·实验研究·

基于TLRs/MyD88/NF－κB信号通路探讨镇心安神方对特应性皮炎小鼠皮肤免疫屏障的作用及机制

吴启航[1]，杨洁[1*]，赵一丁[2]，乔园[1]

（1.陕西省中医药研究院，陕西 西安 710004；2.陕西省中医医院，陕西 西安 710004）

摘要　目的：基于TLRs/MyD88/NF－κB信号通路探讨镇心安神方对特应性皮炎模型小鼠皮肤免疫屏障的作用及机制。方法：BALB/c小鼠60只随机分为空白组、模型组、氯雷他定＋丁酸氢化可的松组及镇心安神方高、中、低剂量组，每组10只。采用1－氯－2，4－二硝基苯（DNCB）诱导建立特应性皮炎小鼠模型。灌胃给药1次/d，持续15 d。给药结束后，进行30 min搔抓次数检测，小鼠皮损程度评分，皮损组织病理检测，并采用ELISA法检测免疫球蛋白E（IgE）含量，Western Blot法检测皮损组织中TLR2、TLR4和MyD88蛋白表达水平。结果：与空白组比较，模型组小鼠的30 min搔抓次数显著升高（$P<0.01$）；皮损评分显著升高（$P<0.01$）；皮肤组织可见大面积表皮坏死脱落，细胞核碎裂；真皮层可见大面积坏死，细胞核碎裂，大量结缔组织增生，伴多量粒细胞浸润；多量毛囊坏死，结构消失，伴多量脂肪细胞浸润；真皮层至皮下组织分界不清，肌层坏死，结构消失，结缔组织增生，伴多量炎性细胞浸润；血清IgE水平显著增高（$P<0.01$）；皮损组织中TLR2、TLR4和MyD88蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，镇心安神方组小鼠的30 min搔抓次数显著降低（$P<0.05$），皮损评分显著降低（$P<0.05$，$P<0.01$），大多表皮完整，结构清晰，并可见角化层；真皮层胶原纤维排列整齐，皮肤附属器毛囊以及皮脂腺等散在分布；皮下组织位于真皮下方，由疏松结缔组织、脂肪组织及肌层组成，个别可见真皮层至皮下组织散在的粒细胞浸润；血清IgE水平显著降低（$P<0.05$）；皮损组织中TLR2、TLR4和MyD88蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）。结论：镇心安神方能够改善DNCB诱导AD小鼠的皮肤病理损伤，可能是通过抑制TLR2、TLR4和MyD88蛋白表达，降低血清IgE等水平，通过免疫调节改善皮肤炎症及瘙痒，进而对皮肤免疫屏障起到保护作用。

关键词　镇心安神方；TLRs/MyD88/NF－κB信号通路；特应性皮炎

中图分类号：R285.5　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1002－2392（2025）10－0010－06

DOI：10.19664/j.cnki.1002－2392.250202

特应性皮炎（Atopic dermatitis，AD）是最常见的过敏性炎症性皮肤病之一，其特征是反复发作的湿疹、皮肤干燥和强烈的瘙痒，严重的瘙痒会影响特应性皮炎患者的工作和睡眠，对患者的生活质量造成一定的影响[1－2]。AD的病因与遗传、免疫异常和皮肤屏障功能异常等因素密切相关，另外，变应原、季节、温度变化、不良情绪等外界因素的影响也可以诱导其发生。目前，西医治疗AD主要使用糖皮质激素、非糖皮质激素类的局部免疫抑制剂、抗组胺制剂和抗生素等药物，或者通过物理光疗法治疗等。西医治疗AD虽然可以有效改善症状，但是存在皮肤萎缩、光疗辐射等副作用，且停药后易反弹、反复发作，治疗成本较高，并不建议患者长期使用。相较于西医治疗，中药复方可调节免疫功能、抗炎，具有远期疗效好、复发率较低、治疗经济成本低的独特优势。

镇心安神方是在《内经》“诸痛痒疮，皆属于心”理论指导下，经过长期临床实践总结而成的治疗方药，由龙骨、牡蛎、骨碎补、茯苓及淡竹叶组成，具有镇心安

收稿日期：2024－06－27　　**修回日期**：2024－12－08

基金项目：国家自然科学基金项目（82274537）；陕西省中医医院院级“苗圃培育计划”项目（2021－27）

作者简介：吴启航（1992－），女，硕士，主管中药师，主要从事中药药理学相关研究。

*通信作者：杨洁（1979－），女，硕士，副研究员，主要从事中药药理学相关研究。

神、养心安神、健脾补肾的功效。课题组前期通过多中心随机对照试验证实,镇心安神方能够有效缓解 AD 患者的皮损和瘙痒[3]。故本研究拟基于 TLRs/MyD88/NF－κB 信号通路探讨镇心安神方对特应性皮炎模型小鼠皮肤免疫屏障的保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠 60 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,合格证号:11400700307035,鼠龄 6～7 周,体质量 17～20 g。小鼠饲养环境:温度为(23±2)℃,湿度为 50%±10%,昼夜 12 h 交替照明,自由进食进水。动物实验经陕西省中医药研究院动物伦理委员会审查(伦理审批号:SYDWLL－GL－01)。

1.2 药物与试剂

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),药物来源:免煎颗粒购自陕西省中医医院,产自广东一方制药有限公司;1－氯－2,4－二硝基苯(1－chloro－2,4－dinitrobenzene,DNCB),日本东京化成工业株式会社,批号:H2UKD－DM;氯雷他定片,拜耳医药(上海)有限公司,产品批号:JS16615;丁酸氢化可的松乳膏,天津金耀药业有限公司,产品批号:22041011;小鼠免疫球蛋白 E(IgE)ELISA 试剂盒,Bioswamp,Cat No. MU30387,货号:PRO－1651;BCA 蛋白浓度测定试剂盒,Servicebio,货号:G2026;磷酸化蛋白酶抑制剂,Servicebio,货号:G2007;RIPA 裂解液,Servicebio,货号:G2002。

1.3 主要仪器

RT－6100 酶标仪,Rayto;KZ－II 研磨仪,Servicebio;D3024R 台式高速冷冻离心机,DRAGONLAB;SVE－2 垂直电泳仪,Servicebio;SVT－2 转印电泳仪,Servicebio;JY92－11N 超声波细胞破碎仪,宁波新芝生物;6100 化学发光仪,CLINX;SQP/QUINTIX124－1CN 电子天平,赛多利斯(中国)仪器有限公司;DW－86L626 型－80 ℃冰箱,赛默飞;YB－7LF 石蜡包埋机,常州市中威电子仪器有限公司;RM2235 轮转式切片机,LEICA 制造;BX63 全电动智能显微镜,Olympus,日本。

1.4 模型建立、分组及给药

参考文献方法[4]选择 DNCB 诱发 AD 建立模型,将 60 只 BALB/c 小鼠背部剃去体毛(面积约 1.5 cm×2.5 cm),备皮时轻柔处理,避免刮伤表面皮肤。将小鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分别为空白组、模型组、氯雷他定＋丁酸氢化可的松组、镇心安神方高、中、低剂量组。除空白组以外,其余各组均使用 DNCB 进行造模。将 DNCB 制备成 0.5% 和 1.0% 溶液,造模第 1、2、3 天于每只小鼠背部涂抹 200 μL 0.5% DNCB 溶液各 1 次,之后每间隔 3 d 涂抹 100 μL 1.0% DNCB 溶液 1 次,持续 4 周。待小鼠背部出现脱皮、水疱、红斑、渗出和结痂等典型皮损变化,表明 AD 模型建立成功。

待造模成功后,各组小鼠进行灌胃给药,按照体表面积折算等效剂量,镇心安神方高、中、低剂量组分别给予 40.0 g/kg、20.0 g/kg、10.0 g/kg(按照生药量计算)复方颗粒水溶液灌胃;氯雷他定＋丁酸氢化可的松组给予氯雷他定(16.67 mg/kg)灌胃联合丁酸氢化可的松(4 mg/kg)外用;空白组及模型组给予纯净水(10 mL/kg)灌胃;每日 1 次,连续给药 15 d。给药结束次日行为学观察结束后进行取材。

1.5 标本采集

腹腔注射戊巴比妥钠将小鼠麻醉后,小鼠摘眼球取血,室温下,静置,3 500 r/min 离心 10 min,分离血清备用于 ELISA 检测。各组小鼠皮损部位取材,部分置于 10% 中性甲醛溶液中固定,用于组织病理学检测,部分液氮速冻,－80 ℃保存,用于 Western blot 检测。

1.6 行为学观察

将小鼠放置于全透明的观察笼中,避免外界因素打扰,记录 30 min 内小鼠的抓挠次数。将小鼠后爪对背部皮肤进行抓挠或小鼠扭头欲舔舐、撕咬背部的行为作为评判搔抓次数的依据并及时记录数据。

1.7 皮损评分

根据相关文献[5]方法,测定皮损面积,并根据小鼠背部皮损的严重程度,进行皮损评分。分别将皮损红斑、渗出、水肿、鳞屑、结痂程度分为无(0 分)、轻度(1 分)、中度(2 分)、重度(3 分),根据每只小鼠的临床特征对其背部皮损进行相应评分。

1.8 皮损组织病理学检测

取出固定于 10% 中性甲醛溶液的皮肤组织,于通风橱内将目标部位修剪平整,依次经过脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色、封片、光镜下选切片,在光学显微镜下观察皮损组织病理变化,并进行图像采集分析。

1.9 以 ELISA 法检测血清中 IgE 的含量

取 1.5 项下冻存备用的小鼠血清平衡至室温,严格按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作,检测血清中 IgE 水平。

1.10 Western Blot 法检测皮损组织中 TLR2、TLR4 和 MyD88 蛋白表达水平

取 1.5 项下冻存备用的小鼠皮肤组织,提取总蛋白后使用 SDS－PAGE 凝胶电泳分离并转印蛋白至

PVDF 膜上；使用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 在室温下封闭 2 h 后，加入一抗 TLR2、TLR4、MyD88、GAPDH 于 4 ℃下孵育过夜；充分洗膜后，加入 HRP 标记的羊抗鼠二抗(1∶10 000)孵育 2 h；洗膜 3 次后，采用 ECL 对膜进行可视化；采用 Quantity One 软件分析系统进行灰度定量分析，对目标蛋白进行半定量分析，与内参灰度值的比值即为组织中蛋白的对应含量。

1.11 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析，实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差(One - way ANOVA)分析，$P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 镇心安神方对 AD 小鼠 30 min 内搔抓次数的影响

与空白组相比，模型组小鼠搔抓次数明显增加($P < 0.01$)；与模型组相比，镇心安神方高、中剂量组及氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组能显著减少小鼠搔抓次数($P < 0.05$，$P < 0.01$)。见表 1。

2.2 镇心安神方对 AD 小鼠皮损情况的影响

除空白组外，各组小鼠在使用 DNCB 造模后，背部备皮部位皮肤出现丘疹、红斑等急性炎症反应，继而出现水肿、渗液、结痂，痂皮干燥脱落，轻微鳞屑或伴有苔藓样变。与空白组相比，模型组小鼠皮损得分显著增高($P < 0.01$)；与模型组比较，镇心安神方高、中、低剂量组与氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组皮损得分均明显降低($P < 0.05$，$P < 0.01$)，小鼠皮损部位红斑、鳞屑、糜烂、渗液、血痂、皮肤增厚、表皮脱落等症状均得到了一定程度的改善。结果表明，镇心安神方能够明显改善 DNCB 诱导 AD 小鼠的皮损症状。见图 1，表 2。

表 1 镇心安神方对 1 - 氯 - 2，4 - 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠搔抓次数的影响($\bar{x} \pm s$，$n = 10$)

组别	剂量	30 min 搔抓次数/次
空白组	-	1.00 ± 1.04
模型组	-	19.50 ± 7.19##
氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组	16.67 mg/kg + 4 mg/kg	10.80 ± 4.31**
镇心安神方低剂量组	10.0 g/kg	15.50 ± 5.42
镇心安神方中剂量组	20.0 g/kg	15.00 ± 5.65*
镇心安神方高剂量组	40.0 g/kg	13.50 ± 5.28*

注：与空白组比较，##$P < 0.01$；与模型组比较，*$P < 0.05$，**$P < 0.01$。



A B C D E F

注：A. 空白组；B. 模型组；C. 氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组；D. 镇心安神方低剂量组；E. 镇心安神方中剂量组；F. 镇心安神方高剂量组。

图 1 镇心安神方对 1 - 氯 - 2，4 - 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠皮损情况的影响

表 2 镇心安神方对 1 - 氯 - 2，4 - 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠皮损得分的影响($\bar{x} \pm s$，$n = 10$)

组别	剂量	皮损得分/分
空白组	-	0.00 ± 0.60
模型组	-	10.20 ± 2.81##
氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组	16.67 mg/kg + 4 mg/kg	4.30 ± 1.70**
镇心安神方低剂量组	10.0 g/kg	8.00 ± 2.62*
镇心安神方中剂量组	20.0 g/kg	7.40 ± 2.66**
镇心安神方高剂量组	40.0 g/kg	4.20 ± 1.61**

注：与空白组比较，##$P < 0.01$；与模型组比较，*$P < 0.05$，**$P < 0.01$。

2.3 镇心安神方对 AD 小鼠皮损组织病理形态变化的影响

与空白组比较，模型组小鼠皮肤组织可见大面积表皮坏死脱落，细胞核碎裂；真皮层可见大面积坏死，细胞核碎裂，大量结缔组织增生，伴多量粒细胞浸润；多量毛囊坏死，结构消失，伴多量脂肪细胞浸润；真皮层至皮下组织分界不清，肌层坏死，结构消失，结缔组织增生，伴多量炎性细胞浸润。与模型组比较，镇心安神方各剂量组小鼠大多表皮完整，结构清晰，并可见角化层；真皮层胶原纤维排列整齐，皮肤附属器毛囊以及皮脂腺等散在分布；皮下组织位于真皮下方，由疏松结缔组织、脂肪组织及肌层组成，个别可见真皮层至皮下组织散在的粒细胞浸润。结果表明，镇心安神方可显著改善 AD 小鼠的皮肤病理损伤，降低炎性细胞浸润水平。见图 2。

2.4 镇心安神方对 AD 小鼠血清 IgE 水平的影响

与空白组比较，模型组小鼠血清中 IgE 含量显著增高($P < 0.01$)；与模型组相比，氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组、镇心安神方高剂量组能明显降低小鼠血清中 IgE 含量水平($P < 0.01$，$P < 0.05$)。结果表明，镇心安神方对 AD 小鼠具有一定的免疫改善作用。见表 3。

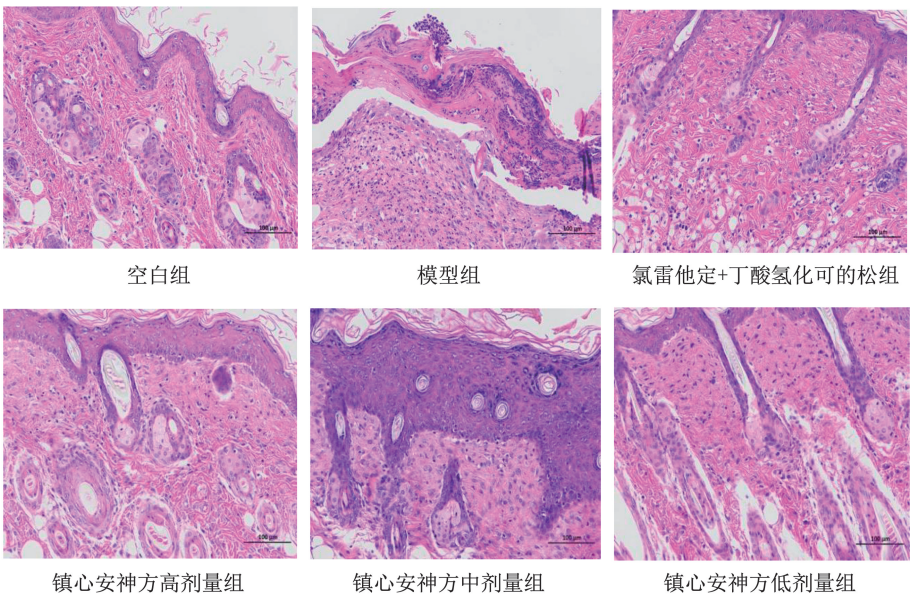


图 2 镇心安神方对 1 – 氯 – 2,4 – 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠皮损组织病理变化的影响(HE 染色, ×200)

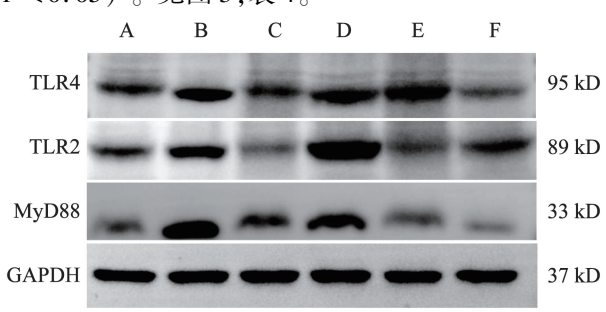
表 3 镇心安神方对 1 – 氯 – 2,4 – 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠血清 IgE 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	浓度/(ng/mL)
空白组	–	4.35 ± 6.30
模型组	–	18.19 ± 8.23$^{\#\#}$
氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组	16.67 mg/kg + 4 mg/kg	7.99 ± 2.83**
镇心安神方低剂量组	10.0 g/kg	14.34 ± 8.63
镇心安神方中剂量组	20.0 g/kg	8.94 ± 5.76
镇心安神方高剂量组	40.0 g/kg	9.67 ± 5.76*

注:与空白组比较,$^{\#\#}P < 0.01$;与模型组比较,$^{*}P < 0.05$,$^{**}P < 0.01$。

2.5 镇心安神方对 AD 小鼠皮损组织中 TLR2、TLR4 和 MyD88 蛋白表达水平的影响

与空白组比较,模型组小鼠皮肤组织中 TLR4 和 MyD88 蛋白表达均显著上调($P < 0.05$),TLR2 也出现上调趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);与模型组比较,镇心安神方高剂量组均可显著下调小鼠皮肤组织中 TLR4 和 MyD88 蛋白表达($P < 0.05$),镇心安神方中剂量组显著下调小鼠皮肤组织中 TLR2 蛋白表达($P < 0.05$)。见图 3,表 4。



注:A. 空白组;B. 模型组;C. 氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组;D. 镇心安神方低剂量组;E. 镇心安神方中剂量组;F. 镇心安神方高剂量组。

图 3 镇心安神方对 1 – 氯 – 2,4 – 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠皮损组织中 TLR2、TLR4 和 MyD88 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

表 4 镇心安神方对 1 – 氯 – 2,4 – 二硝基苯诱导特异性皮炎小鼠皮肤组织中 TLR2、TLR4 和 MyD88 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	剂量	TLR4	TLR2	MyD88
空白组	–	0.52 ± 0.10	0.81 ± 0.07	0.63 ± 0.15
模型组	–	0.92 ± 0.17$^{\#}$	1.37 ± 0.39	1.30 ± 0.38$^{\#}$
氯雷他定 + 丁酸氢化可的松组	16.67 mg/kg + 4 mg/kg	0.74 ± 0.16	0.98 ± 0.36	0.90 ± 0.21
镇心安神方低剂量组	10.0 g/kg	0.76 ± 0.15	1.22 ± 0.44	1.10 ± 0.49
镇心安神方中剂量组	20.0 g/kg	0.74 ± 0.17	0.71 ± 0.10*	0.78 ± 0.32
镇心安神方高剂量组	40.0 g/kg	0.55 ± 0.15*	0.96 ± 0.26	0.63 ± 0.14*

注:与空白组比较,$^{\#}P < 0.05$;与模型组比较,$^{*}P < 0.05$。

3 讨论

AD 于不同年龄阶段往往有不同临床表现,除去身体自觉症状如瘙痒、皮肤感觉异常外还会出现睡眠障碍、异常情绪等,大多从儿童时期开始发病,继而可能表现为持续终生的反复或急性发作过程,其发病率有上升趋势,已成为一个社会共同面临的健康问题。该疾病面临着护理患儿、多处求医等巨大压力,给整个家庭和社会带来沉重的负担。对于儿童患者群体的特殊性,用药更应该谨慎。对于传统治疗 AD 使用的钙调神经磷酸酶抑制剂和糖皮质激素,不仅治疗费用较高,且发生皮肤烧灼以及瘙痒的副作用几率较高,其症状虽可控制,但也容易反复发作,长期疗效往往不是很理想,因此安全有效的中药开发成为亟待研究的重点和热点。

TLRs(Toll – likereceptors)是一种天然免疫细胞跨膜识别受体,能够识别病原相关分子模式,激活下游信号来诱导炎症因子表达,在皮肤免疫屏障中发挥重要作用[6]。AD 的发生、发展与 Toll 受体密切相关。已有研究[7]表明,与 AD 有关的 TLR 为 TLR2 和 TLR4,通过对 Toll 受体进行激动或者抑制,对其代谢途径进行干预,可以改善皮损,进而对疾病的转归、治疗有一定的作用。TLR2 与 TLR4 有公共的识别物 LPS,同时激活两种受体,受体识别各自的配体后进行后续的信号转导。通过激活公共的核转录因子 NF – κB,参与后期的信号转导,贯穿整个免疫反应和炎症反应,这个过程是通过 MyD88 介导[8]。皮肤屏障遭到破坏后,分泌出的大量炎症因子诱导 B 细胞产生抗原特异性 IgE 分子,促进嗜酸性粒细胞的成熟和募集[9],增强肥大细胞对过敏原的识别,产生大量细胞因子和生物活性物质,从而引起免疫级联反应,加剧皮肤屏障的破坏[10]。

AD 的症状特点与中医学的“湿疮”“四弯风”及“顽湿”等脾虚湿盛、湿郁化热的皮肤病相类似。本项目基于《内经》“诸痒疮痛,皆属于心”的中医药理论,结合“心藏神”“心主血脉”的生理特点及特应性皮炎的疾病特征,提出“通过镇心安神中药改善皮肤屏障功能障碍进而改善皮肤炎症”的治疗思路。镇心安神方是经过长期的临床实践总结出的治疗方药,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、止血活血,久病及肾,本品有助于补益先天禀赋之不足,同时防止寒凉药伤及脾胃;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[11-12]。

综上,镇心安神方能修复由 DNCB 诱导的特应性皮炎小鼠皮肤屏障损伤,可能是通过抑制 TLRs/MyD88/NF – κB 信号通路中 TLR2、TLR4 和 MyD88 的蛋白表达,降低血清中 IgE 水平,发挥抗炎及免疫调节作用,进而改善皮肤瘙痒、炎症状况,修复皮肤屏障,对特应性皮炎起到一定的治疗作用。

参考文献:

[1] 沈云章,竺璐,杨红霞. 山柰酚对特应性皮炎小鼠炎症反应的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(1):76 – 80.

[2] 宋曦,赖海燕. 特应性疾病从肺肾论治的理论文献研究[J]. 中医药学报,2015,43(1):117 – 119.

[3] 迟慧彦,黄尧洲,李贻奎,等. 镇心安神法治疗特应性皮炎多中心随机对照研究[J]. 中国药业,2021,30(20):87 – 90.

[4] 赵一丁,李文彬,刘勇,等. 镇心安神方对特应性皮炎样动物模型维生素 D 及丝聚蛋白表达的影响[J]. 中国皮肤性病学杂志,2021,35(2):205 – 211.

[5] WANG J Y, MATSUKURA S, WATANABE S, et al. Involvement of Toll – like receptors in the immune response of nasal polyp epithelial cells[J]. Clin Immunol, 2007, 124(3): 345 – 352.

[6] 李炜,王小波. Toll 样受体与特应性皮炎[J]. 全科医学临床与教育,2012,10(4):407 – 410.

[7] 赵一丁,姚春海,朗娜,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,2011,10(4):215 – 218.

[8] 杨雪松,叶建州,罗光云,等. 健脾养血祛风方对树突状细胞 TLRs/MyD88/NF – κB 信号通路的干预机制[J]. 昆明医科大学学报,2019,40(11):13 – 20.

[9] 迟慧彦,郎娜,姚春海,等. 龙牡汤治疗风湿蕴肤型特应性皮炎临床观察[J]. 中国中医药信息杂志,2012,19(5):73 – 74.

[10] 叶建州,杨雪松,李钦. 健脾养血祛风法对小鼠皮肤屏障功能影响的实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2012,33(12):58 – 60.

[11] 程淋燕,李福伦,王丽慧.《内经》皮部理论在特应性皮炎辨治中的应用[J]. 皮肤科学通报,2024,41(3):337 – 342.

[12] 陈若曦,姜姗姗,杨洁,等. 基于 ORAI1/NFAT 信号轴探讨镇心安神方对 1 – 氯 – 2,4 – 二硝基苯诱导特应性皮炎小鼠的作用及机制[J]. 中药新药与临床药理,2024,35(2):168 – 173.

Effects and Mechanisms of Zhenxin Anshen Formula on Skin Immune Barrier in Atopic Dermatitis Mice Based on the TLRs/MyD88/NF – κB Signaling Pathway

WU Qihang[1], YANG Jie[1], ZHAO Yiding[2], QIAO Yuan[1]

(1. *Shaanxi Provincial Academy of Chinese Medicine*, *Xi'an* 710004, *China*;

2. *Shaanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine*, *Xi'an* 710004, *China*)

Abstract Objective: To investigate the effects and mechanisms of Zhenxin Anshen Formula on the skin immune barrier in atopic dermatitis (AD) model mice based on the TLRs/MyD88/NF – κB signaling pathway. Methods: A total of 60 BALB/c mice were randomly divided into six groups: blank group, model group, loratadine + hydrocortisone butyrate group, and Zhenxin Anshen Formula high, medium, and low dose groups, with 10 mice in each group. The atopic dermatitis mouse model was established by 1 – chloro – 2,4 – dinitrobenzene (DNCB) induction. Mice were treated with oral administration once daily for 15 consecutive days. At the end of the treatment, the following assessments were performed: 30 – minute scratching counts, skin lesion scoring, pathological examination of skin lesions, and detection of

immunoglobulin E (IgE) levels by ELISA. The expression levels of TLR2, TLR4, and MyD88 proteins in skin lesions were evaluated by Western Blot. Results: Compared to the blank group, the model group showed significantly increased 30 - minute scratching counts ($P < 0.01$), higher skin lesion scores ($P < 0.01$), and severe pathological damage in skin tissues, including large - scale epidermal necrosis and shedding, nuclear fragmentation, dermal necrosis, connective tissue proliferation, neutrophil infiltration, hair follicle destruction, and structural disorganization. Serum IgE levels and TLR2, TLR4, and MyD88 protein expression levels were significantly increased ($P < 0.05$). Compared to the model group, the Zhenxin Anshen Formula groups exhibited significantly reduced 30 - minute scratching counts ($P < 0.05$), lower skin lesion scores ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and significant improvement in skin histopathology with intact epidermal structure, orderly collagen fibers in the dermis, and normal distribution of skin appendages such as hair follicles and sebaceous glands. Serum IgE levels and TLR2, TLR4, and MyD88 protein expression levels were significantly decreased ($P < 0.05$). Conclusion: Zhenxin Anshen Formula allebased ontes DNCB - induced pathological skin damage in AD mice, possibly by inhibiting TLR2, TLR4, and MyD88 protein expression, reducing serum IgE levels, and modulating immune response. These effects improve skin inflammation and itching, thereby protecting the skin immune barrier.

Key words Zhenxin Anshen Formula; TLRs/MyD88/NF - κB signaling pathway; Atopic dermatitis