

· 综 述 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.10.025

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1097.R.20221228.1922.021.html>(2022-12-29)

强直性脊柱炎动物模型研究进展*

王友志¹, 张景艺¹综述, 梅玉峰^{2△}, 李 军²审校

(1. 陕西中医药大学, 陕西咸阳 712046; 2. 西安交通大学附属红会医院风湿免疫关节矫形科, 西安 710054)

[摘要] 强直性脊柱炎(AS)是一种中轴关节受累的自身免疫性疾病,可影响外周器官,如肠道、皮肤等,其主要病理特征为附着点炎、骨破坏和新骨形成,目前发病机制尚不清楚。AS 的人体脊柱等标本获取困难,因此动物模型在 AS 的研究至关重要,能够模拟 AS 患者疾病特点的动物模型成为了深入研究 AS 发生、发展机制及疗法的良好载体。该文主要介绍转基因、炎症诱导及基因层面的 AS 实验动物模型研究进展,为 AS 发生机制及治疗靶点的研究提供新的思路和方法。

[关键词] 脊柱炎,强直性;模型,动物;人类白细胞抗原 B27;炎症;综述

[中图分类号] R593.23 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)10-1565-05

Research progress in ankylosing spondylitis animal models*

WANG Youzhi¹, ZHANG Jingyi¹, MEI Yufeng^{2△}, LI Jun²

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712046, China; 2. Department of Rheumatology and Immune Joint Surgery, Honghui Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710054, China)

[Abstract] Ankylosing spondylitis (AS) is an autoimmune disease involving the central axis and surrounding joints, which can affect peripheral organs such as the intestines and skin, etc. The main pathological features are enthesitis, bone destruction and new bone formation, and the pathogenesis is currently unclear. It is difficult to obtain samples such as human spine of AS, so animal models play an important role in the study of AS. Animal models that can simulate the disease characteristics of AS patients has become a good carrier for in-depth study of the occurrence, development mechanism and treatment of AS. This paper mainly introduced the research progress of transgenic, inflammation induced and genetically level laboratory animal models for AS, in order to provide new ideas and methods for the study of the pathogenesis and therapeutic targets of AS.

[Key words] spondylitis, ankylosing; models, animal; human leukocyte antigen B27; inflammation; review

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是由多种免疫因素导致的一种常见慢性炎症性血清阴性自身免疫病。据估算,AS 的全球发病率为 0.2%~1.4%^[1]。全球 90%~95% 的 AS 患者被证明与人类白细胞抗原 B27 (human leukocyte antigen B27, HLA-B27)及白细胞介素 23 受体(interleukin 23 receptor, IL-23R)有关^[2]。AS 主要累及中轴骨骼和骶髂关节,严重者发生关节畸形、脊柱融合呈“竹节样”改变,可同时伴有皮肤银屑病、心血管疾病、前葡萄膜炎、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)等关节外表现^[3-4],目前 AS 的病因及发病机制仍不清楚。因此,动物模型对 AS 发病机制的研究具有重要意义。由于 AS 的人体组织获取非常困难,通过研究动物模型,对了解脊柱关节炎等疾病的复杂机制可能

会有所裨益。目前已经开发出许多模型,且用于研究易患脊柱关节炎遗传相关作用的居多,易患基因主要包括 HLA-B27 和与 IL-23/IL-17 相关的基因^[3]。随着 AS 研究的不断进展,各国学者分别探索并构建了若干种 AS 动物模型,这些动物模型不仅可以研究疾病的发生机制,还可以研究可能存在的治疗靶点,为治疗提供新的思路和方法。本文主要就转基因、炎症诱导及基因层面的 AS 实验动物模型研究进展作一综述。

1 HLA-B27 转基因动物模型

HLA-B27 发现已经近 50 年,但 HLA-B27 导致 AS 发病的机制仍未研究清楚。AS 具有高度遗传性,同卵双胞胎同时发病率约为 50%。一级和二级亲属的受累率分别为 8.2% 和 1.0%^[5-6]。HLA-B27 是一种由 I 类主要组织相容复合体(MHC)等位基因编码

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81672172)。 作者简介:王友志(1998-),在读硕士研究生,主要从事风湿免疫关节方向的研究。

△ 通信作者, E-mail: bee777@sina.com。

的人类白细胞表面抗原,主要作用是向 T 淋巴细胞提呈内源性抗原,即让 T 淋巴细胞能够特征性地杀伤组织^[6]。HLA-B27 与 AS 相关的分子基础仍未得到解释,在过去的 20 年里学界提出了一些假说,包括:(1)在内质网的合成过程中,HLA-B27 的重链延长致错误折叠,引起了未折叠的蛋白反应,导致 IL-23 释放;(2)HLA-B27 呈递自身关节源性肽与 CD8⁺ T 淋巴细胞结合,诱导免疫反应的发生,也可能是细胞表面表达的异常重链同源二聚体的形成^[7],它们可能与杀伤细胞和 CD4⁺ T 淋巴细胞表达的杀伤免疫球蛋白样受体相互作用,这两种细胞都可以引发炎症反应。最新的假说为包括 HLA-B27 在内的 MHC 分子促使肠道微生物群重塑,作为疾病易感性的媒介^[5]。这些假说都不能完美阐述 HLA-B27 与 AS 的关系,但是无论 HLA-B27 的分子作用如何,它都与抗原细胞的提呈有关。

1.1 HLA-B27/人 β 2m-微球蛋白(h β 2m)双转基因大鼠模型

1990 年 HAMMER 等^[8]将 HLA-B* 2705 基因中相对分子质量 6.5×10^3 的 EcoR I 片段与 h β 2m 基因中相对分子质量 15×10^3 的 Sall-PvuII 片段显微注射进 Lewis(LEW)系大鼠受精卵内,建立了双转基因大鼠模型,并用免疫荧光法和流式细胞仪检测模型鼠外周血淋巴细胞表达,结果表明:LEW 系的 21-4H 大鼠和 F344 系的 33-3 大鼠更适合建立模型。HLA-B27 和 h β 2m 过表达导致了自发性炎症疾病。重要的是,它依赖于 HLA-B27 和 h β 2m 转基因的拷贝数,双转基因数目多的大鼠自发地发生外周关节炎、结肠炎和脊柱关节炎,但是缺少常见的关节外表现,而双转基因数较少的大鼠则保持健康^[3]。另外还得出了 HLA-B27 错误折叠与肠道炎症有关^[9]。此模型鼠的主要症状表现为附着点炎、骶髂关节炎、胃肠炎症、前葡萄膜炎、皮肤银屑病、趾的过度角化、心肌炎症、雄性睾丸炎等外周表现^[8,10]。最近 VAN TOK 等^[11]研究发现,先天免疫激活可诱发 HLA-B27/h β 2m 双转基因大鼠实验性脊柱炎,而且组织学检测发现,先天免疫激活不仅可引起炎症,还可引起关节破坏和新骨形成;在脊柱中,检测到 HLA-B27/h β 2m 双转基因大鼠椎间盘周围炎症细胞浸润、椎体终板破坏、骨膜新骨形成。此外,ARAÚJO 等^[12]研究发现,在疾病发作前给予小剂量 IL-2 对促进该模型 Treg 细胞的产生有一定的效果;经 IL-2 处理后,脾脏 Treg 细胞百分率略有增加,但肠系膜和外周淋巴均无明显变化。并且,ERMOZA 等^[13]研究发现,该大鼠模型耐受性 XCR1⁺ cDC 亚群在脾、肠系膜淋巴结、结肠黏膜固有层百分比降低,认为 XCR1⁺ DCs 亚群比例降低及其促进 Treg 分化的能力受损可能导致辅助性 T 淋巴细胞 17(Th17)异常扩张和慢性炎症,XCR1⁺ 树突状细胞比例失衡影响该大鼠模型的炎症控制。目前该模型仍是最受欢迎的模型之一,它与 AS 的临床表现极为相似,但该模型仍有造模时间长、技术困难、操作复杂、价格昂贵、与人临床表现差异大等缺点,不能满足当前研究的需

要。而小鼠具有成本低、体积小、转基因等优势,因此常常选用小鼠研究。

1.2 HLA-B27/鼠 β 2m-转基因小鼠模型

1995 年 KHARE 等^[14]将转基因 HLA-B27 阳性小鼠与 β 2m^{-/-} 小鼠杂交获得 HLA-B27⁺ β 2m^{-/-} 小鼠,并用 PCR 法检测其 HLA-B27 和 β 2m。这类小鼠雄性发病率明显高于雌性。但是,该表型似乎针对小鼠的遗传背景,而不是针对 HLA-B27 分子转基因。与 HLA-B27/h β 2m 双转基因大鼠相比,该小鼠在无特殊病原体(SFP)环境下不发病,只有转移到普通环境下小鼠才出现病变^[14]。模型鼠表现出双后足关节炎、踝和足跗骨关节炎症、软骨关节软骨融合及关节强直。该小鼠与 AS 临床表现部分类似,但发病未累计中轴关节,不适宜研究。

2 炎症导致的动物模型

2.1 BALB/c ZAP-70W163C 突变(SKG)Curdlan 诱导的 AS 模型

由于缺少慢性自身免疫性关节炎非 T 淋巴细胞抗原受体(TCR)转基因动物模型,导致诱导缓解治疗的临床前研究受阻,因而建立了 SKG 小鼠模型。SKG 小鼠是 TCR 酪氨酸蛋白激酶 ZAP-70SH2 区 C 端 W163C 基因突变的 BALB/c 小鼠^[15]。SKG 小鼠自身免疫性关节炎其中的一个基本特征是自身反应性 T 淋巴细胞不破坏滑膜细胞,反而刺激滑膜增殖,这可能是由滑膜细胞对各种刺激的高敏感性导致的。因此,SKG 小鼠的自身免疫性关节炎很可能是自身反应性 T 淋巴细胞对滑膜细胞的炎性刺激作用导致。虽然在 SFP 条件下饲养的 SKG 小鼠保持健康,但微生物 β -葡聚糖及其细菌/真菌细胞壁功能同源的部分会激活 Dectin-1 信号通路并诱导 SKG 小鼠发生炎症性关节炎^[16]。与健康 BALB/c 小鼠相比,SKG 小鼠胸腺中高成熟 TCR 胸腺细胞的数量和比例减少,未成熟 TCR 胸腺细胞数量和比例增加,在两种小鼠中成熟胸腺细胞及外周 T 淋巴细胞的 TCR 表达水平相当^[15]。向 SKG 小鼠腹腔注射酵母多糖^[17]、 β -1,3-葡聚糖^[18]均可诱导此模型。诱导后的 SKG 小鼠可出现双后爪脚趾软组织肿胀、耳鼻眼周围发红、踝关节水肿和周围炎症细胞浸润、关节间隙和关节外组织扩张、跟腱周围组织炎症、关节椎间盘和椎间韧带附着处浸润大量炎症细胞等表现^[17],关节外表现出 IBD、前葡萄膜炎及皮肤银屑病^[18]。另外,鼠衣原体也可诱导 SKG 小鼠发生关节炎^[19]。LAU 等^[20]发现诱导后的 SKG 小鼠约 2 个月龄时出现明显的关节肿胀,最初出现在两前爪的指间关节,然后发展到前爪和后爪的其他手指关节及更大的关节,到 6 个月龄时大多数 SKG 小鼠出现关节僵硬,骨骼和关节的放射学检查显示软骨丧失,软骨下骨破坏和融合、关节脱位并伴随骨质疏松症发生等特征,关节外表现包括间质性肺炎、皮炎、血管炎和类风湿性结节样病变的形成,以及类似于人类脊柱关节炎的分子变化,提示该模型是反映人类脊柱关节炎复杂特征的良好动物模型之一。

2.2 蛋白聚糖诱导 BALB/c 小鼠模型

用蛋白聚糖对关节炎易感的 BALB/c 和抗炎的 DBA/2 小鼠及其 F1、F2 代反复免疫可以建立此蛋白聚糖诱导 BALB/c 小鼠模型^[21-22]。蛋白聚糖是一种特殊的糖蛋白,存在于细胞外基质和细胞内分泌颗粒内,可由抗原分离获得。这种小鼠初期出现外周的关节炎症状,晚期出现脊柱关节炎症状^[21-22]。该小鼠与临床 AS 疾病发展极为类似,对研究脊柱炎的自身免疫和定位脊柱关节病的遗传位点很有价值。

2.3 肿瘤坏死因子(TNF)相关的小鼠模型

TNF 最初被认为是导致肿瘤坏死的细胞因子,但后来被确定为炎症反应调节的关键细胞因子^[23],在各种骨性关节炎和 IBD 的病理机制中起关键作用^[24]。AU 序列富含元件(ARE)是一种功能性调节 mRNA 稳定的序列,现在较清楚的序列为 AUUU-UA^[25]。通过删除小鼠 3'端非翻译区(3'UTR)中富含 AU 的元素来过度表达 TNF,会导致脊柱关节炎、骶髂关节炎、附着点炎、克罗恩病样 IBD 和主动脉瓣炎症的发展^[26]。TNF^{ΔARE}模型是在特异条件下敲除小鼠染色体中 ARE 序列,从而导致 TNF mRNA 调节异常,内源性 TNF 表达明显增加。该小鼠早期出现骶髂关节炎、脊柱关节炎、IBD 及附着点炎^[24]。在脊柱关节炎中,跨膜型 TNF(tmTNF)在滑膜中的表达比在类风湿关节炎高,这可能与解聚素-金属蛋白酶 17(ADAM17)活性降低有关。基质细胞表达的 tmTNF 为外周关节炎所必需,并且脊柱关节炎中基质细胞表达的 tmTNF 比造血细胞表达的 tmTNF 更具致病性^[27]。TNF^{ΔARE}小鼠模型表明了 TNF 在 AS 中致骨赘形成、关节强直的作用。研究表明,TNF 抑制剂能改善 AS 患者症状^[28]。最近研究发现,TNF 抑制剂可长期改善疾病活动的各个方面及 AS 患者的身体功能^[29]。TNF^{ΔARE}小鼠有助于了解 TNF 在 AS 发生过程中的作用机制,并探究 TNF 作为潜在治疗靶点的可能性。

2.4 附着点炎动物模型

2.4.1 自发性 DBA/1 小鼠模型

1902 年有学者建立了 DBA 小鼠,并通过近交筛选获得 DBA/1 小鼠。从 12 周开始到 26 周龄 DBA/1 模型关节炎小鼠几乎全部发病,出现附着点成纤维细胞增殖,表现为滑膜炎、软骨损伤及关节强直等^[30]。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein,BMP)是发育调节因子,诱导软骨和骨骼的形成。有报道称,将含有 BMP 拮抗剂 noggin 基因的载体注射到胫骨前肌中,可明显抑制 DBA/1 雄性小鼠强直性附着点炎的发生^[31],这一结果表明 BMP 信号在疾病过程中起着重要作用。DBA/1 小鼠模型为自发性的,适宜用于 AS 病理性新骨形成方面的研究,且造模方法简单。

2.4.2 BXSB 雌性小鼠和 NZB 雄性小鼠杂交(BXSB×NZB)F1 代小鼠模型

(BXSB×NZB)F1 代小鼠有很高的概率发生强直性附着点炎。此外,该 F1 代小鼠的自发性关节炎发

生率要远高于 DBA/1 小鼠,自发性地四肢发生多发性关节炎,并以雄性为主^[31]。尽管该小鼠仅在踝关节发病,脊柱关节不受影响,但对了解脊柱关节病发病的遗传、环境和分子机制很有帮助,可为临床防治提供新思路。

2.4.3 进行性强直小鼠模型

进行性强直基因(ANK)能表达将细胞内焦磷酸根(PPi)转运到细胞外环境的蛋白^[32]。ANK 在骨稳态和骨折愈合中起着重要作用。进行性强直小鼠是非 MHC 遗传类型的小鼠模型,其特点是常染色体 ANK 单基因隐性^[33]。该模型以关节及关节周围组织纤维化和骨化为特征表现,导致脊柱疼痛和关节僵化,关节外表现为亚临床结肠炎。ANK 基因突变导致细胞内焦磷酸盐结晶增加,细胞外焦磷酸盐结晶减少。尽管在临床上 AS 和进行性强直小鼠有部分共同的组织病理学特征,如骨赘和骨融合,但进行性强直不属于免疫介导疾病^[34-35]。最近研究发现,缺乏功能性 ANK 蛋白的成年进行性强直小鼠的骨髓脂肪变性增加^[32]。

3 其他动物模型

3.1 MRL/MpJ-lpr/lpr(MRL/lpr)小鼠模型

MRL/MpJ-lpr/lpr(MRL/lpr)小鼠模型是研究 AS 常用的杂交鼠模型。Fas 基因表达一种介导多种免疫细胞死亡信号的受体,Fas 基因有害性突变在人类和小鼠中都会导致先天性淋巴增生,有条件地表现为肾小球肾炎、系统性血管炎和关节炎^[36]。MORI 等^[36]研究发现,(MRL/rpl×C3H/lpr)杂交第 1、2 代小鼠关节病变主要累及踝关节,以踝关节明显的增生和软骨细胞骨化为组织病理学特征。该杂交小鼠适宜人类 AS 的遗传、环境及相关分子机制的研究,是良好的动物模型但不易获取。

此外,还有构建免疫缺陷动物模型对 AS 进行研究。免疫缺陷小鼠是分析免疫原性分子机制的常用模型^[37],但大鼠更适合进行大体实验,且能更好地反映人体中 AS 的特征。Il2rg 缺陷大鼠与 Rag1 缺陷大鼠杂交获得的 RRG 动物对 AS 的免疫原性治疗研究很有帮助。

3.2 选择性 A20 缺陷小鼠模型

A20 蛋白是 TNF-α 诱导蛋白 3(TNFAIP3)基因表达产物,是一种强抗炎剂,可调节核因子-κB(NF-κB)转录并限制其激活,以抑制炎症反应。人类 A20 基因中的单核苷酸多态与多种炎症性疾病,如系统性红斑狼疮、克罗恩病和银屑病有关,表明 A20 功能异常与人类自身免疫性疾病有关。A20 缺乏会导致小鼠自发的严重关节炎,且树突状细胞中选择性的 A20 缺乏会导致类似脊柱关节炎的症状,包括中轴关节炎和 IBD^[38]。A20 缺陷小鼠表明,依赖 A20 的树突状细胞控制 T 淋巴细胞在免疫稳态和脊柱关节炎中有关键作用^[39]。目前,在缺乏 A20 的情况下 T 淋巴细胞信号异常对疾病发病机制的影响尚不清楚。

综上所述,遗传和感染因素在 AS 的病理发展过

程中起重要作用。HLA-B27 基因动物模型主要用于对 AS 基因方面的研究,炎症相关的动物模型则侧重于免疫炎症的研究。尽管目前研究中使用的动物模型被广泛接受,但其临床表现和病理过程与人类疾病不完全相同。不同的动物模型模拟了疾病的不同临床表现和组织病理结构,至今为止尚未构建出一种能够完全模拟 AS 的动物模型。为了进一步对 AS 发生机制和治疗药物筛选进行研究,需要建立遗传、环境与人类更为相似的动物模型。

参考文献

- [1] MA S, WANG D D, MA C Y, et al. microRNA-96 promotes osteoblast differentiation and bone formation in ankylosing spondylitis mice through activating the Wnt signaling pathway by binding to SOST[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(9):15429-15442.
- [2] ZHANG T, YU L, SHAO M, et al. Associations between IL-23R gene polymorphism (rs10889677 A/C) and ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis susceptibility: a meta-analysis with trial sequential analysis[J]. Autoimmunity, 2022, 55(6):1-10.
- [3] BREBAN M, GLATIGNY S, CHERQAOUI B, et al. Lessons on SpA pathogenesis from animal models[J]. Semin Immunopathol, 2021, 43(2):207-219.
- [4] TAITT H A, BALAKRISHNAN R. Spondyloarthritides[J]. Emerg Med Clin North Am, 2022, 40(1):159-178.
- [5] BARNEA E, MELAMED K D, HAIMOVICH Y, et al. The HLA-B27 peptidome in vivo in spondyloarthritis-susceptible HLA-B27 transgenic rats and the effect of ERAP1 deletion[J]. Mol Cell Proteomics, 2017, 16(4):642-662.
- [6] KENYON M, MAGUIRE S, RUEDA PUJOL A, et al. The genetic backbone of ankylosing spondylitis: how knowledge of genetic susceptibility informs our understanding and management of disease[J]. Rheumatol Int, 2022, 42(12):2085-2095.
- [7] LIM KAM SIAN T C C, INDUMATHY S, HALIM H, et al. Allelic association with ankylosing spondylitis fails to correlate with human leukocyte antigen B27 homodimer formation[J]. J Biol Chem, 2019, 294(52):20185-20195.
- [8] HAMMER R E, MAIKA S D, RICHARDSON J A, et al. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human β 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders[J]. Cell, 1990, 63(5):1099-1112.
- [9] GUGGINO G, MAURO D, RIZZO A, et al. Inflammasome activation in ankylosing spondylitis is associated with gut dysbiosis[J]. Arthritis Rheumatol, 2021, 73(7):1189-1199.
- [10] ROMERO-LÓPEZ J P, ELEWAUT D, PACHECO-TENA C, et al. Inflammatory foot involvement in spondyloarthritis: from tarsitis to ankylosing tarsitis[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8:730273.
- [11] VAN TOK M N, SATUMTIRA N, DORRIS M, et al. Innate immune activation can trigger experimental spondyloarthritis in HLA-B27/hu β 2m transgenic rats[J]. Front Immunol, 2017, 8:920.
- [12] ARAUJO L M, JOUHAULT Q, FERT I, et al. Effects of a low-dose IL-2 treatment in HLA-B27 transgenic rat model of spondyloarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2021, 23(1):193.
- [13] ERMOZA K, GLATIGNY S, JAH N, et al. To-le-rogenic XCRI⁺ dendritic cell population is dys-regulated in HLA-B27 transgenic rat model of spondyloarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2019, 21(1):46.
- [14] KHARE S D, LUTHRA H S, DAVID C S. Spontaneous inflammatory arthritis in HLA-B27 transgenic mice lacking β 2-microglobulin: a model of human spondyloarthropathies[J]. J Exp Med, 1995, 182(4):1153-1158.
- [15] YOSHITOMI H, SAKAGUCHI N, KOBAYA SHI K, et al. A role for fungal β -glucans and their receptor Dectin-1 in the induction of autoimmune arthritis in genetically susceptible mice[J]. J Exp Med, 2005, 201(6):949-960.
- [16] TABUCHI Y, KATSUSHIMA M, NISHIDA Y, et al. Oral dextran sulfate sodium administration induces peripheral spondyloarthritis features in SKG mice accompanied by intestinal bacterial translocation and systemic Th1 and Th17 cell activation[J]. Arthritis Res Ther, 2022, 24(1):176.
- [17] JEONG H, BAE E, KIM H, et al. Spondyloarthritis features in zymosan-induced SKG mice[J]. Joint Bone Spine, 2018, 85(5):583-591.
- [18] NAKAMURA A, ZENG F, NAKAMURA S, et al. Macrophage migration inhibitory factor drives pathology in a mouse model of spondyloarthritis and is associated with human disease[J]. Sci Transl Med, 2021, 13(616):1210.
- [19] ROMAND X, LIU X, RAHMAN M A, et al. Mediate interleukin-23 and tumor necrosis fac-

- tor-driven reactive arthritis by chlamydia-infected macrophages in SKG mice[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73(7):1200-1210.
- [20] LAU M C, KEITH P, COSTELLO M E, et al. Genetic association of ankylosing spondylitis with TBX21 influences T-bet and pro-inflammatory cytokine expression in humans and SKG mice as a model of spondyloarthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1):261-269.
- [21] HAN Q, ZHENG Z H, LIANG Q, et al. Testing if micro-CT is capable of quantitating the extent of proteoglycan-aggreca induced axial spondyloarthritis in mice[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:681217.
- [22] CUI H, LI Z, CHEN S, et al. CXCL12/CXCR4-Rac1-mediated migration of osteogenic precursor cells contributes to pathological new bone formation in ankylosing spondylitis [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(14):18054.
- [23] JANG D I, LEE A H, SHIN H Y, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5):2719.
- [24] EDWARDS V, SMITH D L, MEYLAN F, et al. Analyzing the role of gut microbiota on the onset of autoimmune diseases using TNF^{ARE} murine model [J]. *Microorganisms*, 2021, 10(1):73.
- [25] KONTOYIANNIS D, PASPARAKIS M, PIZZARRO T T, et al. Impaired on/off regulation of TNF biosynthesis in mice lacking TNF AU-rich elements: implications for joint and gut-associated immunopathologies [J]. *Immunity*, 1999, 10(3):387-398.
- [26] CHRISTODOULOU-VAFEIADOU E, GEKA C, NTARI L, et al. Ectopic bone formation and systemic bone loss in a transmembrane TNF-driven model of human spondyloarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22(1):232.
- [27] KAAIJ M H, VAN TOK M N, BLIJRDORP I C, et al. Transmembrane TNF drives osteoproliferative joint inflammation reminiscent of human spondyloarthritis [J/OL]. *J Exp Med*, 2020, 217(10): e20200288 [2022-06-21]. <https://doi.org/10.1084/jem.20200288>.
- [28] ZHANG J R, LIU X J, XU W D, et al. Effects of tumor necrosis factor- α inhibitors on new bone formation in ankylosing spondylitis[J]. *Joint Bone Spine*, 2016, 83(3):257-264.
- [29] GARCIA-MONTOYA L, EMERY P. Disease modification in ankylosing spondylitis with TNF inhibitors: spotlight on early phase clinical trials [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2021, 30(11):1109-1124.
- [30] LORIES R J, MATTHYS P, DE VLAM K, et al. Ankylosing enthesitis, dactylitis, and onychoprositis in male DBA/1 mice: a model of psoriatic arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(5):595-598.
- [31] ABE Y, OHTSUJI M, OHTSUJI N, et al. Ankylosing enthesitis associated with up-regulated IFN- γ and IL-17 production in (BXS $\times$ NZB) F1 male mice: a new mouse model [J]. *Mod Rheumatol*, 2009, 19(3):316-322.
- [32] MINASHIMA T, QUIRINO M, LEE Y J, et al. The role of the progressive ankylosis protein (ANK) in adipogenic/osteogenic fate decision of precursor cells[J]. *Bone*, 2017, 98:38-46.
- [33] ADARICHEV V A, GLANT T T. Experimental spondyloarthropathies: animal models of ankylosing spondylitis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2006, 8(4):267-274.
- [34] KRUG H E, TAUROG J D. HLA-B27 has no effect on the phenotypic expression of progressive ankylosis in ank/ank mice[J]. *J Rheumatol*, 2000, 27(5):1257-1259.
- [35] LIN A, INMAN R D, STREUTKER C J, et al. Lipocalin 2 links inflammation and ankylosis in the clinical overlap of inflammatory bowel disease (IBD) and ankylosing spondylitis (AS) [J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22(1):51.
- [36] MORI S, ZHANG M C, TANDA N, et al. Genetic characterisation of spontaneous ankylosing arthropathy with unique inheritance from Fas-deficient strains of mice[J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(10):1273-1278.
- [37] MÈNORET S, OUISSE L, TESSON L, et al. Generation of immunodeficient rats with Rag1 and Il2rg gene deletions and human tissue grafting models[J]. *Transplantation*, 2018, 102(8):1271-1278.
- [38] HAMMER G E, TURER E E, TAYLOR K E, et al. Expression of A20 by dendritic cells preserves immune homeostasis and prevents colitis and spondyloarthritis[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(12):1184-1193.
- [39] VEREECKE L, VIEIRA-SILVA S, BILLIET T, et al. A20 controls intestinal homeostasis through cell-specific activities[J]. *Nat Commun*, 2014, 5:5103.