马齿苋乳膏对变应性接触性皮炎小鼠皮肤瘙痒及皮肤屏障功能的影响研究Δ

王小雪[1*]，陈　霞[1]，蒲　翔[1]，樊官伟[2]，孔祥艳[3#]，唐　英[1]，吴娜娜[1]，骆江利[1]（1.贵州中医药大学药学院，贵阳 550025；2.天津中医药大学第一附属医院实验中心，天津　300193；3.贵州中医药大学第一附属医院皮肤科，贵阳　550001）

中图分类号　R965；R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）11-1352-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.11.11

摘　要　目的　研究马齿苋乳膏对变应性接触性皮炎（ACD）小鼠皮肤瘙痒及皮肤屏障功能的影响及机制。**方法**　制备马齿苋提取液[1 g/mL（以生药量计）]含量分别为10%、20%的马齿苋低、高浓度乳膏。将60只BALB/c小鼠随机分为空白组、模型组、糠酸莫米松乳膏组（阳性对照）、空白基质乳膏组、马齿苋低浓度乳膏组、马齿苋高浓度乳膏组。除空白组外，各组小鼠涂抹2，4-二硝基氯苯溶液诱导建立ACD模型；同时空白组及模型组小鼠涂抹生理盐水，其余各组小鼠涂抹相应药物，每天1次，每次约0.5 g，连续14 d。末次给药24 h后，观察小鼠皮肤损伤情况并评分；观察小鼠皮肤组织病理学形态变化；检测小鼠血清中免疫球蛋白E（IgE）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）水平；检测小鼠背根神经节（DRG）中MAS相关G蛋白偶联受体（包括MrgprA3、MrgprC11、MrgprD）mRNA的表达；检测小鼠皮肤组织中皮肤屏障功能相关蛋白Claudin-1、Occludin的表达。**结果**　与空白组比较，模型组小鼠皮肤损伤严重，表皮结构缺失，皮肤组织角化过度，可见大量炎症细胞浸润；皮肤损伤评分，血清中IgE、TNF-α水平，DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠皮肤损伤明显减轻，表皮增厚及真皮层海绵样变性缓解，炎症细胞浸润减轻，上述定量指标大部分显著逆转（$P<0.05$或$P<0.01$）；空白基质乳膏组大鼠上述皮肤损伤、病理学形态以及定量指标无显著差异。**结论**　马齿苋能够改善ACD小鼠皮肤瘙痒，并修复皮肤屏障功能，其作用机制可能与下调小鼠DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA的表达，上调皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达相关。

关键词　马齿苋；乳膏；变应性接触性皮炎；瘙痒；皮肤屏障；炎症

Effects of *Portulaca oleracea* cream on skin pruritus and barrier function in allergic contact dermatitis mice

WANG Xiaoxue[1], CHEN Xia[1], PU Xiang[1], FAN Guanwei[2], KONG Xiangyan[3], TANG Ying[1], WU Nana[1], LUO Jiangli[1]（1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. Experimental Center, the First Affiliated Hospital of Tianjin University of Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 3. Dept. of Dermatology, the First Affiliated Hospital of Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang 550001, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the effects and mechanism of *Portulaca oleracea* cream on skin pruritus and barrier function in allergic contact dermatitis (ACD) mice. **METHODS** Low-concentration and high-concentration *P. oleracea* creams were prepared, with the *P. oleracea* extract solution (1 g/mL, calculated by crude drug) concentrations of 10% and 20%. Sixty BALB/c mice were randomly allocated into blank group, model group, Mometasone furoate cream group (positive control), blank matrix cream group, *P. oleracea* low-concentration and high-concentration cream groups. Except for blank group, ACD model was induced in each group using 2, 4-dinitrochlorobenzene solution. The blank group and model groups received normal saline, while the remaining groups were treated with their respective creams, once a day, at a dose of approximately 0.5 g per application, continuously for 14 days. At 24 h post-final administration, skin lesions of mice were observed and scored; pathological changes of skin tissue were observed; serum levels of immunoglobulin E (IgE) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were quantified. mRNA expression of MAS-related G protein-coupled receptors (including MrgprA3, MrgprC11, and MrgprD) in dorsal root ganglion (DRG) was assessed; while protein expressions of skin barrier function-related proteins Claudin-1 and Occludin in skin tissues were determined. **RESULTS** Compared with blank

Δ **基金项目** 贵州中医药大学国家与省级科技创新人才团队培育项目（No.贵中医TD合字〔2022〕002号）；贾敏全国名老中医药专家传承工作室项目

＊ **第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药药理。E-mail：wxx1232022@163.com

通信作者 主治医师。研究方向：整形美容外科研究。E-mail：840329848@qq.com

group, mice in the model group exhibited severe skin damage, characterized by loss of epidermal architecture, hyperkeratosis of the skin tissue, and the infiltration of a large number of inflammatory cells. The skin injury scores, as well as the serum levels of IgE and TNF-α, and the mRNA expression levels of MrgprA3, MrgprC11, and MrgprD in DRG, were all significantly elevated compared to the blank group ($P<0.05$ or $P<0.01$); in contrast, the protein expression levels of Claudin-1 and Occludin in the skin tissue were markedly reduced ($P<0.05$). Compared with model group, mice in *P. oleracea* low-concentration and high-concentration cream groups demonstrated significant alleviation of skin damage, as evidenced by reduced epidermal hyperplasia, mitigated spongiosis in the dermis, and decreased infiltration of inflammatory cells; these quantitative indicators were almost significantly reversed ($P<0.05$ or $P<0.01$). No significant differences were observed in the aforementioned skin injuries, pathological alterations, or quantitative indicators between the blank matrix cream group and the model group. **CONCLUSIONS** *P. oleracea* may ameliorate skin lesions and restore skin barrier function of ACD mice, the mechanism of which may be associated with downregulating mRNA expressions of MrgprA3, MrgprC11 and MrgprD in DRG, and up-regulating the protein expressions of Claudin-1 and Occludin in skin tissue.

KEYWORDS *Portulaca oleracea*; cream; allergic contact dermatitis; pruritus; skin barrier; inflammation

变应性接触性皮炎（allergic contact dermatitis，ACD）是一种皮肤接触过敏原引发免疫反应所导致的炎症性皮肤病[1]，临床可见皮肤出现红斑、水肿、丘疹以及苔藓样病变，并伴随剧烈的皮肤瘙痒[2]。流行病学显示，ACD的发病率在全球范围内约为15%～20%，且呈逐年上升趋势[3]。ACD的病变部位常暴露于外，加之瘙痒带来的强烈不适，给患者带来极大的身心负担。因此进一步探索ACD的发病机制，寻找有效的防治药物，具有重要的临床意义与社会价值。

目前研究报道，皮肤屏障受损是导致ACD发生、发展的重要因素[4]。皮肤屏障包括物理、化学、生物屏障，物理屏障由角质形成细胞、细胞间脂质和紧密连接（tight junctions，TJs）构成。TJs是相邻细胞间跨膜蛋白所构成的复杂结构，其中，跨膜蛋白主要包括Claudins蛋白和Occludin蛋白；当TJs蛋白表达异常时，细胞连接松散、屏障通透性强，过敏反应易发[5]。皮肤瘙痒是ACD重要的临床表现之一，也是导致患者抓挠、加重ACD炎症反应和破坏皮肤屏障的重要因素[6]。研究表明，ACD中确定的瘙痒传递受体有组胺受体、蛋白酶激活受体、MAS相关G蛋白偶联受体（MAS-related G protein coupled receptors，Mrgprs）等[7]。在瘙痒传递中已被证实起重要作用的Mrgprs有MrgprA、MrgprC、MrgprD等[8]。上述受体通过协同作用促进瘙痒的发生发展。

马齿苋，首载于《蜀本草》，其味酸、性寒，具有清热解毒、祛湿消肿的功效，可消除因湿热毒邪浸淫而引起的瘙痒。由此可知，马齿苋对皮肤瘙痒具有一定改善作用，但其是否对ACD具有改善作用尚不明确。基于此，本研究制备马齿苋乳膏，并通过构建ACD小鼠模型，探讨马齿苋乳膏对ACD小鼠皮肤瘙痒和皮肤屏障功能的影响作用及机制，以期为ACD临床治疗用药开发提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

BA210Digital型数码三目摄像显微镜购自麦克奥迪实业集团有限公司；JXSTPRP-24L型组织研磨机购自上海净信实业发展有限公司；HI-16KR型台式高速冷冻离心机购自湖南可成仪器设备有限公司；DYY-7C型电泳仪、WD-9413B型凝胶成像分析仪购自北京久仪科技股份有限公司；ViiA-7型实时荧光定量聚合酶链式反应（qRT-PCR）仪购自美国ABI公司；Chemi Doc™型免疫蛋白质印迹系统购自成都百乐科技有限公司。

1.2 药物与试剂

马齿苋药材（批号20160125）购自北京本草方源药业科技有限公司，经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定为马齿苋科植物马齿苋*Portulaca oleracea* L.的干燥地上部分。丙酮溶液（批号20100701，纯度＞99.5%）购自重庆川东化工有限公司；2，4-二硝基氯苯（DNCB；纯度99%，批号97-007）购自成都西亚化工股份有限公司；橄榄油（批号RH349091）购自上海易恩化学技术有限公司；糠酸莫米松乳膏（批号H20074090）购自华润三九医药股份有限公司；苏木素染液（批号CR22002071）购自武汉塞维尔生物科技有限公司；伊红染液（批号YE2080）购自合肥博美生物科技有限责任公司；小鼠免疫球蛋白E（immunoglobulin E，IgE）、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为JM-02339M1、JM-02415M1）均购自江苏晶美生物科技有限公司；高保真Ⅱ型Q选择逆转录酶、PCR预混液（批号均为R233）均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；鼠源Occludin、Claudin-1、β-actin单克隆抗体（批号分别为27260-1-AP、27260-1-AP、20536-1-AP）均购自武汉三鹰生物技术有限公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗（批号BS13278）购自南京巴傲得生物科技有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级BALB/c雄性小鼠，共60只，体重约20 g，7周龄，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，动物生产许可证号为SCXK（京）2019-0008。小鼠分笼给予标准饲料适应性室温喂养1周，自由饮水进食。本动物实验方案经过贵州中医药大学动物伦理委员会审批（伦理号为20220121）。

2 方法

2.1 马齿苋乳膏的制备

将马齿苋药材粉碎，加入8倍量纯水，90 ℃提取2 h，过滤，药液用旋转蒸发仪浓缩至1 g/mL（以生药量计），备用。参考文献[9]方法制备马齿苋乳膏，具体原料/用量见表1。具体制备方法：称量油相原料置于95 ℃水浴锅中加热融化，另称量水相原料置于95 ℃水浴锅中加热，然后用玻璃棒边搅拌边将水相加入油相中，并加入促渗剂、防腐剂，即可得到马齿苋提取液含量为10%、20%的乳膏[10]。空白基质乳膏不加入马齿苋提取液，其余同法制作而得。

表1 马齿苋乳膏制备原料和用量表

组成	原料	用量
油相	鲸蜡硬脂醇橄榄油酸酯和山梨坦橄榄油酸酯	7%
	单甘酯	4%
	辛酸/癸酸甘油三酯	4%
	角鲨烷	2%
	聚二甲基硅氧烷	1%
	十八醇	1%
水相	甘油	4%
	汉生胶	0.1%
	4D-透明质酸	0.2%
	水	加至100%
	马齿苋提取液	10%或20%
促渗剂	氮酮	0.8%
	四氢胡椒碱	0.8%
防腐剂	苯氧乙醇	0.6%

2.2 造模、分组与给药

将小鼠随机分成空白组、模型组、糠酸莫米松乳膏组（阳性对照）、空白基质乳膏组和马齿苋低、高浓度乳膏组（马齿苋提取液含量为10%、20%），每组10只。小鼠适应性喂养1周后，于实验前一天用剃毛器剃去颈背部约为2 cm×3 cm的毛发，依据文献[11]方法建立ACD模型：实验开始第1天，除空白组外，其他各组小鼠用25 μL 7% DNCB溶液[以丙酮-橄榄油溶液（4∶1，*V*/*V*）配制]涂抹于小鼠背部剃毛处以致敏，第2天重复同样操作，第5天以同样方法在小鼠背部剃毛处涂抹20 μL 1% DNCB溶液进一步激发，第8、11天重复第5天操作；空白组小鼠同法涂抹等量不含DNCB的丙酮-橄榄油溶液。根据中药外用药理实验技术规范[12]，各给药组及空白基质乳膏组小鼠从实验第1天开始涂抹相应药物或空白基质，模型组和空白组小鼠涂抹等量生理盐水，每天1次，每次约0.5 g，连续14 d。

2.3 小鼠背部皮肤损伤情况观察

末次激发24 h后，肉眼观察各组小鼠背部皮肤损伤情况并拍照记录，然后对皮肤损伤部位进行评分，具体评分标准[13]见表2。

表2 皮肤损伤评分标准

评分/分	红斑	水肿/丘疹	表皮脱落/抓痕
0	无	无	无
1	粉色红斑无痂皮	隐约高出皮面	少许浅表皮脱落
2	粉红色红斑伴轻微痂皮	轻微高出皮面	许多浅表皮或部分深表皮脱落
3	暗红色红斑伴轻微痂皮	较明显高出皮面	大量深表皮脱落
4	暗红色红斑伴重度痂皮	显著高出皮面	大量深层表皮成片状脱落

2.4 样本采集

末次给药2 h后，各组小鼠吸入乙醚气体麻醉，眼球取血后颈椎脱臼处死小鼠。血样静置1 h后，于4 ℃条件下以3 000 r/min离心20 min，取上清液置于−80 ℃冰箱冻存备用。取小鼠背部皮肤，刮去多余脂肪，将皮肤切成0.5 cm^2大小的圆片，置于−80 ℃冰箱冻存备用。取完背部皮肤后，取出小鼠背部皮肤下肌肉软骨中的脊髓，在体式显微镜下，逐个摘取背根神经节（dorsal root ganglia，DRG），置于−80 ℃冰箱冻存备用。

2.5 小鼠皮肤组织病理学变化观察

取“2.4”项下皮肤组织适量，于4%多聚甲醛中固定，经梯度乙醇脱水、石蜡包埋、切片、脱蜡后，进行苏木素-伊红（HE）染色，采用显微镜观察小鼠皮肤组织病理学形态变化。

2.6 小鼠血清中TNF-α、IgE水平检测

取“2.4”项下血清样品（每组随机选择6只小鼠），按照ELISA试剂盒说明书进行检测，采用酶标仪在450 nm波长处检测吸光度，并根据标准曲线计算样品中TNF-α、IgE水平。

2.7 小鼠DRG中MrgprA3、MrgprD、MrgprC11 mRNA表达水平检测

采用qRT-PCR法检测。取“2.4”项下DRG适量（每组随机选择3只小鼠），加入Trizol试剂研磨成浆，提取总RNA，然后将RNA逆转录成cDNA，以cDNA为模板进行PCR。反应条件为：95 ℃预变性；95 ℃变性15 s，60 ℃退火延伸60 s，循环40次。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法，以*β-actin*为内参基因计算目的基因表达水平。各基因引物由武汉华研生物科技有限公司合成，引物序列及扩增产物长度见表3。

2.8 小鼠皮肤组织中Occludin、Claudin-1蛋白表达水平检测

采用Western blot法检测。取“2.4”项下皮肤组织适量（每组随机选择3只小鼠），剪碎，加入RIPA裂解液低温研磨，于4 ℃条件下以12 000 r/min离心15 min，吸取上清液进行蛋白定量。蛋白变性处理后，进行十二烷基

表3　引物序列及扩增产物长度

基因	引物序列(5′→3′)	扩增产物长度/bp
β-actin	正向引物:CACGATGGAGGGGCCGGACTCATC	240
	反向引物:TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT	
MrgprA3	正向引物:GCTGTGCCAACCCCATTATT	154
	反向引物:CACGGCTCTGCTTTGTTTCT	
MrgprC11	正向引物:GCAGGAAAGCCATCTCAGTC	156
	反向引物:TGATTGCTGCATTGCCTAAG	
MrgprD	正向引物:GCAGAGGTCTCCCTTCTGTG	237
	反向引物:TACCAGATGGGGAAAAGCAC	

硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，经转膜处理后，以脱脂奶粉封闭1.5 h；加入Occludin、Claudin-1一抗（稀释度分别为1∶1 000、1∶5 000），4 ℃孵育过夜；以TBST充分洗涤，以辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗（稀释度为1∶1 000）孵育1 h，洗去二抗；滴加ECL发光显影液显色曝光，采用免疫蛋白质印迹系统成像，采用Image J软件分析蛋白条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值，表示目的蛋白的表达水平。

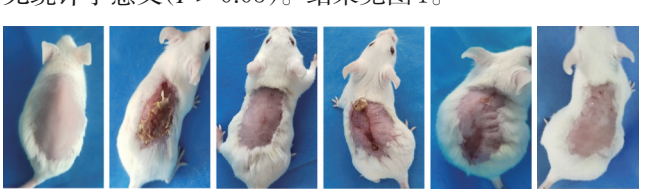
2.9　统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计分析，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（方差齐性时）或Dunnett $T3$检验（方差不齐时）。检验水准$\alpha=0.05$。

3　结果

3.1　马齿苋对ACD小鼠背部皮肤损伤的影响

空白组大鼠无抓挠行为，皮肤无损伤。与空白组[皮肤损伤评分为(0.10±0.32)分]相比，模型组小鼠抓挠行为增多，皮肤出现红斑、肿胀、结痂等情况，组织损伤严重，皮肤损伤评分[(8.40±1.07)分]显著升高（$P<0.01$），提示造模成功。与模型组相比，糠酸莫米松乳膏组和马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠抓挠行为减少，皮肤损伤明显减轻，皮肤损伤评分[分别为(5.40±1.07)、(5.50±1.58)、(4.70±1.42)分]均显著降低（$P<0.01$）；空白基质乳膏组小鼠皮肤仍存在损伤，皮肤损伤评分[(7.60±1.17)分]差异无统计学意义（$P>0.05$）。与空白基质乳膏组相比，马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠皮肤损伤评分均显著降低（$P<0.05$）。与糠酸莫米松乳膏组相比，马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠皮肤损伤评分差异均无统计学意义（$P>0.05$）。结果见图1。

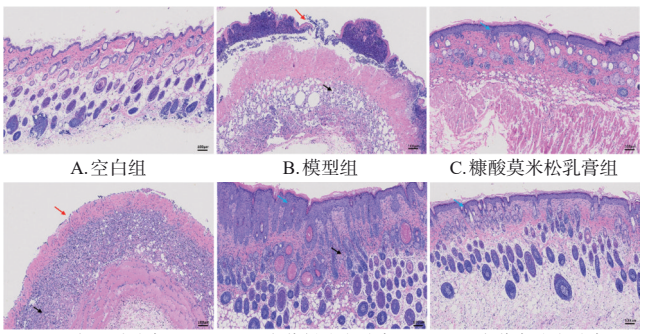


A：空白组；B：模型组；C：糠酸莫米松乳膏组；D：空白基质乳膏组；E：马齿苋低浓度乳膏组；F：马齿苋高浓度乳膏组。

图1　各组小鼠皮肤损伤情况的观察结果

3.2　马齿苋对ACD小鼠皮肤病理学形态的影响

与空白组相比，模型组小鼠表皮结构缺失，皮肤组织角化过度，真皮层出现海绵状变性，皮下脂肪层内可见大量炎症细胞浸润。与模型组相比，糠酸莫米松乳膏组和马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠表皮增厚及真皮层海绵样变性缓解，炎症细胞浸润减轻，且马齿苋高浓度乳膏组效果最佳；空白基质乳膏组小鼠皮肤损伤情况无明显缓解。结果见图2。



红色箭头：皮肤各层结构紊乱、缺失；蓝色箭头：皮肤组织肥厚角化，表皮突向下延伸呈杵状；黑色箭头：炎症细胞浸润。

图2　各组小鼠皮肤病理学形态的观察结果（HE染色）

3.3　马齿苋对ACD小鼠血清中IgE、TNF-α水平的影响

与空白组相比，模型组小鼠血清中IgE、TNF-α水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，糠酸莫米松乳膏组和马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠血清中IgE、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$），空白基质乳膏组小鼠血清中IgE、TNF-α水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。与空白基质乳膏组相比，马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠血清中IgE，马齿苋高浓度乳膏组小鼠血清中TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$）。与糠酸莫米松乳膏组相比，马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠血清中IgE、TNF-α水平差异均无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表4。

表4　各组小鼠血清中IgE、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，pg/mL）

组别	IgE	TNF-α
空白组	6.85±1.35	273.34±85.25
模型组	10.99±0.82[a]	470.11±54.18[a]
糠酸莫米松乳膏组	8.83±0.70[b]	306.94±65.96[b]
空白基质乳膏组	10.90±0.67	434.24±93.38
马齿苋低浓度乳膏组	9.26±0.82[bc]	367.26±73.20[b]
马齿苋高浓度乳膏组	8.55±1.16[bc]	285.13±60.27[bc]

a：与空白组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与空白基质乳膏组相比，$P<0.05$。

3.4　马齿苋对ACD小鼠DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA表达的影响

与空白组相比，模型组小鼠DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，糠酸莫米松乳膏组和马齿苋低、

高浓度乳膏组小鼠DRG中上述指标表达水平均显著降低（$P<0.05$），空白基质乳膏组小鼠上述指标表达水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。与空白基质乳膏组相比，马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠DRG中上述指标表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与糠酸莫米松乳膏组相比，马齿苋低浓度乳膏组小鼠DRG中上述指标表达水平均显著升高（$P<0.05$），马齿苋高浓度乳膏组小鼠DRG中上述指标表达水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表5。

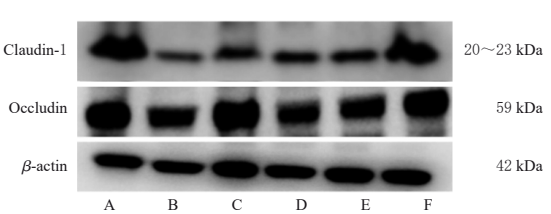
表5　各组小鼠DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	MrgprA3	MrgprC11	MrgprD
空白组	1.01±0.18	1.02±0.18	1.03±0.12
模型组	4.08±0.43[a]	3.16±0.35[a]	3.57±0.36[a]
糠酸莫米松乳膏组	1.71±0.19[b]	1.56±0.16[b]	1.64±0.20[b]
空白基质乳膏组	3.65±0.08	2.91±0.22	3.29±0.28
马齿苋低浓度乳膏组	3.05±0.32[bcd]	2.07±0.26[bcd]	2.36±0.24[bcd]
马齿苋高浓度乳膏组	1.46±0.14[bc]	1.54±0.17[bc]	1.46±0.13[bc]

a：与空白组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与空白基质乳膏组相比，$P<0.05$；d：与糠酸莫米松乳膏组相比，$P<0.05$。

3.5　马齿苋对ACD小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达的影响

与空白组相比，模型组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与模型组相比，糠酸莫米松乳膏组和马齿苋低、高浓度乳膏组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），空白基质乳膏组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。与空白基质乳膏组相比，马齿苋低浓度乳膏组小鼠皮肤组织中Occludin蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$），马齿苋高浓度乳膏组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。与糠酸莫米松乳膏组相比，马齿苋低浓度乳膏组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平差异均无统计学意义（$P>0.05$）；马齿苋高浓度乳膏组小鼠皮肤组织中Claudin-1蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$），Occludin蛋白表达水平差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见图3、表6。



A：空白组；B：模型组；C：糠酸莫米松乳膏组；D：空白基质乳膏组；E：马齿苋低浓度乳膏组；F：马齿苋高浓度乳膏组。

图3　各组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达的电泳图

表6　各组小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	Claudin-1/β-actin	Occludin/β-actin
空白组	1.02±0.90	1.13±0.05
模型组	0.33±0.14[a]	0.40±0.25[a]
糠酸莫米松乳膏组	0.67±0.12[b]	0.73±0.15[b]
空白基质乳膏组	0.52±0.07	0.52±0.12
马齿苋低浓度乳膏组	0.61±0.19[b]	0.82±0.11[bc]
马齿苋高浓度乳膏组	1.00±0.11[bcd]	0.91±0.22[bc]

a：与空白组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与空白基质乳膏组相比，$P<0.05$；d：与糠酸莫米松乳膏组相比，$P<0.05$。

4　讨论

瘙痒作为ACD常见临床症状之一，不仅为患者日常工作和生活带来极大不便，也是加重慢性炎症和皮肤屏障破坏的重要因素，并可导致ACD进一步发展为严重的皮肤病[14]。目前，临床上常用于治疗ACD的药物，如糖皮质激素类药物、类固醇以及免疫抑制剂等虽有一定疗效，但长期使用可能导致糖尿病、骨坏死、肥胖及皮肤萎缩等副作用[15]，因此，寻找高效、安全的抗敏止痒药物对ACD的防治具有重要意义。

马齿苋作为中医临床实践中常见的外用药物，其化学成分多样，包含黄酮类、萜类、甾体类、生物碱类等。这些化学成分具有抗炎、调节免疫、抗过敏及神经保护等作用[16]。研究表明，马齿苋能够下调瘙痒因子白细胞介素31（interleukin-31，IL-31）表达，从而抑制IL-31引发的瞬时受体电位香草酸亚型1及瞬时受体电位锚蛋白1激活，进而阻断Ca^{2+}内流而引起的痒觉信号传递[17]。临床研究也表明，添加马齿苋提取物的润肤剂能明显减轻儿童面部皮炎发生时产生的瘙痒[18]。以上研究提示，马齿苋可能对ACD具有一定的疗效。

研究发现，血清中IgE的表达水平可作为过敏性患者临床诊断的指标之一[19]。此外，IgE作为瘙痒过程中的关键介质，也是导致皮肤瘙痒发生的重要因素[20]。作为最常见的促炎细胞因子之一，TNF-α是炎症反应的启动者或介质，可以促进广泛的炎症反应，导致皮肤增厚、水肿、瘙痒、发红和发热[21]。本研究结果显示，经低、高浓度马齿苋乳膏干预后，大鼠皮肤损伤减轻，血清中IgE、TNF-α水平降低，提示马齿苋乳膏对ACD小鼠皮肤损伤及炎症反应具有明显的改善作用。

Mrgprs大部分表达于DRG中，是与瘙痒有关的G蛋白偶联受体之一[22]。Mrgprs包括MrgprA～G，但MrgprA3、MrgprC11、MrgprD这3个特殊的感觉神经元群编码与瘙痒相关[23]。本研究结果显示，低、高浓度的马齿苋乳膏可下调DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA表达水平，且空白基质乳膏对上述基因的表达无影响，提示马齿苋乳膏对ACD小鼠瘙痒症状的改善作用，可能与抑制Mrgprs家族基因表达有关。

皮肤屏障是皮肤抵御外界刺激进入人体并防止内

部有益物质流失的基础保障，当其功能受损时往往会致使角质层结构缺失，细胞间脂质成分紊乱，从而为外界刺激物及过敏原进入皮肤创造了有利条件[24]。TJs蛋白作为防止水分从表皮流失的屏障颗粒层中的TJs复合体，主要由Claudins、Occludins和连接黏附分子组成，其通过调节细胞连接通透性，发挥抵御外界刺激的作用[25]。本研究结果发现，ACD小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达明显低于正常小鼠，表明ACD小鼠皮肤屏障功能受到破坏。而经低、高浓度的马齿苋乳膏干预后，小鼠皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达明显升高，且空白基质乳膏对上述蛋白的表达无影响，提示马齿苋乳膏对ACD小鼠皮肤屏障功能的修复作用，与上调皮肤组织中TJs蛋白表达相关。

综上所述，马齿苋能够改善ACD小鼠皮肤瘙痒，并修复皮肤屏障功能，其作用机制可能与下调小鼠DRG中MrgprA3、MrgprC11、MrgprD mRNA的表达，上调皮肤组织中Claudin-1、Occludin蛋白表达相关。

参考文献

[1] ADLER B L，DELEO V A. Allergic contact dermatitis[J]. JAMA Dermatol，2021，157(3)：364.

[2] SAINT-MEZARD P，ROSIERES A，KRASTEVA M，et al. Allergic contact dermatitis[J]. Eur J Dermatol，2004，14(5)：284-295.

[3] BALMERT S C，DONAHUE C，VU J R，et al. *In vivo* induction of regulatory T cells promotes allergen tolerance and suppresses allergic contact dermatitis[J]. J Control Release，2017，261：223-233.

[4] 刘畅，徐爱琴，冯紫香，等. “健脾胃，和营卫”在治疗皮肤屏障疾病中的应用[J]. 国医论坛，2023，38(6)：23-24.

[5] 王倩，彭露，兰晓玲，等. 低剂量5-氨基酮戊酸光动力疗法对HaCaT细胞皮肤屏障相关蛋白表达的影响[J]. 中国皮肤性病学杂志，2023，37(5)：509-515.

[6] LIU Y，LIU Y T，LIMJUNYAWONG N，et al. Sensory neuron-expressed TRPC3 mediates acute and chronic itch [J]. Pain，2023，164(1)：98-110.

[7] SCHMELZ M. Itch processing in the skin[J]. Front Med，2019，6：167.

[8] 赵伟东. 慢性痒小鼠模型中miR-142a-3p和IL-6的表达水平变化及体外功能性作用研究[D]. 兰州：兰州大学，2019.

[9] 陈霞，樊官伟，陈云志，等. 基于网络药理学和动物实验探讨马齿苋对变应性接触性皮炎小鼠皮肤瘙痒的作用[J]. 中成药，2024，46(5)：1700-1706.

[10] 施新华，刘勤. 复方马齿苋软膏的研制及临床应用[J]. 海峡药学，2016，28(6)：15-17.

[11] 姜京植. 积雪草苷通过TLR4/NF-κB、Wnt/β-Catenin、Nrf2/HO-1信号通路缓解过敏性哮喘和皮炎的作用及机制研究[D]. 延吉：延边大学，2021.

[12] 苗明三，白明. 中药外用药理实验技术规范：草案[J]. 中药药理与临床，2014，30(4)：128-131.

[13] 赵文娜，惠先，杨鑫，等. 苦木水提物外用对变应性接触性皮炎模型小鼠的改善作用研究[J]. 中国药房，2019，30(1)：64-68.

[14] KIM H M，KANG Y M，JIN B R，et al. Morus alba fruits attenuates atopic dermatitis symptoms and pathology *in vivo* and *in vitro* via the regulation of barrier function，immune response and pruritus[J]. Phytomedicine，2023，109：154579.

[15] SUNG C T，MCGOWAN M A，MACHLER B C，et al. Systemic treatments for allergic contact dermatitis[J]. Dermatitis，2019，30(1)：46-53.

[16] ZHOU YX，XIN HL，RAHMAN K，et al. *Portulaca oleracea* L.：a review of phytochemistry and pharmacological effects[J]. Biomed Res Int，2015，2015：925631.

[17] 葛一漫，张礼，雍江堰，等. 基于IL-17、IL-31/STAT3信号通路探讨马齿苋对急性湿疹大鼠炎症和瘙痒反应的影响[J]. 时珍国医国药，2023，34(5)：1025-1028.

[18] 窦丽敏，吴瑶，宋玮，等. 含马齿苋等提取物的润肤剂改善(2～12)岁儿童缓解期特应性皮炎严重性的多中心、随机、平行对照临床研究[J]. 皮肤病与性病，2020，42(5)：648-651.

[19] 郭慧敏，李燕妮，杜凡. 皮炎消颗粒联合中药湿敷治疗颜面部过敏性皮炎疗效观察[J]. 海南医学，2023，34(21)：3114-3118.

[20] YANG T B，KIM B S. Pruritus in allergy and immunology [J]. J Allergy Clin Immunol，2019，144(2)：353-360.

[21] LIM D，KIM M K，JANG Y P，et al. *Sceptridium ternatum* attenuates allergic contact dermatitis-like skin lesions by inhibiting T helper 2-type immune responses and inflammatory responses in a mouse model[J]. J Dermatol Sci，2015，79(3)：288-297.

[22] 胡晶，曹志贱. Mrgprs痒受体及其配体的研究进展[J]. 皮肤性病诊疗学杂志，2023，30(3)：289-295.

[23] YANG N N，SHAO H F，DENG J L，et al. Dictamnine ameliorates chronic itch in DNFB-induced atopic dermatitis mice via inhibiting MrgprA3[J]. Biochem Pharmacol，2023，208：115368.

[24] 李力翠，杨祎峰，毛伟，等. 龙胆草提取物液体敷料治疗面部敏感性皮肤的疗效及对皮肤屏障功能的影响[J]. 中国美容医学，2023，32(11)：98-102.

[25] HATTORI F，KIATSURAYANON C，OKUMURA K，et al. The antimicrobial protein S100A7/psoriasin enhances the expression of keratinocyte differentiation markers and strengthens the skin’s tight junction barrier[J]. Br J Dermatol，2014，171(4)：742-753.

（收稿日期：2024-12-01　修回日期：2025-04-27）

（编辑：唐晓莲）