

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20240830.004
网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20240830.1126.008>

盐酸普萘洛尔致银屑病样大鼠模型的剂量、时间及性别探讨

张萌萌, 刘树民, 孙慧娟, 高蕊, 邓戈宇, 张振东, 黄琳, 卢芳[✉]

(黑龙江中医药大学中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:** 研究5%盐酸普萘洛尔乳膏剂在不同剂量、时间、性别下对银屑病样大鼠造模效果的影响。**方法:** 将大鼠随机分为6组, 雌性空白及高(2.7 g/4 cm²)、低(1.2 g/4 cm²)剂量组、雄性空白及高(2.7 g/4 cm²)、低(1.2 g/4 cm²)剂量组, 将5%盐酸普萘洛尔乳膏剂均匀涂抹于大鼠背部皮肤上, 每天1次, 分别涂抹1周、2周, 设立1个月恢复期。通过比较各组银屑病皮损面积和严重程度指数、HE染色、免疫组化法检测增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)和细胞角蛋白(cytokeratin-17, CK-17)表达水平、ELISA及RT-qPCR法检测大鼠炎症细胞因子表达, 评价皮损严重程度及造模效果。**结果:** 与空白组比较, 造模1周和2周的雌雄高低剂量组大鼠出现明显红斑、鳞屑和肥厚, 角化不全, 表皮增厚, PCNA和CK-17表达增多, 血清和皮损中的IL-1 β 、IL-17A、IL-22、IL-23和TNF- α 表达量升高; 与造模2周比较, 造模1周表达明显, 且雌鼠优于雄鼠; 恢复1个月后, 各组大鼠的表达较1周和2周造模时期下降。**结论:** 5%盐酸普萘洛尔乳膏剂诱导银屑病样大鼠模型, 重复性好, 与造模2周相比造模1周效果好, 雌鼠优于雄鼠, 高剂量造模效果更好。

[关键词] 盐酸普萘洛尔; 银屑病样大鼠模型; 造模药剂量; 造模时间

[中图分类号] R758.63; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2025)05-0351-09

Exploration of dose, time and sex in a psoriasis-like rat model caused by propranolol hydrochloride

ZHANG Mengmeng, LIU Shumin, SUN Huijuan, GAO Rui, DENG Geyu, ZHANG Zhendong, HUANG Lin, LU Fang[✉]

(Institute of Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

[Foundation Project]: This study was supported by the National Key Research and Development Program-Modernization of Traditional Chinese Medicine (2022YFC3502100, 2022YFC3502102, 2022YFC3502102-04)

[Author]: ZHANG Mengmeng, E-mail: zhangmm202312@163.com。

[Correspondence to]: LU Fang, PhD, Researcher, Doctoral Supervisor, E-mail: lufang_1004@163.com。

Received: 2024-05-14

Revised: 2024-08-17

JHMu, 2025;31(5):351-359

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To study the effect of 5% propranolol hydrochloride cream on the modeling effect of psoriasis-like rats at different doses, times, and sexes. **Methods:** The rats were randomly divided into 6 groups: female blank, high (2.7 g/4 cm²) and low (1.2 g/4 cm²) dose groups; male blank, high (2.7 g/4 cm²) and low (1.2 g/4 cm²) dose groups; and the 5% propranolol hydrochloride cream agent was uniformly applied to the skin of the backs of the rats once a day for 1 week and 2 weeks, respectively, to set up a 1-month recovery period. By comparing the psoriasis area and severity index (psoriasis area and severity index, PASI), HE staining, and immunohistochemistry to detect proliferating cell nuclear antigen (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) and cytokeratin (CK-17), ELISA and RT-qPCR for inflammatory cytokine expression in rats, we could evaluate the severity of skin lesions and the effect of modeling. **Results:** Compared with the blank group, rats in the high and low dose groups of both sexes at 1 and 2 weeks of modeling showed obvious erythema, scaling and hypertrophy, hyperkeratosis, thickening of the epidermis, increased expression of PCNA and CK-17, and elevated expression of IL-1 β , IL-17A, IL-22, IL-23, and TNF- α in serum

[基金项目] 国家重点研发计划-中医药现代化(2022YFC3502100, 2022YFC3502102, 2022YFC3502102-04)

[作者简介] 张萌萌, E-mail: zhangmm202312@163.com。

[通讯作者] 卢芳, 博士, 研究员, 博士研究生导师, E-mail: lufang_1004@163.com。

[收稿日期] 2024-05-14

[修回日期] 2024-08-17

网络出版时间: 2024-08-30 17:42:33

and lesions; compared with the 2-week modeling period, the expression was obvious in the 1-week period of modeling, and female rats were better than male rats; after 1 month of recovery, the expression of rats in all groups decreased compared with the 1-week and 2-week modeling periods. **Conclusion:** The induction of a psoriasis-like rat model by 5% propranolol hydrochloride cream was reproducible, and the effect of 1 week of modeling was better than that of 2 weeks of modeling. Female rats were better than male rats, and the effect of modeling was better at high doses.

[Key words] Propranolol hydrochloride; Psoriasis-like rat model; modeling drug dose; modeling time

银屑病是一种常见的慢性、系统性、炎症性皮肤病,具有治疗周期较长、容易复发、不容易治愈的特点,严重危害患者身心健康^[1]。临床表现为皮肤出现鳞屑性红斑,大多常见于头皮和四肢伸侧,也可遍布于全身^[2]。银屑病目前发病机制并不十分明确,而动物研究是疾病机制研究和治疗该病新药研发的基础,因而构建合适的银屑病动物模型显得尤为重要。

当前银屑病动物模型以咪喹莫特诱导的小鼠模型为主^[3],但小鼠耐受力较弱,样本量少,造模成功后维持的时间短,第7天皮损最严重,1周后逐渐消退^[4],给需较长时间服用的药物研究带来不便。普萘洛尔致豚鼠银屑病样模型因豚鼠较难饲养,生性胆小,易受惊,会出现体重下降、脱毛等现象,影响实验结果,也具有一定弊端。

近年来,随着具有服用周期长等特点的抗银屑病类中药及复方研究使用逐渐增多,出现了盐酸普萘洛尔诱导的大鼠模型。但当前研究中尚存在以下问题:在致银屑病样模型中盐酸普萘洛尔的具体配置方法未达成一致^[5,6]。王丹妮等^[7]在构建银屑病动物模型中5%盐酸普萘洛尔乳剂使用剂量为0.30 g/cm²,彭宇等^[8]使用5%盐酸普萘洛尔乳剂的剂量为2.7 g/次/d,连续涂抹14 d。因造模方法不同,所以多数文献没有具体统一的剂量。银屑病动物模型成模率在大多数文献中未提及^[9]。Wang等^[10]研究发现银屑病严重程度因性别而存在显著差异,但是在多数银屑病动物模型中没有具体提及性别的差异性。盐酸普萘洛尔致银屑病样大鼠模型相较于咪喹莫特模型相关报道较少^[11,12],本课题前期研究发现造模3周模型基本恢复,因此造模时间有待商榷。基于以上存在的问题,本文从造模时间、剂量及性别差异角度对盐酸普萘洛尔致大鼠银屑病样模型进行系统研究,改良和优化银屑病动物模型,以期能为银屑病的机制研究和新药开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

凡士林(天津市致远化学试剂有限公司,批号20230301);十八醇(毕得医药,批号:DPC931);单

硬脂酸甘油酯(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:J22111119);十二烷基硫酸钠(毕得医药,批号DMV756);甘油(天津市天力化学试剂有限公司,批号:20220702);盐酸普萘洛尔粉末(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号B23111105);4%多聚甲醛/通用型组织固定液(哈尔滨盛泽生物科技有限公司;批号:BL539A);ELISA试剂盒:白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-22(IL-22)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-17A(IL-17A)、白介素-23(IL-23)(南京建成生物工程研究所,批号依次为H002-1-2、H019、H052-1-2、H014-2、H020);qPCR试剂:通用型快速抗体染料法定量PCR预混液和去基因组与逆转录一管化三代预混液(莫纳生物科技有限公司,批号依次M910701S、MR05101M);PCR引物合成(黑龙江箭速基因科技有限公司);RNAiso Plus,(哈尔滨宝士得生物科技有限公司,批号:AM61709A);RNase-free water(哈尔滨宝士得生物科技有限公司,批号:AM91570A);酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司,型号:M2000Pro);实时荧光定量仪(沃特世科技有限公司,型号:Quantstudio3);Eclipse Ci-L正置光学显微镜(Nikon, Japan)。

1.2 方法

1.2.1 盐酸普萘洛尔乳膏剂的配制 将盐酸普萘洛尔根据实验需要配制成O/W型的乳膏剂。取凡士林120 g、十八醇80 g和单硬脂酸甘油酯20 g置于烧杯中,水浴70℃~80℃加热,使其融化。又取十二烷基硫酸钠10 g、甘油70 g和蒸馏水700 g,置于另一个烧杯中,水浴70℃~80℃加热,使其溶解。同温下,水相以细流加到油相中,在这过程中不断搅拌使其冷凝,制成乳剂基质。再取盐酸普萘洛尔粉末52.6 g加入到1 000 g的乳剂基质中,在水浴加热条件下不断搅拌使其溶解呈乳白色质密膏状物,即成。

1.2.2 动物模型构建及分组 108只SD大鼠,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,雌雄各半,SPF级,体质量为180~200 g,动物生产许可证号:SCXK(辽)2020-0001。动物使用许可证号:SYXK(黑)2018-007。实验期间在常规条件下饲养。实验经由黑龙江中医药大学实验动物伦理动物委员会

批准,批号:2023062501。

将大鼠随机分为6组,雌性空白及高(2.7 g/4 cm²)、低(1.2 g/4 cm²)剂量组、雄性空白及高(2.7 g/4 cm²)、低(1.2 g/4 cm²)剂量组。在大鼠背部用脱毛膏进行脱毛处理,面积为2 cm×2 cm,脱毛30 min后,根据分组情况,雌雄空白组涂抹甘油,给药组用棉棒蘸取不同剂量的5% 盐酸普萘洛尔乳膏剂,涂抹后置于干净的空笼子里,待造模区域吸收乳膏剂后,放置回原有笼子。每天一次,分别涂抹1、2周,设立1个月恢复期。

1.2.3 动物取材 用剂量为40 mg/kg的3%的戊巴比妥钠对大鼠进行腹腔麻醉,取血于腹主动脉处,取不同造模周期的大鼠皮肤,置-80℃冰箱保存待测。

1.2.4 PASI评分 采用银屑病皮损面积和皮损严重性指数(psoriasis area and severity index, PASI)作为评分指标^[13],评分越高越说明大鼠皮损越严重^[14,15]。

1.2.5 HE染色观察病理形态改变 用4%的多聚甲醛溶液对空白组和模型组大鼠皮肤损伤部位的皮肤先进行固定、脱水和石蜡包埋处理,经HE染色封盖后,在显微镜下观察并记录各组大鼠皮损部位的病理表现。

1.2.6 免疫组织化学染色 组织用石蜡切片、脱蜡、水化,PBS洗涤4℃孵育过夜,在室温条件下,分别加入一抗10 min孵育,加入二抗30 min孵育,经洗涤后,加显色剂显色后封片在显微镜下观察CK-17和PCNA表达情况,用Image J进行结果分析。

1.2.7 ELISA检测炎症因子 大鼠取血后,离心分离大鼠血清,检测IL-1β、TNF-α、IL-22、IL-23和IL-17A的表达情况。按说明书操作,在室温条件下加入所待测的血清样本,孵育1h加终止液。用酶标仪

检测血清样本吸光度值(450 nm),以标准曲线为根据计算待测血清样本的浓度。

1.2.8 RT-qPCR检测炎症情况 用Trizol法提取大鼠皮损部位的皮肤中的总RNA,逆转录得到cDNA。使用实时荧光定量仪进行PCR扩增。获取空白组和模型组大鼠皮损部位标本的标准曲线,根据ct值用计算机分析。将β-肌动蛋白(β-actin)作为内参,相对表达水平用2^{-ΔΔCt}算法算出。引物信息见表1。

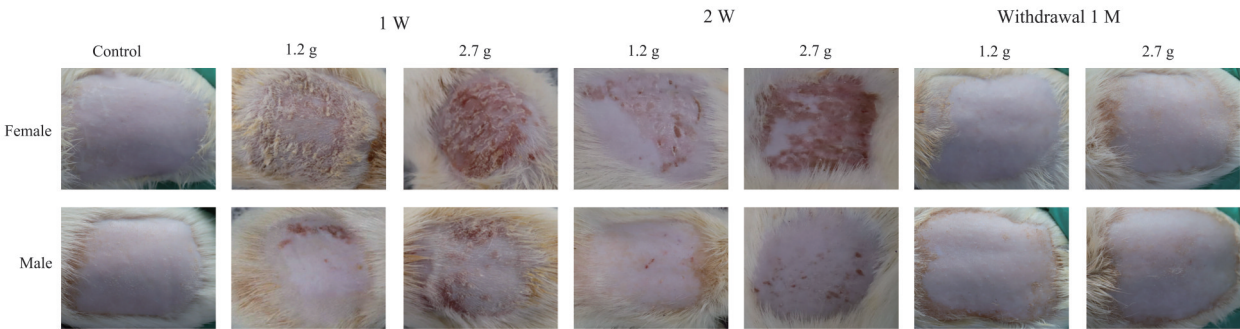
表1 q-PCR检测引物序列信息	
Tab 1 Sequence information of primers for q-PCR assay	
基因	引物序列
IL-1β	F:CCTATGTCTTGCCCGTGGAG
	R:CACACACTAGCAGGTCGTCA
IL-17A	F:CCATGTGCCTGATGCTGTTG
	R:GTTATTGGCCTCGGCGTTTG
IL-22	F:ATACATCGTCAACCGCACCT
	R:TTGGCTTTGACTCCTCGGAA
IL-23	F:CAAAGGATCCGCCAAGGTCT
	R:GGCCCAGTAGGGAGGTATGA
TNF-α	F:GTGATCGGTCCCAACAAGGA
	R:CTCCGCTTGGTGGTTTGCTA
β-actin ^[16]	F:CCTAGGCACCAGGTAAGTGA
	R:GGTGTGGTGCCAGATCTTCT

1.3 统计学处理

所有数据均采用SPSS 26.0统计软件进行分析,GraphPad Prism进行作图,结果以($\bar{x} \pm s$)来表示。多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠背部皮损情况及PASI评分变化情况
观察大鼠背部皮损情况,结果见图1,表2。



1 w为造模1周,2 w为造模2周,Withdrawal 1 m为恢复1个月。下同

图1 各组大鼠背部皮损形态

Fig 1 Morphology of dorsal skin lesions in rats of each group

表2 大鼠背部皮损情况
Table 2 Skin lesions on the back of rats

时间	剂量 (g/4 cm ²)	雌鼠	雄鼠
造模 1 周	空白	皮肤有光泽,无红斑、鳞屑、肥厚	
	2.7	红斑、鳞屑及肥厚明显	红斑、鳞屑及肥厚,皮损面积较雌鼠小
	1.2	鳞屑、肥厚,但红斑不明显	红斑、鳞屑,面积较雌鼠轻
造模 2 周	2.7	大面积红斑,几乎覆盖整个造模皮肤,鳞屑肥厚较少,但较 1 周减轻	少量红斑,鳞屑及肥厚不明显,较雌鼠症状轻
	1.2	红斑、鳞屑和肥厚较轻	仅可见少量红斑
	2.7	各组基本恢复光滑,无红斑、肥厚和鳞屑	
恢复 1 个月	1.2		

依据 PASI 评分标准对大鼠皮损情况进行评分,绘制曲线图。与空白组相比,造模 1 周和造模 2 周高低剂量组的雌雄大鼠出现红斑、鳞屑和肥厚表达升高($P<0.05$)。造模 1 周,雌鼠评分高于雄鼠,尤其高剂量组雌性大鼠评分较高;造模 2 周,各造模组大鼠红斑、鳞屑和肥厚评分均低于造模 1 周的大鼠,但高剂量组雌雄大鼠较低剂量组雌雄大鼠评分高;恢复 1 个月后,高剂量组和低剂量组雌雄大鼠皮肤基本无红斑和鳞屑的现象,PASI 总评分降低,没有显著意义。见图 2。可见,大鼠对 5% 盐酸普萘洛尔乳膏剂具有一定耐受性,即使继续造模到 2 周也不能加重皮损情况,各造模组大鼠均出现不同程度的皮损减轻。

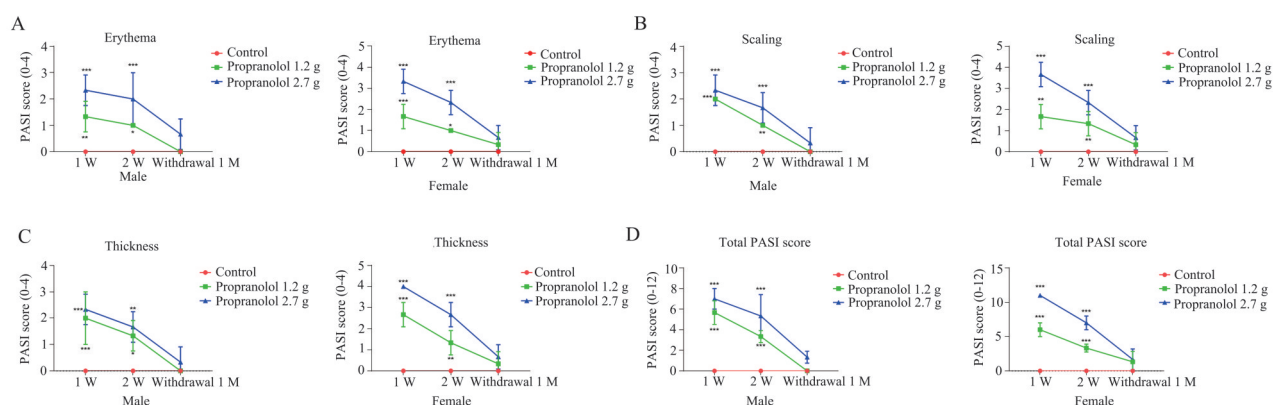
2.2 大鼠皮肤 HE 染色病理变化

雌雄空白组大鼠皮肤角质层、表皮层结构完整、排列紧密,未见异常。造模 1 周后,雌性高低剂量组表皮层明显增厚,可见角化不全或角化过度,上皮细胞疏松排列,真皮层轻度水肿伴淋巴细胞浸润,其中高剂量组最为明显;雄鼠低剂量组的表皮层轻度增厚,偶见上皮细胞变性,未见明显炎症;雄

鼠高剂量组出现角化不全,表皮层增厚,棘层松解,上皮细胞排列疏松。造模 2 周后,高低剂量组雌鼠和雄鼠表皮增厚较 1 周有所减轻,雌性高、低剂量组偶见棘层细胞变性,真皮层少量淋巴细胞浸润,雄性低剂量组的大鼠皮肤组织的表皮真皮完整,未见明显的坏死及炎性细胞浸润,雄性高剂量组棘层细胞变性,真皮层可见少量毛细血管扩张,并可见少量淋巴细胞浸润。恢复 1 个月后,雌雄高剂量组仍存在颗粒层变薄的银屑病特征,雌雄低剂量组各层结构完整,无炎症现象。见图 3。

2.3 免疫组化 PCNA 和 CK-17 的表达情况

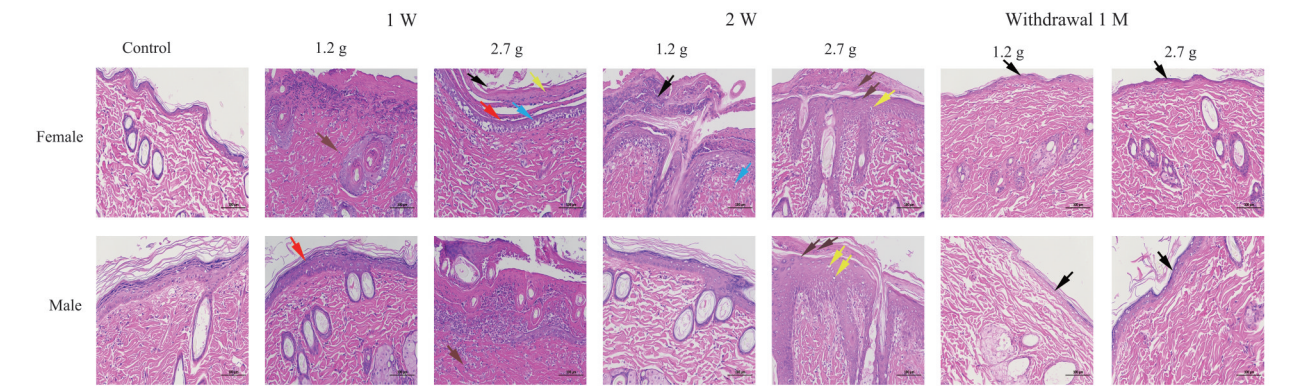
各组大鼠皮损区域的 PCNA 和 CK-17 的表达用免疫组化法来检测。与空白组比,造模 1 周和 2 周的雌雄大鼠 PCNA 和 CK-17 表达增多,具有显著性意义($P<0.05$),且造模一周表达更明显。造模 1 周和 2 周,与雄性高低剂量相比,雌性高低剂量大鼠 PCNA 和 CK-17 的表达升高($P<0.05$)。恢复 1 个月后,与空白组相比,高低剂量雌雄大鼠 CK-17 表达明显($P<0.05$),与雄鼠相比,高低剂量雌性大鼠表达明显($P<0.01$),但较造模 1 周和 2 周降低。见



A: 各组大鼠红斑评分; B: 各组大鼠鳞屑评分; C: 各组大鼠肥厚评分; D: 各组大鼠总评分; 与空白组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

图2 各组大鼠 PASI 评分

Fig 2 PASI scores of rats in each group



黑色箭头表示角质层增生,黄色箭头表示角化不全,红色箭头表示表皮层增厚,蓝色箭头表示上皮细胞排列疏松,棕色箭头表示真皮层可见点状的淋巴细胞浸润。

图3 各组大鼠背部皮损组织病理切片(×200)

Fig 3 Histopathological sections of dorsal skin lesions of rats in each group (×200)

图4、5及表3。

2.4 ELISA法检测大鼠炎症因子

采用ELISA试剂盒检测大鼠血清中的IL-1 β 、IL-17A、IL-22、IL-23和TNF- α 的表达情况。与空白组相比,银屑病造模1周和2周的高低剂量组雌

雄大鼠血清中的IL-1 β 、IL-17A、IL-22、IL-23和TNF- α 表达量升高($P<0.01$),且1周表达明显。造模1周,与雄性高低剂量相比,雌性高低剂量上述5种炎症因子表达升高($P<0.01$)。造模2周,与雄性高低剂量相比,雌鼠表达明显($P<0.01$)。恢复1个

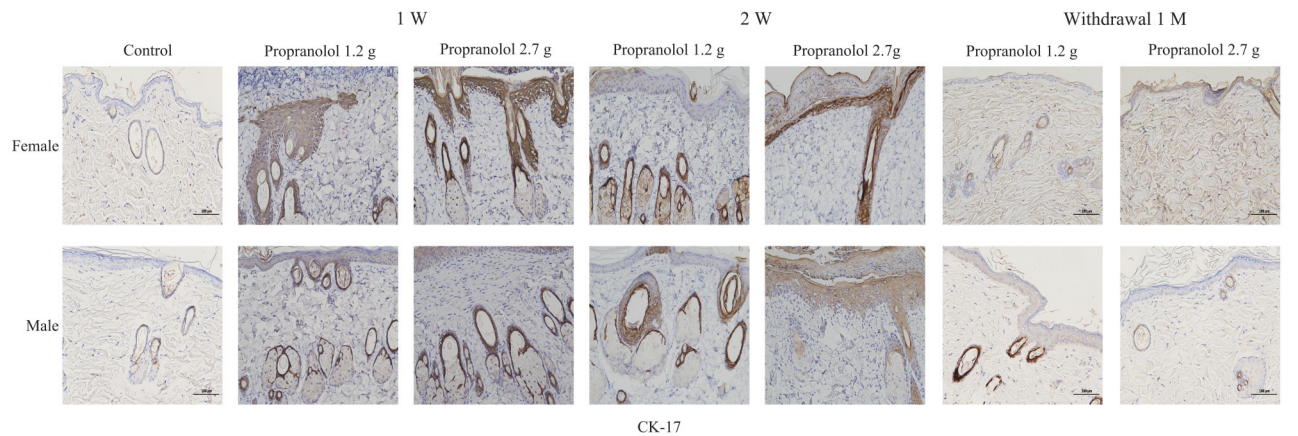


图4 各组大鼠CK-17表达(×200)

Fig 4 CK-17 expression in rats of each group (×200)

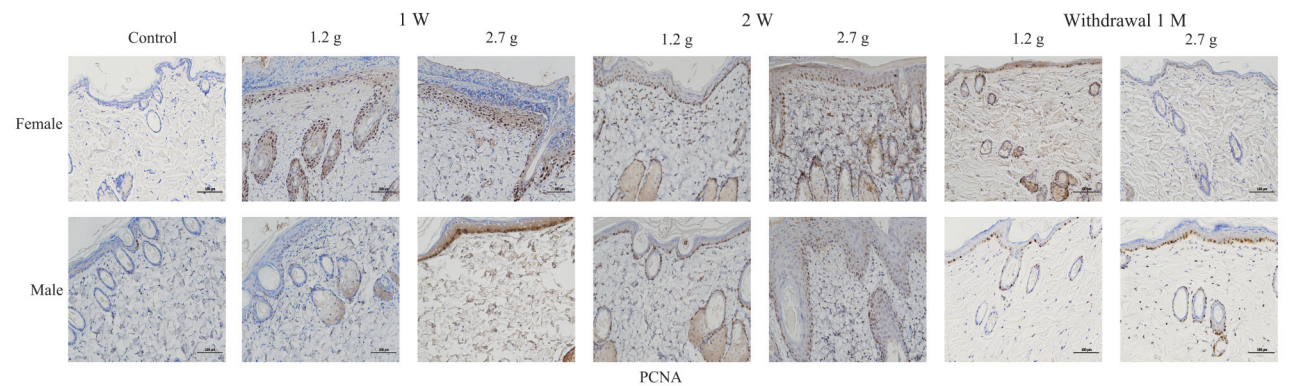


图5 各组大鼠PCNA表达(×200)

Fig 5 PCNA expression in rats of each group (×200)

表3 各组大鼠皮损组织CK-17、PCNA表达($n=3, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Expression of CK-17 and PCNA in skin lesion tissues of rats in each group ($n=3, \bar{x} \pm s$)

时间	组别	剂量 (g/4 cm ²)	CK-17	PCNA
雌鼠				
造模1周	空白	—	4.13±0.83	3.22±1.16
	高	2.7	20.54±4.70 ^{***#}	19.94±3.79 ^{***##}
	低	1.2	18.08±2.61 ^{***##}	13.89±1.67 ^{***#}
造模2周	空白	—	4.20±0.73	3.40±0.31
	高	2.7	15.93±1.98 ^{***##}	14.84±1.85 ^{***##}
	低	1.2	9.70±1.45 ^{***#}	10.56±1.20 ^{***}
恢复1个月	空白	—	3.77±0.52	2.92±0.68
	高	2.7	7.95±0.79 ^{***#}	5.97±0.90 ^{***}
	低	1.2	6.04±0.68 ^{**#}	4.99±0.89 ^{**}
雄鼠				
造模1周	空白	—	2.32±0.43	2.88±0.66
	高	2.7	12.48±2.34 ^{***}	11.90±1.22 ^{***}
	低	1.2	7.12±1.27 [*]	9.84±1.73 ^{**}
造模2周	空白	—	2.46±0.41	2.95±0.70
	高	2.7	7.85±1.82 ^{***}	11.27±1.37 ^{***}
	低	1.2	6.60±0.92 ^{**}	8.33±1.64 ^{***}
恢复1个月	空白	—	2.32±0.92	2.99±0.40
	高	2.7	5.52±0.75 ^{***}	5.39±0.86 ^{**}
	低	1.2	3.92±0.62 [*]	3.81±0.61

注:与同时时间造模雄鼠比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$,^{###} $P<0.001$;与空白组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$,^{***} $P<0.001$ 。

月后,高低剂量组雌性大鼠各炎症指标较空白组表达升高($P<0.05$),其中高低剂量组雌性大鼠 IL-17A 和 IL-22 的表达高于雄鼠($P<0.05$),但较1周和2周下降。见表4。

2.5 大鼠皮肤炎症细胞因子基因表达情况

本实验通过PCR检测大鼠皮损组织中的 IL-1 β 、IL-17A、IL-22、IL-23A 和 TNF- α 的基因表达发现,与空白组比较,银屑病造模1周和2周的高低剂量组的雌雄大鼠皮损组织中的上述基因表达明显($P<0.05$),且1周表达更高。造模1周和2周,与雄性高低剂量相比,雌性高低剂量大鼠的 IL-1 β 、TNF- α 升高($P<0.05$)。造模1周,与雄性高低剂量相比,雌性高低剂量大鼠的基因表达明显($P<0.05$),造模2周,与雄性高剂量相比,雌性高剂量大鼠的 IL-1 β 、IL-17A、TNF- α 升高($P<0.05$);与雄性低剂量相比,雌性低剂量大鼠的 IL-1 β 、TNF- α 升高($P<0.05$)。恢复1个月,与空白组相比,雌性高剂量组的 IL-17A 表达明显($P<0.05$),但较1周和2周下降明显。见图6。

表4 各组大鼠血清炎症因子的表达水平($n=6, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Expression levels of serum inflammatory factors in rats of each group ($n=6, \bar{x} \pm s$)

时间	组别	剂量 (g/4cm ²)	IL-1 β	IL-17A	IL-22	IL-23	TNF- α
雌鼠							
造模1周	空白	—	71.50±4.00	121.70±10.78	110.06±8.50	171.56±19.44	118.90±9.92
	高	2.7	259.80±14.78 ^{***##}	425.43±38.63 ^{***##}	367.39±20.43 ^{***##}	461.81±28.73 ^{***##}	370.60±29.36 ^{***##}
	低	1.2	228.43±12.25 ^{***##}	379.39±27.56 ^{***##}	301.08±15.49 ^{***##}	367.74±35.58 ^{***}	253.24±14.13 ^{***##}
造模2周	空白	—	72.46±4.59	122.19±8.78	121.16±5.20	171.91±13.70	117.87±10.20
	高	2.7	180.80±3.96 ^{***##}	353.91±23.92 ^{***##}	352.11±17.95 ^{***##}	394.49±22.93 ^{***##}	254.97±12.77 ^{***##}
	低	1.2	132.08±3.24 ^{***##}	321.81±12.83 ^{***##}	223.66±15.32 ^{***##}	272.68±15.98 ^{***}	157.38±9.10 ^{**}
恢复1个月	空白	—	71.34±8.18	123.26±9.46	112.40±8.56	172.39±17.96	119.38±9.41
	高	2.7	101.05±4.62 ^{**}	238.64±13.68 ^{***##}	173.35±4.31 ^{***##}	215.98±7.40 ^{***}	153.29±10.99 ^{**}
	低	1.2	85.75±12.37	214.14±8.81 ^{***##}	128.05±4.69 ^{*#}	196.69±6.29 [*]	135.61±9.03 [*]
雄鼠							
造模1周	空白	—	70.07±2.55	117.52±4.29	107.84±8.66	149.10±13.19	106.23±5.29
	高	2.7	188.83±7.72 ^{***}	344.13±21.27 ^{***}	275.28±13.35 ^{***}	370.88±20.22 ^{***}	233.96±14.15 ^{***}
	低	1.2	160.67±7.96 ^{***}	303.20±11.76 ^{***}	175.45±7.29 ^{***}	353.31±26.24 ^{***}	160.93±8.98 ^{**}
造模2周	空白	—	70.89±3.14	118.27±5.72	115.60±8.93	155.54±16.03	107.63±3.07
	高	2.7	125.43±4.82 ^{***}	315.00±12.91 ^{***}	252.30±30.98 ^{***}	261.37±12.84 ^{***}	153.36±8.67 ^{***}
	低	1.2	104.78±2.56 ^{***}	271.66±9.21 ^{***}	143.73±10.45	243.51±14.69 ^{***}	138.33±16.24 ^{**}
恢复1个月	空白	—	71.31±3.59	117.87±4.08	105.26±4.09	150.01±14.21	111.51±9.30
	高	2.7	99.42±9.20 ^{**}	176.95±6.30 ^{***}	115.51±6.61	214.50±8.49 ^{***}	142.87±6.67 ^{**}
	低	1.2	85.58±11.56	149.24±5.24 ^{**}	111.59±10.00	178.35±7.47 ^{**}	121.25±7.84

注:与同时时间造模雄鼠比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$,^{###} $P<0.001$;与空白组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$,^{***} $P<0.001$ 。

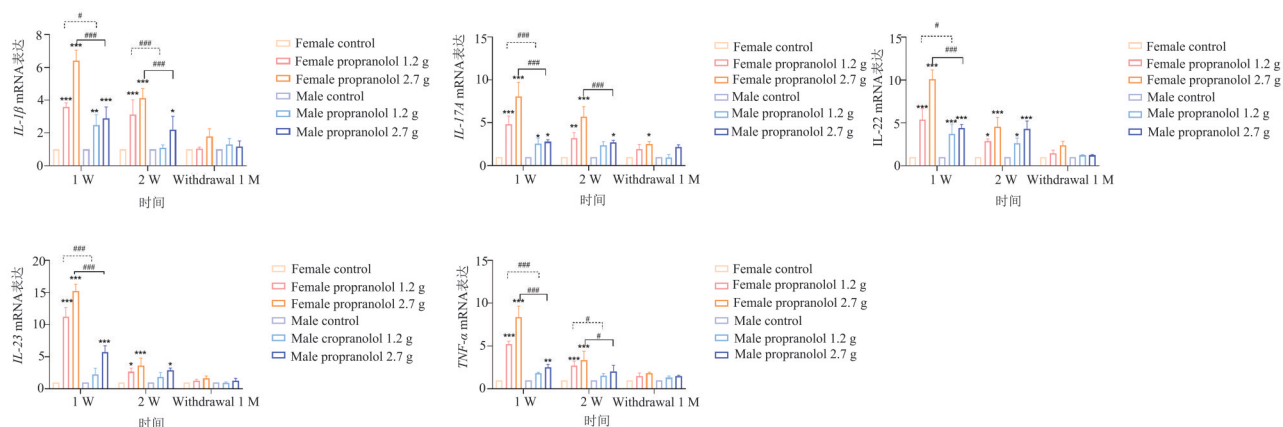


图6 各组大鼠皮损组织 IL-1 β 、IL-17A、IL-22、IL-23A 和 TNF- α 相对表达量

Fig 6 Relative expression of IL-1 β , IL-17A, IL-22, IL-23A and TNF- α in skin lesion tissues of rats in each group

3 讨论

在我国银屑病发病率呈逐年上升的趋势,患病人数已经超过百万^[17]。在临床上有关银屑病的治疗方法很多,但银屑病具有容易复发、不容易治愈的特点,并且各类治疗银屑病的方法都存在不良反应,所以治疗效果并不理想。目前,研究银屑病的发病机制和治疗方法的关键因素之一是构建银屑病的动物模型,合适的动物模型在研制银屑病药物中起到关键性的作用^[18]。银屑病动物模型主要分为五大类,分别是药物诱导模型、细胞因子模型、自发性突变模型、基因工程以及异种移植模型。细胞因子、自发性、基因工程以及异种移植的银屑病动物模型虽各有特点,但是都具有一定的局限性^[19]。而药物诱导动物模型因其方便、可靠、操作简单最为常用,主要以咪喹莫特和盐酸普萘洛尔诱导为主。其中,咪喹莫特诱导的动物模型主要分为小鼠、裸鼠和豚鼠三类^[20,21]。小鼠和裸鼠银屑病造模区域多数在背部^[22,23],一般造模周期较短;豚鼠造模区域多数在耳部^[24],其生性胆小,易受惊,致使造模困难。3种咪喹莫特诱导的银屑病动物模型耐受力弱、维持时间短,在基础研究中多有不便。而盐酸普萘洛尔诱导的动物模型以大鼠为主,其机制为通过抑制肾上腺素 β 受体降低细胞内cAMP的水平,致使大鼠皮肤发生银屑病样的组织病理学改变,如角化过度、皮层增厚等^[25]。但当前盐酸普萘洛尔诱导的大鼠银屑病样模型相关研究较少,普萘洛尔乳膏剂配置不明确、剂量不统一、造模时间及性别差异尚有争议。本文旨在通过PASI评分、HE染色、免疫组化、ELISA、RT-qPCR等技术手段研究盐酸普萘洛尔诱导的大鼠银屑病样模型时间、剂量、性别差异对模型的影响,以优化银屑病造模方法,为

相关研究提供重要参考。

PCNA在细胞增殖的启动上起重要作用,是反映细胞增殖状态的良好指标,在银屑病皮损中PCNA表达异常增高^[26]。CK-17阳性表达部位主要位于细胞浆^[27],CK-17在银屑病发病机制中具有重要作用。银屑病皮损中炎症因子的升高,主要与其中的IL-1 β 、IL-17A、IL-22、IL-23和TNF- α 有关,是银屑病产生与发展的决定性因素。IL-1 β 是IL-1家族重要成员,也被认为是银屑病发病中重要的细胞因子之一^[28],与细胞的增殖、凋亡也存在密切关联,是致使银屑病的发生的重要因素。在实验条件下,IL-1 β 会使正常人的皮肤出现银屑病的病理表现,揭示IL-1 β 系统与银屑病的形成发展有关^[29]。IL-17A可让角质形成细胞过度增殖,使局部发生炎症病变,导致T淋巴细胞功能异常,最终发生银屑病^[30]。银屑病是自身免疫性疾病,与T细胞有关,其中IL-22作为Th22型细胞的代表,是参与银屑病发生的细胞因子^[31],它可使表皮角质生成细胞,不仅可以促进角质形成细胞的增殖、终末分化等正常的生理过程,还可以诱导抗菌肽和趋化因子产生的一系列炎症反应,导致上皮重组和炎症反应^[32]。由巨噬细胞与树突状细胞产生的IL-23可参与银屑病的形成,通过诱导Th17细胞因子的活化和释放致炎因子使角质层形成细胞,最终出现表皮增生,角化过度 and 棘层肥厚的现象^[33]。TNF- α 是引起炎症细胞的关键,可通过抑制TNF- α 治疗中至重度的银屑病,具有显著的效果^[34,35]。

本实验明确了盐酸普萘洛尔乳膏剂的制备,该方法造模成模率较为稳定。用盐酸普萘洛尔乳膏剂造模1周、2周和设立恢复期1个月,通过比较各组PASI评分变化、HE染色观察皮肤组织病理学形

态、免疫组化法检测 PCNA 和 CK-17 表达水平、血清及皮肤中炎症因子表达来检验在不同时间和剂量下盐酸普萘洛尔致雌雄大鼠银屑病样模型的差异性。结果显示造模 1 周,高、低剂量组雌鼠比雄鼠明显,尤其高剂量雌鼠最为严重;2 周后各组大鼠皮损有所减轻,但高剂量雌鼠较其它组皮损严重;恢复 1 个月后各组大鼠皮肤外表与空白组无差别,炎症因子基本趋于正常,但高剂量雌雄大鼠病理表明仍具有颗粒层变薄的银屑病样大鼠模型,且维持 1 月左右,其中雌性更为明显,为银屑病动物模型方法、时间及性别选择提供重要参考,也为研究较长给药时间的抗银屑病药物提供依据。

作者贡献度说明:

张萌萌参与论文撰写、数据分析和实验框架设计;刘树民老师和卢芳老师参与指导;孙慧娟参与论文指导与修改,高蕊、邓戈宇、张振东、黄琳参与造模、取材。

所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- 孙一平,杨素清,安月鹏,等.从肝脾肾三脏论治银屑病[J].中医药学报,2023,51(10):15-19.
Sun YP, Yang SQ, An YP, et al. Treatment of psoriasis from liver, spleen and kidney organs[J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2023,51(10):15-19.
- 隋银海,郝磊,霍志鹏,等.九味化斑丸化学成分及其治疗银屑病的作用机制分析[J].海南医学院学报,2023,29(14):1082-1092.
Sui YH, Hao L, Huo ZP, et al. Analysis of chemical composition of Jiwei Huabanwan and its mechanism of action in the treatment of psoriasis[J]. J Hainan Med Coll, 2023,29(14):1082-1092.
- 郑楠,陈宏,杨铭,等.咪喹莫特二次诱导复发型银屑病模型鼠的建立与对比评价[J].中国皮肤性病学杂志,2023,37(9):994-1002.
Zheng N, Chen H, Yang M, et al. Establishment and comparative evaluation of a mouse model of secondary-induced relapsing psoriasis with imiquimod[J]. Chin J. Dermatovenereol, 2023,37(9):994-1002.
- 刘丹,李志平,吉苏云.青蒿琥酯乳膏的制备及其对咪喹莫特诱导银屑病小鼠模型的作用研究[J].中国药理学杂志,2018,53(18):1584-1588.
Liu D, Li ZP, Ji SY. Study on the preparation of artesunate cream and its effect on imiquimod-induced psoriasis mouse model[J]. Chin Pharm J, 2018,53(18):1584-1588.
- 卢益萍,李忻红,马贤德,等.中药白芨合剂对银屑病样动物模型影响的实验研究[J].环球中医药,2014,7(4):251-253.
Lu YP, Lin XH, Ma XD, et al. Experimental study on the effect of traditional Chinese medicine leucoderma composite on psoriasis-like animal model[J]. Global Tradit Chin Med, 2014,7(4):251-253.
- Müller G, Lübow C, Weindl G. Lysosomotropic beta blockers induce oxidative stress and IL23A production in Langerhans cells[J]. Autophagy, 2020, 16(8):1380-1395.
- 王丹妮,游晓意.氧化苦参碱对银屑病样模型豚鼠詹纳斯激酶/信号转导和转录激活因子信号通路的调控作用研究[J].中国临床药理学杂志,2020,36(20):3332-3336.
Wang DN You XY. Study on the regulatory effects of oxidized picloram on Janus kinase/signal transduction and transcriptional activator signaling pathways in psoriasis-like model guinea pigs[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2020,36(20):3332-3336.
- 彭宇,全安燕,卢璨璐,等.鱼腥草注射液对银屑病大鼠模型 IL-17、IL-22、IL-23 细胞因子的调节作用[J].贵阳中医学院学报,2017,39(6):14-16,22.
Peng Y, Quan AY, Lu CR, et al. Regulatory effects of Fritillary injection on IL-17, IL-22 and IL-23 cytokines in a rat model of psoriasis[J]. Guiyang Coll J Chin Med, 2017,39(6):14-16,22.
- Bai LK, Su YZ, Ning ZD, et al. Challenges and opportunities in animal models of psoriatic arthritis[J]. Inflamm Res, 2023,72(6):1291-1301.
- Wang X, Ma R, Shi, R. et al. Sex differences in the association between plasma polyunsaturated fatty acids levels and moderate-to-severe plaque psoriasis severity: A cross-sectional and longitudinal study[J]. J Transl Med, 2023,21(1):834.
- Xu Q, Sheng L, Zhu X, et al. Jingfang granules exert anti-psoriasis effect by targeting MAPK-mediated dendritic cell maturation and PPAR γ -mediated keratinocytes cell cycle progression *in vitro* and *in vivo*[J]. Phytomedicine, 2023,117:154925.
- 夏琦,余靖宏,邓时贵,等.芍药汤改善豚鼠银屑病皮损活性成分初探[J].中华中医药杂志,2019,34(9):4342-4345.
Xia Q, Yu JH, Deng SG, et al. A preliminary study on the active components of *Paeonia lactiflora* soup to improve psoriasis skin lesions in guinea pigs[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2019,34(9):4342-4345.
- 马今朝,顿耿,于子红,等.凉血消风散联合阿维 A 胶囊对银屑病患者 T 淋巴细胞与核蛋白 PCNP 的影响[J].

- 河南医学研究, 2023, 32(18): 3398-3403.
- Ma JZ, Dun G, Yu ZH, et al. Effect of cooling blood and eliminating wind dispersal combined with *Avicenna* capsule on T lymphocytes and nuclear protein PCNP in patients with psoriasis [J]. *Henan Med Res*, 2023, 32(18): 3398-3403.
- 14 李俊松. 二丁酰环磷腺苷钙联合维生素C治疗寻常型银屑病的效果分析[J]. *基层医学论坛*, 2023, 27(26): 71-73.
 - Li JS. Analysis of the effect of dibutyryl cyclophosphoryl adenosine calcium combined with vitamin C in the treatment of unusual psoriasis [J]. *Med Forum*, 2023, 27(26): 71-73.
 - 15 季新燕, 李秀英, 杨蓉, 等. 艾椒黄乳膏制备及对银屑病小鼠皮损的改善作用[J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(3): 625-628.
 - Ji XY, Li XY, Yang R, et al. Preparation and improvement of skin lesions in mice with psoriasis by *Ai Pei Huang* cream [J]. *Shizhen Med Mater Med Res*, 2024, 35(3): 625-628.
 - 16 Han J, Pang X, Zhang Y, et al. Hirudin protects against kidney damage in streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats by inhibiting inflammation *via* P38 MAPK/NF- κ B pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 3223-3234.
 - 17 史玉玲, 陈文娟. 银屑病共病的现状与诊治[J]. *诊断学理论与实践*, 2023, 22(3): 221-229.
 - Shi YL, Chen WJ. Current status and diagnosis and treatment of psoriasis co-morbidity [J]. *J Diagnost Concepts Pract*, 2023, 22(3): 221-229.
 - 18 张中华, 闫小宁, 黄雪英, 等. 银屑病中医药动物模型的研究进展[J]. *河北中医*, 2023, 45(11): 1916-1919.
 - Zhang ZH, Yan XN, Huang XY, et al. Research progress of animal model of psoriasis in Chinese medicine [J]. *Hebei Tradit Chin Med*, 2023, 45(11): 1916-1919.
 - 19 于博, 韩建文. 银屑病动物模型研究进展[J]. *皮肤病与性病*, 2022, 44(4): 290-296.
 - Yu B, Han JW. Progress in animal modeling of psoriasis [J]. *Dermat Venere*, 2022, 44(4): 290-296.
 - 20 陈柏林, 董晓宛, 张维明, 等. 清热凉血类方治疗银屑病的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(1): 297-303.
 - Chen BL, Dong XW, Zhang WM, et al. Research progress of heat-clearing and blood-cooling analogous formulae for the treatment of psoriasis [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2024, 39(1): 297-303.
 - 21 赵亚, 吴亚运, 刘丽娟, 等. 咪喹莫特致不同免疫状态小鼠银屑病模型比较研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(6): 41-47.
 - Zhao Y, Wu YY, Liu LJ, et al. Comparative study of psoriasis model in mice with different immune status caused by imiquimod [J]. *Chin J Comp Med.*, 2022, 32(6): 41-47.
 - 22 孔令阳, 吴玮, 李琛良, 等. 大麻二酚对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病的改善作用[J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(6): 1369-1374.
 - Kong LY, Wu W, Li CL, et al. Ameliorative effect of cannabidiol on imiquimod-induced psoriasis in mice [J]. *Drugs Clin.*, 2024, 39(6): 1369-1374.
 - 23 何金, 赵恒光, 任先志, 等. 黄芪注射液对Balb/c裸鼠银屑病模型的皮损程度及Caspase-14、SOCS1、STAT3水平的影响[J]. *海南医学院学报*, 2019, 25(6): 410-413.
 - He J, Zhao HG, Ren XZ, et al. Effects of *Astragalus* injection on the extent of skin lesions and levels of Caspase-14, SOCS1 and STAT3 in Balb/c nude mice psoriasis model [J]. *J Hainan Med Coll*, 2019, 25(6): 410-413.
 - 24 泰刚, 李洋, 杨志敏, 等. 银屑病(血热证)豚鼠复合模型的建立及评价研究[J]. *药物评价研究*, 2020, 43(11): 2176-2180.
 - Tai G, Li Y, Yang ZM, et al. Establishment and evaluation study of a guinea pig composite model of psoriasis (blood-heat syndrome) [J]. *Drug Eval. Res*, 2020, 43(11): 2176-2180.
 - 25 伍长娟, 沈娟. 盐酸普萘洛尔造模周期对豚鼠银屑病模型的影响[J]. *承德医学院学报*, 2015, 32(5): 374-376.
 - Wu CJ, Shen J. Effects of propranolol hydrochloride modeling cycle on guinea pig psoriasis model [J]. *J Chengde Med Coll*, 2015, 32(5): 374-376.
 - 26 夏立君, 张彦波. 祛风地黄汤对银屑病模型小鼠皮损的改善作用[J]. *中国药业*, 2021, 30(24): 59-64.
 - Xia LJ, Zhang YB. Improvement of skin lesions in psoriasis model mice by dispelling wind and dihuang soup [J]. *China Pharm*, 2021, 30(24): 59-64.
 - 27 Liu W, Wang Y, Zhang Y, et al. Rh family C glycoprotein contributes to psoriatic inflammation through regulating the dysdifferentiation and cytokine secretion of keratinocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2024, 114(1): 2-12.
 - 28 Cai Y, Xue F, Quan C, et al. A critical role of the IL-1 β -IL-1R signaling pathway in skin inflammation and psoriasis pathogenesis [J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(1): 146-156.
 - 29 Hirano S, Zhou Q, Furuyama A, et al. Differential regulation of IL-1 β and IL-6 release in murine macrophages [J]. *Inflammation*, 2017, 40(6): 1933-1943.