

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.13.012

实验研究

外湿因素诱导下银屑病脾虚湿阻证 病证结合大鼠模型的建立

张雅婷¹, 苏浩杰², 刘凡露², 周攀宇², 汪晴², 张骏鸿³, 吴晶晶³, 韩凌^{4,5}✉

1. 广州中医药大学东莞医院, 广东省东莞市东城街道松山湖大道东城段3号, 523000; 2. 广州中医药大学第二临床医学院;
3. 广州中医药大学第二附属医院省部共建中医湿证国家重点实验室; 4. 中医药广东省实验室(横琴实验室); 5. 广东省中医药科学院

[摘要] **目的** 构建外湿型银屑病脾虚湿阻证病证动物模型并对其进行评价。**方法** 22只SD大鼠随机分为正常对照组3只、寻常型银屑病组5只、外湿型脾虚湿阻证组7只、外湿型银屑病脾虚湿阻证组7只。采用人工模拟高湿环境32周建立外湿型脾虚湿阻证大鼠模型, 外涂咪喹莫特乳膏7天建立寻常型银屑病大鼠模型, 并二者结合构建外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠模型。正常组大鼠饲养于正常湿度环境。观察大鼠整体状态、舌象变化评价大鼠宏观证候表现; 通过脂肪组织和肝脏组织变化评价大鼠微观证候表现; 通过皮肤病理变化、银屑病面积和严重程度指数(PASI)、增殖细胞核抗原(PCNA)表达和脾脏组织变化评价大鼠银屑病严重程度; 通过流式细胞术检测大鼠CD4⁺干扰素- γ ⁺细胞(CD4⁺IFN- γ ⁺细胞)、CD4⁺肿瘤坏死因子- α ⁺细胞(CD4⁺TNF- α ⁺细胞)和叉头框蛋白P3⁺调节性T细胞(CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg细胞)变化。**结果** 在宏观表现上, 外湿型脾虚湿阻证组大鼠及外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠均出现精神萎靡、扎堆嗜睡、毛发枯黄且杂乱无光等脾虚湿阻证表现, 部分可见软便稀便、肛周污秽; 外湿型脾虚湿阻证组及外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠均可见舌体胖大, 舌质淡而胖润, 舌面水滑。在微观表现上, 与寻常型银屑病组比较, 外湿型银屑病脾虚湿阻证组附睾脂肪指数上升($P<0.05$); 与正常对照组和外湿型脾虚湿阻证组大鼠比较, 外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠脾脏质量显著上升($P<0.05$); 各组大鼠肝脏表观及HE染色表明肝脏组织无明显病变。大鼠背部皮损表观可见外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠背部皮损情况较寻常型银屑病组大鼠明显加重。与正常对照组及外湿型脾虚湿阻证组比较, 寻常型银屑病组和外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠红斑评分、鳞屑评分、浸润评分、PASI总分以及CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg细胞比例均显著升高($P<0.05$), 皮肤表皮基底层及真皮层均可见PCNA阳性表达明显增多; 与外湿型脾虚湿阻证组比较, 外湿型银屑病脾虚湿阻证组CD4⁺TNF- α ⁺细胞比例显著上升($P<0.05$); 各组间CD4⁺IFN- γ ⁺细胞比例无显著差异($P>0.05$)。**结论** 采用人工模拟高湿环境结合咪喹莫特诱导可成功构建银屑病外湿型银屑病脾虚湿阻证病证结合大鼠模型。

[关键词] 银屑病; 脾虚湿阻证; 病证结合动物模型; 大鼠

银屑病是一种慢性、复发性自身免疫性疾病, 全球发病率呈逐年上升趋势^[1]。因其具有病程长、反复发作、迁延不愈的发病特点, 对患者日常生活及心理健康造成严重影响。中医药治疗银屑病具有

多靶点作用、整体调节的优势, 是目前治疗银屑病的较好选择^[2-3]。岭南地区气候潮湿多雨, 易外感湿邪; 加之岭南人嗜食鱼虾、冷饮及甜腻碍胃之物, 易伤脾胃, 导致湿从内生^[4]。脾脏喜燥恶湿, 湿气胜则阻遏脾气, 脾脏虚弱加外湿侵袭造成了岭南人“脾虚湿阻”的中医体质特征^[5], 岭南地区银屑病患者也大多兼有肢体困倦、口中黏腻、食少纳呆等脾虚湿阻的特点^[6]。银屑病患者斑块肥厚浸

基金项目: 国家自然科学基金(82374313); 广东省科技计划项目(2020B1111100006, 2023B1212060063); 广州市科技计划项目(202201020332); 省部共建中医湿证国家重点实验室专项(SZ2021ZZ29); 广东省中医院拔尖人才科研专项(BJ2022KY05)

✉ 通讯作者: linghan99@gzucm.edu.cn

润、反复难愈也是“湿性重浊黏滞”的表现^[7]。多项研究^[5, 8-9]表明,临床银屑病的治疗中重视健脾祛湿,可显著改善患者的皮损症状。因此,深入探究脾虚湿阻证在银屑病发病机制中的作用具有重要的理论和临床意义。在这一研究过程中,基于临床中西医病证特点,建立既符合银屑病现代医学诊断标准又能充分体现中医证候特征的银屑病脾虚湿阻证动物模型,成为开展相关研究的必要前提和关键环节。

中医湿证包括内湿和外湿,内湿主要为肥甘厚腻等高脂饮食引起的脾虚湿困,外湿则主要为湿热环境对机体的长期影响。课题组前期已成功建立银屑病脾虚湿阻证(内湿型)的病证结合模型^[10-11],本研究根据气候潮湿、久居湿地的外湿病因致病原理,采用人工模拟潮湿环境结合咪喹莫特诱导建立银屑病脾虚湿阻证(外湿型)病证结合大鼠模型,并从病证结合角度对银屑病脾虚湿阻证大鼠模型进行评价,以期为中医药治疗银屑病的药理研究奠定基础。本实验已通过广东省中医院实验动物伦理委员会审查(动物伦理审批号 2021088)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 22 只,9 周龄,体质量(250±20) g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物合格证号 4472000101534。饲养于广东省医学实验动物中心,分笼饲养,自由饮水与进食,温度 22~25℃,相对湿度为(50±5)%,保持 12 h 照明、12 h 黑暗。

1.2 药物与试剂

脱毛膏(美国 Nair 公司,货号:NRSL-22329-05/70501347);5%咪喹莫特乳膏(四川明欣药业有限责任公司,3 g/支,货号:40210904);戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司,货号:SHBD9166V);CD3、CD4、CD16/CD32、叉头框蛋白 P3 (FOXP3)、干扰素 γ (IFN- γ) 单克隆抗体(美国 eBioscience 公司,货号分别为 46-0030-82、11-0040-82、14-0161-85、12-5773-82、50-7310-80);仓鼠抗大鼠/小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 抗体、白细胞活化刺激剂、固定和破膜液(美国 BD Bioscience 公司,货号分别为 559503、550583、554722);增殖细胞核抗原(PCNA)抗体(美国 CST 公司,货号:13110),即用型快捷免疫组化 MaxVision™ HRP 试剂盒(羊)、DAB 显色试剂盒(福州迈新生物科技有限公司,

货号分别为 KIT-5005、DAB-1031)。

1.3 仪器

Novo Quanteon 型流式细胞分析仪(美国 Agilent 公司);LRH-800A-HSE 型人工气候模拟箱(广东泰宏君科学仪器股份有限公司);SYNERGY H1 型多功能酶标仪(美国 Biotek 公司);BX53 型正置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);GPskin Barrier 型皮肤屏障功能测定仪(韩国 GPskin 公司);ME203E/02 型电子天平(中国梅特勒托利多有限公司)。

1.4 分组与模型建立

22 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,采用随机数字表法分为正常对照组 3 只、寻常型银屑病组 5 只、外湿型脾虚湿阻证组 7 只,外湿型银屑病脾虚湿阻证组 7 只。正常对照组饲养于相对湿度为(50±5)%的环境中,外湿型脾虚湿阻证组及外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠每日 8 点至 20 点置于恒温恒湿人工气候箱中模拟高湿环境刺激 12 h,相对湿度 90%~95%,温度 23~25℃;每日 20 点至次日 8 点置于常温常湿环境中常规饲养 12 h,饲养笼中加水浸湿垫料,持续 32 周。从第 31 周起,各组大鼠均采用动物电推剪将其背部约 3 cm×3 cm 区域的毛剔除备皮,寻常型银屑病组及外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠每日于背部脱毛区域涂抹 150 mg 5%咪喹莫特软膏,连续涂抹 7 天构建银屑病模型^[12]。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 整体状态观察 造模期间持续观察大鼠精神状态、毛发洁净度、反应灵敏度以及粪便形态变化。当大鼠出现精神萎靡不振、扎堆蜷缩、反应迟钝懒动、大便质软以及毛发污秽油腻等表现时,认为脾虚湿阻证模型建立成功^[13-16]。

1.5.2 舌象观察 在 32 周造模结束后,腹腔注射 2%戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠。大鼠麻醉完全后,用镊子轻轻夹住大鼠舌尖拉出,在固定光源及固定拍摄条件下采集大鼠舌象图像,观察大鼠舌质、舌体及舌苔等特征。舌象观察结束后进行大鼠背部皮损程度评价,随后处死大鼠,进行其他指标检测。

1.5.3 银屑病皮损程度评价 拍照记录大鼠背部皮损情况,采用银屑病面积和严重程度指数(PASI)^[12]从红斑、鳞屑以及浸润三个方面对大鼠背部皮损严重程度进行评价。评分标准:0 分(无症状),1 分(轻微),2 分(显著),3 分(严重),4 分(非常严重)。三方面评分总和即为 PASI 总分。

1.5.4 脂肪组织、肝脏和脾脏变化观察 完整分离大鼠附睾脂肪组织，电子天平称重，计算附睾脂肪指数。附睾脂肪指数=（脂肪质量/体质量）×100%。完整分离大鼠肝脏，拍照记录大鼠肝脏形态变化，电子天平称重，计算肝脏指数。肝脏指数=（肝脏质量/体质量）×100%。切取约 200 mg 保存于多聚甲醛组织固定液中，进行后续病理分析。完整分离大鼠脾脏，拍照记录大鼠脾脏形态变化，电子天平称重，计算脾脏指数。脾脏指数=（脾脏质量/体质量）×100%。

1.5.5 HE 染色法观察大鼠背部皮损组织及肝脏病理变化 大鼠背部银屑病样皮损组织及肝脏于自动脱水机脱水，石蜡包埋，切片机将组织切成 4 μm 厚的切片，脱蜡后进行 HE 染色，显微镜下观察皮肤组织表皮增厚、角化过度、角化不全以及 Munro 微脓肿等病理变化^[12]，以及肝脏病理变化和脂质沉积情况。

1.5.6 免疫组化法检测大鼠背部皮损组织 PCNA 表达 大鼠皮损组织切片进行脱蜡水化，微波抗原修复，3% 过氧化氢浸泡切片 10 min 以阻断内源性过氧化酶活性，5% 山羊血清封闭后，切片滴加 PCNA 抗体（1：2000）后置于湿盒中过夜孵育，辣根过氧化物酶（HRP）标记的山羊抗兔二抗（1：500）孵育后进行 DAB 显色，正置显微镜下观察皮损组织中 PCNA 阳性表达情况。

1.5.7 流式细胞仪检测大鼠免疫功能指标 分离大鼠腋下及腹股沟淋巴结，研磨淋巴结后用 300 目滤网过滤细胞悬液至 15 ml 离心管中得淋巴单细胞悬液。按照说明书加入 CD16/CD32 抗体进行封闭阻断，加入各流式抗体进行染色后上机检测各组大鼠免疫细胞（CD4⁺TNF-α⁺、CD4⁺IFN-γ⁺、CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg 细胞）情况。

1.6 统计学方法

采用 SPSS Statistics 26 软件和 Graphpad Prism 8.0 软件进行数据统计与分析、作图。计量数据以

均值±标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）表示。若数据满足正态分布，采用单因素 ANOVA 检验进行方差齐性检验，方差齐则用 Scheffe 法进行组间比较分析，若多组数据方差不齐时则采用 Dunnett's *T*⁸法进行组间比较分析；若计量数据不符合正态分布则采用 Kruskal-Wallis *H*法进行组间比较。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠整体状态及舌象观察结果比较

正常组大鼠精力充沛，活泼好动，毛发柔软密集有光泽，肛门洁净；舌质淡红，舌体大小适中。寻常型银屑病大鼠精神状态稍差，毛发微黄、略干枯杂乱，舌淡暗。外湿型脾虚湿阻证组大鼠造模后精神萎靡、怠惰少动、扎堆嗜睡、活动度低、毛发发黄且干枯杂乱、无光泽，部分大鼠可见软便稀便、肛周污秽。外湿型脾虚湿阻证组及外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠舌体较胖大，舌质淡而胖润，舌面水滑，但两组间舌象无明显差异；外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠毛发更加发黄杂乱（见附图 1、附图 2，请扫描本文二维码获取）。

正常对照组大鼠粪便性状正常，呈长椭圆形，质地坚硬；寻常型银屑病组大鼠粪便呈长条形，质地软硬适中；与正常对照组大鼠比较，外湿型脾虚湿阻证组大鼠粪便外观较湿润，质地较柔软，而外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠粪便稀，外观更加湿润，质地柔软粘黏（见附图 3，请扫描本文二维码获取）。

2.2 各组大鼠附睾脂肪组织、肝脏组织和脾脏组织变化情况比较

表 1 示，与寻常型银屑病组比较，外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠附睾脂肪指数显著增加（*P*<0.05）；与正常对照组和外湿型脾虚湿阻证组大鼠比较，外湿型银屑病脾虚湿阻证组脾脏质量显著增加（*P*<0.05）；其他指标各组间比较，差异均无统计学意义（*P*>0.05）。

各组大鼠肝脏表面均无明显病变，各组间肝脏

表 1 各组大鼠附睾脂肪指数、肝脏指数、脾脏质量和脾脏指数比较

Table 1 Comparison of epididymal fat index, liver index, spleen mass and splenic index of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	附睾脂肪指数/mg·g ⁻¹	肝脏指数/mg·g ⁻¹	脾脏质量/g	脾脏指数/mg·g ⁻¹
正常对照组	3	0.015±0.003	0.024±0.001	1.015±0.134	1.613±0.125
外湿型脾虚湿阻证组	7	0.019±0.007	0.025±0.002	1.041±0.204	1.575±0.234
寻常型银屑病组	5	0.010±0.003	0.022±0.001	1.098±0.146	1.821±0.143
外湿型银屑病脾虚湿阻证组	7	0.016±0.003 ^{a)}	0.026±0.005	1.416±0.343 ^{b) c)}	2.195±0.702

注：a) 与寻常型银屑病组比较，*P*<0.05；b) 与正常对照组比较，*P*<0.05；c) 与外湿型脾虚湿阻证组比较，*P*<0.05。

大小无明显差别,呈红棕色,表面光滑,质地柔软有光泽(见附图4,请扫描本文二维码获取)。图1示,各组大鼠肝脏组织HE染色结果可见肝脏组织结构清晰完整,肝细胞排列整齐,肝索及肝窦围绕中央静脉呈放射状排列,未显示脂肪变性、炎性细胞浸润等病变。

2.3 各组大鼠背部皮损情况及PASI评分比较

正常对照组及外湿型脾虚湿阻证组大鼠背部皮肤光滑平整,未见红斑、鳞屑、出血等症状;寻常型银屑病组大鼠背部皮损区域呈淡红色,明显可见附着白色片状鳞屑;外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠背部皮损区域均呈暗红色,可见大片肥厚鳞屑,触之干硬,皮损区域明显隆起,隆起明显高于正常对照组及寻常型银屑病组,部分大鼠皮损处可见裂隙及出血点(见附图5,请扫描本文二维码获取)。

表2示,与正常对照组和外湿型脾虚湿阻证组比较,寻常型银屑病组、外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠红斑评分、鳞屑评分、浸润评分和PASI总分均显著上升($P<0.05$)。与寻常型银屑病组比较,外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠红斑评分、鳞

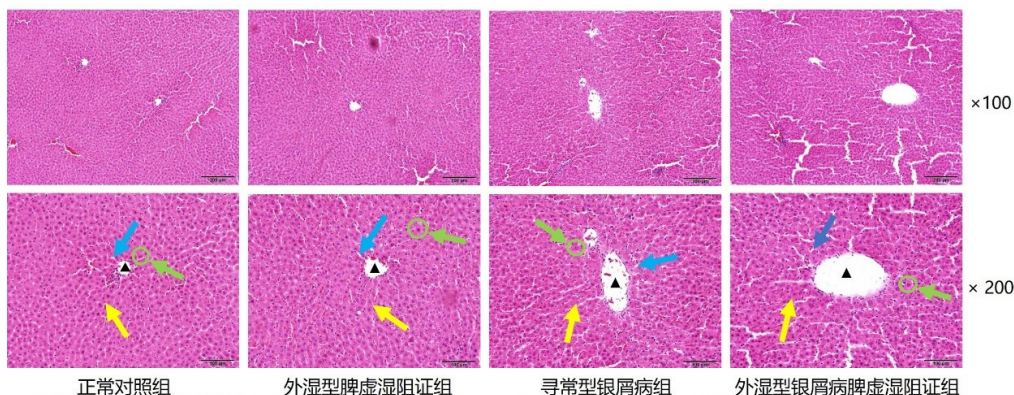
屑评分、浸润评分和PASI总分差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 各组大鼠皮损组织病理学变化比较

图2示,正常对照组大鼠及外湿型脾虚湿阻证组大鼠皮肤结构正常,细胞排列较为紧密,皮肤表皮层及真皮层较薄;咪喹莫特造模7天后,寻常型银屑病组及外湿型银屑病脾虚湿阻证组均出现了明显银屑病样皮损的组织病理学特征,表现为表皮及真皮层明显增厚,细胞排列紊乱,真皮层可见大量炎性细胞浸润;与寻常型银屑病组比较,外湿型银屑病脾虚湿阻证组表皮增厚更多,另可见大量角化不全细胞,皮下有少量出血点,炎性细胞浸润明显增多。

2.5 各组大鼠皮损组织PCNA阳性表达比较

图3示,正常组及外湿型脾虚湿阻证组大鼠皮肤表皮可见少量PCNA阳性表达,零散分布。与正常对照组及外湿型脾虚湿阻证组比较,寻常型银屑病组和外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠皮肤表皮基层及真皮层均可见PCNA阳性表达明显增多。外湿型银屑病脾虚湿阻证组大鼠PCNA阳性表达细胞较寻常型银屑病组更多。



注:黑色三角形所标注为中央静脉,绿色箭头所指为肝细胞,黄色箭头所指为肝索,蓝色箭头所指为肝窦。

图1 各组大鼠肝脏组织HE染色结果

Figure 1 HE staining results of rat liver tissue in each group

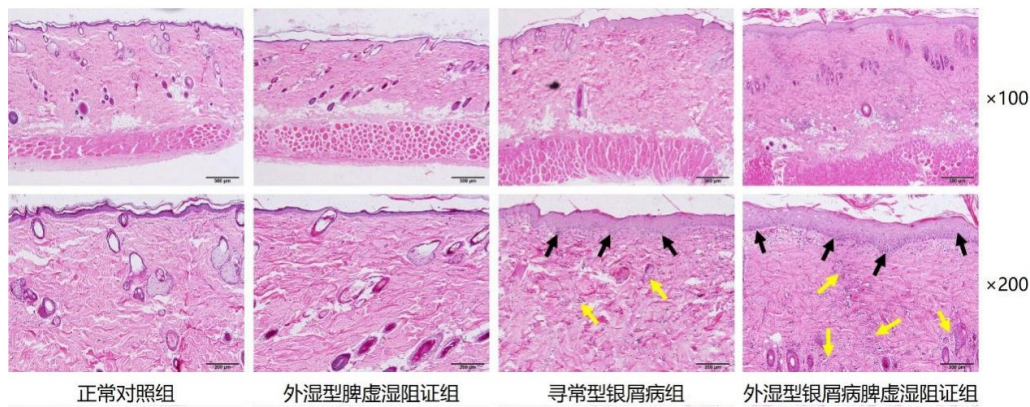
表2 各组大鼠背部皮损红斑评分、鳞屑评分、浸润评分及PASI总分比较

Table 2 Comparison of erythema scores, scaling scores, infiltration scores and total PASI scores of dorsal skin lesions of rats in each group (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	红斑评分	鳞屑评分	浸润评分	PASI总分
正常对照组	3	0	0	0	0
外湿型脾虚湿阻证组	7	0	0	0	0
寻常型银屑病组	5	2.80±0.45 ^{a) b)}	3.20±0.84 ^{a) b)}	3.20±0.45 ^{a) b)}	9.20±0.84 ^{a) b)}
外湿型银屑病脾虚湿阻证组	7	3.43±0.79 ^{a) b)}	3.71±0.49 ^{a) b)}	3.71±0.49 ^{a) b)}	10.86±1.22 ^{a) b)}

注: PASI, 银屑病面积和严重程度指数。

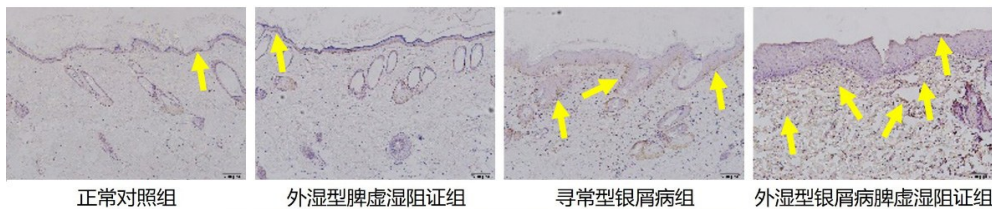
a) 与正常对照组比较, $P<0.05$; b) 与外湿型脾虚湿阻证组比较, $P<0.05$ 。



注：黑色箭头所指为表皮增厚，黄色箭头所指为炎性细胞浸润。

图2 各组大鼠皮损组织 HE 染色结果

Figure 2 HE staining results of skin lesion tissues of rats in each group



注：PCNA，增殖细胞核抗原；黄色箭头所指为 PCNA 阳性表达。

图3 各组大鼠皮损组织 PCNA 免疫组化结果 (×200)

Figure 3 Immunohistochemical results of PCNA in skin lesion tissues of rats in each group (×200)

2.6 各组大鼠淋巴结 CD4⁺IFN- γ ⁺、CD4⁺TNF- α ⁺和 CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg 细胞比例比较

表3、图4示，与外湿型脾虚湿阻证组比较，外湿型银屑病脾虚湿阻证组 CD4⁺TNF- α ⁺细胞比例显著上升 ($P<0.05$)。与正常对照组及外湿型脾虚湿阻证组比较，外湿型银屑病脾虚湿阻证组 CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg 细胞比例显著升高 ($P<0.05$)。与寻常型银屑病组比较，外湿型银屑病脾虚湿阻证组 CD4⁺TNF- α ⁺细胞、CD4⁺IFN- γ ⁺细胞和 CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg 细胞比例有上升趋势，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨论

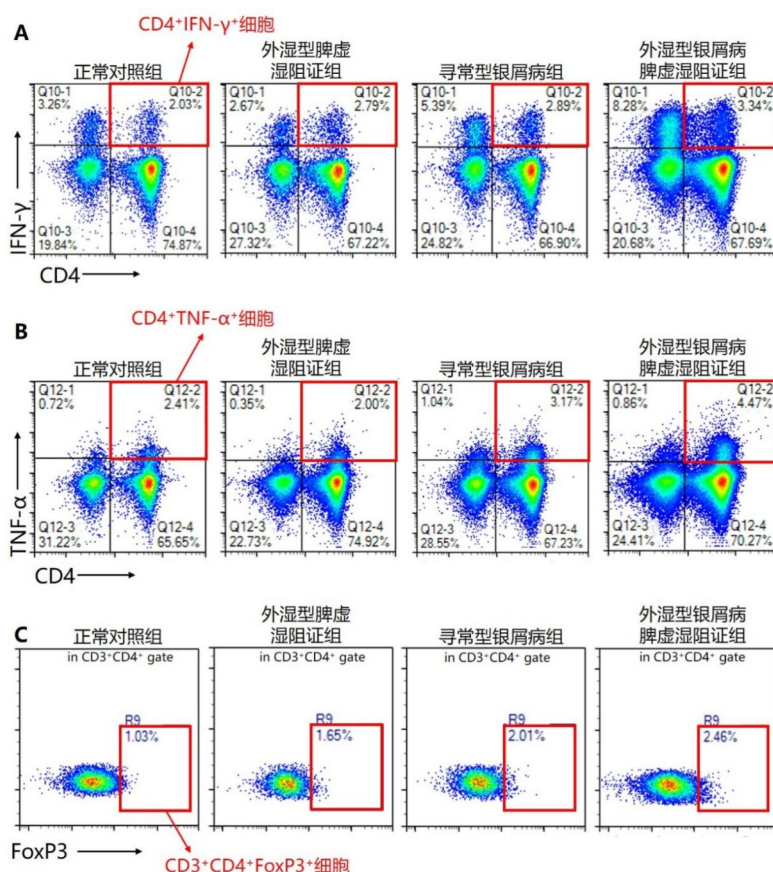
中医证候和体质的形成是一个长期、漫长的过程，目前报道的脾虚湿阻证动物模型造模时间均较短^[17]，比较容易自然恢复，故需摸索符合临床发病过程的动物模型。本研究通过人工气候箱加水湿垫料模拟长期高湿环境，结合咪喹莫特软膏诱导构建外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠模型。在宏观表现上，外湿型脾虚湿阻证大鼠及外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠模型均可观察到食少纳呆、毛发发黄无光、干枯杂乱、精神萎靡、蜷缩扎堆、懒惰少动、便溏等脾虚湿阻证中医证候特征，还可观察到与中

表3 各组大鼠淋巴结 CD4⁺IFN- γ ⁺、CD4⁺TNF- α ⁺和 CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg 细胞比例比较

Table 3 Comparison of changes in the proportions of CD4 ⁺ IFN- γ ⁺ , CD4 ⁺ TNF- α ⁺ , and CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺ Treg cells in the lymph nodes of rats in each group (%) , $\bar{x}\pm s$				
组别	鼠数	CD4 ⁺ IFN- γ ⁺	CD4 ⁺ TNF- α ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺ Treg
正常对照组	3	1.920±0.472	2.970±0.598	1.417±0.363
外湿型脾虚湿阻证组	7	2.130±0.769	2.886±1.221	1.627±0.177
寻常型银屑病组	5	2.454±0.715	3.380±0.657	1.884±0.435
外湿型银屑病脾虚湿阻证组	7	3.071±0.450	4.566±0.866 ^{a)}	2.328±0.174 ^{a) b)}

注：IFN- γ ，干扰素- γ ；TNF- α ，肿瘤坏死因子- α ；FoxP3，叉头框蛋白 P3；Treg，调节性 T 细胞。

a) 与外湿型脾虚湿阻证组比较， $P<0.05$ ；b) 与正常对照组比较， $P<0.05$ 。



注: IFN-γ, 干扰素-γ; TNF-α, 肿瘤坏死因子-α; FoxP3, 叉头框蛋白 P3; Treg, 调节性 T 细胞。A: CD4⁺IFN-γ⁺ 细胞密度图 (由 NovoExpress 软件生成; Q10-2, CD4⁺IFN-γ⁺ 细胞); B: CD4⁺TNF-α⁺ 细胞面密度图 (由 NovoExpress 软件生成; Q12-2, CD4⁺TNF-α⁺ 细胞); C: CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ Treg 细胞密度图 (由 NovoExpress 软件生成; R9, CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ 细胞)。

图 4 各组大鼠淋巴结 CD4⁺IFN-γ⁺、CD4⁺TNF-α⁺ 和 CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ Treg 细胞表达情况 (流式细胞密度图)

Figure 4 Expression of CD4⁺IFN-γ⁺, CD4⁺TNF-α⁺, and CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ Treg cells in the lymph nodes of rats in each group (flow cytometric densitygram)

医脾虚湿阻证较一致的舌象表现。在微观表现上, 外湿型银屑病脾虚湿阻证较寻常型银屑病大鼠附睾脂肪指数显著上升, 但肝脏未显示脂肪变性、炎性细胞浸润等病变情况。外湿因素诱导脾虚湿阻证后, 大鼠内脏脂肪含量较高可能是由于在高湿环境下, 影响了大鼠的脾胃运化功能, 痰湿积聚在机体内表现为附睾脂肪沉积、附睾脂肪指数上升。中医学认为, 脾虚湿邪壅盛, 阻滞气机, 水谷津液不归正化, 内湿蓄积, 湿聚成痰, 痰湿积聚产生的病理产物即体现为脂肪组织的脂质沉积^[18]。

在银屑病皮损表现上, 外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠表现出比寻常型银屑病大鼠更严重的银屑病皮损病理表现。此外, PCNA 在细胞增殖的启动方面起重要作用, 是反映细胞增殖状态的良好指标, 在银屑病皮损中 PCNA 表达常异常增高, 目前已被广泛应用于银屑病皮损模型评价中^[19]。外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠皮肤 PCNA 阳性表达增多, 表

明大鼠皮损部位角质细胞过度增殖。研究^[20-22]报道咪喹莫特诱导的银屑病动物模型一般在造模第 6 到 7 天皮损反应和炎症反应均达到顶峰, 从第 8 天开始皮损、红斑、炎症反应会逐渐消退, 鳞屑开始逐渐脱落。在外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠模型中, 直至造模第 8 天, 背部仍覆盖厚厚的鳞屑, 皮肤呈暗红色, 触之浸润感强, 未观察到鳞屑和皮损消退的迹象, 与临床中“湿”致银屑病皮损肥厚浸润、缠绵难愈的特点相符。同时, 脾脏运化功能虚弱, 致津液代谢输布障碍则生内湿。湿邪黏滞聚集, 阻滞气机, 阻碍津液正常敷布, 精微气血不能濡养肌肤, 则产生银屑病皮肤上覆干燥鳞屑之象^[23]。

在免疫功能表现上, 外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠可观察到炎症反应异常活跃, 表现为 CD4⁺TNF-α⁺ 细胞显著升高, 表明外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠 TNF-α 分泌增多。TNF-α 具有调节炎症、凋亡、趋化因子产生和代谢等多种生物活性, 是银屑病发病

机制中重要的炎症因子之一,也是治疗银屑病的重要靶点^[24]。在银屑病病理过程中,T细胞免疫反应被激活,进而产生包括IFN- γ 在内的炎性细胞因子分泌。研究发现,IFN- γ 可以促进多种细胞因子、趋化因子和黏附分子的释放,推动银屑病发病进程^[25]。同时,由于IFN- γ 与PASI评分呈正相关,IFN- γ 可作为银屑病严重程度和预后的重要生物标志物^[26]。因此,本研究将TNF- α 和IFN- γ 作为外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠模型的重要评价指标。Treg细胞属于CD4⁺T细胞的亚群,主要功能是抑制免疫反应,维持免疫稳态。与寻常型银屑病组大鼠比较,外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠Treg细胞表达显著上升,可能是因为在接受强烈的T细胞受体刺激后,Treg细胞生成增多以抑制T细胞活化,维持自身免疫稳态,表现为其特异性标志物FoxP3表达增多^[27]。以上结果表明外湿型银屑病脾虚湿阻证模型大鼠机体免疫反应和炎症反应异常活跃。此外,脾脏指数与免疫功能强弱成正比,在银屑病病理过程中,脾脏指数可反映银屑病的严重程度^[28]。免疫系统异常活跃可能是外湿型银屑病脾虚湿阻证大鼠银屑病皮损比寻常型银屑病大鼠更加严重的原因之一。本研究还可观察到外湿型银屑病脾虚湿阻证模型大鼠脾脏较正常对照组和外湿型脾虚湿阻证组质量增加,而脾脏指数有上升的趋势但差异无统计学意义,表明免疫系统亦有一定程度的异常活化。

综上所述,本研究基于“气候潮湿,久居湿地”外湿致病环境构建了银屑病脾虚湿阻证(外湿型)病证结合大鼠模型,通过宏观指标、微观指标对模型进行评价,证实外湿因素叠加咪喹莫特的病证结合大鼠模型符合银屑病脾虚湿阻证的病因病机和临床特点,可作为较理想的病证结合模型制备方法。在本研究中仅对银屑病脾虚湿阻证大鼠模型的中医证候表现和疾病微观表现进行评价,未进行“以方测证”的进一步验证,在之后的研究中可结合方药疗效进行反向推理,方证对应印证模型的证候属性,为银屑病脾虚湿阻证动物模型的证候评价标准和应用提供充分的科学证据。

参考文献

- [1]张红霞,王丽新.银屑病流行病学及危险因素研究进展[J].宁夏医学杂志,2023,45(7):670-672.
- [2]刘柳,孙晓颖,莫美,等.中医药临床优势病种探讨:银屑病[J].中国实验方剂学杂志,2025,31(5):260-268.
- [3]LI T, GAO S, HAN W, et al. Potential effects and mechanisms of Chinese herbal medicine in the treatment of psoriasis [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 294: 115275. doi: 10.1016/j.jep.2022.115275.
- [4]贺友,李红毅,霍景山,等.岭南地区皮肤溃疡患者的临床特征及中医证型分布研究[J].广州中医药大学学报,2024,41(8):1978-1983.
- [5]余沐原,罗亚,闫玉红,等.卢传坚从脾虚湿瘀论治岭南地区银屑病思路探讨[J].广州中医药大学学报,2023,40(9):2342-2347.
- [6]张超.卢传坚教授治疗岭南地区银屑病经验介绍[J].新中医,2009,41(1):16-17.
- [7]郭洁,卢传坚.从标到本:论银屑病复发之本质[J].广州中医药大学学报,2024,41(10):2621-2624.
- [8]刘少芬,郭岱炯,杨玉峰,等.健脾祛湿颗粒联合卡泊三醇软膏治疗银屑病湿热蕴阻证50例[J].湖南中医杂志,2023,39(11):8-12.
- [9]张蕊,闵仲生.闵仲生从脾论治寻常型银屑病经验[J].山东中医药大学学报,2018,42(4):330-331,341.
- [10]张雅婷,张骏鸿,汪晴,等.高脂饮食诱导脾虚湿阻型(内湿型)银屑病小鼠模型的建立及评价[J].中药新药与临床药理,2023,34(9):1255-1264.
- [11]刘凡露,苏浩杰,周攀宇,等.脾虚湿阻型银屑病病证结合小鼠模型的系统评价研究[J].中药新药与临床药理,2024,35(10):1470-1482.
- [12]VAN DER FITS L, MOURITS S, VOERMAN JS, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis [J]. J Immunol, 2009, 182(9): 5836-5845.
- [13]黎创,徐鹏,田瑞敏,等.中医湿证动物模型宏观评价工具的研制[J].中医杂志,2024,65(14):1449-1457.
- [14]王启航,陆瑞敏,陈萌,等.4种脾虚造模法的横向对比研究[J].天津中医药,2022,39(2):238-243.
- [15]钟婷靖,刘秦,黎雄,等.特异性皮炎脾虚湿蕴病证结合动物模型的构建与评价[J].中药新药与临床药理,2024,35(6):862-869.
- [16]吴汶丰,余彦栩,吴清,等.特异性皮炎寒湿证病证结合小鼠模型的构建研究[J].中国中医基础医学杂志,2024,30(9):1500-1507.
- [17]吴清,莫秀梅,陈达灿,等.中医湿证动物模型的研究进展[J].世界中医药,2022,17(8):1184-1191.
- [18]任爽,刘妍彤,张杰.痰湿现代医学本质述析[J].中国中医基础医学杂志,2021,27(9):1515-1518.
- [19]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.
- [20]张雅婷.昆仙胶囊对咪喹莫特诱导的银屑病小鼠模型Th17细胞的调控机制研究[D].上海:上海中医药大学,2020.

- [21]李小琼. 紫草素通过 PKM2-TH17 途径缓解酒精加重的咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样皮炎 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2022.
- [22]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.
- [23]杨丽娟, 韩舒敏, 陈慧玲, 等. 银屑病从湿论治浅述 [J]. 新中医, 2021, 53(19): 221-224.
- [24]GISONDI P, GEAT D, CONTI A, et al. TNF- α inhibitors biosimilars as first line systemic treatment for moderate-to-severe chronic plaque psoriasis [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2020, 16(6): 591-598.
- [25]MADONNA S, SCARPONI C, SESTITO R, et al. The IFN-gamma-dependent suppressor of cytokine signaling 1 promoter activity is positively regulated by IFN regulatory factor-1 and Sp1 but repressed by growth factor independence-1b and Krüppel-like factor-4, and it is dysregulated in psoriatic keratinocytes [J]. J Immunol, 2010, 185(4): 2467-2481.
- [26]ABDALLAH MA, ABDEL-HAMID MF, KOTB AM, et al. Serum interferon-gamma is a psoriasis severity and prognostic marker [J]. Cutis, 2009, 84(3): 163-168.
- [27]LEE GR. The Balance of Th17 versus Treg Cells in Autoimmunity [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3): 730.
- [28]SULTHANA S, CHARY PS, BHAVANA V, et al. Development and evaluation emulgel for effective management of the imiquimod-induced psoriasis [J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(1): 301-320.

Establishment of Psoriasis Rat Model with Spleen Deficiency and Dampness Obstruction Syndrome Induced by External Dampness Factors

ZHANG Yating¹, SU Haojie², LIU Fanlu², ZHOU Panyu², WANG Qing², ZHANG Junhong³, WU Jingjing³, HAN Ling^{4,5}

1. Dongguan Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan, 523000; 2. The Second Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine; 3. State Key laboratory of Dampness Syndrome of Chinese Medicine, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine; 4. Guangdong Provincial Laboratory of Traditional Chinese Medicine (Hengqin Laboratory); 5. Guangdong Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To construct a rat model of psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type), and evaluate the macroscopic manifestations and microscopic indicators of the model. **Methods** Twenty-two SD rats were divided into normal group (n=3), common psoriasis group (n=5), spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group (n=7), and psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group (n=7). The spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) rat model was established through 32-week exposure to an artificially simulated high-humidity environment, while the common psoriasis model was developed via 7-day topical application of imiquimod cream, and these two approaches were combined to construct a composite model of psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type). Rats in the normal group were housed under normal humidity conditions. The general state, tongue manifestation of rats were observed to evaluate the macroscopic syndrome manifestations; the microscopic syndrome manifestations of rats were evaluated through adipose tissue and liver tissue changes; the severity of psoriasis in rats was evaluated through skin pathological changes, psoriasis area and severity index (PASI), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression and spleen tissue changes; changes in rat CD4⁺ interferon- γ ⁺ cells (CD4⁺IFN- γ ⁺ cells), CD4⁺ tumour necrosis factor- α ⁺ cells (CD4⁺TNF- α ⁺ cells), and forkhead framing protein P3⁺ regulatory T cells (CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ Treg cells) were detected by flow cytometry. **Results** Macroscopically, both the spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group and psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group exhibited manifestations of spleen deficiency and dampness obstruction, including lethargy, huddling behavior, dull and disheveled fur, as well as soft or loose stools and perianal soiling in some individuals; both these two groups displayed enlarged tongue, swollen, and moist tongue texture, accompanied by slippery tongue surface. Microscopically, compared to the common psoriasis group, the psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group showed increased epididymal fat index ($P < 0.05$); compared to the

normal group and spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group, the psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group demonstrated significantly elevated spleen mass ($P<0.05$), while hepatic gross morphology and HE staining revealed no significant histopathological changes across all groups. Dorsal skin lesions were markedly exacerbated in the psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group when compared to those in common psoriasis group. Both the common psoriasis group and psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group exhibited significantly higher erythema scores, scaling scores, infiltration scores, PASI total scores, and proportions of CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺Treg cells compared to the normal group and spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group ($P<0.05$), with pronounced PCNA-positive expression observed in the epidermal basal layer and dermis; the psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group displayed significantly increased proportions of CD4⁺TNF- α ⁺ cells compared to the spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) group ($P<0.05$); whereas no significant differences were detected in CD4⁺IFN- γ ⁺ cell proportions among groups ($P>0.05$). **Conclusion** The rat model of psoriasis with spleen deficiency and dampness obstruction syndrome (external dampness type) can be successfully constructed by artificially simulating a high-humidity environment combined with imiquimod induction.

Keywords psoriasis; spleen deficiency and dampness obstruction syndrome; animal model combination of disease and syndrome; rat

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-04-22)

[编辑: 焦爽]

广告

珍贵文献 临床科研必备《中医杂志》光盘合订本

《中医杂志》光盘检索系统收录了1951—2013年出版发行的《中医杂志》所有期刊(繁体字已转为简体字)。您可借助计算机阅读收录的任意一篇文章,而且可对光盘进行任意词或多组合条件检索,检索结果可以打印或下载保存。您可以在几秒钟内就能检索到某种疾病、某种疗法或某种药的相关文章,本光盘可按自然年、期排序,方便阅读与保存。1951—1986年光盘还收录了扫描的原文版面图像。

邮购地址:北京东直门内南小街16号中医杂志社,邮政编码:100700

电话:(010) 64035632 联系人:杨秋雷(请在汇款单附言栏写明购买者的电话)

1951—1986年光盘合订本每套(4张光盘)480元

1987—1994年光盘合订本每套(1张光盘)260元

1995—2004年光盘合订本每套(1张光盘)280元

2005—2013年光盘合订本每套(1张光盘)300元

欢迎关注《中医杂志》公众号