

· 基础研究 ·

镇心安神方对 DNCB 致敏诱导特应性皮炎
小鼠皮肤组织 TRPs 表达的影响赵一丁^{1,2} 李文彬^{1,2} 姜姗姗^{1,2} 贺欢^{1,2} 徐菁^{1,2} 黄尧洲³ 闫小宁^{1,2}

摘要 目的 观察镇心安神方对 1-氯-2,4-二硝基苯(DNCB)致敏诱导特应性皮炎(AD)小鼠皮肤组织瞬时电压感受受体(TRPs)表达的影响。**方法** SPF 级雌性 BALB/c 小鼠 24 只随机分为 4 组(正常对照组、模型组、阳性对照组及中药组),每组 6 只,采用 DNCB 诱发皮炎法制备 AD 模型,自造模后第 14 天起,中药组每天按镇心安神方生药量为 18.18 g/kg 颗粒水溶液灌胃,阳性对照组每天给予西替利嗪 1.3 mg/kg 灌胃,模型组及正常对照组每天给予 0.1 mL/10 g 生理盐水灌胃。连续灌胃 14 天。于造模第 1、4、14、28 天分别观模型小鼠皮损评分和搔抓频率变化,HE 染色观察皮损组织病理学变化,蛋白免疫印迹法(Western Blot)和实时荧光定量技术(RT-PCR)检测皮损中 TRPV1、TRPA1、TRPM8 蛋白及 mRNA 相对表达量。**结果** 与正常对照组比较,造模第 14 天各组小鼠搔抓次数明显增加($P < 0.01$),出现红斑、水肿、糜烂、结痂、干燥等 AD 样表现,皮肤组织病理学表现为表皮增生明显,棘层肥厚,海绵水肿,真皮层大量炎性细胞浸润;与模型组比较,造模第 28 天中药组及阳性对照组搔抓次数及皮损评分均降低($P < 0.05$)。与正常对照组比较,模型组 TRPA1、TRPV1、TRPM8 蛋白及 mRNA 表达均升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药组、阳性对照组 TRPA1、TRPV1、TRPM8 蛋白及 mRNA 表达均降低($P < 0.01$),中药组 TRPA1 表达高于阳性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 镇心安神方可以改善模型小鼠 AD 样皮损及瘙痒,抑制 TRPs 表达可能是其作用机制,值得深入探索。

关键词 特应性皮炎;镇心安神方;瘙痒;瞬时电压感受受体

Effect of Zhenxin Anshen Recipe on Expressions of TRPs in Skin Lesions of DNCB Induced Atopic Dermatitis Model Mice ZHAO Yi-ding^{1,2}, LI Wen-bin^{1,2}, JIANG Shan-shan^{1,2}, HE Huan^{1,2}, XU Jing^{1,2}, HUANG Yao-zhou³, and YAN Xiao-ning^{1,2} 1 Institute of Dermatology, Shaanxi Institution of Traditional Chinese Medicine, Xi'an (710003); 2 Department of Dermatology, Shaanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an (710003); 3 Department of Dermatology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091)

ABSTRACT Objective To observe effects of Zhenxin Anshen Recipe (ZXASR) on expressions of (transient receptor potential, TRPs) in skin lesions of 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene (DNCB) induced atopic dermatitis model mice. **Methods** Totally 24 SPF female BALB/c mice were randomly divided into a normal control group, a model group, a positive control group, Chinese medicine (CM) group, 6 mice in each group. BALB/c mice were induced by DNCB to establish the model of atopic dermatitis (AD) in the model group, the positive control group, and the CM group. From the 14th day of modeling, ZXASR solution (at the daily dose of 18.18 g/kg) was administered to mice in the CM group by gastrogavage. Cetirizine (at the daily dose of 1.3 mg/kg) was administered to mice in the positive control group by gastrogavage. 0.1 mL/10 g normal saline was administered to mice in the normal control group and the model group by gastrogavage. All treatments were performed for 14 successive days. The changes of skin lesions

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81704087);陕西省中医药管理局中医药科研课题(No. JCPT022)

作者单位:1. 陕西省中医药研究院皮肤病研究所(西安 710003); 2. 陕西省中医医院皮肤科(西安 710003); 3. 中国中医科学院西苑医院皮肤科(北京 100091)

通讯作者:闫小宁, Tel: 029-87251604, E-mail: yanxiaoning2005@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190905.285

score and scratching frequency in AD model were observed at day 1, 4, 14, and 28 after modeling, respectively. The morphopathological changes were observed by HE staining. The protein and mRNA expressions of TRPV1, TRPA1, and TRPM8 in skin lesions were detected by Western Blot and RT-PCR. Results Compared with the normal control group, the scratching frequency obviously increased in each group on the 14th day of modeling ($P < 0.01$), with symptoms of erythema, edema, erosions, scabs, dryness. Histopathological results of skin tissue showed that epidermal hyperplasia, acanthosis, spongiform edema, inflammatory cell infiltration in the dermis. Compared with the model group, the scratching frequency and lesions score of the CM group and the positive control group decreased on the 28th day of modeling ($P < 0.05$). The expressions of TRPA1, TRPV1, and TRPM8 at protein and mRNA levels in the model group were increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the expressions of TRPA1, TRPV1, and TRPM8 at protein and mRNA levels in the CM group and the positive control group were lower ($P < 0.01$). The expression of TRPA1 in the CM group was higher than that in the positive control group ($P < 0.05$). Conclusions ZXASR improved the skin lesions and scratching of DNCB induced AD model mice. Inhibiting the expressions of TRPs might be its mechanism, which could be explored in depth.

KEYWORDS atopic dermatitis; Zhenxin Anshen Recipe; pruritus; transient receptor potential

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)是一种慢性、瘙痒性、复发性、炎症性皮肤病,初发于婴儿期,呈慢性经过,常伴有哮喘或过敏性鼻炎,部分患者病情可以迁延到成年,严重影响患儿的生长发育、心理健康及生活质量。根据世界变态反应组织数据显示:目前全球过敏性疾病逐年攀升,罹患人群比率可高达40%^[1],AD儿童患病人群约占20%,成人患病人群约占3%^[2]。本病病因及发病机制不清,治疗上尚缺乏治愈或长期缓解的药物。

中医药防治AD具有独特的疗效及优势,镇心安神方是基于《内经》“诸痛痒疮,皆属于心”理论指导下形成的治疗新思路,前期应用本方治疗AD取得可靠临床疗效^[3,4],本实验拟以1-氯-2,4-二硝基苯(1-chloro-2, 4-dinitrobenzene, DNCB)致敏诱导的AD小鼠为动物模型,观察镇心安神方对模型动物皮损特征、行为学及皮肤组织中瞬时电压感受受体(transient receptor potential, TRPs)表达的影响,初步探讨镇心安神方治疗AD的作用机制。

材料与方法

1 动物 SPF级雌性BALB/c小鼠24只,购自北京维通利华实验动物技术有限责任公司(许可证号:SCXK(京)2016-0006,合格证:No.11400700307035),鼠龄6~7周,体重14.8~19.5 g。饲养于12 h光照/12 h黑暗的环境中,室温控制在18~24℃,湿度控制在50%~70%,光照时间8:00~20:00,自由饮水进食。实验过程中对实验动物的处置均符合2006年国家科技部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》规定。

2 药物 镇心安神方颗粒均由单味免煎颗粒等比配制而成,全部实验所用镇心安神方颗粒由广东一方制药有限公司提供,中药剂量及批号:生龙骨30 g(0.8 g/袋,相当于临床饮片20 g,批号:7095092),煅牡蛎30 g(0.8 g/袋,相当于临床饮片20 g,批号:7086562),骨碎补10 g(1.5 g/袋,相当于临床饮片10 g,批号:7082502),茯苓20 g(0.5 g/袋,相当于临床饮片10 g,批号:7112082),淡竹叶30 g(0.7 g/袋,相当于临床饮片10 g,批号:7111892),中药配方颗粒每剂共7.0 g;盐酸西替利嗪滴剂(每瓶30 mL,香港澳美制药厂有限公司,批号:HC20070016)。

3 主要试剂及仪器 DNCB(H2UKD-DM,日本东京化成工业株式会社),兔抗鼠TRPV1(一抗,GTX54762, Gene Tex),兔抗鼠TRPA1(一抗,ACC-037-25, Gene Tex),兔抗鼠TRPM8(一抗,GTX54886, Gene Tex),HRP标记羊抗小鼠二抗(BA1051/BA1054,武汉博士德生物工程有限公司),小鼠单抗 β -actin(BM0627,武汉博士德生物工程有限公司),Trizol RNA提取液(15596-026, Ambion),TRPV1、TRPA1、TRPM8、 β -actin引物(北京擎科生物科技有限公司)。BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0010,上海碧云天生物技术有限公司)。实时荧光定量PCR仪(QuantStudio 6, ABI),微量分光光度计(Nano-100,杭州奥盛仪器有限公司),水平电泳仪(JY300,北京君意东方电泳设备有限公司),紫外分析仪(JY02S,北京君意东方电泳设备有限公司)等。

4 方法

4.1 造模方法 DNCB诱发皮炎法:参照参考文献[5],将DNCB溶解在丙酮中以制备0.5%和1.0%

DNCB 溶液,实验前 1 天在 小鼠背部去毛,面积约 2.5 cm × 1.5 cm,实验第 1 天使用 0.5% DNCB 溶液 200 μL 涂抹于 刺毛区域,连续 3 天使 小鼠敏化。之后 在第 4、7、11、14、17、20、23、26 天,用 100 μL 1.0% DNCB 溶液在 背部刺激致敏的皮肤。备皮时动作轻柔,防止刮破皮肤,涂抹 DNCB 溶液时尽量使 药物均匀分 布体表,并根据参考文献[6]判定造模成功。

4.2 分组及给药方法 将 24 只 BALB/c 小鼠采用 随机数字表法分为 4 组:正常对照组、模型组、阳性对 照组及中药组,每组 6 只。适应性饲养 1 周后进行造 模,造模 14 天开始给药干预。中药组将镇心安神方(生 龙骨 30 g 煅牡蛎 30 g 骨碎补 10 g 茯苓 20 g 淡竹叶 30 g)颗粒以蒸馏水溶解,制成含 1 g/mL 生药量 的混悬液,按每天 18.18 g/kg 生药量灌胃,每天 1 次; 阳性对照组给予西替利嗪 1.3 mg/kg 灌胃,每天 1 次; 模型组及正常对照组每天给予 0.1 mL/10 g 生理盐水 灌胃。所有药用剂量根据患者临床用量的等效剂量和 动物体表面各折算而来^[7]。连续灌胃 14 天,密切观察 小鼠体重、饮食及活动状况。

4.3 标本采集 干预 14 天后,所有实验动物腹腔 麻醉,剪取各组小鼠背部致敏部位皮肤和正常对照组小 鼠同部位皮肤,1/2 皮肤组织固定于 10% 中性甲醛溶液 中过夜,常规石蜡包埋切片以备组织病理检测;1/2 皮肤 组织液氮冻存,备 Western Blot 及 RT-PCR 方法检测 相关蛋白和基因。

5 观察指标及检测方法

5.1 小鼠皮损表现 皮损评分参照欧洲 AD 研究 组(ETFAD)提出的 SCORAD 评分标准^[8] 客观体征中 皮损严重程度评分,包括红斑、丘疹或水肿、渗出或结 痂、表皮脱落、干燥和苔藓样变,每种临床症状按照 0 分 (无)、1 分(轻度)、2 分(中度)和 3 分(严重)等级评 分,分别于第 1、4、14、28 天进行评价,计算各组的皮损 评分。

5.2 小鼠搔抓行为观察 各组小鼠放入透明树脂 盒子内,保持室内安静无人,摄像机录像 1 h,实验结束 后回放录像进行搔抓行为观察。小鼠搔抓次数评判方 法:以小鼠后爪离开盒子底面并搔抓皮肤,到其后爪落 地或舔舐其后爪为 1 次完整的搔抓动作记为 1 次^[9]。 由 2 名不参加实验的工作人员记录小鼠搔抓次数。

5.3 皮肤组织病理检测 小鼠皮肤组织固定后 脱水,浸蜡、包埋,石蜡切片(4 μm),脱蜡,采用 HE 染 色观察小鼠皮损的组织学特征。

5.4 皮肤组织 TRPV1、TRPA1、TRPM8 蛋白表 达检测 采用 Western Blot 技术,取皮肤组织约

30 mg,提取并测定蛋白浓度,上样,电泳,转膜,用封 闭液按 1:200 比例稀释兔抗鼠 TRPV1、兔抗鼠 TR- PA1、兔抗鼠 TRPM8 及 β-actin,4 ℃ 孵育过夜; TBST 充分洗涤 PVDF 膜 5 ~ 6 次,用封闭液按 1:50 000 比例稀释 HRP 标记的羊抗兔二抗,使 PVDF 膜浸泡于羊抗兔二抗孵育液中,37 ℃ 摇床孵育 2 h,洗去多余羊抗兔二抗,显色曝光,晾干胶片,扫描 胶片,用 BandScan 分析胶片灰度值。

5.5 皮肤组织 TRPV1、TRPA1、TRPM8 mRNA 表达检测 采用 RT-PCR 技术,用 Trizol 提取皮肤组 织 RNA 后,进行逆转录反应合成 cDNA,将得到的 cDNA 模板进行 RT-PCR 反应,反应体系为 20 μL (cDNA 4 倍稀释 4 μL、Forward Primer 0.4 μL、Re- verse Primer 0.4 μL、SYBR Green Master Mix 10 μL、50 × ROX Reference Dye 2 0.4 μL、H₂O 4.8 μL),反应条件为 50 ℃ 灭活 2 min,95 ℃ 变性 10 min,95 ℃ 变性 30 s、60 ℃ 延伸 30 s,共 40 个循 环。各目的基因与参照基因的引物序列见表 1,反应 结束后反应结束后利用 SDS 软件分析 PCR 过程各 检测样本 Ct 值。

表 1 引物序列表

基因名称	引物序列	引物长度 (bp)
TRPV1	正向 5'-TCATCACCGTCAGCTCTGTT -3'	235
	反向 5'-TCTGGGTCTTTGAAC TCGCT -3'	
TRPA1	正向 5'-CTGAGATCGACCGAGTGTT -3'	220
	反向 5'-AAGGTCAGGACTGGGTATGC -3'	
TRPM8	正向 5'-TGATGAAAGTGAGGCAGTGGT -3'	212
	反向 5'-TGCTGACGGTGAAAATGTGG-3'	
β-actin	正向 5'-CACGATGGAGGGCCGGACTCATC -3'	240
	反向 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT -3'	

6 统计学方法 采用 SAS 6.12 软件进行统计 学处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对各组数据进行正态 分布检验和方差齐性检验,符合正态分布且方差齐的 资料采用方差分析,方差不齐的资料采用 Wilcoxon 秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠一般情况 正常对照组小鼠一般情 况良好,体重逐渐增长,未出现明显骚动不安等异常行 为,其余各组小鼠均出现体重下降,烦躁不安,易激惹, 攻击性增强。

2 各组小鼠搔抓次数比较(表 2) 造模第 1、4、 14 天,模型组、阳性对照组、中药组小鼠搔抓次数明显 多于正常对照组($P < 0.01$),造模第 28 天,与模型组

比较, 中药组及阳性对照组搔抓次数均降低 ($P < 0.01$)。

3 各组小鼠皮损评分比较(表 3, 图 1) 涂抹 0.5%DNCB 溶液 3 天后, 除正常对照组外各组小鼠背部皮肤开始出现红斑和水肿、糜烂、结痂, 此后痂皮逐渐干燥、脱落并发生苔藓样变, 与 AD 临床表现相符, 造模第 14 天达到高峰; 造模第 28 天, 中药组及阳

性对照组小鼠背部皮损的红斑、糜烂及结痂逐渐消退, 中药组及阳性对照组皮损评分低于模型组 ($P < 0.05$)。

4 各组小鼠皮损组织病理改变比较(图 2) 正常对照组小鼠表皮、真皮结构正常, 无水肿、充血及淋巴细胞浸润; 模型组小鼠皮损表皮增生明显, 棘层肥厚, 伴海绵水肿, 真皮层大量炎性细胞浸润, 并伴随血

表 2 各组小鼠搔抓次数比较 (次, $\bar{x} \pm s$)

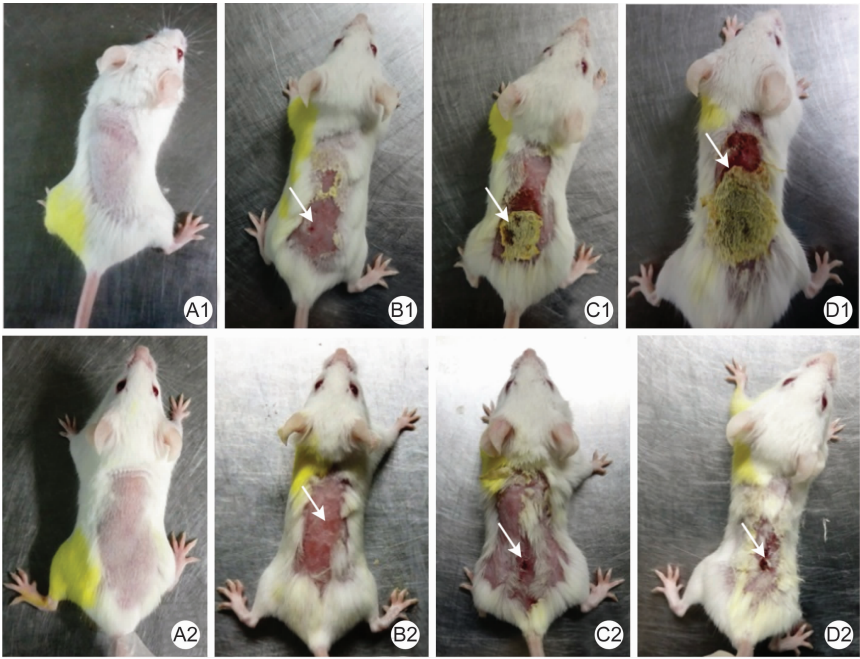
组别	n	搔抓次数			
		1 天	4 天	14 天	28 天
正常对照	6	0	0	0	0
模型	6	1.22 ± 0.83 *	4.78 ± 1.20 *	7.22 ± 1.20 *	7.22 ± 0.83 *
中药	6	1.33 ± 1.12	5.11 ± 1.27	6.89 ± 1.27	4.11 ± 1.27 [△]
阳性对照	6	0.89 ± 0.60	4.56 ± 1.01	7.11 ± 1.05	4.44 ± 0.88 [△]

注: 与正常对照组同期比较, * $P < 0.01$; 与模型组同期比较, [△] $P < 0.01$

表 3 各组小鼠皮损评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	皮损评分			
		1 天	4 天	14 天	28 天
正常对照	6	0	0	0	0
模型	6	1.22 ± 0.83 *	2.78 ± 0.83 *	6.00 ± 1.41 *	5.67 ± 1.22 *
中药	6	1.00 ± 0.87	2.89 ± 1.05	5.67 ± 2.12	4.22 ± 1.09 [△]
阳性对照	6	1.22 ± 1.09	2.67 ± 0.87	5.33 ± 1.73	4.44 ± 1.13 [△]

注: 与正常对照组同期比较, * $P < 0.01$; 与模型组同期比较, [△] $P < 0.05$



注: A 为正常对照组, 其中 A1、A2 分别为 14、28 天; B 为模型组, 其中 B1、B2 分别为 14、28 天, 图中箭头所指分别为红斑、出血; C 为阳性对照组, 其中 C1、C2 分别为 14、28 天, 图中箭头所指分别为结痂、苔藓化; D 为中药组, 其中 D1、D2 分别为 14、28 天, 图中箭头所指为糜烂、结痂

图 1 各组小鼠皮损特征比较

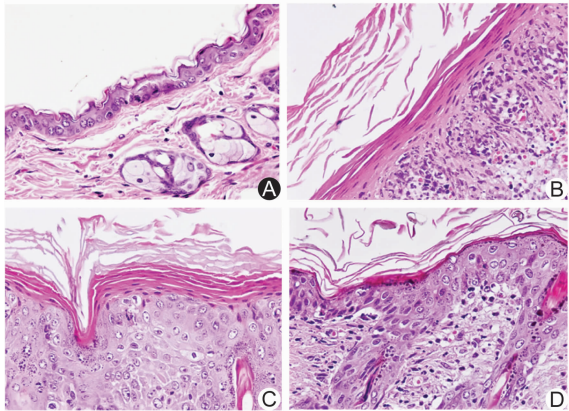


图2 各组小鼠皮损组织病理改变 (HE 染色, ×100)

管扩张、充血,为慢性炎性增生性改变,符合 AD 组织病理学改变,表示造模成功。阳性对照组、中药组表皮增生和细胞水肿明显减轻。

5 各组小鼠皮肤组织中 TRPV1、TRPA1、TRPM8 蛋白表达水平比较(表 4,图 3) 与正常对照组比较,模型组 TRPA1、TRPV1、TRPM8 蛋白表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,中药组、阳性对照组 TRPA1、TRPV1、TRPM8 表达均降低 ($P<0.01$),且中药组 TRPA1 表达高于阳性对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 4 各组小鼠皮肤组织 TRPA1、TRPV1、TRPM8 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TRPA1	TRPV1	TRPM8
正常对照	6	0.27 ± 0.04	0.41 ± 0.02	0.15 ± 0.01
模型	6	0.78 ± 0.09 *	0.94 ± 0.08 *	0.43 ± 0.04 *
中药	6	0.48 ± 0.03 Δ^{Δ}	0.58 ± 0.04 Δ	0.24 ± 0.02 Δ
阳性对照	6	0.35 ± 0.04 Δ	0.49 ± 0.04 Δ	0.19 ± 0.02 Δ

注:与正常对照组比较, * $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.01$;与阳性对照组比较, $\Delta^{\Delta}P<0.05$

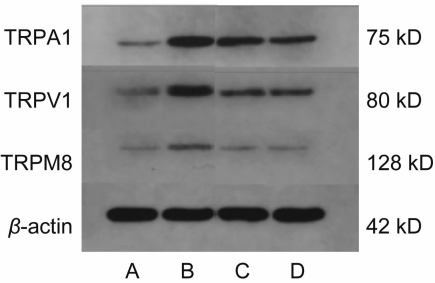


图3 各组 TRPV1、TRPA1、TRPM8 蛋白电泳图

6 各组小鼠皮肤组织中 TRPV1、TRPA1、TRPM8 mRNA 表达水平比较(表 5) 与正常对照组比较,模型组 TRPA1、TRPV1、TRPM8 mRNA 表达均升高 ($P<0.01$),与模型组比较,中药组、阳性对照组 TRPV1、TRPA1、TRPM8 mRNA 表达均降低 ($P<0.01$)。

表 5 各组皮肤组织 TRPA1、TRPV1、TRPM8 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TRPA1	TRPV1	TRPM8
正常对照	6	0.98 ± 0.12	1.06 ± 0.17	1.00 ± 0.10
模型	6	3.04 ± 0.32 *	2.57 ± 0.24 *	2.95 ± 0.46 *
中药	6	1.86 ± 0.44 Δ	1.62 ± 0.36 Δ	1.47 ± 0.32 Δ
阳性对照	6	1.90 ± 0.37 Δ	1.61 ± 0.31 Δ	1.52 ± 0.19 Δ

注:与正常对照组比较, * $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.01$

讨 论

AD 是以湿疹样皮疹和剧烈瘙痒为特征的炎症性皮肤病,病因及发病机制不清,一般认为是在一定遗传背景和(或)环境因素作用下,造成机体皮肤屏障功能障碍或机体免疫反应失调。在 AD 的发病过程中,慢性瘙痒是一个突出的症状,应用抗组胺药物疗效不佳,慢性瘙痒与搔抓的形成和维持导致皮损的长期不愈、加重及复发,所以治疗 AD 的关键不仅在于抑制皮肤炎症,也在于控制或打破瘙痒—搔抓恶性循环。AD 瘙痒的产生机制涉及复杂的信号传导通路、多种介质和受体。其中 TRPs 是一类含 6 个跨膜单位,7 次跨膜的离子通道型受体,是一类基因超家族,在痒觉、痛觉、触觉等多种感觉形成中都具有重要功能,近年来备受关注。TRPV1、TRPA1、TRPM8 主要参与组胺依赖性瘙痒和非组胺依赖性瘙痒的信号传导^[10],TRPs 通过活化磷脂酶 C(phospholipase C, PLC)和磷脂酶 A2(phospholipase A2, PLA2),使蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)的活性增加,诱导(dorsal root ganglia, DRG)神经元内 Ca^{2+} 浓度增加,增加神经细胞兴奋性,产生痒觉^[11]。

《素问·至真要大论》云:“诸痛痒疮,皆属于心”,王冰注曰:“心寂则痛痒微,心躁则痛痒甚,百端之起,皆自心生,痛痒疮疡生于心也”^[12],指出了皮肤疾病与心的关系。在 AD 的发病过程中,患者除瘙痒剧烈及皮肤症状外,常出现躁动不安、心烦失眠、精力不集中等心不藏神的证候,在临床工作中选用一组具有镇心安神、清心除烦、健脾安神作用的药物,总结而成镇心安神方,方中重用龙骨、牡蛎,重可镇怯,涩可固脱,两药相须为用共奏镇心安神、益阴潜阳之功,骨碎补补肾强骨、活血止血,久病及肾,本品有助于补益先天禀赋之不足,并且防止寒凉药伤及脾胃;淡竹叶具有引火下行、清心除烦之功,轻清而能祛实、甘淡而不伤正;茯苓健脾利水、宁心安神,带皮者功专行皮肤水湿,为健脾利湿安神之要药。在前期研究中发现镇心安神方对 AD 患者血清 β -内啡肽(β -endorphin, β -EP)水平具有调节作用^[13],后者是由 31 个氨基酸组成的阿片类物质,通过与其特异

性受体 u-阿片类受体(u.poid receptor, MOR)结合,可以抑制电压依赖的 Ca^{2+} 通道开放和腺苷环化酶(adenylyl cyclases, ACs)活化而发挥镇痛作用,同时由于 MOR 的异构体 MOR1D(morphine receptor-1D)与瘙痒特异性受体胃泌素释放肽受体(gastrin-releasing peptide receptor, GRPR)形成异二聚体^[14,15],GRPR 与 TRPs 共同参与瘙痒信号的传导过程^[16],所以镇心安神方可能通过下调 MOR 的表达,减少 MOR 异构体 MOR1D 的产生,进而抑制瘙痒特异性受体 GRPR 的表达,使 TRPs 的活化受阻,从而抑制模型小鼠皮肤组织中 TRPV1、TRPA1 及 TRPM8 的表达,镇心安神方如何发挥中枢抗瘙痒机制及中枢及外周的关系尚在进一步研究。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Herrant M, Loucoubar C, Boufkhed S, et al. Risk factors associated with asthma, atopic dermatitis and rhinoconjunctivitis in a rural Senegalese cohort[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2015, 11(1): 24–28.
- [2] Nutten S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors[J]. *Ann Nutr Metab*, 2015, 66(Suppl 1): 8–16.
- [3] 赵一丁,姚春海,余远遥,等.镇心安神法对特应性皮炎患者临床症状的影响[J].*中国皮肤性病学杂志*, 2010, 24(12): 1151–1153.
- [4] 赵一丁,姚春海,郎娜,等.龙牡汤治疗青年及成人期特应性皮炎的疗效观察及生活质量评价[J].*中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2011, 4(10): 215–218.
- [5] Yu K, Wang Y, Wan T, et al. Tacrolimus nanoparticles based on chitosan combined with nicotinamide: enhancing percutaneous delivery and treatment efficacy for atopic dermatitis and reducing dose[J]. *Int J Nanomed*, 2017, 22(13): 129–142.
- [6] Jin H, He R, Oyoshi M, et al. Animal models of atopic dermatitis[J]. *J Invest Dermatol*, 2009, 129(1): 31–40.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修主编.药理学实验方法学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2002: 179–181.
- [8] European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index[J]. *Dermatology*, 1993, 186(1): 23–31.
- [9] Shimada SG, LaMotte RH. Behavioral differentiation between itch and pain in mouse[J]. *Pain*, 2008, 139(3): 681–687.
- [10] Kido-Nakahara M, Furue M, Ulzii D, et al. Itch in atopic dermatitis[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2017, 37(1): 113–122.
- [11] Mollanazar NK, Smith PK, Yosipovitch G. Mediators of chronic pruritus in atopic dermatitis: Getting the itch out? [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 51(3): 263–292.
- [12] 王国辰主编.王冰医学全书[M].北京:中国中医药出版社,2006: 432.
- [13] 赵一丁.镇心安神方治疗特应性皮炎的随访疗效分析及免疫调节作用研究[D].北京:中国中医科学院,2013.
- [14] Liu XY, Liu ZC, Sun YG, et al. Unidirectional cross-activation of GRPR by MOR1D uncouples itch and analgesia induced by opioids[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 447–458.
- [15] Sun YG, Chen ZF. A gastrin-releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord[J]. *Nature*, 2007, 448(7154): 700–703.
- [16] Patricio ES, Costa R, Figueiredo CP, et al. Mechanisms underlying the scratching behavior induced by the activation of proteinase-activated receptor-4 in mice[J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(10): 2484–2491.

(收稿: 2019-04-22 在线: 2019-10-12)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶