

热比姑丽·伊斯拉木,开丽比努尔·阿布莱提,阿布都帕塔尔·阿布迪热扎克,等. 银屑病小鼠行为学、血液及皮肤组织病理学指标检测与分析[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(2): 39-47.

Rabigul I, Kalbinur A, Abdupattar A, et al. Analysis of behavioral, serum, and skin histology tests in experimental psoriasis mice [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(2): 39-47.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.02.006

银屑病小鼠行为学、血液及皮肤组织病理学指标检测与分析

热比姑丽·伊斯拉木^{1,2*}, 开丽比努尔·阿布莱提³, 阿布都帕塔尔·阿布迪热扎克^{1,2},
尤力都孜·买买提^{1,2}, 玉素甫江·艾力^{1,2}, 买买提·艾力^{1,2}

(1.新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆维吾尔自治区方剂学实验室, 乌鲁木齐 830000;
3.新疆医科大学维吾尔医学院, 乌鲁木齐 830000)

【摘要】 目的 探讨银屑病小鼠行为学、血液及皮肤组织病理学指标的变化。**方法** 将 BALB/c 小鼠, 随机分为对照(Control)组、咪喹莫特诱导银屑病模型(imiquimod-induced psoriasis model, IMQ)组、焦虑复合咪喹莫特诱导银屑病模型(emotional stress complex imiquimod-induced psoriasis model, ES+IMQ)组, 随后观察各组小鼠旷场实验、Y 迷宫实验、血清 P 物质及皮肤组织病理学指标变化。**结果** 旷场实验, 与对照组比较, 总区域内 IMQ 组和 ES+IMQ 组总路程缩短, 平均速度降低, 停留时间延长; 中心区域内路程、停留时间缩短等; 边缘区域内路程、停留时间相对延长等。Y 迷宫实验, 与对照组比较, IMQ 组和 ES+IMQ 组新异臂进入次数百分比、新异臂停留时间百分比下降等。血清 P 物质, 与对照组比较, IMQ 组小鼠血清 P 物质浓度升高, ES+IMQ 组小鼠血清 P 物质浓度降低, 且两个模型组有统计学差异。皮肤组织病理学结果显示, 与对照组比较, IMQ 组和 ES+IMQ 组均可出现银屑病样皮肤组织病理学改变, Baker 评分均有统计学差异, 但两个模型组没有统计学差异。**结论** 本实验条件下 IMQ 组和 ES+IMQ 组小鼠均可出现自发活动能力降低、产生焦虑样行为, 小鼠认知能力受损, 对血清 P 物质水平有影响, 具有银屑病样皮肤组织病理学变化; 其中 ES+IMQ 组比 IMQ 组焦虑样表现较明显, 同血清 SP 水平变化程度成反比, 其余指标无明显差异。

【关键词】 银屑病; 行为学检测; P 物质; 组织病理学

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 02-0039-09

Analysis of behavioral, serum, and skin histology tests in experimental psoriasis mice

RABIGUL Islam^{1,2*}, KALBINUR Ablat³, ABDUPATTAR Abdurazak^{1,2}, YULTUZ Mamat^{1,2},
YUSUPJAN Ali^{1,2}, MAMAT Ali^{1,2}

(1. Institute of Xinjiang Traditional Uyghur Medicine, Urumqi 830000, China. 2. Laboratory of Traditional Uyghur Medicine Prescription of Xinjiang, Urumqi 830000. 3. College of Traditional Uyghur Medical, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000)

【Abstract】 Objective To investigate behavioral, blood, and skin histopathological indexes in psoriasis mice. **Methods** BALB/c mice were randomly divided into a control group, imiquimod-induced psoriasis model group (IMQ), and emotional stress complex imiquimod-induced psoriasis model group (ES+IMQ) and observed in an open field test

【基金项目】 新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2021D01A158)。

【作者简介】 热比姑丽·伊斯拉木(1969—), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 中药药理毒理学研究。E-mail: rabiya272@126.com

(OFT) and Y maze test, and tested for serum substance P (SP) and skin histopathological indexes. **Results** In the OFT, Compared with the control group, both the IMQ group and ES+IMQ group covered shorter total distances, with decreased average velocity and extended residence time in the total areas and they had a shorter residence time and distance in the central area and extended distance and residence time in the edge area. In the Y maze test, the percentage of entries and percentage of residence time in the new arm decreased in both IMQ and ES+IMQ groups compared with control group. The serum SP concentration was increased in the IMQ group and decreased in the ES+IMQ group compared with the control group, and there was a statistical difference between the two model groups. Psoriasis-like skin histopathological changes were observed in both IMQ and ES+IMQ groups. The Baker score of changes were statistically different, but there were no statistical differences between the IMQ and ES+IMQ groups. **Conclusions** Under the experimental conditions, both IMQ and ES+IMQ groups showed decreased spontaneous activity, anxiety-like behavior, and impaired cognitive ability, which had an effect on serum SP levels, and they showed psoriasis-like skin histopathological changes. The ES+IMQ group showed more anxiety than the IMQ group, which was inversely proportional to the difference in serum SP levels, and the other indicators showed no significant differences.

【Keywords】 psoriasis; behavioral test; substance P; histopathology

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

银屑病(psoriasis)又名牛皮癣,是由多基因、多因素综合作用而导致的一种错综复杂的、特征性鳞屑性丘疹的慢性皮肤病。随着医学模式的转变,社会心理因素与银屑病之间的关系逐渐得到重视。国内外研究已经证实^[1-4],社会心理因素是银屑病症状发作的重要因素,患者情绪特征中抑郁、焦虑表现尤为突出,且社会心理因素严重程度与银屑病发生的严重程度之间存在明显的正相关性。因此,本研究利用实验性银屑病小鼠模型,经旷场实验、Y 迷宫实验、血清 P 物质(substance P, SP)、皮肤组织病理学光镜学检测,从而探讨银屑病对心理健康的影响,为临床治疗该疾病提供信息。

1 材料和方法

1.1 实验动物

6~7 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠 50 只,雌性,体重 18~22 g,购于新疆医科大学实验动物中心[SCXK(新)2018-0003]。实验在新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所药物安全性评价中心 SPF 级动物房进行[SYXK(新)2021-0004]。实验动物获得本单位伦理委员会批准(nGLP-2021-006),实验设计及实施过程严格遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

咪喹莫特乳膏(国药准字:H20030128,批号:39201201,四川明欣药业有限责任公司);Silkee 脱毛霜(美国授权生产,巴基斯坦制造);小鼠 P 物质(substance P, SP)试剂盒(REF H218-1-2, LOT 20211129,南京建成科技有限公司);4%多聚甲醛通用性组织固定液(REF BL539A, LOT 71041800,北京

兰杰柯科技有限公司);二甲苯(批号:10023418)、无水乙醇(批号:10092680)(天津市富宇精细化工有限公司);苏木素染液(CTS-1097,福州迈新生物技术开发有限公司);伊红染液(批号:ZLI-9613),中性树胶(批号:ZLI-9555)(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

EL-5.2K 电子天平(常州);BS110S 电子天平(北京);YLS-37B(3TB)全自动大小鼠跳台记(济南);LDZM-80KCS-II 立式压力蒸汽灭菌器(上海);Orbital Shaker TS-1000(海门);KQ-3200DV 数码超声波清洗机(北京);DNP-9272 恒温箱、DHG 型恒温鼓风干燥箱(北京);xMark™ 酶标仪, Bio-Rad JK-6 烤片机、JB-L5 包埋机、JT-12 脱水机(武汉);Histocore BIOCUT 切片机、APERIO VERSA 8 扫描仪(Leica 公司,德国);E200 Nikon 生物显微镜(Nikon 公司,日本)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

取 50 只 BALB/c 小鼠,适应性饲养,选用符合要求的 45 只动物,随机分为 3 组,对照(Control)组、咪喹莫特诱导银屑病模型(imiquimod-induced psoriasis model, IMQ)组、焦虑复合咪喹莫特诱导银屑病模型(emotional stress complex imiquimod-induced psoriasis model, ES+IMQ)组,每组 15 只。为了避免其相互影响,各组实验动物分别置于实验环境保持一致的不同房间饲养。

1.3.2 动物模型的制备

(1)混合型刺激造模

取 15 只小鼠(ES+IMQ 组),给予 10 d 慢性混

合刺激,包括夹尾尖(3 min,距尾根 1 cm)、摇晃、昼夜照明刺激、24 h 禁食、24 h 禁水、混笼(两笼混为一笼引起拥挤、两笼各抓两只混笼)、60 V 电压电击足底(2 次,每隔 10 s 电击 1 次,每次维持 5 s)。每天定时给予一种刺激,每种刺激累计最多 3 次。同一刺激不能连续出现,使动物不能预知所给予刺激,使得小鼠产生情绪应激反应^[5-11]。

(2)咪喹莫特诱导银屑病模型(IMQ)、焦虑复合咪喹莫特诱导银屑病模型(ES+IMQ)制备

慢性混合刺激致焦虑模型第 11 天,将其对照组(原群)、IMQ 模型组、ES+IMQ 模型组小鼠背部用 Silkee 脱毛霜脱毛,形成约 2 cm×2 cm 区域。对照组小鼠背部皮肤每日涂抹凡士林,其余组小鼠背部无毛区涂以 5%咪喹莫特乳膏(5% IMQ),60 mg/d(有效药物为 3 mg/d),连续 6 d;从而可制备 IMQ 模型、ES+IMQ 模型^[5-11]。

1.3.3 行为学检测

(1)旷场实验(open field test, OFT)

旷场实验是一个研究动物自发活动与探索行为的实验,可用于评价动物自发活动以及焦虑状态。测试箱分为中央区、过渡区、边缘区 3 个区域,中央区中心点为动物投放点,记录每只 BALB/c 小鼠在测试箱内自由探索活动 5 min。软件记录小鼠在测试箱内运动距离和停留时间等。统计并分析小鼠在测试箱内总运动距离、平均速度,中央区和边缘区运动距离、停留时间等。总运动距离可反映小鼠的活动度(自发活动能力)。动物在中央区/周边区时间的比值、路程比值,为焦虑行为评价的主要指标^[12-17]。

(2)Y 迷宫实验(Y maze test)

Y 迷宫实验是测量动物学习记忆能力的一种经典实验,可用于研究动物空间识别记忆能力。Y 迷宫实验装置主要由新异臂、起始臂和其他臂组成。训练结束后进行实验,抽开新异臂隔板,BALB/c 小鼠由起始臂放入,在 3 个臂中自由活动 5 min。软件记录小鼠在各个臂的停留时间和穿梭次数。统计并分析小鼠在 Y 迷宫 3 个臂停留时间百分比、进出次数百分比。新异臂停留时间百分比或进出新异臂次数百分比越大,说明其记忆力越好;若此变化越小,说明其记忆力差或记忆力受损。小鼠进出新异臂次数百分比=进出新异臂的次数/进出 3 个臂总次数×100%^[13-18]。

1.3.4 样品收集及处理

各组小鼠末次给药 2 h 后,取血。4℃下 3000 r/min 离心 10 min,取上清液,按照试剂盒说明书检测血清 SP 水平。同时,取小鼠背部皮肤组织标本,一半在液氮速冻并在-80℃下保存待测,另一半用 4%多聚甲醛固定,进行下一步背部皮肤组织病理学检测。

1.3.5 小鼠血清 P 物质检测

按照试剂盒说明书进行标准品的稀释、洗涤工作液、生物素抗原的稀释、亲和素-HRP 的稀释、样本检测等工作^[19-20]。

1.3.6 小鼠背部皮肤组织病理学变化及 Baker 评分

取背部皮肤标本,用多聚甲醛固定、石蜡包埋,切片,HE 染色。在光学显微镜下,观察各组小鼠背部皮肤组织病理学变化,包括表皮(角质层、颗粒层、棘层、基底层)、真皮(乳头层、网状层)、皮下组织、皮肤附属器及皮肤的血管、淋巴管、神经等。按照以下 Baker 评分标准^[21-24]对各皮肤组织进行评分,并进行统计分析。见表 1。

1.4 统计学方法

所得数据用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 17.0 统计软件 One-way ANOVA 方法进行多组样品均数的比较,检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 旷场实验

2.1.1 总区域

与对照组比较,IMQ 组、ES+IMQ 组总路程、平均速度降低($P > 0.05$),停留时间升高,其中 IMQ 组没有统计学差异($P > 0.05$)、ES+IMQ 组有统计学差异($P < 0.01$)。与 IMQ 组比较,ES+IMQ 组总路程降低,平均速度、停留时间略升高,但没有统计学差异($P > 0.05$)。结果见表 2、图 1。

2.1.2 中心区域

与对照组比较,IMQ 组路程、平均速度、停留时间、进入次数均降低,潜伏期升高,但没有统计学差异($P > 0.05$);ES+IMQ 组路程、平均速度、停留时间、潜伏期均降低($P > 0.05$),进入次数升高($P < 0.05$)。与 IMQ 组比较,ES+IMQ 组路程、平均速度、停留时间、潜伏期降低($P > 0.05$),进入次数升高($P < 0.05$)。结果见表 3、图 2。

表 1 皮肤组织病变 Baker 评分标准
Table 1 Criteria for Baker score of skin lesions

区域 Areas	病变 Pathological changes	计分 Score
角质层 Stratum corneum	Munro 微脓肿 Munro microabscess	2. 0
	过度角化 Hyperkeratosis	0. 5
	角化不全 Parakeratosis	1. 0
表皮层 Epidermis	颗粒层变薄或消失 Granular layer becomes thinner or disappears	1. 0
	棘层肥厚 Acanthosis	1. 0
	表皮突延长,起伏(轻、中、重度) Epidermal process extension, undulation(mild, moderate, severe)	0. 5/1. 0/2. 0
真皮层 Dermis	单核及多核细胞浸润(轻、中、重度) Monocytes and polykaryocytes infiltrate(mild, moderate, severe)	0. 5/1. 0/2. 0
	乳突上顶 Mastoid top	0. 5
	毛细血管扩张 Capillary dilation	0. 5

表 2 小鼠旷场实验(总区域)($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 2 Open field test of mice in the experiment(Total distance)

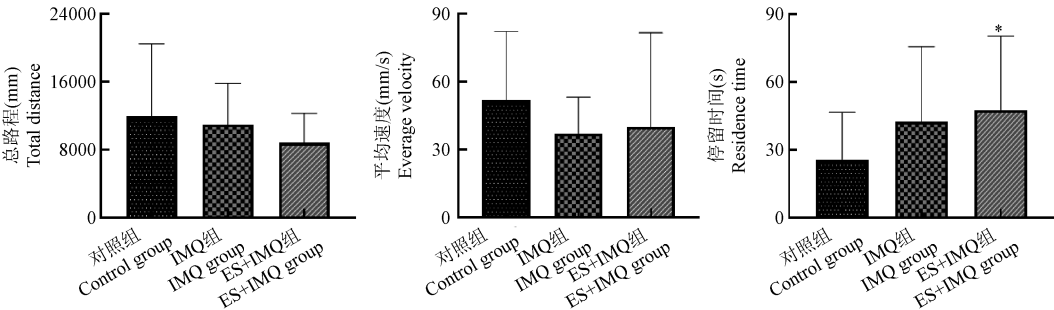
组别 Groups	总路程(mm) Total distance	平均速度(mm/s) Everage velocity	停留时间(s) Residence time
对照组 Control group	11954. 73±8507. 33	51. 95±30. 18	25. 81±20. 82
IMQ 组 IMQ group	10983. 25±4832. 47	37. 10±15. 93	42. 54±33. 09
ES+IMQ 组 ES+IMQ group	8809. 61±3458. 87	40. 05±41. 51	47. 62±32. 66 *

注:与对照组比较, * $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group, * $P < 0.05$.

表 3 小鼠旷场实验(中心区域)($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 3 Open field test of mice in the experiment(Central area)

组别 Groups	路程(mm) Distance	平均速度(mm/s) Everage velocity	停留时间(s) Residence time	进入次数(t) Entries frequency	潜伏期(s) Incubation period
对照组 Control group	16. 19±14. 67	20. 87±19. 28	122. 86±134. 57	52. 00±82. 37	0. 38±0. 56
IMQ 组 IMQ group	12. 74±10. 21	13. 27±10. 53	98. 56±94. 22	49. 19±39. 66	0. 60±1. 21
ES+IMQ 组 ES+IMQ group	7. 74±7. 03	8. 87±8. 15	68. 19±77. 40	123. 26±133. 57 *▲	0. 19±0. 42

注:与对照组比较, * $P<0.05$;与 IMQ 组比较, ▲ $P < 0.05$ 。
Note. Compared with control group, * $P < 0.05$. Compared with IMQ group, ▲ $P < 0.05$.



注:与对照组比较, * $P<0.05$ 。

图 1 小鼠旷场实验总区域总路程、平均速度和停留时间变化

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$.

Figure 1 Total distance, everage velocity and residence time of mice in the total area of the open field test

2.1.3 边缘区域

与对照组比较,IMQ 组小鼠路程升高($P < 0.05$);平均速度、潜伏期升高,停留时间降低,但没有统计学差异($P > 0.05$);ES+IMQ 组平均速度降低、潜伏期升高($P < 0.05$);路程升高、停留时间降低,但没有统计学差异($P > 0.05$)。与 IMQ 组比较,ES+IMQ 组平均速度降低($P < 0.05$);路程降低,停留时间、潜伏期略升高,但没有统计学差异($P > 0.05$)。结果见表 4、图 3。

2.2 Y 迷宫实验

与对照组比较,IMQ 组、ES+IMQ 组新异臂进入次数百分比、新异臂停留时间百分比下降趋势,其中 ES+IMQ 组新异臂进入次数百分比、IMQ 组新异臂停留时间百分比有统计学差异($P < 0.05 \sim P <$

0.01)。结果见表 5、图 4。

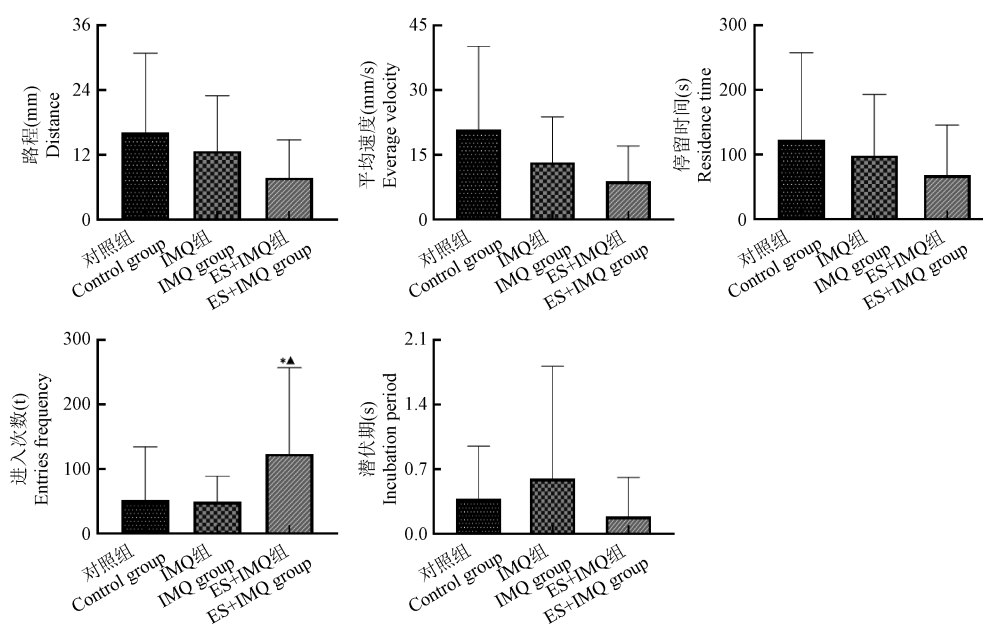
2.3 血清 P 物质检测

与对照组比较,IMQ 组小鼠血清 SP 浓度升高、ES+IMQ 组小鼠血清 SP 浓度降低,但其差异均没有统计学意义($P > 0.05$)。与 IMQ 组比较,ES+IMQ 组小鼠血清 SP 浓度降低($P < 0.05$)。结果见表 6、图 5A。

2.4 组织病理学变化

2.4.1 皮肤组织 Baker 评分

与对照组比,IMQ 模型组、ES+IMQ 组皮肤全层(角质层、表皮层、真皮层)Baker 评分有统计学意义($P < 0.01$)。IMQ 组比,ES+IMQ 组 Baker 评分没有统计学意义($P > 0.01$)。结果见表 6、图 5B。

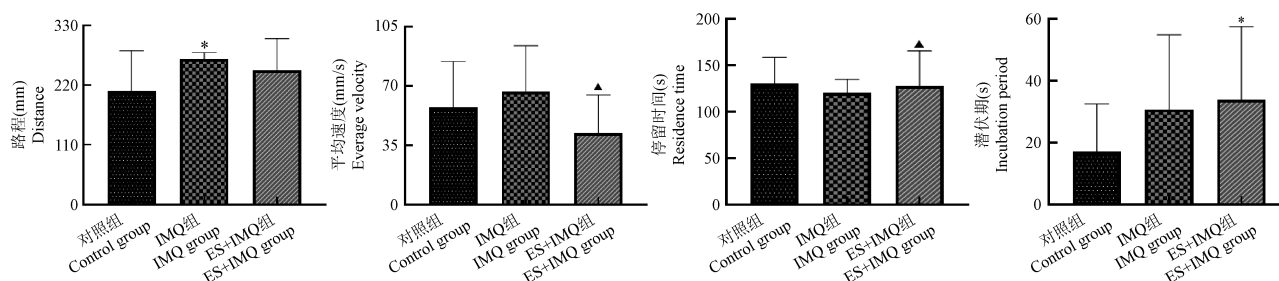


注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与 IMQ 组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

图 2 小鼠旷场实验中心区域路程、平均速度、停留时间和进入次数和潜伏期变化

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$. Compared with IMQ group, ▲ $P < 0.05$.

Figure 2 Distance, average velocity, residence time, entries frequency and incubation period of mice in the central area of the open field test



注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与 IMQ 组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

图 3 小鼠旷场实验边缘区域路程、平均速度、停留时间和潜伏期变化

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$. Compared with IMQ group, ▲ $P < 0.05$.

Figure 3 Distance, average velocity, residence time and incubation period of mice in the edge area of the open field test

2.4.2 皮肤组织光镜学变化

光镜下观察:对照组小鼠背部皮肤表皮层较薄,层次清晰,未见明显异常;真皮内无炎细胞浸润,皮脂腺、毛囊结构清晰。与对照组比较,IMQ 组、ES+IMQ 组小鼠背部皮肤表皮层明显增厚伴角

化不全及角化过度,棘层肥厚,角质层内可见 Munro 微脓肿,部分区域表皮突延长,真皮乳头上移伴毛细血管增生及扩张,皮下组织内较多淋巴细胞浸润;与 IMQ 组比较,ES+IMQ 组小鼠背部皮肤病变程度差异不明显。结果见图 6。

表 4 小鼠旷场实验(边缘区域)($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Open field test of mice in the experiment(Edge area)

组别 Groups	路程(mm) Distance	平均速度(mm/s) Everage velocity	停留时间(s) Residence time	潜伏期(s) Incubation period
对照组 Control group	209.63±73.94	57.40±27.12	130.48±28.13	17.13±15.38
IMQ 组 IMQ group	268.20±12.04*	66.53±27.21	120.10±14.63	30.68±24.14
ES+IMQ 组 ES+IMQ group	247.35±58.97	42.13±22.49 [▲]	127.93±37.56	33.88±23.60*

注:与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 IMQ 组比较, [▲] $P < 0.05$ 。

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$. Compared with IMQ group, [▲] $P < 0.05$.

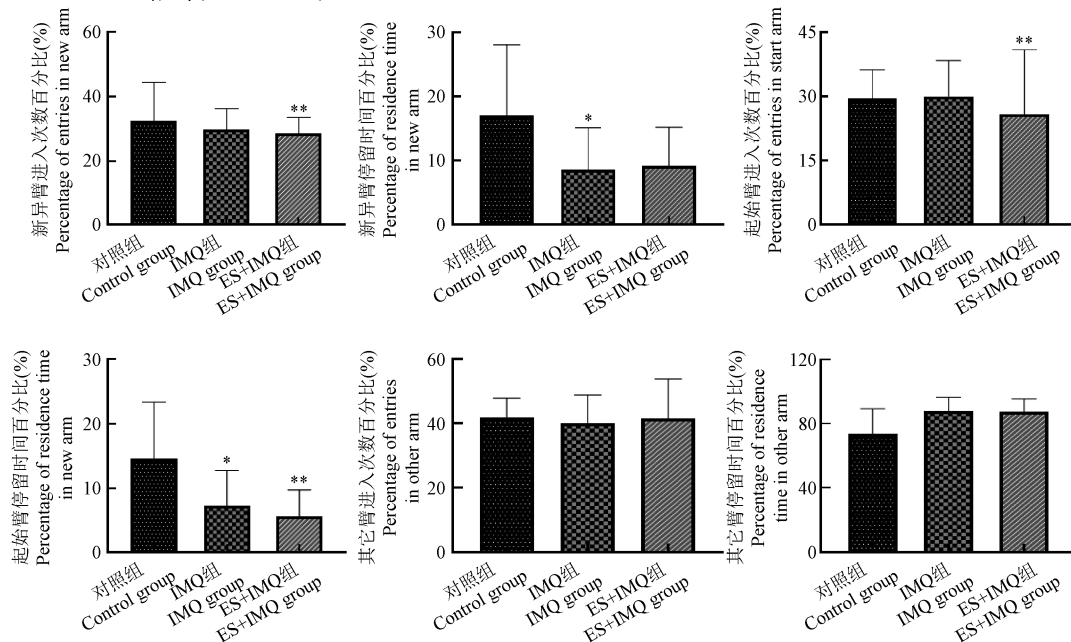
表 5 小鼠 Y 迷宫实验($\bar{x} \pm s, \%, n=10$)

Table 5 Y maze test of mice in the experiment

组别 Groups	新异臂进入次数百分比 Percentage of entries in new arm	新异臂停留时间百分比 Percentage of residence time in new arm	起始臂进入次数百分比 Percentage of entries in start arm	起始臂停留时间百分比 Percentage of residence time in start arm	其它臂进入次数百分比 Percentage of entries in other arm	其它臂停留时间百分比 Percentage of residence time in other arm
对照组 Control group	32.62±11.81	17.12±10.98	29.50±6.38	14.58±8.82	41.99±5.88	73.78±15.51
IMQ 组 IMQ group	29.97±6.34	8.52±6.60*	30.02±8.40	7.29±5.47*	40.01±8.89	87.93±8.62*
ES+IMQ 组 ES+IMQ group	28.50±5.11**	9.18±5.99	25.86±15.04	5.60±4.15**	41.51±12.37	87.36±8.08*

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 4 小鼠 Y 迷宫实验各臂进入次数百分比、停留时间百分比

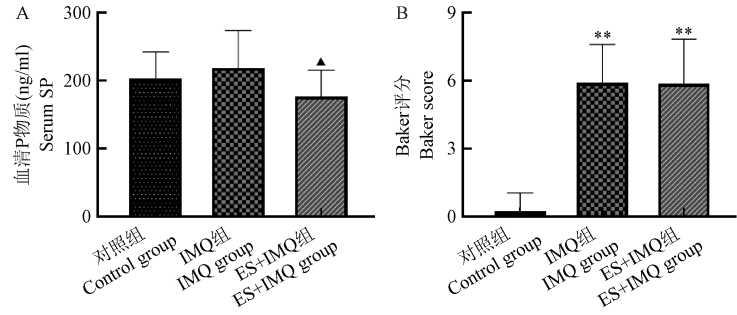
Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Percentage of Entries and percentage of Residence time in the whole arm of Y maze test

表 6 小鼠血清 SP 浓度、皮肤组织 Baker 评分分析 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 6 Serum SP concentration and skin Baker score of mice

组别 Groups	P 物质 (ng/mL) SP	Baker 评分 Baker score
对照组 Control group	203.351±38.701	0.25±0.79
IMQ 组 IMQ group	218.740±54.941	5.90±1.70**
ES+IMQ 组 ES+IMQ group	176.404±38.596 [▲]	5.85±1.99**

注:与对照组比较, ** $P<0.01$;与 IMQ 组比较, [▲] $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group, ** $P<0.01$. Compared with IMQ group, [▲] $P<0.05$.



注:与对照组比较, ** $P<0.01$;与 IMQ 组比较, [▲] $P<0.05$ 。
图 5 小鼠血清 SP 浓度、皮肤组织 Baker 评分分析
Note. Compared with control group, ** $P<0.01$. Compared with IMQ group, [▲] $P<0.05$.

Figures 5 Serum SP concentration and skin Baker score of mice

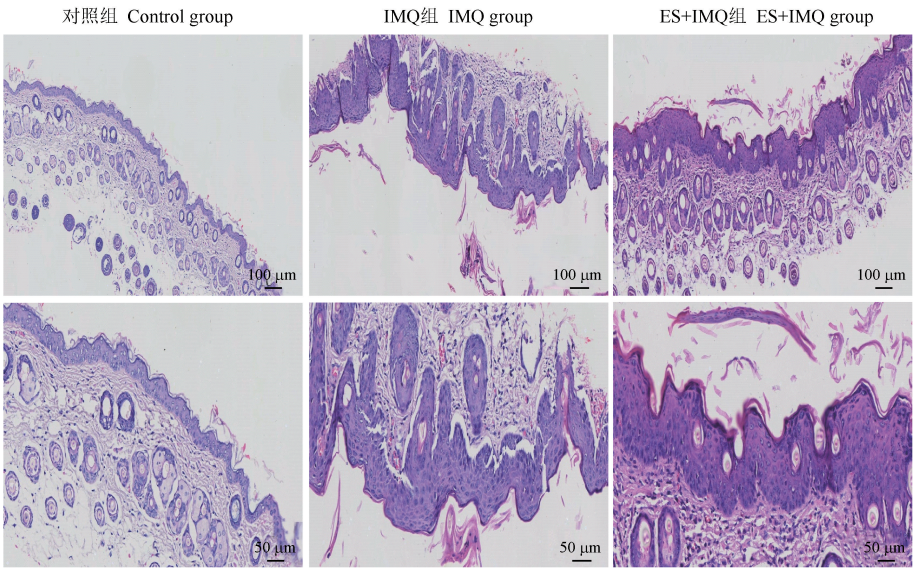


图 6 小鼠背部皮肤组织病理学变化
Figure 6 Back skin pathological changes of mice

3 讨论

银屑病是一种常见的慢性复发性炎症性疾病,其发病机制目前尚不明确。国外的研究表明^[1],银屑病是典型的心身疾病,心理因素如焦虑及抑郁等负性情绪可诱发或加重银屑病,有相当比例的银屑病是由精神紧张而触发或加重。国内研究报道^[2-3],银屑病患者存在焦虑和抑郁的比例高达

54%和 65%,其评分明显比正常对照组要高;还显示在银屑病组血清 SP 和神经生长因子 (NGF) 水平明显高于正常对照人群,说明银屑病患者的情绪在一定程度上对 SP 及 NGF 水平有影响。也有研究表明^[4],信息-知识-信念-行为模式干预对寻常型银屑病患者焦虑情绪及体象障碍的改善,银屑病小鼠存在焦虑样行为表现等,上述均说明银屑病伴随心理疾病的研究提供了新的思路。

啮齿类在自然环境生存中因惧怕天敌而不敢长期暴露于开阔地带并产生警觉心理,同时它们为寻找食物会主动对新环境进行探索伴有好奇心理。旷场实验正是通过模仿这种开阔的新环境,研究动物在“警觉-好奇”心理冲突下产生的焦虑样行为,一种经典的动物行为学实验。通过摄像头记录小鼠在总区域、中心区域、边缘区域活动距离、平均速度、活动时间、进入次数以及站立、排便的次数等参数,其中小鼠总区域参数(总运动距离、平均速度等)来判断它们的自发运动能力;在中央区域、边缘区域的参数(活动时间、进入次数等)来评价它们焦虑状态。

迷宫实验应用广泛,种类繁多,有 Moriss 水迷宫、放射臂水迷宫、放射臂迷宫、T 型迷宫、多重 T 型迷宫、巴恩斯迷宫、高架 O 迷宫、Y 型迷宫、高架十字迷宫等。Y 迷宫主要用于研究啮齿类动物空间工作记忆,其完全是利用实验动物对新异环境探索的天性,由于动物每次转换探索方向时都需要记住前一次探索过的方向,因此 Y 型迷宫实验能够有效地测定动物的空间工作能力。通过摄像头记录小鼠在新异臂、起始臂、其它臂或食臂进入次数、停留时间等参数,其中新异臂的界定是衡量动物空间工作记忆能力的非常关键的参数。

因此,本研究利用实验性银屑病小鼠(两种模型),经旷场实验、Y 迷宫实验,血清 P 物质(SP)、皮肤组织病理学光镜学检测,从而探讨银屑病对心理健康的影响。

旷场实验结果显示,对照组比较,IMQ、ES+IMQ 模型组小鼠总区域总路程缩短、平均速度下降、停留时间延长,其中 ES+IMQ 组停留时间延长较显著;中心区域路程、停留时间缩短,边缘区域停路程、停留时间相对延长,提示 IMQ、ES+IMQ 模型组自发活动能力降低、存在焦虑样表现,主要在边缘区域活动,而在中央区域活动减少,与文献报道相似^[8,19]。ES+IMQ 模型组较 IMQ 模型组小鼠总区域总路程缩短、停留时间略延长;中心区域路程、停留时间缩短,进入次数升高;边缘区域停留时间略延长、平均速度降低提示 ES+IMQ 模型组比 IMQ 模型组焦虑样表现较明显。换句话说,混合刺激造模,可以增强银屑病小鼠焦虑样表现。

Y 迷宫实验结果显示,与对照组比较,IMQ 组和 ES+IMQ 模型组小鼠新异臂进入次数百分比、新异臂停留时间百分比下降趋势,其中 ES+IMQ 银屑病

模型组新异臂进入次数百分比、IMQ 模型组新异臂停留时间百分比下降较显著。结果提示,IMQ、ES+IMQ 银屑病模型组均可能损伤小鼠的认知能力(银屑病可能损伤小鼠空间学习记忆能力或者银屑病可能损伤小鼠空间识别记忆能力),但两种模型无显著差异。换句话说,混合刺激造模对银屑病认知功能受损无增强作用。

血清 P 物质检测结果显示,与对照组比较,IMQ 模型组小鼠血清 SP 浓度升高、ES+IMQ 模型组小鼠血清 SP 浓度降低;与 IMQ 模型组比较,ES+IMQ 模型组小鼠血清 SP 浓度降低。结果提示,IMQ 模型组而言,小鼠情绪(焦虑及抑郁),会使植物神经功能发生紊乱,进而分泌过多的 SP,这与文献报道相似^[8,19-20]。ES+IMQ 模型组而言,我们认为,小鼠情绪(焦虑及抑郁),同样也会使植物神经功能发生紊乱,从而首先分泌过多的 SP^[8,19-20];但混合刺激后,可能通过负反馈调节减少 SP 分泌,这方面需要进一步探讨。

HE 染色结果显示:对照组小鼠背部皮肤表皮层较薄,层次清晰,未见明显异常;真皮内无炎细胞浸润,皮脂腺、毛囊结构清晰。与对照组比较,IMQ 模型组、ES+IMQ 模型组皮肤表皮层明显增厚伴角化不全及角化过度,棘层肥厚,角质层内可见 Munro 微脓肿,部分区域表皮突延长,真皮乳头上移伴毛细血管增生及扩张,皮下组织内较多淋巴细胞浸润;与 IMQ 模型组比较,ES+IMQ 组病变程度差异不明显。

Baker 评分显示:与对照组比较,IMQ 模型组、ES+IMQ 模型组皮肤全层(角质层、表皮层、真皮层) Baker 评分有统计学差异($P < 0.01$),IMQ 模型组比较,ES+IMQ 模型组 Baker 评分没有统计学差异($P > 0.01$),小鼠背部皮肤组织各层次病理学变化基本相似。结果提示:(1)IMQ 诱导银屑病样小鼠模型合并混合刺激致焦虑可能不会加重该模型皮肤组织病理学光镜学变化,但可能加重皮肤组织病理学电镜学变化,为此需要做皮肤组织电镜实验,观察皮肤细胞器的细微变化,此方面有待于进行深入研究。(2)IMQ 诱导银屑病样小鼠模型合并混合刺激致焦虑可能不会加重该模型皮肤组织病理学(光镜学、电镜学)变化,但可能干预(延长)银屑病临床治疗周期。

总而言之,我们从动物实验的角度证实了 IMQ、ES+IMQ 银屑病小鼠均有自发活动能力降低、存在

焦虑样表现、损伤认知能力(损伤空间学习记忆能力或者空间识别记忆能力);均可对血清 SP 浓度水平有影响,均具有银屑病样皮肤组织病理学变化;其中 ES+IMQ 模型组比 IMQ 模型组焦虑样表现较明显,同血清 SP 水平变化程度成反比,其余指标无明显差异(可能存在细微差异,需深入研究)。经目前实验结果初步判断,银屑病本身有焦虑样心理状态,外部环境(混合刺激)可加重银屑病焦虑样状态,为此我们科研人员今后研究、探讨,并利用更好地模拟临床银屑病患者的动物模型(焦虑复合咪喹莫特诱导银屑病模型等),为开发利用经典名方、经典方剂常用药材奠定基础,甚至深入探讨银屑病伴随心理疾病的研究提供思路。同样,提示临床医生治疗银屑病时不仅针对银屑病患者本身的心理状态进行干预,而且治疗时创造舒适、优良的自然环境、服务环境等外界因素,从而缩短治疗周期、提高疾病的疗效。

参考文献:

- [1] Wang Y, Li P, Zhang L, et al. Stress aggravates and prolongs imiquimod-induced psoriasis-like epidermal hyperplasia and IL-1 β /IL-23p40 production [J]. J Leukoc Biol, 2020, 108(1): 267-281.
- [2] 贾满然. 综合护理干预对银屑病患者焦虑抑郁情绪的改善效果及 SAS 评分的影响 [J]. 皮肤病与性病, 2019, 41(6): 824-825.
- [3] 王倩, 江水, 陈官芝, 等. 银屑病患者抑郁和焦虑的调查及其对共患病的影响 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2020, 36(10): 584-587, 604.
- [4] 赖小丽, 谢煜. 信息-知识-信念-行为模式干预对寻常型银屑病患者焦虑情绪及体象障碍的改善 [J]. 中国健康心理学杂志, 2022, 30(1): 37-41.
- [5] 闫丽, 赵玉玲, 玛依拉·哈布迪里汗, 等. 白香丹胶囊配伍四逆散治疗焦虑大鼠的疗效及其对血清 NE、5-HT、BDNF 水平的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(19): 2942-2945.
- [6] 范柯琪. T 淋巴细胞代谢嘌呤紊乱在焦虑症发病中的功能与调控机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [7] 张凯. 柏木精油的抗焦虑功效及其机理研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2019.
- [8] 李宁飞. 基于 SP/NK-1R 轴研究清肝凉血解毒方对银屑病的干预作用 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [9] 杨梅, 唐彩红, 桂雨晴, 等. 咪喹莫特诱导银屑病模型小鼠 T 细胞免疫功能改变与性别的关系 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(4): 589-597.
- [10] 袁佳晴, 朱新景, 王星星, 等. 基于“气血两清”理论探讨浮萍-紫草对银屑病模型小鼠皮肤屏障功能的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2022, 39(2): 395-401.
- [11] 张步鑫, 宋坪, 赵巍, 等. 麻防犀角地黄汤对 miR-215-5p 的干预作用及对银屑病小鼠的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(2): 1122-1125.
- [12] 邹广善, 苏靖之, 张玉洁, 等. 丰富环境对青春期高脂饮食小鼠认知行为和海马三磷酸腺苷结合盒转运子 A7 表达的影响 [J]. 中南大学学报(医学版), 2020, 45(8): 892-900.
- [13] 李祥磊, 孙秀萍. C57BL/6J、BALB/c、ICR 品系小鼠学习记忆能力的行为学差异 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(8): 63-69.
- [14] 蔡思琪, 李沅衡, 黎嘉, 等. 鼠类行为学实验方法研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(5): 916-920.
- [15] 王迪霖, 郎韞哲, 袁见, 等. 调心补肾方改善 Presenilin1/2 条件性双基因敲除小鼠记忆障碍的机制研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(9): 1827-1834.
- [16] 何磊, 陈军, 陈丽莉, 等. 银屑病小鼠焦虑样行为学检测与分析 [J]. 中国中西医结合皮肤性病杂志, 2019, 18(4): 313-315.
- [17] 姜宁, 姚彩虹, 叶帆, 等. 大小鼠焦虑行为实验方法概述 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 698-704.
- [18] 姜宁, 张亦文, 黄红, 等. 大小鼠学习记忆行为实验方法分类概述 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 839-845.
- [19] 刘丽萍. 银屑病患者 P 物质、神经生长因子水平与焦虑、抑郁的相关性研究 [J]. 临床皮肤科杂志, 2021, 50(8): 473-474.
- [20] 郭简宁, 齐聪, 李萍, 等. 神经免疫调节在银屑病发病中的作用 [J]. 中国中西医结合皮肤性病杂志, 2020, 19(3): 292-295.
- [21] 廖海泉, 杨斌. 雷公藤多苷对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样皮损作用机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(3): 288-291, 301.
- [22] 魏荣, 吴斌, 吕静. 白细胞介素-6 抑制剂对银屑病模型大鼠背部皮肤组织的影响及作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(4): 856-860.
- [23] 秦刚, 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.
- [24] 孙丹, 闫小宁, 耿蒙利, 等. 银屑平片对咪喹莫特诱导银屑病样模型小鼠 IL-17、IL-23、PPAR γ 表达的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(4): 64-68.

[收稿日期] 2022-05-16