痛风性关节炎动物模型研究进展

杨玲玲¹ 黄丽贞¹ 邓家刚²

(1 广西中医药大学药学院, 南宁, 530001; 2 广西中医药大学, 南宁, 530001)

摘要 痛风性关节炎是一种代谢障碍性疾病, 近年来随着人们生活方式的改变, 其发病率逐升高, 对该病的研究也逐渐增多。为进一步研究痛风性关节炎的形成机制及防治方法, 提供一个近于人类发病机理的痛风性关节炎动物模型, 兹就国内外痛风性关节炎模型做一综述。

关键词 痛风性关节炎; 动物模型; 综述

Research Process of Animal Model of Gouty Arthritis

Yang Lingling¹, Huang Lizhen¹, Deng Jiagang²

(1 Guang xi university of Chinese medicine pharmaceutical college, Nanning 530001, China;

2 Guang xi university of Chinese medicine, Nanning 530001, China)

Abstract Gouty arthritis is a metabolic disorder. In recent years, with changing lifestyles, the incidence rate of gouty arthritis gradually increased and studies relate to the disease gradually increased. To further study the formation mechanism and control methods of gouty arthritis, this paper did a review on studies of animal model of gouty arthritis.

Key Words Gouty arthritis; Animal model; Review

中图分类号: R589.7 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.09.045

痛风(Gout)是由嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄障碍所导致的一种异质性疾病,常由遗传性或获得性而致,其临床特点是高尿酸血症、痛风性急性关节炎反复发作、痛风石形成,常累及肾,引起慢性间质性肾炎和尿酸肾结石形成^[1-2]。近年来,随着人们生活方式的改变,痛风患病率有逐年上升,且有年轻化的趋势^[3-4]。有研究表明,痛风是心脑血管疾病的独立危险因素^[5],估计在今后 10~20 年高尿酸血症将成为我国仅次于糖尿病的第二位代谢性疾病^[6],因此,其发病机理及治疗方法的研究倍受世人的关注。而建立痛风性关节炎动物模型是研究痛风的基础,为了建立理想的痛风性关节炎动物模型,国内外学者进行了长期的研究,尝试了多种方法,也取得了一定的进展。现将国内外在建立痛风性关节炎动物模型方面的进展综述,以期今后开展更深入的研究及应用提供参考。

1 建立痛风性关节炎动物模型的基本原理

目前常用于痛风研究的造模动物有大/小鼠、兔子等啮齿类,鸡、鹌鹑等禽类以及灵长类。大多数动物(包括猫、狗等哺乳动物)体内存在尿酸分解酶,可将尿酸进一步分解为尿囊素。尿囊素是种水溶性良好,不会在组织内沉积造成损害的无毒物质,

可随尿液排出体外,故多数动物并无高尿酸血症和痛风。人体内缺乏尿酸分解酶,无法将嘌呤代谢终产物尿酸进一步分解成尿囊素,加上不合理的饮食结构,而易发高尿酸血症及痛风。禽类、灵长类与人类尿酸代谢过程接近,但由于实际条件所限,在大规模实验研究中难以做到,所以要在常用动物上建立高尿酸血症并引起痛风发作的模型相当困难。

现代研究认为,关节部位析出的尿酸钠(Monosodium Urate, MSU)晶体是造成痛风性关节炎关键的化学物质^[7]。当 MSU 晶体沉积在关节腔周围时,可以诱导中性粒细胞、单核细胞、肥大细胞等系统活化,通过旁分泌或自分泌出多种炎症递质如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 等^[8-9],这些炎症因子大量分泌引起局部血管扩张、通透性增加、渗出、水肿、发热等炎症反应而在痛风发病过程中扮演着重要的角色^[10-12],因此人们制备痛风性关节炎动物模型通常是通过模拟把炎症递质 MSU 溶液直接注射到动物关节腔内的方法。

2 痛风性关节炎动物模型的造模方法

目前,通常采用的痛风性关节炎动物模型的建模方法有:尿酸盐关节腔注射、足趾垫注射及尿酸盐气囊注入等,主要涉及到的动物有鸡、鹌鹑等禽类动

物,大鼠、小鼠、兔子等哺乳类动物。

2.1 单纯性急性痛风性关节炎动物模型 据报道,约有 10% 的高尿酸血症患者最终可发展为痛风,但有学者发现在急性痛风性关节炎患者中,有 67% 患者血尿酸值正常,只表现了急性痛风性关节炎发作^[13-15],所以有学者只将尿酸盐注射到关节腔造成单纯性急性痛风性关节炎模型。如 Coderre 等^[16]最早设计了给大鼠局部关节注射 MSU 造成急性痛风性关节炎模型:将 50 μL (10 ~ 100 mg/mL) MSU 溶液从右踝关节外侧后方以 45° 注入雄性大鼠关节腔内,诱导后 2 h 出现均出现了痛风性关节炎体征。也有学者^[17-18]将 0.2 mL (0.4 mg) MSU 结晶混悬液注射到大鼠右足垫皮内致炎,制备大鼠足趾肿胀模型。Kazunori Fujiwara 等^[19]用戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 从耳缘静脉注入将兔麻醉,剃除双侧膝关节周围的毛,对皮肤进行常规消毒,轻弯曲膝关节,从关节侧位或正中进针,将 0.5 mL (10 mg) MSU 溶液通过髌上韧带注入兔膝关节腔,造成急性痛风性关节炎模型。也有学者^[20]合用 MSU 溶液 0.4 mL (25 mg/mL) 与多黏菌素 B 0.1 mL (10 U/mL) 造成兔急性痛风性关节炎。李泽等^[21]依据 McCarty-Francis N 法建立雄性白来航鸡急性痛风性关节炎模型,常规消毒鸡腿部左侧皮肤后,轻度屈曲关节,通过膝关节后侧韧带沿关节正中进针,将配置好的 2% 尿酸钠溶液按 0.5 mL/kg 注入公鸡膝关节腔,1 次/3 d,连续注射 4 次。

这些模型虽然只是一种急性非特异性炎症反应,与人类痛风病发生机理有所不同,但可以模拟痛风的局部关节症状,适用于局部关节症状的观察。以上鼠兔模型已是国际上筛选痛风药物抗炎作用的常用方法,模型稳定,操作简单,可以根据实验研究需要进行治疗性给药或预防性给药。应用尿酸、嘌呤成分及特异饲料配方诱发禽类痛风性关节炎虽有报道^[22],但尚待深入研究。

2.2 伴高尿酸血症性急性痛风性关节炎动物模型

高尿酸血症是痛风最主要的生化基础,尿酸水平升高至过饱后就促使尿酸结晶在关节腔内形成,MSU 的沉积促进痛风性关节炎的发展^[12,23],故有人就采用高尿酸血症急性痛风性关节炎结合模型。而建立高尿酸血症动物模型,主要是根据增加尿酸来源和减少尿酸去路两种措施进行造模。通常采用饲喂、灌胃、腹腔注射、皮下注射的形式进行给药,灌胃或腹腔注射高嘌呤成分或尿酸,以增加黄嘌呤氧化酶活性,促进尿酸的产生,从而获得高尿酸血症模

型;腹腔注射或皮下注射氧嗪酸钾等,以抑制动物体内尿酸酶活性,减少尿酸排泄,进而诱发动物血清尿酸水平的持续升高。在尿酸升高的基础上或直接结合 Coderre 等经典急性痛风性关节炎模型,或模拟临床发病机制采用冷水浴(或敷)方法制备伴高尿酸血症性急性痛风性关节炎模型。如姚丽等^[24]对 Coderre 法制备的痛风性关节炎模型进行改良:模型 A 组:腹腔注射用 3% 氧嗪酸钾溶液 (0.3 mL/kg);模型 B 组:腹腔注射 1 g/mL (1 000 mg/kg) 次黄嘌呤;15 min 后,用 6 号注射器将 0.2 mL (100 mg/mL) 尿酸钠溶液注入到 2 组大鼠右侧踝关节腔内。结果发现与空白组比较,模型 A、B 2 组血尿酸水平升高,维持时间长,关节滑膜组织形态学及不同时相大鼠步态改变明显,与模型 A 组比较,模型 B 组痛风性关节炎症状更加明显。吕军^[25]也用 3% 氧嗪酸钾溶液以 1 mL/100 g 对大鼠进行腹腔内注射,2 次/d,持续 1 周后,将 0.05 mL (250 mg/mL) 尿酸钠溶液注入到关节腔内,造模后可在 48 h 内维持良好的痛风性关节炎体征。时乐等^[26]通过每天给大鼠饲喂含次黄嘌呤 (HX100 g/kg) 饲料,皮下注射给予氧嗪酸钾 1 mL/kg (100 mg/kg),1 次/2 d,连续 6 次,结合每天早上将大鼠放入 10 ~ 12 °C 的冷水中 10 min,1 次/1 d,共 12 d,造成高尿酸的急性痛风性关节炎模型。孙赛君等^[27]以 5% 的次黄嘌呤溶液 (10 mL/kg) 灌胃结合每天冰水混合物持续冰敷 3 h,诱导大鼠急性痛风性关节炎模型。

腹腔注射高嘌呤成分、尿酸或尿酸酶抑制剂结合 Coderre 等方法制备的伴高尿酸血症性急性痛风性关节炎动物模型,虽然易于操作,但不能形成持久的模型,且此方法造模与人类痛风病形成的原因相差较大;灌胃或饲喂造模剂结合冷水浴(敷)方法制备的伴高尿酸血症性急性痛风性关节炎动物模型,尿酸变化大,与人类的痛风性关节炎发生有一定的相似之处,但动物在寒冷环境中出现明显身体不适,易冻伤死亡,影响了造模成功率,操作繁琐且不可长期持续,有待进一步研究。

2.3 慢性痛风性关节炎动物模型 慢性痛风性关节炎的重要表现与特征是痛风性结节肿形成,所以有人就以鼠气泡模型来模拟慢性痛风性关节炎。

Ryckman 等^[28]将小鼠麻醉后,背部皮下注射 3 mL 灭菌过滤空气以形成适当大小的气囊,第 3 天重复注射以维持一周内形成一层滑膜样膜,第 7 天将 1 mL 无热原 MSU 结晶 (1.5 mg) 注入气囊,形成痛风性滑膜炎模型。Rull 等^[29]报道了大鼠 MSU 结晶皮

下气囊模型的复制:大鼠麻醉后背区剃毛,消毒,将10 mL 灭菌空气皮下注入形成气囊,每2~3 d 重复注射空气以维持气囊胀大,第6天将15 mg 的MSU注入气囊内。Nalbant等^[30]改将24 mL 灭菌空气从背部皮下注入造成假滑膜腔,第6天注射5 mg 的MSU到气囊内也造成了慢性痛风性关节炎。

鼠气泡模型可以收集不同时段气囊中渗出物,探究炎症的病理过程,且具有痛风性滑膜炎的病理特征,但无法模拟出痛风性关节炎炎症部位骨损伤情况,故常被用作痛风性滑膜炎动物模型。

2.4 其他类型痛风性关节炎动物模型 痛风属于中医“痹症”的范畴,主要是由于痰热瘀滞而致。《中医病证诊断疗效标准》将其分为湿热蕴结型、瘀热阻滞型、痰浊阻滞型和肝肾阴虚型4型,以湿热蕴结型多见^[31]。熊辉等^[32]以普通饲料喂养大鼠,200 g/L 蜂蜜水自由饮用,并分别以油脂(10 g/kg)或52% 红星二锅头酒(10 mL/kg)灌胃,二者交替进行,持续10 d。自第11天开始,将大鼠置入湿热[相对湿度为(92±3)%、温度(32±2)℃]的人工气候箱中喂养,在第13天上午,于在大鼠右侧踝关节腔注射50 μL(20 mg/mL)的MSU溶液,制备痛风性关节炎湿热证病证结合大鼠模型。

此模型是模拟临床上常见的痛风性关节炎证候类型—湿热蕴结型,将痛风性关节炎“病”与中医湿热“证”病证复合的动物模型,虽然同时表现出痛风性关节炎“病”与“湿热”的症状,但这有别于中医湿热内蕴,瘀滞络道而致痛风性关节炎。

3 小结

综上所述,研究者在建立痛风性关节炎动物模型方面尝试了很多方法,也有了一定的进展。实验中应用较广的模型是尿酸钠晶体直接注射到局部关节造成的痛风性关节炎模型,它是按照其病理特点来复制的,与人类痛风性关节炎发病机制有别,但在症状上表现出了炎症、疼痛及高尿酸血症的特征,且易于操作,方便控制,成功率高,较适用于局部关节炎症状的观察。虽有学者尝试应用灌胃造模剂结合冷水浴(敷)方法复制大鼠急性痛风性关节炎动物模型及应用嘌呤类成分、尿酸或特异饲料配方复制禽类高尿酸血症伴关节病变动物模型,与人类因不合理饮食结构而易诱发痛风性关节炎发生有相似之处,是目前较理想模型,可以选用,但对于其发病机理,还需进一步研究积累资料。

目前痛风性关节炎动物模型基本是按照西医病理特点来复制的,不具有痛风性关节炎的中医本质

与特点,与人类痛风性关节炎发病机理不完全符合。若从中医传统病机病因观念出发,复制出符合其自身规律和特点的痛风性关节炎动物模型,将更符合人类痛风性关节炎发病机制。

参考文献

- [1]宋薇,刘精东.高尿酸血症和痛风的流行病学及影响因素研究进展[J].江西医药,2013,48(5):459-462.
- [2]石白,殷海波,张锦花.痛风现代流行病学及其发病机制研究进展[J].风湿病与关节炎,2012,1(6):51-55.
- [3]刘慧,迟蕾,阎志翻,等.高尿酸血症与痛风的流行特征及影响因素[J].中国现代医药杂志,2011,13(7):106-107.
- [4]阎胜利.痛风的流行病学资料特点[J].山东医药,2010,50(43):107.
- [5]杨绍坤.痛风主要临床危险因素分析[J].现代诊断与治疗,2013,24(5):1080-1081.
- [6]张蓓,孙玉萍,姚华.hURAT1、SLC2A9、ABCG2与高尿酸血症、痛风的关系及临床意义[J].医学综述,2013,19(2):216-218.
- [7]Pascual Eliseo, Pedraz Teresa. Gout[J]. Current Opinion in Rheumatology, 2004, 16(3):282-286.
- [8]李迎春,徐建华.急性痛风性关节炎的发病机制及研究进展[J].安徽医学,2013,34(1):96-98.
- [9]周腊梅,陶娟.痛风性关节炎的研究进展[J].中国中医药现代远程教育,2011,9(6):150-151.
- [10]Ponce L, Arjona M, Blanco G, et al. The effect of montelukast in a model of gouty arthritis induced by sodium monourate crystals[J]. Investigacion Clinica, 2011, 52(1):15-22.
- [11]R. Clive Landis, Dorian O. Haskard. Pathogenesis of Crystal-Induced Inflammation[J]. Current Rheumatology Reports, 2001(3):36-41.
- [12]张玉梅,王芸.痛风发病机制的研究进展[J]. Medical Recapitulate, 2012, 18(15):2441-2444.
- [13]崔炎,王平,张榜,等.急性痛风性关节炎和血尿酸及尿酸盐结晶的关系[J].中国中西医结合外科杂志,2014,20(5):501-503.
- [14]潘媛,徐立,时乐,等.痛风性关节炎的发生与尿酸盐结晶沉积[J].安徽医药,2009,13(11):1305-1307.
- [15]杨保林,丁岗.芪桂痛风舒颗粒治疗痛风性关节炎16例疗效观察[J].中国中药杂志,2013,38(2):276.
- [16]Coderre TJ, Wall PD. Ankle joint urate arthritis in rats; an alternative animal model of arthritis to that produce by Freud's adjuvant[J]. Pain, 1987, 28(3):379-393.
- [17]Mahaboobkhan Rasool, Palaminathan Varalakshmi. Suppressive effect of Withania somnifera root powder on experimental gouty arthritis: An in vivo and in vitro study[J]. Chemico-Biological Interactions, 2006, 164(3):174-180.
- [18]Evan Prince Sabina, Sllruthi Nagar, Mahaboobkhan Rasool. A Role of Piperine on Monosodium Urate Crystal-Induced Inflammation—An Experimental Model of Gouty Arthritis[J]. Inflammation, 2011, 34(3):184-192.
- [19]Kazunori Fujiwara, Susumu Ohkawara, Katsumasa Takagi, et al. Involvement of CXC Chemokine Growth-Related Oncogene-α in Monosodium Urate Crystal-Induced Arthritis in Rabbits[J]. Laboratory Investigation, 2002, 82(10):1297-1304.

- [17]江红,胡丹,陈海燕.循经拔罐法治疗慢性支气管炎急性肺部感染效果观察[J].护理学杂志,2006,21(1):48-49.
- [18]张才肇,梁铁军,张伟,等.药罐疗法对慢性喘息型支气管炎迁延期患者免疫功能的影响[J].中国中西医结合杂志,2006,26(11):984-987.
- [19]李伏蓉.“冬病夏治”走罐治疗慢性支气管炎及哮喘的临床观察[J].医学信息(中旬刊),2010,5(11):3427-3428.
- [20]郭艳波.穴位埋线治疗慢性支气管炎60例[J].实用中医药杂志,2009,25(5):323.
- [21]许涛.穴位埋线辨证治疗慢性支气管炎疗效观察[J].中医临床研究,2012,4(5):86-87.
- [22]王伯均.穴位埋线治疗慢性支气管炎60例[J].上海针灸杂志,2012,31(6):431.
- [23]茅靖,宋海峰.冬病夏治穴位敷贴治疗慢性支气管炎的临床疗效观察[J].中华中医药学刊,2013,31(2):413-414.
- [24]俞红,洪丽君.子午流注择时穴位敷贴治疗慢性支气管炎效果观察与护理[J].齐鲁护理杂志,2011,17(28):45-46.
- [25]胡萍.穴位敷贴治疗慢性支气管炎的临床观察[J].实用中西医结合临床,2013,13(9):50-51.
- [26]李武,章薇,杨淑荃,等.三伏和三九穴位敷贴治疗慢性支气管炎的临床观察[J].针灸临床杂志,2011,27(12):19-21.
- [27]邓君萍.耳穴按压治疗慢性支气管炎100例临床总结[J].湖南中医杂志,1986,2(3):43-45.
- [28]陈庆华.耳穴压贴预防慢性支气管炎急性发作的临床研究[J].中国中医药信息杂志,2010,17(10):12-13.
- [29]吴兵.中医耳穴压贴法预防慢性支气管炎急性发作对照观察[J].实用中医内科杂志,2012,26(8):84-87.
- [30]桂寿清,陈胜鹏,熊春,等.足部反射区按摩疗法预防慢性支气管炎31例疗效观察[J].双足与保健,1999(2):4-5.
- [31]潘分乔,李振联,侯小藏.穴位按摩治疗慢性支气管炎迁延期58例疗效观察[J].河北中医,2010,32(5):725-726.
- [32]郭剑华.自我按摩系列之慢性支气管炎[J].家庭医药,2006,(1):50-51.
- [33]耿引循,袁燕琴.自我按摩治病:慢性支气管炎[J].恋爱婚姻家庭(养生),2014(3):1.
- [34]王峰.穴位注射治疗痰湿蕴肺型慢性支气管炎疗效观察[J].上海针灸杂志,2011,30(12):810-812.
- [35]倪衡如,贯平,赵燕琴,等.华佗夹脊穴穴位注射治疗肺脾气虚型慢性支气管炎的临床疗效[J].中医临床研究,2012,4(21):9-12.
- [36]袁秀文.参附注射液穴位注射治疗37例慢性支气管炎的体会[J].贵阳中医学院学报,2013,35(2):197-198.
- [37]李艳,范晓萍,郭雄波,等.穴位注射对慢性支气管炎的疗效观察[J].时珍国医国药,2014,25(7):1657-1659.
- [38]郑舟军,沈飞珍,汪丙柱.电脉冲联合中药敷贴治疗喘息型慢性支气管炎的效果观察[J].中国实用护理杂志,2004,20(6):51-52.
- [39]朱小美.通络宝治疗仪治疗慢性支气管炎阻塞性肺气肿的临床疗效观察[J].现代医院,2014,14(8):65-66.
- [40]曹静.健脾化痰中药联合西药治疗慢性支气管炎效果观察[J].中国医药,2013,8(12):1698-1699.
- [41]李勇,林丽,秦俊岭.古方制香囊预防老年慢性支气管炎患者罹患流行性感冒的临床观察[J].四川中医,2013,31(10):86.
- [42]马艳辉.中药外用“塌渍”疗法治疗慢性支气管炎58例临床观察及护理体会[J].中国医学创新,2011,8(34):66-67.

(2014-11-29 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第1463页)

- [20]王文娟,方改英,雒向宁.当归拈痛丸对尿酸钠致家兔痛风性关节炎模型关节组织中6-K-PGF1的影响[J].陕西中医学院学报,2008,31(4):69-70.
- [21]李泽,张记恩,荣俊.痛风性关节炎动物模型制备的研究[J].长江大学学报:自科版,2013,10(15):9-12.
- [22]苏友新,陈伟宏,王和鸣,等.痛风宁颗粒对实验性鸡痛风性关节炎的影响[J].中国骨伤,2003,16(5):275-277.
- [23]马刚.急性痛风性关节炎疼痛局部神经阻滞治疗[J].中国医刊,2011,46(6):74.
- [24]姚丽,刘树民,于书.痛风性关节炎动物模型的改良[J].中国实验动物学报,2009,17(3):210-212.
- [25]吕军,吕芳,方和金,等.高尿酸血症并急性痛风性关节炎大鼠模型的建立[J].中国现代医学杂志,2013,23(27):11-16.
- [26]时乐,徐立,尹莲,等.冷水沐浴对高尿酸血症模型大鼠诱发痛风性关节炎的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2012,26(1):25-29.
- [27]孙赛君,袁卉,蒋金鹏,等.次黄嘌呤灌胃加冰敷法诱导大鼠急性痛风性关节炎模型[J].长江大学学报:自科版,2014,11(9):38-40,43.
- [28]Carle Ryckman, Shaun R. McColl, Karen Vandal, et al. Role of S100A8 and S100A9 in Neutrophil Recruitment in Response to Monosodium Urate Monohydrate Crystals in the Air-Pouch Model of Acute Gouty Arthritis[J]. Arthritis & Rheum, 2003, 48(8):2310-2320.
- [29]Rull M, Clayburne G, Sieck M, et al. Intra-articular corticosteroid preparations; different characteristics and their effect during inflammation induced by monosodium urate crystals in the rat subcutaneous air pouch[J]. Rheumatology(Oxford), 2003, 42(9):1093-1100.
- [30]Nalbant S, Chen LX, Sieck MS, et al. Prophylactic effect of highly selective COX-2 inhibition in acute monosodium urate crystal induced inflammation in the rat subcutaneous air pouch[J]. Rheumatology, 2005, 32(9):1762-1764.
- [31]国家中医药管理局.中医病证诊断疗效标准[S].中国医药科技出版社,2012:66-67.
- [32]熊辉,曲良焯,向黎黎,等.痛风性关节炎湿热证病证结合模型的建立[J].中医正骨,2014,26(3):14-20.

(2014-12-11 收稿 责任编辑:张文婷)