替尔泊肽通过 FOXO1/CCND1 信号通路抑制银屑病 HaCaT 细胞增殖及炎症反应的机制

张丽[1],王艳青[1],王艳[1],刘建荣[1],张晓敏[2]

(1.山西医科大学第二医院皮肤科,山西 太原 030001;2.山西医科大学第二医院神经内科,山西 太原 030001)

摘要:目的 替尔泊肽作为新型胰高血糖素样肽-1(GLP-1)/抑胃肽(GIP)双受体激动剂,其治疗潜力尚未在银屑病中得到阐明。本研究旨在探讨替尔泊肽对银屑病样角质形成细胞模型的影响及其作用机制。**方法** 首先,通过生物信息学分析筛选替尔泊肽的潜在作用靶点及通路。进而,采用 M5 细胞因子混合物刺激 HaCaT 细胞建立模型,设立对照组、模型组、替尔泊肽干预组及替尔泊肽联合 FOXO1 抑制剂组。通过 CCK-8 法评估细胞增殖活力,蛋白质印迹法检测 FOXO1 磷酸化水平与细胞周期蛋白 D1(CCND1)表达,并对炎症反应相关指标进行检测。**结果** 生物信息学分析提示 CCND1 是关键靶点,并富集于 FOXO 信号通路。体外实验表明,替尔泊肽能有效抑制 M5 诱导的 HaCaT 细胞过度增殖,并减轻炎症反应。在机制上,替尔泊肽处理降低了 p-FOXO1/FOXO1 比值,同时下调了其下游靶点 CCND1 的蛋白表达。而 FOXO1 抑制剂则逆转了替尔泊肽的上述效应。**结论** 本研究提示,替尔泊肽可能通过 FOXO1/CCND1 信号通路,抑制角质形成细胞的异常增殖与炎症反应,从而为银屑病治疗提供了新的潜在策略与实验依据。

关键词:替尔泊肽;FOXO1;细胞周期蛋白 D1;银屑病;HaCaT 细胞系;炎症;网络药理学

中图分类号:R758.63 **文献标志码:**A **文章编号:**2095-5375(2026)09-0983-08

doi:10.13506/j.cnki.jpr.2026.09.004

Mechanism study of tirzepatide inhibiting proliferation and inflammatory response in psoriatic HaCaT cells via the FOXO1/CCND1 signaling pathway

ZHANG Li[1], *WANG Yanqing*[1], *WANG Yan*[1], *LIU Jianrong*[1], *ZHANG Xiaomin*[2]

(*1.Department of Dermatology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2.Department of Neurology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China*)

Abstract: Objective The therapeutic potential of tirzepatide, a novel GLP-1/GIP dual receptor agonist, has not been elucidated in psoriasis. This study aimed to investigate the effects of tirzepatide on a psoriasis-like keratinocyte model and its underlying mechanisms. **Methods** First, bioinformatics analysis was used to screen potential targets and pathways for tirzepatide. Subsequently, HaCaT cells were stimulated with an M5 cytokine mixture to establish a psoriasis-like keratinocyte model. Groups included a control group, a model group, a tirzepatide intervention group, and a tirzepatide combined with FOXO1 inhibitor group. Cell proliferation was assessed using the CCK-8 assay, FOXO1 phosphorylation levels and CCND1 protein expression were detected by Western blotting, and inflammatory markers were evaluated. **Results** Bioinformatics analysis indicated CCND1 as a key target enriched in the FOXO signaling pathway. In vitro experiments demonstrated that tirzepatide effectively suppressed M5-induced excessive proliferation in HaCaT cells and alleviated inflammatory responses. Mechanistically, tirzepatide treatment reduced the p-FOXO1/FOXO1 ratio while downregulating the protein expression of its downstream target CCND1. FOXO1 inhibitors reversed the aforementioned effects of tirzepatide. **Conclusion** This study suggests that tirzepatide may suppress abnormal proliferation and inflammatory responses in keratinocytes via the FOXO1/

基金项目:山西省高等学校科技创新项目(No.2022L156)

作者介绍:张丽,女,硕士,主治医师,研究方向:银屑病及免疫性疾病的发病机制和临床研究,E-mail:527495645@qq.com

通信作者:张晓敏,女,硕士,副主任医师,研究方向:GLP-1 受体激动剂的脑保护机制相关研究,E-mail:40283655@qq.com

CCND1 signaling pathway, thereby providing a novel potential therapeutic strategy and experimental basis for psoriasis treatment.

Key words: Tirzepatide; FOXO1; CCND1; Psoriasis; HaCaT; Inflammation; Network pharmacology

银屑病是一种免疫介导的慢性炎症性皮肤病，病理核心在于表皮角质形成细胞的过度增殖与异常分化，以及以 Th17 细胞轴为中心的免疫炎症网络失调[1-2]。尽管生物制剂等系统治疗革新了中重度患者的治疗格局，但寻找更多安全、有效且作用机制多样的治疗选择，仍是该领域的重要方向[3-4]。

近年来，代谢与免疫、皮肤稳态之间的相互作用日益受到关注，肠-皮肤轴概念的提出，揭示了系统性代谢状态对皮肤炎症的影响[5]。胰高血糖素样肽-1（GLP-1）受体激动剂作为 2 型糖尿病和肥胖症的一线治疗药物，除调控血糖体重外，还被发现具有直接的抗炎与器官保护作用[6]。值得注意的是，一些临床观察和病例报告提示，接受此类药物治疗的糖尿病患者，其并存的银屑病皮损可能得到意外改善[7]。这启发了对其直接作用于皮肤可能性的探索。抑胃肽（GIP）是由小肠上段 K 细胞分泌的 42 氨基酸多肽，属胰高血糖素肽超家族，是首个被发现的肠促胰素。其核心功能为高血糖时葡萄糖依赖性地促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素，低血糖时则刺激 α 细胞释放胰高血糖素，这种双向条件共同维持葡萄糖稳态[8]。同时，GIP 受体广泛分布于胰腺、脂肪、骨骼及中枢神经系统，使其兼具促进脂肪储存、增加骨形成及调控食欲等多效性；替尔泊肽作为新一代 GLP-1 与 GIP 双受体激动剂，展现出更强的代谢调控效能[8]，但其对经典代谢靶组织之外的器官（如皮肤）的作用，尤其是对银屑病这一具有特定炎症环境的皮肤科疾病影响，研究甚少。

FOXO1 转录因子是细胞稳态的核心调控者，参与细胞周期阻滞、凋亡诱导、抗氧化应激及抑制炎症反应等多种生物学过程[9-10]。在皮肤中，FOXO1 被证实是维持角质形成细胞稳态、抑制其异常增殖的关键因子[9]。细胞周期蛋白 D1（CCND1）是驱动细胞周期 G_1/S 期转换的关键蛋白，其过度表达与包括银屑病在内的增生性疾病密切相关[11]。已有明确证据表明，CCND1 是 FOXO1 的直接转录抑制靶点之一[12]。在生理条件下，当上游信号促使 FOXO1 去磷酸化激活后，活化的 FOXO1 从细胞质转位进入细胞核，作为转录因子特异性地结合至 CCND1 基因启动子区域的 FOXO 反应元件（forkhead response elements，FREs），进而招募组蛋白去乙酰化酶（HDACs）等转录共抑制因子，通过改变局部染色质构象，最终抑制 CCND1 的转录活性，从而负向调控其蛋白表达[12]。然而，在银屑病的病理背景下，FOXO1/CCND1 这条调控轴的功能状态如何，以及药物能否通过调控此轴发挥作用，尚缺乏研究。

基于上述背景，本研究首先通过生物信息学分析，将替尔泊肽的潜在作用靶点指向 CCND1 及 FOXO 信号通路。随后，在证实 HaCaT 细胞表达 GLP-1R 与 GIPR 的基础上，利用经典的 M5 细胞因子组合构建银屑病样细胞模型[13]。本研究旨在明确：①替尔泊肽能否抑制银屑病样角质形成细胞的异常增殖与炎症反应；②其作用是否与调控 FOXO1 活性及下游 CCND1 表达有关；③该作用是否依赖于 FOXO1 的功能。同时为理解代谢调节药物在皮肤炎症性疾病中的作用机制提供新的实验证据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　试剂　细胞培养采用 DMEM 高糖培养基（批号：11965）、添加 10%胎牛血清（批号：S9030）及 1%青霉素链霉素（批号：P1400）均购自北京索莱宝科技有限公司。银屑病样细胞模型诱导使用含 IL-17A、IL-22、Oncostatin M、IL-1α 及 TNF-α 的 M5 细胞因子混合物（各 10 ng·mL^{-1}，美国 PeproTech 公司）。干预药物替尔泊肽（Selleck 公司，批号：LY3298176）及 FOXO1 特异性抑制剂 AS1842856（Selleck 公司，批号：S8222）均用 DMSO 溶解，最终培养液中 DMSO 浓度不超过 0.1%。细胞增殖检测采用 CCK-8 试剂盒（北京索莱宝科技有限公司，批号：CA1210）；蛋白提取使用 RIPA 裂解液（含蛋白酶和磷酸酶抑制剂，北京索莱宝科技有限公司，批号：R0010），蛋白定量采用 BCA 试剂盒（北京索莱宝科技有限公司，批号：PC0020）。免疫荧光所用抗体包括兔源抗 GLP1R 抗体（Abcam 公司，批号：EPR21819）和兔源抗 GIPR 抗体（Abcam 公司，批号：ab136266），二抗为 Alexa Fluor 488 标记的羊抗兔抗体（ABclonal 公司，批号：AS053）。蛋白质印迹检测所用一抗包括：兔源抗 pFOXO1（Ser256）（批号：AP0172）、兔源抗总 FOXO1（批号：A2934）、兔源

抗 CCND1(批号:A19038)、兔源抗 IL-6(批号:A27935)、兔源抗 IL-8(批号:A24736)、兔源抗 TNF-α(批号:A11534)以及小鼠源抗 β-actin(ABclonal 公司,批号:AC026)均购自 ABclonal 公司;二抗为辣根过氧化物酶标记的羊抗兔抗体(ABclonal 公司,批号:AS014)。

1.1.2 仪器 二氧化碳细胞培养箱(Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Heracell 150i,37 ℃,5% CO_2,饱和湿度);全波长酶标仪(BioRad 公司,型号:iMark,用于 CCK-8 吸光度测定及 BCA 定量);荧光显微镜(Olympus 公司,型号:IX73,用于免疫荧光观察);化学发光成像系统(BioRad 公司,型号:ChemiDoc MP,用于蛋白质印迹条带采集);SDSPAGE 电泳仪(型号:Mini-PROTEAN Tetra)及湿式转膜装置(型号:Mini Trans-Blot)均购自 BioRad 公司,用于蛋白分离与转印。其余常规设备包括台式离心机(Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Sorvall ST 16R);微量移液器(Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Finnpipette F1)、恒温摇床(Thermo Fisher Scientific 公司,型号:MaxQ 4450)、80 ℃超低温冰箱(Eppendorf 公司,型号:CryoCube F570)及制冰机(Scotsman 公司,型号:AC56),均为实验室常用配置。

1.2 生物信息学分析 为预测替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点,首先从 PubChem 数据库获取替尔泊肽的规范 SMILES 结构。将该 SMILES 结构导入相似性集合搜索(SEA)在线平台,预测其潜在的药物作用靶点,获取初始靶点列表。同时,从 GeneCards 人类基因数据库中以“Psoriasis”为关键词检索银屑病相关疾病靶点。使用 R 语言(版本 4.2.1)及 VennDiagram 包,对上述两组靶点列表取交集,获得替尔泊肽治疗银屑病的共同潜在靶点。

将共同潜在靶点导入 STRING 数据库,设定最低相互作用阈值(>0.7),构建蛋白质-蛋白质相互作用网络。网络数据下载后,利用 Cytoscape 软件(版本 3.9.1)进行可视化分析,并运用内置的 cytoHubba 插件,基于“degree”算法筛选排名前 10 的关键核心基因。最后,将共同潜在靶点列表提交至 DAVID 生物信息学资源数据库进行 KEGG 通路富集分析,识别显著富集的信号通路(P<0.05)。

1.3 细胞培养与模型建立 人永生化角质形成细胞系 HaCaT(中国科学院细胞库,批号:SCSP-5091)于含 10%胎牛血清及 1%青霉素-链霉素的 DMEM 高糖培养基中,在 37 ℃、5% CO_2 及饱和湿度的培养箱中常规培养。

为建立银屑病样炎症增殖模型,使用含 IL-17A、IL-22、Oncostatin M、IL-1α 及 TNF-α 的混合细胞因子(简称“M5”)刺激细胞[13]。细胞在 M5 培养基中处理 24 h,以诱导稳定的过度增殖与炎症表型。

1.4 实验分组与处理 CCK-8 实验分为 9 组:对照组,模型组,0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、3.0 μmol·L^{-1} 替尔泊肽组;其中对照组为正常培养基培养,模型组为 M5 培养基培养,其余分组为 0.1~3.0 μmol·L^{-1}不同浓度替尔泊肽给药组,以筛选最佳给药剂量。

其余实验共分为 4 组:①对照组:正常培养基培养;②模型组:M5 培养基培养;③给药组:M5 培养基中加入 0.4 μmol·L^{-1}替尔泊肽;④抑制剂组:在添加 M5 及 0.4 μmol·L^{-1}替尔泊肽前,使用 1 μmol·L^{-1} FOXO1 特异性抑制剂 AS1842856 预处理细胞 1 h,随后与抑制剂及药物共培养[14],培养 24 h 后收集细胞进行后续实验。所有分组中,药物及抑制剂均用 DMSO 溶解,终培养液中 DMSO 浓度不超过 0.1%,该浓度作为溶剂对照。

1.5 细胞活力检测(CCK-8 法) 采用 CCK-8 法检测细胞增殖活力。将 HaCaT 细胞以每孔 5×10^3个的密度接种于 96 孔板中,贴壁过夜后按分组处理。在处理后的 24、48 及 72 h,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,继续孵育 2 h 后,使用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度值。细胞活力以相对于对照组的百分比表示。

1.6 免疫荧光 为验证 HaCaT 细胞上 GLP-1 与 GIP 受体的表达,将细胞接种于荧光专用培养皿中。细胞经 4%多聚甲醛固定、0.1% Triton X-100 透化及 5% BSA 封闭后,分别与兔源抗 GLP-1R 抗体及兔源抗 GIPR 抗体 4 ℃孵育过夜。次日,使用 Alexa Fluor 488 标记的羊抗兔二抗室温避光孵育 1 h,DAPI 染核后,于荧光显微镜下观察并采集图像。

1.7 蛋白质印迹分析 各组细胞经处理后,使用含蛋白酶及磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取总蛋白。蛋白浓度经 BCA 法定量后,取等量蛋白(30 μg)进行 SDS-PAGE 电泳并转至 PVDF 膜。用 5%脱脂牛奶室温封闭 1 h 后,膜与以下一抗 4 ℃孵育过夜:兔源抗 p-FOXO1(Ser256)、兔源抗总 FOXO1、兔源抗 CCND1、小鼠源抗 β-actin。次日,经 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h 后,使用 ECL 超敏发光液显影,于化学发光成像系统中采集图像。采用 Image J 软件分析条带灰度值,以 p-FOXO1 与总 FOXO1 的

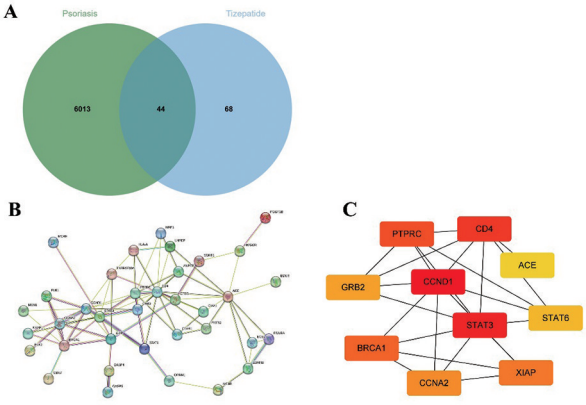
比值代表 FOXO1 活性,以 CCND1 与 β-actin 的比值代表其相对蛋白表达量。

1.8 炎症因子表达水平检测 为评估炎症反应,检测了关键促炎细胞因子 IL-6、IL-8 及 TNF-α 的表达水平。具体方法同"1.6"项下,使用相应抗体:兔源抗 IL-6、兔源抗 IL-8、兔源抗 TNF-α 进行检测,以内参蛋白 β-actin 标准化后计算相对表达量。

1.9 统计学分析 所有实验均独立重复至少 3 次。数据以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey's检验。$P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点筛选 由图 1 可知,本研究筛选出替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点 44 个,于 STRING 数据库中构建蛋白互作网络,使用 Cytoscape 软件筛选出关键基因 10 个,分别为:*CCND1*、*STAT3*、*CD4*、*PTPRC*、*BRCA1*、*XIAP*、*CCNA2*、*GRB2*、*STAT6*、*ACE*。其中评分最高的基因为 *CCND1*(评分 98 分),因此我们推测 CCND1 为替尔泊肽治疗银屑病的最显著潜在靶点。



A.替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点韦恩图;B.潜在靶点的蛋白互作网络示意图;C.排名前 10 的潜在靶点示意图,其中颜色越红提示评分越高

图 1 替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点筛选

A.Venn diagram of potential targets of tirzepatide for psoriasis treatment; B. Schematic diagram of protein-protein interaction network of potential targets; C.Schematic diagram of the top 10 potential targets, where the redder the color, the higher the score

Fig.1 Screening of potential targets of tirzepatide in the treatment of psoriasis

2.2 替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点富集分析 本研究将筛选出的替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点 44 个导入 DAVID 数据库进行富集分析,由图 2 结果显示,关键基因 CCND1 及其他 3 个基因 STAT3、BRCA1、ACE 富集在 FoxO 信号通路,并且差异具有统计学意义($P<0.05$)。

通过查阅相关文献,FoxO 家族包含 FOXO1、FoxO3a、FoxO4、FoxO6 等,其中 FOXO1 是研究最广泛,功能最重要的家族成员[15]。研究发现,FOXO1 广泛参与细胞周期及凋亡、糖代谢、脂代谢等多生理进程中[16]。同时,FOXO1 是细胞周期进程的关键核心驱动者,驱动 G_1/S 期转换,并且通过抑制 CCND1 等促增殖分子,执行其抑制细胞增殖、维持稳态和促进应激适应等功能,CCND1 为 FOXO1 的下游蛋白[9]。但是 FOXO1/CCND1 信号通路在替尔泊肽治疗银屑病中的潜在机制尚不明确,本研究以此通路为核心切入点展开研究。

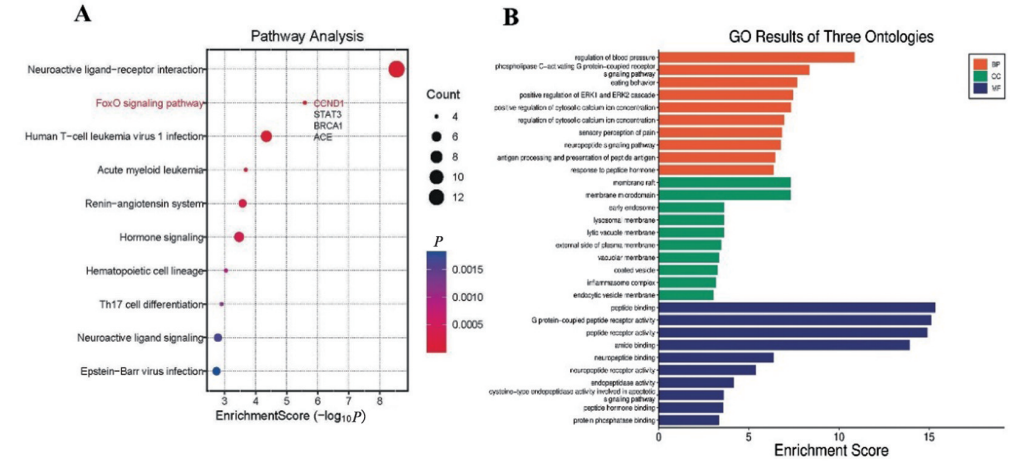
2.3 HaCaT 细胞系中广泛表达 GLP-1R 和 GIPR 替尔泊肽作为一种新型的 GLP-1/GIP 双靶点激动剂,研究 HaCaT 细胞系是否存在 GLP-1 和 GIP 的受体表达十分重要。因此本研究使用免疫荧光技术标记 GLP-1R 和 GIPR。如图 3 所示,GLP-1R 和 GIPR 在 HaCaT 细胞系中均广泛表达,因此替尔泊肽可以直接作用于该细胞系发挥作用。

2.4 替尔泊肽抑制 HaCaT 细胞增殖最佳给药剂量筛选 本研究使用 CCK-8 技术筛选不同浓度下替尔泊肽对 HaCaT 细胞增殖的抑制作用。CCK-8 实验的 9 组细胞活性分别为:100、164.0±8.22、153.5±8.75、144.3±7.39、127.7±6.86、107.8±7.36、108.7±8.71、109.5±8.31、109.2±9.13。如图 4 所示,与对照组相比,模型组细胞活性升高($P<0.001$),提示 HaCaT 细胞增殖模型造模成功;0.4 μmol·L^{-1}替尔泊肽对 HaCaT 细胞增殖的抑制作用最强($P<0.001$),因此采用 0.4 μmol·L^{-1}为本研究药物浓度。

2.5 替尔泊肽能够抑制 HaCaT 细胞活力,且与 FOXO1 信号通路有关 本研究使用 CCK-8 试剂盒分析不同时间段内,各组细胞的细胞活性以判断增殖能力。如图 5 所示,可以看到各组细胞随着时间进展,细胞活性均上升。与对照组比较,模型组上升幅度最大($P<0.001$);对照组为正常细胞系,为正常活性上升幅度;与模型组比较,给药组可以拮抗模型组的异常细胞活性上升幅度,即抑制其异常增殖($P<0.001$);而使用 FOXO1 抑制剂 AS1842856 后,替尔泊肽的抑制活性作用被逆转($P<0.001$),提示替尔泊肽能够抑制 HaCaT 细胞增殖与 FOXO1 信号通路有关。

2.6 替尔泊肽抑制 HaCaT 细胞增殖可能与 FOXO1 转录活性增加有关 本研究分析 p-FOXO1

和总 FOXO1 的比值计算 FOXO1 的表达活性。当 p-FOXO1(Ser256)这个位点被激活时(即被磷酸化),FOXO1 会从细胞核中移位到细胞质并失活,丧失转录活性,即 p-FOXO1 代表失活的 FOXO1[17]。因此,p-FOXO1 和总 FOXO1 的比值直接反映了 FOXO1 的失活比例,即比值升高提示失活比例增加,FOXO1 转录活性降低;反之则提示 FOXO1 转录活性增强。



A.替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点 KEGG 富集分析示意图;B.替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点 GO 富集分析示意图

图 2 替尔泊肽治疗银屑病的潜在靶点富集分析

A.Schematic diagram of KEGG enrichment analysis of potential targets of tirzepatide for psoriasis treatment;B.Schematic diagram of GO enrichment analysis of potential targets of tirzepatide for psoriasis treatment

Fig.2 Enrichment analysis of potential targets of tirzepatide in the treatment of psoriasis

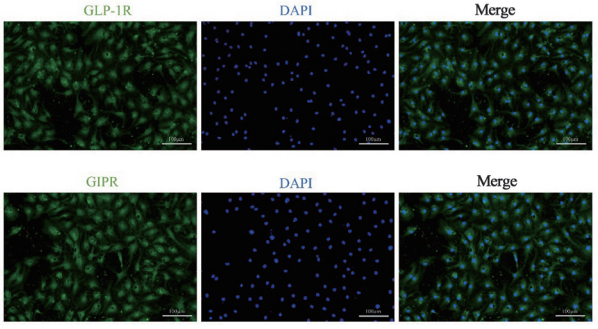


图 3 GLP-1R 和 GIPR 的免疫荧光结果

注:绿色荧光为目的蛋白,DAPI(蓝色)为细胞核染色,Merge 为绿色荧光通道与 DAPI 叠加后的合并图像。

Fig.3 Immunofluorescence results of GLP-1R and GIPR

Note:Green fluorescence is the target protein, DAPI (blue) is the nucleus staining, and Merge is the merged image of the green fluorescence channel and DAPI superimposed.

基于此,如图 6 所示,对照组、模型组、给药组、抑制剂组的 p-FOXO1/FOXO1 比值分别为:0.49±0.07、1.03±0.15、0.51±0.22、0.87±0.09。其中模型组的 p-FOXO1/FOXO1 比值高于对照组($P<0.001$),提示模型组中 FOXO1 失活比例增加;给药组的 p-FOXO1/FOXO1 比值低于模型组($P<0.001$),提示替尔泊肽能够降低 FOXO1 失活比例;抑制剂组的 p-FOXO1/FOXO1 比值高于给药组($P=0.0026$),提示替尔泊肽可能通过 FOXO1 信号通路治疗银屑病。

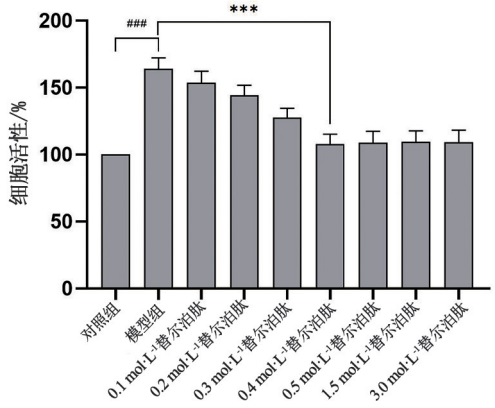


图 4 替尔泊肽抑制 HaCaT 细胞增殖最佳给药剂量筛选($n=6$)

注:横坐标为不同浓度替尔泊肽分组,纵坐标为细胞活性百分比。###$P<0.001$,***$P<0.001$。

Fig.4 Screening of the optimal administration dose of tirzepatide for inhibiting HaCaT cell proliferation($n=6$)

Note:The abscissa represents groups treated with different concentrations of tirzepatide,and the ordinate indicates the percentage of cell viability.###$P<0.001$, ***$P<0.001$.

2.7 替尔泊肽可能通过 FOXO1/CCND1 信号通路治疗银屑病 如图 7 所示,对照组、模型组、给药组、抑制剂组的 CCND1 相对表达量分别为:0.46±0.16、1.15±0.18、0.52±0.12、0.78±0.08,其中模型组中 CCND1 相对表达量高于对照组($P<0.001$);给予替尔泊肽后,CCND1 相对表达量下调($P<0.001$);给予 FOXO1 抑制剂 AS1842856 后 CCND1 相对表达量上

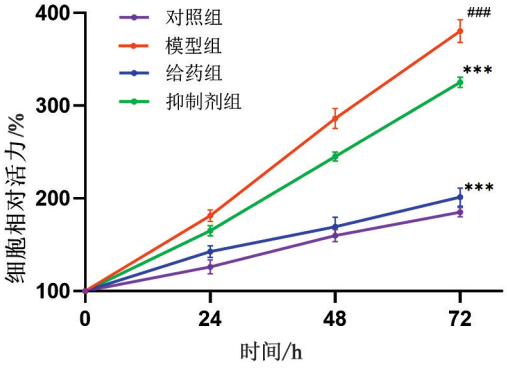
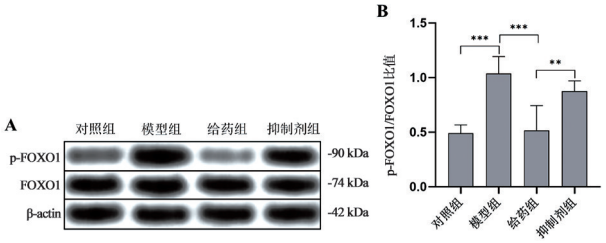


图 5 替尔泊肽抑制 HaCaT 细胞增殖实验结果($n=6$)

注:与对照组比较,$^{###}P<0.001$;与模型组比较,$^{***}P<0.001$。

Fig.5 Results of the inhibitory effect of tirzepatide on HaCaT cell proliferation($n=6$)

Note: Compared with control group, $^{###}P<0.001$; Compared with model group, $^{***}P<0.001$.



A.不同分组 p-FOXO1/FOXO1 的 Western boltting 表达情况示意图;B.不同分组 p-FOXO1/FOXO1 的 Western boltting 表达情况柱状图

图 6 替尔泊肽对银屑病样 HaCaT 细胞 p-FOXO1/FOXO1 比值的影响($n=6$)

注:$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$。

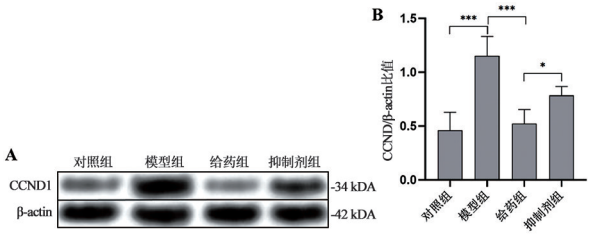
A. Western blotting expression levels of p-FOXO1/FOXO1 in different groups; B.Bar graph of p-FOXO1/FOXO1 expression in different groups

Fig.6 The effect of tirzepatide on p-FOXO1/FOXO1 ratio in psoriasis like HaCaT cells($n=6$)

Note: $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

调($P=0.025\ 6$)。结合“2.5”与“2.6”项下结果,提示替尔泊肽可能通过 FOXO1/CCND1 信号通路治疗银屑病。

2.8 替尔泊肽可能通过 FOXO1/CCND1 信号通路改善银屑病的炎症反应 本研究选用炎症因子 IL-6、IL-8、TNF-α 分析替尔泊肽能否改善银屑病的炎症反应。如图 8 所示,IL-6 在对照组、模型组、给药组、抑制剂组的相对表达量分别为:0.45±0.08、0.95±0.06、0.55±0.19、0.86±0.08,其中模型组的 IL-6 表达量高于对照组($P<0.001$),给药组表达量低于模型组($P<0.001$),抑制剂组表达量高于给药组($P=0.001\ 2$)。IL-8 在对照组、模型组、给药组、抑制剂组的相对表达量分别为:0.33±0.11、0.79±0.06、0.52±0.16、0.77±0.11,其中模型组的 IL-8 表达量高于对照组($P<0.001$),给药组表达量低于模型组($P=0.004\ 5$),抑制剂组表达量高于给药组($P=0.008\ 5$)。TNF-α 在对照组、模型组、给药组、抑制剂组的相对表达量分别为:0.33±0.11、0.69±0.12、0.39±0.09、0.58±0.10,其中模型组的 TNF-α 表达量高于对照组($P<0.001$),给药组表达量低于模型组($P=0.000\ 5$),抑制剂组表达量高于给药组($P=0.032\ 5$)。以上提示替尔泊肽可能通过 FOXO1/CCND1 信号通路改善银屑病的炎症反应。



A.不同分组 CCND1 的 Western boltting 表达情况示意图;B.不同分组 CCND1 的 Western boltting 表达情况柱状图

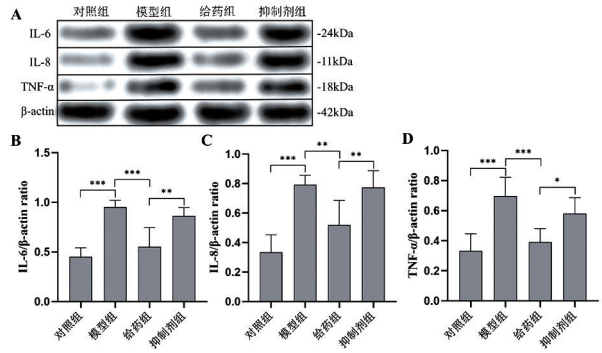
图 7 替尔泊肽对银屑病样 HaCaT 细胞 CCND1 表达的影响($n=6$)

注:$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$.

A.Western blotting expression of CCND1 in different groups; B.Bar graph of CCND1 protein expression in different groups

Fig.7 The effect of tirzepatide on CCND1 expression in psoriasis like HaCaT cells($n=6$)

Note: $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.



A.不同分组炎症指标的 Western boltting 表达情况示意图;B~D.不同分组炎症指标的 Western boltting 表达情况柱状图

图 8 替尔泊肽对银屑病样 HaCaT 细胞炎症因子表达的影响($n=6$)

注:$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$。

A. Western blotting expression of inflammatory indicators in different groups; B ~ D. Bar graphs of Western blotting expression of inflammatory indicators in different groups

Fig.8 The effect of tirzepatide on the expression of inflammatory factors in psoriasis like HaCaT cells($n=6$)

Note: $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

3 讨论

本研究结合生物信息学预测与体外功能实验,初步揭示了 GLP-1/GIP 双受体激动剂替尔泊肽在银屑

病样角质形成细胞模型中的保护作用及其可能的分子机制。主要发现提示,替尔泊肽能够缓解炎症诱导的角质形成细胞过度增殖,并抑制多种促炎介质的表达。机制探索表明,替尔泊肽可能通过增强 FOXO1 转录因子的活性,进而抑制其下游靶基因 CCND1 的表达来发挥效应,且这一过程依赖于 FOXO1 的功能完整性。这些发现为拓展替尔泊肽的临床应用范围及深入理解银屑病病理机制提供了新的思路。

首先,我们的研究支持了代谢调节剂可能直接作用于皮肤角质形成细胞的观点[3]。虽然 GLP-1 受体激动剂的全身性抗炎作用已被认知[13],但其对皮肤细胞的直接影响证据有限。本研究中观察到的替尔泊肽对 HaCaT 细胞增殖与炎症的直接抑制作用,结合该细胞系表达相应受体的证据,提示存在一种不依赖于全身代谢改善的局部作用途径。这为解释临床观察中相关药物可能改善皮肤症状的现象提供了潜在的细胞学基础。

本研究的核心在于将替尔泊肽的效应与 FOXO1/CCND1 这条具体的信号通路联系起来。FOXO1 作为重要的肿瘤抑制因子和细胞稳态调节器,其活性在银屑病等以过度增殖为特征的疾病中常常受到抑制[18]。我们的实验结果与此吻合,炎症刺激导致了 FOXO1 活性降低和 CCND1 表达升高。替尔泊肽处理则逆转了这一失衡状态。尤为关键的是,通过使用高选择性的 FOXO1 抑制剂进行干预,替尔泊肽所产生的抑制增殖、下调 CCND1 及抗炎等效应均被显著削弱[19]。这一“功能丧失”实验的结果,强有力地证明了 FOXO1 的激活是替尔泊肽发挥上述保护作用的必要环节,从而确立了 FOXO1/CCND1 通路在其机制中的核心地位。这为理解肠促胰素信号如何与细胞周期调控网络交叉对话提供了新的线索。关于替尔泊肽如何上游调控 FOXO1 活性,仍是一个有待深入的问题。GLP-1R 与 GIPR 均为 G 蛋白偶联受体,其经典下游信号包括 cAMP/PKA 及 PI3K/Akt 通路[20-21]。而 Akt 正是磷酸化并抑制 FOXO1 活性的关键激酶[22]。有研究提示,在某些细胞环境中,GLP-1R 的激活可能通过复杂信号网络对 Akt 活性产生双向或间接调控,或通过激活如 AMPK 等替代通路,最终影响 FOXO1 的磷酸化状态与亚细胞定位[23]。本研究观察到替尔泊肽降低了 p-FOXO1/FOXO1 比值,提示其可能影响了 FOXO1 的磷酸化修饰。未来研究需要进一步揭示替尔泊肽的双受体激活信号是如何精确传导至 FOXO1 这一节点。

本研究的发现具有一定的转化医学意义。一方面,它为观察性临床证据提供了机制层面的解释。另一方面,它提示靶向 FOXO1 通路可能是银屑病治疗的一个新策略。鉴于替尔泊肽已在代谢性疾病中显示出良好的安全性,若其在银屑病治疗中的潜力得到进一步证实,将可能加速其跨疾病应用的临床转化进程。当然,本研究也存在局限性,需要在未来的工作中加以完善。首先,所有实验均在 HaCaT 细胞系这一离体培养模型中进行,无法完全模拟体内皮肤复杂的多层结构及细胞-间质相互作用。后续研究需要在三维皮肤模型或银屑病动物模型中验证本结论。在本研究中,我们聚焦于 FOXO1/CCND1 轴,但替尔泊肽作为多效性药物,其作用可能涉及多条通路的协同,例如对 NF-κB 或 MAPK 信号通路的影响也值得探讨。

综上所述,本研究证实了替尔泊肽在体外能有效抑制银屑病样角质形成细胞的增殖与炎症反应,并初步阐明其作用与激活 FOXO1/CCND1 信号通路有关。这些结果不仅拓展了我们对 GLP-1/GIP 受体激动剂生物学功能的认识,也为银屑病的药物研发提供了新的潜在靶点和理论依据。后续研究将在更接近人体环境的模型中进行验证,并深入探索其上游信号传导的具体分子机制。

参考文献:

[1] Griffiths C E M, Armstrong A W, Gudjonsson J E, et al. Psoriasis[J]. Lancet, 2021, 397(10281): 1301-1315.

[2] Lwin S M, Azrielant S, He J, et al. Curing psoriasis[J]. J Invest Dermatol, 2024, 144(12): 2645-2649.

[3] Petit R G, Cano A, Ortiz A, et al. Psoriasis: From pathogenesis to pharmacological and nano-technological-based therapeutics[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9): 4983.

[4] Canal-García E, Bosch-amate X, Belinchón I, et al. Nail psoriasis[J]. Actas Dermosifiliogr, 2022, 113(5): 481-490.

[5] Mahmud M R, Akter S, Tamanna S K, et al. Impact of gut microbiome on skin health: gut-skin axis observed through the lenses of therapeutics and skin diseases[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2096995.

[6] Sandsdal R M, Juhl C R, Jensen S B K, et al. Combination of exercise and GLP-1 receptor agonist treatment reduces severity of metabolic syndrome, abdominal obesity, and inflammation: a randomized controlled trial[J]. Cardiovasc Diabetol, 2023, 22(1): 41.

[7] Karacabeyli D, Lacaille D. Glucagon-like peptide 1 receptor agonists in patients with inflammatory arthritis or psoriasis: A scoping review[J]. J Clin Rheumatol, 2024, 30(1): 26-31.

(下转第 1012 页)

-1733.
[10] 马莉,王英新,王龙江,等.复方碳酸钙泡腾颗粒中维生素 D_3 含量测定的方法改进[J].药学研究,2017,36(7):393-395.
[11] 王瑾,施洁明,张立雯,等.HPLC 法测定维生素 D 含量结果计算方法的研究[J].中国药品标准,2020,21(2):107-113.
[12] 韦月早,杨世联,黄艳芳,等.高效液相色谱法测定多种维生素多种矿物质片中的维生素 D_3 含量[J].大众科技,2019,21(6):40-42.
[13] Zhang Y H,Lin Y K,Yang X L,et al.Fast determination of vitamin A,vitamin D and vitamin E in food by online SPE combined with heart-cutting two dimensional Liquid Chromatography[J].J Food Compos Anal,2021(101):103983.
[14] 李媛,范芳芳,张敏娟,等.半制备-高效液相色谱法测定乳粉中维生素 D_2 和 D_3 含量[J].中国乳业,2022(3):66-70.

(收稿日期:2026-06-16)

(上接第 989 页)

[8] Malhotra A,Grunstein R R,Fietze I,et al.Tirzepatide for the treatment of obstructive sleep apnea and obesity[J].N Engl J Med,2024,391(13):1193-1205.
[9] Doan A E,Mueller K P,Chen A Y,et al.FOXO1 is a master regulator of memory programming in CAR T cells[J].Nature,2024,629(8010):211-218.
[10] Pang Z,Zhang H,Zheng S,et al.HNF4α-CDKL3 axis restricts MASLD progression by targeting FoxO1 via noncanonical phosphorylation[J].Hepatology,2025,82(3):702-721.
[11] Zhang W,Hong W.Upregulation of miR-519d-3p inhibits viability,proliferation,and G1/S cell cycle transition of oral squamous cell carcinoma cells through targeting CCND1[J].Cancer Biother Radiopharm,2024,39(2):153-163.
[12] Wang Y,Wang Q,Li X,et al.Paeoniflorin sensitizes breast cancer cells to tamoxifen by downregulating microRNA-15b via the FOXO1/CCND1/β-catenin axis[J].Drug Des Devel Ther,2021(15):245-257.
[13] Cai J,Zhou X,Zhuang Y,et al.Reprogramming of fatty acid metabolism via PPARα-orchestrated FADS2 in keratinocytes modulates skin inflammation in psoriasis[J].Adv Sci(Weinh),2025,12(40):e17049.
[14] Nagashima T,Shigematsu N,Maruki R,et al.Discovery of novel forkhead box O1 inhibitors for treating type 2 diabetes:improvement of fasting glycemia in diabetic db/db mice[J].Mol Pharmacol,2010,78(5):961-970.
[15] Santos B F,Grenho I,Martel P J,et al.FOXO family isoforms[J].Cell Death Dis,2023,14(10):702.
[16] Shi F,Li T,Liu Z,et al.FOXO1:Another avenue for treating digestive malignancy?[J].Semin Cancer Biol,2018(50):124-131.
[17] Fan Y,Lu J,Liu J,et al.1,3-dichloro-2-propanol induced hepatic lipid accumulation by inhibiting autophagy via AKT/mTOR/FOXO1 pathway in mice[J].Food Chem Toxicol,2021(157):112578.
[18] Cheng C,Wang Y,Huo J,et al.SIRT6 knockdown alleviates keratinocyte hyperproliferation and inflammation in psoriasis via modulating acetylation of FOXO1[J].Int Immunopharmacol,2025(146):113932.
[19] Li B,Lei J,Yang L,et al.Dysregulation of Akt-FOXO1 pathway leads to dysfunction of regulatory T cells in patients with psoriasis[J].J Invest Dermatol,2019,139(10):2098-2107.
[20] Huang Z,Liu L,Zhang J,et al.Glucose-sensing glucagon-like peptide-1 receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus regulate glucose metabolism[J].Sci Adv,2022,8(23):eabn5345.
[21] 李含章,祁羚,张小蕾,等.电针对帕金森病小鼠胰高血糖样肽-1 受体/磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 蛋白通路的调控作用[J].针刺研究,2022,47(1):27-32.
[22] Cai P,Lu Y,Yin Z,et al.Baicalein ameliorates osteoporosis via AKT/FOXO1 signaling[J].Aging(Albany NY),2021,13(13):17370-17379.
[23] da Silva R S,de Paiva I H R,Mendon A I P,et al.Anorexigenic and anti-inflammatory signaling pathways of semaglutide via the microbiota-gut--brain axis in obese mice[J].Inflammopharmacology,2025,33(2):845-864.

(收稿日期:2026-03-02)