研究报告

佐剂性关节炎大鼠的血常规

于 飞[1],张 浪[2,3],梁 青[2],傅 晟[2],张 骏[1],吕昕泽[2],方珍文[4]

(1. 天津市临床药物关键技术重点实验室,天津医科大学药学院,天津 300070;
2. 天津国际生物医药联合研究院,天津 300457;
3. 南开大学药学院,天津 300071;4. 广西食品药品检验所,广西 530021)

【摘要】 目的 分析并探讨佐剂性关节炎大鼠的血常规。**方法** 采用完全弗氏佐剂诱导 Wistar 大鼠出现关节炎,全自动血液分析仪检测血常规。**结果** 27 个血常规检测指标中,与正常大鼠比较,佐剂性关节炎大鼠有 14 个指标有显著性差异($P < 0.05$),分别为白细胞数、中性细胞数(比例)、淋巴细胞比例、单核细胞数,网织红细胞数(包括高、中、低荧光强度和未成熟的)以及红细胞平均体积、平均血红蛋白量、红细胞分布宽度标准差和变异系数。**结论** 佐剂性关节炎大鼠白细胞明显上升,会出现类似于人类风湿性关节炎的慢性病性贫血。

【关键词】 佐剂性关节炎;大鼠;血常规
【中图分类号】 R965,R967,R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 01-0005-03
doi: 10.3969.j.issn.1671.7856. 2014.001.002

Blood routine of adjuvant arthritis rats

YU Fei[1], ZHANG Lang[2,3], LIANG Qing[2], FU Sheng[2], ZHANG Jun[1], LU Xin-ze[2], FANG Zhen-wen[4]

(1. Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics, Pharmacy College of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;
2. Tianjin International Joint Academy of Biotechnology & Medicine, Tianjin 300457, China;
3. College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China;
4. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Guangxi 530021, China)

【Abstract】 Objective To analyze blood routine in adjuvant arthritis rats. **Methods** Complete Freund's adjuvant-induced arthritis models were established in Wistar rats, and detection of blood routine was carried out by the automatic blood analyzer. **Results** Compared to normal rats, 14 blood test indicators were significantly different in adjuvant-induced arthritis rats. **Conclusion** The leukocytes count was significantly increased in adjuvant-induced arthritis rats, and anemia of chronic disease similar to people rheumatoid arthritis appeared.

【Key words】 Adjuvant arthritis; Rats; Blood routine

大鼠佐剂性关节炎(adjuvant-induced arthritis, AIA)模型是研究类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis,RA)及抗 RA 药效评价常用的一种动物模型[1]。目前,关于 AIA 模型的研究主要集中于探讨关节病理过程与疾病机制,对于关节外的血常规等生理指标的研究较少。本文对 AIA 大鼠的血常规指标进行分析探讨,旨在为 RA 的研究提供参考。现报告如下。

[基金项目]天津市科技计划项目创新园专项(13ZCZDSY03000)。
[作者简介]于飞(1981 -),女,博士,研究方向:药理学。E-mail: yufeitianjin@163.com。
[通讯作者]方珍文(1974 -),女,主管药师,研究方向:药品的生物学评价。E-mail: fzw1116@163.com。

1 材料和方法

1.1 实验材料

完全弗氏佐剂(complete freund's adjuvant, CFA),购于 sigma 公司。SPF 级 Wistar 大鼠,雄性 40 只,体重 200 ±20 g,购于军事医学科学院实验动物中心,SCXK(军)2007 -004。

1.2 佐剂性关节炎模型建立

Wistar 大鼠随机分成对照组和模型组,各 20 只。模型组大鼠右后足趾皮内注射 0.1 mL CFA,对照组大鼠同部位注射等量生理盐水。注射后每隔 4 d 评价关节炎严重程度,评分标准[2]如下:0 分,正常;1 分,踝关节有红斑及轻微肿胀;2 分,踝关节至跖关节或掌关节有红斑及轻微肿胀;3 分,踝关节至掌关节或跖趾关节有红斑及中度肿胀;4 分,踝关节至趾关节有红斑及重度肿胀。每只足趾单独评分,将四肢评分相加作为关节炎评分。建模后第 28 天处死大鼠,取趾关节行病理切片观察。

1.3 血常规分析

注射 CFA 28 d 后,眼静脉取血,EDTA-K_2 抗凝用于血常规分析。血常规分析采用全自动血球分析仪(sysmex XT2000i, Japan)。

1.4 统计方法

本组数据均采用 $\bar{x} \pm SD$ 表示,组间比较采用 t 检验,$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 佐剂性关节炎模型

模型组 Wistar 大鼠注射 CFA 后足爪明显肿胀,出现体重下降、关节变形、皮肤红肿甚至溃烂等症状(彩插 6 图 1A、B)。AIA 大鼠关节炎评分明显高于正常组的评分,差异极显著($P < 0.01$)(表 1)。病理切片观察发现,与正常鼠相比,AIA 大鼠关节结构严重受损,软骨面破坏、局部纤维化,滑膜组织增生,关节腔内有大量炎性细胞浸润(彩插 6 图 1C、1D)。

2.2 血常规分析

AIA 大鼠和正常大鼠的血常规测量结果见表 1。27 个检测指标中,与正常大鼠相比,AIA 大鼠有 14 个指标有显著性差异($P < 0.01$),分别为白细胞分类计数的 WBC、NEUT(%)、LYMPH%、MONO 和网织红细胞的 RET、HFP、MFP、LFP、IFP 以及红细胞的 MCV、MCH、RDW-SD、RDW-CV。

表 1 AIA 大鼠与正常大鼠血常规指标测定结果(n = 10)

Tab. 1 The blood routine results of AIA and control rats (n = 10)

指标 (Indicators)		正常组	模型组
名称(Names)	单位(Units)	(Control)	(Model)
红细胞(RBC)	10^12/L	7.07 ±0.37	7.21 ±0.53
血红蛋白(HGB)	g/L	149.33 ±6.38	143.91 ±10.38
平均血红蛋白量(MCH)	pg	21.13 ±0.29	19.98 ±0.57 **
平均血红蛋白浓度(MCHC)	g/L	331.33 ±4.46	325.86 ±8.69
红细胞积压(HCT)	%	45.10 ±2.43	44.17 ±300
红细胞平均体积(MCV)	fL	63.78 ±0.88	61.34 ±1.32 **
血小板(PLT)	10^9/L	848.67 ±347.55	762.71 ±359.65
平均血小板体积(MPV)	fL	8.02 ±0.12	8.13 ±0.31
血小板压积(PCT)	%	0.68 ±0.28	0.62 ±0.29
血小板分布宽度(PDW)	%	8.80 ±0.78	9.21 ±0.61
大型血小板比率(P-LCR)	%	11.95 ±0.29	9.21 ±0.61
白细胞数(WBC)	10^9/L	12.86 ±1.81	17.55 ±3.27 **
中性细胞数(NEUT)	10^9/L	1.39 ±0.27	4.72 ±1.89 **
中性细胞比例	(%)	11.04 ±2.92	27.06 ±10.23 **
淋巴细胞(LYMPH)	10^9/L	10.77 ±1.88	11.75 ±2.89
淋巴细胞比例	%	83.48 ±2.28	66.88 ±10.56 **
单核细胞(MONO)	10^9/L	0.61 ±0.20	0.94 ±0.23 **
单核细胞比例	%	4.68 ±1.07	5.33 ±1.08
嗜酸性粒细胞(EO)	10^9/L	0.10 ±0.02	0.11 ±0.05
嗜酸性粒细胞比例	%	0.76 ±0.17	0.64 ±0.31
红细胞分布宽度标准差(RDW-SD)	%	29.82 ±1.40	32.55 ±1.48 **
红细胞体积分布宽度变异系数(RDW-CV)	fL	13.28 ±0.78	15.57 ±1.28 **
网织红细胞(RET)	%	0.33 ±0.02	0.43 ±0.08 **
高荧光强度网织红细胞(HFR)	%	50.25 ±1.92	44.40 ±2.78 **
中荧光强度网织红细胞(MFR)	%	16.45 ±0.90	18.55 ±1.27 **
低荧光强度网织红细胞(LFR)	%	33.30 ±1.72	37.05 ±2.54 **
未成熟网织红细胞(IRF)	%	66.70 ±1.72	62.95 ±2.54 **

注:与正常组比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ *vs* control group.

3 讨论

AIA 大鼠模型广泛应用于 RA 研究,对于抗 RA 药物的发现有重要的作用。然而,对于该模型的血常规研究较少,缺乏相关基础数据。

本研究成功建立了 AIA 大鼠模型,外观可见关节变形、皮肤红肿甚至溃烂等症状,并通过病理切片观察到 AIA 大鼠关节结构严重受损。血常规分析发现,AIA 大鼠的白细胞出现明显变化。与正常大鼠比较,AIA 大鼠 WBC、NEUT、LYMPH 和 MONO 均明显上升,差异极其显著性($P < 0.01$),此结果与史智勇等[3]研究结果相似。血液中的单核细胞、淋巴细胞、嗜中性粒细胞等白细胞在趋化因子的作用下游出血管,不断向炎症部位聚集,释放氧自由基、细胞因子等物质,参与 RA 的发展[4]。本研究结果进一步说明,与人类相似,白细胞参与并介导 AIA 大鼠关节炎的形成与发展。在疾病活动期,类风湿性关节炎患者血小板计数会明显升高,甚至达到正常值的 1 ~ 2 倍[5]。与人的类风湿性关节炎不同,本组 AIA 大鼠血小板无明显变化,这可能与 AIA 模型的发病机制和进程不同有关。

MCV、MCH 的显著降低,提示 AIA 大鼠出现慢性病性贫血(anemia of chronic disease, ACD),这与人的类风湿性关节炎相似。贫血是 RA 常见的一种关节外表现,30% 左右的类风湿性关节炎患者会出现 ACD[6],其病理机制较为复杂,主要与细胞因子有关。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α, TNF - α),白介素 - 1(interleukin - 1, IL - 1),白介素 - 6 (IL - 6),干扰素 - γ(interferon - γ, INF - γ)等细胞因子和 NO 等炎症介质可以抑制骨髓红系造血,促进骨髓红系前体细胞凋亡,减少促红细胞生成素的分泌,促使铁代谢异常[7]。研究表明,AIA 大鼠血清及炎症部位的 TNF - α、IL - 1、IL - 6、INF - γ 和 NO 等与 RA 相关的细胞因子及炎症介质均有不同程度的升高[8],提示 AIA 大鼠贫血机制可能与人类相同。网织红细胞出现明显升高,说明 AIA 大鼠的骨髓造血功能增强,进一步提示 AIA 大鼠有类似人类风湿性关节炎的 ACD 症状。

综上所述,AIA 大鼠白细胞明显上升,会出现类似于人类风湿性关节炎的慢性病性贫血。AIA 大鼠可以用于模拟人的类风湿性关节炎伴贫血病。

参考文献:

[1] 刘元刚,刘树滔,饶平凡. 类风湿性关节炎啮齿动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报,2007,15(6):470 - 473.

[2] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:749 - 757.

[3] 史智勇,朱发仁,王风琴,等. 实验性关节炎大鼠的血液常规测定值[J]. 上海实验动物科学,1999,19(3):169 - 171.

[4] Szekanecz Z, Koch AE, Kunkel SL, *et al*. Cytokines in rheumatoid arthritis: potential targets for pharmacological intervention[J]. Drugs Aging, 1998,12:377 - 390.

[5] 白洲霞. 类风湿性关节炎实验室检测指标的分析探讨[J]. 甘肃中医学院学报,2006,23(3):50 - 52.

[6] 李振玲. 类风湿性关节炎贫血机制研究进展[J]. 中日友好医院学报,2005,19(3):175 - 178.

[7] 王亮,卓光生. 类风湿性关节炎血液学改变机制的研究进展[J]. 医学综述,2006,12(4):205 - 206.

[8] 田俊阁,卢伟伟,平立峰. 中药对佐剂性关节炎大鼠细胞因子影响的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(30):3774 - 3776.

〔修回日期〕2013-12-08