

# 骨性关节炎诱导性动物模型研究进展

沈彦<sup>1</sup>, 金红婷<sup>1</sup>, 童培建<sup>2</sup>, 肖鲁伟<sup>1</sup>

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省中医院)

**【摘要】** 骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一种随年龄增长而发生率明显增加的退行性关节疾病,随着社会人口的老龄化,该病发病率呈显著上升趋势。其病因及发病机制目前仍不是十分清楚,因此通过建立 OA 动物模型来探讨其病理机制并寻找合理有效的诊疗手段成为研究 OA 的重要方法,而诱导性动物模型又是其中较常用的一种,它包括非手术方法和手术方法两种。非手术方法主要有药物注入、关节制动、关节撞击等,手术方法主要有破坏关节稳定性、改变关节应力、关节刻痕等。该文就以上内容作一简要综述,以期能为正确合理地选择骨性关节炎动物模型提供一定的参考。

**【关键词】** 骨关节炎; 动物实验; 综述文献

**Research development of the induced animal model of osteoarthritis** SHEN Yan\*, JIN Hong-ting, TONG Pei-jian, XIAO Lu-wei. \*Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

**ABSTRACT** Osteoarthritis(OA) is a retrogressive arthrosis of which incidence rate increased obviously with the age. Accompany with the aging of the population, the incidence of this disease appears an upward trend significantly. The etiology and pathogenesis of AO is not very clear at present, so it's important to establish animal models for discussing the pathogenesis of AO and searching reasonable ways to diagnose and treat. The induced animal model is used more commonly, it includes non-operation ways and operation ways, the former includes drug injection, joint immobilization, transarticular impact, etc.; the latter includes destroy the stability of joint, change the stress of joint, snick on condylofemur etc. This article makes a brief review on those questions, looks forward to providing some reference on choosing OA animal model correctly and reasonably.

**Key words** Osteoarthritis; Animal experimentation; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(9):716-718 www.zggszz.com

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一种随年龄增长而发生率明显增加的退行性关节疾病,病变早期大部分合成反应集中发生于软骨基质的下半部,随着疾病进行性发展至骨关节炎晚期,降解反应进一步扩展累及深部基质的胶原和蛋白多糖<sup>[1]</sup>。目前常用的治疗方法都存在一定缺陷,因此 OA 动物模型在研究骨关节炎发生、发展、有效防治药物及治疗方法中具有重要作用<sup>[2-3]</sup>。一般来说,OA 动物模型可分为两大类:自发性模型,即实验动物未经任何有意识的人为处理,在自然情况下所发生的,或者由于基因突变的异常表现通过遗传育种保留下来的 OA 动物模型,如 STRPort 小鼠、Hartley 豚鼠等;诱发性模型,即通过各种实验性的人为操作来诱导 OA 的产生。鉴于自发性的 OA 动物模型基本都在自然条件下获得,即没有动物模型的人为建立过程,所以下面着重讨论的是诱导性 OA 动物模型的建立,以及各模型的特点和分别适用的研究领域。

## 1 非手术方法

### 1.1 药物注入

**1.1.1 木瓜蛋白酶** Muehleman 等<sup>[4]</sup>的实验将木瓜凝乳蛋

白酶注入新西兰大白兔膝关节内诱导软骨病变,第 2 周见膝关节面纤维变性、软骨浅层破坏;第 4 周可见退行性变进行性发展,表现为关节面软骨层广泛破坏、骨面粗糙不平、骨质破坏及骨赘形成;第 6 周关节面粗糙不平,软骨细胞增殖,但纤维软骨层变薄,纤维变性,周围的软骨细胞成簇增生,符合 OA 改变。

**1.1.2 胶原酶** Kikuchi 等<sup>[5]</sup>将胶原酶注入成年兔膝关节腔内,6 周后组织学观察发现关节软骨和滑膜均有变性,随时间推移软骨退变逐渐进展,滑膜变性则有逐渐缓解趋势。该实验表明,关节腔内注射胶原酶可在短期内诱导关节组织的炎症反应,促软骨进行性退变,且所需胶原酶剂量比木瓜蛋白酶用量要低,不失为一种方便简捷的造模方法。

**1.1.3 碘乙酸盐** Guzman 等<sup>[6]</sup>将糖醇解抑制剂单体碘乙酸注入 Wistar 大鼠膝关节,注射后 1 周内即可发现以软骨细胞区域性变性和坏死为特征的组织学改变,在胫骨平台和股骨髁处还出现软骨的全层性改变。注射后 7 d,软骨下骨组织中破骨细胞和成骨细胞增加;28 d 破骨细胞活性明显增强,骨小梁有局灶性断裂、塌陷和纤维化。Pomonis 等<sup>[7]</sup>也用碘乙酸盐成功复制 OA 模型,并认为碘乙酸盐与 OA 疼痛有关。

**1.1.4 其他药物** 菲律宾素、肾上腺皮质激素、透明质酸酶、

软骨碎片或异物等注入动物关节腔,也可导致关节软骨的退变。

**1.2 关节制动** 张洪等<sup>[8]</sup>将 28 只成年新西兰大白兔的左后肢膝关节伸直位石膏管形固定,观察其左后肢膝关节软骨病理改变。结果显示 6 周后无论从大体还是镜下以及细胞凋亡情况,兔左后肢膝关节均呈典型的 OA 特征,因此认为膝关节伸直位制动 5~6 周是一个制作 OA 动物模型的较为理想的方法。Okazaki 等<sup>[9]</sup>实验研究也表明,家兔膝关节伸直位制动 7~14 d 后,关节软骨即出现早期退变,28 d 后出现关节软骨中度退变,42 d 后则出现严重的退变,并发现 p53 mRNA 在此过程中发挥了重要作用。

**1.3 关节撞击** Mrosek 等<sup>[10]</sup>认为突然性的高强度撞击力穿透关节软骨作用于软骨下骨也可能引起 OA 的改变,他们用“落塔”微重力装置对 12 条骨骼发育成熟的毕格犬的髌股关节进行撞击,6 个月后对撞击区域取样进行活组织检查,甲醛固定切片进行光镜观察,未固定的冰冻切片进行免疫荧光检测和 I、II 型胶原及聚集蛋白聚糖(来自软骨)分析。结果表明软骨基质退变,有明显的早期 OA 表现,而且证实了胶原网状结构的破坏导致了聚集蛋白聚糖的丢失。

**1.4 卵巢切除** Pemille 等将 Sprague-Dawley 鼠卵巢切除制作绝经后骨性关节炎模型,结果表明代表软骨变化的 CTX-II (collagen type II degradation products)及代表骨吸收的 CTX-I 较对照组明显升高,且第 4 周时两者的水平及此时关节变化与关节最终的变化呈明显相关性<sup>[11]</sup>。该模型为研究雌激素及其类似物质对关节软骨保护作用的有用模型。

## 2 手术方法

### 2.1 破坏关节稳定性

**2.1.1 Hulth 法<sup>[12]</sup>** 此为经典手术造模方法,步骤为:切断前后交叉韧带及内侧副韧带,完整切除内侧半月板,不损伤关节软骨面。术后不固定伤肢,自由活动,给予抗生素预防感染。由于动物膝关节的正常力学轴线遭破坏,关节面的摩擦增加及半月板所起的缓冲作用的缺失,关节最大压力承受面由正常的外侧胫骨平台转至内侧胫骨平台与股骨内髁,加之韧带的破坏引起关节不稳定,关节面的摩擦增加及半月板所起的缓冲作用的缺失,局部关节软骨所承受的压力相对增加,从而促使关节软骨发生变性。病理证实,术后 3 个月软骨面可出现裂隙、破坏。

**2.1.2 前交叉韧带切断或(和)半月板切除** Stoop 等<sup>[13]</sup>切断 Wistar 大鼠的膝关节前交叉韧带,取膝关节软骨常规组织学及免疫组化检测变性的 II 型胶原,在前交叉韧带切断后软骨损害最早改变发生于表层带的软骨细胞和软骨基质。术后 14 d 出现表层带软骨细胞数量减少,剩余的软骨细胞肿胀,表层带纤维化。术后 10 周,上述改变更明显。在纤维化的区域,变性的 II 型胶原降解产物染色明显增加,胶原酶分裂位点染色与变性胶原分布相同,但染色明显较淡;在胶原发生纤维化前及没有出现纤维化的部位不能检测到胶原的损害。Papaoannou 等<sup>[14]</sup>也认为,切断前交叉韧带可在 8 周前迅速导致 OA 样退行性改变,8 周后由于机体内的修复机制退化速度减慢,强调此模型在时间上有退化阶段和修复增生阶段之分。

李忠等<sup>[15]</sup>将小型猪经关节镜切除双膝外侧半月板,术后

12 周,大体观察结果显示,局限性软骨表面纤维化,股骨髁间切迹骨赘形成;组织学检测结果显示,软骨细胞数量和蛋白多糖含量减少成簇排列细胞数量增加;MRI 检查结果显示,软骨厚度变薄和骨软骨信号强度改变。所以这两种方法均造成关节,特别是软骨和滑液的炎症及修复,随病程的进展,软骨及软骨下骨破坏、增生等表现与自然发生的骨性关节炎是一样的。

**2.1.3 选择性切断臀肌法** 白希壮等<sup>[16]</sup>将豚鼠选择性切断附着在髂嵴上的臀大肌及其深面的臀中、小肌,造成髋关节不稳定,负重及维持平衡能力障碍。镜下观察手术后 12 周软骨细胞呈双柱状及灶巢样增生,伴有新骨形成,软骨表面剥脱及水平裂隙,为典型的早期 OA 表现。手术后 24 周,软骨中混杂着增生及变性坏死组织成分,软骨表面进一步破溃、粗糙,呈绒毛样外观,裂隙加深近垂直位,进而软骨下骨裸露呈象牙状,从而获得了满意的髋 OA 模型。

**2.2 关节刻痕** Marijnissen 等<sup>[17-18]</sup>认为通过关节内手术途径所得到的 OA 模型,由于关节不稳定是一个长期存在促进骨关节炎进展的因素,对于观察如何延缓其进展是一个较好的模型,但也可能会使一些有效的治疗的疗效显示不出来。同时,这类 OA 模型中,关节的退变部分是因为滑膜的炎症的存在,又会影响主要针对软骨保护和修复的治疗措施的治疗效果。所以,他们提出一种新模型,方法是在狗的膝关节股骨髁上刻痕,不损伤软骨下骨,术后将对侧肢体固定于躯体上,迫使手术肢体负重,每周 3 d,每天 4 h,共 20 周,20 周和 40 周(后 20 周正常负重)后,观察到关节软骨的生化表现与临床相似,且关节炎症表现轻微。

**2.3 改变关节应力** 目前研究认为,关节活动对软骨营养传递极其重要,关节活动造成关节软骨受压与减压交替,所以正常应力环境对维持关节软骨的营养和完整性有非常重要的作用。余存泰等<sup>[19]</sup>据此将 2 根克氏针分别钻入兔膝关节间隙上下,并一组使用撑开器撑开克氏针,另一组使用细钢丝拉紧,分别模拟关节低应力及关节高应力。观察总结认为,低应力引起的退变首先表现为早期软骨细胞功能减退,然后基质破坏,最终出现关节软骨退变;而高应力引起退变首先是早期基质破坏,继而软骨细胞退变,两组方法均可成功制备 OA 模型。

**2.4 其他手术** 此外,吴并生等<sup>[20]</sup>将兔单下肢股静脉双重结扎造成骨内高压,12 周左右观察显示膝关节软骨符合早期 OA 改变。刘蜀彬等<sup>[21]</sup>将兔股骨干髁端髓内血液供应阻断来破坏髓腔内血液循环障碍,16 周后获得早期 OA 动物模型。

### 3 小结

OA 的发生机制复杂,一般认为是多因素综合所致。最新的研究表明<sup>[22]</sup>在年轻和年老动物之间、在自发和诱导模型之间都存在着重要的治疗反应差异,因此对于某项研究而言,并不是所有的动物模型都是合适的 OA 模型。根据不同的发病原因所建立的 OA 模型其病理表现不尽相同,而不同的动物种属、造模机制所建立的 OA 模型又有其各自的特点,所以它们所适用的研究领域也各不相同。

作者认为,若要研究药物疗效及药物对关节软骨成分、炎症介质表达等的影响及治疗药物的筛选或研究步态异常等关节外因素所致骨性关节炎的机制等,可选用经由关节外途径

制作的模型,如关节固定法、切断臀肌法等,因此类模型方法简单易行,成功率高,创口小,最重要的是没有手术创伤性滑膜炎的干扰,更接近人类 OA 的病理过程。若要进行关节内注药预防和减轻 OA 病理改变等方面研究,则可选用 Hulth 法等关节内干预造成关节稳定性破坏的模型,因此类模型诱导成功率高,稳定性好,手术后 6 周左右即可获得 OA 模型,但由于属关节内手术,手术过程中的出血、创伤及炎症易影响 OA 模型早期软骨、滑膜的生化代谢,因此不适用于检测关节早期炎症介质的表达,观察早期 OA 病变、探讨药物对早期生化代谢的影响等方面的研究。相比之下,关节刻痕法由于关节的退变是一过性软骨损伤造成的,且炎症反应轻微,故被认为是观察 OA 早期表现及治疗效果的理想模型,尤其是观察主要针对软骨保护和修复的治疗措施疗效则更为敏感。而若要进行软骨病理、药物防治方面的研究,关节腔内注射化学物质则较为适宜,因其建模所需时间较短,可模拟软骨破坏的终末环节。

总之,诱发性 OA 动物模型的建立方法很多,在选择模型时应根据临床需要和对 OA 发病机制的某个方面进行研究需要以及后续实验研究的需要来进行综合考虑,以选择和建立相适应的 OA 动物模型。

#### 参考文献

- 于顺禄,李德达,李世民,等. 骨性关节炎研究进展. 中国骨伤, 2002, 15(10): 635-637.
- Bendele AM. Animal models of osteoarthritis in an era of molecular biology. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2002, 2(6): 501-503.
- Young MF. Mouse models of osteoarthritis provide new research tools. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26(7): 333-335.
- Muehleman C, Green J, Williams JM, et al. The effect of bone remodeling inhibition by zoledronic acid in an animal model of cartilage matrix damage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2002, 10(3): 226-233.
- Kikuchi T, Sakuta T, Yamaguchi T. Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*, 1998, 6(3): 177-186.
- Guzman RE, Evans MG, Bove S, et al. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicol Pathol*, 2003, 31(6): 619-624.
- Pomonis JD, Boulet JM, Gottshall SL, et al. Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. *Pain*, 2005, 114(3): 339-346.
- 张洪,江捍平,王大平,等. 关节制动制作骨性关节炎动物模型的探讨. 中国现代医学杂志, 2006, 16(12): 1843-1848.
- Okazaki R, Sakai A, Ootsuyama A, et al. Apoptosis and p53 expression in chondrocytes relate to degeneration in articular cartilage of immobilized knee joints. *J Rheumatol*, 2003, 30(3): 559-566.
- Mrosek EH, Lahm A, Erggelet C, et al. Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration: an immunohistochemical analysis in a canine model. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(2): 171-178.
- Høegh-Andersen P, Tankó LB, Andersen TL, et al. Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. *Arthritis Res Ther*, 2004, 6: 169-180.
- Rogart JN, Barrach HJ, Chichester CO. Articular collagen degradation in the Hulth-Telhag model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 1999, 7(6): 539-547.
- Stoop R, Buma P, van der Krann PM, et al. Type II collagen degradation in articular cartilage fibrillation after anterior cruciate ligament transection in rats. *Osteoarthritis Cartilage*, 2001, 9: 308-315.
- Papaioannou N, Krallis N, Triantafillopoulos I, et al. Optimal timing of research after anterior cruciate ligament resection in rabbits. *Contemp Top Lab Anim Sci*, 2004, 43(6): 22-27.
- 李忠,杨柳,戴刚,等. 关节镜下半月板部分切除制备骨关节炎动物模型. 第三军医大学学报, 2007, 29(10): 919-921.
- 白希壮,任继尧. 选择性臀肌切断诱发 OA 实验模型. 中华骨科杂志, 1994, 14(2): 118-120.
- Marijnissen AC, van Roermund PM, Tekoppele JM, et al. The canine groove model, compared with the ACLT model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2002, 10: 145-155.
- Marijnissen AC, van Roermund PM, Verzijl N, et al. Steady progression of osteoarthritic features in the canine groove model. *Osteoarthritis Cartilage*, 2002, 10: 282-289.
- 余存泰,徐中和,黄公怡. 应力导致关节软骨退变机制的实验研究. 实用骨科杂志, 2004, 5(10): 411-414.
- 吴并生,薛华新,刘晋,等. 超短波对家兔膝关节骨关节炎形成过程的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(1): 7-10.
- 刘蜀彬,孔祥星,黄迅悟,等. 股骨干髓端髓内血运阻断诱发兔膝关节骨性关节炎模型. 中国矫形外科杂志, 2003, 11(24): 1707-1708.
- Ameve LG, Young MF. Animal models of osteoarthritis: lessons learned while seeking the Holy Grail. *Curr Opin Rheumatol*, 2006, 18(5): 537-547.

(收稿日期: 2008-04-22 本文编辑: 王玉蔓)

### 本刊关于一稿两投和一稿两用等现象的处理声明

文稿的一稿两投、一稿两用、抄袭、假署名、弄虚作假等现象属于科技领域的不正之风,我刊历来对此加以谴责和制止。为防止类似现象的发生,我刊一直严把投稿时的审核关,要求每篇文章必须经作者单位主管学术的机构审核,附单位推荐信(并注明资料属实、无一稿两投等事项)。希望引起广大作者的重视。为维护我刊的声誉和广大读者的利益,凡核实属于一稿两投和一稿两用等现象者,我刊将择期在杂志上提出批评,刊出其作者姓名和单位,并对该文的第一作者所撰写的一切文稿 2 年内拒绝在本刊发表,同时通知相关杂志。欢迎广大读者监督。

《中国骨伤》杂志社