养血解毒方对慢性银屑病小鼠皮损组织驻留记忆 T 细胞的影响*

陈岩，刘雨琛，马慧可，赵京霞

首都医科大学附属北京中医医院/北京市中医药研究所/银屑病中医临床基础研究北京市重点实验室，北京 100010

摘要：目的：探讨养血解毒方对咪喹莫特诱导的慢性银屑病小鼠皮损组织驻留记忆 T 细胞（tissue resident memory T cell，TRM）浸润的影响。方法：从 24 只 Balb/c 小鼠中随机选取 6 只作为正常组，其余小鼠在背部皮肤涂抹 5% 咪喹莫特乳膏，每日 42 mg，连续 5 d，制备慢性银屑病模型。将造模成功的小鼠随机分为模型组、养血解毒方组（YXJD，24.57 g·kg^{-1}）和甲氨蝶呤组（methotrexate，MTX，1 mg·kg^{-1}），每组 6 只。从第 6 天开始，除正常组外，其余小鼠均隔天同量涂抹咪喹莫特乳膏至第 14 天。各组小鼠以纯净水或相应药物灌胃，持续 7 d。采用 PASI 评分判断小鼠皮损程度；HE 染色观察小鼠皮损组织病理形态；ELISA 法检测小鼠血清白细胞介素（interleukin，IL）－17、肿瘤坏死因子－α（tumor necrosis factor－α，TNF－α）、IL－22 含量；免疫荧光法检测小鼠皮损组织 Ki67 表达水平和 $CD8^+CD103^+$ T 细胞数目；荧光定量 PCR 法检测小鼠皮损组织中 *IL－17A*、*IL－17F*、*IL－22*、*Fabp4*、*Fabp5*、*CD36* 基因表达水平。结果：实验第 6 天与第 14 天，与正常组比较，模型组小鼠的背部皮损红斑、鳞屑、增厚评分及总 PASI 评分升高（$P<0.01$）；与模型组比较，YXJD 组和 MTX 组小鼠的背部皮损红斑、鳞屑、增厚评分及总 PASI 评分降低（$P<0.01$）。HE 染色显示，正常组小鼠的皮肤表皮层较薄，真皮层中淋巴细胞浸润较少。与正常组比较，模型组小鼠的表皮层增厚（$P<0.01$），真皮中大量淋巴细胞浸润。与模型组比较，YXJD 组和 MTX 组小鼠的表皮厚度降低（$P<0.01$），真皮中淋巴细胞浸润减少。与正常组比较，模型组小鼠皮损组织中 Ki67 蛋白表达水平和 $CD8^+CD103^+$ T 细胞数目增加（$P<0.01$）。与模型组比较，YXJD 组和 MTX 组小鼠皮损组织中 Ki67 蛋白表达水平和 $CD8^+CD103^+$ T 细胞数目减少（$P<0.01$）。与正常组比较，模型组小鼠血清 IL－17、TNF－α 含量升高（$P<0.01$）；与模型组比较，YXJD 组和 MTX 组小鼠血清 IL－17、TNF－α 含量降低（$P<0.01$）。与正常组比较，模型组小鼠皮损组织 *IL－17A*、*IL－17F*、*IL－22*、*Fabp4*、*Fabp5*、*CD36* 基因表达水平升高，经 YXJD 治疗后逆转（$P<0.05$）。结论：养血解毒方可改善慢性银屑病小鼠皮损程度，其机制可能与降低 Fabp4/5 表达及抑制 TRM 浸润有关。

关键词：养血解毒方；慢性银屑病；组织驻留记忆 T 细胞；免疫浸润
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.03.103
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999（2025）03－0628－07

Effects of Yangxue Jiedu Formula on Skin Lesion Tissue－resident Memory T Cells in Mice with Chronic Psoriasis

CHEN Yan，LIU Yuchen，MA Huike，ZHAO Jingxia

Traditional Chinese Medicine Hospital of Beijing Affiliated to Capital Medical University/Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine/Beijing Key Laboratory of Clinical Basic Research of Traditional Chinese Medicine for Psoriasis，Beijing China 100010

Abstract：Objective：To investigate the effect of Yangxue Jiedu Formula on imiquimod－induced infiltration of tissue resident memory T cells（TRM）in skin lesions of chronic psoriasis mice. Methods：A chronic psoriasis model was prepared by randomly selecting 6 out of 24 Balb/c mice as the normal group，and the rest of the mice were coated with 5% imiquimod cream，42 mg per day for 5 d on the back skin. The successfully modeled mice were randomly divided into model group，Yangxue Jiedu Formula group（YXJD，24.57 g· kg^{-1}）and the methotrexate group（methotrexate，MTX，1 mg·kg^{-1}），with 6 mice in each group. Starting from day 6，imiquimod cream was

* **基金项目**：国家自然科学基金项目（82074434）

applied in the same amount every other day until day 14 in all mice except the normal group. The mice in each group were gavaged with pure water or corresponding drugs for 7 d. The PASI score was used to determine the degree of skin lesions in mice; HE staining was used to observe the histopathological morphology of the skin lesions in mice; ELISA was used to detect the levels of interleukin (IL) - 17, tumor necrosis factor - α (TNF - α) and IL - 22; immunofluorescence was performed to determine the levels of IL - 22 and TNF - α in the blood serum of mice, IL - 22; Ki67 expression level and $CD8^+CD103^+$ T - cell number were detected by immunofluorescence; *IL - 17A*, *IL - 17F*, *IL - 22*, *Fabp4*, *Fabp5*, *CD36* gene expression level was detected by fluorescence quantitative PCR in mouse skin lesion tissues. Results: On day 2 and day 14 of the experiment, the erythema, scaling, thickening scores and total PASI scores of the back skin lesions of the mice in the model group were elevated compared with those of the normal group ($P < 0.01$); the erythema, scaling, thickening scores and total PASI scores of the back skin lesions of the mice in the YXJD group and the MTX group decreased compared with those of the model group ($P < 0.01$). HE staining showed that the skin of the normal group mice epidermis was thinner, and there was less lymphocyte infiltration in the dermis. Compared with the normal group, mice in the model group had a thickened epidermal layer ($P < 0.01$) and many lymphocytes infiltrated in the dermis. Compared with the model group, mice in the YXJD and MTX groups had reduced epidermal thickness ($P < 0.01$) and decreased lymphocyte infiltration in the dermis. Compared with the normal group, the expression of Ki67 protein and the number of $CD8^+CD103^+$ T cells increased in the skin lesion tissues of mice in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the Ki67 protein expression and the number of $CD8^+CD103^+$ T cells in the skin lesion tissues of mice in the YXJD and MTX groups decreased ($P < 0.01$). Compared with the normal group, the serum IL - 17 and TNF - α levels of mice in the model group were elevated ($P < 0.01$); compared with the model group, the serum IL - 17 and TNF - α expression of mice in the YXJD and MTX groups decreased ($P < 0.01$). Compared with the normal group, mice in the model group had elevated levels of *IL - 17A*, *IL - 17F*, *IL - 22*, *Fabp4*, *Fabp5*, and *CD36* gene expression in skin lesion tissues, which were reversed after YXJD treatment ($P < 0.05$). Conclusion: Yangxue Jiedu Formula can improve the degree of skin lesions in chronic psoriasis mice, and its mechanism may be related to the reduction of Fabp4/5 expression and inhibition of TRM infiltration.

Key words: Yangxue Jiedu Formula; chronic psoriasis; tissue - resident memory T cells; immune infiltration

银屑病是一种慢性、复发性、炎症性皮肤病，以表皮角质形成细胞的异常增殖和免疫细胞的浸润为主要特征[1]。该病病程通常呈现波动性，患者常常经历急性发作和缓解期交替的过程[2]。尽管现有治疗手段可在一定程度上缓解症状，但银屑病仍难以彻底治愈，且易复发，给患者带来长期的生理和心理负担[3]。

研究表明，组织驻留记忆 T 细胞（tissue resident memory T cell，TRM）在银屑病的发病机制中具有重要作用[4]。TRM 细胞在银屑病皮损部位高度聚集，并通过分泌 IL - 17 等细胞因子，持续激活局部免疫反应，从而导致慢性炎症和皮肤病变[5]。这些细胞可在皮肤中长期驻留，可能是银屑病反复发作的重要原因之一[6]。

养血解毒方是首都医科大学附属北京中医医院治疗银屑病的常用方剂，其临床疗效已在多项研究中得到验证。研究表明，该方剂能够显著改善银屑病患者的皮损情况，降低 PASI 评分，并减少疾病复发率，但其具体作用机制尚不明确。据此，本研究利用咪喹莫特诱导的小鼠慢性银屑病模型，探索养血解毒方对皮损组织 TRM 浸润的影响，为该方的临床应用提供基础依据。

1　材料

1.1　动物　Balb/c 雌性小鼠，体质量 20 ~ 22 g，购买于斯贝福（北京）生物技术有限公司，许可证号：SCXK（京）2020 - 0004。小鼠饲养于北京市中医药研究所 SPF 级动物室，常规进食与饮水。本实验经北京市中医药研究所动物福利伦理委员会批准，伦理审批编号：2020090201。

1.2　药物与试剂　养血解毒方（中药饮片由首都医科大学附属北京中医医院中药房提供）；咪喹莫特乳膏（四川明欣药业有限责任公司，批号：20100319）；甲氨蝶呤片（上海信谊药厂有限公司，批号：192300803）；Ki - 67 抗体（Cell Signaling Technology，批号：9129S）；苏木精 - 伊红染色液（Sigma - Aldrich，批号：R03040）；白细胞介素（interleukin，IL）- 17、肿瘤坏死因子 - α（tumor necrosis factor - α，TNF - α）、IL - 22 ELISA 试剂盒（R&D Systems，批号：M1700、MTA00B、M2200）；CD103 抗体（Abcam，批号：ab224202）；CD8 - α 抗体（Santa，批号：sc - 7970）；Alexa Fluor® 488 山羊抗兔抗体、Alexa Fluor® 594 山羊抗小鼠抗体（Jacksonimmuno，批号：111 - 545 - 003、115 - 585 - 003）。

1.3　仪器与设备　数码相机（SONY，型号：ILCE - 6000）；组织脱水机、包埋机、HE 半自动染色仪（德国 Leica 公司，型号：ASP300S、EG1140C、AUTOSTAINERXL）；正置荧光显微镜及图像分析系统（德国 Zeiss 公司，型号：IMAGER Z2）；流式细胞仪

(BECKMAN COULTER,型号:CytoFLEX);离心机(SIGMA,型号:3-18K)。

2　方法

2.1　分组、造模及给药　从 24 只 Balb/c 小鼠中随机选取 6 只作为正常组,其余小鼠在背部皮肤涂抹 5% 咪喹莫特乳膏,每日 42 mg,连续 5 d 至出现银屑病样皮损,即为慢性银屑病模型复制成功[7]。将造模成功的小鼠随机分为模型组、养血解毒方组(24.57 g·kg^{-1})和甲氨蝶呤组(1 mg·kg^{-1}),每组 6 只。从第 6 天开始,除正常组外,其余小鼠均隔天同量涂抹咪喹莫特乳膏至第 14 天。各组小鼠以纯净水或相应药物灌胃,持续 7 d 后取材。

2.2　小鼠银屑病样皮损面积和疾病严重程度(psoriasis area and severity index,PASI)评分　使用相机记录每日小鼠的皮损表现,并依据 PASI 评分标准对皮损处红斑(E)、鳞屑(D)及浸润增厚程度(I)进行评分,将三者评分相加即得到总评分。PAIS 评分标准如下:0:无;1:轻度;2:中度;3:重度;4:极重度。

2.3　苏木精-伊红(hematoxylin eosin,HE)染色观察小鼠皮损组织病理形态　取小鼠皮损组织,固定于 10% 福尔马林中,进行脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色等操作。每个标本选 4 张染色切片观察皮损组织病理学改变,并采用 ZEN 图像分析系统测量表皮厚度。

2.4　ELISA 法检测小鼠血清细胞因子含量　严格按照 ELISA 试剂盒说明书的步骤进行操作,对各组小鼠血清中细胞因子 IL-17、TNF-α、IL-22 含量进行定量分析。

2.5　免疫荧光法检测小鼠皮损组织表皮细胞增殖和 TRM 细胞浸润情况　石蜡切片经脱蜡及抗原修复后,用过氧化物酶封闭液室温封闭 10 min,10% 山羊血清 37 ℃孵育 30 min 后,Ki67(1∶400)、CD8(1∶50)、CD103(1∶100)一抗孵育过夜;荧光二抗(1∶500)37 ℃孵育 1 h 后,用含 DAPI 的封片剂封片,显微镜下采集、分析图像。

2.6　荧光定量 PCR 法检测小鼠皮损组织 *IL-17A*、*IL-17F*、*IL-22*、*Fabp4*、*Fabp5*、*CD36* 基因表达水平　采用超纯 RNA 提取试剂盒提取小鼠皮损组织中总 RNA,并进行反转录。采用荧光定量 PCR 仪,用荧光 UltraSYBR Mixture 嵌合荧光法进行 PCR 扩增。采用 $2^{-\triangle\triangle CT}$ 法计算目的基因 *IL-17A*、*IL-17F*、*IL-22*、*Fabp4*、*Fabp5*、*CD36* 的相对表达量。引物序列见表 1。

2.7　统计学方法　采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据分析,正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组数据比较使用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

表 1　引物序列

基因	上游(5′-3′)	下游(5′-3′)
IL-17A	CAGACTACCTCAACCGTTCCA	ACAATCGAGGCCACGCAGGTGCAGC
IL-17F	TGCTACTGTTGATGTTGGGAC	AATGCCCTGGTTTTGGTTGAA
IL-22	CGTCAACCGCACCTTTAT	AGGGCTGGAACCTGTCTG
Fabp4	AGCGTAAATGGGGATTTGGTC	TTCCTGTCGTCTGCGGTGAT
Fabp5	AATGGGACGGGAAGGAGA	CCAGGATGACGAGGAAGC
CD36	TGCTGGAGCTGTTATTGGTG	CATGAGAATGCCTCCAAACA
β-actin	CCATCTACGAGGGCTATGCT	CTTTGATGTCACGCACGATT

3　结果

3.1　养血解毒方对小鼠皮损程度及 PASI 评分的影响　正常组小鼠背部皮肤光滑,呈肉红色。随着造模时间延长,模型组小鼠背部皮肤逐渐出现明显的红斑和鳞屑。与模型组比较,养血解毒方组和甲氨蝶呤组小鼠的背部皮损程度减轻,红斑减少,见图 1。

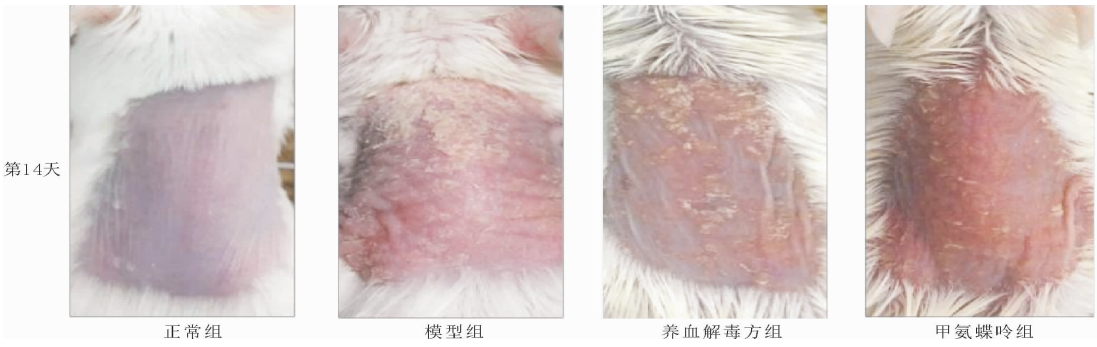


图 1　各组小鼠背部皮损组织形态图

实验第 6 天与第 14 天，与正常组比较，模型组小鼠的背部皮损红斑、鳞屑、增厚评分及总 PASI 评分升高（$P<0.01$）；与模型组比较，养血解毒方组和甲氨蝶呤组小鼠的背部皮损红斑、鳞屑、增厚评分及总 PASI 评分降低（$P<0.01$），见表 2—表 5。

表 2　各组小鼠不同时间背部皮损红斑 PASI 评分比较　（$\bar{x}\pm s$，分）

组别	n	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天	第 10 天	第 12 天	第 14 天
正常组	6	0.09 ± 0.02	0.03 ± 0.05	0.02 ± 0.03**	0	0	0	0**
模型组	6	0.83 ± 0.08	2.30 ± 0.09	2.23 ± 0.05	2.28 ± 0.04	2.05 ± 0.14	2.20 ± 0.09	2.10 ± 0.06
养血解毒方组	6	0.80 ± 0.09	1.70 ± 0.06	1.68 ± 0.08**	1.70 ± 0.06	1.58 ± 0.04	1.57 ± 0.05	1.57 ± 0.05**
甲氨蝶呤组	6	0.67 ± 0.05	1.75 ± 0.08	1.70 ± 0.09**	1.80 ± 0.09	1.57 ± 0.05	1.68 ± 0.04	1.70 ± 0.04**

注：与模型组比较，**$P<0.01$。

表 3　各组小鼠不同时间背部皮损鳞屑 PASI 评分比较　（$\bar{x}\pm s$，分）

组别	n	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天	第 10 天	第 12 天	第 14 天
正常组	6	0	0	0.06 ± 0.10**	0	0	0	0**
模型组	6	0.28 ± 0.15	1.35 ± 0.10	2.30 ± 0.11	2.22 ± 0.12	2.10 ± 0.09	1.93 ± 0.16	1.68 ± 0.10
养血解毒方组	6	0.22 ± 0.08	0.72 ± 0.12	0.95 ± 0.10**	0.97 ± 0.14	0.95 ± 0.15	0.97 ± 0.19	0.68 ± 0.10**
甲氨蝶呤组	6	0.25 ± 0.06	0.92 ± 0.18	1.70 ± 0.09**	1.62 ± 0.10	1.70 ± 0.14	1.60 ± 0.09	1.05 ± 0.05**

注：与模型组比较，**$P<0.01$。

表 4　各组小鼠不同时间背部皮损增厚 PASI 评分比较　（$\bar{x}\pm s$，分）

组别	n	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天	第 10 天	第 12 天	第 14 天
正常组	6	0	0	0.03 ± 0.03**	0	0.07 ± 0.04	0.03 ± 0.04	0**
模型组	6	0.52 ± 0.12	1.83 ± 0.15	2.25 ± 0.15	2.18 ± 0.15	2.17 ± 0.09	2.12 ± 0.07	2.08 ± 0.07
养血解毒方组	6	0.30 ± 0.09	1.27 ± 0.12	1.30 ± 0.11**	1.32 ± 0.10	1.32 ± 0.10	1.27 ± 0.14	1.28 ± 0.04**
甲氨蝶呤组	6	0.28 ± 0.10	1.43 ± 0.08	1.83 ± 0.16**	1.58 ± 0.10	1.65 ± 0.18	1.57 ± 0.10	1.53 ± 0.08**

注：与模型组比较，**$P<0.01$。

表 5　各组小鼠不同时间背部皮损总 PASI 评分比较　（$\bar{x}\pm s$，分）

组别	n	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天	第 10 天	第 12 天	第 14 天
正常组	6	0.09 ± 0.02	0.03 ± 0.05	0.12 ± 0.09**	0	0.07 ± 0.04	0.03 ± 0.04	0**
模型组	6	1.63 ± 0.19	5.48 ± 0.19	6.78 ± 0.18	6.68 ± 0.22	6.32 ± 0.22	6.25 ± 0.22	5.87 ± 0.16
养血解毒方组	6	1.32 ± 0.15	3.38 ± 0.22	3.90 ± 0.21**	3.97 ± 0.22	3.85 ± 0.16	3.80 ± 0.23	3.58 ± 0.15**
甲氨蝶呤组	6	1.20 ± 0.14	4.10 ± 0.06	5.23 ± 0.15**	5.00 ± 0.21	4.92 ± 0.26	4.85 ± 0.20	4.28 ± 0.12**

注：与模型组比较，**$P<0.01$。

3.2　养血解毒方对小鼠皮损组织病理形态的影响

HE 染色显示，正常组小鼠的皮肤表皮层较薄，真皮层中淋巴细胞浸润较少。与正常组比较，模型组小鼠的表皮层增厚（$P<0.01$），棘层肥厚，表皮上层细胞角化不全，真皮层中大量淋巴细胞浸润，呈现出典型的银屑病样病理改变。与模型组比较，养血解毒方组和甲氨蝶呤组小鼠的表皮厚度降低（$P<0.01$），真皮层中淋巴细胞浸润减少，见表 6、图 2。

表 6　各组小鼠皮损组织表皮厚度比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	表皮厚度（d/μm）
正常组	6	9.45 ± 1.37**
模型组	6	83.53 ± 13.45
养血解毒方组	6	42.09 ± 5.29**
甲氨蝶呤组	6	45.08 ± 6.21**
F 值		88.39
P 值		0.000

注：与模型组比较，**$P<0.01$。

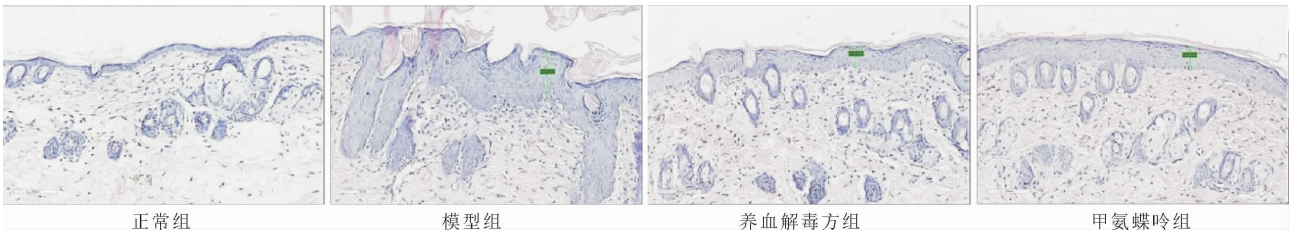


图 2　各组小鼠皮损组织 HE 染色图（×200）

3.3　养血解毒方对小鼠皮损组织 Ki67 表达的影响

免疫荧光检测显示，正常组小鼠皮肤组织中表皮基底层仅有少量 Ki67 阳性表达。与正常组比较，模型组小鼠皮损组织中 Ki67 蛋白表达水平增加（$P<0.01$）。与模型组比较，甲氨蝶呤组小鼠皮损组织中 Ki67 蛋白表达水平减少，呈单层线状分布（$P<0.01$）；与模型组比较，养血解毒方组小鼠皮损组织中 Ki67 蛋白表达水平减少（$P<0.01$），见图 3、表 7。

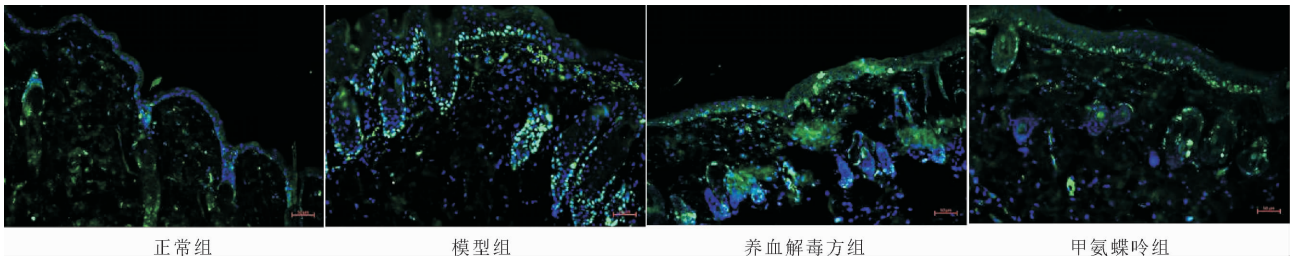


图 3　各组小鼠皮损组织 Ki67 蛋白免疫荧光染色图（×200）

3.4　养血解毒方对小鼠皮损组织 TRM 细胞浸润的影响

$CD8^+CD103^+$ T 细胞是皮肤中驻留记忆 T 细胞（TRM）的主要标志。免疫荧光结果显示，正常组小鼠皮肤组织真皮层中仅有少量 $CD8^+CD103^+$ T 细胞。与正常组比较，模型组小鼠皮损组织中 $CD8^+CD103^+$ T 细胞数目增加（$P<0.01$）。与模型组比较，养血解毒方组和甲氨蝶呤组小鼠皮损组织中 $CD8^+CD103^+$ T 细胞数目减少（$P<0.01$），见图 4、表 7。

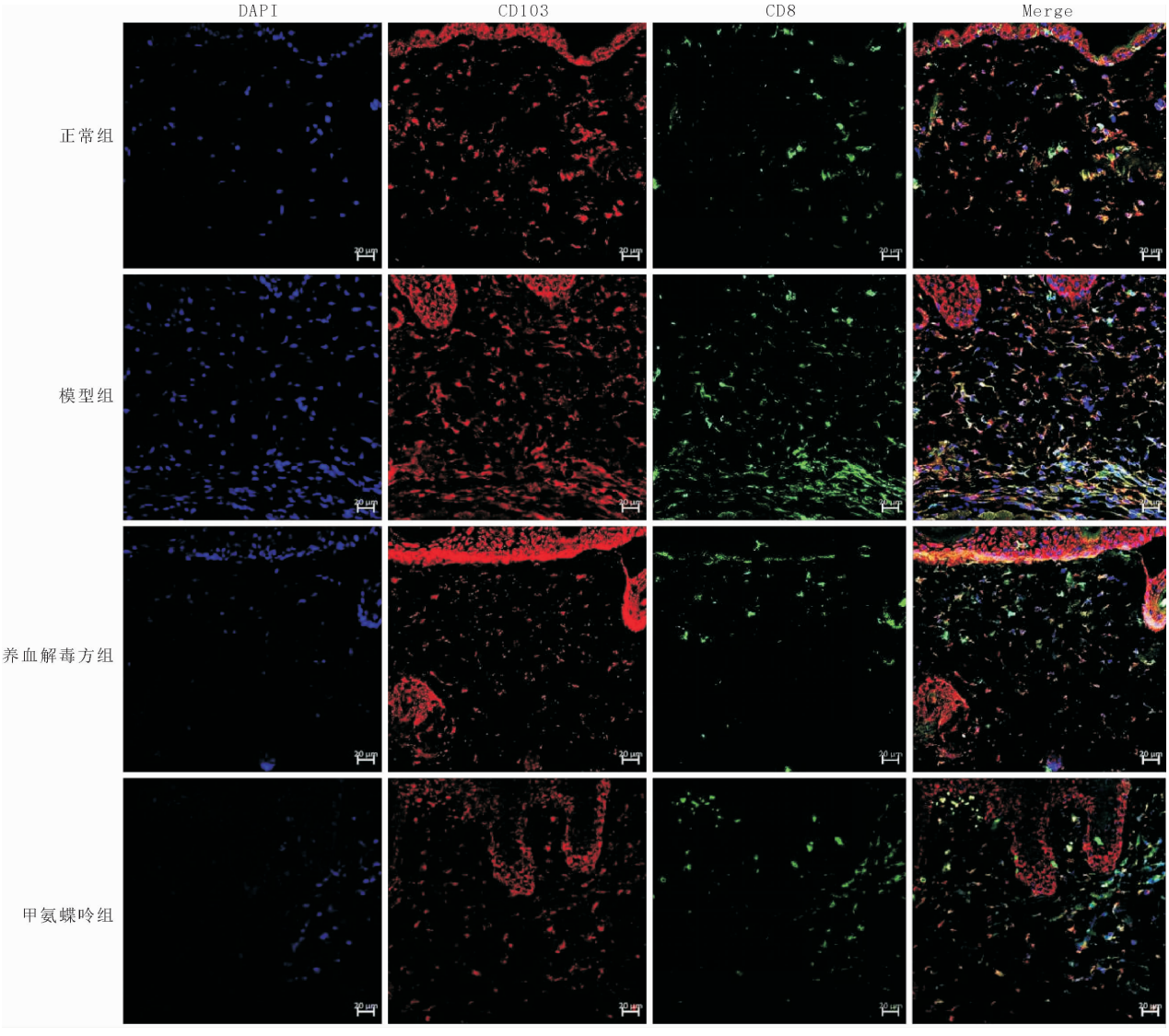


图 4　各组小鼠皮损组织 TRM（$CD8^+CD103^+$ T 细胞）免疫荧光染色图（×200）

表 7　各组小鼠皮损组织 Ki67 表达水平和 TRM 细胞浸润数目比较　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ki67 蛋白表达水平	$CD8^+CD103^+$ 阳性细胞数目
正常组	6	8.67 ± 3.27**	2.00 ± 1.26**
模型组	6	71.33 ± 10.97	19.33 ± 6.53
甲氨蝶呤组	6	34.33 ± 5.61**	4.17 ± 1.83**
养血解毒汤组	6	27.50 ± 6.63**	3.67 ± 1.97**
F 值		15.35	21.49
P 值		0.000	0.000

注：与模型组比较，** $P<0.01$。

3.5　养血解毒方对小鼠血清细胞因子含量的影响

与正常组比较，模型组小鼠血清 IL－17、TNF－α 含量升高（$P<0.01$）；与模型组比较，养血解毒方组和甲氨蝶呤组小鼠血清 IL－17、TNF－α 含量降低（$P<0.01$）。各组小鼠血清 IL－22 含量比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 8。

3.6　养血解毒方对小鼠皮损组织 *IL－17A*、*IL－17F*、*IL－22*、*Fabp4*、*Fabp5*、*CD36* 基因表达水平的影响

与正常组比较，模型组小鼠皮损组织 Th17 类细胞因子（*IL－17A*、*IL－17F*、*IL－22*）、*Fabp4*、*Fabp5* 及 *CD36* 基因表达水平升高（$P<0.01$）。与模型组比较，养血解毒方组和甲氨蝶呤组（*IL－17F* 除外）小鼠 *IL－17A*、*IL－17F*、*IL－22*、*Fabp4*、*Fabp5*、*CD36* 基因表达水平降低（$P<0.05$），见表 9。

表 8　各组小鼠血清细胞因子含量比较　($\bar{x} \pm s$, ng·L^{-1})

组别	n	IL－17 含量	TNF－α 含量	IL－22 含量
正常组	6	5.65 ± 1.72**	9.56 ± 3.05**	16.06 ± 5.73
模型组	6	19.58 ± 4.12	40.69 ± 6.33	23.36 ± 6.87
甲氨蝶呤组	6	7.86 ± 3.25**	15.33 ± 5.18**	18.51 ± 4.55
养血解毒汤组	6	6.62 ± 3.16**	12.29 ± 3.39**	19.62 ± 4.08
F 值		25.02	56.44	3.869
P 值		0.000	0.000	0.030

注：与模型组比较，** $P<0.01$。

表 9　各组小鼠皮损组织细胞因子、*Fabp4*、*Fabp5* 及 *CD36* 基因表达水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	*IL－17A* mRNA	*IL－17F* mRNA	*IL－22* mRNA	*Fabp4* mRNA	*Fabp5* mRNA	*CD36* mRNA
正常组	3	0.85 ± 0.24**	1.44 ± 0.23**	1.08 ± 0.22**	0.87 ± 0.36**	0.91 ± 0.56**	1.08 ± 0.69**
模型组	3	6.20 ± 1.10	7.88 ± 2.88	18.68 ± 5.49	10.64 ± 2.63	18.38 ± 3.54	36.66 ± 5.41
甲氨蝶呤组	3	3.11 ± 0.91**	5.24 ± 1.91	9.18 ± 1.31*	4.10 ± 1.94**	11.14 ± 1.56*	16.29 ± 2.78**
养血解毒汤组	3	2.17 ± 0.11**	2.43 ± 0.83*	7.96 ± 1.46**	3.91 ± 0.89**	10.36 ± 2.48**	10.88 ± 1.48**
F 值		31.98	8.03	18.50	17.51	28.79	68.19
P 值		0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000

注：与模型组比较，** $P<0.01$，* $P<0.05$。

4　讨论

银屑病是一种在特定遗传背景下，由感染、代谢紊乱、应激等内外环境因素诱发的慢性炎症性皮肤病，世界卫生组织已将其列为影响人类健康的重要疾病之一[8]。中医药治疗银屑病有着独特的优势，“从血论治”的血分辨证体系已得到广泛认可。一项大样本流行病学调查发现，血热证、血燥证、血瘀证为银屑病的基本证候，其中血燥证占 27.4%[9]。血燥证的病程绵长，皮损持续存在，难以消退，愈后易复发，是银屑病治疗的难点与重点之一。

赵炳南等当代名老中医一致认同“从血论治”银屑病的观点。赵炳南治疗血燥证，以养血解毒立法，自拟“白疕 2 号”，临床疗效确切[10]。通过分析当代医家治疗银屑病的医案发现，养血解毒为血燥证的主要治法[11]。在此基础上，北京中医医院皮肤科联合北京多家医院对血燥证进行深入系统的研究，在专家共识的基础上，形成银屑病血燥证的优化方案——养血解毒方（当归、玄参、鸡血藤、丹参、土茯苓、板蓝根、重楼、麦冬等）。本课题组采用前瞻性、多中心、随机对照研究观察中药内服方案治疗 350 例银屑病患者（血热证、血燥证、血瘀证）的临床疗效发现，血燥证组患者经养血解毒方治疗后疗效优于安慰剂组，8 周总有效率为 67.09%，PASI 评分优于安慰剂组[12]。以上研究证实，养血解毒方是治疗银屑病血燥证的有效方剂，值得进一步研究开发以及推广。

近年来，越来越多的研究发现 TRM 在银屑病的发病机制中扮演着关键角色。在异体皮片移植联合 T 细胞注射银屑病动物模型中，将银屑病患者皮损移植至免疫缺陷小鼠后，只有在移植皮片内联合注射从银屑病皮损处分离提取的 TRM，才能长期维持该模型的银屑病皮损表现，而非注射从银屑病患者血液中分离的 T 淋巴细胞[13]。临床研究发现，使用 E－selectin 抑制剂阻止循环 T 淋巴细胞向皮肤迁移，对银屑病的治疗是完全无效的[14]。另有研究发现，在银屑病皮损区，分泌 IL－17A 的 $CD8^+$ $CD103^+$ TRM 数量与皮损的厚度及病情严重程度呈正相关[15－16]，且 TRM 分泌 IL－17A 的能力与疾病病程呈正相关[16]。以上研究均提示，$CD8^+CD103^+$ TRM 细胞在银屑病皮损区域高度聚集，成为该疾病的重要标志之一。

本研究发现，在咪喹莫特诱导的小鼠慢性银屑病模型中，TRM 细胞数量显著增加，与疾病的严重程度密切相关，进一步证实了 TRM 细胞在银屑病发病中的重要作用。养血解毒方和甲氨蝶呤能够显著减少 $CD8^+CD103^+$ TRM 细胞的浸润（$P<0.01$），并降低血清中 IL－17A 和 TNF－α 含量，提示养血解毒方通过抑制 TRM 的浸润改善银屑病皮损。那么，养血解毒方通过何种机制抑制 TRM 在皮损区的长期驻留呢？早在 2017 年，相关研究揭示了 Fabp4/5 依赖的外源性脂肪酸代谢是 TRM 特有的在皮肤组织中长期存活的主要供能方式。本研究也证实，模型组小鼠皮损区 Fabp4/5 表达显著上调，养血解毒方可抑制 Fabp4/5 的表达。由此推测，养血解毒方可能通过干预 Fabp4/5 表达，抑制 TRM 在银屑病皮损的存活，从而治疗银屑病。

综上所述，养血解毒方可改善慢性银屑病小鼠的皮损程度，其机制可能与降低 Fabp4/5 表达及抑制 TRM 浸润有关，为该方的临床应用提供了科学依据。

参考文献：

[1] NESTLE F, KAPLAN D, BARKER J. Mechanisms of disease: psoriasis[J]. N Engl J Med, 2023, 361: 496－509.

[2] GRIFFITHS C E, BARKER J N. Pathogenesis and clinical features of psoriasis[J]. Lancet, 2007, 370(9583): 263－271.

[3] PARISI R, SYMMONS D P M, GRIFFITHS C E M, et al. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence[J]. J Invest Dermatol, 2013, 133(2): 377－385.

[4] CLARK R A. Resident memory T cells in human health and disease[J]. Sci Transl Med, 2015, 7(269): 269rv1.

[5] CHEUK S, WIKEN M, BLOMQVIST L, et al. Epidermal Th22 and Tc17 cells form a localized disease memory in clinically healed psoriasis[J]. J Immunol, 2014, 192(7): 3111－3120.

[6] PARK S L, CHRISTO S N, WELLS A C, et al. Divergent molecular networks program functionally distinct $CD8^+$ skin－resident memory T cells[J]. Science, 2023, 382(6674): 1073－1079.

[7] BAI J, GAO Y Y, CHEN L J, et al. Identification of a natural inhibitor of methionine adenosyltransferase 2A regulating one－carbon metabolism in keratinocytes[J]. EBioMedicine, 2019, 39: 575－590.

[8] BOEHNCKE W H, SCHON M P. Psoriasis[J]. Lancet, 2015, 386(9997): 983－994.

[9] ZHANG G Z, WANG J S, WANG P, et al. Distribution and development of the TCM syndromes in psoriasis vulgaris[J]. J Tradit Chin Med, 2009, 29(3): 195－200.

[10] 北京中医医院. 赵炳南临床经验集[M]. 北京：人民卫生出版社，1975.

[11] 吴元胜，张冰，袁娟娜，等. 基于关联规则的当代银屑病医案药－症数据挖掘分析[J]. 时珍国医国药，2012，23(11)：2890－2892.

[12] 陈维文，周冬梅，王萍，等. “辨血为主，从血论治”规范化方药辨证治疗寻常型银屑病研究[J]. 中华中医药杂志，2015，30(10)：3614－3618.

[13] GILHAR A, DAVID M, ULLMANN Y, et al. T－lymphocyte dependence of psoriatic pathology in human psoriatic skin grafted to SCID mice[J]. J Invest Dermatol, 1997, 109(3): 283－288.

[14] BHUSHAN M, BLEIKER T O, BALLSDON A E, et al. Anti－E－selectin is ineffective in the treatment of psoriasis: a randomized trial[J]. Br J Dermatol, 2002, 146(5): 824－831.

[15] VO S, WATANABE R, KOGUCHI－YOSHIOKA H, et al. CD8 resident memory T cells with interleukin 17A－producing potential are accumulated in disease－naïve nonlesional sites of psoriasis possibly in correlation with disease duration[J]. Br J Dermatol, 2019, 181(2): 410－412.

[16] KURIHARA K, FUJIYAMA T, PHADUNGSAKSAWASDI P, et al. Significance of IL－17A－producing $CD8^+$ $CD103^+$ skin resident memory T cells in psoriasis lesion and their possible relationship to clinical course[J]. J Dermatol Sci, 2019, 95(1): 21－27.

收稿日期：2024－11－18

作者简介：陈岩（1981－），女，山东菏泽人，医学硕士，主治医师，研究方向：中医药防治皮外科疾病。

通信作者：赵京霞（1981－），女，河南济源人，医学博士，研究员，研究方向：中医药防治皮肤病。E－mail：zhaojingxia@bjzhongyi.com

编辑：刘凯歌