

基于转录组学和实验验证的翘柏冷敷液改善寻常型痤疮的机制[△]

谢圳江^{1*}, 朱维娜², 曹亮亮¹, 周芙琼², 张淑盼¹, 周柄文³, 陈寅生⁴, 李文⁵, 赵颖^{1#}(1. 南京中医药大学附属南京中医院药学部, 南京 210022; 2. 南京中医药大学附属南京中医院医学实验中心, 南京 210022; 3. 南京中医药大学附属南京中医院江苏省中医肛肠疾病临床医学创新中心, 南京 210022; 4. 南京中医药大学附属南京中医院中医药研究所, 南京 210022; 5. 南京中医药大学附属南京中医院临床机构, 南京 210022)

中图分类号 R965;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)04-0425-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.04.03



摘要 **目的** 基于转录组学和动物实验探究翘柏冷敷液(QBCS)改善寻常型痤疮(AV)的作用机制。**方法** 将大鼠随机分为空白对照组($n=6$)和造模组($n=30$)。造模组大鼠以双耳内侧涂抹油酸联合耳廓皮下注射痤疮丙酸杆菌菌悬液的方式构建AV模型。将造模成功的大鼠分为模型组、阳性对照组(维A酸乳膏, 0.045 g/kg)和QBCS低、中、高剂量组[3.55、7.11、14.22 g/kg(以生药量计)], 每组6只。各药物组大鼠涂抹相应药液, 每天1次, 连续14 d。末次给药后, 观察各组大鼠耳部外观形态、耳组织病理形态学变化情况, 并检测其血清中炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)、IL-1 β]水平。收集空白对照组、模型组和QBCS中剂量组大鼠耳组织进行转录组测序, 筛选差异表达基因(DEGs)并进行京都基因和基因组数据库通路富集分析, 再运用实时荧光定量聚合酶链式反应、Western blot实验进行验证。**结果** 与模型组比较, QBCS各剂量组大鼠耳部痤疮症状均有所缓解, 表皮增厚、皮脂腺增生、炎症细胞浸润等病理损伤有所减轻, 血清中TNF- α (低剂量组除外)、IL-6(低剂量组除外)、IL-1 β 水平均显著降低($P<0.05$)。分别筛选出DEGs 590个(空白对照组 vs. 模型组)、596个(模型组 vs. QBCS中剂量组); 上述DEGs(空白对照组 vs. 模型组)主要富集于Toll样受体(TLR)、核因子 κ B(NF- κ B)等信号通路。验证实验结果显示, 与模型组比较, 低、中、高剂量QBCS可不同程度地降低AV大鼠耳组织中TNF- α 、TLR2、 γ 干扰素、CXC趋化因子配体8 mRNA的表达水平, 提高过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 、肿瘤蛋白53 mRNA的表达水平, 并抑制NF- κ B p65的磷酸化和TLR2、髓系分化初级反应蛋白88(MyD88)的表达($P<0.05$)。**结论** QBCS可缓解AV大鼠的耳部炎症及皮损; 该作用可能与抑制TLR/MyD88/NF- κ B信号通路, 进而抑制TNF- α 等下游相关炎症因子的表达有关。

关键词 翘柏冷敷液; 寻常型痤疮; 转录组学; TLR/MyD88/NF- κ B信号通路

Mechanisms of Qiaobai cold compress solution in improving acne vulgaris based on transcriptomics and experiment

XIE Zhenjiang¹, ZHU Weina², CAO Liangliang¹, ZHOU Fuqiong², ZHANG Shupan¹, ZHOU Bingwen³, CHEN Yinsheng⁴, LI Wen⁵, ZHAO Ying¹(1. Dept. of Pharmacy, Nanjing Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210022, China; 2. Medical Experimental Centre, Nanjing Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210022, China; 3. Jiangsu Provincial Clinical Medical Innovation Center for Anorectal Diseases of Traditional Chinese Medicine, Nanjing Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210022, China; 4. Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanjing Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210022, China; 5. Clinical Trial Institution, Nanjing Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210022, China)

△基金项目 全国老药工传承工作室建设项目(No. 国中医药人教函[2025]181号); 江苏省老药工传承工作室建设项目(No. 苏中医科教[2024]4号); 2025年江苏省研究生科研与实践创新计划和学位与研究生教育教改课题(No. SJCX25_0930); 南京市中医药青年人才培养计划项目(No. 宁卫中医[2020]4号); 南京药学会-常州四药医院药学科研基金项目(No. 2024YX015)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向: 中药药理学、中药制药技术与产品开发。E-mail: 20231321@njucm.edu.cn

通信作者 副主任中药师, 硕士生导师。研究方向: 中药质量标准及药效物质基础。E-mail: zhaoying123@njucm.edu.cn

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the mechanism by which Qiaobai cold compress solution (QBCS) improves acne vulgaris (AV) based on transcriptomics and animal experiments. **METHODS** Rats were randomly divided into a blank control group ($n=6$) and a modeling group ($n=30$). AV models were established in the modeling group by topical application of oleic acid to the inner surface of both ears, combined with subcutaneous injection of *Cutibacterium acnes* suspension into the auricle. Successfully modeled rats were

further divided into the model group, positive control group (Tretinoin cream, 0.045 g/kg), and QBCS low-, medium-, high-dose groups [3.55, 7.11, 14.22 g/kg (calculated by the amount of crude drug)], with 6 rats in each group. Rats in each drug group were treated with the corresponding drugs once daily for 14 consecutive days. After the final administration, changes in the appearance of the ears and histopathological changes in the ear tissues were observed, and serum levels of inflammatory factors, including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and IL-1 β , were measured. Auricular tissues from the blank control group, model group and QBCS medium-dose group were collected for transcriptome sequencing. Differential expressed genes (DEGs) were screened and subjected to Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis, followed by validation using real-time quantitative polymerase chain reaction and Western blot assay. **RESULTS** Compared with the model group, rats in all QBCS groups showed alleviated auricular acne symptoms, with reduced epidermal thickening, sebaceous gland hyperplasia, and inflammatory cell infiltration. Serum levels of TNF- α (except for the QBCS low-dose group), IL-6 (except for the QBCS low-dose group) and IL-1 β were significantly decreased ($P < 0.05$). A total of 590 DEGs were identified (blank control group vs. model group), and 596 DEGs were identified (model group vs. QBCS medium-dose group). Above DEGs (blank control group vs. model group) were mainly enriched in Toll-like receptor (TLR) and nuclear factor-kappa B (NF- κ B) signaling pathways, etc. Validation experiments showed that, compared with model group, low-, medium- and high-dose of QBCS reduced, to varying degrees, the mRNA expression of TNF- α , TLR2, interferon- γ and CXC chemokine ligand 8 in the auricular tissues of AV rats, increased the mRNA expression of peroxisome-proliferator-activated receptor gamma and tumor protein 53, and inhibited the phosphorylation of NF- κ B p65 protein as well as the expressions of TLR2 and myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88) ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** QBCS can alleviate auricular inflammation and skin lesions in AV rats. This effect may be related to inhibition of the TLR/MyD88/NF- κ B signaling pathway, thereby suppressing the expression of downstream inflammatory factors such as TNF- α .

KEYWORDS Qiaobai cold compress solution; acne vulgaris; transcriptomics; TLR/MyD88/NF- κ B signaling pathway

寻常型痤疮(acne vulgaris, AV)是一种常见的炎症性皮肤病,以粉刺、丘疹等多样性皮损为主要临床表现,好发于面颊、前额等皮脂腺分布密集的区域^[1]。根据皮损性质及严重程度,AV可划分为轻度(I级)、中度(II级)、重度(IV级)。现代研究表明,该病是多种因素共同作用的结果,这些因素包括雄激素水平升高导致的皮脂分泌过旺、毛囊皮脂腺导管角化异常、痤疮丙酸杆菌*Cutibacterium acnes*大量繁殖、炎症性损害以及免疫失常等^[2]。目前,AV的常规治疗以外用药物为主,包括维A酸类、抗生素类及过氧化苯甲酰等^[3]。然而,现有疗法普遍存在局部刺激性强、易产生耐药性、停药后复发率较高等问题。因此,寻找患者耐受性良好、不良反应小的治疗药物成为临床亟待解决的关键问题。

中医理论认为,痤疮归“粉刺”“肺风粉刺”等范畴,宜以宣肺清热、解毒散结等方法进行治疗。现代药理学研究进一步揭示,中药复方可通过其所含成分经多靶点、多通路协同发挥抗AV的作用^[4]。翘柏冷敷液(Qiaobai cold compress solution, QBCS)是南京市名中医石红乔主任治疗AV的经验方,由连翘、黄柏、丹参、忍冬藤、皂角刺、茯苓、山楂、荷叶、薄荷(质量比3:2:3:3:3:3:3:1)9味中药组成。已有研究表明,该方的活性成分连翘苷可干预Toll样受体2(Toll-like receptors 2, TLR2)的活化及其下游衔接蛋白髓系分化初级反应蛋白88(myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88)的募集,从而抑制上游信号转导^[5];活性成分小檗碱可靶向调控核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、抑制蛋白激酶活性,从而有效阻断NF- κ B抑制蛋白 α 的磷酸化及

降解,进而阻止NF- κ B p65亚基的核转位^[6];活性成分隐丹参酮则具有调节皮肤微生态、纠正脂质代谢紊乱、抑制皮脂过度分泌的作用^[7]。可见,该方具有抗AV的物质基础。同时,经南京中医药大学附属南京中医院多年临床实践证实,QBCS治疗AV效果较好,但其具体作用机制尚不明确。基于此,本研究运用转录组学方法,并结合动物实验验证,初步探讨QBCS改善AV的潜在作用机制,以期为该方的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括1510-00914型多功能酶标仪、NanoDrop-2000型超微量紫外分光光度计、IGS100型普通培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司),Agilent-5400型片段分析仪(美国Agilent公司),Q2000C型实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(杭州朗基科学仪器有限公司),ChemDoc XRS+型全自动化学发光凝胶成像分析系统(美国Bio-Rad公司),NovaSeq-6000型高通量测序仪(美国Illumina公司)、ECLIPSE Ci型正置光学显微镜(日本Nikon公司)等。

1.2 主要药品与试剂

QBCS[批号为20240425、20240426、20240427,规格为1.58 g/mL(以生药量计)]由南京中医药大学附属南京中医院药学部制备;维A酸乳膏(阳性对照药,批号302240505,规格15 g:3.75 mg)购自湖北康正药业有限公司;油酸(分析纯,批号20240424)购自国药集团化学试剂有限公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 酶联

免疫吸附测定试剂盒(批号分别为 A38250142、A30640745、A301B50234)均购自上海联科生物科技有限公司;RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒、PCR 试剂盒(批号分别为 Q711-01、R233-01、Q711-02)均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶快速制备试剂盒(货号 PG112)购自上海雅酶生物医药科技有限公司;兔抗 NF- κ B p65、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗(货号分别为 14064-1-AP、20536-1-AP、SA00001-2)均购自武汉三鹰生物有限公司;兔抗磷酸化 NF- κ B p65(phosphorylated NF- κ B p65, p-NF- κ B p65)、MyD88 抗体(货号分别为 AF2006、AF5195)均购自江苏亲科生物研究中心有限公司;兔抗 TLR2 抗体(货号 bs-1019R)购自北京博奥森生物技术有限公司;哥伦比亚血琼脂平板(批号 CP0910)购自广东环凯微生物科技有限公司;TNF- α 、TLR2、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、CXC 趋化因子配体 8(CXC chemokine ligand 8, CXCL8)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome-proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)、肿瘤蛋白 53(tumor protein 53, TP53)PCR 引物(具体序列及产物长度见表 1)由生工生物工程(上海)股份有限公司设计、完成。

表 1 PCR 引物序列及产物长度

目的基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
TNF- α	正向:ATGGGCTCCCTCTCAGTTC	114
	反向:GCTCTCCGCTTGGTGGTTG	
TLR2	正向:AGTACAGGATACAGGCCGT	109
	反向:CTTGGAGCCGAGGAAAAAC	
PPAR γ	正向:GAACGTGAAGCCATCGAGGAC	107
	反向:GGAGCACCTTGCGAACAGC	
TP53	正向:GTACCGATGGTATGAGCCACCTGAGG	120
	反向:CAGCGTGATGATGGTAAGGATGG	
IFN- γ	正向:CATGAGCATCGCAAGTTCC	130
	反向:TCAGCACCAGCTCTTTTC	
CXCL8	正向:GAGACTCCAGCAGTTGCCTTC	114
	反向:CTGGTCTGTGTGGGTGGTATCC	
β -actin	正向:TGAGGCTGGTATAAATGG	119
	反向:CAAAGAGGCCAAGAACACA	

1.3 实验动物

4~6 周龄的 SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只,体重(200 ± 20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证为 SCXK(京)2021-0001。所有动物均饲养于南京中医药大学实验动物中心标准环境[室温 22~24 °C,相对湿度(55 ± 5)% ,自然光照循环]下。本实验方案已获得南京中医药大学实验动物伦理委员会审批(申请号 202409A089),实验过程严格遵循实验动物伦理及福利相关要求。

1.4 菌株

痤疮丙酸杆菌标准菌株 BWCC67025 购自河南标准物质研发中心。

2 方法

2.1 痤疮丙酸杆菌菌悬液的制备

取痤疮丙酸杆菌,加入无菌磷酸盐缓冲液 0.5 mL,充分重悬后均匀涂抹于哥伦比亚血琼脂平板表面,置于 37 °C 厌氧培养箱中培养 1~2 d。待菌落长成后,收集菌体,用无菌生理盐水重悬,并通过麦氏比浊法将菌悬液密度调整至约 6×10^7 cfu/mL,于 4 °C 下保存,备用。

2.2 分组、造模与给药

将大鼠随机分为空白对照组($n=6$)与造模组($n=30$)。造模组大鼠于双耳内侧近耳道处均匀涂抹油酸 1.0 mL(区域大小约 1.5 cm × 1.5 cm),每天 1 次,连续 3 d;随后,于双侧耳廓分别皮下注射痤疮丙酸杆菌菌悬液 50 μ L,每天 1 次,连续 14 d。若造模部位出现红肿,肉眼可见毛细血管扩张、脱屑及丘疹样隆起或囊肿等症状,则表明大鼠 AV 模型构建成功^[8]。

将造模成功的大鼠随机分为模型组、阳性对照组和 QBCS 低、中、高剂量组,每组 6 只。自分组当日起,于各药物组大鼠造模区域均匀涂抹相应药液,每天 1 次,连续 14 d。参照体表面积等效剂量换算方法并结合临床用量,将 QBCS 低、中、高剂量分别设为 3.55、7.11、14.22 g/kg(以生药量计,相当于临床等效剂量的 1/2、1、2 倍),将阳性对照药维 A 酸乳膏剂量设为 0.045 g/kg(与临床等效剂量相当)。空白对照组和模型组大鼠于耳部相同区域均匀涂抹生理盐水(体积同 QBCS 中剂量组),每天 1 次,连续 14 d。

2.3 大鼠耳部外观形态观察

末次给药后,观察各组大鼠的耳部外观形态。

2.4 大鼠血清中炎症因子水平检测

耳部外观观察结束后,将各组大鼠以戊巴比妥钠麻醉,取腹主动脉血;血样于室温下静置 2 h 后以 3 000 r/min 离心 15 min,分离上层血清。取血清样本适量,使用多功能酶标仪于双波长(检测波长 450 nm,参考波长 630 nm)下检测血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平。严格参照相应试剂盒说明书操作。

2.5 大鼠耳组织病理形态学观察

采血后,将各组大鼠处死,分离其耳组织适量,于 4 °C、4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后切片(厚度约 4 μ m);取切片,行苏木精-伊红(HE)染色,使用光学显微镜观察各组大鼠耳组织的病理形态学变化。

2.6 大鼠耳组织转录组研究与实验验证

2.6.1 转录组学研究

取空白对照组、模型组、QBCS 中剂量组大鼠耳组织样本,使用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,待测定其纯度、浓度、完整性后,以 Oligo(dT)磁珠富集 mRNA 并将其打断,以片段化的 mRNA 作为模板,合成 cDNA 的第一链和第二链;对所得双链 cDNA 进行纯化、末端修复、测序接头连接后,构建 cDNA 文库,上机测序;将所得原始测序数据经质控过滤后,获取高质量序列。将各组样

本的高质量序列与参考基因组进行比对,以差异倍数(fold change, FC)对数的绝对值($|\log_2FC|$) ≥ 1 且错误发现率 <0.05 为标准^[9]筛选差异表达基因(differential expressed genes, DEGs);对所得DEGs(空白对照组 vs. 模型组)进行京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。转录组学测序工作由上海百趣生物医学科技有限公司协助完成。

2.6.2 实验验证

(1)实时荧光定量PCR实验:取空白对照组、模型组、阳性对照组和QBCS低、中、高剂量组大鼠耳组织样本适量,采用RNA提取试剂盒提取总RNA,待测定其纯度、浓度后,按照逆转录试剂盒说明书方法将总RNA逆转录为cDNA。以此cDNA为模板,进行PCR扩增。扩增体系(共20 μ L)包括:SYBR qPCR Master Mix 10 μ L,正、反向引物各0.4 μ L, cDNA模板2 μ L, 双重去离子水7.2 μ L。反应条件为:95.0 $^{\circ}$ C预变性10 min;95.0 $^{\circ}$ C变性10 s, 60.0 $^{\circ}$ C退火/延伸30 s,共40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各目的基因的相对表达量,结果以空白对照组为参照进行归一化处理。

(2)Western blot实验:取上述6组大鼠(每组3只)耳组织样本适量,加入RIPA裂解液,匀浆后以12 000 r/min离心15 min,取上清蛋白;将蛋白于95 $^{\circ}$ C下充分变性后,经10%SDS-PAGE分离并转移至聚偏二氟乙烯膜上,以快速封闭液封闭20 min;洗膜后,加入相应蛋白一抗,于4 $^{\circ}$ C下孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例为1:10 000),于室温下孵育1 h;洗膜后,以ECL化学发光试剂显影、成像。使用Image J软件分析各目的蛋白的条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的条带灰度比值表示各目的蛋白的表达水平,以磷酸化蛋白与未磷酸化蛋白的表达水平比值表示该蛋白的磷酸化水平。

2.7 统计学方法

采用GraphPad Prism 8.0软件对数据进行统计分析。满足正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 QBCS对AV大鼠耳部外观的影响

空白对照组大鼠耳部外观无明显异常。模型组大鼠存在典型的AV病理表现,包括耳廓组织硬化、色泽暗红、皮肤显著增厚伴有褶皱,同时可在造模区域观察到明显的皮脂腺导管脱落、弥散性丘疹及脓疱等炎症性皮损以及毛细血管扩张。阳性对照组大鼠耳部皮肤褶皱及红肿现象基本消失,炎症性皮损部分消退,且毛细血管扩张状况得到有效缓解。QBCS各剂量组大鼠皮肤增厚、红斑及炎症性皮损均有所改善,且呈一定的剂量依赖趋势,但整体改善程度略逊于阳性对照组。结果见图1。

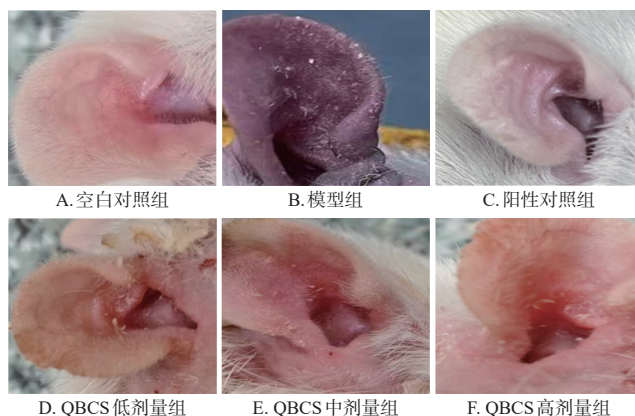
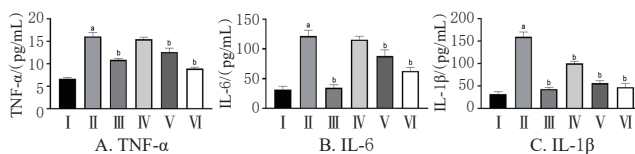


图1 各组大鼠耳部外观观察

3.2 QBCS对AV大鼠血清炎症因子水平的影响

与空白对照组比较,模型组大鼠血清中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠血清中TNF- α (QBCS低剂量组除外)、IL-6(QBCS低剂量组除外)、IL-1 β 水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图2。

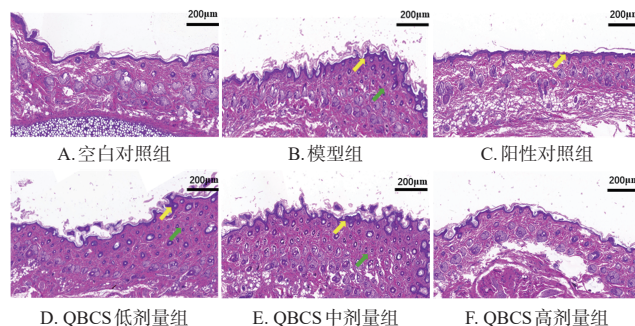


I: 空白对照组; II: 模型组; III: 阳性对照组; IV: QBCS低剂量组; V: QBCS中剂量组; VI: QBCS高剂量组; a: 与空白对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

图2 各组大鼠血清炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.3 QBCS对AV大鼠耳组织病理形态学的影响

空白对照组大鼠耳组织无明显异常。模型组大鼠耳组织呈现典型的炎症性病理改变,包括表皮显著增厚、皮脂腺增生与导管扩张、真皮层结构紊乱、大量炎症细胞浸润及毛细血管扩张充血。阳性对照组和QBCS高剂量组大鼠耳组织结构的恢复最为显著,其表皮厚度接近正常水平,真-表皮边界清晰,炎症细胞浸润得以大幅缓解。QBCS中剂量组大鼠耳组织表皮厚度适度变薄,且炎症细胞浸润程度减轻。QBCS低剂量组大鼠耳组织表皮厚度略有变薄,组织层次稍趋清晰,但仍可见明显的炎症细胞浸润。结果见图3。

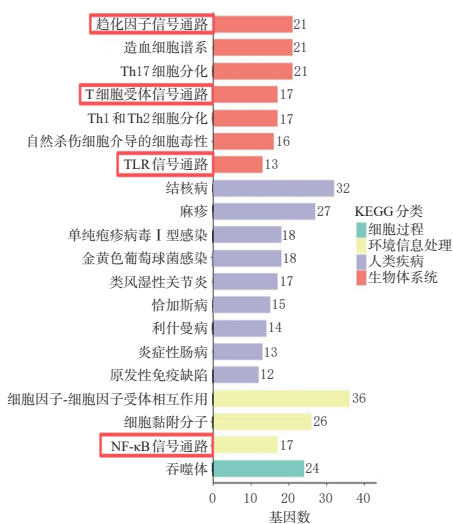


黄色箭头:耳组织表皮增厚;绿色箭头:炎症细胞浸润。
图3 各组大鼠耳组织病理学改变的显微图(HE染色)

3.4 QBCS对AV大鼠改善作用的潜在机制

3.4.1 转录组学研究结果

DEGs分析结果(限于篇幅,DEGs分析相关结果可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图1)显示,与空白对照组比较,模型组中429个基因表达上调、161个基因表达下调($P<0.05$);与模型组比较,QBCS中剂量组中345个基因表达上调、251个基因表达下调($P<0.05$)。KEGG通路富集分析结果(图4)进一步揭示,空白对照组与模型组的DEGs主要富集于趋化因子信号通路、T细胞受体信号通路、TLR信号通路、NF- κ B信号通路等。基于上述结果和现有研究证据^[5-7],本研究选择与AV密切相关的TLR/MyD88/NF- κ B信号通路进行后续的机制验证。



Th细胞:辅助性T细胞。

图4 DEGs的KEGG通路富集分析结果(空白对照组vs.模型组)

3.4.2 机制验证实验结果

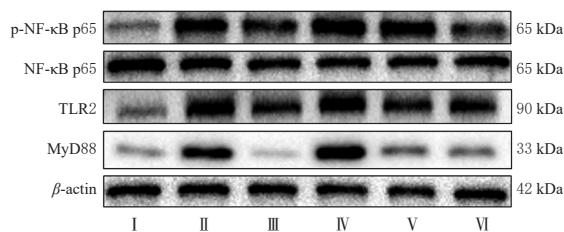
实时荧光定量PCR实验结果(表2)显示,与空白对照组比较,模型组大鼠耳组织中TNF- α 、TLR2、IFN- γ 、CXCL8 mRNA的表达均显著上调,TP53、PPARG mRNA的表达均显著下调($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠耳组织中TNF- α 、TLR2(QBCS低剂量组除外)、IFN- γ (QBCS低剂量组除外)、CXCL8(QBCS低剂量组除外)mRNA的表达均显著下调,TP53(QBCS低剂量组除外)、PPARG(QBCS低剂量组除外)mRNA的表达均显著上调($P<0.05$)。

表2 各组大鼠耳组织中通路相关因子mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TNF- α	TLR2	IFN- γ	CXCL8	TP53	PPARG
空白对照组	1.003 ± 0.052	1.013 ± 0.127	1.016 ± 0.140	1.004 ± 0.138	1.003 ± 0.152	1.002 ± 0.256
模型组	8.494 ± 1.045 ^a	2.699 ± 0.438 ^a	5.325 ± 1.194 ^a	3.551 ± 0.141 ^a	0.371 ± 0.020 ^b	0.608 ± 0.114 ^b
阳性对照组	3.885 ± 0.994 ^a	1.624 ± 0.293 ^b	2.850 ± 0.570 ^b	1.711 ± 0.133 ^b	0.516 ± 0.047 ^b	1.775 ± 0.353 ^b
QBCS低剂量组	4.871 ± 0.855 ^a	2.844 ± 0.248	4.876 ± 0.697	3.152 ± 0.353	0.408 ± 0.054	0.977 ± 0.391
QBCS中剂量组	2.503 ± 0.498 ^b	2.146 ± 0.201 ^b	3.314 ± 0.649 ^b	2.231 ± 0.085 ^b	0.587 ± 0.033 ^b	1.499 ± 0.268 ^b
QBCS高剂量组	2.055 ± 0.707 ^b	1.322 ± 0.101 ^b	1.554 ± 0.427 ^b	1.057 ± 0.081 ^b	0.664 ± 0.048 ^b	1.569 ± 0.360 ^b

a:与空白对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

Western blot实验结果(图5、表3)显示,与空白对照组比较,模型组大鼠耳组织中NF- κ B p65的磷酸化水平及TLR2、MyD88的表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠耳组织中NF- κ B p65的磷酸化水平(QBCS低、中剂量组除外)及TLR2、MyD88的表达水平均显著降低($P<0.05$)。



I:空白对照组;II:模型组;III:阳性对照组;IV:QBCS低剂量组;V:QBCS中剂量组;VI:QBCS高剂量组;NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、TLR2、MyD88、 β -actin的稀释比例分别为1:3 000、1:2 000、1:1 000、1:1 000、1:5 000。

图5 各组大鼠耳组织中通路相关蛋白表达的电泳图
表3 各组大鼠耳组织中通路相关蛋白磷酸化水平及表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	p-NF- κ B p65/NF- κ B p65	TLR2/ β -actin	MyD88/ β -actin
空白对照组	0.874 ± 0.047	1.006 ± 0.046	0.981 ± 0.247
模型组	2.227 ± 0.272 ^a	3.173 ± 0.314 ^a	3.121 ± 0.414 ^a
阳性对照组	1.401 ± 0.123 ^b	1.393 ± 0.166 ^b	1.523 ± 0.301 ^b
QBCS低剂量组	2.294 ± 0.226	2.115 ± 0.239 ^a	2.056 ± 0.402 ^a
QBCS中剂量组	1.854 ± 0.228	2.113 ± 0.282 ^a	1.791 ± 0.454 ^a
QBCS高剂量组	1.252 ± 0.137 ^b	1.223 ± 0.109 ^b	1.059 ± 0.215 ^b

a:与空白对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

AV本质是一种由多种炎症因子介导的慢性炎症性皮肤病,其发生发展与促炎/抗炎细胞因子失衡密切相关^[10]。TNF- α 作为关键的始动炎症介质,不仅广泛参与免疫调控,而且可加剧炎症级联反应^[11];IL-6、IL-1 β 等IL类炎症因子可直接诱导痤疮特征性皮损(如丘疹、结节、脓疱)的形成,并促进毛囊皮脂腺导管的过度角化^[12]。上述炎症因子通过协同作用,促使角质形成细胞异常增殖并诱导中性粒细胞浸润,同时激活自然杀伤细胞,最终在毛囊微环境中形成“炎症风暴”。痤疮丙酸杆菌作为毛囊皮脂腺单位的主要定植菌,在痤疮发病环节具有核心作用:该菌不仅可通过分泌游离脂肪酸、基质金属蛋白酶等直接破坏毛囊皮脂腺结构,导致代谢产物积聚及导管异常角化;而且能激活局部免疫应答,诱导初始Th细胞向Th1亚型分化,从而引发红肿、化脓、结节等典型痤疮损害^[13]。本研究采用耳内侧涂抹油酸联合耳廓皮下注射痤疮丙酸杆菌菌悬液的方法构建AV大鼠模型,结果显示,模型组大鼠可见明显的耳廓组织硬化、皮肤及表皮增厚、皮脂腺增生、炎症细胞浸润等病理改变,且血清中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均较空白对照组显著升高,提示AV模型构建成功。经QBCS干预后,大鼠耳部炎症症状得到明显缓解,过度角化、炎症细胞浸润等病理改变明显减轻,血清中TNF- α (QBCS低剂量组除外)、

IL-6(QBCS低剂量组除外)、IL-1 β 水平均较模型组显著降低,提示QBCS可改善AV模型大鼠的耳组织炎症。

进一步的转录组学研究及KEGG通路富集分析结果显示,趋化因子、T细胞受体、TLR、NF- κ B信号通路与AV的发生发展密切相关。研究指出,在AV毛囊微环境“炎症风暴”的形成过程中,趋化因子家族成员CXCL8作为中性粒细胞的强效趋化剂,可介导该细胞从血管定向迁移至毛囊皮脂腺单位;被招募的中性粒细胞在吞噬清除病原体的同时,会释放大量的水解酶及活性氧,从而破坏毛囊壁结构完整性,进一步加剧组织损伤及相关症状^[14]。此外,在痤疮丙酸杆菌诱导局部免疫应答激活的过程中,活化的Th1细胞可进一步大量释放IFN- γ 。IFN- γ 作为关键调节因子,一方面可通过正反馈机制促进Th1细胞分化,另一方面可激活周边角质形成细胞、皮脂腺细胞及巨噬细胞,放大炎症反应^[15]。与之相反,PPARG和TP53则发挥着重要的负向调控作用。研究表明,PPARG被其特异性配体激活后,可诱导NF- κ B发生泛素化降解,从而直接抑制由NF- κ B p65亚基主导的促炎反应;此外,PPARG还可参与促进皮肤伤口修复、维持表皮稳态、抑制角质形成细胞过度增殖以及调节皮脂分泌等多个生理过程^[16]。抑癌因子TP53在AV的发生发展过程中扮演着多效性调节角色:其一方面能够通过下调雄激素受体表达来改善皮脂腺功能异常,另一方面可诱导维A酸信号通路相关因子的产生,从而精确调控皮脂腺细胞的凋亡进程^[17]。研究指出,TLR2作为识别病原体相关分子模式的关键受体,可被痤疮丙酸杆菌的细胞壁成分特异性激活,该活化信号经MyD88向下游转导,导致NF- κ B p65亚基的核转位,进而启动TNF- α 、IL-1 β 等核心炎症因子的转录及表达^[18]。本研究进一步的验证实验结果显示,与空白对照组比较,模型组大鼠耳组织中TNF- α 、TLR2、IFN- γ 、CXCL8 mRNA、NF- κ B p65的磷酸化水平和TLR2、MyD88的表达水平均显著升高或上调,而PPARG、TP53 mRNA的表达均显著下调;与模型组比较,QBCS各剂量组上述定量指标均有不同程度回调,提示该方减轻AV大鼠耳部皮损的作用可能与其抑制TLR/MyD88/NF- κ B信号通路有关。

综上所述,QBCS可缓解AV大鼠的耳部炎症及皮损;该作用可能与抑制TLR/MyD88/NF- κ B信号通路,进而抑制TNF- α 等下游相关炎症因子的表达有关。但AV发病机制复杂,且QBCS在动物体内的作用通路可能具有多效性,其具体作用机制仍需进一步探索。

参考文献

[1] 赵颖,石红乔,邹悦,等. 中医中药治疗痤疮的研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析,2024,24(8):1020-1024.
[2] 孙欣荣,刘志宏,黄爱文,等. 痤疮发病机制及其药物治疗的研究进展[J]. 中国药房,2017,28(20):2868-2871.
[3] 鞠强. 中国痤疮治疗指南:2019修订版[J]. 临床皮肤科杂志,2019,48(9):583-588.

[4] 管咏梅,王舒慧,赵氏淳,等. 中药对皮肤微生态调节作用的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2023,41(2):9-15,后插1.
[5] DENG Q Q, WANG N, DONG Z Y, et al. Extraction and purification, synthesis, structure-activity relationships, pharmacological effects, and mechanisms of phillyrin: a review[J]. Chem Biodivers,2025,22(6):e202402898.
[6] LI T H, YANG X Y, WANG X L, et al. Berberine inhibits acne-related lipid secretion and inflammation by regulating the hsa-miR-3150a-3p/TP53 pathway[J]. J Inflamm Res,2025,18:11451-11461.
[7] ZHU Z M, ZENG Q F, WANG Z X, et al. Skin microbiome reconstruction and lipid metabolism profile alteration reveal the treatment mechanism of cryptotanshinone in the acne rat[J]. Phytomedicine,2022,101:154101.
[8] 中华中医药学会中药实验药理专业委员会. 痤疮动物模型制备规范:草案[J]. 中华中医药杂志,2018,33(1):197-200.
[9] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-Seq data with DESeq2[J]. Genome Biol,2014,15(12):550.
[10] HUANG L, YANG S Y, YU X Q, et al. Association of different cell types and inflammation in early acne vulgaris[J]. Front Immunol,2024,15:1275269.
[11] 王旭昀,孙占学,张益生,等. 托里消痤汤对聚合型痤疮患者TLR2、IL-4、IL-8及TNF- α 的影响[J]. 中国皮肤性病学杂志,2019,33(3):337-340.
[12] CHEN X, MIN S H, CHEN C, et al. Influence of RETN IL-1, and IL-6 gene polymorphisms on the risk of acne vulgaris in the Chinese population[J]. J Cosmet Dermatol,2022,21(10):4965-4973.
[13] 马英,项蕾红. 痤疮发病机制及治疗目标的新认识[J]. 临床皮肤科杂志,2015,44(1):66-69.
[14] LIU Q, LI A P, TIAN Y J, et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer[J]. Cytokine Growth Factor Rev,2016,31:61-71.
[15] 荣光辉,李冬妹,徐侠,等. 自拟痤疮饮联合红蓝光和火针治疗面部中重度痤疮及对外周血炎症因子IL-17、IL-18、IFN- γ 的影响[J]. 中国美容医学,2024,33(9):78-82.
[16] GUO W, MU K, GENG J C, et al. ATF1 and miR-27b-3p drive intervertebral disc degeneration through the PPARG/NF- κ B signaling axis[J]. Commun Biol,2025,8(1):751.
[17] AGAMIA N F, EL MULLA K F, ALSAYED N M, et al. Isotretinoin treatment upregulates the expression of p53 in the skin and sebaceous glands of patients with acne vulgaris[J]. Arch Dermatol Res,2023,315(5):1355-1365.
[18] LI G, TANG X L, ZHANG S P, et al. Aging-conferred SIRT7 decline inhibits rosacea-like skin inflammation by modulating toll-like receptor-2-NF- κ B signaling[J]. J Invest Dermatol,2022,142(10):2580-2590.e6.

(收稿日期:2025-09-26 修回日期:2025-12-15)

(编辑:张元媛)