

林锟,何宪顺,田佳庆,等. 血友病性关节炎动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(4): 523-529.
LIN K, HE X S, TIAN J Q, et al. Progress in animal models of hemophilic arthritis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(4): 523-529.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.04.013

血友病性关节炎动物模型的研究进展

林锟¹,何宪顺¹,田佳庆¹,陆舜¹,何敏聪^{2,3},林天烨^{2,3},何晓铭^{2,3},
范帅⁴,杨宏光⁵,于天启⁵,张大光⁶,何伟^{2,3},魏秋实^{2,3*}

(1. 广州中医药大学第三临床医学院,广州 510006;2. 广州中医药大学第三附属医院关节中心,广州 510378;
3. 广东省中医骨伤研究院,广州 510378;4. 广州中医药大学第三附属医院骨质疏松科,广州 510378;
5. 广州中医药大学第三附属医院区域中医血液病诊疗中心,广州 510378;6. 吉林大学第一医院,长春 130061)

【摘要】 血友病的反复出血并发血友病性关节炎(hemophilia arthritis, HA),严重影响患者生活,消耗大量社会医疗资源,受限于伦理要求,需要建立 HA 动物模型进行研究。为了总结血友病性关节炎动物模型的研究进展,本文查阅近年国内外有关动物 HA 模型的研究文献,从物种选择、建模方法以及组织病理学、影像学评价方法等方面进行综述。物种选择上包括啮齿类鼠类、新西兰兔、比格犬、小型猪、食蟹猴等;造模方法包括基因敲除创伤模型、基因敲除自发模型和注射模型,其中基因敲除自发模型最接近人类 HA 的自发出血并发关节炎的病理生理过程,更贴近人类 HA,但是由于造模成本高、表型不稳定、成活率低等因素,该模型并不作为动物实验研究的首选;相比之下,基因敲除创伤模型具有造模时间短、稳定性强、成功率高等特点,因此被广泛应用。HA 模型的评价除了多种大体评分方法外,还包括 MRI、micro-CT、MSKUS/PD 等多种影像学方法可供选择。通过对 HA 模型研究进展的综述,为研究其发病机制和疗效验证提供更多依据,弥补 HA 临床数据的匮乏,特别是中医药治疗方面。

【关键词】 血友病性关节炎;动物模型;评价方法;组织病理学;影像学

【中图分类号】 Q95-33 【文献标志码】 A 【文章编号】 1005-4847 (2024) 04-0523-07

Progress in animal models of hemophilic arthritis

LIN Kun¹, HE Xianshun¹, TIAN Jiaqing¹, LU Shun¹, HE Mincong^{2,3}, LIN Tianye^{2,3}, HE Xiaoming^{2,3},
FAN Shuai⁴, YANG Hongguang⁵, YU Tianqi⁵, ZHANG Daguang⁶, HE Wei^{2,3}, WEI Qiushi^{2,3*}

(1. the Third Clinical School of Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;
2. Joint Center, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, China;
3. Guangdong Institute of Chinese Medicine and Orthopedics, Guangzhou 510378, China; 4. Department of Osteoporosis, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378, China; 5. Regional TCM Hematology Treatment Center, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510378, China; 6. the First Hospital of Jilin University, Changchun 130061, China)

Corresponding author: WEI Qiushi. E-mail: weiqshi@126.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82274544,81873327),国家自然科学基金青年科学基金(82004392),2022 年度“揭榜挂帅”项目(毕科合重大专项[2022]1 号)、“双一流”与高水平大学学科协同创新团队重大项目(2021XK05)、“双一流”与高水平大学学科协同创新团队培育项目(2021XK41),开放课题重点项目(GYH202101-01,GYH202101-04),国家中医优势专科建设项目(44000022000000043009)。

Funded by National Natural Science Foundation of China of General Project (82274544, 81873327), National Natural Science Foundation of China of Youth Science Fund (82004392), “Unveiling Leadership” Project of 2022 (Major Special Project [2022] No. 1), Major Project of Synergistic Innovation of “Double First-Class” and High-Level University Disciplines (2021XK05), Incubation Project of Synergistic Innovation Team of “Double First-Class” and High-Level University Disciplines (2021XK41), Key Project of Open Topic (GYH202101-01, GYH202101-04), National Traditional Chinese Medicine Specialty Construction Project (44000022000000043009).

[作者简介] 林锟,男,硕士,研究方向:血友病性关节炎的基础和临床研究。Email:13829570055@163.com

[通信作者] 魏秋实,男,博士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:股骨头坏死的基础和临床研究。E-mail:weiqshi@126.com

[Abstract] Hemophilic arthritis (HA), caused by recurrent bleeding, can seriously affect patient quality of life and consumes extensive social and medical resources. There is thus a need to establish an animal model of HA for research; however, this is limited by ethical requirements. Here we review the recent literature and summarize research progress into animal models of HA at home and abroad, from the aspects of species selection, modeling method, histopathology, and imaging evaluation method. Species selection includes rodents such as mice, New Zealand rabbits, beagles, miniature pigs, and crab-eating macaques. Modeling method comprise gene knockout trauma models, gene knockout spontaneous models, and injection models. Among these, the gene knockout spontaneous model closely mimics the pathological process of spontaneous bleeding and concurrent arthritis in human HA, making it more relevant to human HA. However, due to high modeling costs, phenotypic instability, and low survival rates, this model is not the preferred choice for animal experimental studies. In contrast, gene knockout trauma models exhibit characteristics such as short modeling time, strong stability, and high success rates, thus being widely utilized in animal experimental research. Evaluation of HA models involves various imaging method including MRI, micro-CT, MSKUS/PD, in addition to various gross scoring method. By reviewing the progress of HA model research, more experimental evidence is provided for investigating the pathogenesis and validating the efficacy of HA treatments, thereby compensating for the lack of clinical data, particularly in the field of traditional Chinese medicine therapy.

[Keywords] hemophilic arthritis; animal model; evaluation methods; histopathology; radiology

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

血友病(hemophilia)是一组 X 染色体连锁隐性遗传性疾病,是由于凝血因子Ⅷ或Ⅸ缺乏所致的遗传性凝血功能障碍,A 型血友病为患者凝血因子Ⅷ(FⅧ)缺乏而引起的出血性疾病。关节出血为血友病的并发症之一,关节出血长期反复发作可引起血友病性关节炎(hemophilia arthritis, HA),也是血友病最严重的并发症^[1-2]。血友病在我国患病率为 2.73/10 万人,其中,男性患者中 A 型血友病占 1/5000 左右,女性血友病患者极少见^[1]。出血发生在关节内的血友病患者占 80%,目前,为了改善 HA 患者的生活质量,保守治疗无效者还是会首选关节置换术^[2],但血友病患者低凝状态下手术风险很大,用凝血因子Ⅷ或者Ⅸ治疗效果也一般^[3-4]。目前能明确血友病患者是因关节内反复出血而导致 HA,与骨关节炎(osteoarthritis, OA)的病因不同,故其具体发病机制与 OA 有区别,且目前仍尚未明确。因其自发出血的症状以及严重的并发症,消耗大量社会的医疗资源,伦理道德的限制使得一些研究方案无法在临床实践中进行,然而,通过使用 HA 动物模型,可以获得人体以外的实验数据,进而深入研究 HA 的发病机制,且对于寻找 HA 的治疗方法也具有重要的意义。本文将对已发表的研究中的动物实验模型的物种选择、造模过程和研究进展进行梳理,以有助于 HA 发病机制及治疗方法的研究。

1 物种选择

血友病患者会并发自发性关节出血,出血后,

该出血关节会出现滑膜增生和血管新生,导致关节反复出血^[5],低凝血液的反复堆积使同一关节的出血越来越多,随着时间的推移,整个关节可发生病变,从而导致 HA,包括出现滑膜炎、软骨退化、骨质缺失、骨重塑等病理表现^[6]。复制这些病理改变是建立 HA 动物模型的关键,也是衡量其成功与否的标准。选择适合的动物作为建立 HA 模型的对象是动物实验的第一步,也是实验成功的关键一步。目前用于研究 HA 的实验动物根据体型大小,可大致分为小型动物、中型动物和大型动物。小型动物价格低廉、饲养简便,但其解剖学结构、组织学和生理学等方面与人类相差较大。典型的小型动物包括啮齿类鼠类,如 C57BL/6 小鼠、BALB/c 小鼠、SD 大鼠等。小鼠常应用于遗传学研究,而大鼠体型较大,常用于与软骨相关的研究^[7]。小鼠和大鼠都有敲除凝血因子Ⅷ、Ⅸ的基因造模,所得到的 A 型和 B 型血友病小鼠在分子层面的表达是有差异的^[8],其中促炎因子表达升高的 A 型血友病小鼠应用广泛;而小鼠除了敲除这些凝血因子的基因以外,还会敲除其他基因,用以检测该基因的表达作用^[9]。敲除基因的 C57BL/6 小鼠、BALB/c 小鼠常被当作基因敲除创伤模型进行研究^[10-11]。兔类是中型动物的代表,其中多用新西兰兔,因其饲养简易、体型适中、取材方便,且性格温顺,故可用于 HA 模型研究^[12]。大型动物有比格犬、小型猪、食蟹猴等^[13-15],这些动物体型较大,膝关节结构与人类高度相似,便于建立模型,但价格昂贵、饲养成本高、

疾病进程较缓慢、观察周期较长,这些缺点限制了动物实验的开展。目前,犬类很少被用作基因敲除的动物模型,除了有报道 1 例牧羊犬因基因突变而患上血友病 A^[16],其他情况大多是采用比格犬注射自体血来建立模型^[17]。在选择造模物种时,研究者应综合考虑研究目的、方案可行性、饲养、经费与需求等因素,才能选择最合适的实验动物。

2 HA 动物模型造模方法研究进展

2.1 基因敲除创伤模型

基因敲除创伤模型是在敲除凝血因子 VIII、IX 基因,得到 F8-KO 或 F9-KO 动物的基础上,通过外力装置或针刺对关节造成创伤,诱导关节出血。VALENTINO 等^[18]在将 F8-KO 小鼠麻醉后,剃除膝部表面毛发,用弹簧装置给小鼠的右膝关节造成一个恒定的、可控的力造成膝部创伤,共 3 次,导致右侧膝部的皮肤出现红斑并发生肿胀,左侧膝盖作为对照,直径差值明显增大($P < 0.0001$),可视化出血评分(VBS)右膝也比左膝高($P < 0.001$),在第 2 次创伤末(第 14 天)的小鼠组织病理结果显示,低倍镜下,右膝胫骨畸形、软骨缺失,相比左膝,右膝的关节腔扩张,关节间隙充满致密的纤维结缔组织(血管翳),高倍镜下可见新生血管,滑膜增生超过 8 个细胞层,与血管翳相连。

针刺诱导是最常用的诱导方法,如 SUN 等^[19]、VAN VULPEN 等^[20]、HAKOBYAN 等^[21]将 F8-KO 小鼠麻醉、剃毛后,将目标膝盖微屈,使用 Hamilton 注射器和 30G 的针头,在股骨和胫骨之间的膝前表面来确定关节间隙,针头垂直于矢状面从前到后插入关节,并缓慢穿过关节囊前部至髌间切迹深度 2 ~ 3 mm,直至针头感受不到阻力则说明位置合适,且针头在横平面上从外侧向内侧轻微移动,以确保关节腔内出血量足;针刺诱导的 HA 模型除了组织病理有滑膜增生、软骨退化、血管新生表现外,IL-1 β 、IL-6 等导致软骨缺失的促炎因子也呈上调趋势^[20]。

由于 F8-KO 小鼠并没有关节腔内自发出血的表型^[22],所以会用以上两种方式诱导关节腔内出血,敲除基因大鼠也会为了减小实验组间误差而诱导关节出血^[23]。虽然两种诱导方式的造模结果在体征与病理生理变化上都更接近 HA,但笔者认为,弹簧装置给予关节面创伤造成关节血肿的造模方式缺乏明确的出血点证据,除了关节腔内出血,可

能存在皮下出血,影响针刺诱导,虽然关节腔定位准确、出血点准确,但也不排除皮肤外伤的影响,这两种模型存在不足都可能影响最终 HA 模型的病理生理过程,只能通过扩大样本量来减少操作误差。

2.2 基因敲除自发模型

相比于基因敲除基础上的创伤动物模型,自发模型规避了创伤带来的除关节腔以外的出血点的影响,更贴合 HA 患者的病因。KASHIWAKURA 等^[24]通过靶向敲除凝血因子 VIII 的基因和纤维细胞核移植技术获得的克隆猪拥有严重的血友病表型,有的脸颊、前肢和后肢可见瘀斑,还有的左前肢反复出血,肉眼可见关节肿胀;这种 F8-KO 猪模型与正常猪的组织病理表现区别为滑膜增生($P < 0.001$)、软骨退化(无明显差异),切片还能观察到关节腔内凝血^[13]。ZINTNER 等^[25]通过敲除基因建立 F8-KO 大鼠模型出血表型也很明显,但是除了四肢肿胀、肌肉撕裂伤,还有尿出血等内出血的表现,实验过程中止不住血的会按照伦理要求进行安乐死,有任何痛苦迹象的按照动物伦理要求也被安乐死,提前安乐死的大鼠关节在研究中并没有被纳入后续的组织病理学研究^[26];为了减少 F8-KO 大鼠在出血时间的个体间差异,针刺诱导的一侧膝与对侧膝可形成对照,也可与正常大鼠膝形成对照,不过,LOVGREN 等^[27]在未针刺的膝关节滑液中检测到角质细胞趋化因子/生长调节基因蛋白(KC/GRO)($P < 0.01$)、嗜酸粒细胞趋化蛋白(Eotaxin)($P < 0.01$)、 α -1-酸性糖蛋白(AGP)($P < 0.05$)相比正常大鼠膝的表达升高,这 3 个蛋白都与炎症相关^[28-30],即使缺少组织病理的证据,也不能否定 F8-KO 大鼠膝关节会自发炎症。总之,敲除基因的血友病动物能够自发出血,血友病猪的体格及关节最接近人类患者,笔者认为这种血友病猪是目前研究 HA 最好的动物模型,不过其昂贵的饲养成本也成为了动物实验的限制条件;血友病大鼠虽然相对便宜,但各项研究表明其出血表型极不稳定,按照动物实验的伦理要求,血友病大鼠也很少用来建造 HA 模型。

2.3 注射模型

向实验动物的关节腔内注射自体血是模仿 HA 患者关节内反复出血的过程,用以研究反复出血对关节内环境,尤其是对软骨、滑膜的影响。通过麻醉,先通过血管或心脏穿刺取血,与抗凝剂混合后,

再将动物的膝盖固定,注射入动物的关节腔内。CORRIGAN 等^[31]在将新西兰兔麻醉后,将柠檬酸自体血混合物注入兔子的膝关节腔内,WANG 等^[32]从兔耳动脉经 25 号头皮针获得自体全血(0.1 mL/kg),再将自体血分 8 次打入同侧关节腔内;VAN VULPEN 等^[33]通过静脉穿刺,将比格犬的自体血注入其关节腔内。以上动物模型均注射自体血,从膝关节组织病理都能观察到软骨退变、滑膜炎等。除了自体血,刘昊等^[12]尝试使用右旋糖酐铁代替自体血,所获得的 HA 模型兔从症状到影像学表现,再到病理改变,均能模拟出 HA 的特征性表现,且造模上比自体血更快速、简便。只不过,注射模型终究不是以血友病动物模型为基础,只适合用于探究血液对软骨、滑膜等关节腔内环境的影响,但缺少凝血功能缺陷的相关表型,所以有关 HA 的机制研究仍不采用此种造模方法。

3 HA 模型建立评价方法研究进展

血友病动物如果能自发出血,将会观察到关节肿胀;如果血友病动物需要诱导出血,那么除了关节肿胀的同时,可通过测红细胞压积(hematocrit, HCT)来测定关节内/周围出血程度^[34-35];注射模型要确保自体血或替代物准确注射进关节腔内,动物肢体活动受限,受注射关节可见关节肿胀。3 种方法的成模判定还需以组织病理上能看到与 HA 相同的变化为标准,所以 HA 模型建立的判定及成模效果可以依照下列检查方法进行评定。

3.1 出血评估

出血评估是除了关节外径(joint diameter, JD)以外,针对动物模型的活体、大体和组织来评估其关节腔内的出血程度,有可视化出血评分(visual bleeding score, VBS)、关节外出血评分(extra-articular bleeding score, EBS)、关节内出血评分(intra-articular bleeding score, IBS)、组织学出血评分(histological bleeding score, HBS)^[4,21]。首先可以通过 VBS,评分范围为 0 ~ 3;VBS 值为 0,对应于无出血的正常(非肿胀)膝关节;VBS 值为 1,对应于关节无肿胀,但有出血;VBS 值为 2,对应于关节肿胀,但无紧张出血;VBS 值为 3,对应于关节紧张、膨胀、充血;VBS 最高值时,对应于 JD、EBS、IBS、HBS 评估出血的最佳时间点。动物安乐死取材后,通过数字摄影图像进行 EBS,还有组织切片染色进行 IBS 和 HBS。然后对评分结果进行统计学分析,即可把关

节由外到内进行综合出血评分。

3.2 MRI、CT 和 micro-CT(μ CT)

目前,MRI 是公认的诊断 HA 最敏感的方法,能够显示不同时期的关节积液、出血情况、滑膜增生和含铁血黄素的沉积,而且能够早期显示软骨异常,是该病影像检查的金标准;CT 成像可对 HA 病变关节滑膜含铁血黄素沉积的评估,多层次扫描可准确掌握患者骨质疏松情况; μ CT 已成为一种成本效益高、通量高、分辨率高的成像方式, μ CT 可以应用于骨骼和软组织间的固有对比,还可以与对比增强成像相结合,如血管造影增强 μ CT(CE- μ CT),通过纳米颗粒血液显影剂,最后造影剂的体积通过自动图像采样进行量化,可表示出血体积^[36]。

3.3 肌骨彩色多普勒超声检查(MSKUS/PD)

肌骨彩色多普勒超声检查能够确定是否存在关节血,超声对液体的检测非常敏感,可以很容易地检测出大关节中与正常量相对应的小体积(3 ~ 5 mL)滑液,血液具有非常明显的超声特征,因此可以与简单的液体区分开来^[10],HA 模型的关节 MSKUS/PD 增加 2.4 倍^[37]。近红外扫描热图(near-infrared imaging system)是通过白蛋白结合的埃文斯蓝染料外渗来测量动物模型的滑膜血管通透性,计算原始荧光强度的比值,以检测出血关节与对照关节之间灌注的变化^[38]。超声检查和近红外扫描热图这两种方法都能确定关节内出血,肌骨超声检查可以在体外和关节间隙检测浓度低至 5% 的血液,区分血液与非血液方面具有较高的灵敏度,说明 MSKUS 是临床快速出血检测的理想方法^[39]。近红外扫描热图还能检测关节的血管通透性。

4 总结与展望

HA 发病机制复杂,现普遍认为是反复腔内出血引起的关节腔内环境改变导致软骨退变、滑膜炎、血管新生^[38]等病变。综上所述,HA 的动物造模物种选择多,各种造模方法可操作性强,评价的检查方法多,敲除基因动物创伤模型成模率高、可复制性强、可控性优,最适合用于研究 HA 的病理特点,但是因为存在创伤,需要注意伤口感染或皮下血肿等并发症;能自发出血的血友病动物最接近于 HA 发病过程,最适于研究 HA 的发病机制。但是可控性差、成本太高,需要研究者更加缜密的研究设计减少组间表型差异、降低实验成本;注射模型适合研究反复的血液暴露与沉积对软骨的影响。所

以,针对血友病性关节炎的课题,研究者应该根据研究实际需要,结合各种模型的特点进行选择。

近年来,针对血友病性关节炎的病理、分子机制研究以及治疗手段的探索仍在继续,主要还是以动物实验为主。VØLS 等^[40]在针刺诱导关节出血的敲除 FVIII 基因小鼠上探究治疗前出血量与随后的组织病理改变程度和骨病理发展相关性,应用荧光分子断层成像(fluorescence molecular tomography, FMT)和 Micro-CT 加以验证,提出并强调 HA 急性期出血按需治疗的重要性。MAGISETTY 等^[41]在敲除 FVIII 基因的小鼠身上用内皮细胞蛋白 C 受体(EPCR)单克隆抗体阻断 EPCR 活性,发现显著减轻 HA 小鼠的滑膜炎,提出 EPCR 为 HA 治疗潜在靶点。PULLES 等^[42]从含铁血黄素沉积这个角度出发,用铁螯合剂地拉罗司(deferasirox, DFX)干预关节出血小鼠,但其结果说明按需使用 DFX 治疗并不能保护关节免受血液暴露的有害影响。设计出拮抗抗凝分子通路的单克隆抗体腹腔注射,或者腺病毒(adenovirus, AVV)在出血关节上局部使用,这些方法的治疗潜力也都在 HA 小鼠模型上得到证明^[11,43-44]。现在或将来针对 HA 治疗方案的提出更需要临床验证,或者应用更贴合 HA 患者的动物模型进行验证。

值得关注的是,在文献检索过程中,发现有研究者将血友病归为“血证”^[45],极少单一针对 HA 进行辨证论治,这也充分说明中医药的整体辨证论治原则。目前,绝大多数涉及 HA 动物模型的研究都是根据现代医学病理特点进行造模和方案设计,而在中医药领域,涉及 HA 的动物实验则非常有限,但这些血友病动物又明显存在出血证,所以笔者觉得,从“气”和“血”关系入手对血友病或 HA 的病证结合与辨证施治的研究,是血友病或 HA 病因病机探究以及药物防治研究的重要方向。

参 考 文 献(References)

[1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 血友病 A 诊疗指南 (2022 年版) [J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(7): 579-583.
National Health Commission of the People's Republic of China. Guidelines for diagnosis and treatment of hemophilia A (2022 edition) [J]. Clin Educ Gen Pract, 2022, 20(7): 579-583.

[2] 童培建, 翁习生, 杨仁池, 等. 中国血友病性骨关节病髋膝关节置换围手术期管理指南 [J]. 中华骨与关节外科杂志, 2022, 15(7): 481-490.
TONG P J, WENG X S, YANG R C, et al. Guideline for perioperative management in hemophilic arthropathy patients

undergoing hip and/or knee arthroplasty in China [J]. Chin J Bone Joint Surg, 2022, 15(7): 481-490.

[3] MUTO A, YOSHIHASHI K, TAKEDA M, et al. Anti-factor IXa/X bispecific antibody (ACE910): hemostatic potency against ongoing bleeds in a hemophilia A model and the possibility of routine supplementation [J]. J Thromb Haemost, 2014, 12(2): 206-213.

[4] VALENTINO L A, CONG L, ENOCKSON C, et al. The biological efficacy profile of BAX 855, a PEGylated recombinant factor VIII molecule [J]. Haemophilia, 2015, 21(1): 58-63.

[5] BHAT V, OLMER M, JOSHI S, et al. Vascular remodeling underlies rebleeding in hemophilic arthropathy [J]. Am J Hematol, 2015, 90(11): 1027-1035.

[6] VØLS K K, KJELGAARD-HANSEN M, LEY C D, et al. In vivo fluorescence molecular tomography of induced haemarthrosis in haemophilic mice: link between bleeding characteristics and development of bone pathology [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2020, 21(1): 241.

[7] PULLES A E, VØLS K K, CHRISTENSEN K R, et al. Proteoglycan synthesis rate as a novel method to measure blood-induced cartilage degeneration in non-haemophilic and haemophilic rats [J]. Haemophilia, 2020, 26(3): e88-e96.

[8] ZHANG F, ZONG X, ZHOU X, et al. Naive haemophilia mice displayed different pattern of cytokine profiles of cytokine profiles changes might be associated with subclinical bleeding [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2021, 32(8): 584-590.

[9] HAXAIRE C, HAKOBYAN N, PANNELLINI T, et al. Blood-induced bone loss in murine hemophilic arthropathy is prevented by blocking the iRhom2/ADAM17/TNF-α pathway [J]. Blood, 2018, 132(10): 1064-1074.

[10] GOPAL S, BARNES R F W, COOKE E J, et al. Systemic vascular basement membrane markers linked to synovial vascular remodeling are biomarkers of hemarthrosis in patients with hemophilia [J]. J Thromb Haemost, 2021, 19(5): 1200-1211.

[11] MAGISETTY J, KONDREDDY V, KESHAVA S, et al. Selective inhibition of activated protein C anticoagulant activity protects against hemophilic arthropathy in mice [J]. Blood, 2022, 139(18): 2830-2841.

[12] 刘昊, 马菲, 张亚如, 等. 建立及超声评估血友病性关节炎动物模型 [J]. 中国医学影像技术, 2020, 36(10): 1441-1445.
LIU H, MA F, ZHANG Y R, et al. Establishment and ultrasonic evaluation of hemophilic arthritis animal models [J]. Chin J Med Imag Technol, 2020, 36(10): 1441-1445.

[13] CHEN J, AN B, YU B, et al. CRISPR/Cas9-mediated knockin of human factor IX into swine factor IX locus effectively alleviates bleeding in hemophilia B pigs [J]. Haematologica, 2021, 106(3): 829-837.

[14] 刘昊. 超声引导下关节腔内注射聚桂醇治疗血友病慢性滑膜炎的安全性及有效性研究 [D]. 广州: 南方医科大学; 2020.

- LIU H. Ultrasound-guided intra articular injection of lauromacrogol for hemophilic chronic synovitis; a safety and efficacy study [D]. Guangzhou: Southern Medical University; 2020.
- [15] OHMORI T, MIZUKAMI H, KATAKAI Y, et al. Safety of intra-articular transplantation of lentivirally transduced mesenchymal stromal cells for haemophilic arthropathy in a non-human primate [J]. *Int J Hematol*, 2018, 108(3): 239–245.
- [16] LOZIER J N, KLOOS M T, MERRICKS E P, et al. Severe hemophilia A in a male old English sheep dog with a C→T transition that created a premature stop *Codon* in factor VIII [J]. *Comp Med*, 2016, 66(5): 405–411.
- [17] 李豫. 出血性关节炎动物模型建立及血友病关节炎康复疗效观察 [D]. 昆明: 昆明医科大学; 2019.
- LI Y. Establishment of an animal model of hemorrhagic arthritis and observation on the therapeutic effect of hemophilia arthritis [D]. Kunming: Kunming Medical University; 2019.
- [18] VALENTINO L A, HAKOBYAN N, KAZARIAN T, et al. Experimental haemophilic synovitis; rationale and development of a murine model of human factor VIII deficiency [J]. *Haemophilia*, 2004, 10(3): 280–287.
- [19] SUN J, HUA B, LIVINGSTON E W, et al. Abnormal joint and bone wound healing in hemophilia mice is improved by extending factor IX activity after hemarthrosis [J]. *Blood*, 2017, 129(15): 2161–2171.
- [20] VAN VULPEN L F D, POPOV-CELEKETIC J, VAN MEEGEREN M E R, et al. A fusion protein of interleukin-4 and interleukin-10 protects against blood-induced cartilage damage *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15(9): 1788–1798.
- [21] HAKOBYAN N, VALENTINO L A, CONG L, et al. Hemarthrosis model in mice; BSS-Bleeding Severity Score assessment system [J]. *Haemophilia*, 2016, 22(5): 790–798.
- [22] MUCHITSCH E M, TURECEK P L, ZIMMERMANN K, et al. Phenotypic expression of murine hemophilia [J]. *Thromb Haemost*, 1999, 82(4): 1371–1373.
- [23] CHRISTENSEN K R, KJELGAARD-HANSEN M, NIELSEN L N, et al. Rapid inflammation and early degeneration of bone and cartilage revealed in a time-course study of induced hemarthrosis in hemophilic rats [J]. *Rheumatology*, 2019, 58(4): 588–599.
- [24] KASHIWAKURA Y, MIMURO J, ONISHI A, et al. Porcine model of hemophilia A [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49450.
- [25] ZINTNER S M, SMALL J C, PAVANI G, et al. Gene-based FVIIa prophylaxis modulates the spontaneous bleeding phenotype of hemophilia A rats [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(3): 301–311.
- [26] CHRISTENSEN K R, ROEPSTORFF K, PETERSEN M, et al. Visualization of haemophilic arthropathy in F8^{-/-} rats by ultrasonography and micro-computed tomography [J]. *Haemophilia*, 2017, 23(1): 152–162.
- [27] LÖVGREN K M, CHRISTENSEN K R, MAJEWSKI W, et al. Acute hemarthrosis in the haemophilia A rat generates a local and systemic proinflammatory response [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(11): 2092–2104.
- [28] RAZA A, SCHULZ B L, NOUWENS A, et al. Application of quantitative proteomics to discover biomarkers for tick resistance in cattle [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1091066.
- [29] SOOTICHOTE R, PUANGMANEE W, BENJATHUMMARAK S, et al. Potential protective effect of dengue NS1 human monoclonal antibodies against dengue and zika virus infections [J]. *Biomedicine*, 2023, 11(1): 227.
- [30] SALIM S Y, ALMALKI N, MACALA K F, et al. Oncostatin M receptor type II knockout mitigates inflammation and improves survival from sepsis in mice [J]. *Biomedicine*, 2023, 11(2): 483.
- [31] CORRIGAN J J, KOLBA K S, GALL E P, et al. Treatment of hemophilic arthritis with D-penicillamine; a preliminary report [J]. *Am J Hematol*, 1985, 19(3): 255–264.
- [32] WANG K C, AMIRABADI A, WANG K C, et al. Longitudinal assessment of bone loss using quantitative ultrasound in a blood-induced arthritis rabbit model [J]. *Haemophilia*, 2015, 21(5): e402–e410.
- [33] VAN VULPEN L F, VAN MEEGEREN M E, ROOSEDAAL G, et al. Biochemical markers of joint tissue damage increase shortly after a joint bleed; an explorative human and canine *in vivo* study [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(1): 63–69.
- [34] COOKE E J, WYSEURE T, ZHOU J Y, et al. Mechanisms of vascular permeability and remodeling associated with hemarthrosis in factor VIII-deficient mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2019, 17(11): 1815–1826.
- [35] WYSEURE T, COOKE E J, DECLERCK P J, et al. Defective TAFI activation in hemophilia A mice is a major contributor to joint bleeding [J]. *Blood*, 2018, 132(15): 1593–1603.
- [36] VØLS K K, KJELGAARD-HANSEN M, LEY C D, et al. Bleed volume of experimental knee hemarthrosis correlates with the subsequent degree of hemophilic arthropathy [J]. *Haemophilia*, 2019, 25(2): 324–333.
- [37] COOKE E J, ZHOU J Y, WYSEURE T, et al. Erratum to: vascular permeability and remodelling coincide with inflammatory and reparative processes after joint bleeding in factor VIII-deficient mice [J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119(9): 1546.
- [38] WYSEURE T, YANG T, ZHOU J Y, et al. TAFI deficiency causes maladaptive vascular remodeling after hemophilic joint bleeding [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(19): e128379.
- [39] NGUYEN S, LU X, MA Y, et al. Musculoskeletal ultrasound for intra-articular bleed detection: a highly sensitive imaging modality compared with conventional magnetic resonance imaging [J]. *J Thromb Haemost*, 2018, 16(3): 490–499.
- [40] VØLS K K, KJELGAARD-HANSEN M, LEY C D, et al. Initial joint bleed volume in a delayed on-demand treatment setup correlates with subsequent synovial changes in hemophilic mice [J]. *Anim Model Exp Med*, 2020, 3(2): 160–168.
- [41] MAGISETTY J, PENDURTHI U R, ESMON C T, et al. EPCR

deficiency or function-blocking antibody protects against joint bleeding-induced pathology in hemophilia mice [J]. Blood, 2020, 135(25): 2211-2223.

[42] PULLES A E, VAN VULPEN L F D, COELEVELD K, et al. On-demand treatment with the iron chelator deferasirox is ineffective in preventing blood-induced joint damage in haemophilic mice [J]. Haemophilia, 2021, 27(4): 648-656.

[43] 林振洋, 王治凡, 张飞旭, 等. AAV 介导的 TNFR 关节内基因治疗对血友病性关节炎预防和治疗的实验研究 [J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2022, 48(5): 631-640.

LIN Z Y, WANG Y F, ZHANG F X, et al. Adeno-associated virus mediated tumor necrosis factor receptor for prevention and treatment of hemophilic arthropathy in hemophilic mice [J]. J East Chin Univ Sci Technol, 2022, 48(5): 631-640.

[44] JIANG M, YANG F, JIANG Y, et al. Blocking human protein C anticoagulant activity improves clotting defects of hemophilia mice expressing human protein C [J]. Blood Adv, 2022, 6(11): 3304-3314.

[45] 刘奎. 血友病中西医诊疗方案 [A]. 2014 中华中医药学会第二届岐黄论坛——血液病中医药防治分论坛 [C]; 2014.

LIU K. Integrative Chinese and Western medicine diagnosis and treatment plans for hemophilia [A]. 2014 Qihuang forum of the Chinese association of traditional chinese medicine-sub-forum on traditional chinese medicine prevention and treatment of hematologic diseases [C]; 2014.

[收稿日期] 2023-06-09

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>
期待您的来稿!