

王俊伟,耿兴超,李伟. 类风湿性关节炎实验模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(1): 127-140.

WANG J W, GENG X C, LI W. Advances in experimental models of rheumatoid arthritis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(1): 127-140.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.01.013

类风湿性关节炎实验模型研究进展

王俊伟^{1,2}, 耿兴超^{1*}, 李伟^{1*}

(1. 中国食品药品检定研究院 安全评价研究所, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176;

2. 中国药科大学 多靶标天然药物全国重点实验室, 南京 210009)

【摘要】 类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种严重影响关节的慢性自身免疫性疾病, 实验模型是研究 RA 发生机制、药理毒理机制和药物筛选评价的重要工具。目前常用的 RA 实验模型分为动物模型和体外模型, 随着生物技术和生物材料的发展, RA 实验模型已从诱导性模型和 2D 体外模型发展至自发性基因修饰模型和 3D 体外模型, 中医病证结合模型的研究也取得了一定的进展。本文对 RA 实验模型的造模、监测和评价方法的研究进展进行总结, 以期对 RA 相关研究提供参考。

【关键词】 类风湿性关节炎; 动物模型; 体外模型; 诱导性模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 01-0127-14

Advances in experimental models of rheumatoid arthritis

WANG Junwei^{1,2}, GENG Xingchao^{1*}, LI Wei^{1*}

(1. Institute for Safety Evaluation, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing Key Laboratory for Safety

Evaluation of Drugs, Beijing 100176, China; 2. State Key Laboratory of Natural Medicines, China

Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Corresponding author: GENG Xingchao. E-mail: gengxch@nifdc.org.cn; LI Wei. E-mail: liwei@nifdc.org.cn

【Abstract】 Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease that significantly impacts joints. Experimental models are crucial tools for studying the pathogenesis and pharmaco-toxicological mechanisms of RA and screening RA drugs. Commonly used experimental RA models include animal models and *in vitro* models. With advancements in biotechnology and biomaterials, experimental RA models have evolved from induced and 2D *in vitro* models to spontaneous gene modification and 3D *in vitro* models. Moreover, some progress has been made in the study of traditional Chinese medicine disease and syndrome combination models. This paper summarizes the research progress made in the modeling, monitoring, and evaluation of experimental RA models to provide a reference for related research.

【Keywords】 rheumatoid arthritis; animal model; *in vitro* model; inducible model

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

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种病因未明的慢性、以滑膜炎为主的自身免疫性疾病, 并逐渐导致关节破坏、畸形、残疾和并发

症, 包括心血管疾病、间质性肺病、骨质疏松症和代谢综合征等。RA 的发生主要与遗传易感性、表观遗传修饰和环境因素相互作用产生的抗原

【基金项目】 药品监管科学全国重点实验室项目 (2023SKLDRS0126)。

Funded by National Key Laboratory of Drug Regulatory Science (2023SKLDRS0126).

【作者简介】 王俊伟, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 药物临床前安全性评价。Email: wjw_cpu@163.com

【通信作者】 耿兴超, 男, 博士, 研究员, 研究生导师, 研究方向: 药物安全性评价。Email: gengxch@nifdc.org.cn;

李伟, 男, 博士, 主任药师, 研究方向: 药物临床前安全性评价。Email: liwei@nifdc.org.cn。

* 共同通信作者

与自身抗体导致的免疫系统紊乱有关,细胞和体液免疫反应的异常导致大量炎症因子产生,炎症细胞向滑膜组织聚集,最终导致持续的关节炎、软骨和骨质破坏,但其确切机制尚不明确。RA 的全球发病率约 0.5% ~ 1%,中国约有 500 万 RA 患者^[1]。

实验模型是研究 RA 发生机制、药理毒理机制和药物筛选的重要工具,目前常用的 RA 实验模型包括诱导性模型、自发性基因修饰模型、中医病证结合模型等动物模型和 2D、3D 体外模型,各模型均具有与人 RA 类似的关节肿胀、滑膜炎和骨侵蚀等经典特征,但在诱导机制、发病速度、病程和严重程度存在差异。RA 的发生机制复杂,现有的实验模型只能反映 RA 的部分特征,因此,对现有模型的深入研究与改良,建立一种能科学全面反映 RA 临床特征的实验模型对于 RA 的发病机制研究和药物筛选评价具有重要意义。本文对近 5 年来 RA 实验模型的造模、监测和评价方法的研究进展进行了总结,并比较了常用的诱导性和基因工程模型与人 RA 的异同,以期对 RA 相关研究和治疗药物的筛选评价提供参考。

1 动物模型

1.1 诱导性模型

以胶原和佐剂性关节炎模型为代表的诱导性模型具有与人 RA 相似度较高、发病快和成本较低的特点,在 RA 相关发病机制研究和药物开发中应用广泛,目前使用较多的诱导剂包括 II 型胶原 (collagen type II, CII)、完全弗氏佐剂 (complete Freund's adjuvant, CFA)、甲基化牛血清白蛋白 (methylated bovine serum albumin, m-BSA) 和胶原抗体等,其中胶原诱导的关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 模型和佐剂关节炎 (adjuvant arthritis, AA) 模型在 RA 发病机制研究及药物开发和评价中应用最为广泛。

1.1.1 胶原诱导的关节炎模型

CIA 模型是主动免疫诱导 RA 的经典模型,T 细胞的过度激活、促炎因子上调和 CII 特异性抗体的产生是 CIA 发病的主要机制,同源或异源 CII 均可诱导 CIA,对 CII 敏感的动物品系包括 SD、Wistar、BB/DR、Lewis 大鼠和 DBA/1 小鼠等^[2]。CIA 模型与人 RA 的关节炎表现、发病机

制和病理学改变相似,均表现为增生性滑膜炎,易感性均与主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 的 II 类分子表达有关,均有血管翳形成、单核细胞浸润、细胞免疫和体液免疫紊乱,CIA 与人 RA 之间最显著的区别是 CIA 中不存在类风湿因子,也不出现复发情况,持续时间较短^[3]。CIA 模型的发病率和严重程度存在较大的个体和性别差异^[4],使用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 或抗 CII/CD3 双特异抗体联合 CII 建立的改良 CIA 方案个体与传统方案相比差异更小、发病率更高^[5-6]。非人灵长类动物在生理和遗传背景方面相比啮齿类动物更接近人类,NA 等^[7]使用鸡 CII 成功在 *Gogo-B*01* 阳性的食蟹猴上建立 CIA 模型,并提出了一个新的关节炎评分系统。

为研究关节炎模型定量预测抗关节炎药物治疗活性的能力,WONG 等^[8]基于转化药代动力学-药效学分析,研究了吡罗昔酮、甲氨蝶呤、依那西普、托法替尼和地塞米松对 CIA 和 AA 模型大鼠的疗效与 RA 患者临床疗效之间的关系,结果显示各药物的临床前疗效排名与报告的临床疗效一致,两种动物模型均适用于 RA 治疗药物的筛选与评价。滑膜细胞凋亡在 RA 的病理生理过程中起着至关重要的作用,SO 等^[9]开发了一种用于体外和体内成像的细胞凋亡成像探针,用于体内成像时相较于膜联蛋白 V 灵敏度更高。X 线、超声和磁共振成像是 RA 临床评估的常用方法,但较高的使用难度和成本限制了其在 RA 动物模型中的应用,最近基于体内显微 CT 技术、红外热成像和光声/超声双模式成像的新方法为 RA 的临床前研究提供了新的选择,可用于 RA 模型动物体温、血管生成和滑膜侵蚀的监测,与传统方法相比灵敏度更高,成本更低,误差更小^[10-12]。总的来说,CIA 在发病机制和临床表现方面与 RA 较为相似,是目前国际公认的研究 RA 发病机制和药物评价的较为理想的模型。

1.1.2 佐剂关节炎模型

AA 模型是一种由灭活分枝杆菌诱导的急性关节炎模型,由 CD4⁺ T 细胞介导并与 MHC 相关,对 CFA 敏感的动物品系包括 Lewis、Wistar、SD、BN 大鼠等^[13]。李日许等^[14]的对比研究表明 AA 模型的稳定性与成模率与 CIA 模型相当,5.0、7.5

以及 10 mg/mL 3 种剂量的 CFA 均可诱导建立 AA 模型,其中 10 mg/mL CFA 为最佳剂量^[15]。RA 相关慢性疼痛与感觉神经元的自发活动增强有关,INGRAM 等^[16]开发了一种基于体内钙成像、用于评估感觉神经元自发活动的体外监测方法,用于评估 AA 模型小鼠的慢性疼痛时,准确率可达 90%。RA 是一种需要长期管理的慢性疾病,LIU 等^[17]开发了一种用于实时炎症监测和协同治疗的可重构集成智能设备,并在 AA 模型中得到验证。AA 模型造模方法简单,发病迅速,累及多个关节;病理学检查可观察到血管翳的形成、中性粒细胞和单核细胞浸润、软骨和软骨下骨侵蚀,并存在明显的细胞免疫功能紊乱,是研究 RA 发病机制和药理毒理研究的常用模型,此外,在大鼠 AA 模型中还观察到心肌肥厚、纤维化、心肌结构改变和心肌炎症等 RA 相关心脏疾病^[18],因此,AA 模型还可用于研究 RA 相关的心血管和心肌损伤^[19]。RA 患者多同时表现出体液和细胞免疫功能的异常,但 AA 模型动物的体液免疫功能没有显著改变,缺乏慢性病过程,且具有自限性,使用 AA 模型单独研究 RA 还存在一些局限性。

1.1.3 抗原诱导的关节炎模型

m-BSA 通过与免疫球蛋白 G Fc 段受体结合并沉积于关节软骨表面,激活单核细胞导致持续的关节炎^[20],将 m-BSA 与 CFA 乳化后进行皮内免疫,再通过关节腔内注射 m-BSA 可建立抗原诱导的关节炎 (antigen-induced arthritis, AIA) 模型^[21]。TOPPING 等^[22]建立了一种制备抗原乳化剂的标准化方法,适用于 AIA 和 CIA 等模型乳化剂的制备。AIA 模型的特征是明显的 T 细胞受累且不影响对侧关节,组织病理学表现与 RA 相似,包括滑膜增生、淋巴细胞浸润、血管翳形成和软骨侵蚀^[23]。FREY 等^[24]发现来自 AIA 小鼠的成纤维细胞样滑膜细胞 (fibroblast-like synoviocytes, FLS) 能够诱导重度联合免疫缺陷小鼠发生慢性关节炎,为研究 FLS 诱导慢性关节炎的分子机制提供了一种重要工具。与 CIA 模型相比,AIA 重复性好、发病率可达 100%、严重程度可控,个体差异小,易感性不受 MHC II 类基因的限制,可以在大多数小鼠品系中诱导,但与人 RA 的慢性多关节炎特征相比,AIA 模型炎症持续时间短,仅能

影响注射关节,在药物开发中应用较少^[25]。

1.1.4 胶原抗体诱导的关节炎模型

胶原抗体通过与关节滑膜中的 CII 表位结合,激活、募集免疫细胞并促进炎症因子释放,导致关节炎的发生,胶原抗体诱导的关节炎 (collagen antibody-induced arthritis, CAIA) 模型通过注射 CII 单克隆抗体混合物与 LPS 诱导建立,与 1.5 mg 单抗相比,3 mg CII 单抗诱导的 CAIA 小鼠关节炎炎症更显著、均一,且未造成过度的关节破坏^[26]。CII 抗体诱导的疼痛依赖于组织抗原识别和局部免疫复合物的形成^[27],微阵列分析发现了 CAIA 模型小鼠背根神经节中存在差异调控的 120 个 circRNA 基因,这些变化可能与炎症诱导的慢性疼痛有关^[28]。SU 等^[29]的研究发现 CAIA 的关节疼痛与溶血磷脂酸 (lysophosphatidic acid, LPA) 激活卫星胶质细胞 (satellite glial cells, SGC) 有关,干扰 LPA 信号传导或 SGC 激活可能是缓解 RA 炎性疼痛的靶点。随着小型化光纤探针的发展,在体内应用拉曼光谱成为可能,WALTHER 等^[30]开发了一种基于拉曼光谱的非侵入性、不含电离辐射的体外监测方法,用于评估骨破坏与软组织损伤,为 RA 动物模型评价提供了一种新选择。CAIA 模型的关节炎发生迅速,48 h 内即快速发生,可重复性好、发病率高,且不受 MHC II 类基因的限制,可以在大多数小鼠品系中诱导,CAIA 模型的致病特征与人 RA 相似,包括单核细胞浸润、血管翳形成、软骨破坏和骨侵蚀,但其不受 T 细胞和 B 细胞反应介导、缺乏慢性病程,同时较高的成本也限制 CAIA 模型的应用^[31]。

用于 RA 动物模型研究的新方法总结见表 1。

1.2 自发性基因修饰模型

经过一定基因修饰的模型动物能够自发形成关节炎,与 RA 发病的多基因特征相比,单个靶向基因缺陷导致的自发性疾病模型发病机制更简单,对于研究 RA 的发病机制和特定基因在 RA 中的作用具有重要意义。

1.2.1 K/BxN 模型

K/BxN 转基因小鼠由 T 细胞受体转基因 KRN 小鼠与自身免疫缺陷的非肥胖型糖尿病 (NOD) 小鼠杂交而得,K/BxN 小鼠在 4 周龄即发生关节炎^[32],其发病机制主要与表达 KRN

表 1 用于 RA 动物模型研究的新方法

Table 1 New methods for RA animal model studies

方法 Methods	应用 Application	特点 Characteristic
凋亡成像探针 Apoptosis imaging probe	体外和体内细胞凋亡成像 <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> apoptosis imaging	用于体内成像时相较于膜联蛋白 V 灵敏度更高, 体外成像时灵敏度相当 Used for <i>in vivo</i> imaging compared with membrane protein V higher sensitivity, <i>in vitro</i> imaging sensitivity
体内钙成像 <i>In vivo</i> calcium imaging	评估感觉神经元自发活动 Evaluation of sensory neurons spontaneous activity	与传统电生理学方法相比成像速度更快、效率更高 Compared with the traditional electrophysiological method, the imaging speed is faster and more efficient
红外热成像 Infrared thermal imaging	体温监测 Temperature monitoring	准确性和可靠性较高, 方法简易、成本低 High accuracy and reliability, simple method, low cost
光声/超声成像 Photoacoustic/ultrasonic imaging	滑膜侵蚀和血管生成评估 Assessment of synovial erosion and angiogenesis	不需外源性造影剂, 灵敏度高, 关节炎早期即可观察到滑膜侵蚀 Without exogenous contrast, high sensitivity, arthritis early can be observed in synovial erosion
体内显微 CT <i>In vivo</i> micro-computed tomography	骨侵蚀和关节肿胀评估 Evaluation of bone erosion and joint swelling	精确度高、误差更小、辐射较少 High accuracy, less error, less radiation
体内拉曼光谱 <i>In vivo</i> raman spectroscopy	骨侵蚀和滑膜炎炎症评估 Evaluation of bone erosion and synovial inflammation	同时监测骨和软组织病变, 且无电离辐射 Bone and soft tissue lesions were monitored simultaneously without ionizing radiation
集成智能设备 Reconfigurable integrated smart device	实时炎症监测和协同治疗 Real-time inflammatory monitoring and collaborative therapy	监测炎症的同时可进行经皮电刺激和给药 Transcutaneous electrical stimulation and drug administration can be performed concurrently with inflammation monitoring

TCR 的 T 细胞识别 MHC II 类抗原呈递细胞上 NOD 衍生的葡萄糖-6-磷酸异构酶 (glucose-6-phosphate isomerase, G6PI) 有关^[33], K/BxN 模型与人 RA 相似度高、重复性好、发病率可达 100%。将从 K/BxN 小鼠中提取纯化的免疫球蛋白 G 或血清注射至健康的 BALB/c 等小鼠体内可诱发短暂的关节炎^[34], 来自 K/BxN 小鼠的抗 G6PI 抗体与存在于正常小鼠关节表面的 G6PI 结合并形成免疫复合物 (immune complexes, IC), G6PI/G6PI IC 与中性粒细胞和巨噬细胞的相互作用是导致关节炎发生的主要原因^[35]。K/BxN 血清转移性关节炎发病迅速, 与 RA 在组织病理学和促炎因子改变等方面相似度高。

1. 2. 2 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 转基因模型

TNF 是 RA 炎症反应中最重要的促炎因子之一, TNF 可通过诱导促炎细胞因子级联、调控 Th1 及 Th17 细胞生长、破骨细胞分化和抗体产生以及参与表观遗传修饰促进 RA 的发生^[36]。TNF 转基因 (TNF-Tg) 小鼠模型是将人 TNF 基因片段整合至 CBA 与 C57BL/6 杂交的第 2 代小鼠受精卵内而得, 发病率可达 100%。TNF-Tg3647 和 Tg197

是常见的两个 TNF 转基因小鼠品系, Tg3647 包含一个转基因拷贝, 其关节炎症状较轻, Tg197 则含有 5 个转基因拷贝, 表现为更严重的关节炎^[37]。雌性 Tg3647 小鼠的寿命相较于雄性明显缩短, 可能与早发性心肌炎和心肺病变有关^[38]。TNF-Tg 小鼠模型是一种慢性自发性 RA 模型, 即使施加 C II 和 PG 等诱导剂也无法诱导急性炎症的发生, 这可能与长期 TNF- α 刺激后 T 细胞的免疫耐受有关^[39]。与 AA 等具有自限性的模型相比, TNF-Tg 模型最显著的特征是其慢性和逐渐加重的进行性关节炎病程, 可观察到与人 RA 一致的滑膜增生、炎性细胞浸润、血管翳形成和关节软骨破坏等病理学特征, 是研究 RA 发病机制和 TNF 抑制剂等药物筛选的重要工具^[40]。

1. 2. 3 SKG 小鼠模型

BALB/c 背景的 SKG 小鼠中编码 T 细胞受体信号分子的 *ZAP-70* 基因发生点突变, 改变了 T 细胞对自身多肽和 MHC 复合物的耐受性, 导致慢性自身免疫性关节炎的发生^[41], 与人 RA 相似, 雌性小鼠的发病率和严重程度较高^[42]。SKG 小鼠在酵母聚糖或其他微生物刺激后发展为慢性自身免疫性关节炎, BAILLET 等^[43]发现沙眼衣

原体可诱导 SKG 小鼠产生 TNF 依赖性关节炎。SKG 小鼠表现出与 RA 相似的小关节对称性炎症、类风湿因子升高和进行性的关节破坏,并存在间质性肺炎、脊柱炎和肠炎等关节外病变,因此也作为间质性肺病研究的动物模型,SKG 小鼠在无病原体环境中不会发展为慢性关节炎,其发

生可能与自身反应性 T 细胞与环境刺激之间的相互作用有关,SKG 模型对于 RA 的关节外组织自身免疫性损伤机制、免疫学和遗传机制研究具有重要意义^[44]。

常用诱导性和基因工程模型与人 RA 的比较见表 2。

表 2 常用诱导性和基因工程模型与人 RA 的比较

Table 2 Comparison of commonly used inducible and genetic engineering models with human RA		
模型 Models	主要机制 Primary mechanism	与人 RA 比较的异同点 Similarities and differences compare with human RA
胶原诱导的 关节炎 CIA	C II 的核心抗原肽与 MHC II 分子结合并被 TCR 识别,激活 T、B 细胞 Core antigenic peptide of C II binds to MHC II molecules, recognized by TCR to activate T and B cells	相同点:多关节炎;关节病理学改变相似;细胞免疫和体液免疫改变明显;受 MHC 基因的限制;存在性别差异 不同点:缺少慢性病程,持续时间较短;不存在类风湿因子 Similarities: polyarthritis; joint pathological changes are similar; changes of cellular immunity and humoral immunity were obvious; limited by MHC genes; gender differences Differences: lack of chronic disease course, shorter duration; no rheumatoid factor
佐剂诱导的 关节炎 AA	分枝杆菌中的 65 kDa 热休克蛋白激活 CD4 ⁺ T 细胞 65 kDa heat shock protein in Mycobacterium activates CD4 ⁺ T cells	相同点:多关节炎;关节病理学改变相似;受 MHC 基因的限制;存在关节外病变;存在性别差异 不同点:缺少慢性病程,具有自限性;仅存在细胞免疫功能紊乱;不存在类风湿因子 Similarities: polyarthritis; joint pathological changes are similar; limited by MHC genes; extra-articular lesions; gender differences Difference: lack of chronic disease course, self-limitation; only cellular immune dysfunction existed; no rheumatoid factor
抗原诱导的 关节炎 AIA	m-BSA 与免疫球蛋白 G Fc 段受体结合,激活免疫系统 m-BSA binds to immunoglobulin G Fc segment receptors, activate the immune system	相同点:关节病理学改变相似 不同点:缺少慢性病程,具有自限性;仅影响注射关节;不受 MHC 基因的限制;不存在类风湿因子 Similarities: joint pathological changes are similar Difference: lack of chronic disease course, self-limitation; affects only the injection joint; not restricted by MHC genes; no rheumatoid factor
胶原抗体诱导的 关节炎 CAIA	抗体与 C II 表位结合并形成免疫复合物,激活免疫系统 Antibodies bind to C II epitopes and form immune complexes, activate the immune system	相同点:多关节炎;关节病理学改变相似 不同点:缺少慢性病程,具有自限性;不受 MHC 基因的限制;不通过 T、B 细胞介导;不存在类风湿因子 Similarities: polyarthritis; joint pathological changes are similar Difference: lack of chronic disease course, self-limitation; not restricted by MHC genes; not mediated by T and B cells; no rheumatoid factor
K/BxN 模型 K/BxN model	T 细胞识别 MHC II 类抗原呈递细胞上的 G6PI,激活免疫系统 T cells recognize G6PI on MHC class II antigen-presenting cells, activate the immune system	相同点:慢性自发性多关节炎;关节病理学改变相似;MHC 基因相关 不同点:患者中 G6PI 抗体阳性发生率低;无全身表现和类风湿因子的产生 Similarities: chronic spontaneous polyarthritis; joint pathological changes are similar; MHC gene correlation Differences: incidence of G6PI antibody positive in patients was low; no systemic manifestations or rheumatoid factors
TNF 转基因模型 TNF transgenic model	将人 TNF 基因片段整合至小鼠中,导致 TNF 过表达 Integration of a human TNF gene fragment into mice, TNF overexpression	相同点:慢性自发性多关节炎;关节病理学改变相似 不同点:不存在类风湿因子 Similarities: chronic spontaneous polyarthritis; joint pathological changes are similar Difference: no rheumatoid factors
SKG 模型 SKG model	ZAP-70 基因发生点突变,导致免疫耐受失衡 Point mutation of ZAP-70 gene leads to immune tolerance imbalance	相同点:关节病理学改变相似;慢性病程;存在类风湿因子等自身抗体;存在性别差异 不同点:关节外病变不完全相同 Similarities: joint pathological changes are similar; chronic course of disease; there are autoantibodies such as rheumatoid factor; gender differences Difference: extra-articular lesions are not identical

1.3 中医病证结合模型

RA 属于中医“痹证”范畴,中医认为虚、寒、湿、热、瘀是 RA 的重要病因病机。RA 病证结合模型是在 CIA 或 AA 等模型基础上,给予风、寒、湿等环境刺激或合并肾虚等模拟发病条件建立,既有关节炎特征,又体现了一定的中医病因病机和证候表现,对于中医证候研究和中药复方的药效评价具有重要意义。

1.3.1 风寒湿痹病证结合模型

风寒湿痹证是 RA 的临床常见证型之一,主要表现包括关节屈伸不利、冷痛、触之不温、疼痛遇寒加重等^[45]。张逢等^[46]和林也等^[47]的研究发现“风寒湿”通过 JAK/STAT 信号通路激活 Th17 细胞分化,导致 Th17/Treg 细胞失衡以及抑制促红细胞生成素的表达影响 RA 的发生,同时外湿加重了大鼠的线粒体损伤,并导致线粒体自噬水平下降,线粒体降解受阻^[48]。风寒湿痹病证结合模型通常在 CIA 或 AA 造模的基础上,给予风寒湿环境刺激,但刺激时长不一,14 ~ 45 d,每日 4 ~ 8 h 均有报道^[49-52]。基于血清代谢组学的研究发现了风寒湿痹模型大鼠与正常大鼠的 45 种差异代谢物,主要涉及类固醇激素生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢等通路^[53]。朱兴旺等^[54]选择 TNF- α 转基因小鼠建立 RA 寒痹模型,发现其发病可能与滑膜组织缺氧诱导因子 1 α 的上调有关。与 CIA 或 AA 模型相比,风寒湿痹模型动物通常表现出精神萎靡,活动、饮食减少,小便偏多等寒痹证候表现和更严重的关节炎症,同时白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 、IL-5 和 IL-17A 等炎症因子和 Beclin1 等滑膜自噬相关蛋白水平显著升高^[55-57]。

1.3.2 风湿热痹病证结合模型

风湿热痹因外感风湿热邪而引起,以游走性关节疼痛,关节灼热红肿,喜冷恶热等为主要表现。风湿热痹病证结合模型由 CII 或 CFA 联合风湿热环境刺激诱导建立,与 CIA 或 AA 模型大鼠相比,风湿热痹模型大鼠毛发干枯发黄、精神萎靡、发病时间提前、关节肿胀加重、关节表面温度和毛细血管通透性升高,血清 TNF- α 、IL-1 β 水平明显升高,关节表面温度、热痛阈值和毛细血管通透性可能是风湿热痹模型的特征性评价指标^[58-60]。朱兴旺等^[61]的研究认为 CIA 大鼠基础

属性为热,在经风湿热环境刺激后具有显著的热痹证候演变过程,其机制可能与热休克蛋白 70 的上调有关。此外,风湿热痹大鼠的肠道菌群结构发生了显著变化,其厚壁菌门、乳酸杆菌属、普雷沃氏菌属 9、拟普雷沃氏菌属的相对丰度明显降低,拟杆菌门、拟杆菌属的相对丰度显著升高,这种变化也可能与风湿热痹的发病有关^[62]。

1.3.3 肾虚痹证病证结合模型

中医理论认为肾为“先天之本”,肾精亏虚或先天不足导致痹证发生。肾虚证动物模型的造模方法包括药物造模法和手术造模法^[63],此外,已有通过基因敲除建立肾虚证小鼠模型的报道^[64]。基于代谢组学的研究发现了肾虚证动物的多种生物标志物,涉及氨基酸代谢、脂质代谢、核苷酸代谢和肠道微生物代谢等通路^[65-66]。叶亲彬^[67]和陶黎等^[68]通过手术切除雌性大鼠卵巢后皮下注射 CII 诱导建立肾虚痹证病证结合模型,肾虚痹证大鼠关节肿胀严重,关节病理切片可见大量炎性细胞浸润,滑膜增生和软骨侵蚀,股骨骨小梁减少,破骨细胞数量明显高于 CIA 组大鼠,表明肾虚加重了 CIA 大鼠的骨质破坏。

1.3.4 脾虚痹证病证结合模型

中医认为脾胃虚弱可致痰湿内生,湿浊为患,复感外邪而致痹,肠道屏障受损和肠道菌群失调导致的免疫紊乱也可能与脾虚痹证的发生有关^[69],基于 GC-MS 技术的代谢组学研究发现了脾虚证大鼠的多种差异代谢物^[70]。脾虚证动物模型的造模方法包括苦寒泻下法等病因病机造模法和以利血平为代表的药物造模法,及综合多种方法的多因素造模方法^[71]。刘德芳等^[72]选择雄性 Wistar 大鼠,给予高脂饮食和高湿度环境喂养,并通过皮下注射 CFA 建立脾虚痹证大鼠模型,脾虚痹证大鼠与 AA 大鼠相比,精神萎靡、进食减少,脾组织 Na⁺, K⁺-ATPase 活性明显降低。王明珠等^[73]的研究发现冰水潮湿诱发的脾虚证小鼠血清中 α 淀粉酶、胃泌素和胰蛋白酶水平显著下降,通过冰水潮湿和 CII 诱导建立的脾虚痹证模型与 CIA 模型组比,脾虚痹证模型小鼠的血清 IL-6、粒细胞集落刺激因子水平显著升高,表明脾虚证加重了 CII 诱导的关节炎症。

1.3.5 血瘀证病证结合模型

瘀血阻络所致的关节疼痛可见于痹证发展

的各个时期,血瘀证动物模型的造模方法包括冰水刺激、疲劳运动和外伤等病因造模方法、以肾上腺素为代表的药物造模方法和联合多种方法的多因素造模方法^[74]。基于代谢组学和蛋白质组学的研究发现了多种与肾上腺素诱发的血瘀证大鼠发病相关的差异代谢物和差异表达蛋白,涉及葡萄糖代谢、脂肪酸代谢、胆酸代谢等代谢途径和补体与凝血级联反应、血小板活化与聚集等关键通路^[75-76]。陈文佳等^[77]通过皮下注射 C II 和盐酸肾上腺素,并联合冰水刺激的方法建立 RA 血瘀证模型,与 CIA 模型相比,血瘀证病证结合模型大鼠的血浆黏度、红细胞压积、血小板计数和纤维蛋白原显著升高,表明血瘀证加剧了 CIA 模型的血液流变性、凝血功能、血小板功能和内皮功能的异常变化,大鼠可能处于“血瘀”状态,接近临床血瘀证的证候特点。

2 体外模型

得益于生物工程技术的进步,从组织外植体到 3D 共培养系统的研究取得了显著的进展,构建一种与 RA 病理生理接近的体外模型对于药物的早期筛选,发病机制、药理与毒理研究和减少实验动物的使用意义重大。

2.1 组织外植体

来自 RA 患者的组织外植体具有与 RA 最接近的生理相似性,是研究细胞反应、细胞外基质重塑过程和软骨的有力工具,但其容易受到个体健康状况、药物、样品制备和供应血管中断的影响,从外植体边缘开始的细胞死亡限制了模型的使用时长,SPINNEN 等^[78]开发了一种从人软骨组织中大批量制备软骨切片培养物的方法,单个组织样本即可获得多达 100 个外植体培养物,组织细胞活力能够在 3 周内保持稳定。基于来自 RA 患者的滑膜外植体,DORST 等^[79]证明了抗成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein, FAP)靶向光动力疗法以光剂量依赖性方式诱导原代 RA FLS 死亡,用于 RA 靶向局部治疗的潜力。

2.2 体外 2D 模型

2D 单层细胞培养简单,成本较低,用于确定化合物最佳浓度、分析基因表达谱和高通量筛选。CHWASTEK 等^[80]建立了一个包含神经上皮

干细胞和 FLS 的 2D 共培养模型,首次将含有 FLS 的半透膜插件引入神经细胞培养物中,研究神经元细胞对 FLS 分泌的促炎因子的反应。2D 共培养系统在研究细胞-细胞、细胞-微环境或细胞-体液相互作用方面具有一定的优势,CHIU 等^[81]通过人间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)和 FLS 的共培养系统,发现 IL-1 β 刺激的 MSC 通过淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function-associated antigen 1, LFA-1)与胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)相互作用粘附在 FLS 上,然后分泌肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)诱导 FLS 凋亡,证明 MSCs 在 RA 治疗中的潜力。但过于简化的 2D 模型在研究细胞形态、多样性、周期进程和分化能力方面存在一定的局限性^[82]。

2.3 体外 3D 模型

与 2D 模型相比,3D 模型在研究细胞与基质相互作用、增殖、分化和迁移,以及模拟关节的结构特征方面具有显著优势^[83]。关节炎症的标志是 FLS 过度增殖和免疫细胞浸润,基于 FLS、血管内皮细胞(endothelial cells, EC)和 3D 支架构建的滑膜模型为研究 RA 滑膜组织微环境提供了一种重要工具^[84]。通过在 3D 支架上培养患者来源的滑膜细胞以模拟 RA 的炎性微环境和细胞-基质相互作用,在 RA 发病机制研究、药物筛选和开发个性化治疗方案中拥有巨大潜力, BONELLI 等^[85]使用由 FLS 组成的 3D 模型发现干扰素调节因子 1(interferon regulatory factor 1, IRF1)是干扰素介导的炎症级联反应的关键调节因子。关节软骨由软骨细胞和胶原蛋白组成,对于吸收机械负荷和保护软骨下骨起着重要作用,3D 软骨模型通常基于 C II、天然凝胶、海藻酸微球、透明质酸或壳聚糖制成的多孔支架构建^[86], DAMERAU 等^[87]开发了一种由 MSC 衍生的 3D 软骨模型,通过在 3D 无支架软骨组件和磷酸三钙中共培养间充 MSC 衍生的骨骼和软骨成分以建立 3D 骨软骨组织模型,使用 TNF- α 等促炎因子诱导软骨退化和骨破坏,以研究骨软骨降解过程中细胞因子驱动的细胞和基质相关变化,并验证了其作为临床前药物筛选工具的潜力。骨质流失和骨侵蚀是 RA 的重要特征之一,骨骼是一种动态的、高度血

管化的结缔组织,钙化和矿化在骨组织的形成过程中至关重要,THRIVIKRAMAN 等^[88]建立了一种由 MSC、EC 和神经母细胞瘤细胞组成,基于钙和磷酸盐介质及非胶原蛋白类似物的仿生骨组织模型,成功模拟了骨骼的纳米级钙化和细胞与矿物质的相互作用。3D 滑膜模型和 3D 骨软骨模型相结合的多组分体外 3D 共培养模型对于研究 RA 发病过程中的滑膜炎症、软骨和骨损伤至关重要,但目前还没有合适的多组分体外模型能够模拟健康或炎症关节的生理病理特征。

2.4 微流控芯片

微流控技术通过在区室化的 3D 微环境中构建精细的生理模型,模拟人体组织和器官的微观结构、化学梯度和生物力,进而实现对组织形态、生理功能和代谢产物的动态监测与分析,在 RA 相关机制研究、药物评估、毒性测试和个性化医疗中潜力巨大^[89]。THOMPSON 等^[90]基于市售器官芯片系统开发了一种由 FLS 和 EC 组成,具有生物力和炎症因子刺激的血管化滑膜芯片,以模拟 RA 滑膜炎症的生理病理特征,用于研究关节炎症机制和创新疗法测试,可通过在滑膜芯片中嵌入光电探测器阵列,以监测 3D 模型中的细胞增殖、侵袭和基质凝聚过程^[91]。PETTA 等^[92]使用 3D 打印的微流控装置建立了一个包含滑膜和软骨的关节芯片,其组成包括 FLS、软骨细胞和由胶原蛋白、蛋白聚糖和透明质酸组成的软骨基质,软骨-滑膜双类器官模型为研究组织水平的串扰提供了一个有力工具^[93],以提高我们对 RA 复杂病理生理机制的理解,并开发和验证新的治疗方法,此外,微流控芯片也有望作为诊断工具对疾病进行早期诊断^[94]。

3 总结与展望

自 20 世纪 50 年代 AA 模型建立以来,各种诱导性模型和自发性基因修饰模型不断涌现,逐渐从啮齿类发展至非人灵长类动物,造模和评价方法不断完善,动物模型的发病机制也基本清晰,得益于此,RA 发病机制与治疗药物的研究取得了显著进展。尽管大多数动物模型都表现出与人 RA 类似关节病理特征,如炎性细胞浸润、滑膜增生、血管翳形成、软骨破坏和骨侵蚀,但由于诱导方法和种属差异的限制,以及 RA 复杂的发

病机制,目前尚无一种动物模型能够全面反映 RA 的临床特点,包括诱导性模型的自限性,较少的关节外并发症及无内源性免疫耐受失衡过程等,因此,探寻一种能科学全面反映 RA 特点的动物模型对于 RA 发病机制研究和药物筛选评价都具有重要意义。

中医药在 RA 的治疗中发挥着不可替代的作用,目前基于中医理论并结合 RA 病因病机建立的中医病证结合动物模型已经取得了一定进展,模型制备方法日趋成熟,并能体现部分中医证候特点,但仍存在许多不足之处,包括造模方法简单、标准不一,与临床病证并不完全吻合,且缺乏量化的评价标准。如何实现动物模型评价指标的客观标准化,并将其应用于中医证候研究仍需更进一步的研究,建立体现中医辨证论治与现代医学疾病理论的病证结合动物模型,对于阐明中药复方的作用特点和中医药现代化意义重大。

生物技术和生物材料的创新促进了 RA 3D 体外模型的发展,为高通量筛选技术和药理毒理研究提供了一个新平台,加速了新药开发进程。但目前的 3D 共培养系统仍不能完全复制关节中复杂的细胞组成,同时标准化评价方法的缺乏也限制了 3D 体外模型的应用。因此,开发包含多种细胞类型的标准化培养系统,将不同的 3D 培养模型相结合,对于 RA 的发病机制研究和药物开发都至关重要。

近年来,免疫细胞和炎症因子抑制剂及干细胞疗法已成为新的研究热点,基于现有实验模型的深入研究、改良和新模型的开发有望大大加速创新疗法的研究进程。

参 考 文 献 (References)

- [1] TIAN X, LI M, ZENG X. The current status and challenges in the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis in China: an annual report of 2019 [J]. *Rheumatol Immunol Res*, 2021, 2(1): 49-56.
- [2] ŠTEIGEROVÁ M, ŠÍMA M, SLANAŘ O. Pathogenesis of collagen-induced arthritis: role of immune cells with associated cytokines and antibodies, comparison with rheumatoid arthritis [J]. *Folia Biol*, 2023, 69(2): 41-49.
- [3] ROSLONIEC E F, WHITTINGTON K, PROSLOVSKY A, et al. Collagen-induced arthritis mouse model [J]. *Curr Protoc*, 2021, 1(12): e313.
- [4] 孙文婷, 万盈盈, 杨家熙, 等. 性别差异对牛 II 型胶原诱

- 导的类风湿关节炎模型的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(2): 25-34.
- SUN W T, WAN Y Y, YANG J X, et al. Effect of gender difference on the model of rheumatoid arthritis induced by bovine type II collagen [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(2): 25-34.
- [5] DE S, KUNDU S, CHATTERJEE M. Generation of a robust model for inducing autoimmune arthritis in Sprague Dawley rats [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2020, 102: 106659.
- [6] 刘家望, 王宏伟, 许江城, 等. 改进型胶原诱导的小鼠关节炎动物模型的建立[J]. 中国兽医杂志, 2020, 56(2): 98-108.
- LIU J W, WANG H W, XU J C, et al. Establishment of an improved mouse model of collagen-induced arthritis [J]. Chin J Vet Med, 2020, 56(2): 98-108.
- [7] NA H S, LEE S Y, MIN H K, et al. The establishment of a rheumatoid arthritis primate model in macaca fascicularis [J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 264.
- [8] WONG H, LIU L, OUYANG W, et al. Exposure-effect relationships in established rat adjuvant-induced and collagen-induced arthritis; a translational pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2019, 369(3): 406-418.
- [9] SO I S, KANG J H, HONG J W, et al. A novel apoptosis probe, cyclic ApoPep-1, for *in vivo* imaging with multimodal applications in chronic inflammatory arthritis [J]. Apoptosis, 2021, 26(3/4): 209-218.
- [10] LORD A E, ZHANG L, ERICKSON J E, et al. Quantitative *in vivo* micro-computed tomography for monitoring disease activity and treatment response in a collagen-induced arthritis mouse model [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 2863.
- [11] NOSRATI Z, BERGAMO M, RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ C, et al. Refinement and validation of infrared thermal imaging (IRT): a non-invasive technique to measure disease activity in a mouse model of rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2020, 22(1): 281.
- [12] WANG Z, TONG Z, CHEN H, et al. Photoacoustic/ultrasonic dual-mode imaging for monitoring angiogenesis and synovial erosion in rheumatoid arthritis [J]. Photoacoustics, 2023, 29: 100458.
- [13] WANG S, ZHOU Y, HUANG J, et al. Advances in experimental models of rheumatoid arthritis [J]. Eur J Immunol, 2023, 53(1): e2249962.
- [14] 李日许, 叶晓彤, 陈健钊, 等. 风湿性关节炎胶原诱导型与佐剂诱导型大鼠模型的建立与对比分析 [J]. 实验动物科学, 2023, 40(2): 49-60.
- LI R X, YE X T, CHEN J Z, et al. Establishment and comparative analysis of collagen-induced arthritis(CIA) and adjuvant-induced arthritis (AA) rat models of rheumatoid arthritis [J]. Lab Anim Sci, 2023, 40(2): 49-60.
- [15] NOH A S M, CHUAN T D, KHIR N A M, et al. Effects of different doses of complete Freund's adjuvant on nociceptive behaviour and inflammatory parameters in polyarthritic rat model mimicking rheumatoid arthritis [J]. PLoS One, 2021, 16(12): e0260423.
- [16] INGRAM S, CHISHOLM K I, WANG F, et al. Assessing spontaneous sensory neuron activity using *in vivo* calcium imaging [J]. Pain, 2024, 165(5): 1131-1141.
- [17] LIU Y, XIE W, TANG Z, et al. A reconfigurable integrated smart device for real-time monitoring and synergistic treatment of rheumatoid arthritis [J]. Sci Adv, 2024, 10(18): eadj0604.
- [18] KESSLER J, TOTOSON P, DEVAUX S, et al. Animal models to study pathogenesis and treatments of cardiac disorders in rheumatoid arthritis: advances and challenges for clinical translation [J]. Pharmacol Res, 2021, 170: 105494.
- [19] BORDY R, MORETTO J, DEVAUX S, et al. Adjuvant-induced arthritis is a relevant model to mimic coronary and myocardial impairments in rheumatoid arthritis [J]. Joint Bone Spine, 2021, 88(1): 105069.
- [20] CHANG M H, LEVESCOT A, NELSON-MANEY N, et al. Arthritis flares mediated by tissue-resident memory T cells in the joint [J]. Cell Rep, 2021, 37(4): 109902.
- [21] DI Ceglie I, ASCONE G, CREMERS N A J, et al. Fcγ receptor-mediated influx of S100A8/A9-producing neutrophils as inducer of bone erosion during antigen-induced arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2018, 20(1): 80.
- [22] TOPPING L M, ROMERO-CASTILLO L, URBONAVICIUTE V, et al. Standardization of antigen-emulsion preparations for the induction of autoimmune disease models [J]. Front Immunol, 2022, 13: 892251.
- [23] MARÍN-PRIDA J, RODRÍGUEZ-ULLOA A, BESADA V, et al. The effects of phycocyanobilin on experimental arthritis involve the reduction in nociception and synovial neutrophil infiltration, inhibition of cytokine production, and modulation of the neuronal proteome [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1227268.
- [24] FREY O, HÜCKEL 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(1): 261.
- [25] 范凯健, 吴菁, 王婷玉. 胶原诱导与抗原诱导 C57BL/6 小鼠类风湿关节炎造模的比较研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(11): 31-35.
- FAN K J, WU J, WANG T Y. Comparison of collagen-

- induced and antigen-induced C57BL/6 mouse models of rheumatoid arthritis [J]. *Chin J Comp Med*, 2018, 28 (11): 31–35.
- [26] WILLIAMS B, LEES F, TSANGARI H, et al. Effects of mild and moderate monoclonal antibody dose on inflammation, bone loss, and activation of the central nervous system in a female collagen antibody-induced arthritis mouse model [J]. *J Histochem Cytochem*, 2021, 69(8): 511–522.
- [27] BERSELLINI FARINOTTI A, WIGERBLAD G, NASCIMENTO D, et al. Cartilage-binding antibodies induce pain through immune complex-mediated activation of neurons [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(8): 1904–1924.
- [28] KURTOVIĆ Z, SANDOR K, TER HEEGDE F, et al. circRNA landscape in dorsal root Ganglia from mice with collagen antibody-induced arthritis [J]. *Neurobiol Pain*, 2023, 14: 100142.
- [29] SU J, KROCK E, BARDE S, et al. Pain-like behavior in the collagen antibody-induced arthritis model is regulated by lysophosphatidic acid and activation of satellite Glia cells [J]. *Brain Behav Immun*, 2022, 101: 214–230.
- [30] WALTHER A R, STEPULA E, DITZEL N, et al. *In vivo* longitudinal monitoring of disease progression in inflammatory arthritis animal models using raman spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 2023, 95(7): 3720–3728.
- [31] MALEITZKE T, WEBER J, HILDEBRANDT A, et al. Standardized protocol and outcome measurements for the collagen antibody-induced arthritis mouse model [J]. *STAR Protoc*, 2022, 3(4): 101718.
- [32] LECETA J, GARIN M I, CONDE C. Mechanism of immunoregulatory properties of vasoactive intestinal peptide in the K/BxN mice model of autoimmune arthritis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 701862.
- [33] MATSUMOTO I, KURATA I, OHYAMA A, et al. Revisit of autoimmunity to glucose-6-phosphate isomerase in experimental and rheumatoid arthritis [J]. *Mod Rheumatol*, 2020, 30(2): 232–238.
- [34] LOPEZ-SANTALLA M, CONDE C, RODRIGUEZ-TRILLO A, et al. Assessment of mesenchymal stem/stromal cell-based therapy in K/BxN serum transfer-induced arthritis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 943293.
- [35] CHRISTENSEN A D, HAASE C, COOK A D, et al. K/BxN serum-transfer arthritis as a model for human inflammatory arthritis [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 213.
- [36] KONDO N, KURODA T, KOBAYASHI D. Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 10922.
- [37] LI P, SCHWARZ E M. The TNF- α transgenic mouse model of inflammatory arthritis [J]. *Springer Semin Immunopathol*, 2003, 25(1): 19–33.
- [38] BELL R D, WU E K, RUDMANN C A, et al. Selective sexual dimorphisms in musculoskeletal and cardiopulmonary pathologic manifestations and mortality incidence in the tumor necrosis factor-transgenic mouse model of rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71(9): 1512–1523.
- [39] 赵文婷. 类风湿关节炎中医寒痹证候模型向热痹证候模型转化的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学; 2021.
- ZHAO W T. Experimental study on transformation of the animal model of cold Bi syndrome to heat bi syndrome in rheumatoid arthritis [D]. Guangzhou: Southern Medical University; 2021.
- [40] ISHIWATARI-OGATA C, KYUUMA M, OGATA H, et al. Ozoralizumab, a humanized anti-TNF α NANOBODY[®] compound, exhibits efficacy not only at the onset of arthritis in a human TNF transgenic mouse but also during secondary failure of administration of an anti-TNF α IgG [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 853008.
- [41] TAKEUCHI Y, HIROTA K, SAKAGUCHI S. Impaired T cell receptor signaling and development of T cell-mediated autoimmune arthritis [J]. *Immunol Rev*, 2020, 294(1): 164–176.
- [42] GUERARD S, BOIERI M, HULTQVIST M, et al. The SKG mutation in ZAP-70 also confers arthritis susceptibility in C57 black mouse strains [J]. *Scand J Immunol*, 2016, 84(1): 3–11.
- [43] BAILLET A C, REHAUME L M, BENHAM H, et al. High chlamydia burden promotes tumor necrosis factor-dependent reactive arthritis in SKG mice [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(6): 1535–1547.
- [44] SENDO S, SAEGUSA J, YAMADA H, et al. Tofacitinib facilitates the expansion of myeloid-derived suppressor cells and ameliorates interstitial lung disease in SKG mice [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 184.
- [45] 刘蔚翔, 巩勋, 姜泉, 等. 类风湿关节炎湿热与寒湿证候的病机特点分析 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(2): 1088–1091.
- LIU W X, GONG X, JIANG Q, et al. Analysis of the disease characteristics of rheumatoid arthritis syndrome of dampness-heat and cold-dampness [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2021, 36(2): 1088–1091.
- [46] 张逢, 戴宗顺, 林也, 等. “风寒湿”外邪影响 Th17/Treg 失衡促进类风湿关节炎病证发生的分子机制研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(11): 1657–1662.
- ZHANG F, DAI Z S, LIN Y, et al. Mechanistic studies of Th17/treg imbalance influenced by exogenous wind-cold-damp pathogens on the development of rheumatoid arthritis [J]. *J Hunan Univ Chin Med*, 2021, 41(11): 1657

- 1662.
- [47] 林也, 廖菁, 戴宗顺, 等. 风寒湿外邪作用于 EPO 影响痹证(类风湿关节炎)的发生 [J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(3): 345-349.
LIN Y, LIAO J, DAI Z S, et al. Exogenous wind-cold-damp on EPO affects the occurrence of Bi syndrome (rheumatoid arthritis) [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2021, 41(3): 345-349.
- [48] 宋雨萱, 王佳丽, 郑智礼, 等. 模拟外湿环境探讨外湿对正常及类风湿关节炎大鼠线粒体自噬的影响 [J]. 现代生物学进展, 2023, 23(3): 417-422, 493.
SONG Y X, WANG J L, ZHENG Z L, et al. The effect of external humidity on mitochondrial autophagy in normal and rheumatoid arthritis rats-discussed by simulating the external wet environment [J]. Prog Mod Biomed, 2023, 23(3): 417-422, 493.
- [49] 靳荃, 青千裕, 郜宪明, 等. 甘草附子汤对小鼠疼痛模型及寒湿证疼痛模型止痛作用比较研究 [J]. 山西中医药大学学报, 2020, 21(5): 338-341.
JIN Q, QING Q Y, GAO X M, et al. Analgesic effect of Gancao Fuzi Decoction on the pain mice model with cold-damp syndrome and pain mice model [J]. J Shanxi Univ Chin Med, 2020, 21(5): 338-341.
- [50] 林也, 戴宗顺, 张婷, 等. 基于“以方测证”的类风湿关节炎风寒湿痹证动物模型的构建研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(5): 668-672.
LIN Y, DAI Z S, ZHANG T, et al. Construction of animal model of rheumatoid arthritis with wind cold dampness arthralgia syndrome based on the theory of “testing syndrome by formula” [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2021, 41(5): 668-672.
- [51] 欧阳丹, 李鑫, 湛港香, 等. 乌头汤通过下调 HIF-1 α /VEGFA/Ang 信号通路抑制 AIA 风寒湿痹证大鼠血管翳形成 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(9): 10-18.
OUYANG D, LI X, ZHAN G X, et al. Inhibition of pannus formation by Wutoutang in AIA rats with wind-cold-dampness Bi syndrome via down-regulating HIF-1 α /VEGFA/Ang signaling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2024, 30(9): 10-18.
- [52] 周文涛, 马薇娜, 豆江移, 等. 寒湿痹证小鼠模型的制备及寒淫湿淫致痹机制初探 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2022, 20(12): 141-144.
ZHOU W T, MA W N, DOU J Y, et al. Construction of the mouse model of cold-dampness arthromyodynia and research on the mechanism of arthromyodynia induced by cold and dampness [J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2022, 20(12): 141-144.
- [53] 何东初, 李蒋凤. 基于代谢组学探讨痹症宁方治疗风寒湿痹型类风湿关节炎的作用机制 [J]. 中国医药导报, 2023, 20(34): 21-25, 35.
HE D C, LI J F. Explore the action mechanism of Bizhengning Decoction in the treatment of wind-cold-dampness bi type rheumatoid arthritis based on metabonomics [J]. Chin Med Her, 2023, 20(34): 21-25, 35.
- [54] 朱兴旺, 赵文婷, 赵晓峰, 等. 基于人 TNF- α 转基因关节炎小鼠建立寒痹模型及评价 [J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(4): 448-452, 461.
ZHU X W, ZHAO W T, ZHAO X F, et al. Establishment and evaluation of cold arthralgia model based on human TNF- α transgenic arthritis mice [J]. Chin J Immunol, 2022, 38(4): 448-452, 461.
- [55] 刘涛, 王永辉, 江晓智, 等. 不同类风湿关节炎模型制备方法对大鼠血清炎症因子和滑膜自噬蛋白表达的影响 [J]. 中国药物与临床, 2021, 21(13): 2249-2251.
LIU T, WANG Y H, JIANG X Z, et al. Impacts of model preparation methods on the expression of serum inflammatory factors and synovial autophagy protein in rats with rheumatoid arthritis [J]. Chin Remedies Clin, 2021, 21(13): 2249-2251.
- [56] 尚玉巧. TRPV1 致敏和脱敏建立类风湿关节炎热痹与寒痹证候模型的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学; 2023.
SHANG Y Q. Experimental study on establishment of heat bi and cold bi syndrome model in rheumatoid arthritis by sensitization and desensitization of TRPV1 [D]. Guangzhou: Southern Medical University; 2023.
- [57] 张婷. 基于炎症细胞因子表达谱的类风湿关节炎不同辨证分型临床与基础研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学; 2021.
ZHANG T. Clinical and basic research on different syndrome differentiation types of rheumatoid arthritis based on inflammatory cytokine expression profile [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine; 2021.
- [58] 富丽萍, 李佳钰, 陆麒麟, 等. 从炎症、凋亡与自噬评价 Mtb 诱导类风湿关节炎风湿热痹动物模型 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(23): 44-52.
FU L P, LI J Y, LU Q J, et al. Evaluation of animal model of rheumatoid arthritis induced by mycobacterium tuberculosis from inflammation, apoptosis and autophagy [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(23): 44-52.
- [59] 韦乃球, 周玲梅, 成观凤, 等. 祛风湿中药威灵仙、豨莶草对痹证大鼠作用的性-效关系研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(13): 1520-1529
WEI N Q, ZHOU L M, CHENG G F, et al. Study on the property-efficacy relationship of antirheumatic traditional chinese medicine Clematidis Radix et Rhizoma and

- Siegesbeckiae Herba on arthralgia syndrome rats [J]. Chin J Hosp Pharm, 2024, 44(13): 1520-1529
- [60] 杨东宇, 赵中亭, 陈家涟, 等. 类风湿性关节炎热痹证大鼠模型的复制与评价 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8): 2042-2045.
- YANG D Y, ZHAO Z T, CHEN J L, et al. Replication and evaluation of rat model of rheumatoid arthritis with heat arthralgia syndrome [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(8): 2042-2045.
- [61] 朱兴旺, 赵文婷, 宣亚男, 等. 风寒湿热环境对胶原诱导性关节炎大鼠模型中医证型的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(12): 1476-1482.
- ZHU X W, ZHAO W T, XUAN Y N, et al. Effects of wind cold dampness heat environment on traditional Chinese medicine syndrome types in collagen induced arthritis model rats [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2021, 41(12): 1476-1482.
- [62] 梁露莹, 林鸿鑫, 蔡义思, 等. 基于 16S rDNA 测序研究当归拈痛汤对风湿热痹佐剂性关节炎大鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 18-27.
- LIANG L Y, LIN H X, CAI Y S, et al. Effect of Danggui Niantongtang on intestinal flora in adjuvant-induced arthritis rats of wind-dampness-heat arthralgia: based on 16S rDNA sequencing [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(9): 18-27.
- [63] 崔玮, 孙理军. 基于中医理论探讨肾虚动物模型的造模方式 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(11): 2737-2739.
- CUI W, SUN L J. Study on the modeling method of animal model of kidney deficiency based on TCM theory [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(11): 2737-2739.
- [64] 王玲, 陈佳, 陈客宏, 等. 一种 Parkin 基因敲除小鼠肾虚证动物模型的建立 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2021, 22(8): 669-672, 754.
- WANG L, CHEN J, CHEN K H, et al. Establishment of an animal model of parkin gene knockout mice with kidney deficiency syndrome [J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2021, 22(8): 669-672, 754.
- [65] LU Q, ZHANG J, XIN L, et al. Integrated gas chromatography-mass spectrometry and ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry renal metabolomics and lipidomics deciphered the metabolic regulation mechanism of Gushudan on kidney-Yang-deficiency-syndrome rats [J]. J Sep Sci, 2023, 46(13): e2300124.
- [66] XIN L, REN M, LOU Y, et al. Integrated UHPLC-MS untargeted metabolomics and gut microbe metabolism pathway-targeted metabolomics to reveal the prevention mechanism of Gushudan on kidney-Yang-deficiency-syndrome rats [J]. J Pharm Biomed Anal, 2024, 242: 116062.
- [67] 叶亲彬. 二至丸联合甲氨蝶呤对肾虚痹证大鼠骨稳态失衡的作用及机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学; 2022.
- YE Q B. Effect and mechanism of Erzhi pills combined with Methotrexate on bone homeostasis imbalance in rats with Bi syndrome of kidney deficiency [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine; 2022.
- [68] 陶黎, 刘梅洁, 薛欣, 等. 益肾蠲痹丸对肾虚胶原诱导性关节炎大鼠踝关节骨质破坏的影响 [J]. 中医杂志, 2018, 59(5): 420-426.
- TAO L, LIU M J, XUE X, et al. Impact of Yishen Juanbi Wan on ankle bone destruction of kidney deficiency collagen-induced arthritis rats [J]. J Tradit Chin Med, 2018, 59(5): 420-426.
- [69] 官美惠, 黄艺晨, 韩婷芬, 等. 基于肠屏障损害探讨类风湿关节炎脾虚湿毒蕴结病机的生物学基础 [J]. 新中医, 2023, 55(1): 13-17.
- GUAN M H, HUANG Y C, HAN T F, et al. Study on biological basis of pathogenesis of rheumatoid arthritis with accumulation of spleen deficiency and dampness toxin based on intestinal barrier dysfunction [J]. New Chin Med, 2023, 55(1): 13-17.
- [70] 刘明. 基于肠道菌群和 GC-MS 技术的脾气虚动物模型的生物学机制分析 [D]. 长春: 长春中医药大学; 2022.
- LIU M. Biological mechanism analysis of spleen-qi deficiency animal model based on intestinal flora and GC-MS technology [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine; 2022.
- [71] 张永龙, 马唯刚, 钱星羽, 等. 脾虚证实验动物模型构建及评价方法的研究述评 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(3): 385-396.
- ZHANG Y L, MA W G, QIAN X Y, et al. Construction of experimental animal models and evaluation of spleen deficiency syndrome; a review [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(3): 385-396.
- [72] 刘德芳, 张耀雷, 刘碧莹, 等. 基于脾虚湿阻研究佐剂性关节炎大鼠模型炎症因子、钠钾 ATP 酶及病理组织学变化 [J]. 风湿病与关节炎, 2023, 12(1): 1-5.
- LIU D F, ZHANG Y L, LIU B Y, et al. Study on inflammatory factors, Na⁺, K⁺-ATPase and histopathological changes of adjuvant arthritis rat model based on spleen deficiency and dampness obstruction [J]. Rheum Arthr, 2023, 12(1): 1-5.
- [73] 王明珠, 黄琳, 李海昌, 等. 冰水潮湿诱发的脾虚对 DBA/1 小鼠胶原诱导型关节炎的影响及参苓白术散的“以方测证” [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(11): 6781-6784.

- WANG M Z, HUANG L, LI H C, et al. Effects of drinking ice water and high humidity induced spleen deficiency on CIA disease in DBA/1 mice and the 'counter evidence' of Shenling Baizhu Powder [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(11): 6781-6784.
- [74] 于嘉莹, 张会永, 王凤, 等. 九种血瘀证动物模型造模方法研究进展与评述 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(12): 4855-4864.
- YU J Y, ZHANG H Y, WANG F, et al. Research progress and review of nine animal models of blood stasis syndrome [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(12): 4855-4864.
- [75] 胡广, 李瑛, 杨会珍, 等. 基于蛋白质组学探讨慢性血瘀证大鼠的发病机理 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(11): 1796-1801.
- HU G, LI Y, YANG H Z, et al. Study on the pathogenesis of chronic blood stasis syndrome in rats based on proteomics [J]. J Basic Chin Med, 2022, 28(11): 1796-1801.
- [76] 胡广, 杨会珍, 张国媛, 等. 基于代谢组学技术研究不同剂量肾上腺素血瘀证模型的作用机制 [J]. 世界中医药, 2023, 18(12): 1672-1678, 1683.
- HU G, YANG H Z, ZHANG G Y, et al. Mechanism of blood stasis syndrome model induced by different doses of epinephrine based on metabolomics technology [J]. World Chin Med, 2023, 18(12): 1672-1678, 1683.
- [77] 陈文佳, 李涛, 胥明珠, 等. 基于症状映射的类风湿关节炎瘀血阻络证生物内涵研究及其病证结合动物模型建立和评价 [J]. 药学报, 2023, 58(8): 2434-2441.
- CHEN W J, LI T, XU M Z, et al. Exploring biological connotation of blood stasis syndrome of rheumatoid arthritis and establishment of improved animal models based on syndrome-symptom mapping [J]. Acta Pharm Sin, 2023, 58(8): 2434-2441.
- [78] SPINNEN J, SHOPPERLY L K, RENDENBACH C, et al. A novel method facilitating the simple and low-cost preparation of human osteochondral slice explants for large-scale native tissue analysis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12): 6394.
- [79] DORST D N, RIJPKEMA M, BUITINGA M, et al. Targeting of fibroblast activation protein in rheumatoid arthritis patients: imaging and *ex vivo* photodynamic therapy [J]. Rheumatology, 2022, 61(7): 2999-3009.
- [80] CHWASTEK J, KĘDZIORA M, BORCZYK M, et al. Mimicking the human articular joint with *in vitro* model of neurons-synoviocytes co-culture [J]. Int J Stem Cells, 2024, 17(1): 91-98.
- [81] CHIU Y H, LIANG Y H, HWANG J J, et al. IL-1 β stimulated human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate rheumatoid arthritis via inducing apoptosis of fibroblast-like synoviocytes [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 15344.
- [82] DAMERAU A, GABER T. Modeling rheumatoid arthritis *in vitro*: from experimental feasibility to physiological proximity [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 7916.
- [83] YUN C, KIM S H, KIM K M, et al. Advantages of using 3D spheroid culture systems in toxicological and pharmacological assessment for osteogenesis research [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(5): 2512.
- [84] KIM D, HEO J, SONG B, et al. 3D *in vitro* synovial hyperplasia model on polycaprolactone-micropatterned nanofibrous microwells for screening disease-modifying anti-rheumatic drugs [J]. Mater Today Bio, 2024, 26: 101061.
- [85] BONELLI M, DALWICK K, PLATZER A, et al. IRF1 is critical for the TNF-driven interferon response in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes: JAKinibs suppress the interferon response in RA-FLS [J]. Exp Mol Med, 2019, 51(7): 1-11.
- [86] XIE R, PAL V, YU Y, et al. A comprehensive review on 3D tissue models: Biofabrication technologies and preclinical applications [J]. Biomaterials, 2024, 304: 122408.
- [87] DAMERAU A, PFEIFFENBERGER M, WEBER M C, et al. A human osteochondral tissue model mimicking cytokine-induced key features of arthritis *in vitro* [J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1): 128.
- [88] THRIVIKRAMAN G, ATHIRASALA A, GORDON R, et al. Rapid fabrication of vascularized and innervated cell-laden bone models with biomimetic intrafibrillar collagen mineralization [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3520.
- [89] LI Z A, SANT S, CHO S K, et al. Synovial joint-on-a-chip for modeling arthritis: progress, pitfalls, and potential [J]. Trends Biotechnol, 2023, 41(4): 511-527.
- [90] THOMPSON C L, HOPKINS T, BEVAN C, et al. Human vascularised synovium-on-a-chip: a mechanically stimulated, microfluidic model to investigate synovial inflammation and monocyte recruitment [EB/OL]. [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/acf976>.
- [91] ROTHBAUER M, HÖLL G, EILENBERGER C, et al. Monitoring tissue-level remodelling during inflammatory arthritis using a three-dimensional synovium-on-a-chip with non-invasive light scattering biosensing [J]. Lab Chip, 2020, 20(8): 1461-1471.
- [92] PETTA D, D'ARRIGO D, SALEHI S, et al. A personalized osteoarthritic joint-on-a-chip as a screening platform for biological treatments [J]. Mater Today Bio, 2024, 26: 101072.
- [93] ROTHBAUER M, BYRNE R A, SCHOBESBERGER S, et al. Establishment of a human three-dimensional chip-based chondro-synovial coculture joint model for reciprocal cross

talk studies in arthritis research [J]. Lab Chip, 2021, 21
(21): 4128-4143.

2024, 556: 117841

[94] KUMAR A S, VENKATESALU S, DILLIYAPPAN S, et al.
Microfluidics as diagnostic tools [J]. Clin Chim Acta,

[收稿日期] 2024-06-28

一种全新的糖尿病自发性高甘油三酯血症仓鼠模型

张灵芝, 王雨辰

(中国医学科学院药物研究所药理室)

长期以来,金黄地鼠(又名仓鼠)因其血脂代谢模式与人类相似,常常被作为研究人类代谢性疾病的动物模型。日前,北京大学医学部刘国庆课题组在 *Animal Models and Experimental Medicine*, AMEM 上发表一篇 SHORT COMMUNICATION,揭示一种全新的糖尿病自发性高甘油三酯血症仓鼠模型。

糖尿病常常伴随着高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)并发症,HTG 被认为是糖尿病血管并发症的风险因素之一。在建立动物模型过程中,诱导糖尿病高甘油三酯血症通常需要高脂肪饮食。本文利用新开发的低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)受体基因敲除仓鼠模型,以期探究该动物模型是否会在糖尿病病发过程中,不进行饮食控制的情况下发生 HTG。

以野生型仓鼠和 LDL 受体基因缺陷的杂合子仓鼠为研究对象,通过腹腔注射链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱发糖尿病,监测 60 d 内的血糖、甘油三酯和胆固醇变化。通过强饲法给予橄榄油,测定血浆中甘油三酯清除率。于诱发糖尿病后第 60 天,评估胰岛素对糖尿病 HTG 的影响。注射 STZ 后第 7 天,与对照组相比,野生型仓鼠和杂合子仓鼠的血糖增加了 3 倍多,而血浆胰岛素降至对照组的 30%,并在 60 d 内保持稳定。注射 STZ 后第 7 天,野生型仓鼠的血浆 TG 保持不变,但随后略有增加。相反,杂合子仓鼠在第 7 天时,表现出严重的 HTG,直至研究结束。橄榄油强饲法显示,尽管杂合子仓鼠注射肝素后,血浆中的脂蛋白脂肪酶活性显著降低,但与野生型动物相比,杂合子仓鼠的血浆甘油三酯清除速度要慢得多。腹腔注射胰岛素后,杂合子仓鼠的高血糖和 HTG 可逆转至糖尿病前水平。

综上所述,患有糖尿病的 LDL 受体基因缺陷的杂合子仓鼠会自发形成严重的 HTG,并且对胰岛素有依赖性。这种仓鼠模型在遗传和冠状动脉粥样硬化病变的发展方面与人类家族性高胆固醇血症(FH)患者非常相似,有望有效应用于研究与人类糖尿病及 HTG 相关的并发症。

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*, 2024, 7(6): 955-960. doi: 10.1002/ame2.12490)。