

武上雯,李桓,龚晓红,等. 结缔组织病相关肺间质病变动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(8): 1051-1060.
Wu SW, Li H, Gong XH, et al. Research progress on animal model of connective tissue disease-interstitial lung disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(8): 1051-1060.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.08.011

结缔组织病相关肺间质病变动物模型研究进展

武上雯^{1,2}, 李桓^{1,2}, 龚晓红², 陆超群³, 陈一鸣², 邢清桦², 李松伟^{2,3*}

(1. 河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河南中医药大学, 郑州 450046;
3. 河南省中医院, 郑州 450000)

【摘要】 结缔组织病相关肺间质病变是临床较常见的风湿免疫疾病,其病因病机不明,对患者带来了巨大的家庭和社会负担。实验动物模型是结缔组织病相关肺间质病变(connective tissue disease-interstitial lung disease, CTD-ILD)研究领域中不可或缺的一部分,成功建立符合人类疾病发生发展进程的动物模型对于疾病的机制研究和治疗药物的开发具有重要意义。因此,本文通过汇总国内外 CTD-ILD 相关动物模型文献,总结模型构建方法、特点及不足等,以期对相关领域的研究者选择合适动物模型提供参考。

【关键词】 结缔组织病相关肺间质病变;动物模型;模型构建

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 08-1051-10

Research progress on animal model of connective tissue disease-interstitial lung disease

WU Shangwen^{1,2}, LI Huan^{1,2}, GONG Xiaohong², LU Chaoqun³, CHEN Yiming²,
XING Qinghua², LI Songwei^{2,3*}

(1. the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China.
2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046. 3. Henan Province Hospital of
Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000)
Corresponding author: LI Songwei. E-mail: ryanzzdx@yeah.net

【Abstract】 Connective tissue disease-interstitial lung disease is a common clinical rheumatic immune disease. Its etiology and pathogenesis are unknown, which causes a significant family and social burden to patients. Animal models are indispensable for research of CTD-ILD. Successful establishment of an animal model in line with the development of human disease is important to study the disease mechanism and develop therapeutic drugs. Therefore, by summarizing domestic and foreign literature on animal models related to CTD-ILD, this article summarizes the method, characteristics and shortcomings of model establishment to provide reference for researchers in related fields to select appropriate animal models.

【Keywords】 CTD-ILD; animal models; model building

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

结缔组织疾病(connective tissue disease, CTD)是一类具有异质性系统特征和免疫介导的多器官功能障碍疾病。呼吸系统受累所引起的间质性肺疾病(interstitial lung disease, ILD)是 CTD 死亡的重要因素^[1],该病变可出现在皮肌炎/多肌炎(dermatomyositis/polymyositis, DM/PM)、干燥综合

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(81874465),国家中医临床研究基地科研专项(2021JDZX2012),河南省科技攻关项目(222102310392)。
Funded by National Natural Science Foundation of China(81874465), National Clinical Research Base of Traditional Chinese Medicine Research Special Project (2021JDZX2012), Henan Province Science and Technology Research Project(222102310392).
【作者简介】武上雯(1992—),女,主治医师,研究方向:中医药防治风湿免疫疾病。Email:wswwsharon_6@126.com
【通信作者】李松伟(1972—),男,主任医师,博士生导师,研究方向:中医药防治风湿免疫疾病。Email: ryanzzdx@yeah.net

征(sjögren's syndrome, SS)、系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)和系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)等患者中,患病率分别约为40%、40%、30%~40%、10%和12%^[2-3]。据报道,CTD-ILD的总死亡率高达31.76%^[4-5],患者生存时间比无ILD的患者缩短1.7倍^[6]。

结缔组织相关肺间质病变发病机制复杂,尚未得到明确阐明,且治疗方案单一,仍以激素与免疫抑制剂为主。动物模型作为能够鉴定潜在治疗靶点的工具,可以为研究疾病的病因、病理改变及临床治疗提供重要的线索,构建有价值且经济可行的实验平台,在医学发展中占有决定性的地位。动物模型对于进一步研究CTD-ILD疾病具有重要意义,但目前关于CTD-ILD的动物模型较为杂乱,建立与临床实际相符且稳定可靠的动物模型是各项研究的基础前提。因此本文通过对国内外常见CTD-ILD动物模型特点及评价进行总结,以期为构建新的动物模型及基础研究提供新思路。

1 RA-ILD 动物模型构建

1.1 RA-ILD 非基因动物模型

1.1.1 弗氏佐剂

弗氏佐剂是在动物模型中广泛用于诱导关节炎发作的常用佐剂,可分为不完全弗氏佐剂(incomplete freund's adjuvant, IFA)和完全弗氏佐剂(complete freund's adjuvant, CFA)。不完全弗氏佐剂是液体石蜡与羊毛脂混合而成,不完全弗氏佐剂中加灭活卡介苗或死的结核分枝杆菌,即为完全弗氏佐剂^[7]。

单纯弗氏佐剂造模较常采用的方法是雄性Wistar大鼠右后肢注射CFA,注射佐剂后14 d,大鼠开始出现继发性关节肿胀,于28 d后结束^[8-10]。经CFA处理20 d,对侧关节处出现红斑和足肿胀。第21天肺部出现肺泡壁增厚和由淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和巨噬细胞组成的炎症细胞浸润。第28天出现肺内胸膜增厚和明显的胶原纤维沉积,血清和肺组织中促炎细胞因子水平增加。

该动物模型的组织病理学模式与RA-ILD的临床特征相似。在该动物模型中,CFA的作用机制是通过巨噬细胞的吞噬和循环引起关节和肺部炎症,该模型的优点是操作简单、建模时间短、实验成本低。此外,炎症和纤维化主要分布在胸膜及胸膜下

区,这与临床RA-ILD特别是与UIP相关的RA的病理分布相似。缺点是这种疾病的动物模型有一定的自限性。

1.1.2 II型胶原

胶原诱导关节炎是目前最常用的类风湿关节炎动物模型造模方法,抗II型胶原抗体与软骨中II型胶原的主要蛋白质发生反应,导致关节炎症和骨侵蚀^[11]。抗环瓜氨酸蛋白抗体(ACPAs)是一个用于早期诊断类风湿性关节炎的抗体,经由肽酰精氨酸、亚胺酶等瓜氨酸蛋白结构发生改变,出现潜在的蛋白决定簇-瓜氨酸簇^[12]。研究发现ACPAs与RA-ILD关系密切,可在关节及肺部产生^[13]。

牛II型胶原(bovine collagen type II, bCII)与鸡II型胶原(chicken collagen type II, cCII)均可诱导关节炎的发生,使用bCII诱导DBA/1小鼠RA-ILD是最常见的造模方法^[14-17]。初次免疫选择在小鼠尾根部注射CFA乳化的bCII,第21天加强注射IFA乳化bCII增强免疫。在第7天,干预的小鼠bCII开始在胸膜下区域聚集,产生炎症细胞,伴随与ACPAs相关的抗环瓜氨酸抗体增加。第14天炎症性关节炎开始发生,表明在II型胶原诱导的小鼠中,肺部炎症先于关节炎发生。初次免疫后第21天小鼠肺表面发现斑块,细支气管和血管边出现大量淋巴细胞浸润,肺间质出现肉芽组织样结节。第49天小鼠踝关节厚度增加,炎症细胞呈片状浸润在肺部胸膜下区域,ACPAs和补体C3也沉积在胸膜下区。自此肺部病变表现逐渐减弱,至第182天,肺部炎症完全逆转,胶原纤维沉积现象逐渐消失^[18]。

虽然目前有关II型胶原诱导RA-ILD模型研究不多,但根据小鼠肺部炎症细胞的浸润部位、ACPAs和补体表达增高等现象看,此模型与人类RA-ILD有相似性,该模型的优点是可用于RA-ILD早期发病机制的研究。此外由于炎症区域主要分布在胸膜下区,也可以反映RA-ILD的炎症期,这与临床RA相关UIP的病理分布相似。然而,肺部炎症的自限性使其无法呈现进展型肺纤维化,使该模型不能表现出RA-ILD慢性和不可逆进展的特征。

1.1.3 博来霉素

博来霉素(bleomycin, BLM)是从轮丝链霉中分离,具有独特的化学结构和作用机制,属于糖肽类抗肿瘤抗生素,BLM进入人体后很快集聚于皮下、肺部、睾丸等处,对淋巴瘤、鳞状细胞癌、肺癌和睾丸癌等具有很好的疗效^[19]。该药物最严重的毒副

反应可引起肺纤维化,因此在进行间质性肺疾病基础研究时,常采用 BLM 诱导的动物模型。

鸡Ⅱ型胶原和完全弗氏佐剂联合博来霉素是使用 BLM 诱导 RA-ILD 最常用的造模方法^[20-21]。首先将溶于冰醋酸溶液的 cCⅡ 与 CFA 等体积混合,在小鼠尾根部注射混合乳剂,21 d 后避开初次注射部位,再次注射混合乳剂加强免疫。首次免疫 25 d 后,将小鼠麻醉分层剥离暴露气管,将配置好的 BLM 溶液缓慢注入,引发肺纤维化。第 7 天,小鼠肺组织病理可见部分肺间隔增宽,较多中性粒细胞浸润;第 14 天,肺组织中正常形态基本消失,肺泡数量减少,肺间质可见大量淋巴细胞浸润,出现明显胶原沉积;第 28 天,由于 BLM 的注入,肺组织炎症呈现进行性加重,胶原纤维沉积增加。

在胶原诱导关节炎模型的基础上进一步使用 BLM 诱导间质性肺病属于联合动物模型。该模型呈现进行性加重的全身慢性炎症反应发病过程,能够较好地模拟慢性进行性肺纤维化进程中微环境损伤修复的过程,且形成的间质性肺疾病相对稳定,具有通用性和可重复性。但由于自身联合模型的特点,并不能完全符合临床 RA-ILD 疾病过程,在还原疾病病理变化上仍有所不足。

1.1.4 有机粉尘

有机粉尘(organic dust, OD)是指有机物质为主的粉尘,主要来自动植物的微小型颗粒或人工合成的有机材料产生的粉尘等。烟雾或气溶胶存在于空气中的颗粒,易沉积于下呼吸道,可引起巨噬细胞功能障碍,气道和肺实质产生炎症,这是长期处于职业暴露的人群易患 ILD 的原因^[22-23],因此环境因素在 RA-ILD 的发展中起着重要作用。

鸡Ⅱ胶原和弗氏佐剂联合有机粉尘提取物也可建立 RA-ILD 模型^[24]。DBA/1 小鼠皮下注射由 CFA 乳化的 cCⅡ,3 周后加强免疫注射 IFA 乳化的 cCⅡ,连续接受 12.5% 有机粉尘提取物鼻内吸入诱导气道炎症。首次免疫后第 3 周,小鼠开始出现炎症性关节炎,相较于单纯胶原诱导模型,加用 OD 后小鼠胫骨近端和跟骨的骨密度下降,小鼠的骨体积、骨小梁厚度减少,第 5 周出现关节炎症状恶化。5 周后小鼠肺组织细支气管及肺泡周围出现淋巴样聚集物增加,胶原纤维沉积和透明质酸也增加。值得注意的是,此种造模方式的雌性小鼠可能表现出炎症细胞和关节炎的抑制现象。

此造模方式的优点是生动地模拟了环境因素

对 RA-ILD 的影响,以及关节炎和肺部炎症疾病之间的相互作用,重复吸入有机粉尘提取物会加重关节炎、骨破坏和软骨侵蚀。该模型可以模拟人类在生存环境中出现 RA-ILD 的病理过程,并提示可通过呼吸保护和环境改善来治疗疾病。且因该模型雌性小鼠的疾病状态似乎不稳定,因此可用于研究 RA-ILD 发病和死亡的生物学性别差异。但是此模型的建立操作较为复杂,需要每天通过特定的吸入方式进行有机粉尘提取物的干预,以便更好的模拟人类的发病环境,可重复性不强。

1.2 RA-ILD 基因动物模型

1.2.1 SKG 基因小鼠模型

Sakaguchi 等^[25]发现在 ZAP-70 基因位点发生突变的 BALB/c 小鼠可培育出 SKG 基因小鼠。由于异形 ZAP-70 等位基因的第二个 SH2 结构域中有一个与 TCR 和 CD3 链的酪氨酸基激活基序相关的自发位点突变,这些小鼠表现出胸腺细胞中 T 细胞受体减少,改变阳性与阴性选择阈值,并使自身反应性 T 细胞能够逃入外周。因此 SKG 小鼠被视为隐性突变基因的自发性关节炎模型,可能与 RA-ILD 疾病有密切关联。

在 SKG 小鼠体内注射酵母聚糖(zymosan, ZyA)是建立 RA-ILD 动物模型的方案之一^[26]。选取 SKG 小鼠腹腔注射 ZyA 以诱发模型,2 周后,由于 T 细胞的高反应性和滑膜细胞对炎症刺激敏感性的独特组合导致小鼠出现了对称性关节肿胀,足趾及趾间多关节炎性关节炎,有自小关节至大关节蔓延之势,同时出现明显滑膜炎。关节肿胀炎症在注射后 6 ~ 8 周达到峰值,然后逐渐下降,并于 16 周继续上升,并于注射后 8 个月开始出现软骨破坏融合、关节脱位及骨质疏松。在此过程中,SKG 小鼠中类风湿因子等自身抗体及促炎因子表达升高,破坏周围软骨和骨的增量。第 12 周时,高达 89% 的小鼠肺部出现片状胸膜下和支气管血管周围混合炎症,可观察到肺泡隔内巨噬细胞、中性粒细胞和淋巴细胞浸润,纤维胶原的斑片状沉积,沉积中可见 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、B220⁺ B 细胞及 CD11b⁺ 巨噬细胞聚集;肺内气道上皮和气管区域显示出磷酸化 Smad2/3 阳性细胞数量增加,与肺实质中活跃的 TGF- β 信号有关。

SKG 小鼠腹腔注射酵母多糖后,肺部与人类 RA-NSIP 病理表现非常相似,常用于环境暴露、免疫和炎症之间的机制研究。但注射酵母多糖 18 周后,

SKG 小鼠肺中胶原沉积增加,并未出现纤维化 UIP 表型,这与 RA-ILD 的病理过程有差异。此外,SKG 基因小鼠在相同生存环境下不仅可自发出现关节炎症状,也可能表现出其他疾病现象。

1.2.2 TNF-Tg 转基因小鼠模型

TNF-Tg 转基因小鼠模型的制备选用 C57BL/6 小鼠与 CBA 小鼠杂交,再与 DBA/1 小鼠回交,利用基因载体将肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)基因 ARE 的 3'-UTR 端由 β 球蛋白的 3'-UTR 端代替,建立慢性持续性过表达人 TNF- α 基因的 TNF-Tg 动物模型。

模型在 8 周龄左右开始出现踝关节肿胀,12 周龄时出现炎性糜烂性关节炎。此外 TNF-Tg 小鼠亦可出现膝关节和踝关节炎,关节引流淋巴结功能障碍,其特征是腭窝淋巴结体积进行性增加,其中由于滑膜空间的淋巴运输增加,活性单核细胞、常规树突细胞和 CD23⁺/CD21^{hi} B 细胞积聚,爪甲握力下降。爪甲握力和淋巴结的总体积反映了炎症性关节炎的疾病进展和活动性。TNF-Tg 小鼠 12 ~ 13 周龄肺部可出现肺间质性炎症浸润、血管壁增厚、血管周围炎症和缺乏生发中心的滤泡样结构的形成,但无明显纤维化表现,肺组织中 CD11b⁺/CD11c⁺细胞凋亡显著增加,活化单核细胞和巨噬细胞^[27]。

本模型的优点是体现了肺间质炎症细胞集聚向 NSIP 发展的过程,可用于研究 RA-ILD 的炎症期。鉴于 TNF-Tg 小鼠与肿瘤坏死因子间的相互关系,其亦可用于对各种生物制剂疗法的评估。但由于 TNF-Tg 小鼠在表现出关节炎早期症状后会出现严重的间质性肺疾病过程,模型整体建立时间长,实验成本高,死亡率高寿命较短。且该模型不使用任何造模方法,模型性质相对单一,与 RA-ILD 由多因素相互作用的病理过程差别较大。

1.2.3 D1CC 转基因小鼠模型

将人类 CIITA 基因与大鼠 CII 启动子和增强子连接,可导致主要组织相容性复合体 MHCII 的异常表达,这种方法可将 DBA/1 小鼠进行基因转化,形成 D1CC 转基因小鼠^[28]。少量 bC II 佐剂干预的 D1CC 转基因小鼠可诱导 RA-ILD 的发生。

将 CFA 等体积乳化的 bC II 皮内注射于 D1CC 小鼠尾根部、腹股沟淋巴结和腋窝淋巴结处,然后于第 21、42、63 天在同一位置使用 IFA 乳化的 bC II 增强注射。初次免疫后 11 周,关节软骨和滑膜细胞增殖形成泛膜,出现早期骨侵蚀;第 21 周观察到小

鼠骨内矿物质密度下降,在髌骨、股骨远端、胫骨近端和腓骨观察到骨破坏、关节间隙狭窄和糜烂;第 6 个月小鼠表现出所有关节完全破坏和指骨缩短,同时抗 CCP 抗体水平较高,肺损伤浸润炎性细胞为粒细胞、淋巴细胞、T 细胞和巨噬细胞,伴肺部细胞增生和纤维化改变,混合细胞炎症分布在支气管周围和血管周围区域,伴有纤维化与新合成的弹性纤维沉积。第 10 个月,小鼠血清 SP-D 水平显著升高,这可能是 RA-ILD 肺损伤的标志。同时 D1CC 小鼠肺内巨噬细胞 TNF- α 表达、反应性肺细胞中的 BAX 表达、成纤维细胞中的 TNF 表达、浆细胞样细胞中的 IL-6 表达均升高,8-羟基脱氧鸟苷阳性上皮细胞和炎症细胞的数量显著增加。

D1CC 小鼠模型可以很好地模拟人类 RA-ILD 复杂缓慢的疾病进展过程,在评估疾病发病的生理病理过程中发挥重要作用。但该模型需要较长的时间才可成型,时间及费用成本较高,且不能完全复制 RA-ILD 中 UIP 的相关肺部病理表现。

1.2.4 HLA-DQ8 转基因小鼠

一项全基因组关联研究确定人类白细胞抗原 HLA 基因中的 HLA-DR4/DQ8 是导致 RA 的最强遗传风险因素^[29],并由此培育出表达 HLA-DQ8 且缺乏 MHC II 类分子的转基因小鼠用于 RA-ILD 动物模型的建立。

先将 HLA-DQ8 小鼠暴露于香烟烟雾(cigarette smoke, CS),皮下注射与 CFA 按 1:1 乳化的 cC II 进行免疫,在首次免疫后第 32、40、46 天分别气管内注射 BLM,CS 的干预一直持续到第一次博来霉素给药。这一造模方式小鼠的存活率仅 50%,HLA-DQ8 小鼠有明显的炎症细胞浸润和肺损伤,肺中心区域瘢痕的形成可能导致组织收缩,对肺周围施加向内的力,这可能导致周围肺泡增大或破坏,出现与限制性肺生理和纤维化一致的肺顺应性显著降低。另外 HLA-DQ8 小鼠体内促炎细胞因子 TNF- α 、胶原蛋白-1、纤维连接蛋白和 TGF- β 1 的表达水平增加^[30]。

这一模型使具有人类 RA 相关 HLA 基因的小鼠发展出人类 RA 的关节炎以及肺气肿和肺纤维化的组合表型,与人类 RA 肺部疾病高度相似,能够反应急性肺损伤后的 RA-ILD 模型。但本模型引发 RA 关节炎症状的病因单一,缺乏系统性炎症和自身免疫的生理病理过程,限制了博来霉素诱导小鼠模型作为研究 RA 相关肺部疾病发病机制的工具的实用性。RA-ILD 动物模型造模方法、特点及缺点见表 1。

表 1 RA-ILD 动物模型

Table 1 Animal models of RA-ILD

模型类型 Model type	造模方法 Moulding method	特点 Feature	缺点 Disadvantage	参考文献 References
免疫刺激自发模型 Spontaneous model of immune stimulation	40 ~ 50 d 龄雄性 Wistar 大鼠分别于第 0、7、14、21、28 天在右后肢注入 0.1 mL CFA Male Wistar rats aged 40 ~ 50 days were injected with 0.1 mL of CFA into the right rear paw on the 0, 7th, 14th, 21th and 28th days	与 RA-ILD 的临床特征相似, 操作简单, 建模时间短, 实验成本低 Similar to the clinical features of RA-ILD, it is simple to operate, short modeling time and low experimental cost	疾病有一定的自限性 Disease is self-limiting	[8]
	60 d 龄雄性 Wistar 大鼠在右后肢皮下注射 0.1 mL CFA Male Wistar rats aged 60 days were subcutaneously injected with 0.1 mL CFA in the right rear paw			[10]
	8 周龄雄性 DBA/1 小鼠第 0 天在尾根部皮下注射 CFA + bCII 50 μ g, 第 21 天在尾根部皮下注射 IFA + bCII 50 μ g Male DBA/1 mice aged 8 weeks were subcutaneously injected with 50 μ g CFA + bCII at the tail on the 0 day, and 50 μ g IFA + bCII subcutaneous injection at the tail on the 21th day			[14]
	6 ~ 8 周龄雄性 DBA/1 小鼠分别于第 0、21 天在尾根部皮下注射 CFA + bCII Male DBA/1 mice aged 6 ~ 8 weeks were subcutaneously injected with CFA + bCII at the tail on the 0 and 21th days	可以反映疾病炎症期, 用于早期发病机制的研究, 与 RA-UIP 的病理分布相似 It can reflect the inflammatory stage of the disease and be used for the study of early pathogenesis, the pathological distribution was similar to RA-UIP	肺部炎症具有自限性, 不能表现出 RA-ILD 慢性和不可逆进展的特征 Pulmonary inflammation is self-limiting, it is not characteristic of RA-ILD chronic and irreversible progression	[16]
	5 周龄雄性 DBA/1 小鼠分别于第 0、21 天在尾根部皮下注射 CFA + bCII Male DBA/1 mice aged 5 weeks were subcutaneously injected with CFA + bCII at the tail on the 0 and 21th days			[17]
免疫刺激联合模型 Combined model of immune stimulation	6 ~ 8 周龄雌性 Wistar 大鼠分别于第 0、7 天在左足和尾根部皮内注射 IFA + bCII Female Wistar rats aged 6 ~ 8 weeks were intradermal injected with IFA + bCII at the left foot and tail the 0 and 7th days			[31]
	C57BL/6 小鼠第 0、21 天在尾根部皮下注射 CFA + cCII, 第 25 天在气管内注射 BLM C57BL/6 mice were subcutaneously injected with CFA + cCII at the tail on the 0 and 21th days, and BLM was injected into the trachea on the 25th days			[21]
	6 ~ 7 周龄雄性 DBA/1 小鼠气管注射 2 mg/(kg·d) BLM, 并分别于第 0 天在尾根部皮内注射 100 μ L CFA + cCII, 第 21 天在尾根部皮内注射 100 μ L cCII Male DBA/1 mice aged 6 ~ 7 weeks were given tracheal injection of 2 mg/(kg·d) BLM, and 100 μ L CFA + cCII were intradermal injected at the tail on day 0 and 100 μ L cCII was intradermal injected at the tail on the 21th days	能够较好地模拟慢性进行性肺纤维化进程中微环境损伤修复的过程, 且形成的间质性肺疾病相对稳定 It can better simulate the process of microenvironment damage repair in the course of chronic progressive pulmonary fibrosis, and the formation of interstitial lung disease is relatively stable	联合模型干预因素较多, 不能完全符合临床 RA-ILD 疾病过程 There were many intervention factors in the combined model, which could not be completely consistent with the clinical course of RA-ILD	[20]
	5 ~ 6 月龄雄性 SD 大鼠第 0、14 天在尾根部 5 处皮内注射总量 0.3 mg IFA + bCII, 第 18 天在气管内注射 5 mg/kg BLM Male SD rats aged 5 ~ 6 months were intradermal injected with a total of 0.3 mg of IFA + bCII at 5 locations in the tail on the 0 and 14th days, and 5 mg/kg of BLM was injected into the trachea on the 18th days			[32]
免疫刺激与环境模型 Immune stimulation and environmental models	6 ~ 8 周龄雄性 DBA/1 小鼠鼻内吸入浓度 12.5% ODE 持续 5 周, 并于第 1 天皮下注射 100 μ g CFA + cCII, 第 3 周皮下注射 IFA + bCII Male DBA/1 mice aged 6 ~ 8 weeks inhaled 12.5% ODE into the nose for 5 weeks, and received ubcutaneously injected of 100 μ g CFA + cCII on days 1 and IFA + bC II on the third week	模拟人类在生存环境中出现 RA-ILD 的病理过程, 并提示可通过呼吸保护和环境改善来治疗疾病 Pathological process of RA-ILD in human living environment was simulated, and it was suggested that the disease could be treated by respiratory protection and environmental improvement	此模型的建立操作较为复杂, 可重复性不强 Operation of this model is complex and cannot be repeated	[24]

续表 1

模型类型 Model type	造模方法 Moulding method	特点 Feature	缺点 Disadvantage	参考文献 References
基因突变模型 Gene mutation model	8 ~ 9 周龄雄性 SKG 小鼠单次腹腔注射 5 mg ZyA Single intraperitoneal injection of 5 mg ZyA into male SKG mice aged 8 ~ 9 weeks	肺部表现与人类 RA-NSIP 病理学非常相似,常用于环境暴露、免疫和炎症之间的机制研究		[33-34]
	7 ~ 8 周龄雌性 SKG 小鼠单次腹腔注射 7.5 mg/20 g ZyA Single intraperitoneal injection of 7.5 mg/20 g ZyA into female SKG mice aged 7 ~ 8 weeks	Pulmonary manifestations are very similar to human RA-NSIP pathology and are often used to study	不能发展成纤维化的 UIP 表型,疾病症状过多	[35]
	8 ~ 12 周龄雌性 SKG 小鼠单次腹腔注射 5 mg ZyA Single intraperitoneal injection of 5 mg ZyA into female SKG mice aged 8 ~ 12 weeks	mechanisms between environmental exposure, immunity, and inflammation	Failure to develop a fibrotic UIP phenotype and excessive disease symptoms	[26]
转基因模型 Transgenic models	3647 系 TNF-Tg 小鼠 3647 line of TNF-Tg mouse	体现了肺间质炎症细胞集聚向 NSIP 发展的过程,可用于研究 RA-ILD 的炎症期,亦可用于对各种生物制剂疗法的评估 It can be used to study the inflammatory phase of RA-ILD and to evaluate the treatment of various biologic agents	模型建立时间长,成本高,寿命较短,与疾病多因素相互作用的病理过程差别较大 Establishment time of the model is long, the cost is high, the life is short, and the pathological process of the interaction with multiple factors of the disease is quite different	[27]
	8 周龄雄性 D1CC 小鼠第 0 天皮下注射(尾根部、腹股沟和腋窝淋巴结附近)10 μg CFA+bC II,第 21、42、63 天皮下注射(尾根部、腹股沟和腋窝淋巴结附近)10 μg IFA+bC II Male D1CC mice aged 8 week were intradermal injected 10 μg CFA +bC II (the tail, near the inguinal and axillary lymph nodes) on the 0 day, and were intradermal injected 10 μg IFA +bC II (the tail, near the inguinal and axillary lymph nodes) on the 21th, 42th, and 63th days	可以模拟 RA-ILD 复杂缓慢的疾病进展过程,在评估疾病发病的生理病理过程中发挥重要作用 It can simulate the complicated and slow disease progression of RA-ILD and play an important role in the evaluation of the physiological and pathological process of disease	建模周期长,费用成本较高,且不能完全表现中 UIP 的相关病理过程 Long modeling period, the cost is high, and the related pathological process of middle UIP cannot be fully represented	[36]
	8 ~ 10 周龄 D1CC×D1BC 小鼠分别注射 0.01 mg CFA +bC II 和 IFA+bC II D1CC×D1BC mice aged 8 ~ 10 weeks were injected with 0.01 mg CFA+bC II and IFA+bC II			[37]
	8 ~ 12 周龄 HLA-DQ8 小鼠鼻内吸入 CS 45 min×10 d,每周 5 d,共 32 d,并于第 14 天皮下注射 100 μg CFA +cC II,第 32、40、46 天分别气管注射 BLM 0.5 U/kg、1 U/kg、1 U/kg HLA-DQ8 mice aged 8 ~ 12 weeks inhaled CS into the nose for 45 min×10 d, 5 d/week, subcutaneous injection of 100 μg CFA +cCII on the14th day and 0.5 U/kg, 1 U/kg, 1 U/kg of BLM was injected into the trachea on the 32th、40th and 46th days	能够反应急性肺损伤后的 RA-ILD 模型 It can reflect the RA-ILD model after acute lung injury	能够反应急性肺损伤后的 RA-ILD 模型 It can reflect the RA-ILD model after acute lung injury	[30]

2 SSc-ILD 动物模型构建

2.1 BLM 诱导模型

博来霉素是诱导 ILD 的最常用药物,如肺组织结构、成纤维细胞或肌成纤维细胞活化和胶原沉积的变化。因此 BLM 被用于诱导 SSc 相关 ILD 表现, BLM 诱导的 ILD 以时间依赖的方式发展,炎症在第 3 天出现,在第 7 天达到高峰,而肺纤维化在第 7 天开始发展,在 BLM 给药后的第 21 天达到高峰^[38]。但关于博来霉素诱导的方法有多种,有研究采用一次性气管内注入博来霉素溶液构建 SSc-ILD 动物模型,模型约 7 d 后进入急性炎症期,28 d 后达到纤维

化期^[39-40];另有研究通过皮下注射博来霉素诱导 SSc 自发 ILD,将 BLM 皮下注射到模型小鼠的背中央区域部,连续 28 d,小鼠出现皮肤样改变,肺部发生明显炎症浸润与纤维化,这些改变可能与 TGF-β1 升高关系密切,且伴随 α-SMA、胶原蛋白-I、CD8⁺ T 细胞、CD68⁺ 巨噬细胞增多^[41]。有研究表明通过渗透微型泵释放 BLM 诱导亚急性-慢性间质性肺疾病模型被用于评估纤维化化合物在皮肤或肺中的作用^[42]。其通过小鼠皮下植入渗透微型泵全身递送 BLM,被用于实验模拟 SSc-ILD 的临床典型特征。在泵模型中,小鼠体重减轻更少、存活率更高,肺部表现为胸膜下受累,仅有有限的炎症,同时诱导了

肥大的Ⅱ型肺泡上皮细胞群和皮肤,以及肺纤维化,表现更接近人类SSc疾病。

本模型造模方法较为简单、成本较低,基本能模拟出SSc-ILD的基本临床表现。但单纯使用博来霉素造模与肺纤维化经典模型一致,模型鼠的自身免疫系统疾病相关表现特异性不强。

2.2 Fra-2 转基因模型

Fra-2 是转录因子激活蛋白酶 1 家族中一员,与炎症反应和胶原生成关联密切。在普遍存在的主要组织相容性复合体Ⅰ类抗原 H2Kb 启动子控制下表达 Fra-2 基因的转基因小鼠可以表现出皮肤纤维化、微血管病和肺部疾病^[43]。毛细血管密度在第 12 ~ 13 周出现显著下降,同时出现肺动脉闭塞,伴有血管周围炎性浸润。Fra-2 转基因小鼠还会出现

严重的肺动脉血管重塑,类似于人类SSc相关肺动脉高压特征,如内膜增厚伴同心层状损伤、中层肥大、血管周围炎性浸润和外膜纤维化^[44]。Boletto等^[45]使用 13 周龄的 Fra-2 转基因小鼠直接作为SSc-ILD,通过 microCT 评估发现小鼠肺密度升高,肺组织出现纤维化肺泡炎特征,羟脯氨酸含量增加。Birnhuber 等^[46]将博来霉素以 0.8 U/kg 的剂量气管内给药,诱导 Fra-2 小鼠出现ILD表现,小鼠肺功能出现静态顺应性增加,肺血管周围区域胶原沉积增加。

使用 Fra-2 转基因小鼠模型可以模拟SSc-ILD特征,但该模型的自身免疫病相关表现不明显,肺动脉高压高发且症状严重,易减低小鼠寿命,增加造模成本。SSC-ILD 动物模型造模方法特点及缺点见表 2。

表 2 SSc-ILD 动物模型
Table 2 Animal models of SSc-ILD

模型类型 Model type	造模方法 Moulding method	特点 Feature	缺点 Disadvantage	参考文献 References
免疫刺激模型 Immune stimulation model	7 ~ 8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠连续 7 d 用渗透微型泵注入气管 BLM,滴速 0.5 L/h Female C57BL/6 mice aged 7 ~ 8 weeks were injected with tracheal BLM using an osmotic micropump last 7 days at a drip rate of 0.5 L/h	与 RA-ILD 的临床特征相似,操作简单,建模时间短,实验成本低 Similar to the clinical features of RA-ILD, it is simple to operate, short modeling time and low experimental cost	疾病有一定的自限性 Disease is self-limiting	[42]
	6 ~ 8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠单次气管注射 1 mg/kg BLM (0.2 mg/mL) Single tracheal injection of 1 mg/kg BLM (0.2 mg/mL) into female C57BL/6 mice aged 6 ~ 8 week			[39]
	7 ~ 8 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠单次气管注射 4 U/kg BLM Single tracheal injection of 4 U/kg BLM into female C57BL/6J mice aged 7 ~ 8 week	可以反映疾病炎症期,用于早期发病机制的研究,与 RA-UIP 的病理分布相似 It can reflect the inflammatory stage of the disease and be used for the study of early pathogenesis, the pathological distribution was similar to RA-UIP	肺部炎症具有自限性,不能表现出 RA-ILD 慢性 and 不可逆进展的特征 Pulmonary inflammation is self-limiting, it is not characteristic of RA-ILD chronic and irreversible progression	[40]
转基因模型 Transgenic model	6 周龄雌性 C3H/He 小鼠连续 28 d 在背部皮下注射 0.1 mL BLM Female C3H/He mice aged 6 weeks were subcutaneously injected with 0.1 mL BLM in the back last 28 days			[41]
	13 周龄雄性和雌性 Fra-2 小鼠 Male and female Fra-2 mice aged 13 weeks	可以模拟 SSc-ILD 疾病特征 Characteristics of SSc-ILD disease can be simulated	自身免疫病相关表现不明显,肺动脉高压症状严重,造模成本较大 Autoimmune disease related manifestations are not obvious, pulmonary hypertension symptoms are serious, the cost of modeling is high	[45]
	雌性 Fra-2 小鼠单次气管注射 0.8 U/kg BLM Single tracheal injection of 0.8 U/kg BLM into female Fra-2 mice			[46]

3 SLE-ILD 动物模型构建

MRL/lpr 小鼠是第 19 条染色体上的 Faslpr 基因突变产生的基因鼠,其可出现淋巴结肿大、T 细胞异常增生、自身抗体、关节炎和肾小球肾炎等症状。谈欣怡等^[47]与 Gao 等^[48]均发现在 MRL/lpr 小鼠生

长至 12 周龄开始出现肺泡结构破坏,间隔增大,淋巴细胞大量浸润,胶原纤维团状沉积等病理表现;16 ~ 32 周龄时肺组织细胞浸润严重,气管损伤、血管周围损伤和间质炎症细胞浸润程度高。但由于 MRL/lpr 小鼠模型既可作为 SLE 与 SS 疾病模型,随着周龄增大亦可自发狼疮性肾炎等,涉及疾病较

多、发病过程复杂、病理过程不明确,且有关 ILD 表现不够明显,模型特异性不强。SLE-ILD 动物模型造模方法、特点及缺点见表 3。

4 PM-ILD 动物模型构建

有关多肌炎相关间质性肺病的动物模型的实

验,选择 4 周龄短毛豚鼠注射柯萨奇病毒 B1 (coxsackie virus B1, CVB1) 建立 PM 动物模型^[49],该模型豚鼠的肺组织出现炎症和纤维化。但此造模方法仅有 1 篇相关文献报道,且其病理表现与 PM-ILD 患者相比差别较大,因此还需进一步研究加以证实与改善。PM-ILD 动物模型造模方法、特点见表 3。

表 3 SLE-ILD 与 PM-ILD 动物模型
Table 3 Animal models of SLE-ILD and PM-ILD

模型类型 Model type	造模方法 Moulding method	特点 Feature	缺点 Disadvantage	参考文献 References
SLE-ILD 动物模型 SLE-ILD animal model	11 周龄雌性 MRL/lpr 小鼠自发 Spontaneous production of female MRL/lpr mice aged 11 weeks	12 周龄开始出现肺部病变, 16 ~ 32 周龄时炎症程度高 Lung lesions began to appear at 12 weeks, and inflammation was high between 16 ~ 32 weeks	涉及疾病较多,病理过程不明确,有关 ILD 表现不够明显 Many diseases were involved, the pathological process was not clear, and the expression of ILD was not obvious	[47-48]
PM-ILD 动物模型 PM-ILD animal model	4 周龄雌性短毛豚鼠注射 CVB1 Female shorthair guinea pigs aged 4 weeks injected with CVB1	与 PM 临床表现相似,肺组织中出现炎症和纤维化 Similar to the clinical manifestations of PM, there is inflammation and fibrosis in the lung tissue	病理过程与临床差别较大 Pathological process differs greatly from the clinic	[49]

5 CTD-ILD 模型应用

目前,RA-ILD 非基因动物模型主要应用于中药方剂或有效成分的基础研究,中药方剂包含四妙丸^[20]、防纤方^[10]、芍甘附子汤^[31]与通痹颗粒^[32];中药有效成分的研究仅涉及白藜芦醇^[9,21],这些研究表明中医药可治疗 RA-ILD,且中药有效成分单体的口服给药途径是安全的。RA-ILD 基因动物模型主要应用在成药筛选和生物标志物开发的研究,Sendo 等^[34]研究发现托法替布通过促进单核抑制细胞在 SKG 小鼠肺内的扩张来抑制 ILD 的进展;Miura 等^[37]研究尼达尼布对酪氨酸激酶的广泛抑制作用可能有助于 RA-ILD 的整体改善;一项关于尼达尼布治疗 RA-ILD 的临床前评估研究表明在 SKG 小鼠模型中,尼达尼布具有防止肺功能下降和减轻关节肿胀的作用^[50]。有研究证实粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF^[35]与抗氧化剂 H2^[36]对 RA-ILD 模型鼠具有治疗作用,其中抗 GM-CSF 受体的 Mavrilimumab 在 RA 患者中的 II 期研究具有显著疗效,同时中和 GM-CSF 能改善 SKG 小鼠的 ILD,有助于制定疾病的预防或治疗策略。SSc-ILD 动物模型同样应用于药物筛选的研究,BLM 诱导模型能够更好地描述潜在临床候选药物如尼达尼布^[42]、托法替布和巴瑞替尼^[39]的可靠性;Fra-2 转基因模型被用于探究阿巴西普^[45]与吡非尼酮^[46]的治疗作用。SLE-ILD 动物模型的应用一方面表明 FOXJ1 蛋白水

平可能间接反映 SLE 患者 ILD 的严重程度^[48],FOXJ1 蛋白对 SLE-ILD 患者的早期发现和治疗具有重要意义;此外该模型也被应用于中药自拟方自身清的疗效评价^[47]。PM-ILD 动物模型目前仅应用于证明组织蛋白酶 B 可能是疾病的潜在治疗靶点。

6 讨论

多年来研究人员已应用多种方法制备 CTD-ILD 相关动物模型,模型各有特点,目前有关 RA-ILD 模型的研究相对较多,SSc-ILD、SLE-ILD 与 PM-ILD 的相对较少,其余 CTD-ILD 动物模型研究尚处于空缺状态。这些模型被用于 CTD-ILD 发病机制、病因病机和治疗药物的开发与验证中,并在临床前研究中取得了一定的成绩。但这些成果在临床的转换率却较低,可能是因为疾病复杂的发生发展过程以及人与实验动物间的种属差异,即使实验动物表现出相似的病理与症状表现,复杂的内在机制却有所差别。采用免疫物质刺激制备的非基因动物模型操作相对简单,建模实验成本低,在模拟疾病形成的慢性过程中具有一定优势。基因突变模型常用于免疫与炎症之间关系的机制研究,由于突变位点可引起一系列复杂反应,较常出现疾病无关症状。转基因动物模型具有复杂的生化和病理等特征,建模周期长,费用成本较高,通常与疾病多因素相互作用的病理过程不尽相同。目前任何的单一模型均不能够阐释疾病的全部临床特征,在实验研究应用

中有一定的局限性。因此需要根据自身实验的需要,谨慎、合理的设计实验选择合适的动物模型,考虑根据各种造模方法的特点将多种方式结合进行动物模型的构建,或者同时在多个动物模型中进行相关研究,以确保临床前研究成果最大可能地转化为人类临床试验。同时应该改进和探索更符合人类 CTD-ILD 发病机制和临床特点的动物模型,以期更好地为临床实验提供依据。

参 考 文 献(References)

- [1] Olson AL, Swigris JJ, Sprunger DB, et al. Rheumatoid arthritis-interstitial lung disease-associated mortality [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(3): 372-378.
- [2] Fischer A, Streck ME, Cottin V, et al. Proceedings of the American college of rheumatology/association of physicians of great Britain and Ireland connective tissue disease-associated interstitial lung disease summit: a multidisciplinary approach to address challenges and opportunities [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71(2): 182-195.
- [3] Yoo H, Hino T, Hwang J, et al. Connective tissue disease-related interstitial lung disease (CTD-ILD) and interstitial lung abnormality (ILA): evolving concept of CT findings, pathology and management [J]. *Eur J Radiol Open*, 2022, 9: 100419.
- [4] Jegannathan N, Sathananthan M. Connective tissue disease-related interstitial lung disease: prevalence, patterns, predictors, prognosis, and treatment [J]. *Lung*, 2020, 198(5): 735-759.
- [5] Li L, Zuo X, Luo H, et al. Mortality trend of inpatients with connective tissue diseases: 2005-2014 [J]. *J Central South Univ Med Sci*, 2017, 42(8): 927-933.
- [6] Fischer A, Chartrand S. Assessment and management of connective tissue disease-associated interstitial lung disease [J]. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*, 2015, 32(1): 2-21.
- [7] Fahim MA, Nemmar A, Al-Salam S, et al. Thromboembolic injury and systemic toxicity induced by nicotine in mice [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2014, 33(3): 345-355.
- [8] Song LN, Kong XD, Wang HJ, et al. Establishment of a rat adjuvant arthritis-interstitial lung disease model [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 2970783.
- [9] Yang G, Lyu L, Wang X, et al. Systemic treatment with resveratrol alleviates adjuvant arthritis-interstitial lung disease in rats via modulation of JAK/STAT/RANKL signaling pathway [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2019, 56: 69-74.
- [10] 李恒, 李松伟, 宰炎冰, 等. 基于 Notch 信号通路探讨防纤方对类风湿关节炎肺间质病变大鼠的调控作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(6): 3589-3593.
- [11] Li H, Li SW, Zai YB, et al. Exploring the regulatory effect of Fangxian Formula on pulmonary interstitial lesions in rats with rheumatoid arthritis based on the Notch signaling pathway [J]. *Chin J Tradit Chine Med Pharm*, 2021, 36(6): 3589-3593.
- [12] Reynisdottir G, Olsen H, Joshua V, et al. Signs of immune activation and local inflammation are present in the bronchial tissue of patients with untreated early rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75(9): 1722-1727.
- [13] Kelly CA, Saravanan V, Nisar M, et al. Rheumatoid arthritis-related interstitial lung disease: associations, prognostic factors and physiological and radiological characteristics-a large multicentre UK study [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2014, 53(9): 1676-1682.
- [14] Sato T, Satooka H, Ichioka S, et al. Citrullinated fibrinogen is a target of auto-antibodies in interstitial lung disease in mice with collagen-induced arthritis [J]. *Int Immunol*, 2020, 32(8): 533-545.
- [15] Schurgers E, Mertens F, Vanoirbeek JA, et al. Pulmonary inflammation in mice with collagen-induced arthritis is conditioned by complete Freund's adjuvant and regulated by endogenous IFN- γ [J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42(12): 3223-3234.
- [16] 赵凯, 常志芳, 王志华, 等. 基因沉默肽基精氨酸脱亚胺酶 4 的表达对胶原诱导关节炎小鼠肺间质病变的影响 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2021, 53(2): 235-239.
- [17] Zhao K, Chang ZF, Wang ZH, et al. Therapeutic effect of gene silencing peptidyl arginine deaminase 4 on pulmonary interstitial lesions induced by collagen-induced arthritis mice [J]. *J Peking Univ Health Sci*, 2021, 53(2): 235-239.
- [18] 康敏, 孟金, 芦彦蓉, 等. 低氧诱导因子-1 α 对胶原诱导关节炎小鼠相关肺间质病变的治疗作用 [J]. *包头医学院学报*, 2023, 39(3): 6-9, 36.
- [19] Kang M, Meng J, Lu YR, et al. Hypoxia inducible factor-1 α The therapeutic effect of collagen induced arthritis on pulmonary interstitial lesions in mice [J]. *J Baotou Med*, 2023, 39(3): 6-9, 36.
- [20] Mateen S, Zafar A, Moin S, et al. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *Clin Chimica Acta*, 2016, 455: 161-171.
- [21] Hay J, Shahzeidi S, Laurent G. Mechanisms of bleomycin-induced lung damage [J]. *Arch Toxicol*, 1991, 65(2): 81-94.
- [22] Ba X, Wang H, Huang Y, et al. Simiao pill attenuates collagen-induced arthritis and bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by suppressing the JAK2/STAT3 and TGF- β /Smad2/3 signalling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116274.
- [23] Bao L, Ye J, Liu N, et al. Resveratrol ameliorates fibrosis in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease via the autophagy-lysosome pathway [J]. *Molecules*, 2022, 27(23): 8475.
- [24] Poole JA, Wyatt TA, Oldenburg PJ, et al. Intranasal organic dust exposure-induced airway adaptation response marked by persistent lung inflammation and pathology in mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(6): L1085-L1095.
- [25] Poole JA, Alexis NE, Parks C, et al. Repetitive organic dust exposure *in vitro* impairs macrophage differentiation and function [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(2): 375-382.
- [26] Poole JA, Thiele GM, Janike K, et al. Combined collagen-induced arthritis and organic dust-induced airway inflammation to model inflammatory lung disease in rheumatoid arthritis [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(9): 1733-1743.
- [27] Sakaguchi N, Takahashi T, Hata H, et al. Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice [J]. *Nature*, 2003, 426(6965): risk for interstitial lung disease [J]. *Clin Rheumatol*, 2019, 38(4): 1201-1206.

- 454–460.
- [26] Keith RC, Powers JL, Redente EF, et al. A novel model of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease in SKG mice [J]. *Exp Lung Res*, 2012, 38(2): 55–66.
- [27] Wu EK, Henkes ZI, McGowan B, et al. TNF-induced interstitial lung disease in a murine arthritis model: accumulation of activated monocytes, conventional dendritic cells, and CD21⁺/CD23⁺ B cell follicles is prevented with anti-TNF therapy [J]. *J Immunol*, 2019, 203(11): 2837–2849.
- [28] Kanazawa S, Ota S, Sekine C, et al. Aberrant MHC class II expression in mouse joints leads to arthritis with extraarticular manifestations similar to rheumatoid arthritis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(39): 14465–14470.
- [29] Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, et al. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(3): 291–296.
- [30] Lin L, Xuan W, Luckey D, et al. A novel humanized model of rheumatoid arthritis associated lung disease [J]. *Clin Immunol*, 2021, 230: 108813.
- [31] 席雅婧, 康天伦, 钱唐亮, 等. 芍甘附子汤加味对胶原诱导性关节炎大鼠肺间质病理及血清 KL-6、IL-6 与 IL-17 表达水平的影响 [J]. *吉林中医药*, 2022, 42(6): 703–707.
- Xi YJ, Kang TL, Qian TL, et al. Effect of modified Shaogan Fuzi Decoction on the pathology of lung interstitium and expression levels of serum KL-6, IL-6 and IL-17 in CIA rats [J]. *Jilin J Tradit Chin Med*, 2022, 42(6): 703–707.
- [32] 姚璐莎, 王雁芳, 范伏元. 通痹颗粒对类风湿关节炎继发肺间质病变模型大鼠的保护作用 [J]. *世界中医药*, 2020, 15(12): 1743–1746.
- Yao LS, Wang YF, Fan FY. Protective effect of tongbi granule on rats with pulmonary interstitial disease secondary to rheumatoid arthritis [J]. *World Chin Med*, 2020, 15(12): 1743–1746.
- [33] Sendo S, Saegusa J, Okano T, et al. CD11b + Gr-1^{dim} tolerogenic dendritic cell-like cells are expanded in interstitial lung disease in SKG mice [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(12): 2314–2327.
- [34] 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.
- [35] Shiomi A, Usui T, Ishikawa Y, et al. GM-CSF but not IL-17 is critical for the development of severe interstitial lung disease in SKG mice [J]. *J Immunol*, 2014, 193(2): 849–859.
- [36] Terasaki Y, Terasaki M, Kanazawa S, et al. Effect of H₂ treatment in a mouse model of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(10): 7043–7053.
- [37] Miura Y, Ohkubo H, Niimi A, et al. Suppression of epithelial abnormalities by nintedanib in induced-rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease mouse model [J]. *ERJ Open Res*, 2021, 7(4): 00345–02021.
- [38] Schiller HB, Fernandez IE, Burgstaller G, et al. Time- and compartment-resolved proteome profiling of the extracellular niche in lung injury and repair [J]. *Mol Syst Biol*, 2015, 11(7): 819.
- [39] 李周. JAKi 在系统性硬化症相关间质肺小鼠模型中的疗效研究 [D]. 广州: 南方医科大学; 2022.
- Li Z. Efficacy of JAKi in a mouse model of systemic sclerosis-related interstitial lung [D]. Guangzhou: Southern Medical University; 2022.
- [40] Schniering J, Guo L, Brunner M, et al. Evaluation of ^{99m}Tc-rhAnnexin V-128 SPECT/CT as a diagnostic tool for early stages of interstitial lung disease associated with systemic sclerosis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 183.
- [41] 张立, 李正, 曾海英, 等. 硬皮病伴发肺间质病变小鼠模型的建立及发病机制研究 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2015, 42(4): 491–497.
- Zhang L, Li Z, Zeng HY, et al. Establishment of a mouse model of scleroderma accompanied by pulmonary interstitial lesions and study on its pathogenesis [J]. *Fudan Univ J Med Sci*, 2015, 42(4): 491–497.
- [42] Ravanetti F, Ferrini E, Ragionieri L, et al. SSC-ILD mouse model induced by osmotic minipump delivered bleomycin: effect of Nintedanib [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 18513.
- [43] Maurer B, Busch N, Jüngel A, et al. Transcription factor fos-related antigen-2 induces progressive peripheral vasculopathy in mice closely resembling human systemic sclerosis [J]. *Circulation*, 2009, 120(23): 2367–2376.
- [44] Eferl R, Hasselblatt P, Rath M, et al. Development of pulmonary fibrosis through a pathway involving the transcription factor Fra-2/AP-1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30): 10525–10530.
- [45] Boleto G, Guignabert C, Pezet S, et al. T-cell costimulation blockade is effective in experimental digestive and lung tissue fibrosis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 197.
- [46] Birnhuber A, Jandl K, Biasin V, et al. Pirfenidone exacerbates Th2-driven vasculopathy in a mouse model of systemic sclerosis-associated interstitial lung disease [J]. *Eur Respir J*, 2022, 60(4): 2102347.
- [47] 谈欣怡, 谭奚扬, 曹左媛, 等. “自身清”双向调节 JAK2/STATs 信号通路抑制系统性红斑狼疮小鼠肺间质病变的研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(2): 213–217.
- Tan XY, Tan XY, Cao ZY, et al. Inhibition of pulmonary interstitial lesions in systemic lupus erythematosus mice by two-way regulation of JAK2/STATs signaling pathway by “Zi Shen Qing” [J]. *J Basic Chin Med*, 2022, 28(2): 213–217.
- [48] Gao Y, Ge X, Wang X, et al. The association between the decreased expression levels of FOXJ1 and the activation of the NF-κB pathway in interstitial lung disease of MRL/lpr mice [J]. *Iran J Immunol*, 2021, 18(3): 210–219.
- [49] Zhang L, Fu XH, Yu Y, et al. Treatment with CA-074Me, a Cathepsin B inhibitor, reduces lung interstitial inflammation and fibrosis in a rat model of polymyositis [J]. *Lab Invest*, 2015, 95(1): 65–77.
- [50] Redente EF, Aguilar MA, Black BP, et al. Nintedanib reduces pulmonary fibrosis in a model of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314(6): L998–L1009.