

赵海玥,王雅哲,施依璐,等. 多模态超声在类风湿关节炎动物模型中的应用进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 861-866.

Zhao HY, Wang YX, Shi YL, et al. Advances in the application of multimodal ultrasound in animal models of rheumatoid arthritis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(6): 861-866.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.06.017

多模态超声在类风湿关节炎动物模型中的应用进展

赵海玥¹,王雅哲^{2*},施依璐²,段莎莎²,赵捷²,张璐¹,白天昊¹,张小杉^{2*}

(1. 内蒙古医科大学,呼和浩特 010110;2. 内蒙古医科大学附属医院超声科,呼和浩特 010050)

【摘要】 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是以滑膜炎为主要特征的慢性自身免疫性疾病,可导致关节畸形及功能障碍。RA动物模型能很好地模拟疾病发生发展的病理生理过程,广泛用于RA实验研究。多模态超声技术可以定性、定量诊断RA,监测病情变化,评估药物疗效,引导局部给药及靶向治疗,为RA动物模型研究提供精准方法。该文综述了多模态超声在RA动物模型诊疗中的应用情况。

【关键词】 类风湿关节炎;多模态超声;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022)06-0861-06

Advances in the application of multimodal ultrasound in animal models of rheumatoid arthritis

ZHAO Haiyue¹, WANG Yaxi^{2*}, SHI Yilu², DUAN Shasha², ZHAO Jie², ZHANG Lu¹, BAI Tianhao¹, ZHANG Xiaoshan^{2*}

(1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China. 2. Department of Ultrasound, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050)

Corresponding author: ZHANG Xiaoshan. E-mail: 13947133133@163.com; WANG Yaxi. E-mail: ttwangyaxi@163.com

【Abstract】 Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease characterized by synovial inflammation, which can lead to joint deformity and dysfunction. Animal models of RA simulate the pathological and physiological processes of its occurrence and development, and are widely used in RA studies. Multimodal ultrasound technology allows qualitative and quantitative diagnosis of RA, monitors changes in conditions, evaluates drug efficacy, and guides local administration and targeted therapy, providing an accurate evaluation method for research of RA animals. This article reviews the application of multimodal ultrasound in the diagnosis and treatment of RA animal models.

【Keywords】 rheumatoid arthritis; multimodal ultrasound; animal model

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

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种自身免疫性疾病,以侵蚀关节为主要临床表现,可伴有关节外表现,病因尚不明确。在炎性细胞因子

及新生血管共同作用下,滑膜水肿增厚,血管翳形成,进而引起骨质破坏,关节畸形,患者生活质量下降^[1]。因此,尽早检出滑膜血管翳是改善RA预后

【基金项目】 内蒙古科技厅科技计划项目(2019GG081),内蒙古自治区自然科学基金项目(2021MS08018)。

Funded by Inner Mongolia Science and Technology Planning Project (2019GG081), Inner Mongolia Natural Science Foundation Project (2021MS08018).

【作者简介】 赵海玥(1989—),女,硕士研究生,研究方向:蒙药治疗类风湿关节炎机制研究。Email:836494718@qq.com

【通信作者】 张小杉(1979—),男,博士,主任医师,硕士生导师,研究方向:蒙药治疗类风湿关节炎机制研究。

Email:13947133133@163.com;

王雅哲(1982—),女,博士,副主任医师,研究方向:RGD靶向微泡介导UBM评估蒙药抗类风湿关节炎血管新生机制研究。

Email:ttwangyaxi@163.com。

* 共同通信作者

的关键^[2]。随着超声探头工艺和图像处理技术的进步,促进了诊断技术的不断发展及诊断模式的多样化。RA 动物模型能很好地再现疾病发生发展的病理生理过程,可供研究人员寻求潜在的治疗靶点,为临床治疗 RA 奠定基础^[3]。目前,RA 动物实验中常用的超声技术包括灰阶超声、多普勒超声、超声造影、超声生物显微镜、超声引导穿刺活检和关节腔注射及超声靶向破坏技术。上述多种超声技术协同作用互为补充,形成了综合性无创的多模态超声。它是在常规二维超声基础上发展起来的多功能超声检测手段,弥补了单一超声成像模式的不足,为疾病诊断提供更可靠的依据^[4]。本文拟对多模态超声在 RA 动物模型诊疗中的应用进行综述,为 RA 动物实验研究提供影像学评估方法。

1 RA 动物模型

RA 动物模型主要有啮齿类大小鼠、兔类、非人灵长类等。啮齿类动物模型因遗传背景稳定、成本低、易于处理而被广泛应用^[5-6]。RA 模型的制备方法主要有诱导型、转基因型两类^[7]:(1)诱导型关节炎包括胶原诱导型关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)、佐剂诱导型关节炎(adjuvant-induced arthritis, AIA)、链球菌细胞壁诱导型关节炎等^[6]。CIA 的病理学及免疫学发展过程与人 RA 相似度高,适用于机制探索、药物开发等多方面研究^[8];AIA 病理表现与人 RA 相似,价格便宜、制作方便、容易成模,但病变具有一定自限性^[9],故对同一实验组前后对照研究评估药物疗效时需将此因素考虑在内;链球菌细胞壁诱导型关节炎在观察急性反应方面具有优势,但成本较高,且不能在非人灵长类动物中被诱导,应用受限^[10]。(2)转基因型 RA 模型主要有 K/BxN 转基因型、人肿瘤坏死因子(TNF)转基因型和白介素-1 缺陷型(IL-1 $\alpha^{-/-}$)等,是研究 RA 发病机制和分子靶向制剂较好的模型。K/BxN 转基因型小鼠模型发展迅速,可在多种小鼠品系中复制,适合筛选抗关节炎药物及治疗新靶点;TNF 转基因型小鼠表型稳定,进展相对缓慢,适合 TNF- α 等抗体的靶向治疗及相关免疫机制的研究;IL-1 $\alpha^{-/-}$ 转基因型小鼠主要用于全基因组微阵列分析,研究 IL-1 β 在类风湿疾病中的作用^[5-6]。不同的模型,其发病机制不同,应根据实际要解决的科学问题选择合适的模型。

2 多模态超声在 RA 动物模型诊断中的应用

2.1 高频超声

RA 模型在炎性早期表现为皮温升高、关节肿胀、活动受限等。其主要病理生理学改变为关节内滑膜因炎症细胞浸润而出现水肿增厚,在炎性因子及滑膜新生血管共同作用下,形成滑膜血管翳,血管翳侵入关节周围骨组织,导致骨表面连续性中断、缺损及骨质破坏^[11]。高频超声(常用频率为 15 ~ 20 MHz)能实时动态监测病变发展进程。

超声波的发射和接收都是通过超声探头来实现的。灰阶超声利用脉冲-回波的原理,以脉冲波的形式进入人体,在声束路径上遇见不同声阻抗的两个界面会产生反射或散射现象,这样就有部分超声能量返回探头并被接收处理,这部分信号即为回波信号。回波信号由探头转换为电信号后被超声仪进行放大、后处理形成不同灰度等级的图像,即灰阶超声图像。通过分析图像可以获得组织结构与病变信息,因此,灰阶超声可清晰分辨 RA 关节滑膜组织,关节腔积液及骨组织,显示 RA 关节病变的形态学变化。滑膜炎表现为关节腔内增厚的低回声区,形态不规则,探头加压不变形;关节腔积液表现为不规则的无回声区;骨质破坏表现为骨皮质回声粗糙,连续性中断^[12]。于静等^[13]研究显示高频超声诊断滑膜增生和关节腔积液较为准确,与 MRI 诊断结果符合,具有省时、经济成本低等优势,但对软骨及骨的观察尚不满意。马茹等^[14]研究表明高频超声适用于 RA 模型滑膜炎的评估,敏感性优于足趾厚度检测及关节炎评分。灰阶超声可对 RA 模型关节病变严重程度进行定量评估,为 RA 诊断及预后评价提供影像学支持。

多普勒超声可评估滑膜血流,在评估小动物关节疾病中具有重要应用价值^[14]。用于 RA 模型的多普勒超声检查技术包括彩色多普勒血流成像(color doppler flow imaging, CDFI)和能量多普勒成像(power doppler imaging, PDI)。CDFI 利用多普勒频移原理,基于运动目标显示器、自相关技术、彩色数字扫描转换和彩色编码等过程实现血流的彩色成像,并根据红细胞的移动方向、速度及分散情况,调配红、绿、蓝三基色,改变其亮度,叠加在灰阶图像上显示。红色表示血流朝向探头方向,蓝色表示血流背离探头方向,绿色、五彩镶嵌表示湍流。颜色亮度与血流速度呈正比,故 CDFI 可以反映血流

速度和方向的变化,但受检测灵敏度及角度依赖性的影响,检测结果通常会存在较大差异。PDI 提取和显示能量信号强度,其频移能量强度取决于取样中红细胞相对数量的多少,故 PDI 能够显示较完整的血管网,特别是对小血管和低速血流更易显示,且不受角度依赖性的影响,可敏感地反映滑膜内新生血管,在评估 RA 滑膜炎活动性方面应用较多^[15-17]。Liu 等^[18]在研究中指出 PDI 可对滑膜血流进行分级,并量化分析了滑膜新生血管随时间的变化过程,表明 PDI 是监测滑膜血管变化的敏感指标,但 PDI 只能检测到直径大于 100 μm 血管内的血流信号,对微小血管内血流信号的检出效果并不理想。

此外,灰阶超声和多普勒超声可分别对滑膜增生、滑膜血供及骨破坏进行评分,即目前临床应用较多的 Szkudlarek 评分标准^[19]。RA 动物实验研究中参考 Szkudlarek 评分对滑膜血流进行分级:0 分,无血流信号;1 分,少许点状血流信号;2 分,多发点状及条状血流信号,充盈面积小于滑膜总面积的一半;3 分,树枝状、网状血流信号,走行迂曲,出现融合血流,充盈面积大于滑膜总面积的一半。虽然滑膜血供分级被广泛借鉴于 RA 动物研究^[18,20],但超声对 RA 模型骨破坏评估尚未报道,这可能与动物关节小、超声评估困难有关。

2.2 超声造影

超声波遇见小于入射声波的界面会发生散射,散射强弱与散射体大小、形状及周围组织的声阻抗差有关,血液中的有形成分(红细胞、白细胞及血小板等)声阻抗差小,散射很微弱,故超声波通过时,无波反射。超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)是指人为的在血液中加入声阻抗值与血液截然不同的介质(微气泡),增强组织血管内的散射回声,提高信噪比,从而更敏感地反映组织微血管的灌注信息^[21]。CEUS 常用的造影剂 SonoVue,粒径小、分散均匀,稳定性好^[22],可以检测直径 < 50 μm 的毛细血管,能够清晰地显示 RA 滑膜血流灌注情况,在早期诊断滑膜炎方面具有良好的临床应用价值。Liu 等^[20]研究结果指出 CEUS 评估 RA 滑膜新生血管优于 PDI。CEUS 还可通过机器自带的后处理软件,绘制时间-强度曲线,为滑膜灌注提供定量数据^[2,15]。滑膜超声造影可根据国际关节炎分级标准^[23]进行评估:0 级,滑膜无增强;1 级,滑膜轻度增强,增强强度 < 周围组织;2 级,滑膜明显增强,增强

强度 > 周围组织。

除广泛用于临床的 SonoVue,实验中应用的超声造影剂,还包括各种靶向造影剂,即将抗体、多肽等特异性配体连接到微泡上,利用其与炎症部位相应受体的特异性结合,进行 RA 的早期诊断及疗效评估等。Zhao 等^[24]将血管内皮生长因子受体 2 抗体与荧光染料 cy5.5 整合到微泡上,制备多模态靶向造影剂,与炎症病灶中的血管内皮生长因子(vascular epithelial growth factor, VEGF)特异性结合,通过 CEUS 及光学成像系统检测,验证了 VEGF 在 AIA 大鼠关节炎组织中呈高表达,在分子层面上揭示靶病变的炎症变化。

2.3 超声生物显微镜

尽管高频超声在评估 RA 模型具有可行性,允许在整个实验中对同一动物进行对比分析;但由于 RA 模型动物通常体型较小,超声分辨率仍显不足^[17]。超声生物显微镜(ultrasound biomicroscope, UBM)由高频换能器和高分辨率超声仪构成,工作原理与灰阶超声相似,利用探头产生 40 ~ 100 MHz 的脉冲,在一定范围内来回作线性扫描,其反向散射返回能量转换为射频信号,信号按照一定比例被放大、加工、时间增益补偿后形成图像在显示屏上呈现,利用图像灰度、明暗度代表不同组织结构。其探头频率高,分辨力好,故适用于浅表组织成像,临床常用于眼科病变的检测^[25]。在动物模型中,UBM 最早应用于小鼠心脏观察^[26],后续用于 CIA 大鼠模型及小鼠结肠肿瘤的检测^[27]。宋海霞^[28]研究显示 UBM 可清晰地显示增厚的滑膜、新生血管及关节腔积液等,是 RA 实验研究理想的影像学方法。马俊福等^[29]用 UBM 观察温经通络法对 CIA 大鼠疗效的影响,并与病理结果相比较,也证明了 UBM 对 CIA 大鼠早期诊断、病情监测及疗效观察具有较好的应用价值。

3 多模态超声在 RA 动物模型治疗中的应用

3.1 超声引导穿刺活检和关节腔注射

以往实验研究因获取动物病理标本需要处死动物,而造成实验过程中模型需求量较大,超声引导穿刺活检技术可以弥补这一缺陷,实现在活体内连续动态评估 RA 病程及干预后疗效,并以病理评分作为金标准,与超声结果进行相关性分析,从而验证超声评估 RA 的可行性和有效性^[12,18,20,30]。超声引导下关节腔注射给药安全性好,利于药物在局

部吸收,减少全身给药所致的副作用。林娇娇等^[31]研究表明超声引导下关节腔内注射纳米载药颗粒治疗 RA,疗效好且副作用小,在 RA 治疗中具有重要价值。超声引导下关节腔注射实现了精准给药,为实验研究及临床治疗提供了优化方案。

3.2 超声靶向治疗

除用于诊断性研究,微泡还可作为治疗剂,在超声介导的治疗中发挥重要作用^[32]。超声微泡可作为一种良好的递送载体,保护药物分子或基因在运输过程中免受内源性清除,将其靶向传递到病灶区,借助基于超声空化效应及声孔效应等生物物理学特性的超声靶向破坏技术(ultrasound targeted microbubble destruction,UTMD),使其在靶区受控释放,并增加血管的通透性,促进药物进入组织和细胞,提高靶区的药物吸收和生物利用度,减少全身副作用^[33-35]。张焯^[36]研究显示于大鼠膝关节腔内注射携氧紫杉醇脂质微泡,经超声辐照关节(强度 2 w/cm²,时间 30 s),可较好的靶向破坏载药微泡,提高病灶区药物吸收,减轻 CIA 大鼠关节炎。Zhao 等^[37]研究指出,与静脉注射游离甲氨蝶呤(methotrexate,MTX)相比,UTMD 介导的 MTX 脂质微泡受控释放可精确影响炎性病灶,显著提高 RA 疗效。Wang 等^[38]证实了 UTMD 可促进地塞米松磷酸钠靶向脂质体在 RA 协同治疗中的可行性和有效性,指出叶酸偶联的地塞米松磷酸钠靶向脂质体局部释放对 CIA 大鼠具有良好的治疗效果。动物模型的超声靶向治疗,为临床使用新型靶向载药微泡治疗 RA 提供实验依据,使超声靶向治疗有望成为 RA 新的治疗方案。

4 结语

灰阶显像及多普勒技术,可定性、定量诊断 RA,对病情活动性变化进行实时监测;超声造影在检测 RA 早期病变中具有独特的优势;UBM 则可清晰显示 RA 模型的关节病变,适合小型动物及浅表疾病的检测;靶向微泡的应用,实现了在分子影像层面对 RA 的诊断,为超声分子影像早期精准诊断 RA 和药物疗效评估奠定基础。超声引导穿刺实现了对动物实验的连续性观察,减少动物的损耗,更好的模拟 RA 病程;UTMD 实现了靶向控释给药,提高局部疗效的同时减少全身副作用,为 RA 治疗的机制研究和疗效验证起到推动和促进作用,为临床应用奠定基础。故多模态超声在 RA 动物实验中具

有便捷、实时监测、准确性及定量等优势,在 RA 早期诊断、病情监测及药效评价方面意义重大,是 RA 动物实验研究中重要的影像学方法,具有实用价值。

参 考 文 献 (References)

- [1] Deng C, Zhang Q, He P, et al. Targeted apoptosis of macrophages and osteoclasts in arthritic joints is effective against advanced inflammatory arthritis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 2174.
- [2] 赵敏,王雅哲,段莎莎,等. 类风湿性关节炎滑膜增生的影像学评价方法 [J]. *中国医学影像学杂志*, 2021, 29(9): 952-956.
Zhao M, Wang YX, Duan SS, et al. Imaging evaluation methods of rheumatoid arthritis synovial hyperplasia [J]. *Chin J Med Imaging*, 2021, 29(9): 952-956.
- [3] Bessis N, Decker P, Assier E, et al. Arthritis models: usefulness and interpretation [J]. *Semin Immunopathol*, 2017, 39(4): 469-486.
- [4] 杨军. 发展中的多模态超声心动图 [J]. *中国临床医学影像杂志*, 2020, 31(3): 153, 158.
Yang J. Developing multimodal echocardiography [J]. *J Chin Clin Med Imag*, 2020, 31(3): 153, 158.
- [5] 李利青,张逢,彭馥芝,等. 类风湿关节炎实验性动物模型研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(11): 1492-1497.
- [6] Li LQ, Zhang F, Peng FZ, et al. Advances on experimental models of rheumatoid arthritis [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2021, 37(11): 1492-1497.
- [7] Choudhary N, Bhatt LK, Prabhavalkar KS. Experimental animal models for rheumatoid arthritis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2018, 40(3): 193-200.
- [8] 夏晴,纪羽婷,刘海亮,等. 类风湿关节炎动物模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(11): 107-113.
Xia Q, Ji YT, Liu HL, et al. Research progress on animal models of rheumatoid arthritis [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30 (11): 107-113.
- [9] Kannan K, Ortmann RA, Kimpel D. Animal models of rheumatoid arthritis and their relevance to human disease [J]. *Pathophysiology*, 2005, 12(3): 167-181.
- [10] 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.
Liu YG, Liu ST, Rao PF. Recent advances in research on rodent models of rheumatoid arthritis [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2007, 15(6): 470-473.
- [11] Bevaart L, Vervoordeldonk MJ, Tak PP. Evaluation of therapeutic targets in animal models of arthritis: how does it relate to rheumatoid arthritis? [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62 (8): 2192-2205.
- [12] Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review [J]. *JAMA*, 2018, 320(13): 1360-1372.

- [12] Gong Y, Huang Y, Su Y, et al. Value of contrast-enhanced ultrasonography in evaluating rheumatoid arthritis: preliminary research based on an animal model [J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27; e931327.
- [13] 于静, 聂宏娟, 王泽, 等. 超声对类风湿关节炎动物模型早期诊断价值的研究 [J]. *中国药物与临床*, 2014, 14(8): 1056–1058.
Yu J, Nie HJ, Wang Z, et al. Study on the value of ultrasound in early diagnosis of rheumatoid arthritis animal model [J]. *Chin Remedies Clin*, 2014, 14(8): 1056–1058.
- [14] 马茹, 陈冬雪, 鄢泽然, 等. 补肾祛寒治尪汤联合甲氨蝶呤对大鼠胶原诱导性关节炎模型的抗炎作用研究 [J]. *上海中医药杂志*, 2021, 55(4): 85–91.
Ma R, Chen DX, Yan ZR, et al. Research on anti-inflammatory effect of kidney-supplementing cold-dispelling Zhiwang Decoction combined with methotrexate on CIA model rats [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2021, 55(4): 85–91.
- [15] 张淑娟, 杨光, 王辉. 高频超声及超声造影对大鼠类风湿关节炎模型早期滑膜改变的研究 [J]. *中国超声医学杂志*, 2018, 34(12): 1134–1136.
Zhang SJ, Yang G, Wang H. The research of high frequency ultrasound and contrast enhanced ultrasound in the early stage of rheumatoid arthritis in rats [J]. *Chin J Ultrasound Med*, 2018, 34(12): 1134–1136.
- [16] 吴长洁, 王亚辉, 华兴, 等. 超声造影动态评价兔类风湿关节炎模型炎症活动性的价值 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(11): 984–990.
Wu CJ, Wang YH, Hua X, et al. Dynamic evaluation of inflammation activity in rheumatoid arthritis rabbits using contrast-enhanced ultrasound [J]. *J Third Mil Med Univ*, 2018, 40(11): 984–990.
- [17] Clavel G, Marchiol-Fourmignault C, Renault G, et al. Ultrasound and Doppler micro-imaging in a model of rheumatoid arthritis in mice [J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67(12): 1765–1772.
- [18] Liu H, Chen S, Huang C, et al. Longitudinal changes in knee joint synovial vascularity in a rabbit model of rheumatoid arthritis: quantification using power Doppler ultrasound and contrast-enhanced ultrasound [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2021, 47(8): 2430–2441.
- [19] Szkudlarek M, Court-Payen M, Jacobsen S, et al. Interobserver agreement in ultrasonography of the finger and toe joints in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(4): 955–962.
- [20] Liu H, Huang C, Chen S, et al. Value of contrast-enhanced ultrasound for detection of synovial vascularity in experimental rheumatoid arthritis: an exploratory study [J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(11): 5740–5751.
- [21] 王博冉, 乔春梅, 李春歌, 等. 多模态超声检查技术及超声评分方法在类风湿性关节炎中的应用 [J]. *中华医学超声杂志(电子版)*, 2021, 18(3): 330–333.
Wang BR, Qiao CM, Li CG, et al. Application of multimodal ultrasound and ultrasound scoring in rheumatoid arthritis [J]. *Chin J Med Ultrasound Electron Ed*, 2021, 18(3): 330–333.
- [22] Kotopoulos S, Popa M, Mayoral Safont M, et al. SonoVue[®] vs. sonazoid[™] vs. optison[™]: which bubble is best for low-intensity sonoporation of pancreatic ductal adenocarcinoma? [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(1): 98.
- [23] Klauser A, Demharter J, De Marchi A, et al. Contrast enhanced gray-scale sonography in assessment of joint vascularity in rheumatoid arthritis: results from the IACUS study group [J]. *Eur Radiol*, 2005, 15(12): 2404–2410.
- [24] Zhao C, Zhang R, Luo Y, et al. Multimodal VEGF-targeted contrast-enhanced ultrasound and photoacoustic imaging of rats with inflammatory arthritis: using dye-VEGF-antibody-loaded microbubbles [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2020, 46(9): 2400–2411.
- [25] Zhu Y, Fang L, Zhong Y, et al. Clinical and ultrasound biomicroscopic characteristics of congenital fibrovascular pupillary membrane-induced secondary *Glaucoma* [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 763137.
- [26] Turnbull DH, Bloomfield TS, Baldwin HS, et al. Ultrasound backscatter microscope analysis of early mouse embryonic brain development [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92(6): 2239–2243.
- [27] de Oliveira RP, Baptista RP, Martins C, et al. 3-D endoluminal ultrasound biomicroscopic imaging and volumetry of mouse colon tumors [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2021, 47(10): 2990–3001.
- [28] 宋海霞. 超声生物显微镜在早期类风湿性关节炎实验研究中的应用 [D]. 广州: 南方医科大学; 2014.
Song HX. Evaluation of UBM in experiment study of early rheumatoid arthritis [D]. Guangzhou: Southern Medical University; 2014.
- [29] 马俊福, 侯秀娟, 刘小平, 等. 超声生物显微镜对温经通络法干预胶原诱导性关节炎大鼠滑膜增生的研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(9): 2285–2289.
Ma JF, Hou XJ, Liu XP, et al. Observation on synovial hyperplasia of CIA rats intervened by Wenjing Tongluo therapy by applying ultrasound biomicroscopy [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2017, 35(9): 2285–2289.
- [30] Li S, Su L, Lv G, et al. Ultrasound guided intra-articular injection of triptolide-loaded solid lipid nanoparticle for treatment of antigen-induced arthritis in rabbits [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 824015.
- [31] 林娇娇, 苏立阳, 曾雅婷, 等. 超声引导下腔内注射雷公藤甲素纳米粒治疗兔类风湿性关节炎的实验研究 [J]. *临床超声医学杂志*, 2021, 23(7): 483–487.
Lin JJ, Su LY, Zeng YT, et al. Experimental study of ultrasound-guided intra-articular injection of triptolide nanoparticle on rabbit rheumatoid arthritis [J]. *J Clin Ultrasound Med*, 2021, 23(7): 483–487.
- [32] Köse G, Darguzyte M, Kiessling F. Molecular ultrasound imaging [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10(10): 1935.
- [33] Li H, Zhang Y, Shu H, et al. Highlights in ultrasound-targeted microbubble destruction-mediated gene/drug delivery strategy for

- treatment of malignancies [J]. *Int J Pharm*, 2022, 613: 121412.
- [34] Duan L, Yang L, Jin J, et al. Micro/nano-bubble-assisted ultrasound to enhance the EPR effect and potential theranostic applications [J]. *Theranostics*, 2020, 10(2): 462-483.
- [35] Ingram N, McVeigh LE, Abou-Saleh RH, et al. Ultrasound-triggered therapeutic microbubbles enhance the efficacy of cytotoxic drugs by increasing circulation and tumor drug accumulation and limiting bioavailability and toxicity in normal tissues [J]. *Theranostics*, 2020, 10(24): 10973-10992.
- [36] 张焯. 超声介导携氧载紫杉醇脂质微泡对大鼠类风湿关节炎的实验研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学; 2016.
- Zhang Y. Effect of ultrasound-mediated oxygen and paclitaxel-loaded lipid microbubbles on rheumatoid arthritis rats [D]. Chongqing: Chongqing Medical University; 2016.
- [37] Zhao Z, Lin X, Zhang L, et al. Lipidated methotrexate microbubbles: a promising rheumatoid arthritis theranostic medicine manipulated via ultrasonic irradiation [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2021, 17(7): 1293-1304.
- [38] Wang L, Zhu B, Huang J, et al. Ultrasound-targeted microbubble destruction augmented synergistic therapy of rheumatoid arthritis via targeted liposomes [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(24): 5245-5256.
- [收稿日期] 2022-03-15

孕鼠免疫新冠灭活疫苗和免疫后感染对子代小鼠行为学的影响

严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)引起的 SARS-CoV-2 肺炎的大流行已经给全球公共卫生和医疗系统带来了巨大的压力和灾难性后果。孕妇感染新型冠状病毒后罹患重症的风险较高,不仅可能导致早产、流产等不良妊娠结局,还可能增加婴儿产后感染的概率,但是出于对孕妇和胎儿的保护,新冠灭活疫苗的研发未将孕妇列入 III 期临床试验。由于新冠灭活疫苗是一款全新的疫苗,有关其在妊娠期的安全性和有效性的数据有限,导致孕妇对接种疫苗心存顾虑,而动物疾病模型的相关研究可以为临床上孕妇及育龄期女性接种新冠灭活疫苗提供参考。

来自中国医学科学院医学实验动物研究所的研究人员,结合前期的研究结果:孕鼠接种新冠疫苗后能够产生免疫反应,孕鼠免疫和免疫后感染其子代生长发育未表现出异常,出生时的组织病理学结果显示子代主要脏器包括后代小鼠大脑、脑干发育均未见明显异常,进一步研究了孕鼠免疫和免疫后感染对子代行为学的影响。本实验以 SARS-CoV-2 易感的 hACE2 孕鼠为研究对象,结果显示在旷场实验及 Morris 水迷宫实验中,F1 代成年后自由活动未受影响,并且具有良好的空间参考和学习记忆能力,提示 FO 代免疫和免疫后感染,其 F1 代成年后行为学能力未受影响,罹患神经精神疾病的风险未增加。

综上所述,本实验以 SARS-CoV-2 易感的 hACE2 孕鼠为研究对象,通过旷场实验和 Morris 水迷宫实验研究 F1 代小鼠成年后的自由活动行为、空间参考和学习记忆能力,旨在为临床上孕妇及育龄期女性接种新冠灭活疫苗提供参考。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Models and Experimental Medicine*, 2022, 5(5): 430-435; <https://doi.org/10.1002/ame2.12261>)。