

王赛雯,梁军,侯亚义,等. 系统性红斑狼疮脑病动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(4): 519-527.

Wang SW, Liang J, Hou YY, et al. Progress in research into animal models of systemic lupus erythematosus encephalopathy [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 519-527.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.04.014

系统性红斑狼疮脑病动物模型研究进展

王赛雯¹, 梁军², 侯亚义³, 窦环^{3*}

(1. 南京大学生命科学学院, 南京 210023; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院 风湿免疫科, 南京 210008;
3. 南京大学医学院, 南京 210093)

【摘要】 系统性红斑狼疮脑病(systemic lupus erythematosus encephalopathy, NPSLE)是自身免疫疾病系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)累及神经系统发生损害的后果。目前,国内外学者利用不同 NPSLE 动物模型,可以观察到局部脑组织神经元凋亡、突触减少、白细胞浸润等组织学改变以及情绪异常、学习记忆能力下降等行为学改变。本文对不同类型 NPSLE 动物模型的构建方法进行了总结,阐明了各自构建条件下产生动物模型的主要特点,分析了 NPSLE 动物模型在疾病发病机理研究、治疗靶点探索等方面的应用,为探寻 NPSLE 的发病机制、筛选治疗药物、开发个性化诊疗方案提供合适的模型参考。

【关键词】 系统性红斑狼疮脑病;动物模型;小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 04-0519-09

Progress in research into animal models of systemic lupus erythematosus encephalopathy

WANG Saiwen¹, LIANG Jun², HOU Yayi³, DOU Huan^{3*}

(1. School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210023, China. 2. Department of Rheumatology and Immunology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008. 3. Medical School, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210093)

Corresponding author: DOU Huan. E-mail: douhuan@nju.edu.cn

【Abstract】 Systemic lupus erythematosus encephalopathy (NPSLE) is a nervous system complication of systemic lupus erythematosus (SLE). Various animal models of NPSLE have been developed that are characterized by histological defects, such as neuronal apoptosis and fewer synapses; brain leukocyte infiltration; and behavioral defects, such as emotional abnormalities and impaired learning and memory. In this article, we summarize the method used to construct animal models of NPSLE, describe the principal characteristics of each, and discuss the use of these models in the study of the pathogenesis of the disease and the identification of potential therapeutic targets. These models are useful means of defining the pathogenesis of NPSLE, screening potential therapies, and developing techniques for personalized diagnostic and treatment plans.

【Keywords】 Systemic Lupus erythematosus encephalopathy; animal models; mice

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(32070883), 江苏省六大大人才高峰高层次人才项目(YY-021), 江苏省青年医学人才项目(QNRC2016005), 江苏省卫生健康委医学科科研项目(H2019060), 南京大学2020年本科教育教学改革项目(拔尖创新型人才培养模式在免疫学学科实验教学中的改革与实践), 南京大学“十三五”实验教学改革研究重点课题(SY201918)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China(32070883), Jiangsu Province Six Talent Peaks Project(YY-021), Jiangsu Medical Youth Talent(QNRC2016005), Research Project of Jiangsu Province Health Committee(H2019060), Undergraduate Education and Teaching Reform Project of Nanjing University in 2020 (the Reform and Practice of the Training Model of Top-Notch Innovative Talents in the Experimental Teaching of Immunology), Nanjing University "Thirteenth Five-Year Plan" Experimental Teaching Reform Research Key Project(SY201918).

【作者简介】 王赛雯(1998—), 女, 硕士, 研究方向: 细胞与分子免疫。Email: MG20300029@nju.edu.cn

【通信作者】 窦环, 女, 博士, 高级工程师, 硕士生导师, 研究方向: 细胞与分子免疫。Email: douhuan@nju.edu.cn

系统性红斑狼疮脑病 (systemic lupus erythematosus encephalopathy, NPSLE) 是自身免疫疾病系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 累及中枢神经系统以及周围神经系统发生弥漫性或局灶性损害的后果, 患者普遍出现包括认知、记忆减退以及抑郁和焦虑样情绪异常等 19 种神经精神综合方面的障碍, 此外, NPSLE 可能为系统性红斑狼疮的首发症状, 并独立于 SLE 活跃状态和器质性病理特征^[1-4]。目前, 对于 SLE 动物模型已有相关总结^[5-6], 然而, 对于 NPSLE 动物模型的总结较为缺乏。为了研究 NPSLE 发病机制和评估治疗方案的应用效果, 国内外学者通常选用小鼠进行疾病动物模型制备。NPSLE 模型主要分为人工诱导型和自发型两种类型, 本文通过总结不同类型 NPSLE 小鼠模型构建方法, 阐明了各种模型的优势特点; 基于上述 NPSLE 模型, 评述了 NPSLE 疾病机理研究的新进展以及治疗策略选择的新依据, 从而为探寻 NPSLE 发病机制、筛选治疗药物、开发个性化诊疗方案提供合适的模型参考。

1 NPSLE 动物模型的评价

NPSLE 最常见的神经精神 (neuropsychiatric, NP) 症状显示为大脑弥漫性受累, 症状包括抑郁、认知和智力缺陷、精神病和癫痫, 此外局灶性神经损害也常常出现, 包括运动障碍、脊髓病、四肢瘫痪、中风和神经病变 (颅脑和外周)^[7-8]。在 NPSLE 小鼠模型中, 同样具有与 NPSLE 临床患者相符的神经精神障碍。

对于 NPSLE 模型的评价, 通常可借助免疫组化、脑部电子计算机断层扫描、磁共振波谱成像技术等观察小鼠脑组织损伤、海马等脑区神经元的凋亡以及炎症反应程度; 小鼠精神异常的评价方式则包括空间运动和探索行为评价、学习记忆评价与情绪行为评价; 空间运动和探索行为可由平衡木实验^[9]、阶梯实验^[10]来评测; 学习记忆包括记忆保持能力和认知能力, 可通过 Morris 水迷宫^[11]、T-迷宫^[12]、物体识别测试^[13]、Barnes 迷宫测试^[14-15]以及圆形平台实验^[16]来评测; 情绪行为包括抑郁、焦虑以及社会性心理等可通过社会剥夺实验^[17]、强迫游泳实验^[18]、社会偏好测试^[19]以及高架十字迷宫测试^[20]来评测; 值得注意的是, 旷场实验^[9, 21]既可用于空间运动和探索行为评价也可用于情绪行为评价。

2 NPSLE 动物模型的分类及特征

2.1 人工诱导型 NPSLE 小鼠模型

人工诱导型小鼠 NPSLE 模型采用自身抗体、抗原或降植烷 (Pristane)、咪喹莫特 (imiquimod, IMQ) 等生物试剂在小鼠体内注射进行诱导。总体来看, 人工诱导型的 NPSLE 模型小鼠的 NP 特点通常会表现为记忆认知能力的减退。

2.1.1 自身抗体

研究表明, 渗透到大脑中的自身反应性抗体, 会诱导神经元死亡与小胶质细胞活化, 伴随着中枢神经系统炎症和脑缺血乃至脑室周围区域的神经变性、脑组织损伤, 并最终导致精神病或癫痫等 NPSLE 症状^[22-24]。因此, 可以直接通过侧脑室局部注射自身抗体的方法诱导 NPSLE。由于脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 注射后可刺激星形胶质细胞-VEGF-A 通路, 诱导血脑屏障的破坏及功能改变^[25-26], 研究人员还可采用 LPS 外周诱导协同静脉注射自身抗体的方法建立 NPSLE 小鼠模型。以下总结自身抗体诱导 NPSLE 模型的 NP 特点。

(1) 自身抗体侧脑室局部诱导: 抗 DNA 抗体、抗 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (phosphoglycerate dehydrogenase, GAPDH) 单抗、抗 ATP 单抗等均被证明可作为 NPSLE 的抗体标志物, 可用于诱导建立 NPSLE 动物模型, 模型小鼠 NP 特点主要为记忆、认知损伤。DNA16/6-ID 抗体为带有 16/6-ID (IgG1/k) 的人源单克隆抗体^[27], Kivity 等^[28]利用抗 DNA16/6-ID 抗体对 C3H 小鼠进行右侧侧脑室注射, 实验结果发现抗 16/6-ID 抗体脑内注射的小鼠表现出选择性认知障碍, 即视觉识别和空间记忆障碍。此外, Berry 等^[29]与 Delunardo 等^[13]分别利用 3~4 个月龄雄性/雌性 C57BL6 成年小鼠在立体定向仪上^[30]向右侧脑室注射抗 ATP 单抗/抗 GAPDH 单抗。行为学分析结果表明: 抗 ATP 抗体与抗 GAPDH 抗体分别处理小鼠后, 均出现记忆与认知损伤, 而抗 GAPDH 抗体还可诱导小鼠出现孤僻静止、高警觉等情绪特征相关的行为改变。

(2) 自身抗体协同 LPS 外周诱导: 抗核糖体 P 蛋白抗体 (抗 P 抗体) 可作用于神经元表面 P 抗原 (neuronal surface P antigen, NSPA), 抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl D-aspartate receptor, NMDAR) 抗体可与神经元的 NMDAR 结合, 以上两种抗体均介导神经损伤通路^[31-32]。研究证实抗 P 抗体与

NMDAR 抗体诱导的 NPSLE 小鼠模型均表现出依赖于海马的灵活记忆受损。Bravo 等^[33]、Kowal 等^[34]选用 6 ~ 8 周龄 BALB/c 雌性小鼠静脉注射抗 P 抗体/抗 NMDAR 抗体 IgG, 且在抗体注射后间隔 48 h 两次腹腔注射 LPS, 剂量为 3 mg/kg。水迷宫与一系列学习任务^[35]测试表明, 抗 P 抗体与 IgG 抗体协同 LPS 诱导 NPSLE 模型小鼠均出现柔性记忆缺陷, 具体表现为海马依赖的灵活记忆受损和学习能力减退。

2.1.2 自身抗原

注射自身抗原目的往往是诱导相应自身抗体的生成, 多采用弗氏佐剂包括完全弗氏佐剂 (Complete Freund's adjuvant, CFA) 与不完全弗氏佐剂 (Incomplete Freund's adjuvant, IFA), 以 MAP (Multiple-Antigen Peptide, MAP) 肽与 DWEYS 两种形式来交联抗原。MAP 为多聚抗原肽, 能够产生高滴度、高亲和力抗体; DWEYS 为 8 分支 MAP 交联肽, 常用于与抗 NMDAR 抗体相应的抗原交联, 在研究 NMDAR 对 NPSLE 的致病机制上有相关报道^[36]。目前, 均采用自身抗原协同 LPS 的诱导方式来构建 NPSLE 小鼠模型。

研究证实, 神经元中间丝蛋白 (intermediate neuro filament alpha-internexin, INA)、NMDAR 抗原以及抗磷脂抗体相关抗原 $\beta 2$ 糖蛋白 ($\beta 2$ Glycoprotein-I, $\beta 2$ -GPI) 均可诱导 NPSLE 小鼠模型, 自身抗原协同 LPS 方式构建模型的 NP 特点共同之处在于都具有空间记忆、认知障碍。Lu 等^[37]与 Kowal 等^[35]别选用 6 ~ 8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠与雌性 BALB/c 小鼠腹腔注射交联 INA/NMDAR 抗原的 MAP 肽, 第一次免疫使用 CFA 后每两周 1 次使用 IFA 增强免疫效果, 随后用 LPS 处理。在 LPS 处理后 1 ~ 2 周进行组织学、认知和行为学检查。行为学检测(水迷宫、T-迷宫任务、旷场实验和平衡木实验)中, Ina + LPS 与 NMDAR 抗原 + LPS 处理的 NPSLE 小鼠的均出现明显地语言和空间方面的学习记忆缺陷, 此外, Ina + LPS 处理的小鼠模型还表现出探索和运动协调障碍。 $\beta 2$ -GPI 也称为载脂蛋白 H, 是抗磷脂抗体结合主要辅助因子^[38], 可作为自身抗原成分诱导体内抗磷脂抗体的生成^[39], Shrot 等^[40]使用 3 月龄雌性 BALB/c 小鼠, 后足皮下注射 CFA 乳化的 $\beta 2$ -GPI 构建 NPSLE 模型小鼠。行为学评估(阶梯试验、T 迷宫)结果表明, $\beta 2$ -GPI 免疫的小鼠 NP 特征为过度活动、焦虑及导航与工

作记忆能力减退, 且过度活动可作为该模型鼠的典型甄选指标。

2.1.3 Pristane

Pristane 能够在小鼠体内诱导广泛的 SLE 特异性自身抗体如抗 dsDNA、抗 Sm、抗 RNP 和 IgG 等^[41-43], 因此, Pristane 是作为诱导 SLE 动物模型的常见手段。已有研究发现 Pristane 诱导的小鼠模型同样也具有 NPSLE 症状。Luciano 等^[15]对 8 ~ 12 周龄雌性 BALB/c 小鼠, 利用腹腔注射 pristane 或 pristane 协同 LPS 诱导的方式构建小鼠模型, 分别在 7 周与 12 周进行组织学与行为学检测, 观察到 Pristane/Pristine+LPS 处理的小鼠除了产生大量的抗 Sm 抗体、蛋白尿等典型的 SLE 疾病表现外, 在小鼠海马组织中均发现与学习和记忆障碍相关 NR2A (NMDAR 的多肽链) 亚单位表达下调, 同时, Bames 迷宫测试显示 7 周龄的两组小鼠均出现短期记忆下降, 且 Pristane+LPS 组相较于 Pristane 组的短期记忆下降更为明显并可维持到 12 周。可见, Pristane 或 Pristane 协同 LPS 处理方式均可作为构建 NPSLE 动物模型方法, 且 Pristane 协同 LPS 处理方式更为优选。

2.1.4 IMQ

Toll 样受体 7 (Toll-like receptor 7, TLR7) 激动剂咪喹莫特 IMQ 已被用于许多狼疮研究^[44-45]。最新的研究发现 IMQ 还可诱导 NPSLE 小鼠模型, 主要表现为认知障碍。Qiao 等^[46]利用 9 周龄 C57BL/6 雌性小鼠, 涂抹 5% IMQ 乳膏 (每只 1.25 mg) 于小鼠右耳背部皮肤, 每 3 d 给药 1 次, 连续给药 8 周, 即可建立 SLE 动物模型。研究人员发现 IMQ 诱导的狼疮小鼠 S100 β 水平显著升高、NSE 水平显著降低伴有中枢神经系统紊乱, 组织学观察显示大脑皮层和海马 DG 区的神经元萎缩、核染色质凝聚; 行为学 (MWM 测验和恐惧条件反射测验) 研究发现其模型小鼠空间学习记忆能力减弱。此外, IMQ 模型小鼠海马区 Epdr1、Gm5900 和 Enpp2 基因的表达与 AD 疾病特征一致。上述结果表明, IMQ 诱导的狼疮小鼠存在 NPSLE 认知功能障碍。

2.2 自发型 NPSLE 小鼠模型

基因突变型狼疮小鼠具有先天性发病的特点, 主要种类包括 MRL/MpJ-Fas^{lpr} (MRL/lpr)、BxSB、NZB $\times$ NZW F1 (NZB/W F1) 三种, 小鼠的 NP 症状表现也各有不同, 发病时间早晚不一, 且具有性别偏好性。BxSB 和 NZB/W F1 小鼠的脑结构出现缺陷

和神经退化明显^[47-48], MRL/lpr 小鼠的 NPSLE 研究中证实, 自身免疫疾病本身也会作用于中枢神经系统, 从而导致 MRL/lpr 小鼠神经退行性变化^[49]。

2.2.1 MRL/lpr 小鼠

MRL/lpr 小鼠由 Lg/J、C3H/Di、C57BL/6 和 AKR/J 等几个小鼠品系杂交而成^[50], 其与 BxSB 不同, 雌鼠发病时间明显早于雄鼠, 并产生针对 dsDNA 和 Sm 的自身抗体^[51-52]。MRL/lpr 小鼠的 NP 症状有早期抑郁和快感等强化系统减弱, 冷漠和独处、缺乏活动并伴有一定的空间学习障碍^[53]。MRL/lpr 小鼠在早期(8 周龄)即表现出明显的抑郁情绪, 即缺乏好奇心、对新事物冷漠^[54]等典型 NP 特征; 至 10 周龄时, MRL/lpr 小鼠即出现以视觉空间记忆障碍为特征的认知缺陷^[55]。

MRL/lpr 小鼠的 NP 症状多数是由自身免疫疾病所引发。MRL/lpr 雌性小鼠在 8 周后可检测到明显自身免疫相关的自身抗体(如抗 dsDNA、NMDAR 抗体), 并随周龄增加而增加^[54]。此品系小鼠 NPSLE 发病的原因一方面可能与其自身免疫激活有关, 通过慢性炎性疼痛或促炎神经肽对脑功能产生影响, 另一方面可能与中枢神经系统结构性改变有关, 包括中脑边缘多巴胺能通路损坏、边缘系统的炎症反应与脑萎缩或海马、皮质脑区神经元活动出现改变等, 最终影响情绪或认知^[54, 56-57]。此外, 白细胞浸润引发的脑生长迟缓、脑功能异常也被证实为是 MRL/lpr 小鼠出现神经变性的诱因^[58]。

2.2.2 BxSB 小鼠

BxSB 小鼠, 又称为 MP(BxSB/YAA)小鼠, 是(B6×Sb/Le)F1 到 Sb/Le 回交的重组近交系小鼠^[59]。BxSB 小鼠出现 NPSLE 症状具有年龄递进性以及性别特异性, 高龄雄性 BxSB 小鼠的 NP 特征表现为运动技能以及空间学习能力减退。研究表明, 26 周龄 BxSB 雄性小鼠的空间学习能力退化, 且脑组织中呼吸链末端的 CO 复合体酶活性下降、数量减少; 此外, 随着年龄的增长, 血清中抗核抗体水平明显升高, 空间学习与血清对自身核抗原的反应性之间存在显著的相关性。而上述现象均未在 6 周龄、26 周龄雌性以及 6 周龄雄性 BxSB 小鼠出现^[60]。

病因研究发现, 4 月龄 BxSB 雄性小鼠在靠近脑室的大脑区域、血管周围区域和海马体颗粒细胞中均存在高水平的免疫球蛋白和炎症反应; 而在 1 月龄的 BxSB 雄性小鼠脑中并没有发现上述现象^[61]。

BxSB 雄性小鼠的大部分 NP 症状与衰老症状相似, 因此, BxSB 小鼠也可以作为研究病理性衰老的模型动物。

2.2.3 NZB/WF1 小鼠

NZB/WF1 小鼠是新西兰黑(NZB)和新西兰白(NZW)两品系杂交获得, 由于 MCH 基因之间复杂的基因突变和相互作用, 小鼠体内产生大量自身抗体和免疫复合物沉积, 最终进展为严重自身免疫性疾病^[62]。研究表明, NZB/WF1 雌性小鼠在 31 周龄时, 出现较严重的肾炎、肾损伤以及高滴度的血清抗 dsDNA 和 IgG 等, 这些都是 SLE 病理损伤的表现^[63]。至 10 ~ 18 月龄时, 该品系小鼠会产生学习记忆缺陷、平衡运动能力减弱等异常的 NP 症状, 且中枢神经系统功能障碍的发生频率、严重程度与年龄呈正相关。此外, 大脑、海马血管和脉络丛单核细胞浸润, 以及皮层、海马和下丘脑中神经肽水平降低等现象也常常出现, 这也可能是产生 NP 症状的诱因^[64-65]。因此, NZB/WF1 小鼠也适用于狼疮脑病相关研究, 然而, 由于 NP 特征出现较晚, 相关研究进展有限。NPSLE 动物模型的分类及特性的关键信息详见表 1。

3 NPSLE 动物模型的应用

3.1 NPSLE 的致病机制研究

研究发现, 多种自身抗体与自身抗原, 包括针对核酸、核糖体 P 蛋白的自身抗体、NMDAR 抗体、GAPDH 以及膜成分如磷脂与糖蛋白抗体等以及自身抗原 INa, 被证实与 NPSLE 有关——自身抗体(抗原)可通过多种方式引起海马等脑区的神经元凋亡, 造成脑组织损伤, 进而诱发小鼠产生认知功能障碍、记忆障碍和情绪变化等 NP 症状, 具体机制如下所述。

Bravo 等^[33]利用抗 P 抗体诱导的 NPSLE 小鼠模型实验证实, 抗 P 蛋白与海马神经元表面表达的 NSPA 结合可以诱导神经元胞浆钙水平增加, 进而引发神经元凋亡。此外, 抗 P 抗体还可以通过抑制蛋白质合成的方式导致功能性细胞损伤和细胞凋亡^[68-69]。Kowal 等^[34-35]利用 NMDAR 抗体 IgG 诱导的 NPSLE 小鼠模型发现, 抗 NMDAR 抗体可介导 caspase-3 等 NMDAR 下游通路激活, 引发海马 CA1 免疫球蛋白沉积、炎症浸润与神经元凋亡。除 IgG 外, NMDAR 相关抗体 IgA、IgM 也会诱导神经元突触减少以及脑炎^[70]。同时, Lu 等^[37]与 Berry 等^[29]

分别利用自身抗原/自身抗体构建的 NPSLE 小鼠模型证实:INa 与抗 ATP 抗体均可以在小鼠体内诱发脑神经元凋亡,其中抗 INA 抗体是通过抑制轴突生长和轴突延长的方式诱发细胞凋亡,而抗 ATP 抗体作用下小鼠脑组织细胞骨架肌动蛋白成分发生改变,这可能是由于酸性应激下脑内产生大量自由基

使得细胞凋亡。此外,Delunardo 等^[13]利用 GAPDH 单抗诱发 NPSLE 小鼠模型,发现抗 GAPDH 单抗诱导了神经突起的回缩,具体机制为:抗 GAPDH 单抗可以阻断 GAPDH 分子与中枢神经系统中层粘连蛋白与其他黏附和突触分子的结合,从而改变神经元的可塑性,进而使得神经功能受损^[71-72]。

表 1 NPSLE 小鼠模型
Figure 1 Mouse models of NPSLE

模型类型 Model type	人工构建方式/自发型小鼠品系 Manual method/Spontaneous strain	性别(♀/♂) Gender(♀/♂)	NP 特点 NP features
人工诱导型 Artificially induced	静脉注射自身抗体+LPS Intravenous injection autoantibodies(Ab) + LPS	抗 P 抗体 Anti-P Ab	♀ 柔性记忆缺陷 ^[33] Flexible memory deficits
		IgG	♀ 柔性记忆缺陷 ^[34] Flexible memory deficits
		抗 DNA16/6-ID 抗体 Anti-DNA16/6-ID Ab	♀ 视觉、空间选择性认知障碍 ^[28] Selective cognitive impairment of visual and spatial aspects
	脑内注射自身抗体 Brain injection Ab	抗 ATP 单抗 Anti-ATP Ab	♂ 长期记忆障碍 ^[29] Long-term memory impairment,
		抗 GAPDH 单抗 Anti-GAPDH Ab	♂ 视觉学习和识别处理能力缺陷,高静止、警觉性 ^[13] Defects in visual learning and recognition processing ability, high static and alertness
		INA	♀ 学习和记忆缺陷,探索行为和运动协调能力异常 ^[37] Learning and memory deficits, abnormal exploration behavior and motor coordination
	腹腔/皮下注射自身抗原+LPS Intraperitoneal/subcutaneous injection autoantigen+LPS	NAMDR 抗原 NAMDR antigen	♀ 语言、空间记忆缺陷 ^[35] Language and spatial memory defects
		β2-GPI	♀ 过度活动、焦虑、导航和工作记忆受损 ^[40] Overactivity, anxiety, impaired navigation and working memory
	腹腔注射 Pristane 或 Pristane+LPS Intraperitonea injection Pristan/Pristane+LPS		♀ 短期记忆障碍 ^[66] Short-term memory impairment
	涂抹 5%IMQ 乳膏 5% IMQ cream was applied to the skin of the ear of mice		♀ 空间学习与认知障碍 ^[46] Spatial learning disabilities and cognitive impairment
自发型 Spontaneous		MRL/lpr	♀ 早期抑郁、冷漠、独处、缺乏活动,空间学习障碍 ^[53-55,67] Early depression, apathy, solitude, lack of activity, spatial learning disabilities
		BxSB	♂ 空间学习障碍 ^[60-61] Spatial learning disabilities
		NZB/W F1	♀ 学习和记忆缺陷 ^[64-65] Learning and memory deficits

3.2 NPSLE 治疗策略的评价

最近,研究人员发现了若干 NPSLE 的特异性靶点,通过抑制其表达或阻断其功能可以减轻 NPSLE 症状。利用自发型狼疮脑病小鼠或自身抗体诱导的 NPSLE 小鼠模型,两种神经受体抑制剂 NMDAR 拮抗剂 Memantine^[35] 和鞘氨醇 - 1 - 磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 受体抑制剂 FTY720 (Fingolimod)^[73-74] 均可通过口服或腹腔注射的给药方式缓解 NPSLE 症状、阻断疾病发展。此外,敲除 NPSLE 相关基因,如雌激素受体 α (Estrogen

Receptor α, ERα)^[75]、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 Lipocalin2 (Lcn2)^[76] 等,也被证实可有效阻断 NPSLE 的疾病进展。

研究者发现,雌激素受体 α 基因敲除后有效限制了 NPSLE 的疾病进展。Cunningham 等^[75] 将 C57BL/6 品系的 ERα 基因敲除 (ERα KO) 小鼠与 MRL/lpr 小鼠进行回交所得 MRL/lpr 小鼠模型,选取雌性 ERα+/+ 或 ERαKO 型小鼠幼龄状态进行实验,通过对小鼠的行为学与脑组织炎症情况的分析,发现缺乏功能性 ERα 的小鼠情绪控制及学习记

忆能力明显增强;海马 CA1 区和齿状回的小胶质细胞炎症反应明显减少,并认知障碍的进展减缓,证实了 ER α 是狼疮易感雌性小鼠的关键介质,在免疫细胞的激活或发育中起关键作用,这对于狼疮脑病的治疗具有一定的应用前景。

Lipocalin 2 (Lcn2) 也可作为 NPSLE 的治疗靶点。Mike 等^[76]证实 Lcn2 是神经精神性狼疮的致病决定因素和生物标志物。B6.Sle1/Sle3 (Sle1,3) 小鼠是由 NZM2410 自发性 SLE 模型中的两个狼疮易感基因位点导入非自身免疫性 C57BL6 小鼠而形成的双基因品系^[77],研究人员将 Sle1,3 品系小鼠建立为 NPSLE 模型,Sle1,3 小鼠表现出抑郁样行为,空间能力和再认记忆受损,这些缺陷在 Sle1,3-LCN2KO 小鼠中得到缓解。这证明 Lcn2 是 NPSLE 中有害神经免疫反应的主要调节因子,缺乏 Lcn2 可有效减弱免疫炎症反应以及脑部的 NPSLE 症状。

FTY720 作为 S1P 受体抑制剂可发挥免疫调节作用^[78],具有抑制淋巴细胞进入中枢神经系统的作用^[79]。MRL/lpr 小鼠研究表明,FTY720 可有效治疗 NPSLE。研究人员通过每周 3 次,连续 12 周对 B6.MRL/lpr 小鼠口服灌胃 FTY720 (2 mg/kg),发现 FTY720 给药处理 B6.MRL/lpr 小鼠后,皮层、海马和杏仁核中的神经元损伤都有所减轻。旷场实验、尾部悬挂测试结果也证实模型小鼠的抑郁样情绪症状得到改善^[73]。此外, Mike 等^[74]通过腹腔注射 FTY720 (3 mg/kg) 的方式处理 10 周龄 MRL/lpr 小鼠,每周 3 次,连续 4 周。实验结果同样证实 FTY720 对 NPSLE 具有治疗效果,但值得注意的是,尽管 FTY720 对 NP 症状有所改善,但大脑皮层和海马区的细胞因子水平并没有明显降低。由此可推测,FTY720 是通过一种不依赖于自身抗体或细胞因子减少的机制来减轻 NPSLE,同时,S1P 通路可作为 NPSLE 治疗的新靶点。

此外,研究人员还利用 MAP-peptide 诱导小鼠体内产生抗 DNA 抗体,不仅研究了抗 NR2/DNA 抗体的致病机制,同时还证实了 NMDAR 拮抗剂 (Memantine) 的神经症状缓解作用。Memantine 的给药方式为:在 LPS 注射前 30 min 或注射后 24 h 后进行,在林格氏液中以 5 mg/kg 的剂量注射。通过 fluoro-jade 和对 caspase 进行染色,观察神经元损伤的变化,发现阻断 NMDAR 受体可一定程度减少海马神经元凋亡,避免海马神经元损伤^[35]。这些实验结果提示,阻断自身抗体作用位点,可以减弱由

于自身抗体引发的脑组织损伤与神经异常。

上述研究提示,阻断特定神经受体或者敲除 NPSLE 发病基因或许可以减弱 NPSLE 引发的脑组织损伤与神经异常现象,从而逆转 NPSLE 的发病进程,这有可能作为潜在的 NPSLE 治疗途径。

4 总结及展望

本文对 NPSLE 动物模型的分类及特征进行了总结,结合国内外研究,对 NPSLE 动物模型的应用进行整理。目前,MRL/lpr 与 NZB/W F1 自发型小鼠模型是评估 NPSLE 治疗效果的优选模型。然而,BxSB 自发型 NPSLE 小鼠模型由于其发病周期较长,相关 NP 特征描述与应用研究较为匮乏,有待更多的研究成果予以支撑和验证。值得注意的是,自身抗原(抗体)诱导 NPSLE 动物模型在神经免疫互作诱发 NPSLE 的致病机制研究中做出了重要贡献。此外,本文提供了一些治疗 NPSLE 的新靶点,包括雌激素受体 α 、Lcn2 以及 S1P 受体、NMDA 受体,可为 NPSLE 药物研发与治疗提供新策略。

参 考 文 献 (References)

- [1] Hanly JG. Diagnosis and management of neuropsychiatric SLE [J]. Nat Rev Rheumatol, 2014, 10(6): 338-347.
- [2] Carbotte RM, Denburg SD, Denburg JA. Cognitive dysfunction in systemic lupus erythematosus is independent of active disease [J]. J Rheumatol, 1995, 22(5): 863-867.
- [3] Liang MH, Corzillius M, Bae SC, et al. The American college of rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes [J]. Arthritis Rheum, 1999, 42(4): 599-608.
- [4] Sciascia S, Bertolaccini ML, Roccatello D, et al. Autoantibodies involved in neuropsychiatric manifestations associated with systemic lupus erythematosus: a systematic review [J]. J Neurol, 2014, 261: 1706-1714.
- [5] Jeltsch DH, Muller S. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and cognitive dysfunction: the MRL-lpr mouse strain as a model [J]. Autoimmun Rev, 2014, 13(9): 963-973.
- [6] Freitas E, de Oliveira MS, Monticelo OA. Pristane-induced lupus: considerations on this experimental model [J]. Clin Rheumatol, 2017, 36(11): 2403-2414.
- [7] Zvaifler NJ, Bluestein HG. The pathogenesis of central nervous system manifestations of systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 1982, 25(7): 862-866.
- [8] Bluestein HG. Neuropsychiatric manifestations of systemic lupus-erythematosus [J]. New Engl J Med, 1987, 317(5): 309-311.
- [9] Sakić B, Szechtman H, Talangbayan H, et al. Disturbed emotionality in autoimmune MRL-lpr mice [J]. Physiol Behav, 1994, 56(3): 609-617.

- [10] Katzav A, Pick CG, Korczyn AD, et al. Hyperactivity in a mouse model of the antiphospholipid syndrome [J]. *Lupus*, 2001, 10 (7): 496-499.
- [11] Chen GQ, Chen KS, Knox J, et al. A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Nature*, 2000, 408(6815): 975-979.
- [12] Deacon RM, Croucher A, Rawlins JN. Hippocampal cytotoxic lesion effects on species-typical behaviours in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2002, 132(2): 203-213.
- [13] Delunardo F, Soldati D, Bellisario V, et al. Anti-GAPDH autoantibodies as a pathogenic determinant and potential biomarker of neuropsychiatric diseases [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(11): 2708-2716.
- [14] Barnes CA, McNaughton BL. Neurophysiological comparison of dendritic cable properties in adolescent, middle-aged, and senescent rats [J]. *Exp Aging Res*, 1979, 5(3): 195-206.
- [15] Luciano JJ, Sandoval GF, Vázquez-Del Mercado M, et al. Downregulation of hippocampal NR2A/2B subunits related to cognitive impairment in a pristane-induced lupus BALB/c mice [J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0217190.
- [16] Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 463(1-3): 3-33.
- [17] Berry A, Bellisario V, Capoccia S, et al. Social deprivation stress is a triggering factor for the emergence of anxiety- and depression-like behaviours and leads to reduced brain BDNF levels in C57BL/6J mice [J]. *Psychoneuroendocrinol*, 2012, 37 (6): 762-772.
- [18] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice - primary screening - test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2): 327-336.
- [19] Dantzer R, Bluthé RM, Koob GF, et al. Modulation of social memory in male rats by neurohypophyseal peptides [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1987, 91(3): 363-368.
- [20] Pellow S, Chopin P, File SE, et al. Validation of open/closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat [J]. *J Neurosci Methods*, 1985, 14(3): 149-167.
- [21] Crawley JN. Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: experimental design and evaluation of general health, sensory functions, motor abilities, and specific behavioral tests [J]. *Brain Res*, 1999, 835(1): 18-26.
- [22] Tin SK, Xu Q, Thumboo J, et al. Novel brain reactive autoantibodies: Prevalence in systemic lupus erythematosus and association with psychoses and seizures [J]. *J Neuroimmunol*, 2005, 169(1-2): 153-160.
- [23] Sidor MM, Sakic B, Malinowski PM, et al. Elevated immunoglobulin levels in the cerebrospinal fluid from lupus-prone mice [J]. *J Neuroimmunol*, 2005, 165(1-2): 104-113.
- [24] Nikolopoulos D, Fanouriakis A, Boumpas DT. Update on the pathogenesis of central nervous system lupus [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2019, 31(6): 669-677.
- [25] 曾勇. 脂多糖引起的炎症反应对血脑屏障的影响及其作用机制的探讨 [D]. 天津: 天津医科大学; 2016.
- [26] Zeng Y. Inflammation caused by lipopolysaccharide on the influence of the blood-brain barrier and its mechanism of action [D]. Tianjin: Tianjin Medical University; 2016.
- [27] Xiaoh H, Banks WA, Niehoff ML, et al. Effect of LPS on the permeability of the blood-brain barrier to insulin [J]. *Brain Res*, 2001, 896(1-2): 36-42.
- [28] Waisman A, Shoenfeld Y, Blank M, et al. The pathogenic human monoclonal anti-DNA that induces experimental systemic lupus-erythematosus in mice is encoded by a V(H)4 gene segment [J]. *Int Immunol*, 1995, 7(4): 689-696.
- [29] Kivity S, Katzav A, Arango MT, et al. 16/6-idiotype expressing antibodies induce brain inflammation and cognitive impairment in mice: the mosaic of central nervous system involvement in lupus [J]. *BMC Med*, 2013, 11: 90.
- [30] Berry A, Vacirca D, Capoccia S, et al. Anti-ATP synthase autoantibodies induce neuronal death by apoptosis and impair cognitive performance in C57BL/6J mice [J]. *J Alzheimers Dis*, 2012, 33(2): 317-321.
- [31] Cirulli F, Berry A, Alleva E. Intracerebroventricular administration of brain-derived neurotrophic factor in adult rats affects analgesia and spontaneous behaviour but not memory retention in a morris water maze task [J]. *Neurosci Lett*, 2000, 287(3): 207-210.
- [32] Cullen AE, Palmer-Cooper EC, Hardwick M, et al. Influence of methodological and patient factors on serum NMDAR IgG antibody detection in psychotic disorders: a meta-analysis of cross-sectional and case-control studies [J]. *Lancet Psychiatry*, 2020, 8(2): 109-120.
- [33] González A, Massardo L. Antibodies and the brain: antiribosomal P protein antibody and the clinical effects in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Curr Opin Neurol*, 2018, 31 (3): 300-305.
- [34] Bravo ZM, Toledo EM, Segovia MF, et al. Anti-ribosomal P protein autoantibodies from patients with neuropsychiatric lupus impair memory in mice [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(1): 204-214.
- [35] Kowal C, DeGiorgio LA, Lee JY, et al. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment [J]. *P Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(52): 19854-19859.
- [36] Kowal C, DeGiorgio LA, Nakaoka T, et al. Cognition and immunity: Antibody impairs memory [J]. *Immunity*, 2004, 21 (2): 179-188.
- [37] Bosch X, Ramos CM, Khamashta MA. The DWEYS peptide in systemic lupus erythematosus [J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18 (4): 215-223.
- [38] Lu XY, Chen XX, Huang LD, et al. Anti-alpha-internexin autoantibody from neuropsychiatric lupus induce cognitive damage via inhibiting axonal elongation and promote neuron apoptosis [J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11124.
- [39] Mcneil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, et al.

- Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation-beta-2-glycoprotein-I (apolipoprotein-H) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(11): 4120-4124.
- [39] Smith HR, Hansen CL, Rose R, et al. Autoimmune MRL-1 pr/lpr mice are an animal model for the secondary antiphospholipid syndrome [J]. *J Rheumatol*, 1990, 17(7): 911-915.
- [40] Shrot S, Katzav A, Korczyn AD, et al. Behavioral and cognitive deficits occur only after prolonged exposure of mice to antiphospholipid antibodies [J]. *Lupus*, 2002, 11(11): 736-743.
- [41] Satoh M, Reeves WH. Induction of lupus-associated autoantibodies in BALB/C mice by intraperitoneal injection of pristane [J]. *J Exp Med*, 1994, 180(6): 2341-2346.
- [42] Satoh M, Shaheen VM, Kao PN, et al. Autoantibodies define a family of proteins with conserved double-stranded RNA-binding domains as well as DNA binding activity [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(49): 34598-34604.
- [43] Hamilton KJ, Satoh M, Swartz J, et al. Influence of microbial stimulation on hypergammaglobulinemia and autoantibody production in pristane-induced lupus [J]. *Clin Immunol Immunop*, 1998, 86(3): 271-279.
- [44] Goel RR, Wang X, O'Neil LJ, et al. Interferon lambda promotes immune dysregulation and tissue inflammation in TLR7-induced lupus [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(10): 5409-5419.
- [45] Zhang D, Xu J, Ren J, et al. Myeloid-derived suppressor cells induce podocyte injury through increasing reactive oxygen species in lupus nephritis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1443.
- [46] Qiao X, Wang H, Lu L, et al. Hippocampal microglia CD40 mediates NPSLE cognitive dysfunction in mice [J]. *J Neuroimmunol*, 2021, 357: 577620.
- [47] Morrison LJ, Menzies CB, Behan WM, et al. A Search for common immunological abnormalities at the onset of murine lupus in 2 genetically different strains [J]. *J Clin Lab Immunol*, 1989, 30(4): 157-162.
- [48] Katzav A, Solodееv I, Brodsky O, et al. Induction of autoimmune depression in mice by anti-ribosomal P antibodies via the limbic system [J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(3): 938-948.
- [49] Ballok DA, Szechtman H, Sakic B. Taste responsiveness and diet preference in autoimmune MRL mice [J]. *Behav Brain Res*, 2003, 140(1-2): 119-130.
- [50] Theofilopoulos AN, Dixon FJ. Murine models of systemic lupus-erythematosus [J]. *Adv Immunol*, 1985, 37: 269-390.
- [51] Bökers S, Urbat A, Daniel C, Amann K, et al. Siglec-G deficiency leads to more severe collagen-induced arthritis and earlier onset of lupus-like symptoms in MRL/lpr mice [J]. *J Immunol*, 2014, 192(7): 2994-3002.
- [52] Gao HX, Sanders E, Tieng AT, et al. Sex and autoantibody titers determine the development of neuropsychiatric manifestations in lupus-prone mice [J]. *J Neuroimmunol*, 2010, 229(1-2): 112-122.
- [53] Jeltsch DH, Muller S. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and cognitive dysfunction: the MRL-lpr mouse strain as a model [J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(9): 963-973.
- [54] Gao HX, Campbell SR, Cui MH, et al. Depression is an early disease manifestation in lupus-prone MRL/lpr mice [J]. *J Neuroimmunol*, 2009, 207(1-2): 45-56.
- [55] Li Y, Eskelund AR, Zhou H, et al. Behavioral deficits are accompanied by immunological and neurochemical changes in a mouse model for neuropsychiatric lupus (NP-SLE) [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(7): 15150-15171.
- [56] Sakić B, Szechtman H, Keffer M, et al. A behavioral profile of autoimmune lupus-prone Mrl mice [J]. *Brain Behav Immun*, 1992, 6(3): 265-285.
- [57] Ballok DA, Earls AM, Krasnik C, et al. Autoimmune-induced damage of the midbrain dopaminergic system in lupus-prone mice [J]. *J Neuroimmunol*, 2004, 152(1-2): 83-97.
- [58] Winfield JB, Shaw M, Silverman LM, et al. Intrathecal IgG synthesis and blood-brain-barrier impairment in patients with systemic lupus-erythematosus and central nervous-system dysfunction [J]. *Am J Med*, 1983, 74(5): 837-844.
- [59] Andrews BS, Eisenberg RA, Theofilopoulos AN, et al. Spontaneous murine lupus-like syndromes. Clinical and immunopathological manifestations in several strains [J]. *J Exp Med*, 1978, 148(5): 1198-1215.
- [60] Arabo A, Costa O, Dubois M, et al. Effects of systemic lupus erythematosus on spatial cognition and cerebral regional metabolic reactivity in BxSB lupus-prone mice [J]. *Neuroscience*, 2005, 135(3): 691-702.
- [61] Zameer A, Hoffman SA. Immunoglobulin binding to brain in autoimmune mice [J]. *J Neuroimmunol*, 2001, 120(1-2): 10-18.
- [62] Taneja V, David CS. Lessons from animal models for human autoimmune diseases [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(9): 781-784.
- [63] Lee SW, Park KH, Park S, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products alleviates nephritis in (NZB/NZW) F1 mice [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(7): 1902-1912.
- [64] Kier AB. Clinical neurology and brain histopathology in NZB/NZW F1 lupus mice [J]. *J Comp Pathol*, 1990, 102(2): 165-177.
- [65] Bracci LL, Aloe L, Lundberg T, et al. Altered levels of neuropeptides characterize the brain of lupus prone mice [J]. *Neurosci Lett*, 1999, 275(1): 57-60.
- [66] Luciano JJ, Sandoval GF, Vázquez-Del MM, et al. Downregulation of hippocampal NR2A/2B subunits related to cognitive impairment in a pristane-induced lupus BALB/c mice [J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0217190.
- [67] Saki B, Szechtman H, Talangbayan H, et al. Disturbed emotionality in autoimmune MRL-lpr mice [J]. *Physiol Behav*, 1994, 56(3): 609-617.

- [68] Sun KH, Tang SJ, Lin ML, et al. Monoclonal antibodies against human ribosomal P proteins penetrate into living cells and cause apoptosis of Jurkat T cells in culture [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2001, 40(7): 750–756.
- [69] Koscec M, Koren E, WolfsonReichlin M, et al. Autoantibodies to ribosomal P proteins penetrate into live hepatocytes and cause cellular dysfunction in culture [J]. *J Immunol*, 1997, 159(4): 2033–2041.
- [70] Hara M, Martinez HE, Ariño H, et al. Clinical and pathogenic significance of IgG, IgA, and IgM antibodies against the NMDA receptor [J]. *Neurology*, 2018, 90(16): 1386–1394.
- [71] Barbosa MS, Bão SN, Andreotti PF, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Paracoccidioides brasiliensis* is a cell surface protein involved in fungal adhesion to extracellular matrix proteins and interaction with cells [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(1): 382–389.
- [72] Neasta J, Kiely PA, He DY, et al. Direct interaction between scaffolding proteins RACK1 and 14-3-3 zeta regulates brain-derived neurotrophic factor (BDNF) transcription [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(1): 322–336.
- [73] Shi D, Tian T, Yao S, et al. FTY720 attenuates behavioral deficits in a murine model of systemic lupus erythematosus [J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 70: 293–304.
- [74] Mike EV, Makinde HM, Der E, et al. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus is dependent on sphingosine-1-phosphate signaling [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2189.
- [75] Cunningham MA, Wirth JR, Freeman LR, et al. Estrogen receptor alpha deficiency protects against development of cognitive impairment in murine lupus [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 171.
- [76] Mike EV, Makinde HM, Gulinello M, et al. Lipocalin-2 is a pathogenic determinant and biomarker of neuropsychiatric lupus [J]. *J Autoimmun*, 2019, 96: 59–73.
- [77] Mohan C, Yu Y, Morel L, et al. Genetic dissection of Sle pathogenesis: Sle3 on murine chromosome 7 impacts T cell activation, differentiation, and cell death [J]. *J Immunol*, 1999, 162(11): 6492–502.
- [78] Brinkmann V, Davis MD, Heise CE, et al. The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(24): 21453–21457.
- [79] Calabresi PA, Radue EW, Goodin D, et al. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing – remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double – blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(6): 545–556.

[收稿日期] 2021-02-04