

· 基础研究 ·

## S100A9 基因敲除对姥鲛烷诱导小鼠狼疮肾炎的影响

查洁<sup>1,2</sup>, 杨小四<sup>1</sup>, 李帆<sup>1</sup>, 李晓静<sup>2</sup>, 姚根宏<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>安庆医药高等专科学校基础医学院, 安徽 安庆 246052; <sup>2</sup>南京医科大学鼓楼临床医学院风湿免疫科, 江苏 南京 210008

**[摘要]** 目的:探究S100A9基因敲除(S100A9<sup>-/-</sup>)对小鼠狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)的影响,阐明S100A9在LN中的作用。方法:6~8周龄雌性野生型及S100A9<sup>-/-</sup>C57BL/6(B6)小鼠各10只;5只野生型B6和5只S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠一次性腹腔注射0.5 mL姥鲛烷;另外5只野生型B6和5只S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠一次性腹腔注射0.5 mL生理盐水。6个月后处死小鼠;ELISA法检测血清中抗双链DNA(double-stranded DNA, ds-DNA)抗体水平;测定血清肌酐、血清尿素氮、尿蛋白水平;留取肾组织进行HE染色,观察肾脏病理。结果:与野生型B6小鼠相比,S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠体重、脾脏重量、肾脏结构、血清肌酐水平等差异无统计学意义;与对照的B6小鼠相比,姥鲛烷诱导的B6小鼠脾脏重量、脾脏长度、血清肌酐、尿素氮、尿蛋白、抗ds-DNA抗体、IgG水平均明显增加,肾脏出现狼疮样改变(肾脏肾小球体积增大,肾小管上皮水肿、管腔狭窄);与对照S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠相比,姥鲛烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠脾脏重量、脾脏长度、血清肌酐、尿素氮、尿蛋白、抗ds-DNA抗体、IgG水平均明显增加,肾脏出现狼疮样改变。但是,与姥鲛烷诱导的野生型B6小鼠相比,姥鲛烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠的狼疮样症状及以上血清学和尿液指标改变均明显减轻。结论:姥鲛烷可以使野生型B6小鼠和S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠出现狼疮病变,但S100A9基因敲除小鼠病变程度较轻,提示该基因对狼疮小鼠的发病可能有促进作用。

**[关键词]** 系统性红斑狼疮;S100A9基因;姥鲛烷

**[中图分类号]** R593.24

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2024)04-469-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNSN230783

## Effects of S100A9 knockout on pristane-induced lupus nephritis in mice

ZHA Jie<sup>1,2</sup>, YANG Xiaosi<sup>1</sup>, LI Fan<sup>1</sup>, LI Xiaojing<sup>2</sup>, YAO Genhong<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Basic Medical School, Anqing Medical College, Anqing 246052; <sup>2</sup>Department of Rheumatology and Immunology, Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of S100A9 knockout on mice with lupus nephritis(LN) induced by pristane, and clarify specific roles of S100A9 in LN. **Methods:** Ten female wild-type(WT)C57BL/6(B6) mice and ten S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice(6-8 weeks old) were used. Five WT B6 mice and five S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice were intraperitoneally injected with 0.5 mL pristane, respectively, serving as experimental groups. Other five WT B6 mice and five S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice were intraperitoneally injected with 0.5 mL normal saline, respectively, serving as control groups. The mice were sacrificed at six months after injection. The expression of anti-double-stranded DNA(ds-DNA) antibody was measured by ELISA. The levels of serum creatinine, serum urea nitrogen and urine protein were detected. Renal tissues were collected for HE staining to evaluate renal pathology. **Results:** There were no significant differences between WT and S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice on mouse body-weight, spleen weight, kidney-structure, and serum creatinine levels etc. Compared with control B6 mice, pristane treated B6 mice showed increased weight and length of spleen as well as increased levels of serum creatinine, urea nitrogen, proteinuria, anti-ds-DNA antibody and IgG, and the lupus-like changes in the kidney with increased glomerular volume, edema or renal tubule epithelium, and stenosis of lumen. Similar results were observed in pristane-treated S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice, compared with control S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice. However, compared with pristane-treated WT B6 mice, the above symptoms of LN and indexes of serum and urine were mild in pristane-treated S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice. **Conclusion:** Pristane induces systemic lupus erythematosus in B6 mice and S100A9<sup>-/-</sup>B6 mice. However, the degree of lesions in mice with S100A9 gene knockout is reduced, suggesting that this gene may

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81970062, 81901672);安徽省高校学科(专业)拔尖人才学术资助项目(gxbjZD2022105);安徽省高校自然科学研究项目(2023AH053426)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: yaogenhong@nju.edu.cn

have a promoting effect on the pathogenesis of lupus in mice.

[Key words] systemic lupus erythematosus; S100A9 gene; pristane

[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(04): 469-474]

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫性疾病,其特征是对自身抗原的耐受性丧失、自身抗体的过度产生、补体激活和免疫复合物沉积,并引起多器官功能的损伤<sup>[1-3]</sup>,其病因尚不完全明确,目前认为可由多种因素诱发。SLE的小鼠模型有自发性和诱导型。姥鲛烷(pristane)是常用的SLE小鼠模型诱导剂,它是一种烯烃类化合物,化学名为2,6,10,14-四甲基十五烷,可来源于石油或海洋生物,具有细胞毒性,可诱导细胞凋亡,向不同品系小鼠腹腔注射姥鲛烷会导致狼疮样自身免疫综合征,类似人类SLE症状。因此姥鲛烷常作为诱导剂建立狼疮小鼠模型<sup>[4-5]</sup>。

S100A9又被称为髓相关蛋白14(myeloid-related proteins 14, MRP14),是属于S100钙调素家族的Ca<sup>2+</sup>结合蛋白。S100A9主要来源于免疫细胞,如中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞。近年来多数研究表明,S100A9在创伤、感染、应激及炎症中显著上调<sup>[6-7]</sup>,在类风湿性关节炎、干燥综合征及SLE等自身免疫性疾病患者体内也呈现较高水平<sup>[7-9]</sup>。狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是SLE中较为严重的一种并发症,发生率达30%,影响患者的治疗效果和预后。有报道显示,S100A9蛋白与SLE患者肾损害的活动性相关<sup>[10]</sup>。但是,S100A9的具体作用尚不清楚。为了进一步探索S100A9蛋白在SLE及LN发生发展中扮演的角色,本研究建立了动物模型,系统比较了姥鲛烷诱导野生型和S100A9基因敲除C57BL/6(B6)小鼠的自身抗体、肾功能、肾脏病理等LN症状,旨在阐明S100A9在SLE中的具体作用,也期望为LN的诊断和疗效判定寻找新的生物学标志物。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

血清IgG检测试剂盒(Ebioscience公司,美国);姥鲛烷(Sigma公司,美国);抗双链DNA(double-stranded DNA, dsDNA)抗体检测试剂盒(湖南艾方生物科技有限公司);肌酐、尿素氮检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),Bradford蛋白含量检测试剂盒(南京凯基生物技术有限公司),Triton-X-100

(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。PCR仪(QuantStudio™ 6 Flex,美国应用生物系统公司);荧光显微镜(南京奥力科学仪器有限公司)。

B6小鼠购自南京大学模式动物研究所,S100A9基因敲除(S100A9<sup>-/-</sup>)的B6小鼠[动物许可证号SYXK(苏)2019-0059]由南京医科大学鼓楼临床医学院风湿免疫科提供。所有小鼠均在南京医科大学鼓楼临床医学院动物中心SPF级环境中饲养。本研究获得南京医科大学鼓楼临床医学院动物保护伦理委员批准(20190503)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验动物分组

正常B6小鼠及S100A9基因敲除(S100A9<sup>-/-</sup>)的B6小鼠各10只,体重为16~20 g,所有小鼠均为雌性。5只野生型和5只S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠予一次性腹腔注射0.5 mL姥鲛烷,作为两组狼疮模型小鼠,分别为B6+pristane组和S100A9<sup>-/-</sup> B6+pristane组;另外5只B6小鼠野生型和5只S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠予一次性腹腔注射0.5 mL生理盐水,作为两组对照组,分别为B6组和S100A9<sup>-/-</sup> B6组。6个月后,处死所有小鼠。

#### 1.2.2 测量小鼠脾脏重量和长度

处死小鼠后取各组小鼠的脾脏,记录小鼠脾脏重量和长度。

#### 1.2.3 小鼠尿蛋白检测

采用Bradford蛋白含量检测试剂盒检测小鼠尿蛋白。具体步骤如下:取各组小鼠尿液,稀释样品,稀释液总体积为5 μL,加入考马斯亮蓝G-250溶液195 μL,充分混匀,放置2 min后,以标准曲线0号管做参比,在595 nm波长下比色,记录吸光值,绘制标准曲线并计算相应的蛋白质含量。

#### 1.2.4 小鼠血清肌酐检测

应用肌酐测定试剂盒检测小鼠血清肌酐。具体方法如下:取各组小鼠血清,96孔酶标板中加入6 μL样本,每孔加入180 μL酶溶液A,37℃孵育5 min,546 nm波长测定吸光度值A1,然后向每孔中加入60 μL酶溶液B,37℃孵育5 min,546 nm波长测定吸光度A2,计算两次测定吸光度值的差值 $\Delta A = A2 - A1$ ,按公式计算肌酐含量( $\mu\text{mol/L}$ )= $(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) /$

$(\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}}$  ( $C_{\text{标准}}$  指标准品浓度)。

### 1.2.5 血清尿素氮检测

按照尿素氮检测试剂盒操作说明进行: 取各组小鼠血清, 按照试剂盒步骤和剂量依次加入双蒸水、10 mmol/L 尿素氮标准应用液、待测样本、缓冲酶液, 混匀, 37 °C 准确水浴 10 min, 再加入酚显色剂和碱性次氯酸钠, 充分混匀, 37 °C 水浴 10 min, 640 nm 处测定吸光度值 A。按公式计算尿素氮浓度 (mmol/L) =  $(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}} \times N$  ( $C_{\text{标准}}$  指标准品浓度, N 为样本测试前的稀释倍数)。

### 1.2.6 血清抗 ds-DNA 抗体和 IgG 检测

取小鼠血清, 参照抗 ds-DNA 抗体、血清 IgG 检测试剂盒说明书进行检测。

### 1.2.7 肾脏病理学检查

注射姥鲛烷 6 个月后处死小鼠, 分离肾脏, 4% 中性甲醛固定, 5  $\mu\text{m}$  石蜡切片, 常规脱蜡及水化, 常规 HE 染色, 制片完毕后于光镜下观察。

### 1.3 统计学方法

应用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行处理分析。服从正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验; 多组间比较采用单因素方差分析。  $P < 0.05$  为差异有统

计学意义。

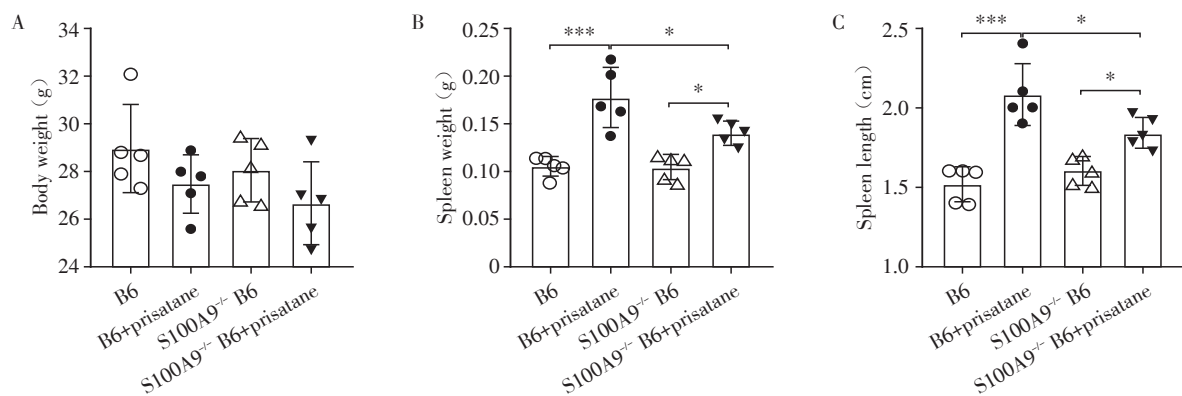
## 2 结果

### 2.1 小鼠的体重、脾脏重量和脾脏长度变化

结果显示, 4 组小鼠 (B6、B6+pristane、S100A9<sup>-/-</sup> B6 和 S100A9<sup>-/-</sup> B6+pristane) 之间体重差异没有统计学意义 (图 1A)。与 B6 鼠相比, 姥鲛烷诱导的 B6 小鼠脾脏重量显著增加 (图 1B)、脾脏长度也显著增加 (图 1C)。与姥鲛烷诱导的 B6 小鼠相比, 姥鲛烷诱导的 S100A9<sup>-/-</sup> B6 小鼠脾脏重量和脾脏长度均减少 [脾脏重量: (0.178  $\pm$  0.014) g vs. (0.140  $\pm$  0.005) g; 脾脏长度: (2.080  $\pm$  0.086) cm vs. (1.840  $\pm$  0.044) cm], 差异均有统计学意义 (图 1B、C)。

### 2.2 各组小鼠肾脏病理情况

野生型和 S100A9<sup>-/-</sup> B6 小鼠的肾脏形态正常。与野生型 B6 鼠相比, 姥鲛烷诱导的 B6 小鼠肾脏出现明显的狼疮样改变, HE 染色下可见肾脏肾小球体积增大, 肾小管上皮水肿样变性、管腔狭窄。与 S100A9<sup>-/-</sup> B6 小鼠相比, 姥鲛烷诱导的 S100A9<sup>-/-</sup> B6 小鼠也表现出肾小管上皮水肿样变性、管腔狭窄等 LN 症状 (图 2)。但姥鲛烷诱导的 S100A9<sup>-/-</sup> B6 小鼠肾脏病理改变比姥鲛烷诱导的 B6 小鼠轻。



A: Body weight of mice in each group. B: Spleen weight of mice in each group. C: Spleen length of mice in each group. \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=5$ ).

图1 各组小鼠体重、脾脏重量和脾脏长度

Figure 1 Body weight, spleen weight and spleen length of mice in each group

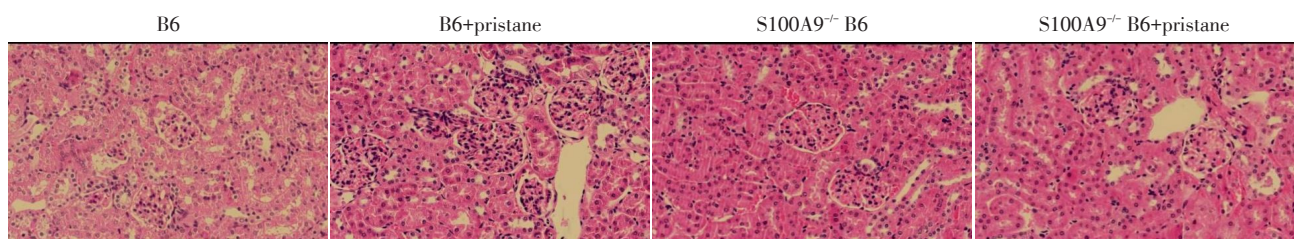


图2 各组小鼠肾脏组织 HE 染色 ( $\times 200$ )

Figure 2 HE staining of mouse kidney tissues in each group ( $\times 200$ )

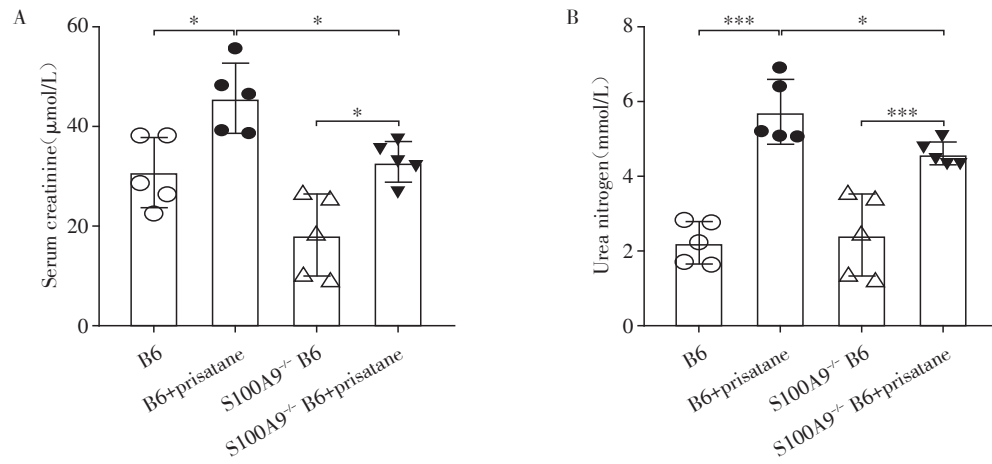
### 2.3 小鼠肾功能

血清肌酐和血清尿素氮是衡量肾功能的重要指标。结果表明,野生型和S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠上述两种肾功能指标差异没有统计学意义。但是,姥鲛烷诱导的B6小鼠血清肌酐、血清尿素氮水平明显高于对照的B6小鼠。姥鲛烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠这两种肾功能指标也明显高于对照的S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠。进一步分析后发现,与姥鲛烷诱导的B6小鼠相比,姥鲛烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠的血清肌酐和血清尿素氮水平较低[血清肌酐:(45.78±3.15)μmol/L vs. (32.97±1.80)μmol/L;血清尿素氮:(5.743±0.388)mmol/L vs. (4.597±0.145)mmol/L],且

差异均有统计学意义(图3A、B)。

### 2.4 小鼠血清抗ds-DNA抗体和IgG

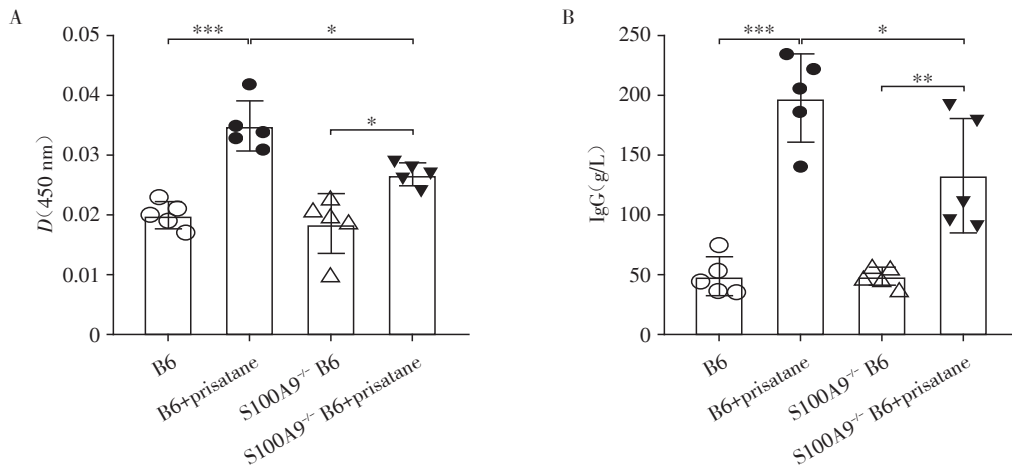
野生型和S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠在姥鲛烷诱导后,自身抗ds-DNA抗体水平均显著高于相应的对照小鼠。但是姥鲛烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠抗ds-DNA抗体增高的程度明显低于姥鲛烷诱导的B6小鼠(0.027±0.001 vs. 0.035±0.002),差异有统计学意义(图4A)。血清IgG含量结果显示,姥鲛烷诱导的B6小鼠、S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠血清IgG含量均明显高于相应的对照小鼠。与姥鲛烷诱导的B6小鼠相比,姥鲛烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup> B6小鼠的血清IgG含量相对较低[(197.50±16.53)g/L vs. (132.60±21.61)g/L,图4B]。



A: Expression levels of serum creatinine of mice in each group. B: Expression levels of serum urea nitrogen of mice in each group. \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=5$ ).

图3 各组小鼠血清肌酐、血清尿素氮水平

Figure 3 Expression levels of serum creatinine and serum urea nitrogen of mice in each group



A: Expression levels of serum anti-ds-DNA antibodies of mice in each group, and the anti-ds-DNA antibody was quantified with the absorbance value at  $D(450 \text{ nm})$ . B: Expression levels of serum IgG of mice in each group. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=5$ ).

图4 各组小鼠血清抗ds-DNA自身抗体和IgG水平

Figure 4 Expression levels of serum anti-ds-DNA autoantibody and IgG of mice in each group

## 2.5 小鼠尿蛋白

小鼠尿蛋白检测结果显示,与B6鼠相比,姥蛟烷诱导的B6小鼠尿蛋白明显增加。与S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠相比,姥蛟烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠尿蛋白也明显增加。但是,姥蛟烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠尿蛋白水平较姥蛟烷诱导的B6小鼠低[(0.086±0.004)mg/mL vs. (0.146±0.022)mg/mL],差异有统计学意义(图5)。

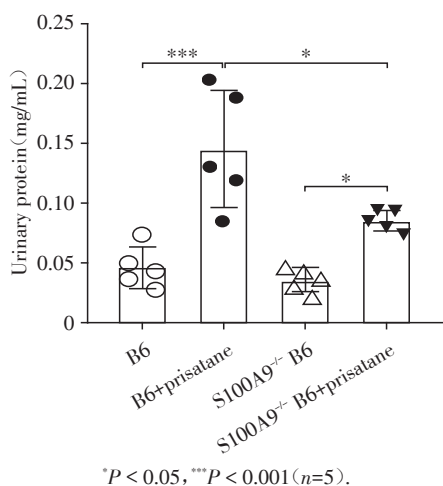


图5 小鼠尿蛋白含量检测

Figure 5 Detection of urinary protein content in mice

## 3 讨论

SLE作为一种目前发病机制尚不明确的自身免疫性疾病,建立和研究狼疮动物模型对探索其发病机制及诊疗手段意义重大。1995年Satoh等<sup>[11]</sup>发现给小鼠腹腔注射姥蛟烷可成功诱导小鼠狼疮发作,目前姥蛟烷已成为常用的造模诱导剂。引发小鼠细胞凋亡进而产生自身抗体可能是姥蛟烷诱导狼疮发病机制中的一个关键因素,同时还伴有细胞因子分泌失调,生成氧自由基,造成炎症环境,从而出现狼疮症状<sup>[4,12]</sup>。

本研究发现,在姥蛟烷的诱导下,野生型B6小鼠和S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠均出现血清肌酐、尿素氮升高、尿蛋白增加等肾功能受损表现,同时还出现自身抗体(anti-dsDNA)浓度升高、脾脏增大以及肾脏狼疮样病理改变,提示野生型小鼠和S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠在姥蛟烷处理后均诱导出狼疮样症状,小鼠狼疮模型建立成功。

S100A9是S100蛋白家族中重要的成员之一,可介导炎症反应、调节细胞生长分化、诱导细胞凋亡等<sup>[7]</sup>,与包括自身免疫性疾病在内的多种疾病发

生、发展相关。Pavón等<sup>[13]</sup>采用双向电泳和基质辅助激光解吸电离质谱检测了外周血单个核细胞中的S100A9,发现SLE患者的S100A9水平,无论是在mRNA和蛋白水平上,均明显高于正常人群。Donohue等<sup>[14]</sup>发现与对照组相比,青少年SLE患者血清S100A9升高,且活动性SLE患者的血清S100A9高于非活动性狼疮患者或健康人,并认为S100A9作为青少年SLE和活动性LN的生物标志物具有潜在的研究前景。但是,S100A9是否直接参与SLE的发生和进展尚不清楚。

为了探究S100A9是否与SLE发生相关,本研究应用S100A9基因敲除B6小鼠,采用姥蛟烷诱导狼疮,并系统比较了姥蛟烷诱导野生型B6组和姥蛟烷诱导S100A9<sup>-/-</sup>B6组的小鼠狼疮症状。本研究发现姥蛟烷诱导的S100A9<sup>-/-</sup>B6小鼠血清肌酐、尿素氮、尿蛋白及自身抗体的升高及脾脏肿大情况均较姥蛟烷诱导的B6小鼠轻。肾脏病理改变,即肾小管上皮细胞水肿也较姥蛟烷诱导的B6小鼠少。另外,本研究中诱发SLE的S100A9<sup>-/-</sup>小鼠,其抗ds-DNA抗体水平明显低于诱发SLE的野生小鼠,提示S100A9基因敲除可抑制小鼠自身免疫反应,可能是抑制了小鼠自身抗原的生成和释放,进而自身抗体的产生减少。综上所述,S100A9<sup>-/-</sup>B6狼疮小鼠的脾脏、肾脏等损害表现比B6狼疮小鼠更轻,敲除S100A9后对狼疮小鼠有保护作用。这些结果说明S100A9参与了狼疮的炎症反应。Davison等<sup>[15]</sup>研究发现S100A9缺陷的雄性NZBWF1小鼠的自身免疫加重,血清自身抗体水平升高,蛋白尿进展迅速。而雌性小鼠对S100A9缺乏没有反应,甚至疾病症状有所减轻。本研究也显示雌性小鼠S100A9基因敲除后病变程度较轻。因此,S100A9的作用还有待进一步探究,可采用不同的狼疮诱导方式,如咪喹莫特或雷西莫特诱导,来进一步明确S100A9在SLE发生中的作用。或者采用慢病毒转染等技术使小鼠体内S100A9增加,然后观察不同诱导剂作用下的狼疮症状,才能比较全面和系统地验证S100A9与SLE发生的关系。

综上所述,S100A9基因与SLE的发生存在相关性。虽然其介导狼疮炎症反应的明确机制仍需进一步研究,但该基因可能成为SLE诊疗的新靶点,有望为SLE的诊疗提供新思路。

### [参考文献]

- [1] WANG H, LI C, REN G, et al. Updated insight into the role of Th2-associated immunity in systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmun Rev*, 2023, 22(1): 103213

- [2] 汪美奂,黄瑾,马君鑫,等. 系统性红斑狼疮患者角膜神经纤维和干眼临床研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(8): 1222-1225
- [3] 葛可,杜莹,张东东,等. 系统性红斑狼疮与类风湿关节炎患者血清代谢谱的比较研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2023, 43(3): 371-379
- [4] CALVANI N, CARICCHIO R, TUCCI M, et al. Induction of apoptosis by the hydrocarbon oil pristane: implications for pristane-induced lupus[J]. *J Immunol*, 2005, 175(7): 4777-4782
- [5] 沈立军,颜天铭,王玉玉,等. 姥鲨烷诱导法建立小鼠狼疮肾炎模型[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(6): 1146-1152
- [6] 张雅旋,郭瑞娟,张寅,等. 外周血S100钙结合蛋白、Hcy及神经元特异性烯醇化酶水平与创伤性颅脑损伤患者颅内血肿吸收情况及认知功能的相关性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2022, 8(10): 1421-1425
- [7] WANG S W, SONG R, WANG Z Y, et al. S100A8/A9 in inflammation[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1298
- [8] LOOD C, STENSTRÖM M, TYDÉN H, et al. Protein synthesis of the pro-inflammatory S100A8/A9 complex in plasmacytoid dendritic cells and cell surface S100A8/A9 on leukocyte subpopulations in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(2): R60
- [9] 胡筱. S100A8和S100A9对自身免疫性疾病影响的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2015, 42(3): 257-260
- [10] DAVIES J C, MIDGLEY A, CARLSSON E, et al. Urine and serum S100A8/A9 and S100A12 associate with active lupus nephritis and may predict response to rituximab treatment[J]. *RMD Open*, 2020, 6(2): e001257
- [11] SATOH M, KUMAR A, KANWAR Y S, et al. Anti-nuclear antibody production and immune-complex glomerulonephritis in BALB/c mice treated with pristane [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(24): 10934-10938
- [12] MINHAS U, DAS P, BHATNAGAR A. Role of reactive intermediates in the immunopathogenesis of the pristane-induced Balb/c model of lupus [J]. *Lupus*, 2011, 20(13): 1421-1425
- [13] PAVÓN E J, GARCÍA-RODRÍGUEZ S, ZUMAQUERO E, et al. Increased expression and phosphorylation of the two S100A9 isoforms in mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus: a proteomic signature for circulating low-density granulocytes [J]. *J Proteomics*, 2012, 75(6): 1778-1791
- [14] DONOHUE S J, MIDGLEY A, DAVIES J C, et al. Differential analysis of serum and urine S100 proteins in juvenile-onset systemic lupus erythematosus (jSLE) [J]. *Clin Immunol*, 2020, 214: 108375
- [15] DAVISON L M, ALBERTO A A, DAND H A, et al. S100a9 protects male lupus-prone NZBWF1 mice from disease development [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 681503

[收稿日期] 2023-08-21

(本文编辑:陈汐敏)

本刊现已启用网上稿件管理系统,作者登陆  
<http://jnm.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询  
稿件审理情况。