combined model; guinea pig

(收稿日期: 2025-06-30; 修回日期: 2025-12-09)

[编辑: 焦爽]