

• 论 著 •

祛风除湿方对特应性皮炎小鼠炎性反应和皮肤屏障功能的影响及其作用机制^{*}

江 雪, 杨富金[△], 钱思宇, 刘德明, 史丙俊

(重庆市中医院/重庆市第一人民医院皮肤科, 重庆 400011)

摘 要:目的 通过观察祛风除湿方对二硝基氯苯(DNCB)诱导的特应性皮炎(AD)小鼠炎性反应和皮肤屏障功能的影响,探讨其治疗 AD 的相关机制。方法 将雌性 Balb/c 小鼠 20 只随机分为对照组、模型组、地塞米松组和祛风除湿方组,每组 5 只。除对照组外,其余 3 组均以 DNCB 致敏耳部及背部造模。祛风除湿方组给予 7.83 g/(kg·d)祛风除湿方灌胃;地塞米松组给予 0.59 mg/(kg·d)地塞米松悬液灌胃。比较 4 组小鼠造模区域的经皮水分流失(TWEL)情况及搔抓次数;比较 4 组小鼠皮肤组织的典型病理改变;比较 4 组小鼠皮肤组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、凋亡相关的半胱氨酸蛋白酶 14(Caspase-14),血浆 IL-4、IL-6、免疫球蛋白 E(IgE)、干扰素- γ (IFN- γ),脾组织中 IL-17A、维甲酸相关孤儿核受体 γ t(ROR γ t)、转化生长因子- β (TGF- β)、叉状头/翅膀状螺旋转录因子(Foxp3)的表达情况。结果 与模型组比较,地塞米松组与祛风除湿方组 TWEL 明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,祛风除湿方组 TNF- α 、IL-1 β 表达水平明显降低($P < 0.05$),地塞米松组 TNF- α 表达水平明显降低($P < 0.05$),对照组、地塞米松组和祛风除湿方组 Caspase-14 表达水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,地塞米松组和祛风除湿方组 IgE、IL-4、IL-6 表达水平明显降低($P < 0.05$),IFN- γ 表达水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,地塞米松组和祛风除湿方组 IL-17A、ROR γ t 表达水平明显升高($P < 0.05$),Foxp3、TGF- β 表达水平明显降低($P < 0.05$)。结论 祛风除湿方治疗 AD 的效果较好,能有效减轻患处皮肤水分流失,减少瘙痒,修复皮肤屏障,其作用机制可能与调节免疫、控制炎症反应等有关。

关键词:特应性皮炎; 祛风除湿方; 免疫调节; 皮肤屏障

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.18.008

中图法分类号:R275.9

文章编号:1673-4130(2020)18-2208-06

文献标识码:A

Effect of Qufeng Chushi Prescription on inflammatory reaction and skin barrier function in atopic dermatitis mice and its mechanism^{*}

JIANG Xue, YANG Fujin[△], QIAN Siyu, LIU Deming, SHI Bingjun

(Department of Dermatology, Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital/Chongqing First People's Hospital, Chongqing 400011, China)

Abstract:Objective To observe the effect of Qufeng Chushi Prescription on the inflammatory reaction and skin barrier function of mice with atopic dermatitis (AD) induced by dinitrochlorobenzene (DNCB), and to explore the related mechanism of Qufeng Chushi Prescription in the treatment of AD. **Methods** Twenty female Balb/c mice were randomly divided into control group, model group, dexamethasone group and Qufeng Chushi Prescription group, with 5 mice in each group. Except for the control group, the other 3 groups were modeled with DNCB sensitized ears and back. The Qufeng Chushi Prescription group was given 7.83 g/(kg·d) Qufeng Chushi Prescription by gavage, and the dexamethasone group was given 0.59 mg/(kg·d) dexamethasone suspension by gavage. The transdermal water loss (TWEL) and scratching times of the 4 groups were compared. The typical pathological changes of skin tissues of the 4 groups were compared. The expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β and apoptosis-related cysteine peptidase 14 (Caspase-14) in skin tissues, IL-4, IL-6, immunoglobulin E (IgE) and interferon- γ (IFN- γ) in plasma, and IL-17A, retinoic acid-related orphan nuclear receptor γ t (ROR γ t), transforming growth factor- β (TGF- β), fork-

^{*} 基金项目:重庆市自然科学基金项目(cstc2015jcyjA10126, cstc2018jcyjAX0759);重庆市卫生和计划生育委员会基金资助课题(ZY201802142);成都中医药大学杏林医者项目(YYZX2019058)。

作者简介:江雪,女,主管技师,主要从事过敏性皮肤疾病、自身免疫性疾病的发病机制,以及传统医药对皮肤疾病的作用研究。[△] 通信作者, E-mail:351014050@qq.com。

本文引用格式:江雪,杨富金,钱思宇,等.祛风除湿方对特应性皮炎小鼠炎性反应和皮肤屏障功能的影响及其作用机制[J].国际检验医学杂志,2020,41(18):2208-2213.

shaped head/wing-shaped spiral transcription factor (Foxp3) in spleen tissues of the 4 groups were compared.

Results Compared with the model group, the TWEL in the dexamethasone group and the Qufeng Chushi Prescription group significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression levels of TNF- α and IL-1 β in the Qufeng Chushi Prescription group significantly reduced ($P < 0.05$), and the expression level of TNF- α in the dexamethasone group significantly reduced ($P < 0.05$), the expression levels of Caspase-14 in the control group, dexamethasone group and the Qufeng Chushi Prescription group significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression levels of IgE, IL-4 and IL-6 in the dexamethasone group and the Qufeng Chushi Prescription group significantly reduced ($P < 0.05$), and the expression level of IFN- γ significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression levels of IL-17A and ROR γ t in the dexamethasone group and the Qufeng Chushi Prescription group significantly increased ($P < 0.05$), and the expression levels of Foxp3 and TGF- β significantly reduced ($P < 0.05$).

Conclusion Qufeng Chushi Prescription is effective in treating AD. It could effectively reduce the loss of skin moisture in the affected area, reduce itching, and repair the skin barrier. Its mechanism of action might relate to the regulation of immunity and the control of inflammatory reaction.

Key words: atopic dermatitis; Qufeng Chushi Prescription; immunomodulation; skin barrier

特应性皮炎(AD)是一种慢性复发性、瘙痒性、炎症性皮肤病,其发病率有逐年增高趋势。在西方国家,AD 已经成为儿童的主要易患疾病,给患儿的家庭和卫生医疗系统带来了巨大的经济负担^[1]。AD 为多因素、多环节、多途径共同作用的一种多基因疾病,发病机制主要涉及遗传、免疫及环境 3 个方面,具体的致病机制尚不完全明确^[2-3]。一方面,皮肤屏障功能的改变会对微生物定植的种类和数量产生影响,另一方面,定植在皮肤表面的微生物可通过多种途径诱发炎症反应并进一步破坏皮肤屏障,二者相互影响、共同参与 AD 的免疫炎症反应过程^[4-5]。祛风除湿方由防风、荆芥、白鲜皮、生地、甘草组成,具有抗炎和抗过敏作用。本研究通过动物实验,对 AD 小鼠使用祛风除湿方进行治疗,探讨其对 AD 炎症反应和皮肤屏障功能的影响,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 SPF 级 6~8 周龄雌性 Balb/c 小鼠 20 只,体质量(17 $\pm$ 3)g,由重庆医科大学动物实验中心提供,于重庆市口腔医院中心实验室动物实验中心 25℃ 恒温、封闭、SPF 清洁级饲养。

1.2 仪器与试剂 AIRTECH 超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),离心机、流式细胞仪(艾森生物杭州有限公司),CK-MPA10 多功能皮肤测试仪(德国 CK 公司);小鼠白细胞介素(IL)-4 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉华美生物有限公司),小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒(武汉华美生物有限公司),小鼠血清免疫球蛋白 E(IgE) ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司),小鼠干扰素- γ (IFN- γ) ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司);肿瘤坏死因子- α (TNF- α)单克隆抗体(美国 santa cruz 公司),IL-1 β 单克隆抗体(美国 santa cruz 公司),凋亡相关的半胱氨酸蛋白酶 14(Caspase-14)单克隆抗体(美国 santa cruz 公司)。

1.3 治疗药物 祛风除湿方:防风 12 g、荆芥 10 g、

白鲜皮 12 g、生地 12 g、甘草 6 g;蒸馏水 600 mL 浸泡 3 h,高火煎煮至沸腾后改为温火煎煮至中药液浓缩为 400 mL,然后再采用蒸馏法浓缩为 260 mg/mL,用高温蒸汽法灭菌后于 4℃ 保存备用。地塞米松:将 1 片剂量为 0.75 mg 的地塞米松溶于 28.8 mL 蒸馏水中制成地塞米松悬液,于 4℃ 保存备用。

1.4 方法

1.4.1 动物分组 将 20 只小鼠采用随机数字表法分为 4 组,分别为对照组、模型组、地塞米松组、祛风除湿方组,每组 5 只。

1.4.2 模型制备 4 组小鼠均背部剃毛(3 $\times$ 3)cm。除对照组外,其他 3 组分别在实验第 1 天、第 4 天、第 8 天、第 11 天给予 1% 的二硝基氯苯(DNCB)100 μ L 刺激耳部,分别在第 15 天、第 18 天、第 21 天、第 25 天、第 28 天给予 0.5% 的 DNCB 100 μ L 刺激背部剃毛区域。同时,从第 15 天开始,对照组和模型组每天给予 2 次 0.3 mL 双蒸水灌胃;祛风除湿方组给予 7.83 g/(kg $\cdot$ d)祛风除湿方灌胃;地塞米松组给予 0.59 mg/(kg $\cdot$ d)地塞米松悬液灌胃。实验持续至第 29 天时结束,实验前及实验后测量小鼠体质量,并观察小鼠一般情况。

1.4.3 皮肤搔抓次数 分别在第 8 天、第 15 天、第 21 天和第 28 天时于 DNCB 刺激 30 min 后统计 4 组小鼠搔抓剃毛区域的次数,统计时间为 10 min,单次反复搔抓计为 1 次。

1.4.4 经皮水分流失(TWEL)检测 平展小鼠背部剃毛区域,使用 Tewameter TM300 探头轻触小鼠皮肤,待检测曲线稳定后继续检测 30 s,然后读取数值,每只小鼠检测 3 次,取平均值。

1.4.5 皮肤组织切片 HE 染色 取小鼠剃毛区域皮肤组织置于 10% 多聚甲醛中固定过夜,将标本脱水、石蜡包埋、切片、脱蜡、HE 染色,镜下观察。

1.4.6 免疫组织化学法检测皮肤组织中 TNF- α 表

达水平 石蜡切片进行脱蜡,3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶后微波抗原修复,参照免疫组织化学法试剂盒说明书进行检测。

1.4.7 Western blot 检测皮肤组织中 TNF-α、IL-1β、Caspase-14 表达水平 收集小鼠剃毛区域皮肤组织,提取蛋白进行检测。按照 Western blot 步骤进行电泳、转膜;1:200 的 TNF-α 单克隆抗体、1:250 的 IL-1β 单克隆抗体、1:50 的 Caspase-14 单克隆抗体和 1:1 000 的 β-actin 一抗孵育过夜;第 2 天用磷酸盐缓冲液洗膜(洗 3 次,每次 5 min);二抗室温孵育 1 h;配制化学发光液,将膜浸泡于发光液中 1 min,置于成像仪中自动曝光;采用 ImageJ 软件分析目的蛋白与内参的比值,即为相对表达水平。

1.4.8 ELISA 检测血浆 IL-4、IL-6、IgE、IFN-γ 表达水平 采用 ELISA 进行检测,操作过程严格参照试剂盒说明书进行。

1.4.9 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 脾组织中 IL-17A、维甲酸相关孤儿核受体 γt(RORγt)、转化生长因子-β(TGF-β)、叉状头/翅膀状螺旋转录因子(Foxp3)表达水平采用 qRT-PCR 检测,取小鼠脾组织,进行研磨,收集脾细胞,提取 mRNA,反转录后进行 qRT-PCR,引物序列见表 1。反应条件:95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,共 40 个循环。分析数据,结果采用相对定量法 2^{-ΔΔCt} 计算。

表 1 引物序列		
基因	引物	片段长度 (bp)
IL-17A	F:5'-GTCAATGCGGAGGAAAG-3'	349
	R:5'-CACGAAGCAGTTTGGGAC-3'	
RORγt	F:5'-ACGGCCCTGGTTCTCATCA-3'	440
	R:5'-CCAAATTGTATTGCAGATGTTCCAC-3'	
TGF-β	F:5'-ACCTGCAAGACCATCGACAT-3'	247
	R:5'-GGTTTTCTCATAGATGGCGT-3'	
Foxp3	F:5'-GAACCACGGGCACTATCACA-3'	125
	R:5'-TTGCTTGAGGCTGCGTAIGA-3'	

注:F 为正向引物,R 为反向引物。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 组小鼠造模区域皮肤情况比较 除对照组外,其他 3 组小鼠造模区域表现为红斑、稍有水肿,伴有糜烂、结痂,皮肤表面粗糙,覆以少许糠秕样鳞屑;经药物治疗后,祛风除湿方组、地塞米松组小鼠造模区域症状明显改善,红斑面积、点状渗出减少,皮肤弹性恢复。4 组不同时间点搔抓次数比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);除对照组外,同一组小鼠不同时间

点搔抓次数比较,差异也均有统计学意义($P < 0.05$),其中地塞米松组与祛风除湿方组第 21 天、28 天时搔抓次数与模型组比较明显减少($P < 0.05$),见表 2。4 组造模区域 TWEL 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),与对照组比较,模型组 TWEL 明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,地塞米松组与祛风除湿方组 TWEL 明显降低($P < 0.05$);地塞米松组与祛风除湿方组 TWEL 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 1。

表 2 4 组不同时间点搔抓次数比较($\bar{x} \pm s$, 次)					
组别	<i>n</i>	第 8 天	第 15 天	第 21 天	第 28 天
对照组	5	0	0	0	0
模型组	5	4.20 ± 0.84	4.20 ± 1.30	4.40 ± 0.55	4.40 ± 0.89
地塞米松组	5	4.30 ± 0.67	4.00 ± 1.00	3.21 ± 0.51	1.60 ± 0.89
祛风除湿方组	5	4.00 ± 1.00	4.20 ± 0.45	2.54 ± 0.84	2.20 ± 0.71
<i>F</i>		35.667	29.517	43.156	28.306
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

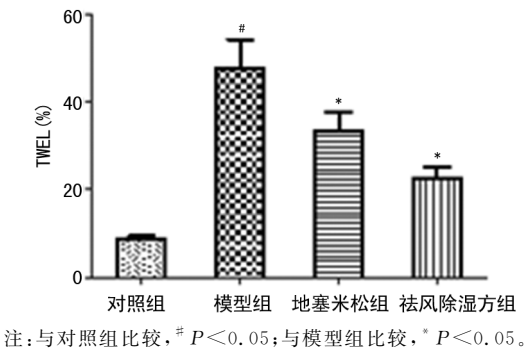
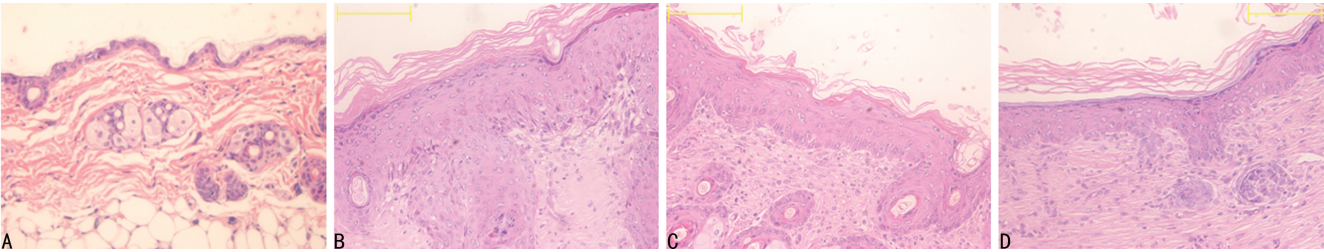


图 1 4 组 TWEL 比较

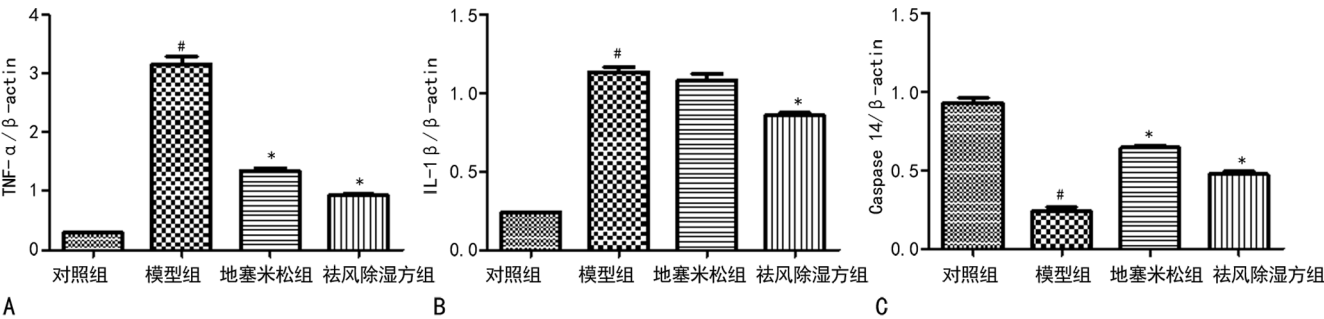
2.2 4 组小鼠皮肤组织典型病理改变 HE 染色 200 倍镜下观察,模型组皮肤组织棘层增厚,表皮突明显延长,并有角化过度及角化不全,在表皮内有轻度的细胞间水肿,真皮上部显示轻度血管周围炎性反应浸润,以淋巴细胞居多,毛细血管数目增多,内皮细胞肿胀、增多。地塞米松组和祛风除湿方组经药物治疗后可见皮肤表皮棘层变薄,角质层变薄,真皮层炎症细胞减少,皮肤炎性反应得到缓解,见图 2。

2.3 4 组小鼠皮肤组织中 TNF-α、IL-1β、Caspase-14 的表达情况 与对照组比较,模型组 TNF-α、IL-1β 表达水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,祛风除湿方组 TNF-α、IL-1β 表达水平明显降低($P < 0.05$),地塞米松组 TNF-α 表达水平明显降低($P < 0.05$),见图 3A、3B。模型组 Caspase-14 表达水平明显低于对照组、地塞米松组和祛风除湿方组($P < 0.05$),见图 3C。免疫组织化学法检测 TNF-α 的结果显示,对照组 TNF-α 染色面积较小,染色较弱,仅在真皮浅层有少量表达;模型组真皮层可见大量 TNF-α 表达,染色深;经药物治疗后,地塞米松组和祛风除湿方组真皮层 TNF-α 染色面积缩小,见图 4。



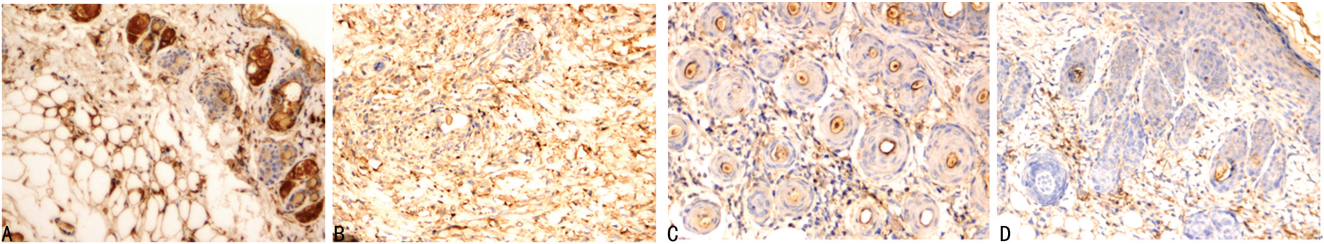
注：A 为对照组；B 为模型组；C 为地塞米松组；D 为祛风湿方组。

图 2 4 组小鼠皮肤组织典型病理改变(×200)



注：A 为 4 组 TNF-α 表达水平比较；B 为 4 组 IL-1β 表达水平比较；C 为 4 组 Caspase-14 表达水平比较；与对照组比较，# $P < 0.05$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

图 3 4 组 TNF-α、IL-1β、Caspase-14 表达水平比较



注：A 为对照组 TNF-α 表达情况；B 为模型组 TNF-α 表达情况；C 为地塞米松组 TNF-α 表达情况；D 为祛风湿方组 TNF-α 表达情况。

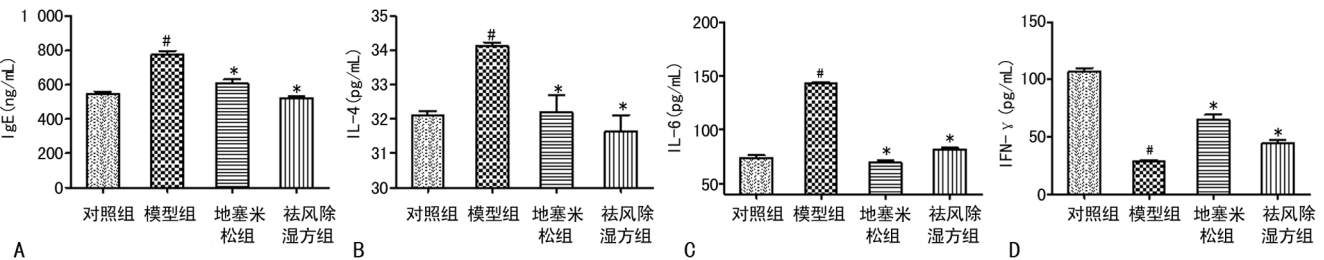
图 4 免疫组织化学法检测 TNF-α

2.4 4 组 IL-4、IL-6、IFN-γ 及 IgE 表达水平比较

与对照组比较，模型组 IgE、IL-4、IL-6 表达水平明显升高 ($P < 0.05$)，IFN-γ 表达水平明显降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，地塞米松组和祛风湿方组 IgE、IL-4、IL-6 表达水平明显降低 ($P < 0.05$)，IFN-γ 表达水平明显升高 ($P < 0.05$)；地塞米松组和祛风湿方组 IgE、IL-4、IL-6、IFN-γ 表达水平比较，差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，见图 5。

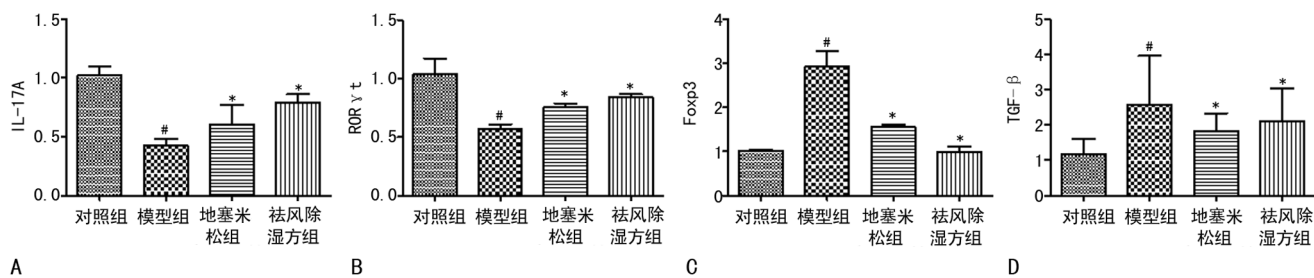
2.5 4 组 IL-17A、RORγt、Foxp3、TGF-β 表达水平

比较 与对照组比较，模型组 IL-17A、RORγt 表达水平明显降低 ($P < 0.05$)，Foxp3、TGF-β 表达水平明显升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，地塞米松组和祛风湿方组 IL-17A、RORγt 表达水平明显升高 ($P < 0.05$)，Foxp3、TGF-β 表达水平明显降低 ($P < 0.05$)；地塞米松组和祛风湿方组 IL-17A、RORγt、Foxp3、TGF-β 表达水平比较，差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，见图 6。



注：A 为 4 组 IgE 表达水平比较；B 为 4 组 IL-4 表达水平比较；C 为 4 组 IL-6 表达水平比较；D 为 4 组 IFN-γ 表达水平比较；与对照组比较，# $P < 0.05$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

图 5 4 组 IL-4、IL-6、IFN-γ 及 IgE 表达水平比较



注: A 为 4 组 IL-17A 表达水平比较; B 为 4 组 RORγt 表达水平比较; C 为 4 组 Foxp3 表达水平比较; D 为 4 组 TGF-β 表达水平比较; 与对照组比较, # $P < 0.05$; 与模型组比较, * $P < 0.05$ 。

图 6 4 组 IL-17A、RORγt、Foxp3、TGF-β 表达水平比较

3 讨 论

AD 发病原因复杂, 与皮肤屏障的破坏、免疫失调导致皮肤炎性反应等均相关。反复发作的剧烈瘙痒和皮疹是 AD 的主要临床表现。地塞米松是临床上用于治疗 AD 急性发作的药物, 对急性期瘙痒有较好的控制效果, 但长期使用会出现明显的免疫抑制作用, 因此临床上仅将其用于短期控制病情, 在患者好转后均及时减量或停药。中药被用于治疗 AD 历史悠久, 尤其是在预防疾病复发, 保持长期缓解和减轻病情方面有较多优势。

祛风除湿方由防风、荆芥、白鲜皮、生地、甘草组成。方中白鲜皮苦寒, 用以清热燥湿、解毒祛风; 荆芥、防风祛风解表, 透疹止痒; 三药合用, 可燥湿、祛风、止痒。此外, 防风、荆芥含多种化学成分, 具有抗炎和抗过敏作用, 能抑制 DNCB 所致的迟发型超敏反应。甘草、白鲜皮也具有抗炎作用^[6]。在皮肤屏障修复方面, 本研究对药物治疗前后小鼠皮肤屏障功能进行观察, 发现经祛风除湿方治疗的小鼠皮肤水分流失和瘙痒情况得到明显改善, 且治疗效果与地塞米松相仿。进一步研究发现, 与模型组比较, 皮肤屏障修复相关的重要蛋白 Caspase-14 在祛风除湿方组中的表达水平明显升高。Caspase-14 的分布具有皮肤特异性, 主要参与表皮细胞的终末分化和皮肤屏障的形成, 故考虑祛风除湿方对 AD 的治疗作用可能与其能够增加 Caspase-14 的表达相关。

AD 作为一种过敏性皮肤疾病, 对环境抗原的高度敏感性可能导致 IgE 合成增加, IgE 的合成增加与皮肤损伤的严重程度有一定关联。研究表明, IgE 水平升高可引起皮肤的急、慢性炎性反应, 血清总 IgE 水平升高是 AD 的重要标志, 并且与 Th1、Th2 细胞失衡相关^[7]。Th1 细胞主要分泌 IFN-γ, 介导细胞免疫; Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5 等, 介导体液免疫。本研究结果显示, 与模型组比较, 祛风除湿方组 IgE、IL-4 表达水平明显降低, IFN-γ 表达水平明显升高, 提示祛风除湿方可以降低机体的过敏反应, 调节 Th1、Th2 细胞系统平衡。IL-6 是炎性反应中重要的前炎症因子, 介导炎性反应的发生、发展, 经祛风除湿

方治疗后的 小鼠 IL-6 表达水平明显降低, 提示祛风除湿方可以有效控制炎性反应的发生、发展。此外, 地塞米松组和祛风除湿方组 IgE、IL-4、IL-6、IFN-γ 表达水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示在控制 AD 的炎性反应、过敏反应及免疫调节上, 地塞米松和祛风除湿方的治疗效果无明显差异。

IL-1β 是 IL-1 家族成员, 也是重要的促炎因子, IL-1 的活性主要由 IL-1β 介导。当机体受到过敏原刺激后可分泌大量的 IL-1β, 导致 TNF-α 的分泌增加, 参与 AD 的发生、发展。TNF-α 是一种多向性的促炎因子, 由多种细胞分泌, 可刺激单核-巨噬细胞进一步分泌 IL-1β, 促进炎性反应的发生。本研究结果显示, 与模型组比较, 祛风除湿方组 IL-1β 和 TNF-α 表达水平明显降低, 提示祛风除湿方可以有效控制炎性反应的发生, 缓解 AD 的临床症状, 改善皮损情况。

AD 在免疫失调方面主要表现为 Th1、Th2 细胞系统失衡。既往研究表明, Th2 细胞的异常表达是 AD 的一个重要发病因素, 但是在亚洲人群中, Th17 细胞合并 Th2 细胞的异常表达更为突出^[8]。Th17 细胞通过分泌 TNF-α、IL-17、IL-21、IL-22 等细胞因子发挥生理和病理作用, 可介导炎性反应、自身免疫性疾病、肿瘤和移植物抗宿主反应的发生、发展^[9-10]。IL-17 是 Th17 细胞分泌的主要效应因子, 可参与炎性反应相关疾病的发生、发展过程, 其主要类型包括 IL-17A 和 IL-17F。本研究中, 与对照组比较, 模型组 IL-17A 表达水平降低, 提示 Th17 细胞在 AD 发生时处于一种抑制状态, IL-17A 分泌减少。既往研究表明, Th17 细胞的异常表达是 AD 的发病机制之一^[11-12]。IL-17 可通过刺激上皮细胞、成纤维细胞, 参与 AD 的皮肤重塑过程^[13-14]; AD 病程发展为慢性时, Th17 细胞又可分泌 IL-17, 对患者的皮肤屏障进行修复^[15]。本研究中, 与模型组比较, 祛风除湿方组 IL-17A 表达水平升高, 提示祛风除湿方可能通过调节 IL-17A 的表达水平来进行皮肤屏障修复, 改善皮损情况。IL-17A 和 IL-17F 在过敏反应中发挥的作用可能略有不同, 而 IL-17F 的作用还需进一步研究证实。

TGF-β 参与诱导调节性 T 细胞的产生和增殖, 介

导免疫抑制作用; AD 患者外周血 Foxp3、RORγt mRNA 水平及血清中相应细胞因子水平发生变化参与了 AD 的发生、发展^[10-11];在 TGF-β 单独作用下,初始 CD4⁺ T 细胞中 Foxp3 和 RORγt 均表达增加。本研究中,与对照组比较,模型组 RORγt 表达水平降低, Foxp3、TGF-β 表达水平升高;与模型组比较,祛风湿方组 RORγt 表达水平升高, Foxp3、TGF-β 表达水平降低。提示祛风湿方可能是通过调控 RORγt、FoxP3、TGF-β 的表达而达到免疫调节的作用。

4 结 论

祛风湿方治疗 AD 的效果较好,与地塞米松无明显差异,能有效减轻患处皮肤水分流失,减少瘙痒,修复皮肤屏障,其作用机制可能与调节免疫、控制炎症反应等有关。

参考文献

[1] KWON I H, WON H, LEE H, et al. The prevalence and risk factors of atopic dermatitis and clinical characteristics according to disease onset in 19-year-old Korean male subjects[J]. *Ann Dermatol*, 2018, 30(1): 20-28.

[2] BARBAROT S, AUBERT H. Physiopathologie de la dermatite atopique; pathophysiology of atopic dermatitis[J]. *Ann Dermatol Venereol*, 2017, 144(Suppl 1): S14-S20.

[3] ANDREA V B, FILIPIAK-PITTROFF B, KRÄMER U, et al. Allergies in high-risk schoolchildren after early intervention with cow's milk prote in hydrolysates: 10-year results from the German Infant Nutritional Intervention (GINI) study[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(6): 1565-1573.

[4] VAN T C, TAT T N, LAN A T, et al. Superantigens of staphylococcus aureus colonization in atopic dermatitis and treatment efficacy of oral cefuroxim in Vietnamese patients[J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2019, 7(2): 243-246.

[5] BLICHARZ L, RUDNICKA L, SAMOCHOCKI Z. Staphylococcus aureus; an underestimated factor in the pathogenesis of atopic dermatitis[J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2019, 36

(1): 11-17.

[6] 裴悦,莫秀梅,曾剑波,等. 基于关联规则算法和复杂系统熵聚类的中医药治疗特应性皮炎的证治规律研究[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(3): 124-127.

[7] NUTTEN S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors[J]. *Ann Nutr Metab*, 2015, 66(Suppl 1): S8-S16.

[8] NODA S, SUÁREZ-FARIÑAS M, UNGAR B, et al. The Asian atopic dermatitis phenotype combines features of atopic dermatitis and psoriasis with increased TH17 polarization[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(5): 1254-1264.

[9] PATEL D D, KUCHROO V K. Th17 cell pathway in human immunity: lessons from genetics and therapeutic[J]. *Immunity*, 2015, 43(6): 1040-1051.

[10] SCHULTZ-LARSEN F, HANFIN J. Epidemiology of atopic dermatitis[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2002, 22(1): 1-24.

[11] ASTRY B, VENKATESHA S H, MOUDGIL K D. Involvement of the IL-23/IL-17 axis and the Th17/Treg balance in the pathogenesis and control of autoimmune arthritis[J]. *Cytokine*, 2015, 74(1): 54-56.

[12] MA L, XUE H B, GUAN X H, et al. The imbalance of Th17 cells and CD4(+) CD25(high) Foxp3(+) Treg cells in patients with atopic dermatitis[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2014, 28(8): 1079-1086.

[13] 高宇,陈仕胜,马新华,等. 特应性皮炎患儿外周血 Th17 细胞与 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞失衡的研究[J]. *中华皮肤科杂志*, 2012, 45(6): 415-417.

[14] BATISTA D I, PEREZ L, ORFALI R L, et al. Profile of skin barrier proteins (filaggrin, claudins 1 and 4) and Th1/Th2/Th17 cytokines in adults with atopic dermatitis[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2015, 29(6): 1091-1095.

[15] SUGAYA M. The role of Th17-related cytokines in atopic dermatitis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1314-1318.

(收稿日期:2020-02-02 修回日期:2020-06-16)

(上接第 2207 页)

with fertility disorders[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2018, 64(3): 220-223.

[22] WIWEKO B, INDRA I, SUSANTO C, et al. The correlation between serum AMH and HOMA-IR among PCOS phenotypes[J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 114-120.

[23] WONGWANANURUK T, PANICHYAWAT N, INDHAV IVADHANA S, et al. Accuracy of anti-Müllerian hormone and total follicles count to diagnose polycystic ovary syn-

drome in reproductive women[J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2018, 57(4): 499-506.

[24] MATSUZAKI T, MUNKHZAYA M, IWASA T, et al. Relationship between serum anti-Müllerian hormone and clinical parameters in polycystic ovary syndrome[J]. *Endocr J*, 2017, 64(5): 531-541.

(收稿日期:2020-01-02 修回日期:2020-06-21)