

引用:王星星,景慧玲,郭佑祯,史敏娜,冯璟璟.止痛消炎膏抑制RAGE通路改善表皮屏障治疗慢性湿疹[J].中医药导报,2026,32(3):38-43,81.

## 止痛消炎膏抑制RAGE通路 改善表皮屏障治疗慢性湿疹\*

王星星,景慧玲,郭佑祯,史敏娜,冯璟璟  
(西安市中医医院,陕西 西安 710021)

**[摘要]** 目的:探讨止痛消炎膏通过调控晚期糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路治疗慢性湿疹的作用机制。方法:将40只Balb/c雄性小鼠随机分为正常组、模型组、止痛消炎膏组、阳性药组,每组10只,用5%的2,4-二硝基氯苯(DNCB)50  $\mu$ L以及0.1% DNCB 100  $\mu$ L刺激造模,连续4周,实验结束后处死。将人表皮角质形成细胞(HaCaT)分成:空白组(正常培养的HaCaT细胞);模型组[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )/ $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )诱导的炎症模型细胞];止痛消炎膏低浓度组:造模成功后,浓度为0.5 mg/mL干预细胞24 h;止痛消炎膏中浓度组:造模成功后,浓度为1.0 mg/mL干预细胞24 h;止痛消炎膏高浓度组:造模成功后,浓度为2.0 mg/mL干预细胞24 h。干预结束后观察止痛消炎膏对慢性湿疹模型病理影响;采用实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)检测JUN蛋白(Jun) mRNA、RAGE mRNA、TNF- $\alpha$  mRNA、IFN- $\gamma$  mRNA、白细胞介素-13(IL-13) mRNA、早期生长反应因子1(Egr1) mRNA、核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) mRNA含量的改变;Western blotting检测小鼠组织和细胞中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-13、Egr1、Jun、RAGE、NF- $\kappa$ B p65蛋白含量的改变。结果:止痛消炎膏组和阳性药组小鼠表皮厚度减小,棘层变薄,水肿减轻,真皮层炎症细胞浸润减轻。在细胞水平方面:模型组中TNF- $\alpha$  mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF- $\kappa$ B p65 mRNA及蛋白表达水平,RAGE蛋白表达水平均高于正常组( $P<0.01$ );Jun mRNA、IFN- $\gamma$  mRNA及蛋白表达水平均低于正常组( $P<0.01$ );止痛消炎膏高浓度组TNF- $\alpha$  mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF- $\kappa$ B p65 mRNA及蛋白表达水平,RAGE蛋白表达水平均低于模型组( $P<0.05$ ),IFN- $\gamma$  mRNA、Jun mRNA及蛋白表达水平均高于模型组( $P<0.05$ )。在动物水平研究中:模型组小鼠皮损组织中TNF- $\alpha$  mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF- $\kappa$ B p65 mRNA及蛋白表达水平,RAGE蛋白表达水平均高于正常组( $P<0.01$ ),Jun mRNA、IFN- $\gamma$  mRNA及蛋白表达水平均低于正常组( $P<0.05$ );止痛消炎膏组小鼠皮损组织中TNF- $\alpha$  mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF- $\kappa$ B p65 mRNA及蛋白表达水平,RAGE蛋白表达水平均低于模型组( $P<0.05$ ),Jun mRNA、IFN- $\gamma$  mRNA及蛋白表达水平均高于模型组( $P<0.05$ )。结论:止痛消炎膏通过抑制RAGE信号通路改善Jun,从而减轻慢性湿疹的症状。

**[关键词]** 慢性湿疹;止痛消炎膏;晚期糖基化终末产物受体;小鼠;HaCaT细胞

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)03-0038-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.03.007

### Study on Zhitong Xiaoyan Ointment (止痛消炎膏) Improving Epidermal Barrier by Inhibiting RAGE Signaling Pathway in Treating Chronic Eczema

WANG Xingxing, JING Huiling, GUO Youzhen, SHI Minna, FENG Jingjing

(Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an Shaanxi 710021, China)

**[Abstract]** Objective: To investigate the mechanism of Zhitong Xiaoyan Ointment in the treatment of chronic eczema by regulating the receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathway. Methods: Forty male Balb/c mice were randomly divided into a normal group, a model group, a Zhitong Xiaoyan Ointment group, and a positive drug group, with 10 mice in each group. The model was established by topical application of 50  $\mu$ L of 5% 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) followed by 100  $\mu$ L of 0.1% DNCB for 4 consecutive

\*基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2023-JC-QN-0952);西安市卫生健康委员会科研项目(2023qn20);陕西省中医药管理局市级中医医院中医药科研能力提升项目(SZY-NLTL-2024-001)

通信作者:冯璟璟,女,主管护师,研究方向为中医药对于过敏性皮肤病的护理

weeks. All mice were sacrificed after the experiment. Human epidermal keratinocytes (HaCaT) were divided into a blank group (normally cultured HaCaT cells), a model group [inflammatory model cells induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )/interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )], a Zhitong Xiaoyan Ointment low-concentration group (cells treated with 0.5 mg/mL of the ointment for 24 h after successful modeling), a Zhitong Xiaoyan Ointment medium-concentration group (cells treated with 1.0 mg/mL of the ointment for 24 h after successful modeling), and a Zhitong Xiaoyan Ointment high-concentration group (cells treated with 2.0 mg/mL of the ointment for 24 h after successful modeling). After the intervention, the pathological effects of Zhitong Xiaoyan Ointment on the chronic eczema model were observed. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of Jun mRNA, RAGE mRNA, TNF- $\alpha$  mRNA, IFN- $\gamma$  mRNA, interleukin-13 (IL-13) mRNA, early growth response factor 1 (Egr1) mRNA, and nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) mRNA. Western blotting was used to detect the protein expression levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-13, Egr1, Jun, RAGE, and NF- $\kappa$ B p65 in mouse tissues and cells. Results: In the Zhitong Xiaoyan Ointment group and the positive drug group, the epidermal thickness of mice was reduced, the stratum spinosum became thinner, edema was alleviated, and inflammatory cell infiltration in the dermis was diminished. At the cellular level, the mRNA and protein levels of TNF- $\alpha$ , IL-13, Egr1, NF- $\kappa$ B p65, and the protein level of RAGE in the model group were significantly higher than those in the blank group ( $P < 0.01$ ), while the mRNA and protein levels of Jun and IFN- $\gamma$  were lower than those in the blank group ( $P < 0.01$ ). In the Zhitong Xiaoyan Ointment high-concentration group, the mRNA and protein expression levels of TNF- $\alpha$ , IL-13, Egr1 and NF- $\kappa$ B p65, the protein level of RAGE were lower than those in the model group ( $P < 0.05$ ), while the mRNA and protein expression levels of IFN- $\gamma$  and Jun were higher than those in the model group ( $P < 0.05$ ). In the animal study, the mRNA and protein expression levels of TNF- $\alpha$ , IL-13, Egr1, and NF- $\kappa$ B p65, and the protein level of RAGE in the skin lesions of the model group were higher than those in the normal group ( $P < 0.01$ ), while the mRNA and protein levels of Jun and IFN- $\gamma$  were lower than those in the normal group ( $P < 0.05$ ). In the Zhitong Xiaoyan Ointment group, the mRNA and protein levels of TNF- $\alpha$ , IL-13, Egr1, and NF- $\kappa$ B p65, and the RAGE protein level in the skin lesions were lower than those in the model group ( $P < 0.05$ ), while the mRNA and protein levels of Jun and IFN- $\gamma$  were higher than those in the model group ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Zhitong Xiaoyan Ointment can alleviate the symptoms of chronic eczema, and its mechanism may be related to inhibiting the RAGE signaling pathway to improve Jun. Conclusion: Zhitong Xiaoyan Ointment can alleviate chronic eczema symptoms by inhibiting the RAGE signaling pathway to improve Jun.

[Keywords] chronic eczema; Zhitong Xiaoyan Ointment; RAGE; mice; HaCaT cells

慢性湿疹是一种以湿疹样皮损、异常干燥、顽固性瘙痒为主要临床表现的慢性难治性反复发作的炎症性疾病<sup>[1]</sup>。该病具有多种表型,是由遗传、皮肤屏障缺陷、免疫、环境因素等相互作用引起的一种复杂的多因素疾病<sup>[2]</sup>。该病每年影响全球23%的儿童和17%的成人,我国目前的患病人数约为7 000万人<sup>[3-4]</sup>,已成为全球非致命性皮肤疾病中疾病负担最重的皮肤病之一<sup>[5]</sup>。其病理机制复杂,临床最常用的治疗方法以局部润肤剂、光疗、皮质类固醇、生物制剂、小分子药物治疗为主<sup>[6-7]</sup>。然而,这些新疗法的长期影响还有待进一步研究,目前暂未作为慢性湿疹的常规治疗方法。与此同时,中医药作为一种悠久的治疗方法,在改善症状、延缓复发、提高生活质量方面发挥着积极的作用<sup>[8]</sup>。

止痛消炎膏(批号:陕药管制字[2001]第1775号)是西安市中医医院已故中医外科大家姜树荆教授的经验方,由浙贝母、白芷、大黄、樟脑、冰片、木香、薄荷脑组成,具有清热解毒、祛风止痒、行气活血功效。前期临床及实验研究<sup>[9-11]</sup>表明,止痛消炎膏可以改善慢性湿疹患者皮肤屏障功能,减少经皮失水含量,增加角质层含水;同时可改善慢性湿疹小鼠模型

屏障功能,但具体作用机制不清楚。本研究的目的是从体内、体外实验探究止痛消炎膏对慢性湿疹屏障功能影响的机制。

## 1 材料与与方法

1.1 实验动物 选取Balb/c雄性小鼠40只,体质量20~25 g,购于成都达硕实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(川)-2020-0030;动物使用许可证:SYXK(陕)2024-009,动物质量合格证号:0044484。饲养场所为陕西陕药医科生物技术有限公司动物房,室温22℃,相对湿度50%~60%,12 h/12 h明暗循环环境,SPF级实验室采取自由采食、自由饮水,饲养1周后进行实验。本实验已通过成都达硕实验动物有限公司动物伦理委员会审核批准,伦理审批号:DOSSY2023-035,实验过程符合实验动物福利和伦理要求。

1.2 药物与试剂 止痛消炎膏(批号:陕药管制字[2001]第1775号)由西安市中医医院制剂科统一配置,组成:浙贝母200 g、白芷50 g、木香30 g、大黄35 g、薄荷20 g、樟脑20 g、冰片20 g。上述药物干燥后断碎,过一号筛,加入凡士林基质凡士林100 g,加热至80℃,不断搅拌使其完全融化后,继续搅拌直至温度降至22℃;糠酸模米松软膏(河南羚锐生物药业有限

公司,批号:H20113466);凡士林乳膏[衡水武罗药业有限责任公司,批号:冀卫消字(2015)第0021号];二硝基氯苯(dinitrochlorobenzene, DNCB)(上海麦克林生化科技有限公司,批号:97-00-7);丙酮(天津市富宇精细化工有限公司,批号:67-64-1);4%多聚甲醛(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:G1101-500ML);核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)p65(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:ET1603-12);晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)抗体(北京奥赛森生物科技有限公司,批号:bs-0177R);白细胞介素-13(interleukin-13, IL-13)(北京奥赛森生物科技有限公司,批号:bs-0177R);早期生长反应因子1(early growth response protein 1, Egr1)(北京奥赛森生物科技有限公司,批号:bs-1076R);JUN蛋白(Jun proto-oncogene, Jun)(北京奥赛森生物科技有限公司,批号:bs-0670R);肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)(武汉博士生物工程技术有限公司,批号:BAO131);γ干扰素(interferon-gamma, IFN-γ)(武汉博士生物工程技术有限公司,批号:BAO131),DMEM培养基(美国Coming公司,批号:10-013-CV);胎牛血清(以色列Biological Industries公司,批号:04-001-1ACS);PBS1x(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号:C4202-500ML);HaCaT细胞(浙江如耀生物科技有限公司,批号:RY-Y0014)。

1.3 主要仪器 实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪器(美国Bio-Rad Laboratories公司,型号:CFX Connect);SmartSpec Plus核酸蛋白测定仪(美国Bio-Rad Laboratories公司,型号:SMARTSPEC);低温离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:TD4);常温摇床(海门市其林贝尔仪器开发有限公司,型号:THZ-100);电泳转移槽(北京凯元信瑞仪器有限公司,型号:PowerB);化学发光成像分析仪(北京赛智创业科技有限公司,型号:MiniChemi500)。

#### 1.4 造模与分组

1.4.1 动物实验造模与分组 造模:在致敏前1 d,将待造模动物30只小鼠用2%戊巴比妥钠进行腹腔注射麻醉,之后选每只小鼠取背部用脱毛膏脱毛处理,面积约为3 cm×3 cm,次日在脱毛区域外涂5% DNCB 50 μL致敏第1次,2周后(第1~2周),背部再次脱毛约3 cm×3 cm,于次日外涂0.1% DNCB 100 μL激发,每周1次,连续4周(第3~4周);待第4周致敏3 d后(第24天结束,第25天检测),造模结束<sup>[12]</sup>。若出现皮肤干燥粗糙、角化、片状红斑、结痂,以及烦躁不安、频繁回头舔舐,提示造模成功<sup>[13]</sup>。

分组:将40只小鼠分为正常组、模型组、止痛消炎膏组和阳性药物组,每组10只。

1.4.2 细胞实验造模与分组 造模:复制HaCaT细胞慢性湿疹模型。用0.25%胰酶将对数生长的HaCaT细胞消化,吹散,计数,设置空白孔,不接种细胞,只加完全培养基,每孔100 μL,5个复孔。并以2×10<sup>5</sup>个/mL细胞浓度,按每孔100 μL接种至96孔板,周边孔加100 μL PBS防止蒸发,细胞在37℃,5% CO<sub>2</sub>恒温箱中培养24 h,待细胞贴壁60%以上。吸弃原有培养基,

设置空白孔及正常组、模型组,正常组加完全培养基,每孔100 μL,5个复孔。TNF-α/IFN-γ用完全培养基稀释至10 ng/mL干预细胞24 h复制慢性湿疹模型。周边孔加100 μL PBS防止蒸发,细胞在37℃,5% CO<sub>2</sub>恒温箱中培养24 h。

分组:将细胞分为空白组(正常培养的HaCaT细胞)、模型组(TNF-α/IFN-γ诱导的炎症模型细胞)、止痛消炎膏低浓度组、止痛消炎膏中浓度组和止痛消炎膏高浓度组。

#### 1.5 实验给药

1.5.1 动物实验给药 正常组与模型组:背部剃毛区涂抹适量凡士林;止痛消炎膏组:造模成功后背部剃毛区涂抹止痛消炎膏;阳性药物组:造模结束后,背部剃毛区涂抹糠酸莫米松软膏。所有药物均为1次/d,连续涂抹10 d后取材。

1.5.2 细胞实验给药 正常组、模型组:不干预,采用水提醇沉法制备止痛消炎膏提取物,冻干后保存,使用时溶解于DMSO(终浓度<0.1%)<sup>[14-15]</sup>;止痛消炎膏低、中、高浓度组在造模成功后分别给予止痛消炎膏0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.0 mg/mL干预细胞24 h后进行取材,并检测相应指标。

#### 1.6 观察指标

1.6.1 皮肤组织病理观察 造模结束后(第24天),选用戊巴比妥钠(60 mg/kg)腹腔注射处死模型组小鼠,剪取背部皮损处组织,无菌纱布拭干血液,4%多聚甲醛溶液固定,HE染色、全景扫描观察病理学变化,确保造模成功;其余组别小鼠继续治疗10 d后,对其余各组小鼠取材,进行病理学观察。

1.6.2 RT-qPCR 使用SteadyPure通用型RNA提取试剂盒提取组织的RNA,然后使用Evo M-MLV反转录试剂盒进行反转录(reverse transcription, RT)反应,将提取的mRNA合成为cDNA,反应条件为:37℃,15 min;85℃,5 s;4℃。使用SYBR Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR),采用两步法对cDNA进行扩增,并对其进行荧光实定量,反应条件为:95℃,30 s;95℃,5 s和60℃,30 s,40个循环。引物终浓度为0.4 μmol/L, GAPDH为内参,使用2<sup>-ΔΔCt</sup>方法计算相对表达量,并对产物的解链曲线进行分析,确保反应特异性。引物信息见表1~2。

表1 动物实验 PCR 引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
Jun	上游引物:5'-CCTTCTACGACGATGCCCTC-3'	258
	下游引物:5'-GGTGGTGTAGTGGTATGT-3'	
TNF-α	上游引物:5'-ACCCTCACACTCACAAACA-3'	212
	下游引物:5'-ATAGCAAATCGGCTGACGGT-3'	
IL-13	上游引物:5'-AGGACCCAGAGGATATTGCATG-3'	137
	下游引物:5'-CCGTGGCGAAACAGTTGCT-3'	
IFN-γ	上游引物:5'-ATGAACGCTACACTGCATCTT-3'	79
	下游引物:5'-TGACTGTGCCGTGGCAGTAA-3'	
Egr1	上游引物:5'-CAGCGCGGTAATAGCAGC-3'	126
	下游引物:5'-GTGGTCAGGTGCTCATAGGCT-3'	
NF-κB p65	上游引物:5'-CCAGACACAGATGATGCCAC-3'	160
	下游引物:5'-TGGGGACAGAAGTTGAGTTTCG-3'	
GAPDH	上游引物:5'-CCTCGTCCCGTAGACAAAATG-3'	133
	下游引物:5'-TGAGGTCAATGAAGGGTCTG-3'	

表 2 细胞实验 PCR 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
Jun	上游引物:5'-AAGAAGCTCGGACCTCTCACCT-3' 下游引物:5'-TGTTGCTGATGTGCCCGTT-3'	106
TNF-α	上游引物:5'-GCTGCACTTTGGAGTATCG-3' 下游引物:5'-ATGAGGTACAGGCCCTCTGA-3'	252
IL-13	上游引物:5'-CATGTACTGTGCAGCCCTGGA-3' 下游引物:5'-AGAATCCGCTCAGCATCTCT-3'	86
IFN-γ	上游引物:5'-CGAGATGACTTCGAAAAGCTGA-3' 下游引物:5'-ACTGGGATGCTCTTCGACCT-3'	166
Egr1	上游引物:5'-AAGGCCCTCAATACCAGCTAC-3' 下游引物:5'-ACTCCACTGGCAAGCGTAA-3'	118
NF-κB p65	上游引物:5'-GAGGAGCACAGATACCACCAAGA-3' 下游引物:5'-CCAGTCTTGGAAACTGTGGAT-3'	203
GAPDH	上游引物:5'-GGAAGCTTGTATCAATGGAATC-3' 下游引物:5'-TGATGACCCCTTTGGCTCCC-3'	168

1.6.3 Western blotting 将皮损组织、收集好的细胞用含有1%蛋白酶抑制剂的4℃预冷RIPA裂解缓冲液裂解,细胞裂解物在12 000×g、4℃下离心10 min,离心半径为8.5 cm,收集上清液,保存待用。BCA法测定蛋白质浓度,10% SDS-PAGE分离出等量的蛋白质(20 μg)转移到PVDF膜上。于室温下用5%牛奶在TBST中封闭膜2 h,并于4℃与TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、Junβ-actin一抗孵育过夜,再将膜与二抗于37℃孵育2 h。用ECL试剂盒对印迹进行可视化。

1.7 统计学方法 采用GraphPad Prism 8.0软件对数据进行统计分析,计量资料符合正态分布以“均数±标准差”(x±s)表示,多组间比较运用方差分析(ANOVA)进行比较,两两比较采用Tukey检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动物实验结果

2.1.1 各组小鼠HE染色 正常组小鼠皮肤表皮层、真皮层组织结构清晰,层次分明,厚度正常,无水肿,呈现正常皮肤状态;模型组小鼠表皮明显增厚,伴角化过度,棘层增厚,表皮细胞内水肿,真皮层可见大量炎症细胞浸润,为明显慢性湿疹样病理改变;止痛消炎膏组和阳性药组小鼠表皮厚度减小,棘层变薄,水肿减轻,真皮层炎症细胞浸润减轻。(见图1)

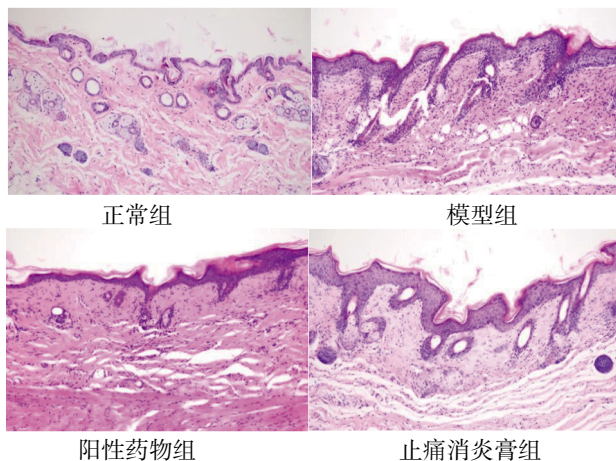


图 1 各组小鼠 HE 染色结果图 (×200)

2.1.2 各组小鼠皮损中TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、Jun mRNA、NF-κB p65 mRNA表达水平比较 模型组小鼠皮损组织中TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF-κB p65 mRNA水平高于正常组(P<0.01),Jun mRNA水平低于正常组(P<0.01);止痛消炎膏组小鼠皮损组织中TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF-κB mRNA表达水平低于模型组(P<0.05)、止痛消炎膏组Jun蛋白水平高于模型组。(见表3~4)

表 3 各组小鼠 Jun mRNA、NF-κB p65 mRNA、Egr1 mRNA 水平比较 (x±s)

组别	n	Jun mRNA	NF-κB p65 mRNA	Egr1 mRNA
正常组	3	1.01±0.01	1.01±0.01	1.01±0.01
模型组	3	0.44±0.06 <sup>a</sup>	1.52±0.14 <sup>c</sup>	2.46±0.43 <sup>a</sup>
止痛消炎膏组	3	0.70±0.07 <sup>b</sup>	0.80±0.16 <sup>b</sup>	1.67±0.12 <sup>c</sup>
阳性药物组	3	0.83±0.06 <sup>b</sup>	0.75±0.20 <sup>b</sup>	1.41±0.23 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01,<sup>c</sup>P<0.05。

表 4 各组小鼠 TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA 水平比较 (x±s)

组别	n	TNF-α mRNA	IFN-γ mRNA	IL-13 mRNA
正常组	3	1.05±0.04	1.03±0.03	1.04±0.04
模型组	3	3.49±0.76 <sup>a</sup>	0.46±0.12 <sup>a</sup>	3.14±0.47 <sup>a</sup>
止痛消炎膏组	3	1.96±0.20 <sup>b</sup>	0.79±0.01 <sup>b</sup>	1.78±0.24 <sup>b</sup>
阳性药物组	3	1.45±0.06 <sup>b</sup>	0.74±0.08 <sup>b</sup>	1.28±0.06 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

2.1.3 各组小鼠皮损中TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、Jun、NF-κB p65、RAGE蛋白表达水平比较 模型组小鼠皮损组织中TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、NF-κB p65、RAGE蛋白表达水平高于正常组(P<0.01),Jun蛋白表达水平低于正常组(P<0.05);止痛消炎膏组小鼠皮损组织中TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、NF-κB p65、RAGE蛋白表达水平低于模型组(P<0.05),Jun蛋白表达水平高于模型组(P<0.05)。(见图2~3,见表5~6)

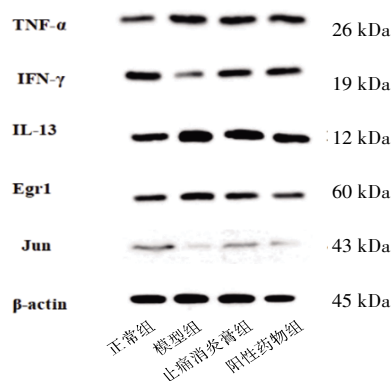


图 2 各组小鼠皮损中 TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、Jun 蛋白的表达 Western blotting 图

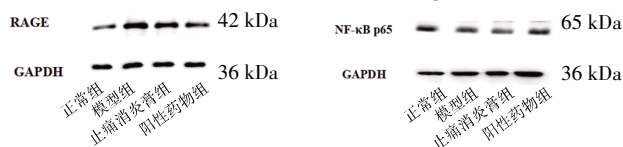


图 3 各组小鼠皮损中 RAGE、NF-κBp65 蛋白的表达 Western blotting 图

表5 各组小鼠皮损中 Jun、RAGE、NF-κB p65、Egr1 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Jun	RAGE	NF-κB p65	Egr1
正常组	3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	3	0.19±0.07 <sup>a</sup>	2.22±0.32 <sup>a</sup>	1.80±0.07 <sup>a</sup>	2.34±0.41 <sup>a</sup>
止痛消炎膏组	3	0.44±0.08 <sup>b</sup>	1.55±0.21 <sup>c</sup>	1.48±0.11 <sup>c</sup>	1.57±0.17 <sup>c</sup>
阳性药物组	3	0.43±0.03 <sup>b</sup>	1.33±0.10 <sup>b</sup>	1.38±0.14 <sup>b</sup>	1.34±0.29 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01,<sup>c</sup>P<0.05。

表6 各组小鼠皮损中 TNF-α、IFN-γ、IL-13 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	TNF-α	IFN-γ	IL-13
正常组	3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	3	2.77±0.36 <sup>a</sup>	0.46±0.12 <sup>a</sup>	1.86±0.16 <sup>a</sup>
止痛消炎膏组	3	1.90±0.14 <sup>b</sup>	0.71±0.11 <sup>c</sup>	1.36±0.18 <sup>c</sup>
阳性药物组	3	1.43±0.1 <sup>b</sup>	0.87±0.08 <sup>b</sup>	1.26±0.18 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01,<sup>c</sup>P<0.05。

2.2 细胞实验结果

2.2.1 各组细胞中TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、Jun mRNA、NF-κB mRNA水平比较 模型组 TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA、NF-κB p65mRNA含量高于正常组(P<0.01),Jun mRNA低于正常组(P<0.01);止痛消炎膏中、高浓度组Jun mRNA、NF-κB mRNA表达水平高于模型组,止痛消炎膏中、高浓度组TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA含量低于模型组(P<0.05);止痛消炎膏高浓度组TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、Egr1 mRNA低于模型组(P<0.05);止痛消炎膏高浓度组与止痛消炎膏中、低浓度组比较,TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA、NF-κB p65 mRNA、Egr1 mRNA降低幅度更大,Jun mRNA蛋白增加含量更高(P<0.05)。(见表7~8)

表7 各组细胞 Jun mRNA、Egr1 mRNA、NF-κB p65 mRNA 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Jun mRNA	Egr1 mRNA	NF-κB p65 mRNA
空白组	3	1.02±0.03	1.00±0.00	1.01±0.00
模型组	3	0.40±0.10 <sup>a</sup>	3.46±0.96 <sup>a</sup>	1.57±0.15 <sup>a</sup>
止痛消炎膏低浓度组	3	0.57±0.10	2.39±0.69	0.93±0.15 <sup>b</sup>
止痛消炎膏中浓度组	3	0.65±0.09 <sup>c</sup>	2.03±0.67	0.91±0.10 <sup>b</sup>
止痛消炎膏高浓度组	3	0.84±0.05 <sup>b</sup>	1.45±0.21 <sup>a</sup>	0.85±0.09 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01,<sup>c</sup>P<0.05。

表8 各组细胞 TNF-α mRNA、IFN-γ mRNA、IL-13 mRNA 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	TNF-α mRNA	IFN-γ mRNA	IL-13 mRNA
空白组	3	1.01±0.02	1.03±0.03	1.02±0.01
模型组	3	2.57±0.57 <sup>a</sup>	0.43±0.07 <sup>a</sup>	3.09±0.33 <sup>a</sup>
止痛消炎膏低浓度组	3	1.96±0.16	0.54±0.10	2.53±0.31
止痛消炎膏中浓度组	3	1.62±0.29 <sup>c</sup>	0.71±0.07 <sup>b</sup>	1.90±0.21 <sup>b</sup>
止痛消炎膏高浓度组	3	1.34±0.19 <sup>b</sup>	0.86±0.06 <sup>b</sup>	1.90±0.21 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

2.2.2 各组细胞中TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、Jun、NF-κB p65、RAGE蛋白表达水平比较 模型组TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、NF-κB p65、RAGE蛋白表达水平高于正常组(P<0.01),Jun蛋白表达水平低于正常组(P<0.01);止痛消炎膏高浓度组TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、NF-κB p65、RAGE蛋白水平低于模型组(P<0.05),Jun蛋白含量高于模型组(P<0.01);止痛消炎膏中浓度组Egr1、NF-κB p65、RAGE、IL-13蛋白水平低于模型组(P<0.05);止痛消炎膏高浓度组与止痛消炎膏中、低浓度组比较,TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、NF-κB降低幅度更大,Jun蛋白增加含量更高(P<0.05)。(见图4~5,表9~10)

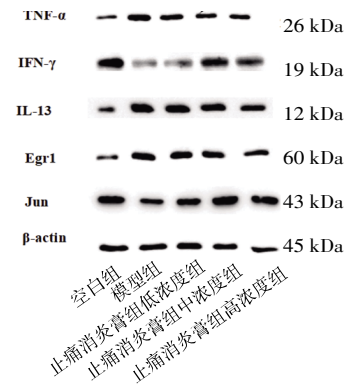


图4 各组细胞 TNF-α、IFN-γ、IL-13、Egr1、Jun 蛋白表达 Western blotting 图

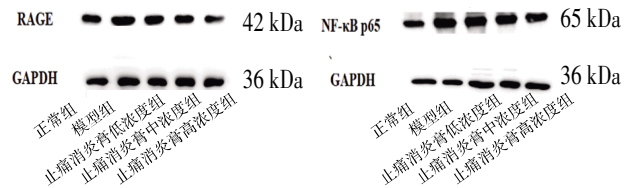


图5 各组细胞 RAGE、NF-κB p65 蛋白表达 Western blotting 图

表9 各组细胞 Jun、Egr1、NF-κB p65 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Jun	Egr1	NF-κB p65
空白组	3	1.02±0.03	1.00±0.00	1.01±0.00
模型组	3	0.40±0.10 <sup>a</sup>	3.46±0.96 <sup>a</sup>	1.57±0.15 <sup>a</sup>
止痛消炎膏低浓度组	3	0.57±0.10	2.39±0.69	0.93±0.15 <sup>b</sup>
止痛消炎膏中浓度组	3	0.65±0.09 <sup>c</sup>	2.03±0.67	0.91±0.10 <sup>b</sup>
止痛消炎膏高浓度组	3	0.84±0.05 <sup>b</sup>	1.45±0.21 <sup>a</sup>	0.85±0.09 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01,<sup>c</sup>P<0.05。

表10 各组细胞 TNF-α、IFN-γ、IL-13 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	TNF-α	IFN-γ	IL-13
空白组	3	1.01±0.02	1.03±0.03	1.02±0.01
模型组	3	2.57±0.57 <sup>a</sup>	0.43±0.07 <sup>a</sup>	3.09±0.33 <sup>a</sup>
止痛消炎膏低浓度组	3	1.96±0.16	0.54±0.10	2.53±0.31
止痛消炎膏中浓度组	3	1.62±0.29 <sup>c</sup>	0.71±0.07 <sup>b</sup>	1.90±0.21 <sup>b</sup>
止痛消炎膏高浓度组	3	1.34±0.19 <sup>b</sup>	0.86±0.06 <sup>b</sup>	1.90±0.21 <sup>b</sup>

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01,<sup>c</sup>P<0.05。

## 3 讨 论

慢性湿疹是一种慢性、复发性炎症性皮肤病,其发病机制涉及遗传易感性、免疫失调及皮肤屏障功能障碍。皮肤屏障功能受损是慢性湿疹的核心特征,与角质形成细胞分化异常及屏障蛋白表达下调密切相关<sup>[16]</sup>。湿疹(特应性皮炎)是皮肤屏障功能受损的典型表现之一,而RAGE信号通路在这一过程中扮演了重要角色。RAGE的激活会抑制角质形成细胞分化相关蛋白(如丝聚蛋白)的表达,进而破坏角质层的完整性<sup>[17]</sup>。在湿疹的病理生理过程中,RAGE信号通路的激活不仅影响角质形成细胞的分化,还可能通过下调结构性皮肤屏障蛋白的表达,进一步加剧皮肤屏障的损伤<sup>[18]</sup>。

《黄帝内经》<sup>[19]</sup>中“病机十九条”记载“诸痛痒疮,皆属于心”,“诸湿肿满,皆属于脾”,指出疮疡的病机与心、脾及外感湿邪相关。现代中医学者认为湿疹的发生,与禀赋不耐,风、热、湿邪阻滞肌肤密不可分<sup>[20]</sup>。

止痛消炎膏具有清湿热、祛风毒、行气血等功效。方中大黄清热泻火、凉血解毒,浙贝母清热散结,共奏清热燥湿、解毒散瘀之效,直折湿热火毒。白芷祛风止痒,薄荷脑透疹散邪,樟脑祛风杀虫。三药寒温并用,外散风邪,内透郁热。木香行气活血,冰片通络散瘀,促进气血畅行。大黄兼能活血祛瘀,改善局部微循环<sup>[21]</sup>。

本研究表明,止痛消炎膏可通过多靶点调控炎症信号通路和表皮分化相关分子,对慢性湿疹具有显著治疗作用。从分子机制层面,该复方制剂展现出以下核心作用特征:止痛消炎膏降低血清促炎因子TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 及Th2型细胞因子IL-13的水平,这提示其可能通过双重调节Th1/Th2免疫失衡发挥治疗作用——TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 的抑制反映了对Th1型过度激活的调控<sup>[22]</sup>。木香内酯与白芷素已被证实具有调节T细胞分化的作用<sup>[23]</sup>。作为早期生长反应转录因子,Egr1可通过调控角质形成细胞增殖相关基因加重湿疹皮损<sup>[24]</sup>。实验组Egr1水平降低可能源于大黄中蒽醌类成分其通路的抑制作用,这为中药复方改善表皮过度增生提供了新依据。慢性炎症状态下,RAGE的激活导致NF- $\kappa$ B的激活,又引发RAGE等促炎细胞因子的产生。这种正反馈循环导致持续的炎症反应<sup>[25]</sup>。而冰片、薄荷脑等挥发性成分因其小分子特性,可能通过表皮渗透直接抑制RAGE表达,这为中药透皮给药系统的优势提供了分子证据<sup>[26]</sup>。JUN蛋白(c-Jun)表达的上调揭示了修复机制的激活。作为AP-1转录复合物的核心组分,c-Jun在表皮创伤愈合中促进细胞迁移和屏障修复<sup>[27]</sup>。浙贝母生物碱与樟脑衍生物可增强c-Jun表达<sup>[28]</sup>,这与临床观察到的皮损修复加速现象存在机制关联。上调c-Jun促进表皮修复,下调Egr1抑制异常增生,体现“活血生肌”的生物学基础。

综上所述可见止痛消炎膏通过“炎症-增殖-修复”网络相互作用:通过TNF- $\alpha$ 、RAGE、NF- $\kappa$ B激活进而促炎因子释放使Th1/Th2失衡造成IL-13释放增加进而使Egr1驱动增殖。同时止痛消炎膏能修复调控支路:c-Jun通过AP-1激活修复基因。该复方通过多靶点干预,将中医整体观与现代分子病理机制有机结合,阐述了止痛消炎膏治疗慢性湿疹的作用机制。

本研究的局限性在于RAGE调控的具体交互机制需进一步通过基因沉默等技术验证,未来将进行进一步研究。

## 参考文献

- [1] 李瑶,孙乐栋.表皮角质层屏障功能与特应性皮炎相关研究进展[J].皮肤性病诊疗学杂志,2020,27(1):61-64.
- [2] CRIADOP R, MIOTH A, BUENO-FILHO R, et al. Update on the pathogenesis of atopic dermatitis[J]. An Bras Dermatol, 2024, 99(6):895-915.
- [3] WU J J, LAFEUILLEMH, EMONDB, et al. Real-world effectiveness of newly initiated systemic therapy for atopic dermatitis in the United States: A claims database analysis[J]. Adv Ther, 2022, 39(9):4157-4168.
- [4] CHOVIATYA R, SILVERBERGJ I. The heterogeneity of atopic dermatitis[J]. J Drugs Dermatol, 2022, 21(2):172-176.
- [5] MUROTA H, KOIKE Y, MORISAKI H, et al. Exacerbating factors and disease burden in patients with atopic dermatitis[J]. Allergol Int, 2022, 71(1):25-30.
- [6] LABIB A, JU T, YOSIPOVITCH G. Emerging treatments for itch in atopic dermatitis: A review[J]. J Am Acad Dermatol, 2023, 89(2):338-344.
- [7] 禹霜,田爱平.炎症性皮肤病治疗药物的研究进展[J].现代药物与临床,2025,40(2):501-508.
- [8] 林欢儿,李孜怡,彭静,等.中医药治疗特应性皮炎研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(11):29-32.
- [9] 吴卿,景慧玲,张凡,等.姜树荆止痛消炎膏治疗特应性皮炎的临床效果[J].临床医学研究与实践,2020,5(22):117-119.
- [10] 王星星,杜华,吴卿,等.止痛消炎膏治疗慢性湿疹临床观察及对皮肤屏障功能的影响[J].中国中西医结合皮肤性病学期刊,2022,21(1):44-46.
- [11] 郑琳琳,王星星,朱新景,等.止痛消炎膏对慢性湿疹模型小鼠皮损及TEWL、SCH、湿度的影响[J].辽宁中医杂志,2022,49(5):192-195,225.
- [12] 肖佼,王思农,周文丽,等.藏药十八味欧曲膏对慢性湿疹大鼠模型血清TLR2及LTB4表达的影响[J].中医药导报,2016,22(21):30-32.
- [13] 霍旺,李晗,曹科,等.基于网络药理学及动物实验研究祛风汤治疗肛周湿疹的作用机制[J].中医药导报,2024,30(11):41-47.
- [14] WANG S M, WANG Y X, HAN B, et al. Huanglian ointment alleviates eczema by maintaining the balance of c-Jun and JunB and inhibiting AGE-RAGE-mediated pro-inflammation signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2022, 105:154372.
- [15] 王领弟,孙孟瑶,张芳,等.体外细胞实验中中药干预方法研究进展[J].中华中医药杂志,2018,33(4):1448-1451.

(下转第81页)

- [18] 倪博然,赵进喜,黄为钧,等.基于视觉模拟评分法探究中医临床疗效评价新方法[J].中华中医药杂志,2021,36(1):288-292.
- [19] 程继伟,王振林,刘伟,等.Oswestry功能障碍指数的改良及信度和效度检验[J].中国脊柱脊髓杂志,2017,27(3):235-241.
- [20] 翟绅,樊金辉,王甜,等.仰卧下肢悬吊牵引结合中医理筋治筋疗法治疗腰椎滑脱症40例[J].中国中医骨伤科杂志,2025,33(4):85-90,96.
- [21] 国家中医药管理局.中医病证诊断疗效标准[S].北京:中国医药科技出版社,2012.
- [22] 刘新宇.Circsub0/sub10567-miRNA141 靶向调控 TGF- $\beta$ 1-ALK1/5 双通路对黄韧带细胞外基质重塑的影响及机制研究[D].济南:山东大学,2023.
- [23] 李磊.转腰汤对退行性腰椎管狭窄症VAS评分及炎症因子的影响[D].北京:北京中医药大学,2023.
- [24] 李世梁,杜兰翔,李世佳,等.腰椎管狭窄症内镜减压联合中药内服从督论治[J].中国矫形外科杂志,2023,31(19):1761-1766.
- [25] 张世贤.四维调曲法联合椎体成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折的临床研究[D].广州:广州中医药大学,2023.
- [26] 郭俊彪,吴树旭,王慧敏,等.基于脊柱-骨盆参数变化探讨三维牵引治疗退变性腰椎滑脱症的临床疗效[J].中国临床研究,2021,34(11):1503-1506.
- [27] 龚重九,朱美娟.超声引导针刀在腰三横突综合征患者中的应用效果[J].中国当代医药,2023,30(5):78-81.
- [28] 梁梦含.多维牵引治疗退行性腰椎滑脱症的临床和生物力学分析[D].福州:福建中医药大学,2025.
- [29] KAWASAKI N, ISHIKI H, ARAKAWA S, et al. Effect of acupuncture on neurogenic claudication among patients with degenerative lumbar spinal stenosis[J]. Ann Intern Med,2025,178(7):1062-1063.
- [30] FAN Z H, JIA S H, ZHOU X, et al. Clinical efficacy of Tuina therapy combined with traditional Chinese exercises in the treatment of symptomatic lumbar disc herniation: A multicentre randomised controlled trial protocol[J]. Front Neurol,2025,16:1497933.

(收稿日期:2025-12-02 编辑:蒋凯彪)

#### (上接第43页)

- [16] 席榕,朱慧婷,李伯华,等.皮肤屏障紧密连接在特应性皮炎发病机制中的作用[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2022,16(2):172-177.
- [17] LEEA Y. Molecular mechanism of epidermal barrier dysfunction as primary abnormalities[J]. Int J Mol Sci,2020,21(4):1194.
- [18] NYGAARD U, VANDEN BOGAARDE H, NIEHUESH, et al. The "alarmins" HMBG1 and IL-33 downregulate structural skin barrier proteins and impair epidermal growth[J]. Acta Derm Venereol,2017,97(3):305-312.
- [19] 黄帝内经[M].北京:中医古籍出版社,2003:112-113.
- [20] 陈德宇.中西医结合皮肤性病学:新世纪第二版[M].2版.北京:中国中医药出版社,2012:183-185.
- [21] 陈明岭,江海燕.皮肤病常用中药药理及临床[M].2版.北京:中国科学技术出版社,2017:4.
- [22] SARDANA K, SHARATH S, KHURANA A, et al. Th1 and Th2 cytokine expression in hyperkeratotic chronic hand eczema and the role of Tofacitinib a oral JAK inhibitor [J]. Arch Dermatol Res,2024,316(10):682.
- [23] YANG W Q, ZHU Z X, SONG Y L, et al. Dimeric furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica*[J]. Nat Prod Res,2017,31(8):870-877.
- [24] ZENG J R, ZHANG Y, ZHANG H Y, et al. RPL22 overexpression promotes psoriasis-like lesion by inducing keratinocytes abnormal biological behavior [J]. Front Immunol,2021,12:699900.
- [25] KARUPPAGOUNDER V, ARUMUGAM S, THAN-DAVARAYAN R A, et al. Modulation of HMGB1 translocation and RAGE/NF $\kappa$ B cascade by quercetin treatment mitigates atopic dermatitis in NC/Nga transgenic mice[J]. Exp Dermatol,2015,24(6):418-423.
- [26] CHEN J, JIANGQD, CHAIY P, et al. Natural terpenes as penetration enhancers for transdermal drug delivery[J]. Molecules,2016,21(12):1709.
- [27] KIWANUKA E, JUNKER J, ERIKSSON E. Harnessing growth factors to influence wound healing[J]. Clin Plast Surg,2012,39(3):239-248.
- [28] LIU C, PENG X M, LI Y H, et al. Positive feedback loop of FAM83A/PI3K/AKT/c-Jun induces migration, invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Biomed Pharmacother,2020,123:109780.

(收稿日期:2025-04-11 编辑:时格格)