

实验研究

DOI: 10.16305/j.1007-1334.2025.z20240928003

基于“肺与大肠相表里”探究复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液对湿疹大鼠肠道菌群、免疫功能及 cAMP/PKA 的影响

徐兰萍¹, 梁 恬², 陈继军³, 张 琪², 谢泽初¹

1. 甘肃中医药大学附属医院皮肤科(甘肃 兰州 730000); 2. 甘肃中医药大学附属医院小儿骨科(甘肃 兰州 730000);
3. 兰州市疾病预防控制中心性病艾滋病防治科(甘肃 兰州 730000)

【摘要】 目的 探究复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液对湿疹大鼠肠道菌群、免疫功能及环腺苷酸(cAMP)/蛋白激酶 A (PKA) 的影响。**方法** 成年雄性 SD 大鼠 50 只随机分为 5 组($n=10$): 正常组、模型组、复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组。除正常组外, 其余各组均建立湿疹动物模型。造模成功后, 复方嗜酸乳杆菌组灌胃复方嗜酸乳杆菌片, 马齿苋组灌胃马齿苋提取液, 联合组大鼠灌胃复方嗜酸乳杆菌片+马齿苋提取液, 正常组和模型组大鼠灌胃等体积的 0.9% 氯化钠溶液, 连续干预 14 d。干预结束后: ①观察大鼠背部皮损情况, 记录搔抓次数; ②采用酶联免疫吸附分析(ELISA)法检测外周血 γ 干扰素($\text{IFN-}\gamma$)及白细胞介素(IL)-4 水平; ③16S rRNA 法检测肠道菌群丰度; ④采用苏木精-伊红(HE)染色法观察皮损组织病理形态; ⑤Western blot 法检测 cAMP、PKA 蛋白水平。**结果** ①正常组大鼠皮肤为淡红色, 细致滑嫩, 质地柔软, 皮肤纹理清晰可见。模型组大鼠背部皮损明显, 可见皮肤红斑、浸润、鳞屑等, 符合建模特征。与模型组比较, 其余用药组大鼠背部皮损明显好转, 以联合组改善最为显著。与正常组比较, 模型组大鼠搔抓次数增多($P<0.05$)。与模型组比较, 复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组大鼠搔抓次数减少($P<0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组比较, 联合组大鼠搔抓次数均减少($P<0.05$)。②与正常组比较, 模型组大鼠 IL-4 水平升高($P<0.05$), $\text{IFN-}\gamma$ 水平降低($P<0.05$)。与模型组比较, 复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组大鼠 IL-4 水平降低($P<0.05$), $\text{IFN-}\gamma$ 水平升高($P<0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组比较, 联合组大鼠 IL-4 水平降低($P<0.05$), $\text{IFN-}\gamma$ 水平升高($P<0.05$)。③与正常组比较, 模型组厚壁菌门丰度增加; 与模型组比较, 复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组厚壁菌门丰度均降低, 其中以联合组厚壁菌门丰度最低。④HE 染色可见: 正常组大鼠表皮角化正常, 真皮乳头层未见水肿和炎症细胞浸润; 模型组大鼠存在表皮角化, 且存在大量炎症细胞浸润, 部分伴随纤维增生及血管增生; 复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组大鼠表皮炎症细胞逐渐消失, 皮肤结构逐渐清楚, 联合组大鼠仅在真皮层可见到少许炎症, 水肿消失, 病理形态改善程度最佳。⑤与正常组比较, 模型组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平降低($P<0.05$)。与模型组比较, 复方嗜酸乳杆菌组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平升高($P<0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组比较, 马齿苋组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平升高($P<0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组比较, 联合组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平升高($P<0.05$)。**结论** 复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液可改善湿疹大鼠肠道菌群紊乱, 恢复 T 辅助细胞 Th1/Th2 免疫平衡, 并通过激活 cAMP/PKA 信号通路而缓解皮损。**【关键词】** 湿疹; 复方嗜酸乳杆菌片; 马齿苋提取液; 肠道菌群; 免疫功能; 中西医结合疗法; 大鼠模型

Exploring effects of compound *Lactobacillus acidophilus* tablets combined with Portulacaceae Herba extract on intestinal microbiota abundance, immune function, and cAMP/PKA in eczema rats based on theory of "exterior-interior relationship between lung and large intestine"

XU Lanping¹, LIANG Tian², CHEN Jijun³, ZHANG Qi², XIE Zechu¹

1. Dermatology Department of Gansu University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Lanzhou, Gansu 730000, China; 2. Pediatric Orthopedics Department of Gansu University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Lanzhou, Gansu 730000, China; 3. STD AIDS Prevention and Control Department of Lanzhou Center for Disease Control and Prevention, Lanzhou, Gansu 730000, China

[基金项目] 甘肃省自然科学基金项目(24JRRA552)
[作者简介] 徐兰萍, 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事皮肤病学临床研究工作
[通信作者] 梁恬, 副主任医师; E-mail: 1417209908@qq.com

Abstract: Objective To investigate the effects of compound *Lactobacillus acidophilus* tablets (CLAT) combined with *Portulacae Herba* extract (POE) on intestinal microbiota, immune function, and the cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/protein kinase A (PKA) pathway in rats with eczema. **Methods** Fifty adult male SD rats were randomly divided into five groups ($n=10$ per group): normal control, model, CLAT, POE, and combination (CLAT+POE) groups. Eczema models were established in all groups except the normal control group. After successful modeling, interventions were administered via gavage for 14 days: rats in the CLAT group received CLAT suspension, those in the POE group received POE solution, those in the combination group received CLAT+POE, and rats in the normal control and model groups were given 0.9% NaCl solution. After intervention, the following assessments were conducted: ① skin lesions on the back and scratching frequency of rats; ② serum interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) levels via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); ③ intestinal microbiota abundance via 16S rRNA sequencing; ④ histopathology of lesional skin via hematoxylin and eosin (HE) staining; ⑤ cAMP and PKA protein levels via Western blot. **Results** ① The skin of normal group rats appeared light red, delicate, and smooth, with soft and clear skin texture. The back skin of model group rats showed obvious erythema, infiltration, scales, etc., consistent with eczema modeling characteristics. Compared with the model group, skin lesions on the back of rats in the other treatment groups improved significantly, with the most prominent improvement in the combination group. The scratching frequency was decreased in the CLAT, POE, and combination groups compared with the model group ($P<0.05$), and was further reduced in the combination group compared with the CLAT or POE group ($P<0.05$). ② Compared with the normal group, the model group exhibited increased IL-4 levels and decreased IFN- γ levels ($P<0.05$). Compared with the model group, IL-4 levels were decreased and IFN- γ levels were increased in the CLAT and POE groups ($P<0.05$); moreover, the combination group showed lower IL-4 levels and higher IFN- γ levels than the CLAT or POE group ($P<0.05$). ③ Model rats had higher *Firmicutes* abundance than normal rats; all treatment groups reduced *Firmicutes*, with the combination group showing the greatest efficacy. ④ HE staining revealed that rats in the normal group had normal epidermal keratinization, and no edema or inflammatory cell infiltration was observed in the dermal papilla layer. In contrast, model group rats exhibited abnormal epidermal keratinization and abundant inflammatory cell infiltration, partially accompanied by fibrosis and vascular proliferation. In the CLAT, POE, and combination groups, inflammatory cells in the epidermis gradually disappeared, and skin structure gradually normalized; notably, the combination group showed only slight dermal inflammation and no edema, presenting the best pathological improvement. ⑤ Compared with the normal group, cAMP and PKA protein levels were decreased in the model group ($P<0.05$). Compared with the model group, cAMP and PKA levels were increased in the CLAT group ($P<0.05$), further increased in the POE group compared with the CLAT group ($P<0.05$), and the combination group showed higher levels than the CLAT or POE group ($P<0.05$). **Conclusion** The combination of CLAT and POE alleviates eczema by modulating intestinal microbiota, restoring the T helper cell Th1/Th2 balance, and activating the cAMP/PKA pathway, thereby synergistically enhancing therapeutic effects. **Keywords:** eczema; compound *Lactobacillus acidophilus* tablets; *Portulacae Herba* extract; gut microbiota; immune function; integrated traditional Chinese and Western medicine therapy; rat model

湿疹属于变态反应性皮肤病,可由内在及外在因素所导致,临床可表现为红斑、丘疹、渗液、水疱等,并常伴随剧烈瘙痒^[1]。湿疹的发病机制较复杂,其中免疫学说逐渐成为学界关注的重点,特别是辅助性T细胞(Th1/Th2)动态失衡在其发生发展中具有巨大作用。湿疹疾病中Th细胞分泌的白细胞介素相关因子可诱导及刺激机体的免疫反应,进而使得嗜酸性粒细胞增多,促进变态反应^[2]。另外,肠道菌群紊乱也会破坏Th1/Th2细胞之间的平衡,且发现在湿疹患者中存在肠道菌群异常,认为平衡Th1/Th2对于改善肠道菌群具有重要意义^[3]。环腺苷酸(cAMP)/蛋白激酶A(PKA)是细胞内经典途径之一,cAMP可调控PKA的活性,PKA负责受体离子通道、转录因子的转化,进而调节生物活性^[4]。且随着对cAMP/PKA研究不断深入,发现其激活可减轻银屑病,也认为增加cAMP的药物可能对促炎分子的产生具有拮抗作用,因此上调cAMP为慢性炎症性疾病的潜在治疗方法^[5]。目前西医治疗湿疹的药物主要为抗组胺药、激素等,但长期服用毒副作用较大。中医学将湿疹归为“奶癣”“湿疮”“血风疮”等范畴。

《灵枢·本藏》指出以肺为中心,肺、大肠、皮肤三者

可紧密地形成一个整体,任一改变都可对其余两者造成影响^[6]。复方嗜酸乳杆菌片是一类具有调整宿主肠道微生物生态平衡功能的活菌制剂,通常可以作为治疗湿疹的辅助用药,帮助缓解湿疹^[7]。马齿苋具有清热解毒、散血消肿的作用,马齿苋提取物可用于治疗湿疹及瘙痒症等病症。本课题通过探究复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液对湿疹大鼠肠道菌群、免疫功能及cAMP/PKA的作用,以期对湿疹的相关研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 成年雄性SD大鼠,50只,SPF级,体质量230~260 g,购自南京卡尔文生物科技有限公司。实验动物生产许可证号:SCXK(宁)2018-0020。动物使用许可证号:SYXK(甘)2018-0068。动物饲养于SPF级环境,温度23~25℃,湿度50%~60%,光照充足,自由摄食及饮水。本研究通过甘肃中医药大学附属医院实验动物伦理委员会批准(伦理审批号:2023sw5214)。

1.1.2 药物与试剂 用高速粉碎机将洗净晒干的马齿苋药材(批号:121598-201603,成都普菲德生物技术有

限公司)进行粉碎,筛后粉末分装置于干燥器中密封保存,备用。马齿苋提取物的制备工艺:温度(50℃),乙醇(70%),超声时间(53 min),料液比1:15(g/mL),后过滤,滤液旋蒸至一定体积,并干燥至恒重,得到马齿苋醇提物,按试验所需质量浓度配置成一定浓度提取液。水提物将乙醇换成纯水,提取工艺相同。复方嗜酸乳杆菌片(批号:160415-6),通化金马药业集团股份有限公司。

聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(批号:IPVH00010),德国Merck Millipore公司;2,4-二硝基氯苯(批号:97-007),上海远慕生物科技有限公司;c蛋白酶(批号:L0T2842400),格瑞林生物科技有限公司;cAMP抗体(批号:AB-PKA-1120)、PKA抗体(批号:AB-PKA-1063),武汉爱博泰克生物科技有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)兔多克隆抗体(批号:ABL1821),美国Thermo Fisher Scientific公司; γ 干扰素(IFN- γ)酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒(批号:202410),上海仁捷生物科技有限公司;白细胞介素(IL)-4 ELISA试剂盒(批号:SP181810),北京百奥莱博科技有限公司;免疫球蛋白G(IgG)抗体(批号:20240208)、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号:04004),爱必信(上海)生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器 荧光定量PCR仪(型号:CFX Connect™),伯乐生命医学产品(上海)有限公司;摇床(型号:Qilinbeier TS-1000),海门市其林贝尔仪器制造有限公司;倒置显微镜(型号:IX71),上海赖氏电子科技有限公司;低速离心机(型号:TDZ4-WS),上海卢湘仪离心机仪器有限公司;电泳仪(型号:DYCP-31E),北京六一仪器厂。

1.2 分组与造模 各组大鼠正常喂养7 d,适应环境后,随机分为正常组、模型组、复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组,每组10只。除正常组外,其余各组均建立湿疹动物模型^[8]:建模前1天采用质量分数6%硫化钠溶液进行腹部脱毛,面积约为3 cm×3 cm。次日,采用质量分数为7%的2,4-二硝基氯苯无水乙醇溶液100 μ L涂抹于腹部脱毛区域,进行第1次抗原刺激,第3天于右耳内外侧涂质量分数为0.5%的2,4-二硝基氯苯无水乙醇溶液20 μ L作为第2次抗原刺激。每3天刺激1次,共刺激4次。观察右侧耳皮肤,若符合慢性湿疹表现及出现躁动不安的行为,则表明造模成功。所有大鼠均建模成功。

1.3 干预 造模成功后次日,参考动物与人体间的等效剂量换算方法^[9],复方嗜酸乳杆菌组将2片复方嗜酸乳杆菌片研磨后加入60 mL 0.9%氯化钠溶液中,制成悬浊液,以10 mL/kg灌胃,药物剂量为0.5 g/kg,每日灌胃2次。马齿苋组每只大鼠灌胃2 mL(0.24 g/mL)的马

齿苋提取液,每日2次;联合组大鼠每日灌胃复方嗜酸乳杆菌的同时灌胃马齿苋提取液,每日2次;正常组及模型组大鼠灌胃等体积的0.9%氯化钠溶液。各组连续干预14 d。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 皮损形态及搔抓次数 末次灌胃后,对皮损形态进行拍照并对搔抓次数进行记录,记录用药24 h后30 min内的搔抓耳部次数。

1.4.2 IL-4及IFN- γ 水平 取各组大鼠尾部静脉血2 mL,3 500 r/min离心10 min。采用ELISA试剂盒检测IL-4及IFN- γ 水平。按照试剂盒说明书进行检测,630 nm波长设置下采用酶标仪在450 nm测定每孔吸光度。

1.4.3 肠道菌群 采集大鼠粪便样本,于-80℃条件下保存。采用16S rRNA法检测肠道菌群。通过1%琼脂糖凝胶电泳及Qubit 4.0荧光计检测DNA纯度和浓度,合格样本($A_{260}/A_{280}=1.8\sim 2.0$,浓度 ≥ 20 μ g/L)用于后续分析。使用引物341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')和805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')扩增16S rRNA基因V3~V4区,PCR产物经Agilent 2100 Bioanalyzer质检合格后,构建Illumina PE250测序文库。高通量测序在Novaseq 6000平台完成,获得原始数据经Trimmomatic质控后,采用DADA2流程进行去噪和ASV聚类,基于Silva 138数据库进行物种注释。 α 多样性和 β 多样性通过QIIME2计算,所有分析均设置阴性对照并校正批次效应。

1.4.4 大鼠耳郭皮损组织病理形态 采用HE染色观察大鼠耳郭皮损组织病理形态。各组大鼠取耳部皮损组织,甲醛固定组织,24 h后,常规脱水,石蜡包埋后,采用5 μ m厚度切片。将切片置于二甲苯中脱蜡,梯度乙醇脱水,自来水冲洗后,苏木精染色,质量分数为1%的盐酸-乙醇分化,水洗蓝化,质量分数为1%的伊红复染,乙醇透水,200倍显微镜下观察病理形态。

1.4.5 cAMP、PKA蛋白水平 采用Western blot法检测cAMP、PKA蛋白水平。取液氮保存的皮损组织加入适量液氮充分研磨,加入2 mL匀浆器中再加入500 μ L蛋白裂解液使得组织充分碎裂,30 min后放入1.5 mL的离心管中,12 000 r/min、4℃离心10 min,保留蛋白上清液,采用二辛可酸(BCA)试剂盒检测蛋白浓度。蛋白浓度一致加入等体积2×十二烷基硫酸钠上样缓冲液(SDS Loading buffer),95℃水浴下使得蛋白变性。配置质量分数为12%的SDS-聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶,25 μ L/孔进行电泳,转膜,质量分数5%脱脂奶粉封闭液封闭1 h。含吐温-20的Tris-HCl溶液(TBST)洗膜3次,每次5 min,加入一抗cAMP(1:200)、PKA(1:150)及GAPDH(1:1 000)抗体,稀释比例为1:200。TBST漂

洗 3 次,每次 10 min;4 ℃过夜,加入羊抗兔 IgG 二抗(1:2 500),凝胶成像仪下成像,ImageJ 软件下处理目的条带,目的条带与 GAPDH 的比值进行半定量分析。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 26 软件统计分析实验数据。所有数据均经 Histogram 分析验证符合正态分布,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间数据比较采用单因素方差分析,两组间数据比较采用 LSD-*t* 分析。以 $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 皮损形态观察 正常组大鼠皮肤为淡红色,细致滑嫩,质地柔软,纹理清晰可见。模型组大鼠背部皮损明显,可见皮肤红斑、浸润、鳞屑等,符合建模特征。与模型组比较,其余用药组大鼠背部皮损明显好转,其中以联合组改善最显著。见图 1。

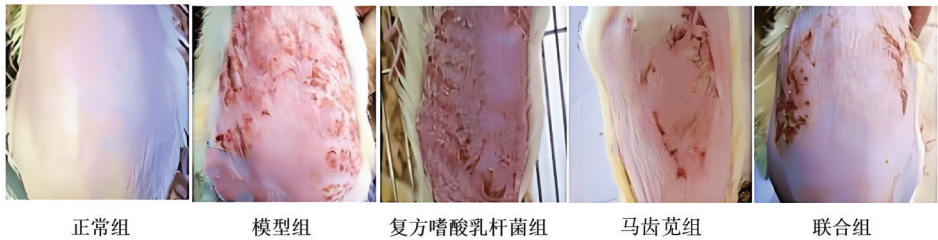
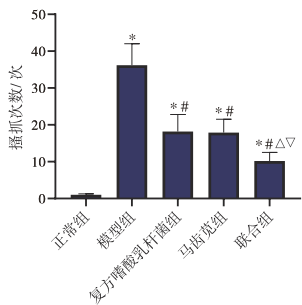


图 1 各组大鼠背部皮损情况

2.2 对大鼠搔抓次数的影响 与正常组比较,模型组大鼠搔抓次数增多($P < 0.05$)。与模型组比较,复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组大鼠搔抓次数减少($P < 0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组比较,联合组大鼠搔抓次数均减少($P < 0.05$)。见图 2。



注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$;与复方嗜酸乳杆菌组比较,Δ $P < 0.05$;与马齿苋组比较,∇ $P < 0.05$; $n = 10, \bar{x} \pm s$ 。

图 2 各组大鼠搔抓次数比较

2.3 对大鼠外周血 IL-4 及 IFN- γ 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠 IL-4 水平升高,IFN- γ 水平降低($P < 0.05$)。与模型组比较,复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组大鼠 IL-4 水平降低,IFN- γ 水平升高($P < 0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组比较,联合组大鼠 IL-4 水平降低,IFN- γ 水平升高($P < 0.05$)。见表 1。

2.4 对大鼠肠道菌群丰度的影响 各组大鼠肠道菌群均由厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinomycetota)及拟杆菌门(Bacteroidota)等组成。与正常组相比,模型组厚壁菌门丰度增加,与模型组相比,复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组厚壁菌门丰度均降低,其中以联合组厚壁菌门丰度最低。见图 3。

2.5 对大鼠皮损组织病理形态的影响 正常组大鼠表皮角化正常,真皮乳头层未见水肿、未见炎症细胞浸

表 1 各组大鼠外周血 IL-4、IFN- γ 水平比较($n = 10, \bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	IL-4	IFN- γ
正常组	12.23±2.60	165.88±36.09
模型组	127.80±26.50*	47.11±11.05*
复方嗜酸乳杆菌组	85.54±17.16*#	84.05±15.20*#
马齿苋组	88.41±19.03*#	85.20±16.60*#
联合组	51.20±10.60*#Δ∇	135.70±29.67*#Δ∇

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$;与复方嗜酸乳杆菌组比较,Δ $P < 0.05$;与马齿苋组比较,∇ $P < 0.05$ 。

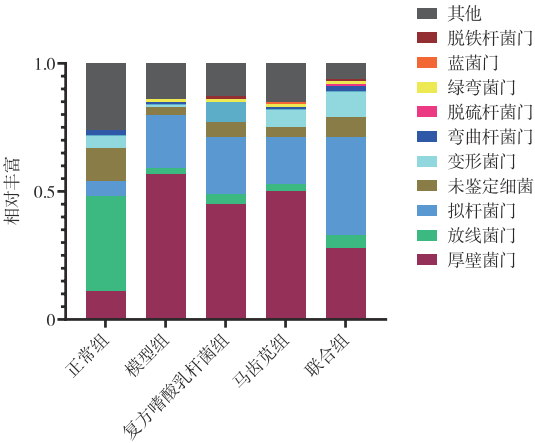


图 3 各组大鼠肠道菌群丰度比较

润;模型组大鼠存在表皮角化,且存在大量炎症细胞浸润,部分伴随纤维增生及血管增生;复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组大鼠表皮炎症细胞逐渐消失,皮肤结构逐渐清楚;联合组大鼠仅在真皮层可见到少许炎症,水肿消失,病理形态改善程度最佳。见图 4。

2.6 对大鼠皮损组织 cAMP、PKA 蛋白水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平降低($P < 0.05$)。与模型组比较,复方嗜酸乳杆菌组大鼠 cAMP、

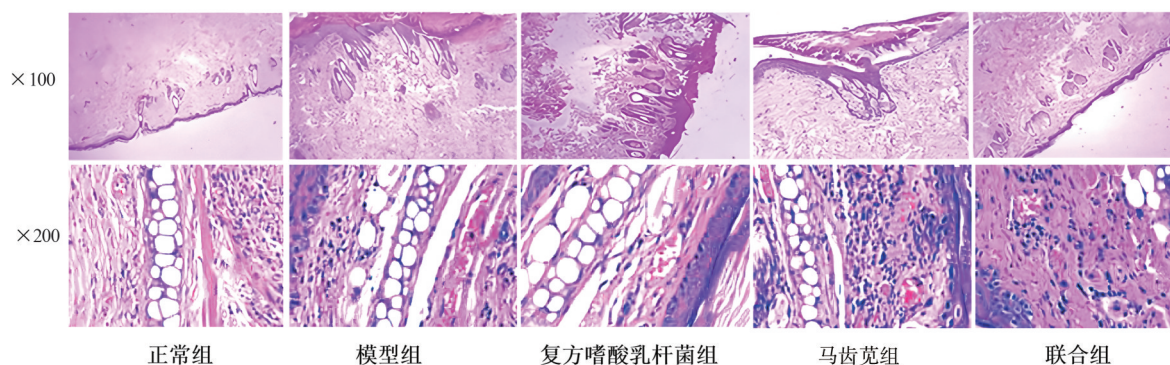


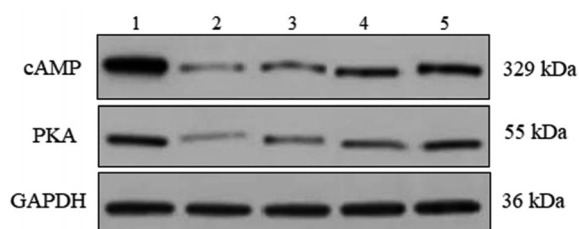
图4 各组大鼠皮损组织病理形态比较(苏木精-伊红染色)

PKA 蛋白水平升高($P<0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组比较,马齿苋组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平升高($P<0.05$)。与复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组比较,联合组大鼠 cAMP、PKA 蛋白水平升高($P<0.05$)。见表2,图5。

表2 各组大鼠皮损组织 cAMP、PKA 蛋白水平比较
($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	cAMP	PKA
正常组	1.63 ± 0.20	1.18 ± 0.19
模型组	$0.71 \pm 0.11^*$	$0.55 \pm 0.08^*$
复方嗜酸乳杆菌组	$0.96 \pm 0.13^{*#}$	$0.79 \pm 0.12^{*#}$
马齿苋组	$1.23 \pm 0.15^{*#\Delta}$	$0.92 \pm 0.13^{*#\Delta}$
联合组	$1.44 \pm 0.19^{*#\Delta\nabla}$	$1.02 \pm 0.15^{*#\Delta\nabla}$

注:cAMP为环腺苷酸,PKA为蛋白激酶A。与正常组比较, $*P<0.05$;与模型组比较, $#P<0.05$;与复方嗜酸乳杆菌组比较, $\Delta P<0.05$;与马齿苋组比较, $\nabla P<0.05$ 。



注:cAMP为环腺苷酸,PKA为蛋白激酶A,GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶,1为正常组,2为模型组,3为复方嗜酸乳杆菌组,4为马齿苋组,5为联合组。

图5 各组大鼠皮损组织相关蛋白条带图

3 讨论

中医理论认为“肺与大肠相表里”^[10]。湿疹的中医发病机制主要归因于内外因相互作用。内因多责之于先天禀赋不足,脾虚湿蕴,或情志失调导致肝胆郁热;外因则与风、湿、热邪侵袭相关。病位主要在肺、肠。肺主皮毛,司卫外,肺气不足则腠理疏松,外邪易袭肌肤;大肠主传导,与肺经络相连,肠腑湿热可通过经气上熏于肺,外达皮毛而诱发湿疹^[11]。临床常见肠燥便秘者湿疹易发,此乃腑气不通致肺失宣降,浊毒内蕴外泛肌肤所致。治疗当遵循“急则治标,缓则治本”原则,

采用疏风清热、燥湿止痒等法。

复方嗜酸乳杆菌片内存在活力细菌,在肠道定植可调节宿主肠道共生菌,并提高免疫反应。同时,还可改善菌群保持其平衡状态。研究^[12]表明,在常规治疗的基础上采用益生菌治疗可显著降低湿疹患儿皮疹密度、皮损程度及减少复发。马齿苋具有广泛的药用价值,《本草纲目》记载其可散血消肿、解毒通淋,用于治疗湿疹历史悠久^[13]。研究^[14]显示,马齿苋可显著减轻大鼠湿疹病变程度,减少湿疹大鼠皮肤致敏因子及炎症因子,增加大鼠皮肤丝聚蛋白及其基因表达,认为马齿苋可显著对抗大鼠皮肤湿疹病变,其机制可能与降低湿疹炎症因子和瘙痒相关因子表达以及上调皮肤屏障系统中丝聚蛋白表达有关。复方嗜酸乳杆菌抑制IgE过度产生,马齿苋提取物降低促炎性细胞因子释放,二者协同可改善湿疹的免疫失调和屏障功能障碍。本研究结果显示,与模型组相比,复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组皮损情况及搔抓次数均降低,说明复方嗜酸乳杆菌及马齿苋提取物均可改善皮损情况,但联合组的效果优于复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组,提示复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取物可显著减少湿疹大鼠皮损及瘙痒。

湿疹发病机制较复杂^[15-16],其中辅助性T细胞Th1与Th2分泌失衡是主要病理机制。IFN- γ 可加快Th0细胞向Th1细胞分化,阻断Th2细胞因子产生,而纠正Th2细胞倾斜的免疫失衡^[17]。另有研究^[18]表明,肠道菌群紊乱可能与机体Th2细胞亢进相关,提示肠道菌群是诱发湿疹的主要原因。益生菌中乳酸菌及双歧杆菌可快速进入肠道而实现对肠道菌群的调节作用,有利于改善免疫紊乱^[19]。在湿疹大鼠中马齿苋提取液可显著抑制IgE的释放,并调节细胞免疫恢复Th1/Th2细胞平衡,进一步控制病情^[20]。研究^[21]显示,文氏马齿苋汤对菌群的调节作用显著,并能降低急性湿疹IL-4水平,升高IFN- γ 水平,改善急性湿疹症状。本研究结果表明,模型组大鼠皮损组织中IL-4水平升高,IFN- γ 水平降低,经治疗后,复方嗜酸乳杆菌组及马齿苋组IL-4水平降

低,IFN- γ 水平升高,但联合组指标改善最显著。同时,模型组厚壁菌门丰度增加,与模型组相比,复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组厚壁菌门丰度均降低,其中以联合组厚壁菌门丰度最低,提示复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液可改善免疫功能并调节肠道菌群紊乱。

cAMP通过活化依赖的PKA使cAMP反元件结合蛋白(CREB)磷酸化,从而调节基因转录,广泛参与各种生物学功能。研究^[22]显示,cAMP/PKA信号通路表达降低而参与湿疹的发生发展。cAMP水平升高能阻止T淋巴细胞的过度增殖与分化,减少其释放促炎性细胞因子(如IL-4),可进一步减轻湿疹免疫反应过程中导致的皮肤炎症。PKA是cAMP信号通路的主要下游效应分子,PKA可磷酸化并激活转录因子CREB,调节与皮肤炎症和免疫反应相关的基因表达。本研究结果显示,与模型组相比,复方嗜酸乳杆菌组、马齿苋组及联合组cAMP、PKA蛋白水平均升高,且联合组最高,提示复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液具有调节cAMP/PKA的作用。

综上所述,复方嗜酸乳杆菌片联合马齿苋提取液可改善湿疹大鼠肠道菌群紊乱,恢复Th1/Th2免疫平衡,并通过激活cAMP/PKA信号通路而缓解皮损。其具体的分子机制尚有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] THYSSEN J P, SCHUTTELAAR M L A, ALFONSO J H, et al. Guidelines for diagnosis, prevention, and treatment of hand eczema [J]. *Contact Dermatitis*, 2022, 86(5): 357-378.
- [2] ZHANG L, LIN S, ZHENG Y, et al. Matrine regulates Th1/Th2 balance to treat eczema by upregulating Interferon- γ [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2020, 20(6): 3378-3386.
- [3] 丁冬梅, 费建飏. 双歧杆菌联合肤痔清软膏治疗儿童湿疹的疗效及对患儿肠道菌群、免疫功能的影响[J]. *海南医学*, 2021, 32(19): 2533-2536.
- [4] GUAN Q, WANG Z, HU K, et al. Melatonin ameliorates hepatic Ferroptosis in NAFLD by inhibiting ER stress via the MT2/cAMP/PKA/IRE1 signaling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(12): 3937-3950.
- [5] WITTMANN M, HELLIWELL P S. Phosphodiesterase 4 inhibition in the treatment of psoriasis, psoriatic arthritis and other chronic inflammatory diseases [J]. *Dermatol Ther (Heidelb)*, 2013, 3(1): 1-15.
- [6] 孙卓然, 李静. 基于“肺与大肠相表里”理论推拿治疗小儿湿疹探析[J]. *中医外治杂志*, 2023, 32(2): 121-123.
- [7] 韩晨曦. 益生菌的早期应用对新生儿湿疹的预防作用[D]. 唐山: 华北理工大学, 2019.
- [8] 武亦阁, 贺乙, 范丽娜, 等. 消风散及其拆方对急性湿疹模型豚鼠表皮通透屏障功能障碍的影响[J]. *中医杂志*, 2022, 63(14): 1374-1380.
- [9] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [10] 李奕蓁, 柳越冬. 基于“肺与大肠相表里”理论从血瘀角度探析溃疡性结肠炎[J]. *上海中医药杂志*, 2025, 59(4): 25-29.
- [11] 林羽贞, 王钊杰, 武洪辉, 等. 基于“肺与大肠相表里”论王有鹏教授治疗寒地儿童湿疹经验[J]. *中国中西医结合儿科学*, 2024, 16(6): 540-543.
- [12] 文文兵, 林敏, 张浩, 等. 益生菌联合糖皮质激素治疗婴儿湿疹的疗效观察和免疫学机制分析[J]. *实用中西医结合临床*, 2023, 23(22): 35-38.
- [13] 景明夷. 文氏马齿苋汤治疗急性湿疹(湿热蕴肤证)临床观察及机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- [14] 胡一梅, 葛一漫, 王华, 等. 马齿苋对急性湿疹瘙痒的干预研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(12): 2017-2023.
- [15] 金真率. 子母配穴针刺联合中药对亚急性湿热浸淫型湿疹的疗效观察[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
- [16] 邹文君, 王宝成, 都荣, 等. 基于从脾治皮、分消走泄运用一和三清小儿推拿治疗婴幼儿湿疹[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2020, 18(13): 42-45.
- [17] WEN J, CHENG S, WANG R, et al. Group 2 innate lymphoid cells boost CD8⁺T-cell activation in anti-tumor immune responses [J]. *Oncoimmunology*, 2023, 12(1): 2243112.
- [18] 张维维, 章惠彬, 刘云凤, 等. 湿疹患儿肠道菌群改变及其与Th1/Th2、Th17/Treg免疫平衡的相关关系[J]. *全科医学临床与教育*, 2019, 17(6): 526-528.
- [19] 王若涵. 肠道菌群紊乱模型小鼠皮肤湿疹样改变的相关机制研究[D]. 桂林: 桂林医学院, 2014.
- [20] 胡一梅, 葛一漫, 雍江堰, 等. 马齿苋提取液通过IL-4途径对急性湿疹大鼠皮肤屏障功能和免疫反应的调控作用[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(8): 1793-1795.
- [21] 邹瑾, 景明夷, 朱宝华, 等. 文氏马齿苋汤对急性湿疹小鼠血清IgE、IL-2和IL-5的影响[J]. *中医药信息*, 2023, 40(12): 14-17.
- [22] 王首帆, 徐宜厚, 徐爱琴, 等. 黄芩苷调节cAMP/PKA/CREB信号通路对湿疹大鼠皮肤屏障功能的影响[J]. *天津医药*, 2024, 52(2): 148-153.

编辑: 季春来

收稿日期: 2024-09-28