

陆丹丹, 韩晓燕, 张晗, 等. 类风湿性关节炎药理实验模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 107-114.
Lu DD, Han XY, Zhang H, et al. Research and progress of rheumatoid arthritis experimental models [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(5): 107-114.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.05.016

类风湿性关节炎药理实验模型的研究进展

陆丹丹¹, 韩晓燕², 张 晗¹, 李 霖^{1*}, 房士明^{1*}

(1. 天津中医药大学, 方剂学教育部重点实验室, 天津 301617; 2. 天津中医药大学, 中药学院 天津 301617)

【摘要】 类风湿性关节炎是一种常见的自身免疫病, 以慢性滑膜炎和关节软骨及骨损伤为主要特点, 据中医对 RA 的判定, 属于“痹证”范畴。现有药理模型主要包括诱导性模型、自发性基因修饰模型及中医症候模型三大类, 本文对类风湿性关节炎药理实验模型进行综述, 并对实验模型的理论基础、典型特征、评价方法、主要用途以及和中西医临床病症吻合度进行总结, 同时梳理肠道菌群与类风湿性关节炎的关系, 为后续研究提供参考。

【关键词】 中医药; 类风湿性关节炎; 实验模型; 肠道菌群

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 05-0107-08

Research and progress of rheumatoid arthritis experimental models

LU Dandan¹, HAN Xiaoyan², ZHANG Han¹, LI Lin^{1*}, FANG Shiming^{1*}

(1. Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medical Formulae, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China. 2. College of Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617)

【Abstract】 Rheumatoid arthritis (RA) is a common autoimmune disease characterized by chronic synovial inflammation with joint cartilage and bone damage. Under Traditional Chinese Medicine, RA is categorized as a “Bi disease.” Various RA models have been developed, including induced model, spontaneous genetic modification model, and model of Traditional Chinese Medicine syndrome. These models were reviewed and summarized in terms of their theoretical basis, typical characteristics, evaluation method, main usages, and degree of agreement. This paper also deals with the relationship between intestinal flora and RA to provide a reference for follow-up research.

【Keywords】 Traditional Chinese Medicine; rheumatoid arthritis; experimental model; intestinal flora

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以滑膜炎为基本病理改变的自身免疫病, 中医认为“风、寒、湿三气杂至, 合而为痹”, 并根据疾病特点将 RA 归属于“痹症”“尪痹”等范畴, 在《内经》、《素问·痹论篇》等书中均有记载^[1]。据统计, RA 影响全球约 0.1%~2.0% 的人口, 在中国类风湿性关节炎的患病率约为 0.42%, 其中心血管合并症患

病率为 1.5%^[2-3]。类风湿性关节炎临床表现为手腕等小关节对称性、持续性活动受限且疼痛肿胀, 发病与气候、遗传、免疫及肠道菌群失衡具有相关性^[4]。

现代研究认为 RA 发病过程主要包括炎性细胞浸润滑膜, 造成滑膜增生并在滑膜腔中形成血管翳, 最终使关节软骨和骨质破坏^[5]。大量文献研究

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82994331); 天津市教委科研项目(2019KJ072)。

【作者简介】 陆丹丹(1998—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 类风湿关节炎基础研究。E-mail: ml7863275903@163.com

【通信作者】 李霖(1990—), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 中药药理学研究。E-mail: lilintcm@126.com

房士明(1980—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药药效物质基础研究。E-mail: fang_shiming@163.com

* 共同通信作者

表明类风湿关节炎与免疫 T 细胞及 B 细胞亚群的聚集、促炎因子、趋化因子活化和表达等相关,但其深入确切的发病机理尚不完全明确^[6]。中医认为 RA 病机复杂,多与湿、热、瘀血等证紧密联系^[7]。

本文根据现代医学理论和传统中医辨证论治原则,从类风湿关节炎发病机制出发,分析几种关节炎实验模型,同时综述肠道菌群与 RA 的关系,希望能为类风湿研究选择合适的模型提供参考。

1 诱导性 RA 动物模型

在诱导模型中,非特异性免疫激活,软骨定向自身免疫或大量的外源、感染性诱因会引起类似 RA 样疾病,目前使用较多的该模型有胶原诱导关节炎、佐剂性关节炎模型。

1.1 胶原诱导的关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 模型

CIA 是主动免疫诱导 RA 的经典模型。Ⅱ型胶原(collagen Ⅱ, CⅡ)乳剂制备方法是在 4℃ 条件下将Ⅱ型胶原溶于乙酸,灭活卡介苗置于液体石蜡中配成弗氏完全佐剂(complete freund's adjuvant, CFA)。将二者等体积混合乳化至滴水不溶状态,制成 CII 乳剂^[8]。

小鼠(例如 DBA/1J 品系)造模方法是将 50 μL 含 2 mg/mL 牛Ⅱ型胶原的 CII 乳剂在尾根部皮内注射诱发关节炎,于 18 d 后用含有弗氏不完全佐剂(incomplete freund's adjuvant, IFA)的 CII 乳剂同法注射加强免疫^[9]。小鼠 CIA 模型病变情况可由关节肿胀度测量,关节炎评分和关节病理变化确定^[10]。小鼠关节肿胀度和关节炎评分增加,关节组织中出现炎性细胞浸润、滑膜增厚等可提示造模成功^[11]。此模型可用于 RA 新药物预防、治疗作用检测和细胞因子(IL-1β、IL-6、IL-17、TNF-α)等治疗靶点的检测^[12]。有研究发现 DBA/1 小鼠中 CIA 的严重程度和发病率可以通过 CII 与 CFA, IFA 和 LPS 的组合变化来控制,结果显示使用 LPS 可以增加关节炎严重程度^[13]。

大鼠 CIA 模型的制备方法是在距离大鼠尾根部 4 cm 处皮下注射 CII 乳剂(1 mg/mL) 200 μL,注射后按压针孔防止乳液流出,于 7 d 后采用同样方法在距离尾根 2 cm 处皮下注射 CII 乳剂 100 μL。若大鼠炎症评分、关节肿胀度均显著增高,痛域显著降低则提示造模成功^[14]。CIA 所致关节炎可探究 Th17/Treg(辅助性 T 细胞/调节性 T 细胞)失衡

在 RA 中的作用,但模型在疾病的发生率、同步性和分布方面存在个体差异^[15]。国外学者借助 CIA 大鼠模型,通过显微计算机断层扫描技术(micro-computed tomography, Micro-CT)、骨组织学检查评估骨密度,定量 ELISA 分析肌腱组织中促炎因子(TNF-α、IL-23)的方法,得出英夫利昔单抗(infliximab)可以预防关节炎相关的骨质疏松症,抑制其肌腱损伤的结论^[16]。

1.2 佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)模型

AA 大鼠发病原理是诱导后的大鼠会产生针对于热休克蛋白 65(heat shock protein 65, HSP65)的 T 细胞和抗体反应^[17]。常选用 Lewis 大鼠建立 AA 模型,对大鼠尾根部或足垫皮内注射 0.1 mL 含有热灭活分枝杆菌(10 mg/mL)的 CFA^[18]。模型制备成功的标志是大鼠自造模两周左右开始发病,炎症以踝关节为重,并累及全足,第 18 天左右达到炎症高峰;在关节炎发展过程中同时伴有毛色暗淡、易脱毛和体重减轻等表现^[19]。在大多数情况下,AA 关节炎的肿胀程度不对称,其中一只足关节的发炎程度高于对侧^[20]。AA 操作非常简单,具有明显的细胞免疫异常特征,缺乏慢性病过程^[21]。Bao 等^[22]利用 AA 模型,蛋白质印迹和免疫组化等分析方法确定 JAK/STAT 和 NF-κB 信号通路中蛋白质的表达和磷酸化水平,发现芫花素(genkwanin)能够抑制 AA 大鼠滑膜组织中 JAK/STAT 和 NF-κB 信号通路的激活。

1.3 蛋白多糖诱导的关节炎(proteoglycan-induced arthritis, PGIA)模型

在关节滑液中注射蛋白多糖抗原引发 T 细胞慢性依赖性自身免疫反应,导致慢性炎症、关节破坏和轴骨受累^[23]。Horváth 等^[24]选取 8~12 周龄的雌性 BALB/c 小鼠,将 PG 核心蛋白乳化剂每隔 3 周对小鼠 3 次腹腔注射来完成造模。整个实验周期较为缓慢,约需 17 周完成。小鼠初期以急性炎性水肿和滑膜炎为特征,随后表现为骨和软骨吸收,最后进展为广泛的关节强直。此造模方法的局限所在是人类软骨必须经过广泛的加工才能制备所需的蛋白多糖组分。Liu 等^[25]用肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)阻滞剂对 PGIA 中肠道菌群进行干预影响发现抗 TNF-α 疗法减缓了 PGIA 进程,起到调节肠道菌群和肠屏障功能的作用。

1.4 链球菌细胞壁诱导的关节炎(streptococcal cell wall-induced arthritis, SCWA)模型

链球菌产生一种具有较高炎症活性的肽聚糖

多糖 (peptidoglycan-polysaccharide, PG-PS), 可以诱导易感大小鼠形成关节炎^[26]。方法是在第 0、7、14 和 21 天, 向右后足关节内注射包含细胞壁肽聚糖多糖片段的混悬液诱发单侧慢性关节炎, 在第 8、15 和 22 天再次关节内注射激活致发炎。第 1 天和第 2 天为急性非 T 细胞依赖期, 第 23~28 天为慢性 T 细胞依赖期^[27]。此模型有助于研究关节炎的急性反应, 但这类动物模型使用频率较低, 可能是因其使用成本和操作要求较高^[28]。Jain 等^[29] 利用 SCWA 模型研究姜黄素-双氯芬酸共轭物 (curcumin-diclofenac conjugate, CDC) 体外抗炎活性, 发现其显著减轻了 SCWA 模型的关节炎症状。

1.5 降植烷诱导的关节炎 (proteoglycan-induced arthritis, PIA) 模型

降植烷是一种非免疫原性化学物质, 在 DA (Dark-Agouti) 大鼠尾部单次皮下注射 300 μ L 降植烷纯品, 于 50 d 后再次同法注射以诱发关节炎, 每隔 1 周进行如上常规检测, 大鼠出现足容积增加、关节活动障碍等表现提示造模成功^[30]。该炎症为 T 细胞依赖型, 主要用来药物验证, 也可用于分析类风湿关节炎发病相关的性别差异情况。有研究指出大鼠关节炎 PIA 模型可用于模拟 RA 中的血管功能障碍和脂质受损情况^[31]。

1.6 抗原诱导的关节炎 (antigen-induced arthritis, AIA) 模型

此模型建立原理是甲基化的牛血清白蛋白 (methylated bovine serum albumin, m-BSA) 与免疫球蛋白 G Fc 段受体 (Fc γ R) 结合, 从而有效激活针对 m-BSA 的 T 细胞应答。造模过程是将 100 μ g m-BSA 在 CFA 中 1:1 乳化对小鼠进行免疫, 每隔 1 周在颈部进行两次皮下注射 m-BSA/CFA 作为加强剂量, 于 3 周后通过关节内注射 10 μ g/ μ L m-BSA 生理盐水混悬液诱发关节炎^[32]。AIA 模型的特征是明显的 T 细胞受累且不影响对侧关节。Frey 等^[33] 借助 AIA 模型分析成纤维样滑膜细胞 (fibroblast-like synovial cells, FLS) 对慢性关节炎致病作用的分子机制, 结果表明从 AIA 急性期的小鼠中分离出的 FLS 能够在受体中诱发炎症和关节破坏。

1.7 葡萄糖-6-磷酸异构酶 (glucose 6-phosphate isomerase, G6PI) 诱导的关节炎模型

该模型建立的发病机制是 G6PI 能够在体内产生抗体, 通过诱导免疫活性细胞产生细胞因子 (如

TNF- α 、IL-1 β), 从而诱发关节炎。造模方法是将 400 μ g 重组人 G6PI 在完全弗氏佐剂中 1:1 乳化, 并将该乳剂皮下注射于小鼠体内进行免疫^[34]。基于免疫前 Treg 细胞的耗竭将自限性关节炎转变为具有明显骨破坏的不缓解性关节炎理论, 有学者利用 G6PI 诱导的关节炎模型进行研究发现感觉神经元的分子标志物转录激活因子 3 (activating transcription factor 3, ATF-3) 上调对感觉神经元有早期性和持续性影响^[35]。

2 自发性基因修饰 RA 动物模型

该模型建立基础是小鼠在经过一定的基因修饰后可以自发形成关节炎, 该模型有利于了解类似于人类 RA 的慢性病过程。

2.1 K/BxN 小鼠模型

将来自转基因 K/BxN 小鼠中含有 G6PI 致病性自身抗体的血清注射到 C57BL/6 幼鼠诱发 RA^[36]。K/BxN 血清诱导的关节炎模型制备: 将雄性 KRN 鼠与雌性 NOD 鼠合笼饲养, 所生的第一代小鼠即为 K/BxN 小鼠。采集 2~6 月龄 K/BxN 小鼠静脉血清。将不同 K/BxN 小鼠的血清混合后分别在第 0 天和第 2 天尾静脉注射至 8 周龄 C57BL/6 小鼠以制备 K/BxN 小鼠模型。小鼠踝关节肿胀程度严重, 且 HE 染色显示关节腔隙变窄、炎症细胞浸润则提示造模成功^[37]。此模型的特点是在广泛应变背景下诱导, 且关节炎发病迅速, 发病率 100%, 可用于研究干扰素等治疗 RA 的相关机制。Bopp 等^[38] 首次在 K/BxN 小鼠模型中描述了颞下颌关节 (temporomandibular joint, TMJ) 损坏, 得出了侵蚀性变化主要发生在关节软骨的浅表部分, 进而导致 TMJ 软骨纤维层消失的结论。

2.2 人 TNF 基因 (the human tumor necrosis factor gene, HTNFG) 小鼠模型

通过构建人类 TNF 转基因小鼠, 表现出人类 TNF 基因表达的失调模式进而发展为慢性炎性多关节炎。方法是将含有 3' 端修饰后的完整人类 TNF 基因的片段整合到 CBA 与 C57BL/6 杂交第 2 代小鼠受精卵内, 待小鼠 3~4 周龄时可观察到踝关节肿胀, 继而 9~10 周腿部运动障碍发展为完全丧失后腿的运动能力。不同于 AA、CIA 模型, TNF- α 转基因小鼠能自发性出现关节炎, 与人 RA 的关节破坏更为相似^[39]。有学者使用该模型来确定 RA 炎症进展是否受到 RANKL (receptor activator of

NF- κ B ligand, NF- κ B 配体的受体激活剂)的基因失活或过表达的影响,发现 RANKL 不仅可以作为破骨细胞生成和骨吸收的介质,而且可以作为影响炎症和免疫激活的疾病调节剂来调节关节炎^[40]。

2.3 SKG 小鼠模型

SKG 小鼠是一种 BALB/c 小鼠,其编码 70×10^3 zeta 相关蛋白(ZAP-70) Src 同源 2 结构域的基因发生突变,进而形成慢性自身免疫性关节炎^[41]。方法是将溶于磷酸盐缓冲盐水(PBS pH=7.2~7.4)溶液的甘露聚糖腹腔注射于 16 周龄 SKG 雌性小鼠诱发关节炎。通过组织病理学评分发现,滑膜细胞多层次增生,关节腔内有单核细胞和中性粒细胞浸润、血管紧张素形成和富含营养的粒细胞渗出表明造模成功^[42]。Jeong 等^[43]为评估酵母聚糖诱导的 SKG 小鼠的临床和分子特征,利用酵母聚糖诱导的 SKG 小鼠模型来反映人脊柱关节炎(spondyloarthritis, SpA)的复杂特征。

3 中医症候 RA 动物模型

在 RA 疾病动物模型的基础上,施加风寒湿、风湿热等外部刺激建立病证结合的 RA 动物模型,或直接在痹症理论上建立中医动物模型以探究 RA 病因病机。

3.1 AA 模型基础上的风寒湿痹模型

朱兴旺^[44]通过实验表明风寒湿环境可能加重关节滑膜缺氧,刺激缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)表达,造成 RA 滑膜细胞和新生血管生成,从而产生或加重 RA 滑膜病变。造模方法是在造模的第 0 天,每只大鼠左后足跖皮内注射 0.1 mL CFA,造模 7 d 后再注射 0.1 mL 加强免疫,建立 AA 大鼠模型,并将大鼠置于 5~7℃ 冷水中,水深 2 cm,伴以 3 档风力,每日 1 次,每次 20 min,连续 14 d。大鼠右后足垫致炎后肿胀明显,致炎后关节炎指数评分显著升高,提示造模成功^[45]。

3.2 AA 模型基础上的风湿热痹模型

该模型建立的理论基础是风湿热环境可能使 HSP 大量分泌,部分 HSP 被瓜氨酸化进而激活免疫系统产生抗瓜氨酸抗体,从而激活或加重炎症^[44]。除将大鼠置于 36℃~38℃ 热水中,其余条件及结果观察同上述风寒湿痹模型。

3.3 风、湿、寒、热诱导的关节炎模型(wind-damp-cold-heat induced arthritis, WDCH)

造模方法是将大鼠的后足分别在 45℃ 和 4℃ 的

恒定温度下放入水中 10 min,然后在 20℃ 的温度下用风吹动大鼠 10 min,每天 2 次,共 14 d。通过血细胞分析、脾和胸腺系数、自身抗体和血清细胞因子变化对其进行评估。大鼠滑膜中 TNF- α 和血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)表达水平升高,可表明关节炎和血管生成的发生,提示 WDCH 的变化可能是 RA 发病的关键因素^[46]。模型的主要特点是通过外界压力来感染疾病,模拟自然环境变化。该模型具有客观性,建模时间短,自身抗体表达水平极高和明显的组织病理学改变等优点。

4 潜在新型类风湿实验模型建立

近年来,有学者发现类风湿性关节炎作为一种粘膜疾病,有 3 个部位与其有关,即肺、口腔粘膜和胃肠道^[47]。其中肠道菌群被认为是类风湿性关节炎发展的重要环境因素^[48],研究表明类风湿性关节炎患者的肠道微生物多样性降低,与 RA 持续时间和自身抗体水平相关^[49]。闫梦真等^[37]通过研究发现肠道菌群失调可诱导关节组织炎症因子水平增高。肠道营养不良可以通过影响 T 细胞亚群的分化来诱发关节炎,并可能导致 Th17/Treg 细胞比例失衡^[50]。有学者借助 CIA 小鼠模型分析肠道微生物群及肠黏膜变化,结果发现肠道菌群失调可以影响小鼠疾病严重程度,在诱导 CIA 之前微生物群的消耗可导致疾病严重程度降低约 40%,诱导 CIA 后期微生物消耗则导致疾病严重程度降低 90%以上^[51]。肠道菌群的变化是现在研究 RA 新发病机制的重要思路,未来可尝试依据肠道菌群混乱诱发建立类风湿性关节炎模型,帮助探究类风湿性关节炎相关发病机制。

5 总结

目前 RA 发病机制还未完全研究清楚,临床治疗主要以控制症状,延缓关节破坏,减少并发症进而提高生活质量为目的。因此,为更好地开发新的 RA 治疗策略,需依据不同的理论和发病机制建立 RA 药理模型,并根据 RA 分型选用合适的动物模型。其中 CIA 模型和 AA 模型应用较为广泛,在 CIA、AA 基础上建立的病症结合模型在中医药基础研究中也日益受到重视。上述几类造模方法中均以出现关节发红肿胀、关节病理改变等为主要标准,与中西医临床诊断标准中的部分内容(例如晨僵、RF 阳性等现象)有一定差别。

表 1 类风湿关节炎实验模型与中西医临床病症吻合度

Table 1 Coincidence between experimental model of rheumatoid arthritis and the clinical symptoms of Chinese and western medicine

分类 Classification	模型 Model	理论基础 Theoretical basis	模型典型特征 Typical characteristics of model	评价方法 Evaluation methods	主要用途 Main applications	吻合度 Degree of agreement
诱导性模型 Induced model	胶原诱导的关节炎模型 CIA model	诱导型免疫 Induced immunity	无类风湿因子及抗核抗体等关节外表现 No extra-articular manifestations such as rheumatoid factor and antinuclear antibodies	踝关节肿胀、痛阈检测、组织学分析(炎症细胞浸润、滑膜增生、血管翳形成软骨破坏和骨质侵蚀)、自身抗体和血清细胞因子(IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-17、TNF- α)水平、影像学检查(X线、CT)、关节炎指数评分、体重变化。Swelling of the ankles, pain threshold detection, histological analysis (infiltration of inflammatory cells, synovial hyperplasia, pannus formation, cartilage destruction and bone erosion),	最常用,例如涉及 Th1, Th17 和 Th1/17 细胞研究 Most commonly used, involving Th1, Th17 and Th1/17 cell research	高 High
	佐剂性关节炎模型 AA model		由 T 细胞驱动的慢性全身性自身免疫 Chronic and systemic autoimmune driven by T cells		T 细胞分子机制、抗 RA 药物筛选及药效机制研究 Research of T cell molecular mechanism, anti-RA drug screening and pharmacodynamic mechanism	高 High
	蛋白多糖诱导关节炎模型 PGIA model		初期急性炎性水肿和滑膜炎,接着骨和软骨吸收,最后为广泛的关节强直 The initial phase is characterized by acute inflammatory edema and synovitis, which is followed by bone and cartilage resorption, and it finally progresses into widespread ankylosis of the joints		多用于脊柱炎研究 Mostly used for spondylitis research	低 Low
	链球菌细胞壁诱导的关节炎模型 SCWA model		初期为急性非 T 细胞依赖期,后期为慢性 T 细胞依赖期 The initial phase is the acute T cell-independent, and the latter phase is the chronic T cell-dependent		RA 急性发作反应过程及炎症细胞因子、生长因子变化研究 Research of the acute reaction in arthritis, the changes of inflammatory cytokines and growth factors	中 Medium
	降植烷诱导的关节炎模型 PIA model		T 细胞依赖型;造模周期较长 T cell-dependent; Long molding cycle		RA 的发病机制及其临床研究 Research of the pathogenesis and clinical treatments of RA	高 High
	抗原诱导的关节炎模型 AIA model		明显的 T 细胞受累;不影响对侧无炎症侧关节 Clear T-cell involvement; The contralateral joint without inflammation is not affected		生物制剂疗效研究 Research of the efficacy of biological agents	中 Medium
自发性基因修饰模型 Spontaneous genetic modification model	葡萄糖-6-磷酸异构酶的诱导关节炎模型 G6PI model	自发型免疫 Spontaneous immunity	骨破坏明显 Obvious bone destruction		RA 发展过程、分子标志物研究 Research of the development, molecular markers of RA	高 High
	K/BxN 小鼠模型 K/BxN mouse model		在广泛的应变背景下诱导 Induced in a wide range of strain backgrounds		分子生物层面上的病因病机研究 Research of the etiology and pathogenesis at the molecular biology level	中 Medium
	人 TNF 基因小鼠模型 HTNFG model		自发性出现侵蚀性关节炎 Spontaneous appearance of erosive arthritis			高 High

续表 1

分类 Classification	模型 Model	理论基础 Theoretical basis	模型典型特征 Typical characteristics of model	评价方法 Evaluation methods	主要用途 Main applications	吻合度 Degree of agreement
中医症候模型 Model of TCM syndrome	SKG 小鼠模型 SKG mouse model	病证结合 Disease and syndrome combined	呈慢性进行性发展,后期为关节强直 Develops chronically, and the latter phase is ankylosis of the joints	analysis of coefficients of spleen and thymus, levels of autoantibodies and serum cytokines (IL-1β, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-α), imaging examinations (X-ray and CT), arthritic index score, weight changes.	中医痹症病因病机理论及中医药开发研究 Research of the etiology and pathogenesis theory of arthralgia and the development of TCM	中 Medium
	风寒湿痹模型 Wind-cold-damp model		体现中医学“证”的特色 Reflect the characteristics of Chinese medicine ‘syndrome’			高 High
	风湿热痹模型 Wind-damp-heat model	中医理论 Theory of Chinese medicine	人体通过压力感染疾病;模拟自然环境的变化 The human body infects diseases through stress, simulating changes in the natural environment			中 Medium
	风湿寒热诱导的关节炎模型 WDCH mode					中 Medium

动物模型与临床应用的接近程度有助于 RA 相关炎症及自身免疫的基础研究。因此,动物模型特征及评价方法与中西医临床诊断标准的吻合度^[52]至关重要(表 1),例如吻合度较高的模型有:AA 模型、人 TNF 基因小鼠模型和风寒湿痹证模型等。其中 AA 模型具有多处关节对称性肿胀、类风湿因子阳性及骨质侵蚀破坏等特征,与西医诊疗标准吻合度较高。而风寒湿痹模型则在满足西医诊疗标准的基础上体现了中医 RA 临床辨证分型,具有一定应用价值。简化模型评价方法从而提高与临床应用的吻合度是未来动物模型发展的重要方向,如 Micro-CT 技术在定量评价骨密度及骨结构等方面较为权威,且多适用于疾病的临床前研究,可作为模型评价的重要指标之一。除此之外,肠道菌群与 RA 的发生、发展及治疗有很大相关性,未来可通过矫正肠道微生物混乱来保护骨关节免受破坏,也可通过舌象与肠道微生物的联系进而建立新型动物模型来探寻治疗 RA 的新策略。然而针对中医临床症状如舌象、脉象等情况不易在动物身上被观察,为满足今后研究,还需深入研究中医证候的内涵,同时契合现代医学病因来选择和建立模型。

参考文献:

[1] 葛高月,郑新春. 类风湿关节炎中西医治疗进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 23(2): 84-89.

[2] Jin SY, Li MT, Fang YF, et al. Chinese registry of rheumatoid arthritis (CREDIT): II. prevalence and risk factors of major

comorbidities in Chinese patients with rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19: 251-259.

[3] Almutairi K, Nossent J, Preen D, et al. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review [J]. Rheumatol Int, 2021, 41(5): 863-877.

[4] Aryaeian N, Shahram F, Mahmoudi M, et al. The effect of ginger supplementation on some immunity and inflammation intermediate genes expression in patients with active rheumatoid arthritis [J]. Gene, 2019, 698: 179-185.

[5] Meng C, Li Z, Zheng Z, et al. Intervention of integrative medicine treatment has impact on serum levels of ET-1, TNF-α, MLT in RA-CVD [J]. Saudi J Biol Sci, 2018, 25(5): 959-964.

[6] Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2016, 388(10055): 2023-2038.

[7] 刘蔚翔, 巩勋, 姜泉, 等. 类风湿关节炎湿热与寒湿证候的病情特点分析 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(2): 1088-1091.

[8] Pietrisimone KM, Jin M, Poston B, et al. Collagen-induced arthritis: a model for murine autoimmune arthritis [J]. Bio Protoc, 2015, 5(20): e1206.

[9] Alabarse PVG, Lora PS, Silva JMS, et al. Collagen-induced arthritis as an animal model of rheumatoid cachexia [J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2018, 9(3): 603-612.

[10] Zhou X, Liu Q, Zhou X, et al. THH relieves CIA inflammation by reducing inflammatory-related cytokines [J]. Cell Biochem Biophys, 2020, 78(3): 367-374.

[11] 吴兴源, 张国如. 粉防己碱通过 NF-κB 和 MAPK 信号通路影响人滑膜细胞炎症及对类风湿性关节炎治疗作用研究 [J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(9): 1636-1641.

[12] Tsai SW, Hsieh MC, Li S, et al. Therapeutic potential of sclareol

- in experimental models of rheumatoid arthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): 1351–1366.
- [13] Thornton S, Strait RT. Head-to-head comparison of protocol modifications for the generation of collagen-induced arthritis in a specific-pathogen free facility using DBA/1 mice [J]. *Biotechniques*, 2016, 60(3): 119–128.
- [14] 黄琳, 周东海, 何志兴, 等. 运脾祛风除湿方对胶原诱导性关节炎模型大鼠的影响 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2020, 44(10): 929–934.
- [15] Jin S, Chen H, Li Y, et al. Maresin 1 improves the Treg/Th17 imbalance in rheumatoid arthritis through miR-21 [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(11): 1644–1652.
- [16] Poutoglidou F, Pourzitaki C, Manthou ME, et al. Infliximab prevents systemic bone loss and suppresses tendon inflammation in a collagen-induced arthritis rat model [J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(3): 661–672.
- [17] Eden WV, Tholet J, Zee R, et al. Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis [J]. *Nature*, 1988, 331(6152): 171–173.
- [18] Zhang Y, Qian X, Yang X, et al. ASIC1a induces synovial inflammation via the Ca^{2+} /NFATc3/RANTES pathway [J]. *Theranostics*, 2020, 10(1): 247–264.
- [19] 张巍, 王芳, 王博, 等. 佐剂诱导关节炎大鼠模型的建立及成纤维样滑膜细胞的分离 [J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(6): 73–77.
- [20] Fechtner S, Singh AK, Srivastava I, et al. Cannabinoid receptor 2 agonist JWH-015 inhibits interleukin-1 β -induced inflammation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and in adjuvant induced arthritis rat via glucocorticoid receptor [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1027–1039.
- [21] 刘琪, 张巧琳, 陈晓芸, 等. 性别差异对大鼠佐剂性关节炎模型的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(9): 1328–1332.
- [22] Bao Y, Sun YW, Ji J, et al. Genkwanin ameliorates adjuvant-induced arthritis in rats through inhibiting JAK/STAT and NF- κ B signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2019, 63: 153036.
- [23] Glant TT, Finnegan A, Mikecz K. Proteoglycan-induced arthritis: immune regulation, cellular mechanisms, and genetics [J]. *Crit Rev Immunol*, 2003, 23(3): 199–250.
- [24] Horváth Á, Borbély É, Bölskei K, et al. Regulatory role of capsaicin-sensitive peptidergic sensory nerves in the proteoglycan-induced autoimmune arthritis model of the mouse [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 335–347.
- [25] Liu B, Yang L, Cui Z, et al. Anti-TNF- α therapy alters the gut microbiota in proteoglycan-induced ankylosing spondylitis in mice [J]. *Microbiologyopen*, 2019, 8(12): e927.
- [26] 郝建权. 鼠源 IL-1 β 基因的克隆、表达、活性鉴定及类风湿关节炎动物模型的建立 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [27] Anita F, Shahla AR, Christina B, et al. The involvement of Toll-like receptor 9 in the pathogenesis of erosive autoimmune arthritis [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(9): 4399–4409.
- [28] Bevaart L, Vervoordeldonk MJ, Tak PP. Evaluation of therapeutic targets in animal models of arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(8): 2192–2205.
- [29] Jain SK, Gill MS, Pawar HS, et al. Novel curcumin diclofenac conjugate enhanced curcumin bioavailability and efficacy in streptococcal cell wall-induced arthritis [J]. *Indian J Pharm Sci*, 2014, 76(5): 415–422.
- [30] 张利文, 文凯, 袁泉. 降植烷诱导的 DA 大鼠类风湿性关节炎模型的建立和评估 [J]. *现代医学*, 2013, 41(1): 1–5.
- [31] Chouk M, Bordy R, Moretto J, et al. Pristane-induced arthritis in dark agouti rat is a relevant model for mimicking vascular dysfunction and lipid paradox in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2019, 86(4): 483–490.
- [32] Ceglie DI, Ascone G, Cremers NAJ, et al. Fc γ receptor-mediated influx of S100A8/A9-producing neutrophils as inducer of bone erosion during antigen-induced arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20: 80–95.
- [33] Frey O, Huckel M, Gajda M, et al. Induction of chronic destructive arthritis in SCID mice by arthritogenic fibroblast-like synoviocytes derived from mice with antigen-induced arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20: 261–270.
- [34] Lu Y, Yu SS, Zong M, et al. Glucose-6-phosphate isomerase (G6PI) mediates hypoxia-induced angiogenesis in rheumatoid arthritis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40274.
- [35] Ebbinghaus M, Muller S, Banchet GSV, et al. Contribution of inflammation and bone destruction to pain in arthritis—a study in murine glucosephosphate isomerase (G6PI) induced arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71(12): 2016–2026.
- [36] Christensen AD, Haase C, Cook AD, et al. K/BxN serum-transfer arthritis as a model for human inflammatory arthritis [J]. *Front Immunol*, 2016, 7(5): 213–230.
- [37] 闫梦真, 余婕, 董甜甜, 等. 由肠道菌群变化研究资本瓜总苷对 K/BxN 小鼠血清转移性关节炎的治疗作用 [J]. *现代免疫学*, 2020, 40(4): 265–271.
- [38] Bopp KS, Mariotte A, Strub M, et al. Temporomandibular joint damage in K/BxN arthritic mice [J]. *Int J Oral Sci*, 2020, 12: 5–14.
- [39] 朱兴旺, 赵文婷, 陈永, 等. 三水白虎汤对类风湿关节炎人 TNF- α 转基因小鼠模型的作用研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(4): 480–484.
- [40] Papadaki M, Rintas V, Violitzi F, et al. New insights for RANKL as a proinflammatory modulator in modeled inflammatory arthritis [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 97–116.
- [41] Rahman MA, Thomas R. The SKG model of spondyloarthritis [J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2018, 31(6): 895–909.
- [42] Kustiarini DA, Nishigaki T, Kanno H, et al. Effects of morinda citrifolia on rheumatoid arthritis in SKG mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(3): 496–500.
- [43] Jeong H, Bae EK, Kim H, et al. Spondyloarthritis features in zymosan-induced SKG mice [J]. *Joint Bone Spine*, 2018, 85(5): 583–591.
- [44] 朱兴旺. 人工环境诱导类风湿关节炎寒痹与热痹动物模型的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2020.

- [45] 徐杰, 王宝成, 姜文月, 等. 活络止痛丸对风湿痹症模型大鼠的治疗作用及机制研究 [J]. 亚太传统医药, 2020, 16(3): 11-14.
- [46] Ge C, Hao J, Wu X, et al. A novel arthritis model induced by wind, damp, cold and heat in female rats [J]. Lab Anim, 2020, 54(5): 433-442.
- [47] Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. Immunity, 2017, 46(2): 183-196.
- [48] Maeda Y, Takada K. Host-microbiota interactions in rheumatoid arthritis [J]. Exp Mol Med, 2019, 51(12): 150-156.
- [49] Chen J, Wright K, Davis JM, et al. An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis [J]. Genome Med, 2016, 8: 43-57.
- [50] Scher JU, Abramson SB. The microbiome and rheumatoid arthritis [J]. Nat Rev Rheumatol, 2011, 7(10): 569-578.
- [51] Jubair WK, Hendrickson JD, Severs EL, et al. Modulation of inflammatory arthritis in mice by gut microbiota through mucosal inflammation and autoantibody generation [J]. Arthritis Rheumatol, 2018, 70(8): 1220-1233.
- [52] 黄淑敏, 钟森杰, 廖晓倩, 等. 基于中西医临床病症特点的类风湿性关节炎动物模型分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(19): 5152-5158.

[收稿日期]2021-07-12

TRDMT1 通过 TLR4-NF- κ B/MAPK-TNF- α 通路对大鼠 LPS 诱导的炎症表现出保护作用

炎症是一种系统性适应性的反应状态,常由刺激和损伤等条件引发,是机体借助免疫系统对内外变化做出的综合性反应。目前有大量研究将 TRDMT1 与压力应激联系起来,TRDMT1 在炎症反应中发挥的生物学作用尚不清楚。

为了探究 TRDMT1 是否对炎症过程敏感及其在炎症进程中是否发挥作用,北京协和医学院-中国医学科学院医学实验动物研究所马元武副研究员率领的研究团队构建了 Trdmt1 敲除大鼠,这些大鼠正常状态下生长、发育、生存与野生大鼠没有明显差异。在 LPS(炎症的常用诱发因素)作用后,Trdmt1 敲除大鼠的死亡率明显上升,组织损伤加剧,产生促炎因子水平显著升高,抗炎因子水平明显降低,还出现了 TLR4 通路的上调。此外,研究也对稳态及 LPS 刺激下可能发生的代偿机制进行了探索。

本项研究首次揭示了 TRDMT1 与炎症进程存在联系,并为理解 TRDMT1 和压力应激的关系进一步提供了新视野,并可能为临床败血症的治疗等过程给予新思路。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Models and Experimental Medicine*, 2022, 5(2):172-182; <https://doi.org/10.1002/ame2.12221>)。