

· 综述 ·

系统性红斑狼疮动物模型及其发病机制研究进展

吴 岚¹, 蔡同凯¹, 张立超³, 姜远英¹, 曹永兵^{1,2} (1. 第二军医大学药学院新药研究中心, 上海 200433; 2. 上海市中西医结合医院中西医结合脉管病研究所, 上海 200082; 3. 上海市中医医院药剂科, 上海 200071)

[摘要] 系统性红斑狼疮模型主要分为自发性和诱导性模型, 通过查阅文献探究近年来国内外学者对自发性和诱导性红斑狼疮模型的研究, 并阐明不同类型系统性红斑狼疮模型的主要特征, 针对其各自优势与不足筛选更稳定、更适合自身免疫的红斑狼疮小鼠模型, 为后期红斑狼疮治疗药物的研究和筛选提供合适的动物模型, 有助于抗系统性红斑狼疮新药的研发。

[关键词] 系统性红斑狼疮; 小鼠; 动物模型

[中图分类号] R96

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2018)06-0481-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.001

Study on animal models and mechanisms of systemic lupus erythematosus

WU Lan¹, CAI Tongkai¹, ZHANG Lichao³, JIANG Yuanying¹, CAO Yongbing^{1,2} (1. Center for New Drug Research, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Shanghai TCM-Integrated Hospital Shanghai TCM-Integrated Research Institute of pulse tube disease, Shanghai 200082, China; 3. Department of Pharmacy, Shanghai Traditional Chinese Medicine Hospital, Shanghai 200071, China)

[Abstract] **Objective** Systemic lupus erythematosus (SLE) models were mainly divided into spontaneous and induced models. Through the literature, spontaneous and induced SLE models and their main characteristics were reviewed, which provided references for the researchers to choose appropriate models for studying specific pathogenic mechanism and diagnostic criteria, searching for targeted treatment interventions and developing potential therapeutic drugs.

[Key words] systemic lupus erythematosus; murine; animal models

系统性红斑狼疮(SLE)是一种复杂的自身免疫性疾病,多见于育龄女性,其病因尚不十分明确,推测可能与遗传因素和环境因素共同作用所引起的机体免疫功能紊乱有关^[1]。其病程反复,涉及到全身各个系统,最易受累是肾脏,患者血清中产生多种自身抗体,主要以抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、双链脱氧核糖核酸(double-stranded deoxyribonucleic acid, dsDNA)、单链脱氧核糖核酸(single-stranded DNA, ssDNA)抗体为代表。研究表明狼疮性肾炎是导致SLE患者肾衰和死亡的主要因素^[2]。由于基因、激素、环境等综合因素,可诱导

产生抗原累积、免疫过度活化、细胞因子异常、自身抗体产生、靶器官损伤,最终导致炎症反应,但此过程均与免疫细胞相关,所以免疫细胞异常可作为研究热点。T淋巴细胞异常可作为自身免疫疾病的重要因素,早期研究表明SLE发病机制中,辅助性T细胞(Th)功能失调是导致SLE的主要因素,且Th2细胞亢进可导致B细胞高度活化,进而产生大量自身抗体。Th1主要分泌细胞因子,介导细胞免疫迟发型变态反应,Th2主要介导体液免疫,辅助性细胞分化并产生抗体。由于刺激免疫系统可持续产生大量的自身抗体,形成高水平的免疫复合物,沉积于肾、关节、皮肤,使血管通透性改变,并从而渗出至组织间隙,引发多种组织、器官的损伤^[3,5]。SLE的发病进程中有很多免疫细胞因子参与,如白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素10(IL-10)、干扰素(IFN)、肿瘤坏死因子(TNF)等。目前,通常用皮质类固醇和免疫抑制药物对SLE患者进行长期监控治疗,通过降低T、B淋巴细胞功能,减少特异性自体抗体生成,抑制细胞因子产生等,进而控制自身免疫和免疫

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项,项目编号:2018X09201008-002-071;上海市科委科技创新行动计划,项目编号:18401932700

[作者简介] 吴 岚,实验技术员,研究方向:药理学,Email:446432931@qq.com

[通讯作者] 曹永兵,教授,研究方向:药理学,Tel:13386270390,Email:ybCao@vip.sina.com

抑制。在 SLE 模型小鼠中可观察到很多免疫异常及病理变化,因此建立红斑狼疮模型有利于探究 SLE 的病因、发病机制及开发治疗 SLE 的新方法。目前国内外研究的 SLE 模型主要分为两种,即自发型、诱导型小鼠红斑狼疮模型。自发型小鼠模型具有良好的遗传背景及遗传稳定性,在探究遗传因素对 SLE 的影响中意义重大;人工诱导型小鼠实验周期短,大部分小鼠在诱发 SLE 后 5 个月左右死亡。本文针对自发型小鼠模型和人工诱导型小鼠模型,对其造模方法、发病时间及发病机制探究其优势与不足,综合筛选所需的 SLE 模型,以期研究者寻找特定的发病机制,研究开发更有潜力的治疗 SLE 的药物,选择合适的模型奠定基础。

1 自发性小鼠 SLE 模型

1.1 杂交获得 SLE 模型

1963 年 Helyer 在 NZB 鼠与 NZW 鼠的杂交一代中发现可自发地出现与人类狼疮性肾炎相似的改变^[6],其亲代任一方均不发生病变;此模型小鼠 4~5 月龄左右发病,5~6 月龄会出现明显的肾小球肾炎症状,10~12 月龄则发展为严重狼疮,常出现肾衰竭乃至死亡^[7];此类模型小鼠发病症状与人类相似,因此,该小鼠为 SLE 的经典模型。1976 年 Murphy 和 Roths 相继培育出了新的 MRL 和 BXSB 鼠 SLE 模型,进一步促进了对 SLE 模型的研究^[8];BXSB 鼠为 C57BL/6/J 雌性鼠与 SB/Le 雄性鼠杂交获得的子一代雄性鼠,与 SB/Le 回交的子代小鼠可见淋巴组织增殖,此品系小鼠由于雄鼠 Y 染色体的突变基因 Yaa 可加速自身免疫疾病发生,从而导致雄鼠比雌鼠发病早且病情严重。研究表明 Yaa 小鼠严重依赖 IL-21,且 IL-21 信号对 B 细胞信号传导所有的相关疾病是至关重要的,此特征可作为狼疮的发病机制,其结果显示,在 BXSB 鼠自身免疫中,IL-21 具有促进疾病和抑制疾病的作用^[9]。此类模型小鼠平均生存周期为 5 个月,增生性肾小球肾炎是其主要致死原因^[10]。通过杂交获得的 SLE 模型的缺点是发病晚,周期长,易受环境因素影响,且实验过程不易控制。

1.2 MRL/lpr 小鼠

目前国际上常用的 SLE 模型是雌性 SPF 级 MRL/lpr 小鼠,亦是最为经典的动物模型,1978 年由 Murphy 等人建立此模型,该鼠是由 LG/J、AKR/J、C3H/HeDi 和 C57BL/6J 品系小鼠复杂交配至第 12 代时产生^[11,12]。此类小鼠由于缺失 Fas 基因,出现淋巴增生基因,导致 T 细胞死亡率降低,

淋巴结肿大,以致自身反应性淋巴细胞不能通过凋亡途径清除,进而产生自身免疫疾病症状,其症状和人类 SLE 十分相似,其特征是产生大量的 ANA、anti-dsDNA、anti-ssDNA 等自身抗体,肾小球肾炎为其致命性因素,发病早,且无性别优势。Kreft 等^[13]报道转化生长因子(TGF- $\beta_{1,2,3}$)在 MRL/lpr 小鼠肾脏细胞中表达增高,主要集中在肾小管上皮细胞、血管平滑肌细胞和肾小球上皮细胞、其他几种组织的血管平滑肌细胞中 TGF- β 表达也增高。TNF- α 参与 MRL/lpr 小鼠整个病理变化过程,可以增加 TGF- β 的表达,对透明质酸在肾脏的病理沉积发挥作用, TNF- α 在局部与皮炎的发生相关。吴言为^[14]研究了青蒿素衍生物 SM934 对系统性红斑狼疮的疗效及作用机制,研究结果表明:雌性 MRL/lpr 小鼠发病时间为 8~12 周,可检测到多种自身抗体,并累及多个器官,20 周时发展为严重狼疮,可检测出免疫复合物沉淀,脾脏、淋巴结均肿大,24 周时死亡率为 50%;青蒿素衍生物 SM934 治疗 SLE 的作用机制是经 TLR7/9 信号通路抑制 B 细胞活化及分化。此类模型的缺点是价格高,此外在遗传因素、雌激素、环境因素等影响下应联合其他模型共同阐述系统性红斑狼疮的病因及发病机制。

2 诱导性小鼠 SLE 模型

2.1 淋巴细胞活性染色质诱导系统性红斑狼疮小鼠模型

此方法采用 ConA 活化 BALB/c 小鼠脾淋巴细胞^[15,16],再根据改良的 Chiu 法提取染色质^[17]。张晓丹等将活性染色质通过尾根部及背部皮内注射 4 次免疫 BALB/c 小鼠^[18],造模时间为 28 d,造模完成后采用尿蛋白试纸检测尿蛋白变化,HE 染色检查动物肾脏、脾脏的病理变化,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中抗体的变化。实验数据显示:诱导的模型尿蛋白水平升高,肾脏、脾脏的病理发生改变(造模后 60 d 肾脏病变较轻,84 d 后肾脏病变明显),血清中抗体水平升高。实验结果表明:活性染色质免疫 BALB/c 小鼠可成功诱导 SLE 模型,且尿蛋白水平、病理变化以及血清抗体水平与人 SLE 十分相似。此方法具有造模时间短、造模成功率高的优势。

2.2 空肠弯曲菌诱导的 SLE 小鼠模型

空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*, CJ)为人畜共患的食物和水源性病原体,可引发多种疾病。采用空肠弯曲菌以弗氏完全佐剂诱导的 SLE 小鼠模型始于 20 世纪 80 年代,其模型稳定可靠^[19,20],

主要表现为:小鼠体内抗核抗体含量高,小鼠体重显著下降,小鼠肾小球肿大、肾小球系膜增厚、小球细胞增生多等肾损伤现象明显^[21]。王铮等探究了贯众总多糖对空肠弯曲杆菌(CJ-S₁₃₁)诱导的SLE小鼠的作用^[22],采用CJ-S₁₃₁与弗氏完全佐剂(FCA)2次免疫诱导SLE小鼠模型,造模与灌胃给药同时进行,35 d后,对小鼠进行体重、尿蛋白含量、血清抗体、肾脏脾脏病理变化的检测。研究结果表明:贯众总多糖可改善CJ-S₁₃₁诱导SLE小鼠的体重下降,显著降低小鼠尿蛋白及血清抗体水平,抑制小鼠肾脏、肝脏的病理损伤。在此基础上增加了免疫和致敏次数,采用不同的佐剂菌株建立实验模型,对皮下注射和腹腔注射两种给药方式的疗效进行相应的比较,并在36、54、61 d分批处死小鼠观察其相应指标变化。实验结果表明:36 d时模型组小鼠血清抗体含量显著升高,可持续到61 d,不同的佐剂菌株对诱导结果无较大影响,腹腔注射给药效果优于皮下注射给药。此研究进一步优化SLE小鼠模型,延长模型的维持时间,较为稳定。CJ-S₁₃₁诱导的SLE小鼠模型与自身免疫疾病相似性强,实验周期短,经济易行,其诱导的Balb/c小鼠模型在研究免疫应答方面有一定的优势^[23]。

2.3 降植烷诱导的SLE小鼠模型

通常选用BALB/c或C57BL/6小鼠作为受试对象,采用一次腹腔注射0.5 ml降植烷(pristane)制备SLE模型^[24],其机制为降植烷通过促进腹腔内巨噬细胞分泌IL-6等细胞因子,以及活性氧自由基、NO等活性中间体的产生,形成炎症环境^[25]。其自身抗原的产生由线粒体途径诱导腹腔内细胞凋亡所致。与自发性小鼠模型相比,该模型侧重于研究环境因素打破机体免疫耐受。该模型小鼠外周血循环产生大量的ANA抗体、anti-dsDNA抗体、anti-Su抗体、anti-ss-DNA抗体、抗snRNP/Sm抗体、抗组蛋白抗体,同时IFN- α 及TISGsde的表达水平上调并可导致肾小球肾炎、蛋白尿、关节炎等病变。跟人类系统性红斑狼疮有较好的相关性,具有与人SLE相类似的血清特异性抗体及肾脏免疫复合物沉积。高增燕^[26]采用C57BL/6小鼠制备降植烷诱导的SLE小鼠模型,实验结果显示:3个月时仅在30%的模型小鼠血清中检测出抗核抗体(ANA),4个月时可在80%的小鼠血清中检测出ANA的表达,7个月时,有78%的小鼠出现蛋白尿及典型的肾脏病变。周小刚^[27]研究了脂质体槲皮素对降植烷诱导SLE小鼠模型的效应,3个月末检测模型组小鼠血清中抗体验证是否造模成功。4个月末灌胃,

给予脂质体槲皮素进行治疗,治疗时间为5个月,8个月末检测血清中抗体水平。实验结果显示:3个月末ANA检测结果证明造模成功率为78%,8个月末各组小鼠均无死亡现象,与模型组对比,给药组皮肤出现红斑现象显著降低($P<0.05$)。采用降植烷诱导制备SLE模型不需严格的环境要求,普通环境即可^[28],但耗时长,需6~8个月才能诱导出狼疮性肾炎。降植烷诱导制备SLE模型实验周期长,但价格低廉,技术简便,并且与人类自身免疫疾病极为相似,可作为较理想的SLE疾病研究模型。

3 小结

SLE为自身免疫性疾病,其发病机制复杂,随着医学的迅速发展,SLE的治疗已不再是难题,近年来主要通过自发性和实验性诱导SLE小鼠模型进行研究,并利用SLE小鼠模型更深入的探索病因,因此,建立合适、稳定的SLE小鼠模型有助于SLE的治疗及新药开发。

【参考文献】

- [1] WANG Z, XIE JY, XU H, *et al*. Effect of Mattheuccia struthiopteris polysaccharides on systemic lupus erythematosus-like syndrome induced by Campylobacter jejuni in BALB/c mice[J]. Acta pharmaceutica Sinica, 2010, 45(6): 711-717.
- [2] MOK CC, LAU CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. J Clin Pathol, 2003, 56(7): 481-490.
- [3] FLIERMAN R, DAHA MR. Pathogenic role of anti-C1q autoantibodies in the development of lupus nephritis: a hypothesis[J]. Mol Immunol, 2007, 44(1-3): 133-138.
- [4] LIM P L, ZOUALI M. Pathogenic autoantibodies: Emerging insights into tissue injury [J]. Immunology Letters, 2006, 103(1): 17-26.
- [5] ZHANG M, CARROLL MC. Natural antibody mediated innate autoimmune response[J]. Mol Immunol, 2007, 44(1-3): 103-110.
- [6] HELYER BJ, *et al*. Nature(London), 1963, 197(4863): 197-199.
- [7] THEOFILOPOULOS AN, DIXON FJ. Murine models of systemic lupus erythematosus [J]. Adv Immunol, 1985, 37: 269-390.
- [8] MURPHY ED, *et al*. Genetic control of autoimmune Disease, 3Eds. New York: Elsevier NorthHolland, 1978: 207-220.
- [9] MCPHEE CG, BUBIER JA, SPROULE TJ, *et al*. IL-21 is a double-edged sword in the systemic lupus erythematosus-like disease of BXSB.Yaa mice [J]. J Immunol, 2013, 191(9): 4581-4588.
- [10] MURPHY ED, ROTH JB. AY chromosome associated factor in strain BXSB producing accelerated autoimmunity and lymphoproliferation [J]. Arthritis & Rheumatism, 1979, 22(11): 1188-1194.

- acizumab combined with FOLFIRI in the first-line setting [J]. *Transl Oncol*, 2015, 8(6): 474-479.
- [28] TOFFOLI G, CECCHIN E, CORONA G, *et al.* The role of UGT1A1 * 28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(19): 3061-3068.
- [29] SCHULZ C, HEINEMANN V, SCHALHORN A, *et al.* UGT1A1 gene polymorphism; impact on toxicity and efficacy of irinotecan-based regimens in metastatic colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(40): 5058-5066.
- [30] XU CL, TANG XS, QU YL, *et al.* UGT1A1 gene polymorphism is associated with toxicity and clinical efficacy of irinotecan-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 78(1): 119-130.
- [31] LUSIN TT, MRHAR A, TRONTELJ J. UGT1A1 * 28 polymorphism influences glucuronidation of bazedoxifene [J]. *Pharmazie*, 2015, 70(2): 94-96.
- [32] BINS S, LENTING A, EL BOU AZZA OUIS, *et al.* Polymorphisms in SLCO1B1 and UGT1A1 are associated with sorafenib-induced toxicity [J]. *Pharmacogenomics*, 2016, 17(14): 1483-1490.
- [33] YAGURA H, WATANABE D, ASHIDA M, *et al.* Correlation between UGT1A1 polymorphisms and raltegravir plasma trough concentrations in Japanese HIV-1-infected patients [J]. *J Infect Chemother*, 2015, 21(10): 713-717.
- [34] de OLIVEIRA ALMEIDA VC, RIBEIRO DD, GOMES KB, *et al.* Polymorphisms of CYP2C9, VKORC1, MDR1, APOE and UGT1A1 genes and the therapeutic warfarin dose in Brazilian patients with thrombosis; a prospective cohort study [J]. *Mol Diagn Ther*, 2014, 18(6): 675-683.
- [35] IGARASHI R, INOUE T, FUJIYAMA N, *et al.* Contribution of UGT1A1 genetic polymorphisms related to axitinib pharmacokinetics to safety and efficacy in patients with renal cell carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2018, 35(4): 51.
- [36] CHEN P, ZHU KW, ZHANG DY, *et al.* Influence of UGT1A1 polymorphisms on the outcome of acute myeloid leukemia patients treated with cytarabine-based regimens [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 197.
- [收稿日期] 2018-07-17 [修回日期] 2018-10-09
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 483 页)

- [11] MURPHY ED, ROTH JB. A Single gene model for massive lymphoproliferation with immune complex disease in new mouse strain MRL [J]. *Life Sci*. 1976.
- [12] 阎雨, 方莲花, 杜冠华. 系统性红斑狼疮动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 428-433.
- [13] KREFT B, YOKOYAMA H, NAITO T, *et al.* Dysregulated transforming growth factor-beta in neonatal and adult autoimmune MRL-lpr mice [J]. *J Autoimmun*, 1996, 9(4): 463-472.
- [14] 吴言为. 青蒿素衍生物 SM934 对系统性红斑狼疮的疗效及作用机制研究 [D]. 2016; 11-12.
- [15] LI H, ZHANG YY, SUN YN, *et al.* Induction of systemic lupus erythematosus syndrome in BALB/c mice by immunization with active chromatin [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(6): 807-811.
- [16] 力弘, 章蕴毅, 黄曦益, 等. 小鼠系统性红斑狼疮样综合症的诱导及病变特征 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2004, 23(8): 480-484.
- [17] ZHONG SP, WEN BG, HE KL. Chemical and physical nature of active chromatin in SRS-lymphoma mouse lymphocyte [J]. *Chin J Pathophysiol*, 1994, 10(4): 378-382.
- [18] 张晓丹, 严尚学, 王晶晶, 等. 淋巴细胞活性染色质诱导系统性红斑狼疮样小鼠模型研究 [J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(5): 728-732.
- [19] 高建新, 马宝疆, 谢雅莉, 张汉明. 长期空肠弯曲菌感染诱导的小鼠自身免疫综合征. *上海免疫学杂志*, 1993, 13(4): 193-196
- [20] 徐叔云, 卞如镰, 陈修. *药理实验方法学* (第三版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1462
- [21] WANG Z, LI H, XU H, *et al.* Beneficial effect of Bupleurum polysaccharides on autoimmune disease induced by *Campylobacter jejuni* in BALB/c mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 124(3): 481-487.
- [22] 王铮, 谢俊云, 徐晗, 等. 贯众总多糖对空肠弯曲杆菌诱导的系统性红斑狼疮样综合征小鼠的作用 [J]. *药学报*, 2010, 45(6): 711-717.
- [23] AL-BANNA N, RAGHUPATHY R, ALBERT M J. Correlation of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine levels with histopathological changes in an adult mouse lung model of *Campylobacter jejuni* infection [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2008, 15(12): 1780-1787.
- [24] MAK A, TAY SH. Environmental factors, toxicants and systemic lupus erythematosus [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 16043-16056.
- [25] MINHAS U, DAS P, BHATNAGAR A. Role of reactive intermediates in the immunopathogenesis of the pristane-induced Balb/c model of lupus [J]. *Lupus*, 2011, 20(13): 1421-1425.
- [26] 高增燕, 孙杰, 王艳茹, 等. 降植烷诱导 C57BL/6 狼疮性肾病. 鼠模型的建立和生物学鉴定 [J]. *苏州大学学报(医学版)*, 2010, 30(3): 498-501.
- [27] 周小刚. 脂质体槲皮素对 Pristane 诱导系统性红斑狼疮样小鼠模型的效应 [D]. 郑州大学, 2016, 7-9.
- [28] MIZUTANI, SHAHEEN VM, YOSHIDA H, *et al.* Pristane induced autoimmunity in germfree mice [J]. *Clin Immunol*, 2005, 114(2): 110-118.
- [收稿日期] 2018-03-19 [修回日期] 2018-09-12
[本文编辑] 陈盛新