

黄芪颗粒对脂溢性脱发小鼠毛发生长的影响及机制[△]

彭艳^{1*}, 邹爱玲^{2#}(1.武汉市第五医院皮肤科, 武汉 430050; 2.黄石市中心医院皮肤科, 湖北黄石 435000)

中图分类号 R285;R758.71 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)10-1277-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.10.07



摘要 **目的** 基于Toll样受体4(TLR4)/髓系分化初级反应蛋白88(MyD88)信号通路,探讨黄芪颗粒对脂溢性脱发小鼠毛发生长的影响及潜在机制。**方法** 将雄性小鼠随机分为对照组、模型组、抑制剂组(0.3 mg/kg的TLR4抑制剂TAK-242)、黄芪颗粒组(1.0 g/kg)、黄芪颗粒+激活剂组(1.0 g/kg黄芪颗粒+2.5 mg/kg的TLR4激活剂脂多糖),每组12只。除对照组外,其余各组小鼠均采用背部涂抹松香-石蜡混合物及皮下注射丙酸睾酮的方式构建脂溢性脱发小鼠模型。造模后,各组小鼠灌胃并腹腔注射相应药液或(和)生理盐水,每天1次,持续20 d。比较各组小鼠的皮肤颜色转变时间、毛发长出时间;末次给药后,检测各组小鼠的新生毛发长度、血清中免疫因子[γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素4(IL-4)]和性激素[睾酮(T)、双氢睾酮(DHT)]水平以及背部皮肤组织中毛发生长因子[胰岛素样生长因子1(IGF-1)、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)]水平,观察其毛囊组织病理改变及细胞凋亡情况,检测其背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白的表达情况。**结果** 与对照组比较,模型组小鼠毛囊细胞大小不一、排列紊乱,黑色素明显减少;其皮肤颜色转变时间,毛发长出时间,IFN- γ 、T、DHT、TGF- β_1 水平,毛囊细胞凋亡率和TLR4、MyD88蛋白的表达均显著延长/升高/上调,新生毛发长度、毛囊数和IL-4、IGF-1、VEGF水平均显著缩短/减少/降低($P<0.05$)。与模型组比较,黄芪颗粒组和抑制剂组小鼠毛囊组织形态明显恢复,上述定量指标均显著改善($P<0.05$),且两者作用相当($P>0.05$)。TLR4激活剂可显著逆转黄芪颗粒对脂溢性脱发小鼠上述指标的改善作用($P<0.05$)。**结论** 黄芪颗粒可调节脂溢性脱发小鼠的免疫功能,减少毛囊细胞凋亡,促进毛发生长;上述作用可能与抑制TLR4/MyD88信号通路激活有关。

关键词 黄芪颗粒;脂溢性脱发;毛发生长;TLR4/MyD88信号通路

Effects and mechanisms of Huangqi granules on hair growth in mice with seborrheic alopecia

PENG Yan¹, ZOU Ailing²(1. Dept. of Dermatology, Wuhan Fifth Hospital, Wuhan 430050, China; 2. Dept. of Dermatology, Huangshi Central Hospital, Hubei Huangshi 435000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects and underlying mechanism of Huangqi granules on hair growth in mice with seborrheic alopecia based on Toll-like receptor 4 (TLR4)/myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88) signaling pathway. **METHODS** Male mice were randomly divided into control group, model group, inhibitor group (treated with 0.3 mg/kg TLR4 inhibitor TAK-242), Huangqi granules group (treated with 1.0 g/kg Huangqi granules) and Huangqi granules+activator group (treated with 1.0 g/kg Huangqi granules combined with 2.5 mg/kg TLR4 activator lipopolysaccharide), with 12 mice in each group. Except for the control group, the seborrheic alopecia model of mice in other groups was induced by applying rosin-paraffin mixture on the back and injecting testosterone propionate subcutaneously. After modeling, mice in each group were given intragastric administration and intraperitoneal injection of corresponding drugs or (and) normal saline once a day for 20 consecutive days. The time of skin color transition and hair emergence time were compared among those groups. After the last medication, the length of newly-grown hair, serum levels of immune factors [interferon- γ (IFN- γ), interleukin-4 (IL-4)] and sex hormones [testosterone (T), dihydrotestosterone (DHT)], as well as the levels of hair growth factors [insulin-like growth factor 1 (IGF-1), vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1)] in the dorsal skin tissue were measured in each group. Pathological changes and cell apoptosis of hair follicle tissue were observed, and the protein expressions of TLR4 and MyD88 in the dorsal skin tissue were detected. **RESULTS** Compared with the control group, hair follicle cells in the model group were irregular in size, disordered in arrangement, and showed a significant reduction in melanin content. The time of skin color transition, hair emergence time, the levels of IFN- γ , T, DHT and TGF- β_1 , the apoptosis rate of hair follicle cells, as well as the protein expressions of TLR4 and MyD88 in the model group were significantly prolonged/increased/up-regulated, while the length of newly-grown hair, the number of hair follicles, and the levels of IL-4, IGF-1 and VEGF were significantly shortened/reduced/decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the morphological structure of hair follicle tissue in the Huangqi granules

group and inhibitor group was significantly restored, and the above quantitative indicators were significantly improved ($P<0.05$). Moreover, the effects of the two groups were comparable ($P>0.05$). The TLR4 activator could significantly reverse the improvement effect of Huangqi granules on the

[△]基金项目 湖北省自然科学基金项目(No.2023AFD021)

*第一作者 副主任医师。研究方向:过敏性疾病及毛发疾病。E-mail:acwek2@163.com

#通信作者 副主任医师,硕士。研究方向:过敏性疾病、特应性皮炎、雄激素性脱发。E-mail:zouailing@hbpu.edu.cn

above indicators in mice with seborrheic alopecia ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** Huangqi granules can regulate immune function, reduce hair follicle cell apoptosis, and promote hair growth in mice with seborrheic alopecia, which may be related to the inhibition of TLR4/MyD88 signaling pathway activation.

KEYWORDS Huangqi granules; seborrheic alopecia; hair growth; TLR4/MyD88 signaling pathway

脂溢性脱发也称雄激素性脱发,是一种较为常见的脱发类型,其发病率可随年龄的增长而增加^[1]。学界普遍认为,脂溢性脱发是由具有遗传易感性的个体雄激素及其受体表达异常所引发的^[2]。最新研究表明,免疫介导的炎症反应和氧化应激可破坏毛囊功能,从而扰乱毛囊周围生态平衡,而头皮生态失衡又会进一步影响头皮局部代谢,这些相互关联的机制共同参与了脂溢性脱发的发生发展^[3]。目前,该病的常见治疗方法包括外用米诺地尔、口服非那雄胺、低能量激光治疗和毛发移植等,这些方法虽有一定效果,但可能引发头皮瘙痒、烧灼、发红等不良反应,并存在复发率高、手术创伤明显等缺点^[4]。由此可见,寻找治疗脂溢性脱发的有效药物并明确药物作用机制至关重要。

Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)是一种跨膜受体,在免疫系统激活中具有关键作用,可通过激活髓系分化初级反应蛋白88(myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88),启动核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)依赖的细胞内级联反应,继而释放炎症细胞因子;过度激活的TLR4/MyD88信号通路可导致毛囊周围炎症微环境失衡,抑制毛囊从休止期向生长期转化,最终加剧毛发脱落^[5-6]。既往研究报道,至墨植萃粉可通过调控TLR4/MyD88信号通路来减轻双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)导致的炎症,从而促进脂溢性脱发模型小鼠的毛发再生^[7],提示该通路可能是改善脂溢性脱发的潜在药物靶点。

中药黄芪Astragali Radix源自豆科,含有多糖类、黄酮类、氨基酸类等多种生物活性物质。现代药理学研究表明,黄芪具有抗肿瘤、调节免疫、抗炎等多种生物活性^[8]。既往研究报道,其核心活性成分黄芪多糖可通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路活化来抑制肺癌小鼠肿瘤的生长,从而提高小鼠的免疫功能^[9]。黄芪颗粒作为以黄芪为原料制成的中成药,其联合复方甘草酸苷对脂溢性脱发具有较好的治疗效果^[10]。然而,黄芪颗粒改善脂溢性脱发的作用能否通过调控TLR4/MyD88信号通路而实现,尚未明确。基于黄芪抗炎、抗氧化等的生物活性以及TLR4/MyD88信号通路的促炎作用,本研究拟探索黄芪颗粒对脂溢性脱发小鼠毛发生长的影响及其潜在机制,以期为该症的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Varioskan LUX型酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),BX43型荧光显微镜(日本Olympus公司),CHT-X6型光学显微镜(上海严质检测设备有限公司),KH-BL型包埋机、KH-BL型冷

台(湖北孝感阔海医疗科技有限公司),RM2245型切片机、YAB0200型漂烘片机(德国Leica公司),Tanon 4200SF型凝胶成像分析系统(上海天能科技有限公司),DYCZ-21型多用途电泳仪(北京六一生物科技有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

黄芪颗粒(国药准字Z19993381,批号20210607,每袋装15g)购自四川百利药业有限责任公司;丙酸睾酮(货号T9548-1g,纯度 $\geq 98\%$)购自广州捷倍斯生物科技有限公司;TLR4抑制剂TAK-242(原料药,货号HY-11109,纯度98.92%)、TLR4激活剂脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(原料药,货号HY-D1056,纯度99.36%)均购自美国MCE公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号ZN1970)购自北京百奥莱博科技有限公司;睾酮(testosterone, T)、DHT酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为ml103518、ml037475)均购自上海酶研生物科技有限公司; γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素4(interleukin-4, IL-4)、胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) ELISA试剂盒(批号分别为PMB-P44358、PMB-P43302、PMB-P41490、PMB-P52223、100-21-1000)均购自武汉艾美捷科技有限公司;TUNEL凋亡试剂盒(货号C1089)购自上海碧云天生物技术有限公司;兔抗TLR4、MyD88、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗(H&L)(货号分别为ab218987、ab133739、ab181602、ab6721)均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

SPF级雄性C57BL/6J小鼠(体重18~20g)购自湖北贝恩特生物科技有限公司,动物生产许可证号为SCXK(鄂)2021-0027。所有小鼠均饲养于湖北贝恩特生物科技有限公司动物实验室(温度为21~25℃,相对湿度为50%~60%,每12h明暗交替),自由摄食、饮水。本研究方案经该公司动物伦理委员会审核批准,编号为BNT-2024-563。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

将小鼠随机分为对照组、模型组、抑制剂组、黄芪颗粒组、黄芪颗粒+激活剂组,每组12只。取除对照组(仅脱毛)外的其余各组小鼠,以松香-石蜡混合物(按质量比1:1混合、加热)涂抹背部(涂抹范围2cm \times 3cm),待混合物冷却、变硬后对涂抹区域进行脱毛处理(背部皮

肤呈粉红色且无破损,此时小鼠毛囊处于休止期),并在每天上午于其脱毛区皮下注射 5 mg/mL 的丙酸睾酮溶液 2 mL(每天 1 次,持续 4 周)^[11]。若 4 周后小鼠背部毛发生长稀疏且颜色暗淡、背部皮肤皮脂溢出,经组织病理学检测可见毛囊数量减少、微型化,毛干色素变浅、直径变小,则视为脂溢性脱发模型构建成功^[11]。

造模完成后,黄芪颗粒组小鼠于每天下午灌胃 1.0 g/kg 的黄芪颗粒药液(根据人与小鼠等效剂量换算,以生理盐水为溶剂)并腹腔注射等体积生理盐水^[8];抑制剂组小鼠于每天下午腹腔注射 0.3 mg/kg 的 TAK-242 药液(以生理盐水为溶剂)并灌胃等体积生理盐水^[12];黄芪颗粒+激活剂组小鼠于每天下午灌胃 1.0 g/kg 的黄芪颗粒药液并腹腔注射 2.5 mg/kg 的 LPS 药液(以生理盐水为溶剂)^[12];对照组和模型组小鼠于每天下午灌胃并腹腔注射等体积生理盐水。上述处理每天 1 次,持续 20 d。

2.2 毛发生长情况

实验期间,每天观察各组小鼠的毛发生长情况,结合毛囊皮肤颜色变化(粉红色变成黑色)时间判断其毛发生长周期,记录皮肤颜色转变时间和毛发长出时间。末次给药后,随机拔下各组小鼠新生毛发 5 根,测量其长度,取平均值。

2.3 血清免疫因子、性激素水平测定

采用 ELISA 法检测。拔下毛发后,将各组小鼠麻醉,并经腹主动脉采血,血样经离心后收集上层血清,使用酶标仪检测血清中免疫因子(IFN- γ 、IL-4)和性激素(T、DHT)水平(严格按照相应试剂盒说明书操作)。

2.4 背部皮肤组织中毛发生长因子水平测定

采用 ELISA 法检测。采血后,随机选取各组 6 只小鼠,处死,分离其背部脱毛区皮肤组织(对照组选择相同区域,后同),取部分组织,于 -80 °C 保存,备用;取剩余部分组织适量,经匀浆、离心后收集上清液,使用酶标仪检测背部皮肤组织中毛发生长因子(IGF-1、VEGF、TGF- β_1)水平(严格按照相应试剂盒说明书操作)。

2.5 毛囊组织形态学观察

取各组剩余 6 只小鼠,处死,剪取其背部脱毛区皮肤组织(1 cm \times 1 cm),以 4% 多聚甲醛溶液固定后,行常规石蜡包埋、切片(厚度 5 μ m);取切片适量,行脱蜡、脱水后,进行 HE 染色;封片后,使用光学显微镜观察其毛囊组织形态,并记录毛囊数(每个样本随机选择 10 个视野进行观察,结果以单位视野内的平均毛囊数表示)。

2.6 毛囊组织细胞凋亡情况测定

取“2.5”项下各组小鼠的背部皮肤组织切片适量,脱蜡后,加入 TUNEL 试剂 50 μ L,避光孵育 60 min;清洗后,加入 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染液复染;封片后,使用荧光显微镜观察其细胞凋亡情况(凋亡细胞呈红色),并使用 Image-Pro Plus 软件分析,计算细胞凋亡率(即红色荧光细胞占细胞总数的比例)。

2.7 背部皮肤组织中 TLR4/MyD88 通路相关蛋白表达

(1)免疫组化实验:取“2.5”项下各组小鼠的背部皮肤组织切片适量,脱蜡后,进行抗原修复;随后,加入过氧化氢,于室温下孵育 15 min;洗片后,加入 TLR4、MyD88 一抗(稀释比例均为 1:500),孵育过夜;洗片后,加入相应二抗(稀释比例为 1:1 000),孵育 30 min;洗片后,加入二氨基联苯胺显色并使用光学显微镜观察,使用 Image-Pro Plus 软件分析,计算棕黄色染色区域(阳性区域)的平均光密度值,用以反映 TLR4、MyD88 蛋白的表达情况。

(2)Western blot 实验:取“2.4”项下各组小鼠冻存的背部皮肤组织,加入 RIPA 裂解液以提取蛋白,经 BCA 法测定蛋白浓度后进行变性处理。取变性蛋白适量,经电泳分离、转膜后封闭;洗膜后,加入 TLR4、MyD88、GAPDH 一抗(稀释比例均为 1:1 000),孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例为 1:2 000),孵育 1 h;以 ECL 试剂显影、成像。使用 Image J 软件分析各蛋白的条带灰度值,以 GAPDH 为内参计算各目的蛋白的相对表达量。

2.8 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 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 SNK- q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 黄芪颗粒对小鼠毛发生长的影响

与对照组比较,模型组小鼠的皮肤颜色转变时间、毛发长出时间均显著延长,新生毛发长度显著缩短($P<0.05$)。与模型组比较,抑制剂组和黄芪颗粒组小鼠的皮肤颜色转变时间、毛发长出时间均显著缩短,新生毛发长度均显著增长($P<0.05$);且两组上述指标水平相当($P>0.05$)。与黄芪颗粒组比较,黄芪颗粒+激活剂组小鼠的皮肤颜色转变时间、毛发长出时间均显著延长,新生毛发长度显著缩短($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 各组小鼠毛发生长情况比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	皮肤颜色转变时间/d	毛发长出时间/d	新生毛发长度/mm
对照组	6.04 \pm 0.58	9.11 \pm 0.76	4.31 \pm 0.28
模型组	9.15 \pm 1.12 ^a	12.96 \pm 1.05 ^a	2.17 \pm 0.24 ^a
抑制剂组	6.52 \pm 0.74 ^a	9.74 \pm 0.98 ^b	4.06 \pm 0.29 ^b
黄芪颗粒组	6.89 \pm 0.78 ^a	10.05 \pm 1.09 ^b	3.88 \pm 0.25 ^b
黄芪颗粒+激活剂组	8.91 \pm 1.03 ^c	12.63 \pm 1.14 ^c	2.42 \pm 0.21 ^c

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与黄芪颗粒组比较, $P<0.05$ 。

3.2 黄芪颗粒对小鼠血清免疫因子、性激素水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清 IFN- γ 、T、DHT 水平均显著升高,IL-4 水平显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,抑制剂组和黄芪颗粒组小鼠血清 IFN- γ 、T、DHT 水平均显著降低,IL-4 水平均显著升高($P<0.05$);且两

组上述指标水平相当($P>0.05$)。与黄芪颗粒组比较,黄芪颗粒+激活剂组小鼠血清IFN- γ 、T、DHT水平均显著升高,IL-4水平显著降低($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组小鼠血清免疫因子、性激素水平比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	IFN- γ /(pg/mL)	IL-4/(pg/mL)	T/(ng/mL)	DHT/(pg/mL)
对照组	22.74 \pm 2.41	16.81 \pm 1.72	1.22 \pm 0.14	198.30 \pm 21.39
模型组	78.25 \pm 8.26 ^a	3.62 \pm 0.38 ^a	3.04 \pm 0.36 ^a	354.82 \pm 33.08 ^a
抑制剂组	30.16 \pm 3.34 ^b	13.84 \pm 1.50 ^b	1.68 \pm 0.18 ^b	231.09 \pm 24.73 ^b
黄芪颗粒组	32.69 \pm 3.52 ^b	12.53 \pm 1.31 ^b	1.75 \pm 0.19 ^b	238.78 \pm 25.26 ^b
黄芪颗粒+激活剂组	66.83 \pm 6.92 ^c	6.17 \pm 0.64 ^c	2.81 \pm 0.30 ^c	316.62 \pm 32.17 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与黄芪颗粒组比较, $P<0.05$ 。

3.3 黄芪颗粒对小鼠背部皮肤组织中毛发生长因子水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠背部皮肤组织中IGF-1、VEGF水平均显著降低,TGF- β_1 水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,抑制剂组和黄芪颗粒组小鼠背部皮肤组织中IGF-1、VEGF水平均显著升高,TGF- β_1 水平均显著降低($P<0.05$)；且两组上述指标水平相当($P>0.05$)。与黄芪颗粒组比较,黄芪颗粒+激活剂组小鼠IGF-1、VEGF水平均显著降低,TGF- β_1 水平显著升高($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组小鼠背部皮肤组织中IGF-1、VEGF、TGF- β_1 水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	IGF-1/(μ g/L)	VEGF/(μ g/L)	TGF- β_1 /(ng/L)
对照组	20.14 \pm 0.21	143.81 \pm 15.74	105.46 \pm 14.02
模型组	9.48 \pm 1.02 ^a	46.33 \pm 5.16 ^a	168.93 \pm 18.67 ^a
抑制剂组	18.61 \pm 0.20 ^b	120.72 \pm 13.04 ^b	118.34 \pm 12.52 ^b
黄芪颗粒组	18.12 \pm 0.19 ^b	116.50 \pm 12.83 ^b	122.85 \pm 13.68 ^b
黄芪颗粒+激活剂组	11.37 \pm 0.12 ^c	60.21 \pm 6.67 ^c	161.07 \pm 17.45 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与黄芪颗粒组比较, $P<0.05$ 。

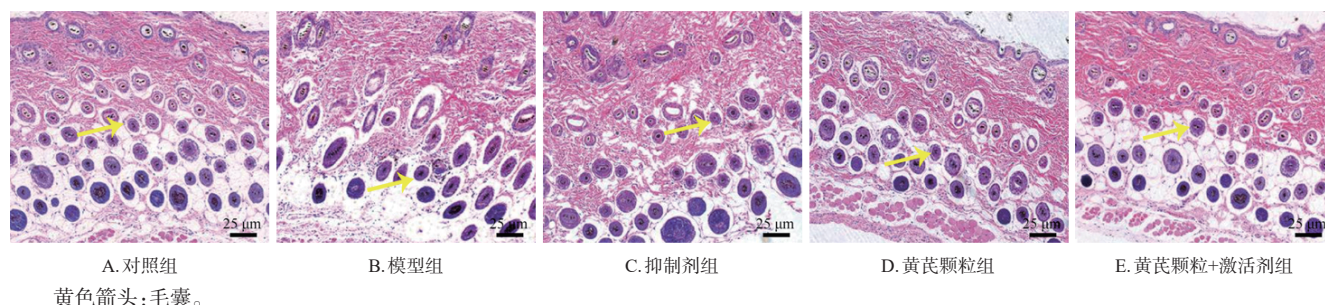


图1 各组小鼠背部皮肤毛囊组织形态观察的显微图(HE染色)

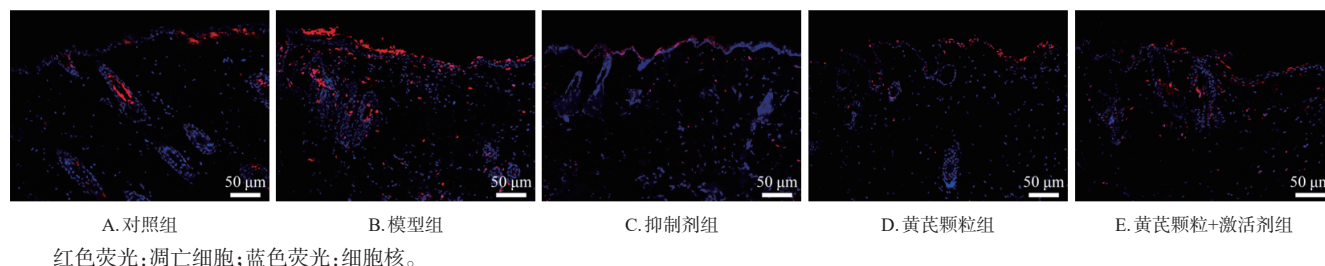


图2 各组小鼠毛囊组织细胞凋亡观察的显微图(TUNEL染色)

3.4 黄芪颗粒对小鼠毛囊形态的影响

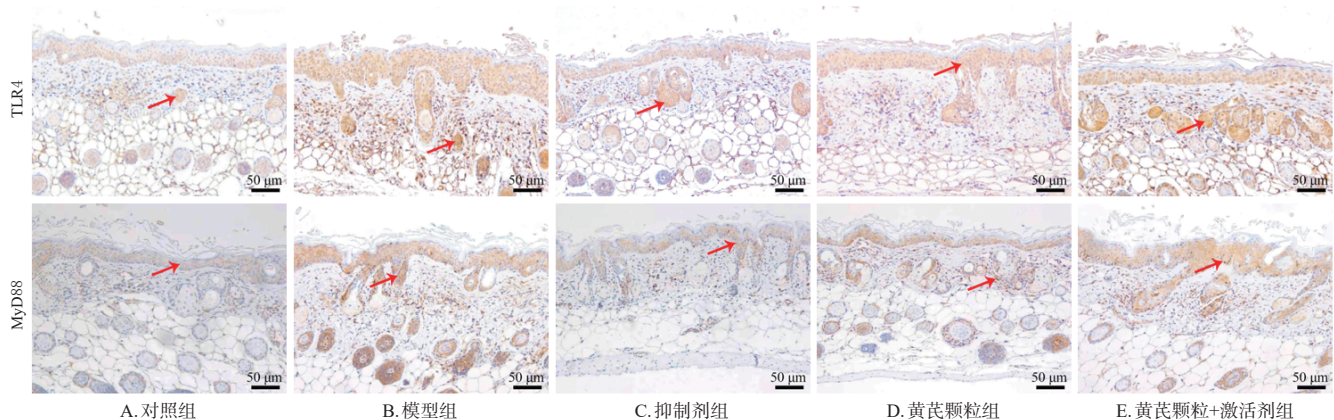
对照组小鼠毛囊为深紫色,且大小均匀、分布密集,黑色素明显,毛囊数为(71.26 \pm 6.49)个;模型组小鼠毛囊细胞排列紊乱,且大小不一,整体体积变小,黑色素较少,毛囊数[(25.10 \pm 2.97)个]较对照组显著减少($P<0.05$);抑制剂组和黄芪颗粒组小鼠毛囊形态改善明显,毛囊数[(64.83 \pm 6.71)、(61.05 \pm 6.64)个]均较模型组显著增加($P<0.05$),且两组毛囊数相当($P>0.05$);黄芪颗粒+激活剂组小鼠毛囊组织病理损伤有所加重且接近于模型组,毛囊数[(32.36 \pm 3.85)个]较黄芪颗粒组显著减少($P<0.05$)。结果见图1。

3.5 黄芪颗粒对小鼠毛囊组织细胞凋亡的影响

与对照组[(25.18 \pm 2.74)%]比较,模型组小鼠毛囊细胞凋亡增多,凋亡率[(46.93 \pm 4.46)%]显著升高($P<0.05$);与模型组比较,抑制剂组和黄芪颗粒组小鼠毛囊细胞凋亡明显减少,凋亡率[(28.34 \pm 3.02)%、(30.05 \pm 3.10)%]均显著降低($P<0.05$),且两组凋亡率相当($P>0.05$);与黄芪颗粒组比较,黄芪颗粒+激活剂组小鼠毛囊细胞凋亡增多,凋亡率[(41.42 \pm 4.33)%]显著升高($P<0.05$)。结果见图2。

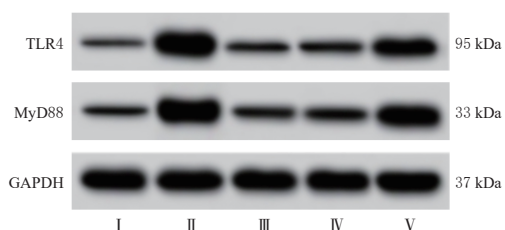
3.6 黄芪颗粒对小鼠背部皮肤组织中TLR4/MyD88信号通路蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白的表达均显著上调($P<0.05$);与模型组比较,抑制剂组和黄芪颗粒组小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白的表达均显著下调($P<0.05$),且两组上述蛋白表达量相当($P>0.05$);与黄芪颗粒组比较,黄芪颗粒+激活剂组小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白的表达均显著上调($P<0.05$)。结果见图3、图4、表4。



红色箭头:蛋白阳性表达。

图3 各组小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白表达的显微图(免疫组化染色)



I:对照组;II:模型组;III:抑制剂组;IV:黄芪颗粒组;V:黄芪颗粒+激活剂组。

图4 各组小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白表达的电泳图

表4 各组小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白表达情况比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TLR4平均光密度值	MyD88平均光密度值	TLR4/GAPDH	MyD88/GAPDH
对照组	0.21±0.03	0.16±0.02	0.37±0.04	0.42±0.05
模型组	0.60±0.07 ^a	0.57±0.06 ^a	1.12±0.12 ^a	1.26±0.13 ^a
抑制剂组	0.28±0.03 ^b	0.24±0.03 ^b	0.45±0.05 ^b	0.54±0.06 ^b
黄芪颗粒组	0.31±0.03 ^b	0.27±0.03 ^b	0.49±0.06 ^b	0.60±0.07 ^b
黄芪颗粒+激活剂组	0.49±0.05 ^c	0.46±0.05 ^c	0.94±0.10 ^c	1.03±0.11 ^c

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与黄芪颗粒组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

脂溢性脱发是一种以毛囊逐渐减少、功能丧失或死亡为特征的非瘢痕性脱发,主要由毛囊对雄激素的过度反应所致^[13]。该症不仅影响个体外观,而且可明显影响患者心理,从而导致其抑郁^[14];加之现有治疗效果有限,故开发新的有效药物并明确其作用机制具有重要的临床意义。

毛发生长周期的转变由各种生长刺激或抑制因素调控:研究指出,毛囊对DHT等雄激素类物质高度敏感,DHT是T的代谢产物,可显著缩短毛囊生长期,促使毛囊逐渐缩小,最终萎缩、退化;此外,TGF- β_1 是一种毛发生长抑制剂,而IGF-1、VEGF则是毛发生长刺激剂,上述因子均参与了脂溢性脱发的发生发展^[15-16]。本研究通过背部涂抹松香-石蜡混合物及皮下注射丙酸睾酮的方式构建脂溢性脱发小鼠模型,结果显示,与对照组比较,模型组小鼠毛囊细胞排列紊乱,黑色素较少,新生毛发

长度和毛囊数均显著缩短或减少,且毛囊细胞凋亡率显著增加,皮肤颜色转变时间和毛发长出时间均显著延长;此外,性激素(T、DHT)水平和TGF- β_1 水平均显著升高,而IGF-1、VEGF水平均显著降低,说明小鼠毛发生长受到明显抑制,脂溢性脱发模型构建成功。

相关文献指出,脱发的免疫反应由Th1细胞因子(IFN- γ 、IL-2等)和Th2细胞因子(IL-4、IL-10等)共同调节,两种细胞因子失调与脱发的发生发展密切相关^[16]。本研究结果显示,与对照组比较,脂溢性脱发小鼠血清IFN- γ 水平显著升高,而IL-4水平显著降低,说明模型小鼠的免疫功能明显减弱。早期研究发现,从黄芪中提取的黄芪苷可促进毛发生长^[17];也有研究指出,黄芪-桂皮复合物对毛囊生长具有促进作用,可用以治疗脱发类疾病(如斑秃、脂溢性脱发和化疗引起的脱发)^[18]。本研究结果显示,以黄芪颗粒干预后,脂溢性脱发小鼠的毛囊组织形态得以明显改善,皮肤颜色转变时间、毛发长出时间、毛囊细胞凋亡率、血清性激素和IFN- γ 水平、背部皮肤组织中TGF- β_1 水平均显著缩短或降低,新生毛发长度、毛囊数、血清IL-4水平和背部皮肤组织中毛发生长促进因子(IGF-1、VEGF)水平均显著增长、增多或升高,提示黄芪颗粒可调节脂溢性脱发小鼠的免疫功能,并促进其毛发生长。

TLR是重要的模式识别受体家族之一,在启动炎症反应和促进适应性免疫反应过程中具有关键作用^[19]。TLR4是TLR家族成员中被学者广泛研究的蛋白之一,其可被LPS(内毒素)激活,并对存在于组织和血液中的LPS作出反应,进而触发炎症^[20]。MyD88是TLR4的下游蛋白,作为中心适配蛋白,其可磷酸化下游蛋白以激活NF- κ B信号通路,导致促炎性细胞因子表达增加,进一步激活TLR4^[21]。研究发现,抑制TLR4/MyD88信号通路可缓解特应性皮炎小鼠的炎症反应,并改善其相关症状^[22]。本研究结果显示,与对照组比较,脂溢性脱发小鼠背部皮肤组织中TLR4、MyD88蛋白的表达均显著上调;经黄芪颗粒干预后,脂溢性脱发小鼠背部皮肤组

织中TLR4、MyD88蛋白的表达均显著下调,且免疫因子、性激素指标水平及组织病理改变均有所回调或改善,提示黄芪颗粒抗脂溢性脱发的作用可能与抑制小鼠体内TLR4/MyD88信号通路有关。为验证上述推测,本研究设置了抑制剂组和黄芪颗粒+激活剂组,结果显示,黄芪颗粒的上述作用与TLR4抑制剂相似,但TLR4激活剂则可逆转黄芪颗粒对各考察指标的改善作用。以上结果说明,黄芪颗粒可通过抑制TLR4/MyD88信号通路来促进脂溢性脱发小鼠的毛发生长。

综上所述,黄芪颗粒可调节脂溢性脱发小鼠的免疫功能,减少毛囊细胞凋亡,促进毛发生长;上述作用可能与抑制TLR4/MyD88信号通路激活有关。但黄芪颗粒的促毛发生长作用是否还涉及其他作用途径仍需后续研究进一步探索。

参考文献

[1] NESTOR M S, ABLON G, GADE A, et al. Treatment options for androgenetic alopecia: efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2021, 20(12): 3759-3781.

[2] OKWUNDU N, OGBONNA C, MCMICHAEL A J. Seborrheic dermatitis as a potential trigger of central centrifugal cicatricial alopecia: a review of literature[J]. *Skin Appendage Disord*, 2023, 9(1): 13-17.

[3] DING Y B, WANG C F, BI L B, et al. Dutasteride for the treatment of androgenetic alopecia: an updated review[J]. *Dermatology*, 2024, 240(5/6): 833-843.

[4] LI X L, ZHANG S S. Progress of clinical research on fractional laser treatment of androgenetic alopecia: a review article[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2024, 23(11): 3456-3465.

[5] YANG X S, WANG Z M, HUANG H, et al. Jianpi yangxue qufeng compound alleviates atopic dermatitis via TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Heliyon*, 2023, 10(1): e23278.

[6] WEI X Y, DING Y M, WANG L C, et al. TLR4-MyD88 signaling is involved in the spinal neurons during the full length of recovery from transection of the motor branch of the femoral nerve in mice[J]. *Neuroreport*, 2023, 34(13): 655-663.

[7] 梁琳洁,傅杭杰,翁志伟,等. 至墨植萃粉缓解炎症改善雄激素性脱发小鼠毛发生长[J]. *中国中西医结合杂志*, 2025, 45(9): 1095-1103.

[8] LI Z Y, QI J F, GUO T K, et al. Research progress of *Astragalus membranaceus* in treating peritoneal metastatic cancer[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 305: 116086.

[9] 刘艳玲,袁娟,郭敏,等. 基于TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路探讨黄芪多糖对肺癌小鼠免疫功能的影响及对Th1/Th2的调节作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(6): 676-682.

[10] 张鹤,赖永平,陈静宇. 黄芪颗粒联合复方甘草酸苷胶囊治疗脂溢性脱发的疗效观察[J]. *实用医院临床杂志*, 2021, 18(5): 198-201.

[11] 闵祥博,李丽娜,余萍,等. 黑枸杞本草醇素缓解小鼠脂溢性脱发作用[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(15): 41-47.

[12] 付永涛,王莉平,郭金明,等. 羟氯喹通过Toll样受体4/核因子- κ B信号通路对系统性红斑狼疮小鼠肺损伤的影响[J]. *陕西医学杂志*, 2023, 52(11): 1483-1488.

[13] OIWOH S O, ENITAN A O, ADEGBOSIN O T, et al. Androgenetic alopecia: a review[J]. *Niger Postgrad Med J*, 2024, 31(2): 85-92.

[14] YAO J, ZHU L, PAN M E, et al. The additive value of platelet-rich plasma to topical minoxidil in the treatment of androgenetic alopecia: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2024, 19(8): e0308986.

[15] NATARELLI N, GAHOONIA N, SIVAMANI R K. Integrative and mechanistic approach to the hair growth cycle and hair loss[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(3): 893.

[16] BIN HWANG S, PARK H J, LEE B H. Hair-growth-promoting effects of the fish collagen peptide in human dermal papilla cells and C57BL/6 mice modulating Wnt/ β -catenin and BMP signaling pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 11904.

[17] WAŚKIEL-BURNAT A, OSIŃSKA M, SALIŃSKA A, et al. The role of serum Th1, Th2, and Th17 cytokines in patients with alopecia areata: clinical implications[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3397.

[18] KIM M H, JIN S C, BAEK H K, et al. *Astragalus membranaceus* and *Cinnamomum cassia* stimulate the hair follicle differentiation-related growth factor by the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(11): 8607-8621.

[19] LIU L, ZHOU L, WANG L L, et al. MUC1 attenuates neutrophilic airway inflammation in asthma by reducing NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis through the inhibition of the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Respir Res*, 2023, 24(1): 255.

[20] CIESIELSKA A, MATYJEK M, KWIATKOWSKA K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(4): 1233-1261.

[21] HAO J F, WANG H, LU X F, et al. TLR4 signalling: the key to controlling EV71 replication and inflammatory response[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14: 1393680.

[22] NIE J, JIANG X Y, WANG G M, et al. Yu-ping-feng-san alleviates inflammation in atopic dermatitis mice by TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 329: 118092.

(收稿日期:2025-08-27 修回日期:2026-01-14)

(编辑:张元媛)