

ICS 65.020.30
CCS B44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAS XXX-2025

实验动物 银屑病动物模型制备和评价 技术规范

Laboratory animals — Technical specification for the preparation and evaluation of
animal models of psoriasis
(征求意见稿)

2024-3-27 发布

2024-3-27 实施

中国实验动物学会发布

前言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国实验动物学会归口。

本文件由全国实验动物标准化技术委员会（SAC/TC281）技术审查。

本文件由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草。

本文件起草单位：河南中医药大学，河南中医药大学第一附属医院，郑州大学，河南大学。

本文件主要起草人：苗明三，葛诗慧，宋亚刚，苗晋鑫，刘学伟，石晓静，刘震，柴立辉，宋韶鹤。

实验动物 银屑病动物模型制备和评价技术规范

1 范围

本文件规定了常见银屑病大鼠和小鼠、豚鼠模型的制备和评价方法。

本文件适用于大鼠和小鼠、豚鼠银屑病动物模型的制备与评价，包括咪喹莫特（IMQ）诱导、普萘洛尔诱导、十二烷基硫酸钠（SDS）诱导、异体移植模型。基因工程银屑病模型由于涉及不同基因编辑策略及动物繁育体系，目前尚缺乏统一技术路线，本标准不作规定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 35823 实验动物 动物实验通用要求

GB/T 35892-2018 实验动物福利伦理审查指南

GB/T 39760 实验动物 安乐死指南

GB/T 42011 实验动物 福利通则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

银屑病 Psoriasis

一种常见的慢性、复发性、炎症性皮肤病，以表皮过度增殖、角化不全、真皮浅层血管扩张及炎性细胞浸润为主要病理特征，临床表现为红斑、丘疹、鳞屑，可伴瘙痒等症状，且可能累及关节、心血管等系统。在中医中类似于“白疔”、“干癣”和“松皮癣”等，其发病与外感风邪、内生燥血、血热、血瘀等因素相关。

4 缩略语

IMQ + 咪喹莫特 + (Imiquimod)

SDS+ 十二烷基硫酸钠 + (Sodium dodecyl sulfate)

PASI + 银屑病面积和严重程度指数 + (Psoriasis Area and Severity Index, PASI)

α -Syn + α -突触核蛋白 + (α -synuclein)

5 模型制备

5.1 IMQ 诱导小鼠银屑病模型

5.1.1 实验原理

1-甲基-4-苯基咪唑莫特是一种免疫调节剂，可激活 toll 样受体 7/8，诱导机体产生多种细胞因子，如白细胞介素-6、白细胞介素-17、肿瘤坏死因子- α 等，从而引发皮肤炎症反应，导致表皮增生、角化不全等类似银屑病的病理改变。

5.1.2 实验材料

a) 实验动物：选择 BALB/c 小鼠或 C57BL/6 小鼠，雌雄均可，体重在 18 - 22g 之间，无皮肤疾病史，饲养环境符合 SPF 级标准。

b) 实验仪器：电子天平、鼠笼、剃毛器、注射器、解剖用器械（直镊、弯镊、眼科剪等）、倒置显微镜、病理切片制作设备等。

c) 实验试剂：5%咪唑莫特乳膏、脱毛膏、生理盐水。

5.1.3 模型建立技术要求

实验前 1 天，用剃毛器和脱毛膏将小鼠背部毛发脱除，面积 2cm×3cm。每日在脱毛区域涂抹 5% 咪唑莫特乳膏，剂量为 62.5mg / 只，连续涂抹 6 - 10 天。造模期间及结束后进行相关指标检测。需要设置对照时，可于相同部位外涂等量凡士林软膏，连续处理相同时间。

注意事项：脱毛时应避免损伤皮肤，脱毛后确认皮肤完整，无明显破损或出血；药物应均匀涂布于脱毛区域，避免一次性大量堆积或超出脱毛范围，以减少局部刺激；涂抹药物时应避免小鼠舔食，可使用伊丽莎白圈；建模期间应每日观察小鼠精神状态、体重变化及皮肤反应；如出现轻度刺激反应，可继续观察并加强护理；如出现严重皮肤损伤、继发感染或其他严重影响动物福利的情况，应按照动物伦理要求及时处置，并记录原因。

5.2 普萘洛尔诱导豚鼠银屑病模型

5.2.1 实验原理

普萘洛尔通过影响血管收缩、免疫调节等途径，诱导皮肤出现炎症反应，导致表皮角化过度、棘层肥厚等银屑病样病理改变。

5.2.2 实验材料

a) 实验动物：选择健康豚鼠，雌雄均可，体重 300 - 400g，皮肤无损伤。

b) 实验仪器：电子天平、鼠笼、注射器、解剖用器械（直镊、弯镊、眼科剪等）、倒置显微镜、病理切片制作设备等。

c) 实验试剂：普萘洛尔、生理盐水、脱毛膏。

5.2.3 模型制备技术要求

采用普萘洛尔进行皮下注射、灌胃或涂抹进行造模，皮下注射剂量为 $10\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ，灌胃剂量为 $20\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ，涂抹 $0.2\text{ ml } 0.1\%$ 普萘洛尔溶液，连续处理 2 - 3 周。设置对照时，可注射或灌胃等体积的生理盐水，处理时间相同，造模结束后进行相关指标检测。

注意事项：密切观察豚鼠的活动状态、饮食情况及皮肤变化，若出现异常反应及时调整剂量或停止实验。

5.3 SDS 诱导小鼠银屑病模型

5.3.1 实验原理

SDS 是一种表面活性剂，可破坏皮肤屏障功能，引起皮肤炎症反应，导致角质层增厚、血管增生及炎症细胞浸润，模拟银屑病的部分病理特征。

5.3.2 实验材料

a) 实验动物：选择 KM 小鼠，雌雄均可，体重 $18 - 22\text{ g}$ ，皮肤健康。

b) 实验仪器：电子天平、鼠笼、移液枪、涂药棒、解剖用器械（直镊、弯镊、眼科剪等）、倒置显微镜、病理切片制作设备等。

c) 实验试剂： 2.5% 十二烷基硫酸钠溶液、脱毛膏、生理盐水。

5.3.3 模型制备技术要求

实验前将小鼠背部脱毛，面积 $2\text{ cm}\times 2\text{ cm}$ 。模型组：每日在脱毛区域涂抹 2.5% 十二烷基硫酸钠溶液，每次 $100\text{ }\mu\text{L}$ ，连续涂抹 7-10 天。设置对照时，可涂抹等体积的生理盐水，处理方式相同，造模结束后进行相关指标检测。

注意事项：涂抹时动作轻柔，避免损伤皮肤；定期观察皮肤状况，防止过度刺激导致皮肤溃烂。

5.4 异种移植银屑病模型

5.4.1 实验原理

将人类银屑病患者的病变皮肤组织移植到免疫缺陷小鼠体内，利用小鼠的体内环境维持病变组织的特性，从而模拟人类银屑病的病理特征和临床表现。

5.4.2 实验材料

a) 实验动物：选择免疫缺陷型小鼠，包括 BALB/c 裸鼠、SCID 小鼠、NSG 小鼠等，雌雄均可，体重 $18 - 22\text{ g}$ ，免疫功能缺陷，无皮肤疾病。

b) 实验仪器：超净工作台、手术器械（手术刀、缝合针、缝合线、止血钳等）、鼠笼、解

剖用器械、光学显微镜、组织包埋机、石蜡切片机、酶标仪等。

c) 实验试剂：人类银屑病病者病变皮肤组织（来源于经伦理委员会批准并取得患者书面知情同意的皮损组织，优先采用手术或活检后的剩余组织）、生理盐水、抗生素（如青霉素、链霉素）。生理盐水、抗生素（如青霉素、链霉素）、75% 酒精。

5.4.3 模型制备技术要求

人类银屑病病者病变皮肤组织应来源合法合规，并经伦理审批和患者知情同意。组织采集、保藏、运输和处理应符合相关法律法规及伦理要求，并统一取材部位、组织规格、处理时限和保存条件。将组织修整为大小一致的全层皮片，单块面积宜为 $0.25 \sim 1.0 \text{ cm}^2$ ，移植于免疫缺陷小鼠背部皮下并缝合固定。术后加强动物护理，必要时给予抗感染处理。需要设置对照时，可采用正常人皮肤组织按相同方法处理。造模完成后，按照第 5 章进行模型评价。

6 银屑病动物模型评价技术要求

模型评价指标包括核心指标和推荐指标。核心指标包括一般症状观察、PASI 评分及组织病理学评价；推荐指标包括炎症因子检测、免疫组织化学检测和分子生物学检测等。

6.1 模型的一般症状观察要

6.1.1 一般观察

每日观察动物一般状态，包括活动状态、精神状态、饮食饮水情况、体重变化、毛发色泽及脱落情况，并记录死亡情况。观察皮肤病变部位红斑、鳞屑、丘疹、皮肤增厚及抓挠等表现，记录皮损出现时间、分布范围及变化过程。

6.1.2 PASI 评分技术要求

皮损严重程度宜采用银屑病面积和严重程度指数（Psoriasis Area and Severity Index, PASI）评分进行评价。评分项目包括：a) 红斑(erythema)；b) 鳞屑(scaling)；c) 皮肤增厚(thickness)。各项按 0~4 分进行评分：0 分：无；1 分：轻度；2 分：中度；3 分：重度；4 分：极重度。总评分为三项之和，满分 12 分。

6.2 模型的皮肤组织病理学 HE 检测

6.2.1 标本获取技术要求

动物在进行相关检测后，麻醉处死，取病变皮肤组织放入 4% 多聚甲醛溶液中固定 24-48 小时，然后进行脱水、透明、石蜡包埋等处理，制作病理切片。切片后进行苏木精-伊红(HE)染色。

6.2.2 检测指标

a) 表皮角化情况：观察表皮是否存在角化过度、角化不全，角化不全区是否有 Munro 微

脓肿。

b) 棘层厚度：测量棘层厚度，观察棘层是否增厚，表皮嵴是否延长、下端是否增宽并与邻近表皮突相吻合。

c) 颗粒层厚度：观察颗粒层是否变薄或消失。

d) 真皮层棘层和血管内皮情况：观察真皮乳头上棘层是否变薄，血管内皮是否增生，毛细血管是否扩张、延伸并迂曲，周围是否有淋巴细胞、中性粒细胞等炎性细胞浸润。

检测技术要求：病理切片经苏木精-伊红染色后，在光学显微镜下观察，每张切片选取 3 - 5 个视野，使用图像分析软件测量相关指标，进行统计学分析。

6.3 生化指标检测

6.3.1 标本获取技术要求

动物麻醉后，通过眼眶采血或心脏采血，分离血清，置于 - 80 °C 冰箱保存备用。取病变皮肤组织，加入适量的裂解液，研磨成匀浆，离心后取上清液，用于检测相关细胞因子等指标。

6.3.2 检测指标及技术要求

a) 细胞因子：检测血清及皮肤组织中白细胞介素（IL-6、IL-17、IL-23、IL-8、IL-10、等）、肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）、干扰素- γ （IFN- γ ）、血管内皮生长因子（VEGF）等的水平。

b) 其他生化指标：检测 C 反应蛋白（CRP）、免疫球蛋白（IgG、IgM）、血清蛋白（Hb）、总蛋白（TP）、白蛋白（ALB）等的水平。

检测技术要求：采用相应的检测试剂盒，按照说明书进行操作，使用酶标仪等仪器进行检测，记录检测结果并进行统计学分析。

6.4 免疫组织化学检测

可根据研究需要，采用免疫组织化学方法检测银屑病相关蛋白表达。推荐检测指标包括：

a) Ki67（角质形成细胞增殖）；b) Keratin 16（K16）；c) Keratin 17（K17）；d) Filaggrin；e) Loricrin；f) CD3；g) Ly6G。检测结果宜采用阳性面积或平均光密度进行半定量分析。

6.5 模型的中医证候特征评价

中医证候评价应结合不同动物模型的皮肤病变特征、组织病理学表现及炎症相关指标进行综合分析，可参考临床银屑病血热证、血燥证、血瘀证等辨证特征进行评价，不宜将单一动物模型与某一中医证候类型简单对应。评价应采用客观、可观察、可重复的指标，不宜采用动物无法客观评价的主观症状。