

杨婧宇,张倩,陈思,等. 基于肠道菌群探讨 GS-9620 改善 IMQ 诱导的小鼠银屑病样炎症的研究 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(7): 1021–1031.

YANG J Y, ZHANG Q, CHEN S, et al. Effect of GS-9620 in imiquimod-induced psoriasis-like inflammation in mice based on gut microbiota [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(7): 1021–1031.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.07.009

基于肠道菌群探讨 GS-9620 改善 IMQ 诱导的小鼠银屑病样炎症的研究

杨婧宇¹, 张倩^{2*}, 陈思³, 王晓堂¹, 宋国华^{1*}

(1. 山西医科大学实验动物中心, 实验动物与人类疾病动物模型山西省重点实验室, 太原 030001;
2. 深圳市南山人民医院皮肤科, 广东 深圳 518052; 3. 深圳大学医学部, 免疫教研室, 广东 深圳 518000)

【摘要】 目的 本研究旨在探讨 GS-9620 通过调控 Th1/Th17 相关免疫反应改善咪喹莫特 (IMQ) 诱导的银屑病样炎症的作用机制, 并进一步研究其对小鼠肠道菌群的调节作用。**方法** 采用 BALB/c 小鼠建立 IMQ 诱导的银屑病样炎症模型, 通过 PASI 评分评估皮损严重程度, 利用流式细胞术检测脾组织 CD4⁺ IL-17⁺ 和 CD4⁺ IFN- γ ⁺ 细胞比例, 采用 ELISA 法测定皮肤组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子水平, 并通过苏木素-伊红 (HE) 染色进行病理学分析。进一步对正常组、IMQ 组和 IMQ + GS-9620 组小鼠的肠道菌群进行 16S rRNA 测序, 分析 GS-9620 对肠道菌群结构的影响。**结果** GS-9620 显著降低了 IMQ 诱导小鼠的 PASI 评分, 并有效抑制了脾中 CD4⁺ IL-17⁺ 和 CD4⁺ IFN- γ ⁺ 细胞比例。同时, GS-9620 显著下调了皮肤组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达水平。16S rRNA 测序分析显示, GS-9620 可显著调节与炎症相关的肠道菌群丰度, 包括毛螺菌属 (*Lachnospiraceae_NK4A136_group* 和 *Lachnospiraceae_UCG-008*)、拟普雷沃氏菌属 (*Alloprevotella*)、脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotellaceae_UCG-001*) 和另枝菌属 (*Alistipes*) 等菌属的相对丰度。**结论** GS-9620 通过调控 Th1/Th17 相关炎症因子的表达, 有效缓解 IMQ 诱导的小鼠银屑病样皮肤炎症。此外, 其可能通过调节肠道菌群结构来改善 IMQ 诱导的临床症状, 这为通过菌群调节治疗银屑病提供了新的理论依据。本研究结果为进一步探索 GS-9620 在银屑病治疗中的应用价值提供了重要的实验依据。

【关键词】 银屑病; 银屑病样炎症小鼠模型; 肠道菌群; GS-9620; 16S rRNA

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 07-1021-11

Effect of GS-9620 in imiquimod-induced psoriasis-like inflammation in mice based on gut microbiota

YANG Jingyu¹, ZHANG Qian^{2*}, CHEN Si³, WANG Xiaotang¹, SONG Guohua^{1*}

【基金项目】 深圳市科技研发资金 (JCYJ20220530141615035), 实验动物新资源创制与利用山西省科技创新人才团队 (202204051002032)。

Funded by Shenzhen Science and Technology Research and Development Fund (JCYJ20220530141615035), Shanxi Provincial Science and Technology Innovation Team for the Creation and Utilization of New Resources of Laboratory Animals (202204051002032).

【作者简介】 杨婧宇, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 皮肤病的发病及治疗机制。Email: 17835158201@163.com

【通信作者】 宋国华, 女, 博士, 博士生导师, 研究方向: 人类疾病动物模型。Email: ykdsgh@163.com;

张倩, 女, 博士, 主治医师, 研究方向: 皮肤病的发病及治疗机制。Email: zhangqianbisheng@163.com。

* 共同通信作者

(1. Laboratory Animal Center, Shanxi Medical University, Shanxi Key Laboratory of Experimental Animal Science and Human Disease Animal Model, Taiyuan 030001, China; 2. Department of Dermatology, Shenzhen Nanshan People's Hospital, Shenzhen 518052, China; 3. Department of Immunology, Shenzhen University Medical School, Shenzhen 518000, China)

Corresponding author: SONG Guohua. E-mail: ykdsgh@163.com; ZHANG Qian. E-mail: zhangqianbisheng@163.com

[Abstract] Objective To explore the mechanism of GS-9620 in improving imiquimod (IMQ)-induced psoriasis-like inflammation by regulating the Th1/Th17-related immune response, and to investigate its regulatory effect on the gut microbiota in mice. **Methods** An IMQ-induced psoriasis-like inflammation model was established in BALB/c mice. The severity of the skin lesions was evaluated by psoriasis area and severity index (PASI) score. The proportions of CD4⁺ interleukin (IL)-17⁺ and CD4⁺ interferon (IFN)- γ ⁺ cells in spleen tissue were detected by flow cytometry. Levels of the inflammatory factors tumor necrosis factor (TNF)- α , IL-1 β , and IL-6 in skin tissues were determined by enzyme-linked immunosorbent assay, and pathological analysis was performed by hematoxylin/eosin staining. The effects of GS-9620 on the structure of the gut microbiota in control, IMQ model, and GS-9620-treated mice were detected by 16S rRNA sequencing. **Results** GS-9620 significantly reduced the PASI score in IMQ-induced mice and effectively reduced the proportions of CD4⁺ IL-17⁺ and CD4⁺ IFN- γ ⁺ cells in the spleen. GS-9620 also significantly down-regulated the expression levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in skin tissues. 16S rRNA sequencing showed that GS-9620 significantly regulated the abundance of gut microbiota related to inflammation, including the relative abundances of bacteria such as *Lachnospiraceae_NK4A136_group*, *Lachnospiraceae_UCG-008*, *Alloprevotella*, *Desulfovibrio*, *Prevotellaceae_UCG-001*, and *Alistipes*. **Conclusions** GS-9620 effectively alleviates IMQ-induced psoriasis-like skin inflammation in mice by regulating the expression of Th1/Th17-related inflammatory factors. It may also improve IMQ-induced clinical symptoms by regulating the structure of the gut microbiota, thus providing a new theoretical basis for the treatment of psoriasis. The result of this study provide important experimental evidence to support further investigations into the application of GS-9620 for the treatment of psoriasis.

[Keywords] psoriasis; psoriasis-like inflammation animal models; gut microbiota; GS-9620; 16S rRNA

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

银屑病 (psoriasis), 俗称牛皮癣, 是一种慢性、复发性、炎症性皮肤病, 其典型临床表现为界限清楚的鳞屑性红斑或斑块, 全球发病率约为 2%^[1]。该疾病不仅对患者的外观造成显著影响, 更对其心理健康和生活质量产生深远的负面影响。近年来, 随着研究的深入, 银屑病已被重新定义为一种系统性疾病, 而非单纯的皮肤病变^[2-3]。现有研究表明, 银屑病的发病机制涉及角质形成细胞与免疫细胞之间复杂的相互作用^[4]。其中, Th17 和 Th1 细胞的异常活化及其分泌的炎症因子 (如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 和 IL-6) 在疾病的发生发展中起关键作用^[5]。人类银屑病主要涉及 Th1、Th17 和 Th22 细胞, Th1 通过干扰素- γ (interferon, IFN- γ) 启动炎症反应, Th17 通过 IL-17 和 IL-22 维持病变, Th22 可能影响皮肤屏障功能。而小鼠银屑病模型主要依赖

Th17 细胞和 IL-17 信号通路, Th1 和 Th22 的作用相对次要^[1]。其中咪喹莫特 (imiquimod, IMQ) 模型中的病变主要由 Th17 细胞介导。已有研究证实, 这些细胞因子不仅导致皮肤局部的炎症反应, 还可能引发全身性的病理改变。因此, 现有的一些药物通过拮抗相关细胞因子来治疗银屑病, 如可善挺通过调节 C5a/C5aR1 通路来调节银屑病促炎因子的表达, 缓解银屑病皮损症状^[6]。此外, 文献报道, 银屑病与多种系统性疾病密切相关, 可显著增加患者罹患心血管疾病、高血压、肥胖、代谢综合征以及炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 等合并症的风险^[7]。由于其慢性复发性、全身性影响以及治疗难度大等特点, 银屑病已成为全球范围内备受关注的重大公共卫生问题。尽管目前已有多种治疗手段可用于控制症状, 但仍缺乏能够彻底治愈该疾病的有效方法。因此, 深入探索银屑病的发病机制, 开

发新的治疗策略,对于改善患者预后具有重要意义。

现有研究表明,银屑病患者体内 Th17 细胞介导的炎症反应显著增强,导致 IL-17、IL-23、TNF- α 等促炎因子过度表达,这些因子不仅直接参与皮肤炎症反应,还可通过血液循环影响全身多个系统,这提示炎症因子在银屑病的发生发展中起着关键作用。动物和人体研究中发现,体循环和皮肤活检中都存在 IL-17A,这说明 Th17 细胞和先天免疫细胞产生的 IL-17A 是银屑病炎症的重要驱动力^[8-9]。此外,导致 IL-17A 产生的 Th17/Th1 途径的阻断,已被证明可以减轻银屑病的炎症反应^[10-11]。需要强调的是,现有研究表明,肠道菌群与银屑病之间同样存在密切关联。银屑病患者发生克罗恩病的风险是普通人群的 3 倍,而克罗恩病患者发生银屑病的风险则高达普通人群的 7 倍^[7]。基于已有文献可知,炎症因子与肠道菌群之间存在着复杂的双向调控关系。肠道菌群通过多种机制影响炎症因子的表达,肠道菌群代谢产物如短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)能够调节 Treg/Th17 细胞平衡,抑制过度炎症反应;某些益生菌(如双歧杆菌、乳酸杆菌)可通过 Toll 样受体信号通路下调 NF- κ B 等炎症相关通路,减少促炎因子的产生;肠道菌群失调可导致肠屏障功能受损,促使脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等细菌成分进入血液循环,触发全身性炎症反应。此外,炎症因子也可影响肠道菌群的组成。TNF- α 水平升高可改变肠道微环境,促进条件致病菌的增殖,抑制有益菌的生长。炎症因子与肠道菌群之间的相互作用形成了一个复杂的调控网络,这种双向关联提示肠道菌群可能在银屑病的发生发展中扮演重要角色,为探索银屑病的治疗新靶点提供新方向。因此,通过调节炎症因子来影响肠道菌群组成的变化,有望为银屑病的治疗提供新的思路。

GS-9620 是一种新型的 Toll 样受体 7(Toll like receptors 7, TLR7)激动剂。本研究团队前期的研究表明,GS-9620 能够有效抑制 EV71 病毒感染引发的小鼠炎症因子风暴,其机制可能通过显著降低小鼠血液中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等关键炎症因子的水平来实现,从而减轻炎症反应并提高小鼠的生存率^[12]。因此,本研究通过建立 IMQ

诱导的银屑病样炎症小鼠模型,探讨 GS-9620 通过调控 Th1/Th17 相关免疫反应改善 IMQ 诱导的银屑病样炎症的作用机制,并进一步研究其对小鼠肠道菌群的调节作用,以期通过菌群调节,为改善银屑病症状提供实验数据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 周龄 SPF 级的雄性 BALB/c 小鼠 18 只,体质量 18 ~ 22 g,购自广东省实验动物中心【SCXK(粤)2022-0002】,于深圳大学医学部动物实验中心饲养【SYXK(粤)2022-0302】,适应性饲养 1 周后开始实验。饲养条件:温度(24 $\pm$ 2)℃,湿度(55 $\pm$ 15)%,光照/暗循环 12 h,自由采食和饮水。本实验经深圳大学实验动物保护和使用委员会批准(IACUC-202400107)。

1.1.2 主要试剂与仪器

5%咪喹莫特乳膏(中国四川明欣药业有限责任公司,批号:H20030129);生理盐水(四川科伦药业股份有限公司);GS-9620(MedChemExpress,批号:24797);异氟烷(山东安特牧业科技有限公司;批号:2024030501);4%多聚甲醛固定液(上海碧云天生物技术有限公司,批号:100923240430);苏木素-伊红(HE)染色液(上海酶联生物科技有限公司,批号:ml037866);E. Z. N. A. Tissue DNA Kit 试剂盒(Omega Bio-tek,批号:D3396020000J21V017);TNF- α (四正博生物科技有限公司,批号:CHE0004),IL-1 β (IBL-America,批号:IBILB0801),IL-6(IBL-America,批号:BE27768),CD4(Invitrogen,批号:AB2538837),IFN- γ (批号:BM41174)(BD Biosciences),IL-17A(BD Biosciences,批号:AB1645260)。

TAIJI 小动物麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);基因测序分析(Illumina 公司,型号:Illumina Nova seq 6000,美国);MF53 倒置荧光显微镜(广州市明美 Mshot 光电技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 银屑病小鼠模型的造模及治疗

小鼠在实验室适应 2 周后,在背部刮 3.0 cm $\times$ 3.0 cm 的毛,刮毛 24 h 后开始实验。实验分为 3 组,每组 6 只,分别为正常组(Control + 生理盐

水)、IMQ 组(5% IMQ + 生理盐水)和 IMQ + GS-9620 组(5% IMQ + GS-9620)。

IMQ 组使用含 5% IMQ 的 Aldara 乳膏涂抹小鼠刮毛处,每次 62.5 mg/d,持续涂抹 7 d(将涂抹前的 1 d 记为 0 d),以此进行银屑病小鼠模型的造模^[13]。正常组和 IMQ 组从第 1 天开始,涂抹乳膏 2 h 后对小鼠腹腔注射生理盐水,每天每次 100 μ L,持续注射 6 d。IMQ + GS-9620 组为在 IMQ 造模组的基础上,从第 1 天开始,每日在涂抹乳膏 2 h 后对小鼠腹腔注射 GS-9620,每次 4.5 mg/kg,每天注射 1 次,溶于与正常组等量生理盐水中进行注射,持续注射 6 d。其实验步骤操作示意如图 1。

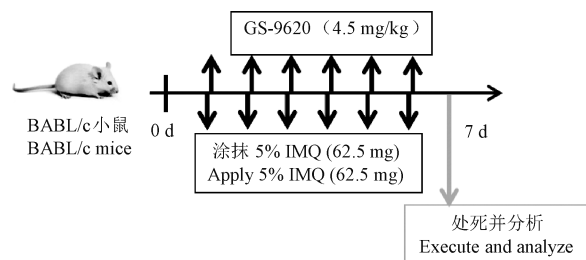


图 1 实验步骤操作示意

Figure 1 Schematic of the operation of the experimental procedure

1.2.2 模型和治疗的评估

对小组背部皮肤进行形态学观察,并采用银屑病面积及严重程度指数(psoriasis area and severity index, PASI)评分法对小鼠背部临床炎症的严重程度进行衡量^[14]。分别对小鼠皮肤的红斑、鳞屑和厚度划痕进行评分。每个项目以 4 分制进行评分(0 = 无;1 = 轻度;2 = 中度;3 = 重度;4 = 极重度)。将单项得分相加,得到总分最高 12 分。

1.2.3 留取粪便、皮肤、脾组织标本

造模后第 7 天,先使用无菌拭子或粪便采集管收集各组小鼠的粪便样本,确保操作过程无菌,将采集的粪便样本立即放入-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。然后处死小鼠,取皮肤、脾组织,部分组织于 4% 多聚甲醛固定,部分组织于-80 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 皮肤组织学观察

取背部皮肤组织,大小约 1.0 cm $\times$ 1.0 cm,脱水,石蜡包埋,切片(厚度 4 μ m),HE 染色,封片。将封片后的切片置于光学显微镜下观察皮

肤组织的病理学变化,并使用 ImagePro Plus 6.0 软件进行分析^[15],为银屑病的研究提供重要的形态学依据。

1.2.5 ELISA 检测

在皮肤组织中加入裂解液,收集溶液,使用 ELISA 试剂盒,对小鼠皮肤组织中的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 进行检测。

1.2.6 脾流式细胞术分析

造模第 7 天,使用吸入麻醉剂异氟烷将小鼠麻醉后处死,取脾组织研磨,离心后加入红细胞裂解液,裂解红细胞后加入 PBS 离心,重悬。取悬液中脾细胞 1 $\times$ 10⁶/mL,加入 CD4 抗体,37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min 对细胞标记染色。之后加入 2 μ L 细胞刺激混合物于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 6 h 刺激细胞活化,固定和破膜细胞,分别加入 IL-17A 和 IFN- γ 抗体,于 4 $^{\circ}$ C 下孵育 40 min 标记。采用流式细胞术检测。

1.2.7 肠道菌群 16S rRNA 测序分析

使用粪便 DNA 提取试剂盒,裂解细菌细胞壁,释放 DNA。通过离心柱或磁珠法纯化 DNA,去除蛋白质和其他杂质。使用微量分光光度计或荧光定量仪测定 DNA 浓度和纯度,确保 A260/A280 比值在 1.8 ~ 2.0。选择 16S rRNA 基因的 V3 ~ V4 区通用引物,正向引物 338F(5'-ACTCC TACGGGAGGCAGCAG-3'),反向引物:806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3 ~ V4 区。PCR 条件:预变性:95 $^{\circ}$ C,5 min;变性:95 $^{\circ}$ C,30 s;退火:55 $^{\circ}$ C,30 s;延伸:72 $^{\circ}$ C,30 s;循环:30 ~ 35 次;最终延伸:72 $^{\circ}$ C,10 min。使用 PCR 纯化试剂盒纯化扩增产物,去除引物和 dNTPs。将测序接头连接到纯化后的 PCR 产物上。使用荧光定量仪测定文库浓度,确保文库质量符合测序要求。将不同样本的文库按等摩尔比例混合,准备上机测序。使用 Illumina Miseq/Nextseq 2000/Novaseq 6000 平台进行高通量测序。测序策略为 PE250/PE300。使用软件 QIIME2 (2024.2 版本) 和 Mothur (v1.45.3) 对原始测序数据进行质量控制,去除低质量序列和嵌合体。将序列按 97% 相似度进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)聚类。使用参考数据库(如 Greengenes、Silva)对 OTU 进行物种注释。计算 Alpha 多样性

(如 Shannon 指数、Chao1 指数)和 Beta 多样性(如主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA))。使用统计学方法(如线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)、相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM))分析不同组别间的菌群差异。全面分析肠道菌群的组成和多样性,为研究肠道菌群与银屑病的关系提供重要数据支持。

1.3 统计学分析

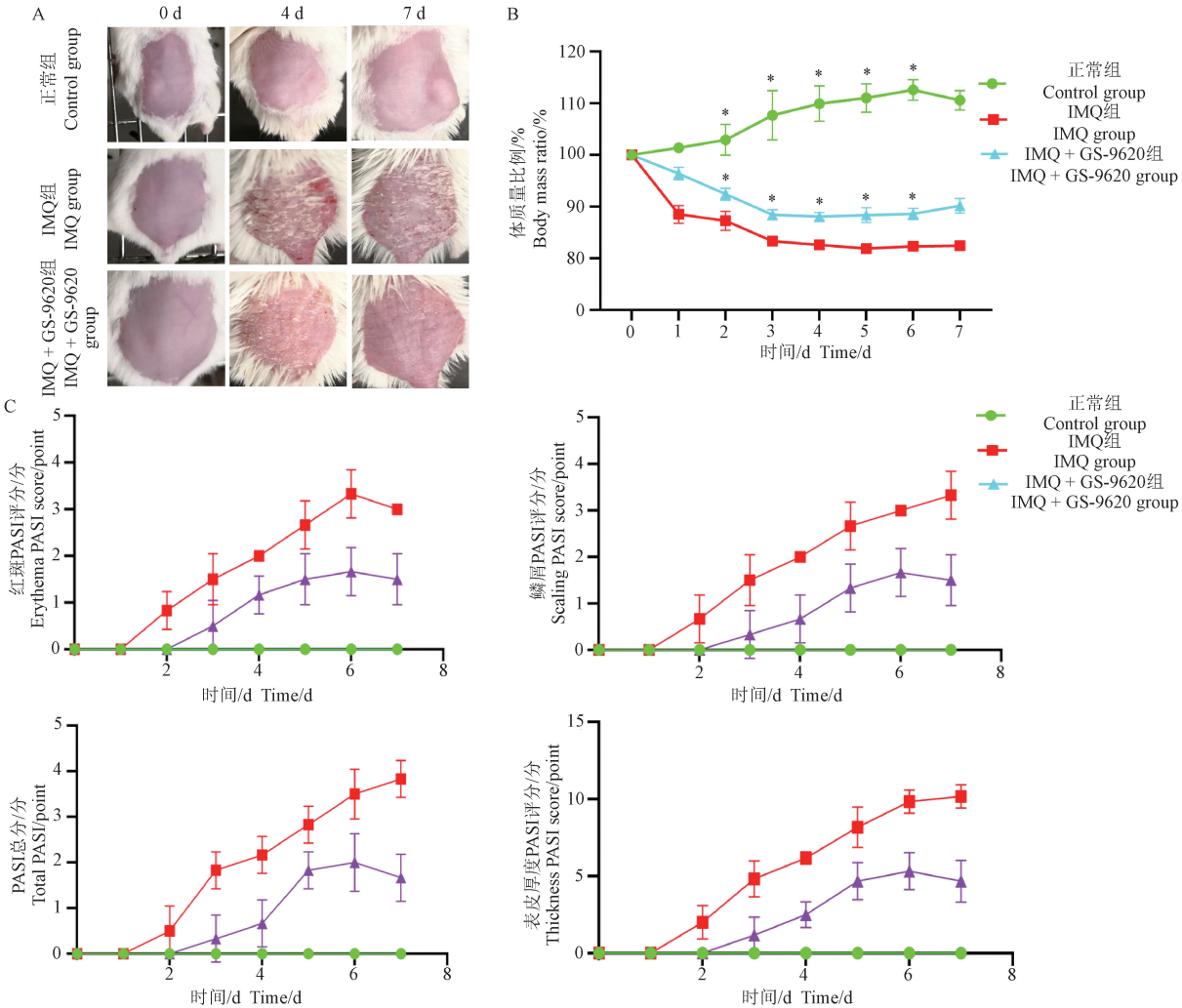
采用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析,计量结果以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示具有统计学意

义。使用 GraphPad Prism 9.0 软件作图。

2 结果

2.1 GS-9620 对 IMQ 诱导的银屑病小鼠模型皮肤表皮病理症状的影响

为了验证 GS-9620 对银屑病的治疗作用,采用 IMQ 诱导的银屑病小鼠模型,并给予 GS-9620 治疗,实验第 0、4、7 天,3 组小鼠背部皮肤形态学观察如图 2A 所示。外观观察,IMQ 组小鼠皮肤出现红斑、鳞屑、肿胀等症状,并伴有体质量下降。经 GS-9620 治疗后,临床症状明显减轻,体质量增加(图 2B)。IMQ 组小鼠 PASI 评分显著高



注:A:小鼠在实验中第0、4、7天背部皮肤情况;B:小鼠体质量比例;C:小鼠 PASI 评分;与 IMQ 组相比, * $P < 0.05$ 。(下图同)

图 2 用药前后小鼠的体质量和皮肤变化

Note. A. Dorsal skin of mice was tested on the 0th, 4th and 7th days. B. Body mass ratio of mice. C. PASI of the mice. Compared with IMQ group, * $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 2 Body mass and skin changes in mice before and after medication

于正常小鼠组,表明 IMQ 组小鼠皮肤炎症明显,与 IMQ 组相比,IMQ + GS-9620 组 PASI 评分显著降低(图 2C),说明 GS-9620 可以缓解 IMQ 诱导的银屑病样病变并减低 PASI 评分。

2.2 GS-9620 对 IMQ 诱导的银屑病小鼠模型的皮肤病理变化和炎症的影响

银屑病患者的表皮特征是角化过度 and 真皮炎症细胞浸润。对 3 组实验中小鼠的皮肤损伤部位进行 HE 染色,发现 IMQ 组的皮肤与银屑病患者的皮肤特征相似,表皮增厚,且炎性细胞浸润。给予 GS-9620 治疗后,与 IMQ 组相比,组织病理学改变,表皮厚度和炎症细胞浸润明显减少(图 3A ~ 图 3B)。为了进一步探讨 GS-9620 是否调节 IMQ 诱导的炎症反应,研究人员通过 ELISA 试剂盒对 3 组小鼠皮损组织的炎症因子进行了检测。如图 3C ~ 图 3E 所示,IMQ 组中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白的表达明显高于正常组;与 IMQ 组相比,IMQ + GS-9620 组的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的蛋白表达明显降低。结果表明 GS-9620 可以抑制与银屑病发生发展相关的炎性因子的表达。

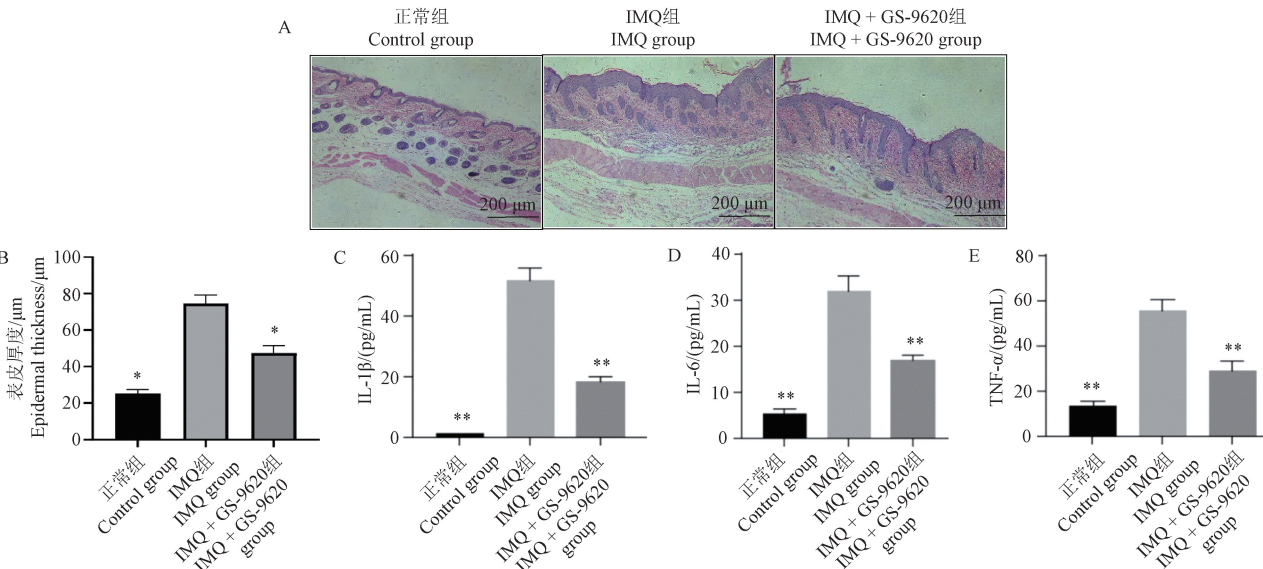
2.3 GS-9620 对机体炎症反应的影响

为了研究 GS-9620 是否能够调节 IMQ 诱导

的银屑病小鼠的免疫反应,取其脾,发现 IMQ 组小鼠脾体积和重量明显大于正常组;与 IMQ 组相比,给予 GS-9620 的 IMQ + GS-9620 组小鼠脾体积和重量明显下降(图 4A ~ 图 4B);之后进行了深入分析,通过流式细胞术检测了小鼠脾中 Th1 和 Th17 相关的细胞比例。如图 4C ~ 图 4D 所示,与 IMQ 组相比,GS-9620 显著降低了小鼠脾中 CD4⁺ IL-17A⁺ 和 CD4⁺ IFN- γ ⁺ 细胞的比例。结果表明,GS-9620 有助于调节 Th1 和 Th17 相关细胞的比例,从而抑制银屑病小鼠的机体炎症反应。

2.4 GS-9620 对小鼠肠道菌群结构的影响

研究人员对 3 组小鼠粪便进行了 16S rRNA 的 V3 ~ V4 区域的检测,得到了 1 108 057 个 clean_tags,其中在 400 ~ 440 bp 之间为 1 107 736 个,数据符合要求。共产生了 4906 个 OTU,研究人员发现,正常组有 3480 个 OTU,IMQ 组有 2545 个 OTU,IMQ + GS-9620 组有 2986 个 OTU。正常组与 IMQ 组共有 297 个 OTU,IMQ 组与 IMQ + GS-9620 组共有 319 个 OTU,正常组与 IMQ + GS-9620 组共有 588 个 OTU,说明正常组与 IMQ + GS-9620 组更接近(图 5A);PCoA 比较 3 组小鼠的整体微生物群结构(相似性或差异性),研究人

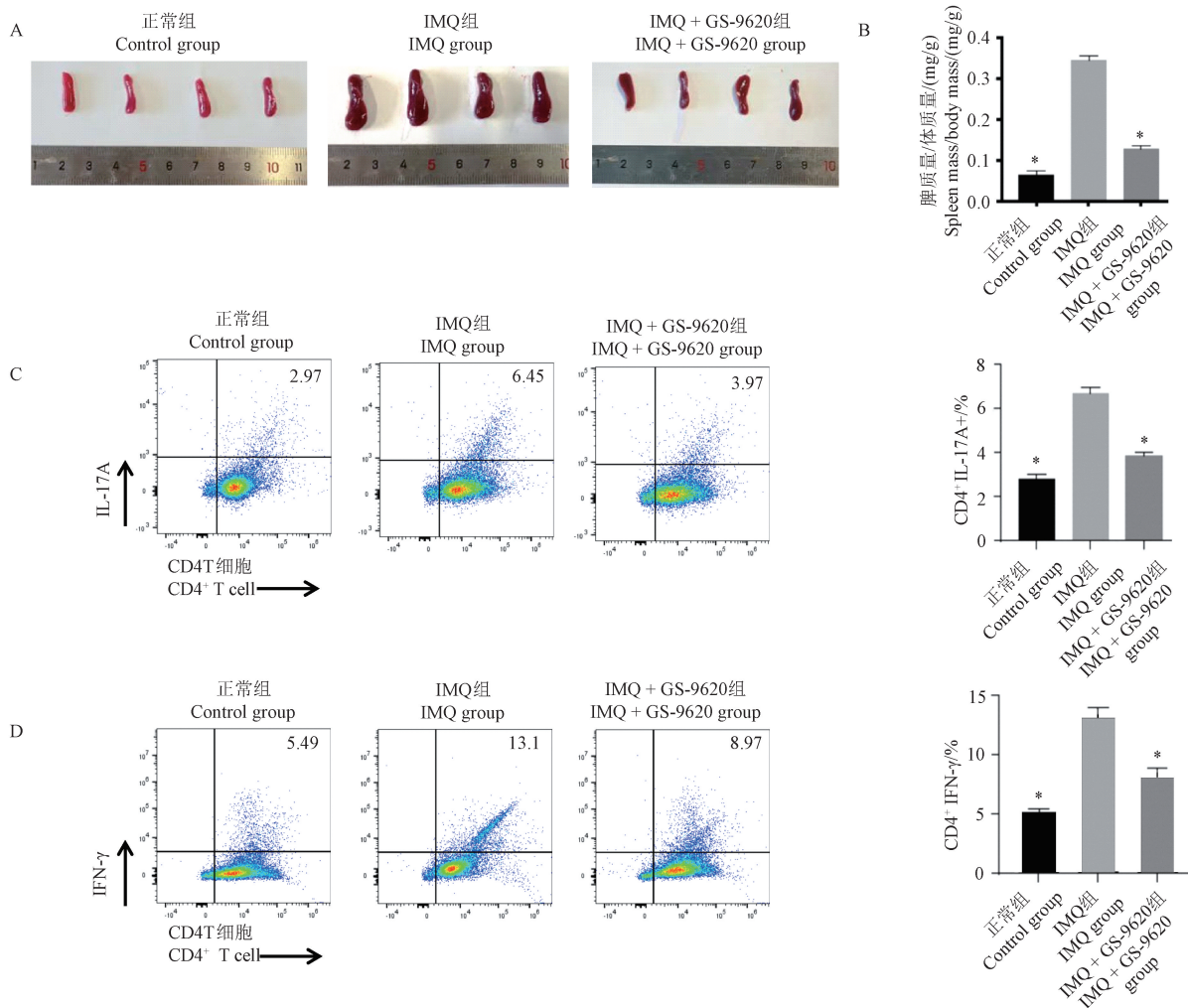


注:A:小鼠皮肤病理情况;B:小鼠表皮厚度比较;C:小鼠皮肤中 IL-1 β 的表达;D:小鼠皮肤中 IL-6 的表达;E:小鼠皮肤中 TNF- α 的表达;与 IMQ 组相比, ** $P < 0.01$ 。

图 3 小鼠皮肤病理、厚度及细胞因子的变化情况(HE 染色)

Note. A. Skin pathological pictures of mice. B. Comparison of epidermal thickness of mice. C. Expression of IL-1 β in the skin of mice. D. Expression of IL-6 in the skin of mice. E. Expression of TNF- α in the skin of mice. Compared with IMQ group, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Changes in skin pathology, thickness and cytokines in mice(HE staining)



注:A:小鼠脾大小;B:小鼠脾质量与体质量比;C:流式细胞术定量分析 CD4⁺ IL-17A⁺ 的细胞比例;D:流式细胞术定量分析 CD4⁺ IFN-γ⁺ 的细胞比例。

图 4 小鼠脾变化及其免疫细胞比例的变化

Note. A. Spleen size of mice. B. Spleen mass/body mass of mice. C. Percentage of CD4⁺ IL-17A⁺ was quantified by flow cytometry. D. Percentage of CD4⁺ IFN-γ⁺ was quantified by flow cytometry.

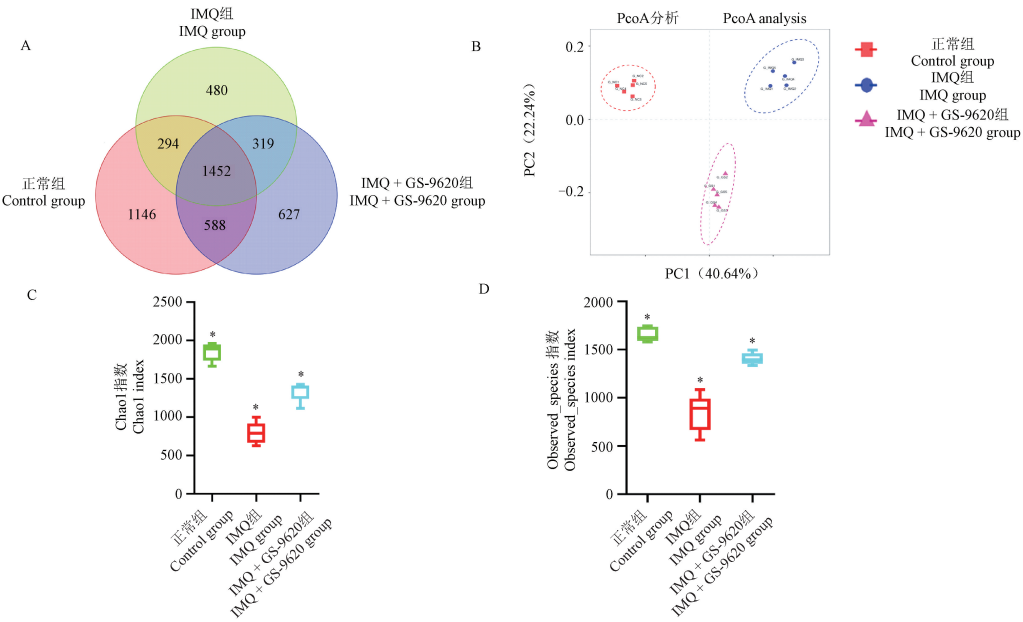
Figure 4 Changes in spleen and its proportion of immune cells in mice

员发现正常组、IMQ 组和 IMQ + GS-9620 组 3 组是存在差异的(图 5B);Alpha 多样性是平衡物种多样性和丰富度的指标,对 3 组进行了分析,发现 Chao1 指数和 Observed_species 指数显示正常组和 IMQ + GS-9620 组两组显著高于 IMQ 组(图 5C ~ 图 5D)。

2.5 在门和属水平上物种结构的改变

根据物种相对丰度表的结果,本研究根据门水平上前 19 个和属水平上前 21 个物种的相对丰度,绘制成丰度直方图(图 6A ~ 图 6B)。门水平 3 组前 5 个物种相对丰度均为:拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)、赭色细菌

门(Patescibacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)和热脱硫杆菌门(Desulfobacterota),说明优势物种比较稳定。但各组菌群结构有一定的改变,通过 Wilcoxon 检验发现,与 IMQ 组相比较,正常组和 IMQ + GS-9620 组中热脱硫杆菌门(Desulfobacterota)的丰度明显降低;而赭色细菌门(Patescibacteria)的丰度明显升高(图 6C)。对属水平前 21 个物种相对丰度进行了 Wilcoxon 检验,结果显示,与 IMQ 组相比较,正常组和 IMQ + GS-9620 组中毛螺菌属(Lachnospiraceae_UCG-008)、拟普雷沃氏菌属(Alloprevotella)和 uncultured 菌属的丰度明显降低(图 6D);而毛螺

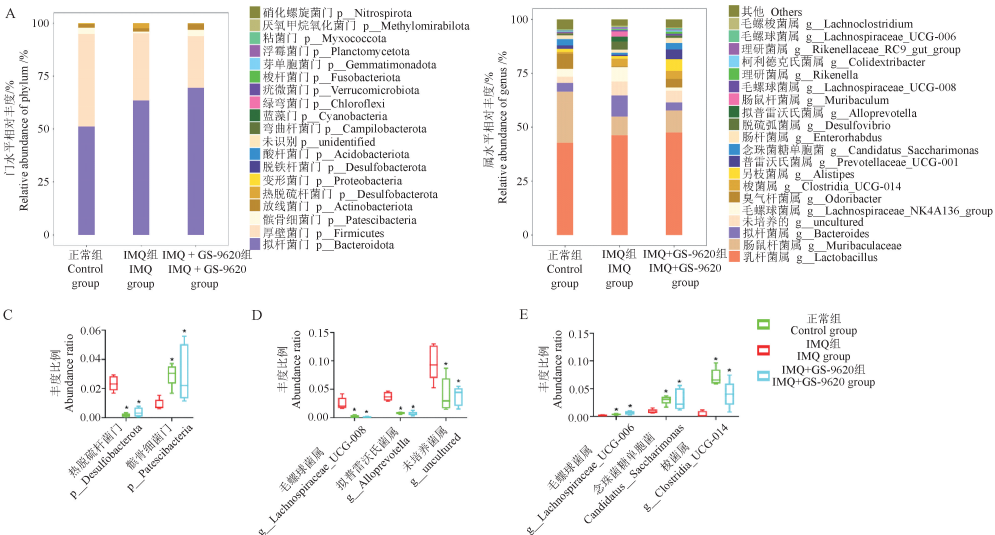


注:A:小鼠肠道菌群 Venn 图;B:基于 OTU 的 Bray-Curtis 距离矩阵的 PCoA 分析;C:肠道菌群的 Chao 指数分析;D:肠道菌群的 Observed-species 指数分析。

图 5 小鼠肠道菌群结构的分析

Note. A. Venn diagram of the gut microbiota of mice. B. PCoA analysis of Bray-Curtis distance matrix based on OUT. C. Chao index analysis of intestinal microbiota. D. Observed-species index analysis of intestinal microbiota.

Figure 5 Analysis of the intestinal microbiota structure of mice



注:A:在门水平上,每组的门丰度发生的变化;B:在属水平上,每组的属丰度发生的变化;C:Wilcoxon 检验分析 IMQ 组与正常组和 IMQ + GS-9620 组在门水平上存在差异的物种;D:Wilcoxon 检验分析,与 IMQ 组对比,正常组和 IMQ + GS-9620 组在属水平上丰度降低的物种;E:Wilcoxon 检验分析,与 IMQ 组对比,正常组和 IMQ + GS-9620 组在属水平上丰度升高的物种。

图 6 小鼠门和属水平上的变化

Note. A. At the phylum level, changes in phylum abundance in each group. B. Changes in genus abundance in each group at the genus level. C. Wilcoxon test was used to analyze the species with differences in phylum level between the normal group, IMQ group and the IMQ + GS-9620 group. D. By Wilcoxon test analysis, compared with IMQ group, the abundance of species in normal group and IMQ + GS-9620 group decreased at genus level. E. By Wilcoxon test analysis, compared with IMQ group, the abundance of species in normal group and IMQ + GS-9620 group increased at genus level

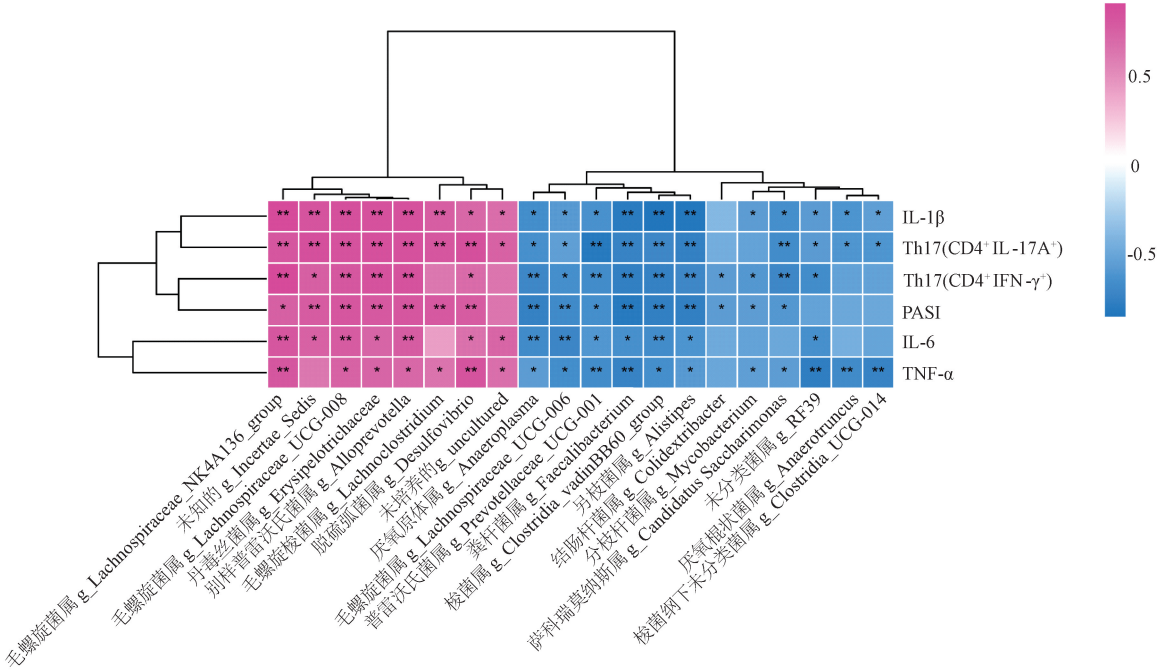
Figure 6 Changes in the phylum and genus levels of mice

菌属(和梭状芽孢杆菌(*Clostridia_UCG-014*)的丰度明显升高(图 6E)。

2.6 GS-9620 改变肠道菌群与银屑病相关因素分析

为了进一步了解 GS-9620 改变肠道菌群的作用及其与银屑病的联系,通过基于 OTU 丰度的属水平(丰度比例前 20 的属)Spearman 相关分析将银屑病相关炎症指标(IL-1β、IL-6、TNF-α、Th17 和 Th1)和 PASI 标示为变量,绘制成热图。如图 7 所示,在属水平上,毛螺菌属(*Lachnospiraceae_*

NK4A136_group 和 *Lachnospiraceae_UCG-008*)、拟普雷沃氏菌属(*Alloprevotella*)和脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)(在 IMQ + GS-9620 组小鼠中丰度低于 IMQ 组,受到抑制)与银屑病相关炎症因子和 PASI 呈正相关;而普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae_UCG-001*)和另枝菌属(*Alistipes*)(在 IMQ + GS-9620 组小鼠中丰度高于 IMQ 组,受到促进)与银屑病相关炎症因子和 PASI 负相关。此结果表明,GS-9620 诱导肠道菌群变化与银屑病中的炎症因子与 PASI 相关。



注:颜色范围从红色(正相关)到蓝色(负相关);银屑病相关因素与肠道菌群的相关性, * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01。

图 7 银屑病相关因素与肠道菌群的 Spearman 相关性分析

Note. Color range ranges from red (positive correlation) to blue (negative correlation). Analysis of psoriasis-related factors and gut microbiota, * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01.

Figure 7 Spearman correlation analysis of psoriasis-related factors and gut microbiota

3 讨论

银屑病是一种全球范围内广泛存在的慢性炎症性皮肤病,其特点是病程迁延、反复发作,全球患病率为 2% ~ 3%^[16]。该疾病不仅对患者的生活质量造成严重影响,还常伴随多种合并症,给患者带来沉重的身心负担。目前临床治疗主要依赖于糖皮质激素、卡泊三醇和维 A 酸类药物等,这些药物虽能暂时缓解皮损症状,但无法从根本上治愈疾病,且长期使用可能带来不良反应^[17]。从病理机制来看,银屑病的典型组织学特

征表现为角质形成细胞的异常增殖和真皮层炎症细胞浸润,导致多种促炎因子(如 IL-1β、IL-6 和 TNF-α)的过度表达^[18-19]。这些炎症因子不仅参与局部皮肤炎症反应,还可能通过系统性炎症反应影响全身多个器官系统。小鼠银屑病模型高度依赖 Th17/IL-17 通路,而人类银屑病中 Th17 和 Th1 细胞均参与,且 Th22 细胞也有参与;此外,人类银屑病涉及更多的细胞类型和路径,如树突状细胞、朗格汉斯细胞和皮肤屏障功能的综合调控,而这些在小鼠模型中并不能完全复制^[20]。为明确炎症因子改变对银屑病患者的影响,在本研

究中首先研究了 GS-9620 调控免疫反应在改善 IMQ 诱导的银屑病样炎症中发挥的作用,结果表明 GS-9620 可以缓解由 IMQ 诱导的银屑病样皮炎,减轻小鼠表皮厚度、角化不良、棘层肥大和减少炎性细胞浸润。此外,GS-9620 可以抑制皮肤组织中炎性因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达。此结果显示 GS-9620 可以减轻由 IMQ 诱导的银屑病样的皮肤炎症。这一发现不仅深化了对银屑病发病机制的理解,也为开发新型治疗药物提供了重要的实验依据。

近年来,随着微生物组学研究的深入,越来越多的证据表明银屑病的发生发展与肠道菌群失调之间存在密切关联^[21]。肠道菌群作为人体最大的“微生物器官”,通过“肠-皮肤轴”(gut-skin axis)与皮肤免疫系统形成双向调控网络。研究表明,某些促炎性肠道微生物(如拟杆菌属和普雷沃菌属)可能通过激活 TLR 信号通路,促进银屑病患者体内 Th1/Th17 细胞的异常活化,进而导致皮肤中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等关键炎症因子的过度表达^[22]。这些发现提示,调节肠道菌群稳态可能成为治疗银屑病的新策略。基于上述研究背景,推测 GS-9620 可能通过调控炎症因子的表达,进而重塑银屑病小鼠模型的肠道菌群结构来发挥其治疗银屑病的作用。为验证这一假设,本研究采用 16S rRNA 高通量测序技术,系统分析了 GS-9620 对 IMQ 诱导的银屑病样小鼠肠道菌群组成的影响。结果显示,与 IMQ 模型组相比,GS-9620 治疗组中多个有益菌属的丰度发生显著改变。其中,毛螺菌属(*Lachnospiraceae*_UCG-006)、念珠菌糖单胞菌(*Candidatus*_ *Saccharimonas*)和梭状芽孢杆菌(*Clostridia*_UCG-014)的丰度明显升高。

特别值得注意的是,毛螺菌属和梭状芽孢杆菌是肠道微生物群中具有重要生理功能的菌群。这些菌群能够代谢膳食纤维产生 SCFAs,包括乙酸、丙酸和丁酸等。研究表明,SCFAs 具有多重生理功能,通过激活 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)和抑制组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)发挥抗炎作用;促进调节性 T 细胞(Treg)的分化,而 Treg 细胞可以通过分泌 TGF- β 和 IL-10 等抑炎细胞因子,抑制 Th1 和 Th17 细胞的分化和增殖,Treg 细胞与 Th1

和 Th17 细胞直接接触,通过表面分子如 CTLA-4 的相互作用,抑制效应 T 细胞的活化和增殖,因此在肠道菌群中代谢产生的 SCFAs 可以通过促进 Treg 细胞分化,抑制 Th1 和 Th17 细胞的活化与功能,从而维持免疫系统的平衡;SCFAs 也可增强肠上皮细胞间的紧密连接,避免 Th1 和 Th17 细胞的活化,维护肠道屏障功能;调节肠道 pH 值,抑制条件致病菌的生长^[23]。这些作用机制可能共同参与了 GS-9620 对银屑病的治疗效应。总之,本研究不仅证实了 GS-9620 能够调节银屑病样小鼠的肠道菌群结构,还揭示了肠道菌群-免疫系统-皮肤炎症之间的复杂调控网络。这些发现为深入理解 GS-9620 的作用机制提供了新的视角,也为开发基于肠道菌群调节的银屑病治疗策略奠定了理论基础。

综上所述,GS-9620 通过抑制与 Th1/Th17 相关的免疫反应从而改善 IMQ 诱导的小鼠银屑病样炎症,并重塑与炎症相关的肠道菌群,并鉴定出 GS-9620 可改变丰度比例前 20 的细菌(6 种细菌),这几种细菌与银屑病相关炎症因子和症状严重程度有关。这些结果有助于理解 GS-9620 的抗炎作用与肠道菌群之间的关系,进一步表明 GS-9620 可能是治疗银屑病的候选药物。

参 考 文 献(References)

- [1] LOWES M A, SUÁREZ-FARIÑAS M, KRUEGER J G. Immunology of psoriasis [J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32: 227-255.
- [2] GELFAND J M, WANG S. Expanding the global perspective on psoriasis [J]. JAMA Netw Open, 2023, 6 (4): e236802.
- [3] ELNABAWI Y A, OIKONOMOU E K, DEY A K, et al. Association of biologic therapy with coronary inflammation in patients with psoriasis as assessed by perivascular fat attenuation index [J]. JAMA Cardiol, 2019, 4(9): 885-891.
- [4] CAI Z, ZENG Y, SHI X, et al. Benvitimod inhibits MCM6-mediated proliferation of keratinocytes by regulating the JAK/STAT3 pathway [J]. J Dermatol Sci, 2023, 109(2): 71-79.
- [5] ARMSTRONG A W, READ C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: a review [J]. JAMA, 2020, 323(19): 1945-1960.
- [6] 杨羽, 赵菊花, 黎官印, 等. 可善挺通过抑制 C5a/C5aR1 通路对银屑病小鼠皮肤炎症和自噬的调控作用 [J]. 中

- 国比较医学杂志, 31(8): 21–28.
- YANG Y, ZHAO J H, LI G Y, et al. Cosentyx regulates skin inflammation and autophagy in psoriasis mice through the C5a/C5aR1 signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(8): 21–28.
- [7] TAKESHITA J, GREWAL S, LANGAN S M, et al. Psoriasis and comorbid diseases: epidemiology [J]. J Am Acad Dermatol, 2017, 76(3): 377–390.
- [8] KAGAMI S, RIZZO H L, LEE J J, et al. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis [J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(5): 1373–1383.
- [9] VAN DER FITS L, MOURITS S, VOERMAN J S A, 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.
- [10] LIN Y, XUE K, LI Q, et al. Cyclin-dependent kinase 7 promotes Th17/Th1 cell differentiation in psoriasis by modulating glycolytic metabolism [J]. J Invest Dermatol, 2021, 141(11): 2656–2667.
- [11] NADEEM A, AHMAD S F, AL-HARBI N O, et al. Inhibition of interleukin-2-inducible T-cell kinase causes reduction in imiquimod-induced psoriasiform inflammation through reduction of Th17 cells and enhancement of Treg cells in mice [J]. Biochimie, 2020, 179: 146–156.
- [12] ZHANG Q, ZHAO B, CHEN X, et al. GS-9620 inhibits enterovirus 71 replication mainly through the NF- κ B and PI3K-AKT signaling pathways [J]. Antiviral Res, 2018, 153: 39–48.
- [13] 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 Y Y, LIU L J, et al. Comparative study on imiquimod-induced psoriasis models in mice with different immune states [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(6): 41–47.
- [14] TAKUATHUNG M N, WONGNOPPAVICH A, PANTHONG A, et al. Antipsoriatic effects of wannachawee recipe on imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis in BALB/c mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 7931031.
- [15] ZHANG Q, WANG H, RAN C, et al. Anti-inflammatory effects of amarogentin on 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like mice and in HaCat cells [J]. Anim Model Exp Med, 2023, 6(3): 255–265.
- [16] BOEHNCKE W H, SCHÖN M P. Psoriasis [J]. Lancet, 2015, 386(9997): 983–994.
- [17] RAPALLI V K, SINGHVI G, DUBEY S K, et al. Emerging landscape in psoriasis management: from topical application to targeting biomolecules [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 707–713.
- [18] CHIRICOZZI A, ROMANELLI P, VOLPE E, et al. Scanning the immunopathogenesis of psoriasis [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1): 179.
- [19] SHI H J, ZHOU H, MA A L, et al. Oxymatrine therapy inhibited epidermal cell proliferation and apoptosis in severe plaque psoriasis [J]. Br J Dermatol, 2019, 181(5): 1028–1037.
- [20] HARDEN J L, KRUEGER J G, BOWCOCK A M. The immunogenetics of psoriasis: a comprehensive review [J]. J Autoimmun, 2015, 64: 66–73.
- [21] ZOU X, ZOU X, GAO L, et al. Gut microbiota and psoriasis: pathogenesis, targeted therapy, and future directions [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14: 1430586.
- [22] OKADA K, MATSUSHIMA Y, MIZUTANI K, et al. The role of gut microbiome in psoriasis: oral administration of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus danieliae* exacerbates skin inflammation of imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9): 3303.
- [23] MARTIN-GALLAUSIAUX C, MARINELLI L, BLOTTIÈRE H M, et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut [J]. Proc Nutr Soc, 2021, 80(1): 37–49.

[收稿日期] 2025–02–17