

FOR IN VITRO AND RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

1th Edition (Revised in Jan, 2016)

佐剂诱导的大鼠关节炎模型报告

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一个累及周围关节为主的多系统性、炎症性的自身免疫疾病,其特征性症状为对称性、周围性多个关节慢性炎症病变,其发病机制十分复杂,迄今尚未完全阐明。

佐剂性关节炎模型是 Freund 于 20 世纪 50 年代创立的, 又称弗氏佐剂关节炎, 弗氏佐剂分为完全佐剂(CFA)和不完全佐剂(IFA)。其机制是结核杆菌致关节炎抗原为 65 kD 热休克蛋白(HSP), RA 病人软骨内具有与 65kD HSP 相似的蛋白多糖桥联蛋白抗原成分, CFA 注入激活 T 细胞, 激活 T 细胞参与 RA 发病机制。此模型存在明显的细胞免疫异常, 为一种典型的免疫性炎症模型, 并且制作方法简单, 可广泛应用于多种动物, 便于研究者选择应用。研究表明, 在 RA 发病过程中, 促炎细胞因子(IL-1, TNF- α , IFN- γ , IL-2 等) 和抗炎细胞因子 (IL-4, IL-10, TGF- β 等) 的不平衡占有重要地位, 其中 IL-1 和 TNF- α 参与多种病理学过程, 在发病机制中尤为重要。

1.实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠, 雄性, 体重为 180g-220g。随机分为对照组 10 只和模型组 20 只。

2.主要试剂

完全弗氏佐剂(CFA) (Sigma 公司)

3.建模方法

抓取大鼠, 于右后足皮内注射 0.1 mL CFA 致炎, 从而建立大鼠佐剂性关节炎模型; 对照组右后足趾皮下注射 0.01mol/L 冰醋酸 0.1mL, 以排除 CFA 中溶剂的致敏效应。

模型的评价

4.1 体质重测定: 分别于 0d、7d、14d、21d、28d 记录大鼠的体重, 比较模型组大鼠体重和对照组大鼠的体重变化;

4.2 免疫评价:

称量大鼠体重, 处死大鼠, 取出脾和胸腺, 生理盐水漂洗后用纱布吸干表面水分, 分别于电子天

平上称质量(湿质量), 并计算脏器指数。

脏器指数 = 器官湿质量(mg) /大鼠体重(g)

4.3 足跖肿胀值 (mm) 测定:

足趾肿胀度是佐剂性关节炎测量的一个重要指标。0d 时在大鼠足跖同一地方做标记, 用电子游标卡尺以标记为准, 测定大鼠足跖厚度, 以后每隔 7d(7、14、21d 和 28d 时)再分别测量, 进行自身左右侧足跖对照和组别间对照。

4.4 关节炎指数(arthritisindex index, AI)评价:

采用关节炎指数积分评价其关节炎程度。除了诱导部位右后足以外, 根据其余 3 只未注射的肢体病变程度和趾间是否发炎对每一足爪分别进行打分, 以 0~4 分记录, 累积得分即为每只大鼠的关节炎指数。

0 分: 无红斑和肿胀的证据;

1 分: 红斑和轻度肿胀局限于足中段或踝关节;

2 分: 红斑和轻度肿胀从踝关节蔓延至足中段;

3 分: 红斑和轻度肿胀从踝关节蔓延至关节;

4 分: 红斑和重度肿胀包括了踝、足和趾;

4.5 病理组织学观察:

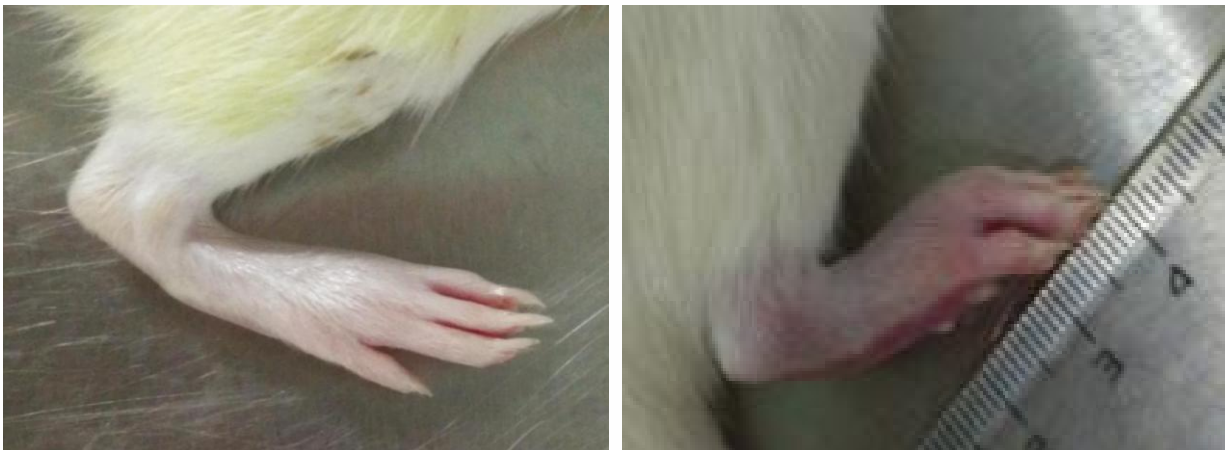
处死大鼠, 留取剔除软组织后的肢踝关节, 固定、脱钙、包埋、石蜡切片后行 HE 染色作组织学观察。正常大鼠踝关节结构正常, 无炎性细胞浸润, 滑膜细胞排列整齐, 软骨表面光滑, 关节腔内未见渗出液; 模型组大鼠关节破坏明显, 周围大量中性粒细胞浸润, 滑膜增生肥厚, 纤维组织增生, 软骨及骨骼损伤。

4.6 大鼠血清中 炎症因子含量测定:

大鼠 3%戊巴比妥钠麻醉后, 于下腔静脉取血 1ml, 静止 30min, 4℃离心机 4000r/min 离心 30min, 分离出上层血清, 置-80℃冰箱保存备用。使用 ELISA 试剂盒检测 TNF α 、IL-1 β 等细胞因子的含量。

4.7 统计学处理

应用 SPSS 软件进行统计分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验, 组间比较采用单因素方差分析, P<0.05 表示有显著性差异, P<0.01 表示有极显著性差异。



Control group

Modeling group

图 1. 足部图，模型组的足部明显有肿胀

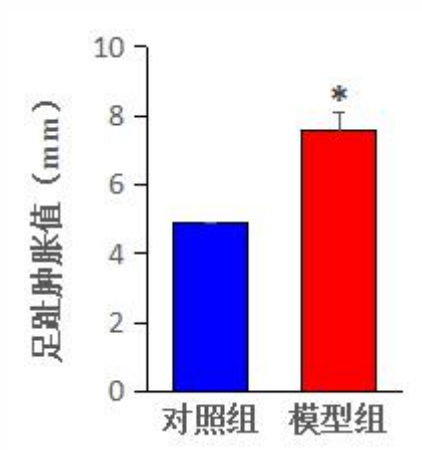


图 2 足趾肿胀值统计图（模型组足趾和对照组相比明显增大，有统计学差异）

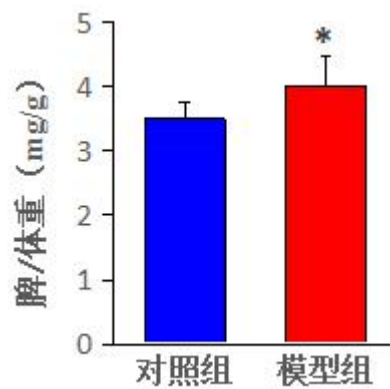


图 3 脾/体质量统计图（模型组和对照组相比明显增大，有统计学差异）

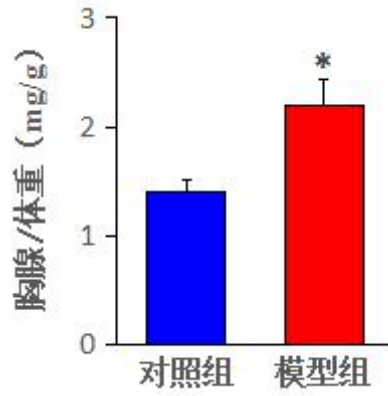


图 4 胸腺/体质量统计图（模型组和对照组相比明显增大，有统计学差异）