

雷公藤甲素衍生物 LB-1 对咪喹莫特诱导的银屑病小鼠炎症的影响

牛 非^{1,2}, 金 晶¹, 周 秦¹, 倪 林¹, 来芳芳¹, 季 鸣¹, 张东明¹, 陈晓光^{1*}

- (1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;
2. 北京市神经外科研究所, 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100050)

摘要: 本研究应用咪喹莫特 (imiquimod, IMQ) 诱导银屑病小鼠模型, 考察雷公藤甲素衍生物 LB-1 对 IMQ 诱导银屑病样炎症的影响、组织病理改变, 并初步探讨 LB-1 应用于防治银屑病的免疫机制。结果显示, 与模型组相比, LB-1 显著抑制小鼠银屑病样炎症, 银屑病样皮损面积和疾病严重程度 (psoriasis area and severity index, PASI) 评分明显降低; 4 mg·kg⁻¹ LB-1 能够减轻 IMQ 诱发的小鼠脾脏肿大; 2 mg·kg⁻¹ LB-1 能够抑制脾 CD8⁺ ($P < 0.01$) T 淋巴细胞百分比, 上调 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值 ($P < 0.01$), 4 mg·kg⁻¹ LB-1 上调脾 CD3⁺ T ($P < 0.01$) 和 CD4⁺ T ($P < 0.05$) 淋巴细胞的百分比。基于上述实验结果, 本文发现雷公藤甲素衍生物 LB-1 能够抑制 IMQ 诱导的小鼠银屑病样炎症, 其免疫调节机制可能与改变脾脏中 CD4⁺ T、CD8⁺ T 细胞的百分比构成有关。本研究为今后 LB-1 及其他以雷公藤甲素为主要活性成分的雷公藤制剂在银屑病的临床应用上提供指导意义。

关键词: 雷公藤甲素; 银屑病; 咪喹莫特; 炎症; T 淋巴细胞

中图分类号: R967

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 11-1692-06

The effect of triptolide derivative LB-1 on imiquimod-induced psoriasiform inflammation of BALB/c mice

NIU Fei^{1,2}, JIN Jing¹, ZHOU Qin¹, NI Lin¹, LAI Fang-fang¹, JI Ming¹, ZHANG Dong-ming¹,
CHEN Xiao-guang^{1*}

- (1. State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Nature Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;
2. Beijing Neurosurgical Institute, Beijing Tian Tan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

Abstract: The aim of present study was to explore the effect of triptolide derivative LB-1 on imiquimod (IMQ) induced psoriasiform inflammation in BALB/c mice, and to investigate the immune mechanism of LB-1 in the prevention and treatment of psoriasis. In the present study, topical application of IMQ for seven days induced the psoriasiform inflammation in BALB/c mice. This is a promising mouse model of psoriasis for the natural immune reaction compared to those induced by xenograft, transgenic or gene knockout. psoriasis area and severity index (PASI) score, hematoxylin-eosin (HE) staining and flowcytometry were employed to investigate the changes of psoriasiform inflammation, histopathological response and percentage of T cells, respectively. The result showed that LB-1 significantly attenuated the psoriasiform inflammation. Compared with model group, PASI score were decreased in the LB-1 group. In the isolated immunocytes of spleen, LB-1 decreased percentage of CD8⁺ ($P < 0.01$) T cells and increased the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T cells at the dosage of 2 mg·kg⁻¹ ($P < 0.01$), whereas LB-1 raised percentage of CD4⁺ T cells and CD3⁺ T cells at the dosage of

收稿日期: 2017-07-13; 修回日期: 2017-08-08.

基金项目: 北京市神经外科研究所创新基金资助项目 (所青年-2016-002).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165207, E-mail: chxg@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0683

4 mg·kg⁻¹. In conclusion, the present study demonstrated that LB-1 attenuated psoriasiform inflammation induced by imiquimod in BALB/c mice. The mechanism of LB-1 action may be related to change percentage of CD4⁺ T, CD8⁺ T cells in the spleen. These results provide a basis for LB-1 or other triptolide derivative in the intervention of psoriasis in the future.

Key words: triptolide; psoriasis; imiquimod; inflammation; T-lymphocyte

银屑病是一种以淋巴细胞异常活化、角质形成细胞异常增殖分化和炎症细胞浸润为特征的常见的慢性炎症性皮肤病, 主要组织病理特征包括: 表皮内细胞角化不全或角化过度、真皮内血管膨大扭曲、多种炎性细胞浸润等^[1]。

大量的证据表明, 银屑病是在多基因遗传背景下发生的、以 T 细胞为主的多种免疫细胞共同参与的免疫功能调节异常的疾病^[2-4]。应用环孢霉素 (cyclosporine, CsA)、他克莫司 (tacrolimus, FK506) 等 T 细胞免疫抑制剂^[5]及特异性 T 细胞抑制剂 (抗 CD4 单克隆抗体, OKTcd4a) 治疗银屑病均有一定疗效^[6]。将银屑病患者非皮损区皮肤移植到重症联合免疫缺陷 (severe combined immune deficiency, SCID) 小鼠, 注射来自银屑病患者经超抗原和 IL-2 活化的 T 淋巴细胞, 能在后者诱发银屑病样皮损等^[7]。T 细胞在银屑病发病过程中的作用可简单归纳如下: 抗原呈递细胞 (antigen-presenting cell, APC) 捕获抗原, 加工处理后呈递于细胞表面。在外周淋巴器官中活化 CD4⁺ T 细胞; 活化的 CD4⁺ T 细胞进入皮肤活化局部的 APCs; 此 APCs 再进一步活化表皮内的 CD8⁺ T 细胞; CD8⁺ T 细胞活化增殖, 产生细胞因子、趋化因子、黏附分子和生长因子等, 导致银屑病一系列特征性病理改变的发生, 如角朊细胞增殖和分化不全、血管内皮细胞的改变等^[8]。

咪喹莫特 (imiquimod, IMQ) 是 Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 7/8 的特异性激活剂^[9], 可以特异性与浆细胞样树突状细胞 (plasmacytoid dendritic cells, pDC) 内涵体 TLR7 结合, 诱导 pDC 分泌大量的干扰素 (interferon, IFN)- α 。IMQ 广泛应用于治疗尖锐湿疣、肛周疣、日光性角化病及基底细胞癌等^[10,11]。但 IMQ 应用于有银屑病倾向的患者会诱发和加重病情^[12-14], 因此研究者将其用于小鼠并成功诱发出银屑病样病理改变^[15]。相比其他异体移植、基因敲除或基因突变等形成的银屑病小鼠模型, IMQ 诱导银屑病样炎症小鼠模型是在自然免疫状态下诱导产生的, 是一个研究银屑病及其治疗药物的更理想的小鼠模型^[16]。

目前针对银屑病的治疗主要是对症治疗, 包括维甲酸类、维生素 D3 衍生物、糖皮质激素类、免疫抑制剂及生物制剂等^[17]。雷公藤系卫矛科雷公藤属植物, 它作为传统中药, 其提取物因具有免疫抑制而作为抗炎类药物被广泛用于包括银屑病在内的免疫相关疾病的治疗。其中雷公藤甲素 (triptolide, LA) 是从卫矛科植物雷公藤中分离出的活性最高的环氧化二萜内酯化合物, 是雷公藤的主要有效成分之一, 经药理和临床试验表明 LA 对各种类型的银屑病均具有较好疗效^[18,19]。然而值得注意的是 LA 有很大的毒性, 急性毒性实验显示 LA 的半数致死量 (median lethal dose, LD₅₀) 为 0.94 mg·kg⁻¹^[20,21], 在发挥药效作用的同时会有很大的不良反应, 如生殖毒性。因此, 提取、纯化有效成分并进行改造, 增加疗效, 降低毒副作用, 是现代中药发展的重要内容。化合物 2-propenoic acid, 3-(4-fluorophenyl)-, (3bS,4aS,5aR,6R,6aS,7aS,7bS,8aS,8bS)-1,3,3b,4,4a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-dodecahydro-6a-(1-hydroxy-1-methylethyl)-8b-methyl-1-oxotrisoxireno[4b,5:6,7:8a,9]phenanthro[1,2-c]furan-6-yl ester, (2E)-(LB-1) 是 LA 类似物 (图 1), 具有更低的急性毒性, 并且水溶性好^[22]。因此, 本实验拟研究 LB-1 对 IMQ 诱导小鼠银屑病样炎症的影响, 及 LB-1 对 T 细胞等方面的影响以探讨其抑制银屑病样的作用机制, 从而为今后应用防治干预银屑病奠定理论基础。

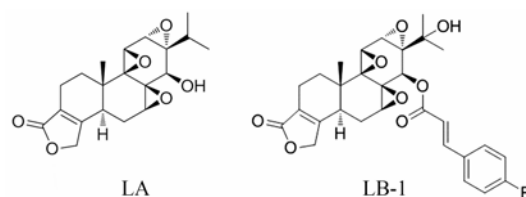


Figure 1 The structures of LA and LB-1 were presented. LA: Triptolide; LB-1: 2-Propenoic acid, 3-(4-fluorophenyl)-, (3bS,4aS,5aR,6R,6aS,7aS,7bS,8aS,8bS)-1,3,3b,4,4a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-dodecahydro-6a-(1-hydroxy-1-methylethyl)-8b-methyl-1-oxotrisoxireno[4b,5:6,7:8a,9]phenanthro[1,2-c]furan-6-yl ester, (2E)-

材料与方法

动物及试剂 雌性 BALB/c 小鼠, 雌性, 体重 18~20 g, 购自维通利华 (合格证号: SCXK 京 2009-

0007)。所有动物实验均在中国医学科学院药物研究所动物中心进行,严格按照中国实验动物使用规定进行及获得药物研究所动物实验伦理委员会批准。饲养环境:动物房保持通风、干燥,室温 22~25 °C,湿度 50%~70%,自由饮水和饮食。IMQ 乳膏购自北京协和医院:12 袋/盒,每袋 250 mg (每盒 3 g)。LB-1 由中国医学科学院药物研究所药物化学张东明老师课题组合成。

分组及造模给药

造模 将小鼠刮除背部皮肤,2 cm×3 cm 大小暴露区。根据小鼠分组给予外用基质 (50 mg 凡士林) 或者 50 mg IMQ 乳膏,每日 1 次,连续 7 天。观察局部皮肤变化,计算银屑病样炎症的校正银屑病样皮损面积和疾病严重程度 (psoriasis area and severity index, PASI) 评分,评分标准如下所述。照相记录。于第 7 天脱颈处死小鼠,取局部皮损组织剔除皮下脂肪组织,置于 4% 多聚甲醛用于 HE 染色,分离脾脏,称重并组织研磨分离淋巴细胞。

分组 实验分为 4 组,对照组、IMQ 模型组和 LB-1 给药组 (IMQ + 2 mg·kg⁻¹ LB-1 和 IMQ + 4 mg·kg⁻¹ LB-1)。LB-1 给药组造模当天给药,腹腔注射,连续给药 7 天。

PASI 评分 依据 PASI 评分标准,给予小鼠皮损处红斑 (erythema)、鳞屑 (scales) 及浸润增厚程度 (thickness) 给予 0~4 的积分,将三者积分相加得到总分。PASI 评分标准:0,无;1,轻度;2,中度;3,重度;4,极重度。

苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色 石蜡切片 4 μm 浸入二甲苯 15 min×2 后,依次浸入 100% 酒精 2 min,95% 酒精 3 min×2,80% 酒精 3 min,蒸馏水洗涤 3 min,苏木素染色 5 min,自来水迅速洗去浮色,蒸馏水稍洗,70% 盐酸乙醇分化 (镜下观察),自来水温水和冲洗 10~30 min,蒸馏水稍洗,1% 伊红液染色 1 min,镜下观察。自然风干过夜,再用中性树胶封片。在显微镜下观察记录切片情况。染色结果显示,细胞浆红色,细胞核蓝紫色。

脾脏分离淋巴细胞的流式细胞术检测 脾脏取出,去掉被膜,放入预冷匀浆器中手工匀浆 3~5 min,直至不见组织块为止;200 目滤网 (钢网) 过滤匀浆液;依次加入红细胞裂解液 [0.16 mol·L⁻¹ NH₄Cl, 0.17 mol·L⁻¹ Tris (pH 7.45), HCl 调 pH 至 7.2], 淋巴细胞分离液,室温 800 ×g 离心 30 min,离心试管中细胞匀浆分为 3 层,小心吸取中间量最少的一层絮状物, PBS 离心洗 2 遍 (1 000 r·min⁻¹, 5 min),计数细胞,

PBS 调整细胞密度至每毫升 1×10⁶ 个,取 100 μL 细胞悬液,加入 7 μL 封闭液,封闭 5~10 min;依次加入荧光标记抗体 (CD3-APC-647、CD4-FITC 和 CD8-PE),常温避光孵育 1 h,加入 PBS 1 mL,1 350 r·min⁻¹ 离心 8 min 以洗去未标记抗体,加 PBS 调至 200 μL 体积重悬细胞,上机检测 (BD FACS Calibur),以 FlowJo 分析软件记录并分析结果。

统计学分析 采用 SPSS 19 对实验结果进行统计分析,均数和标准误以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组之间采用 *t*-test 检测,3 组或 3 组以上采用 one-way ANOVA 检测,各组之间显著性差异以 *P*<0.05。

结果

1 LB-1 抑制 IMQ 诱导的小鼠银屑病样炎症

实验显示,对照组小鼠背部皮肤未见明显改变,而模型组小鼠背部皮肤于外用 IMQ 乳膏 3 天后渐渐出现红色斑疹、斑块及鳞屑,第 7 天最为明显,呈典型的银屑病样改变 (图 2A)。与模型组相比,2 mg·kg⁻¹ LB-1 给药组红斑、鳞屑有所减轻,4 mg·kg⁻¹ LB-1 给药组小鼠背部皮肤仅有轻度红斑、鳞屑的出现,第 7 天改变明显较模型组轻。模型组小鼠皮损的 PASI 评分显著高于 LB-1 给药组 (图 3)。

2 LB-1 抑制 IMQ 诱导银屑病小鼠皮损组织病理改变

在病理改变方面,模型组小鼠皮损表现为明显的

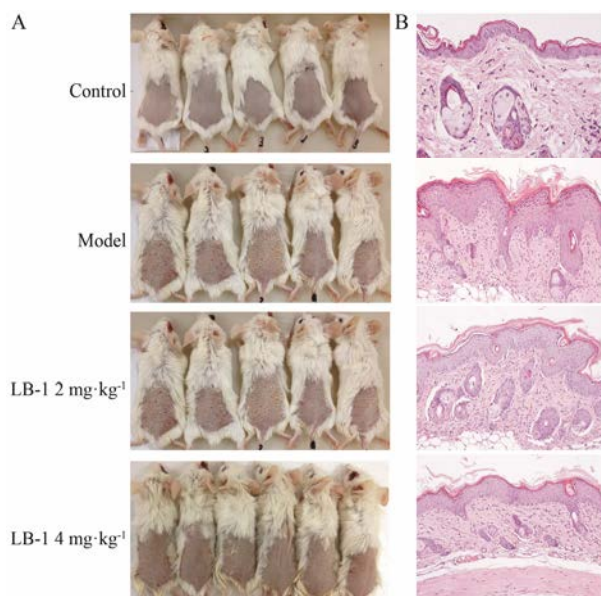


Figure 2 Effects of LB-1 on morphologic changes induced by imiquimod of BALB/c mice. Establishment of imiquimod induced psoriasisform model (A) and efficacy of LB-1 for psoriasis using HE staining assay (B). Magnification 200 ×

角化过度、棘层肥厚及真皮炎性细胞浸润, 与人类银屑病的病理改变非常相似; 2 和 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ LB-1 给药组小鼠皮损病理改变明显减轻, 且 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ LB-1 给药组对小鼠皮损病理改变效果优于 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药组, 但是相比对照组皮肤, 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ LB-1 给药组仍然可见轻度的角化过度、棘层肥厚及炎性浸润等 (图 2B)。

3 LB-1 改变 IMQ 诱导的银屑病小鼠脾 T 淋巴细胞的含量

研究发现, 外用 IMQ 通过系统作用可以引起小鼠

脾脏增大^[15], 本次实验结果也发现了同样的结果, 与对照组相比, 模型组小鼠连续外用 IMQ 7 天, 脾脏明显肿大 ($P < 0.001$); 与模型组小鼠相比, 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ LB-1 给药组小鼠可以明显抑制脾脏的增大 ($P < 0.001$, 图 4A)。

通过流式细胞术对小鼠脾脏分离的免疫细胞进行分类检测 (图 4B), 实验结果显示, 与对照组小鼠相比, 模型组小鼠脾脏中 $\text{CD}3^+$ T 和 $\text{CD}4^+$ T 细胞的百分比明显降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

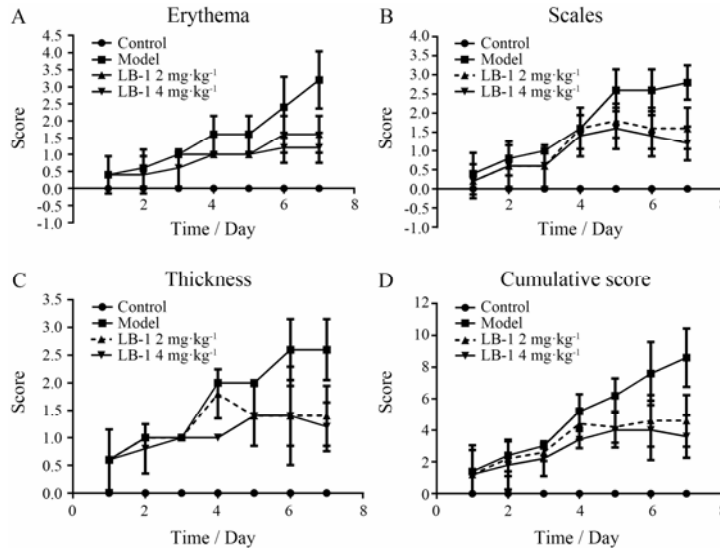


Figure 3 The effects of LB-1 on imiquimod induced psoriasisiform inflammation evaluated by psoriasis area and severity index (PASI) score. A: Erythema; B: Scales; C: Thickness; D: Cumulative score

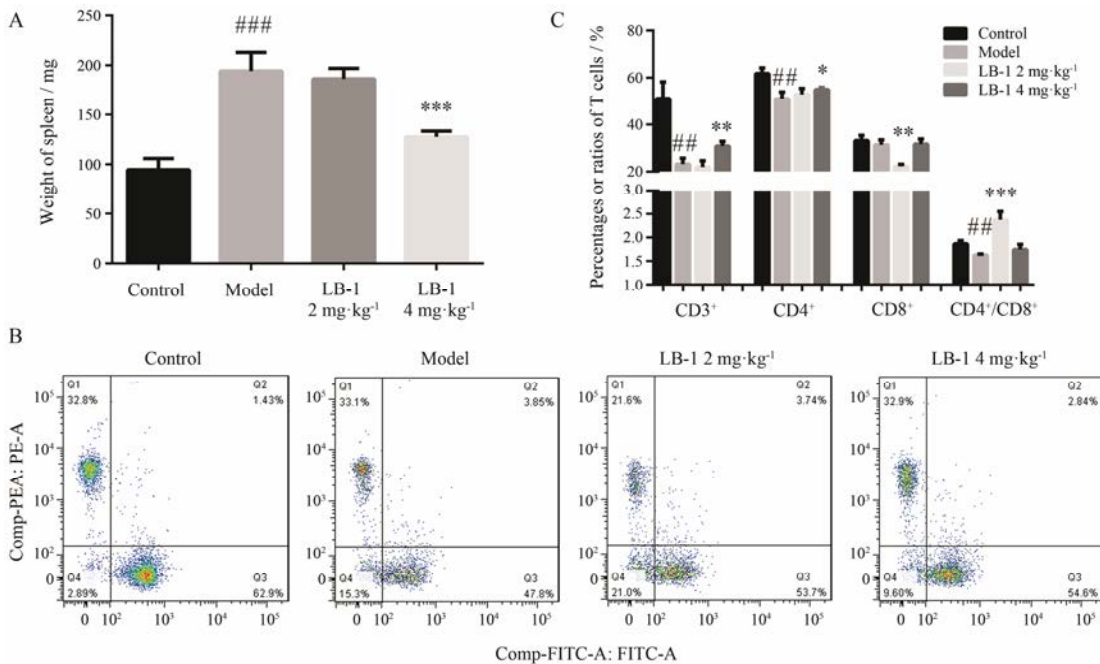


Figure 4 Effect of LB-1 treatment on the percentages of $\text{CD}3^+$ T cells, $\text{CD}4^+$ T cells and $\text{CD}8^+$ T cells in the spleens. A: LB-1 reduces the splenomegaly induced by IMQ. B, C: LB-1 alters the percentages of $\text{CD}4^+$ -FITC T cells, $\text{CD}8^+$ -PE T cells and $\text{CD}3^+$ -APC-647 T cells in the spleens. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$. ### $P < 0.01$, #### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs model group

LB-1 组能够抑制脾 CD8⁺ ($P < 0.01$) T 淋巴细胞百分比, 上调 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值 ($P < 0.001$); 而 LB-1 4 mg·kg⁻¹ 组上调脾 CD3⁺ T ($P < 0.01$) 和 CD4⁺ T ($P < 0.05$) 淋巴细胞的百分比, 但仍然低于对照组小鼠 CD3⁺ T 和 CD4⁺ T 细胞的百分比 (图 4C)。4 mg·kg⁻¹ LB-1 给药组亦能上调 CD4⁺/CD8⁺ 比值, 但与模型组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$)。说明 2 mg·kg⁻¹ LB-1 组对小鼠脾脏中的 CD8⁺ T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值有明显的上调作用, 而 4 mg·kg⁻¹ LB-1 组对小鼠脾脏中的 CD4⁺ T 细胞有明显的上调作用而不是 CD8⁺ T 细胞。

讨论

银屑病属于自身免疫性疾病, 具有严重的皮肤危害, 发病范围广, 病程反复又很难治愈^[23]。由于动物一般不会自发形成银屑病, 因此理想的银屑病动物模型的制备需要满足以下几个条件: ① 能在组织病理上模拟银屑病的特征, 如表皮增生、变厚及表皮分化异常、炎性浸润、血管增生等; ② 有一个与银屑病相似的发病机制; ③ 对目前抗银屑病药物治疗有效^[24]。但是目前尚无任何动物模型能够模拟出全部的银屑病样表症及其相关的炎症情况。

已报道的银屑病小鼠模型包括以下几类^[25,26]: ① 自发性小鼠模型; ② 遗传基因工程性小鼠模型; ③ T 细胞为基础的小鼠模型; ④ 靶基因表达的小鼠模型; ⑤ 异体移植小鼠模型。相比其他小鼠模型, 基于正常免疫功能的小鼠 IMQ 银屑病模型能从很多方面反映出银屑病的特征^[13,16], 局部皮肤出现红斑、鳞屑和增厚, 炎症可见, 组织病理改变包括过度增殖的角质形成细胞、角化不全、颗粒层消失, 真皮出现了包括 T 细胞、pDC 和中性粒细胞等炎性细胞的浸润。在炎性细胞因子方面, IMQ 诱导银屑病小鼠 IL-17/IL-23、IL-22、IL-15、IL-36、IL-6 和 TNF- α 等高表达^[15,27,28]。拮抗 T 细胞的功能后能明显减轻皮肤炎症, 进一步证明 T 细胞在 IMQ 诱导小鼠银屑病样炎症中的重要作用。本实验结果发现, 模型组小鼠外用 IMQ 乳膏 2~3 天后渐渐出现红斑鳞屑、皮肤肥厚等表现, 病理改变出现了角化过度、棘层肥厚及真皮炎症细胞浸润, 一直持续至实验结束; 而对照组小鼠表皮无明显改变。本结果与 van der Fits 等^[15]的研究结果一致, 说明实验模型建立成功。而 LB-1 明显减缓了局部皮肤红斑、鳞屑的出现; 病理改变可见轻度角化过度、棘层肥厚及真皮炎症细胞浸润, 但较之模型组银屑

病样炎症明显减轻。

以往研究发现, IMQ 通过系统作用引起小鼠脾脏肿大^[15]。同样, 本实验发现模型组小鼠的脾脏明显大于 LB-1 给药组小鼠, 两组脾脏重量有显著差异。由于 T 细胞在银屑病免疫异常的启动及维持中发挥重要作用, 为了进一步证实 LB-1 对银屑病样炎症的抑制作用可能与免疫 T 细胞有关, 本实验应用流式细胞术分析小鼠脾脏的 T 淋巴细胞百分比构成。模型组银屑病样炎症小鼠肿大的脾脏分离的细胞中 CD3⁺ T、CD4⁺ T 细胞百分比明显低于对照组小鼠, CD8⁺ T 细胞无明显差异, 因此 CD4⁺/CD8⁺ 的比值亦显著减低, 2 mg·kg⁻¹ LB-1 组能够抑制小鼠脾脏中的 CD8⁺ T 细胞、上调 CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞, 而 4 mg·kg⁻¹ LB-1 组显著上调小鼠脾脏中的 CD4⁺ T 细胞和 CD3⁺ T 细胞百分比, 说明不同剂量 LB-1 对小鼠银屑病模型的保护机制是不同的。

综上, IMQ 外用于 BALB/c 小鼠可以诱导出明显的银屑病样炎症, 是一个理想的研究银屑病的小鼠模型。大量 T 细胞浸润到皮损组织及小鼠脾脏中, T 细胞的构成较对照组小鼠有显著差异, 说明 T 细胞参与了银屑病样炎症的形成。LB-1 具有显著减轻 IMQ 诱导的银屑病炎症的作用, 但是不能完全抑制银屑病的形成; 对脾脏中 T 细胞的影响, 提示 LB-1 可能通过调节 T 细胞百分比构成而发挥抗炎作用。此结果为进一步研究 LB-1 及其他以雷公藤甲素为主要活性成分的雷公藤制剂在银屑病的临床应用上具有一定的指导意义。

References

- [1] Schön MP, Boehncke WH. Psoriasis [J]. N Engl J Med, 2005, 352: 1899-1912.
- [2] Austin LM, Ozawa M, Kikuchi T, et al. The majority of epidermal T cells in psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon- γ , interleukin-2, and tumor necrosis factor- α , defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients [J]. J Invest Dermatol, 1999, 113: 752-759.
- [3] Robert C, Kupper TS. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance [J]. N Engl J Med, 1999, 341: 1817-1828.
- [4] Nickoloff BJ. The search for pathogenic T cells and the genetic basis of psoriasis using a severe combined immunodeficient mouse model [J]. Cutis, 2000, 65: 110.
- [5] Baker BS, Griffiths CEM, Lambert S, et al. The effects

- of cyclosporin A on T-lymphocytes and dendritic cells subpopulation in psoriasis [J]. *Br J Dermatol*, 1987, 116: 503–510.
- [6] Prinz J, Braun-Falco O, Meurer M, et al. Chimaeric CD4 monoclonal antibody in treatment of generalised pustular psoriasis [J]. *Lancet*, 1991, 338: 320–321.
- [7] Wrone-Smith T, Nickoloff BJ. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis [J]. *J Clin Invest*, 1996, 98: 1878–1887.
- [8] Walsh SR, Shear NH. Psoriasis and the new biologic agents: interrupting a T-AP dance [J]. *CMAJ*, 2004, 170: 1933–1941.
- [9] Wagner TL, Ahonen CL, Couture AM, et al. Modulation of TH1 and TH2 cytokine production with the immune response modifiers, R-848 and imiquimod [J]. *Cell Immunol*, 1999, 191: 10–19.
- [10] Steinmann A, Funk JO, Schuler G, et al. Topical imiquimod treatment of a cutaneous melanoma metastasis [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2000, 43: 555–556.
- [11] Novak N, Yu CF, Bieber T, et al. Toll-like receptor 7 agonists and skin [J]. *Drug News Perspect*, 2008, 21: 158–165.
- [12] Wu JK, Siller G, Strutton G. Psoriasis induced by topical imiquimod [J]. *Australas J Dermatol*, 2004, 45: 47–50.
- [13] Rajan N, Langtry JA. Generalized exacerbation of psoriasis associated with imiquimod cream treatment of superficial basal cell carcinomas [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2006, 31: 140–141.
- [14] Patel U, Mark NM, Machler BC, et al. Imiquimod 5% cream induced psoriasis: a case report, summary of the literature and mechanism [J]. *Br J Dermatol*, 2011, 164: 670–672.
- [15] 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: 5836–5845.
- [16] Swindell WR, Johnston A, Carbajal S, et al. Genome-wide expression profiling of five mouse models identifies similarities and differences with human psoriasis [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e18266.
- [17] Rahman M, Alam K, Ahmad MZ, et al. Classical to current approach for treatment of psoriasis: a review [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2012, 12: 287–302.
- [18] Li JH, Hu A, Zheng WJ, et al. Screening of target protein of triptolide on psoriasis by molecular docking [J]. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 2014, 49: 1133–1138.
- [19] Lin CA. Treatment of *Tripterygium wilfordii* in 78 cases of patients with unusual psoriasis [J]. *Chin J Dermatovenereol (中国皮肤性病学杂志)*, 1995, 9: 175.
- [20] Liu MX, Dong J, Yang YJ, et al. Preparation and toxicity of triptolide-loaded poly (*D, L*-lactic acid) nanoparticles [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2004, 39: 556–560.
- [21] Li XJ, Jiang ZZ, Zhang LY. Triptolide: progress on research in pharmacodynamics and toxicology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155: 67–79.
- [22] Niu F, Li Y, Lai FF, et al. LB-1 exerts antitumor activity in pancreatic cancer by inhibiting HIF-1 α and Stat3 signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230: 2212–2223.
- [23] Zhang JZ. The prevalence and risk factors of psoriasis [J]. *Pract J Clin Med (实用医院临床杂志)*, 2013, 10: 4–6.
- [24] Schon MP. Animal models of psoriasis: a critical appraisal [J]. *Exp Dermatol*, 2008, 17: 703–712.
- [25] Gudjonsson JE, Johnston A, Dyson M, et al. Mouse models of psoriasis [J]. *J Invest Dermatol*, 2007, 127: 1292–1308.
- [26] Peng LX, Li XY. Advances in animal models of psoriasis [J]. *Int J Dermatol Venereol (国际皮肤性病学杂志)*, 2009, 35: 260–262.
- [27] Res PC, Piskin G, de Boer OJ, et al. Overrepresentation of IL-17A and IL-22 producing CD8 T cells in lesional skin suggests their involvement in the pathogenesis of psoriasis [J]. *PLoS One*, 2010, 5: e14108.
- [28] Ortega C, Fernández AS, Carrillo JM, et al. IL-17-producing CD8⁺ T lymphocytes from psoriasis skin plaques are cytotoxic effector cells that secrete Th17-related cytokines [J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 86: 435–443.