

基于蛋白质组学探讨如意金黄散促进放射性皮肤损伤修复的作用及潜在机制

薛莹¹, 庞淳仝¹, 张怡雯¹, 曲玉婷¹, 康宁², 龚文心¹, 张浩军^{3*}, 李仝^{1,2*}

1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029;

3. 中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029

摘要 目的:探讨如意金黄散(RYJHS)对放射性皮肤损伤大鼠创面修复的促进作用及其潜在机制。方法:采用UHPLC-QE-MS对RYJHS化学成分进行非靶标检测。将75只雄性SD大鼠随机分为正常组(Normal)、模型组(Model)、三乙醇胺组(TEA)、RYJHS低频组(RYJHS-L)及RYJHS高频组(RYJHS-H)。除正常组外,其余各组大鼠均在左侧臀部以90 Gy单次照射建立放射性皮肤损伤模型,随后药物连续治疗8周。通过创面拍照及ImageJ测量评估创面愈合情况。采用HE染色观察皮肤组织病理学改变,天狼星红染色、免疫组化评价胶原沉积。于辐照后4周取正常组、模型组及RYJHS高频组皮肤组织进行DIA定量蛋白质组学分析,并对差异蛋白进行功能富集分析。结果:UHPLC-QE-MS共获得1 490个可注释化合物,结合外用制剂理化性质筛选得到95个候选成分,为后续机制分析提供了化学物质基础。RYJHS可促进放射性皮肤损伤创面闭合,提高愈合率($P < 0.01$),减轻表皮结构破坏及真皮炎症细胞浸润($P < 0.001$),改善胶原沉积不足及纤维排列紊乱($P < 0.001$, $P < 0.000 1$),其中高频给药组作用更为明显。蛋白质组学共定量9 075个蛋白,其中模型组与正常组比较,共鉴定差异表达蛋白3 183个;RYJHS高频组与模型组比较,共鉴定差异表达蛋白1 614个。进一步分析显示,RYJHS可逆转1 186个异常表达蛋白,其主要包括表皮屏障功能、角化分化、紧密连接及细胞外基质重塑相关分子。GO富集分析显示,RYJHS干预后差异蛋白在生物学过程层面主要富集于中间丝组织、异生物刺激反应、胆固醇生物合成及角化等过程。KEGG富集分析显示,差异蛋白显著富集于肌动蛋白细胞骨架调控、内吞作用、MAPK信号通路、PI3K-Akt信号通路、内质网蛋白加工、泛素介导的蛋白水解、PPAR信号通路、NOD样受体信号通路及代谢通路等。结论:RYJHS可促进放射性皮肤损伤创面修复,改善组织学损伤及胶原相关基质重塑异常。蛋白质组学结果提示,其作用可能与表皮屏障重建、细胞结构稳态、炎症应答、信号转导及蛋白质稳态调节等过程有关。上述结果为后续开展关键靶点验证及功能研究提供了实验基础及理论依据。

关键词 放射性皮肤损伤;如意金黄散;中医外治;蛋白质组学;基质重塑

中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2392(2026)08-0014-13

DOI:10.19664/j.cnki.1002-2392.260155

放疗相关皮肤损伤(Radiotherapy-induced skin injury, RISI)是肿瘤放疗中具有剂量限制意义的常见不良反应,临床表现为红斑、脱屑、溃疡,甚至慢性纤维

化与皮肤萎缩等,严重影响放疗的连续性和患者生活质量^[1]。RISI的发生涉及DNA损伤、氧化应激、炎症级联反应、皮肤屏障破坏、局部微环境紊乱及修复与重塑过程失衡等多个病理环节^[2-3]。RISI的治疗需要兼顾“抑制炎症反应、促进再上皮化及改善重塑质量”等多重目标。然而,虽已有研究表明,外用糖皮质激素、特定敷料与光生物调节等在特定人群中取得一定疗效,但多数措施仍受限于证据不足或研究异质性^[4-5]。三乙醇胺乳膏(Triethanolamine, TEA)常作为外用护理或对照药物使用,但一项Ⅲ期随机对照研究结果显示,其在降低放射性皮炎发生或改善患者结局指标方面并

收稿日期:2026-03-24 修回日期:2026-06-30

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973783)

作者简介:薛莹(1996-),女,博士研究生,研究方向:中西医结合防治恶性肿瘤及血液病。

*通信作者:张浩军(1977-),男,博士,副研究员,研究方向:中医药防治纤维化的药效评价与作用机制研究。

李仝(1966-),男,博士,教授,主任医师,研究方向:中西医结合防治恶性肿瘤及血液病。

未显示明显优势,进一步说明 RISI 临床干预手段仍存在显著不足^[6]。

中医理论认为,RISI 可归属于“灼伤”“火毒”“疮疡”及“湿疮”等范畴。电离辐射作为 RISI 的主要致病原因,根据课题组前期研究,进一步将其归属于外来“燥热毒邪”之侵袭,具体表现为皮肤红斑灼热、肿胀疼痛、渗出糜烂、湿性脱屑甚或溃破不敛^[7]。RISI 病机演变为“热毒为本,湿瘀互结”。患者早期临床表现多以热毒炽盛、湿热壅滞为主,迁延则可见气血运行不畅、肌肤失养,影响再上皮化与创面修复。因此,提示 RISI 的中医治疗应遵循“清热解毒、消肿止痛、燥湿敛疮”“活血通络、生肌敛肤”的原则,进而改善局部微环境,推动创面高质量修复^[8-9]。

RYJHS 源自《外科正宗》,是临床经典外用复方,具有清热解毒、消肿止痛、燥湿散结之功效,与 RISI “热毒邪灼肤、湿热壅滞、络脉受损”的核心病机相契合。已有研究指出,RYJHS 在抑制局部炎症反应、促进创面修复方面具有一定优势,然而,其用于 RISI 临床治疗的实验依据及机制仍存在空白,亟需进一步阐释^[10-12]。本研究基于 90 Gy 单次照射建立 RISI 大鼠模型^[13]。以三乙醇胺外用作为对照,系统评价 RYJHS 对创面愈合及组织重塑的影响,并结合蛋白质组学探讨其潜在作用机制,以期为 RYJHS 的临床应用提供实验及理论依据,并与其他中医药治疗手段干预放射性皮肤损伤机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 药物

RYJHS 于北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂购置(国药准字 Z11020906);三乙醇胺乳膏(比亚芬)购自法国 Janssen Cilag 公司。

1.2 主要试剂

HE 染色试剂盒(Servicebio, G1003);天狼星红染色试剂盒(茹创生物, RC0065);Anti - Collagen I 抗体(Proteintech, 14695 - 1 - AP);Anti - Collagen III 抗体(Abcam, ab184993);HRP 标记二抗(ZSGB - BIO, ZB - 2301);胰蛋白酶(Promega, V5280 - 100UG);蛋白酶抑制剂混合物(Roche, 11836170001);磷酸酶抑制剂混合物(Roche, 4906837001);TMT 标记试剂(Thermo Fisher Scientific, TMT6plex 1861431;TMT10plex 90111;TMTpro16plex A44522);三乙基铵碳酸氢盐(Thermo Fisher Scientific, 90114);PBS 缓冲液(Gibco, 10010031);HEPES(Sigma - Aldrich, H3375 - 25G);Tris(阿拉丁, T274227);甲醇(CNW Technologies, LC - MS 级);乙腈(CNW Technologies, LC - MS 级);甲酸

(CNW Technologies, LC - MS 级);乙酸(Sigma - Aldrich, LC - MS 级)。

1.3 使用仪器

Precise 型医用直线加速器(Elekta Ltd.); α 6000 型数码相机(Sony Corporation);5424 R 型低温高速离心机(Eppendorf SE);BX53 型光学显微镜(Olympus Corporation);Donatello 型组织脱水机(DIPAS);JB - P5 型组织包埋机(武汉俊杰电子有限公司);RM2235 型轮转式切片机(Leica Microsystems GmbH);JXFSTPRP - CLN 型冷冻研磨仪(上海净信实业发展有限公司);MX - 150T 型超声破碎仪(上海净信实业发展有限公司);LGJ - 10C 型冷冻干燥机(四环福瑞科仪科技发展有限公司);Vanquish 型超高效液相色谱系统(Thermo Fisher Scientific Inc.);Orbitrap Exploris 120 型高分辨质谱仪(Thermo Fisher Scientific Inc.);Synergy H1 型微孔板检测仪(BioTek Instruments, Inc.);NanoDrop OneC 型微量分光光度计(Thermo Fisher Scientific Inc.);CentriVap 型离心浓缩仪(Labconco Corporation);KF - PRO 型切片扫描系统(宁波江丰生物信息技术有限公司);ImageJ 软件(National Institutes of Health)。

1.4 动物

健康雄性 SPF 级 SD 大鼠 75 只,6 ~ 8 周龄,体重(220 $\pm$ 20)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物合格证号:110011251103062973。动物饲养于中日友好医院临床医学研究所标准实验动物房,温度(22 $\pm$ 2)℃,相对湿度(55% $\pm$ 5%),12 h 昼夜循环,自由摄食饮水,适应性饲养 1 周。本研究已通过中日友好医院临床医学研究所动物伦理审批(伦理编号:ZRDWLL240102),并遵循 ARRIVE 2.0 报告规范。实验期间若动物出现持续体质量下降超过 20 %、严重感染、活动障碍、不能自主摄食饮水或其他达到人道终点的情况,立即进行评估并实施人道处置。

1.5 药物制备及检测

为明确 RYJHS 的化学成分,取其粉末样本进行 UHPLC - QE - MS 非靶标代谢组学检测。样本前处理:称取粉末 50 mg,加入提取液(甲醇:乙腈:水 = 2:2:1, v/v/v, 含同位素内标),涡旋混匀后匀浆(35 Hz, 240 s)并冰水浴超声 5 min,重复 3 次; - 40℃ 静置沉淀蛋白后于 4℃ 离心(12 000 r/min, 15 min)取上清,0.22 μ m 滤膜过滤后上机。

色谱采用 Vanquish UHPLC 系统,色谱柱为 Phenomenex Kinetex C18(2.1 mm $\times$ 100 mm, 2.6 μ m);流动相 A 为含 0.01% 乙酸的水相,流动相 B 为异丙醇:

乙腈(1:1, v/v);样品盘温度 4 ℃,进样量 2 μ L。质谱采用 Orbitrap Exploris 120 高分辨质谱仪,正/负离子模式分别采集一级与二级谱;Full MS 分辨率 60 000, MS/MS 分辨率 15 000,碰撞能量采用 stepped NCE 20/30/40。数据处理:原始数据经 ProteoWizard 转换为 mzXML 格式后,使用基于 XCMS 的 R 程序进行峰提取、对齐与积分,并结合本地数据库进行化合物注释(Biotree TCM v1.0 与 BT-HERB v1.0)。代谢物注释参照 MSI 标准分为 Level 1-4。

1.6 动物分组与模型制备

按随机数字表法将 75 只大鼠分为正常组、模型组、三乙醇胺组、RYJHS 低频组及 RYJHS 高频组,每组 15 只。为兼顾修复过程不同阶段的分子事件与组织学终点评价,采用分层取材策略,即辐照后 4 周取皮肤组织用于定量蛋白质组学以捕捉早期分子改变,辐照后 8 周取皮肤组织进行 HE、天狼星红染色及 COL1、COL3 免疫组化以评估修复质量终点。

放射性皮肤损伤大鼠模型建立:大鼠经麻醉后剃除左后臀腿部被毛(约 4 cm $\times$ 4 cm),以铅板遮挡非照射区域,仅暴露直径 3 cm 的圆形照射野。除正常组行假照射外,其余各组给予单次 90 Gy 局部照射(射线能量 6 MeV,剂量率 600 cGy/min,源皮距 100 cm)建立 RISI 模型。

1.7 药物干预

于造模结束后第 1 天开始给予局部外敷药物干预,干预周期为 8 周。如意金黄散为传统外用制剂,临床用法为取适量均匀涂敷患处。本研究参照临床外用习惯及外用中药制剂动物实验的常用给药方式,将 0.8 g RYJHS 与 1 mL 芝麻油充分混合(终浓度为 0.8 g/mL)。使用无菌棉签均匀涂抹于靶区局部,施用剂量为 120 μ L/cm²,以药物均匀覆盖照射区域全部皮损范围、形成连续薄层为标准,避免药物堆积或明显溢出照射野边缘,每次给药持续 1 h。RYJHS 低频组每日给药 1 次,RYJHS 高频组每日给药 3 次,两组每次给药剂量及涂布面积一致。三乙醇胺组每日给予三乙醇胺乳膏 1 次,涂布范围及每次给药持续时间与 RYJHS 组保持一致。每次给药后立即为大鼠佩戴伊丽莎白圈,持续至少 1 h,以防止其舔舐药物。

由于外用中药制剂主要通过局部覆盖、滞留和渗透发挥作用,动物实验中难以完全按体质量或体表面积换算临床剂量,故本研究采用单位面积给药量控制每次给药剂量,并通过每日给药频次区分低频与高频干预强度,以模拟临床外用频次差异。

1.8 皮损评估与量化

使用标准化数字成像系统每 48 h 对照射野皮损

区域进行连续拍摄记录。根据多个参数评估皮肤表现的严重程度,包括红斑、脱皮、溃疡和结痂的存在和程度。使用 ImageJ 软件测量受影响的表面积并计算伤口愈合率。愈合率定量分析需满足:完成连续拍照、图像清晰、拍摄条件基本一致及创面边界可识别的要求。未满足标准者仅用于一般皮损观察,不纳入 ImageJ 面积定量。各检测终点均以单只动物作为独立生物学重复。

1.9 皮肤组织学分析

将大鼠皮肤标本固定在 4% 多聚甲醛溶液中,梯度乙醇和石蜡浸润处理组织,包埋。制备厚石蜡切片,脱蜡、再水化后行苏木精-伊红(HE)染色。染色切片用中性树胶固定,并使用光学显微镜进行显微镜检查和分析。采用 ImageJ 测量表皮厚度,并于 $\times 200$ 倍视野下计数真皮层炎性细胞数量及皮肤附属器数量。每只动物随机选取多个不重叠视野进行测量或计数,多个视野取平均值后作为该动物的单一统计值。HE 染色评价由两名不知晓分组信息的研究人员独立完成。

1.10 天狼星红染色

将大鼠皮肤石蜡样本切片、脱蜡、二甲苯、梯度乙醇至水后,采用天狼星红-苦味酸饱和染色液(RC0065,上海茹创生物科技有限公司)染色 60 min,盐酸分化 30 s,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。切片在明场下观察并用扫描仪采集图像。使用 ImageJ(Fiji)在创面区随机选取 10 个不重叠视野,手动勾画组织 ROI 去除背景,并采用统一手动阈值分割 PSR 阳性信号,计算阳性面积比(% Area = 阳性面积/组织总面积 $\times 100\%$)。每张切片汇总 10 视野得到一个 % Area 值,作为统计单位。

1.11 免疫组化

将皮肤组织石蜡切片脱蜡、梯度乙醇再水化后,采用 pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液高温高压抗原修复 10 min,通过高温裂解甲醛固定所致蛋白交联、暴露被封闭的抗原表位,随后自然冷却至室温。3% H₂O₂ 孵育 10 min,5% BSA 封闭 30 min。分别滴加一抗 Anti-Collagen I(稀释比例:1:200)和 Anti-Collagen III(稀释比例:1:1 000),4 ℃ 孵育过夜。PBS 洗涤后,滴加 HRP 标记的山羊抗兔二抗(稀释比例 1:200),室温孵育 1 h。DAB 显色,苏木精复染细胞核,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。每批染色设置阴性对照(以 PBS 替代一抗)。切片于光学显微镜下观察,使用 ImageJ 软件对阳性染色区域进行 IOD/Area 半定量分析,IOD/Area = 阳性染色积分光密度/组织总面积。

1.12 蛋白质组学分析

于辐照后 4 周从正常组(Normal)、模型组(Model)与 RYJHS 高频组(RYJHS-H,以下蛋白质组学分

析中简称 RYJHS)中各随机选取 4 只大鼠照射野皮肤组织用于蛋白质组学分析。样本裂解、蛋白定量、酶切、脱盐、LC-MS/MS 检测与数据库检索按 DIA-NN 软件 (<https://www.nature.com/articles/s41592-019-0638-x>) (version 1.9.1) 对此次 DIA 质谱数据进行蛋白质搜索鉴定及定量分析。逆转蛋白的回归程度以 Pullback strength 量化, 计算公式为: Pullback strength = $\log_2 |FC(\text{Model vs Normal})| - \log_2 |FC(\text{RYJHS vs Model})|$, 数值越大表示干预后表达水平向正常组回归的幅度越大。富集因子 (Rich factor) 定义为差异蛋白中注释到某 GO 模块或 KEGG 通路的蛋白数与该条目注释总蛋白数之比, 用于反映差异蛋白在该条目中的富集程度。对差异蛋白进行 GO/KEGG 富集分析并结合蛋白互作网络 (PPI) 解析关键功能模块。

1.13 统计分析

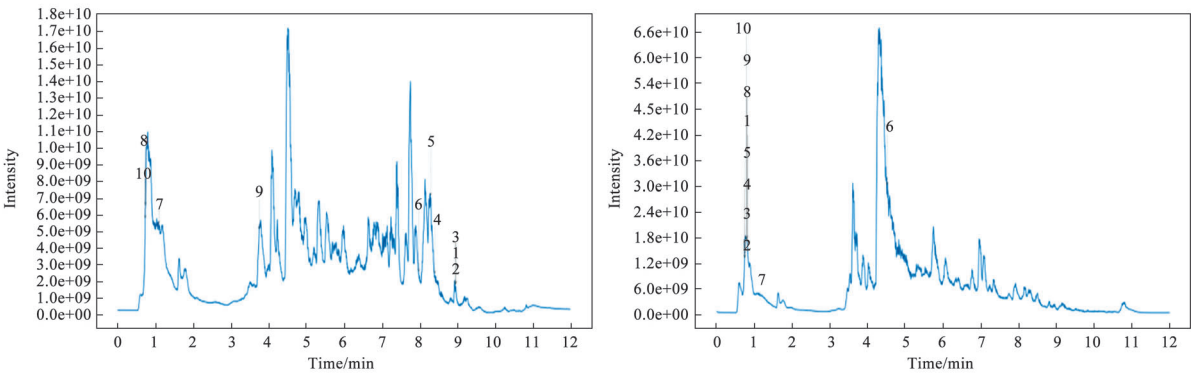
计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各检测终点每组样本量见对应图注。创面愈合率为重复测量数据, 采用双因素重复测量方差分析评价时间效应、组别

效应及交互效应, 必要时采用 Geisser - Greenhouse 校正。第 4、6、8 周合并分析仅作为修复期总体干预效应的辅助分析, 不替代重复测量模型的主要统计结论。终点连续变量比较前采用 Shapiro - Wilk 检验评价正态性, 采用 Levene 检验评价方差齐性。符合正态性及方差齐性者采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 事后检验以模型组为唯一参照进行 Dunnett 多重比较校正; 不符合条件者采用 Kruskal - Wallis 检验, 并根据需要采用 Dunn's 多重比较校正。蛋白质组学差异蛋白采用 FDR (q-value) 控制多重检验错误。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。统计分析及作图使用 GraphPad Prism 10.12 完成。

2 结果

2.1 RYJHS 药物 UHPLC-QE-MS 非靶标检测

采用 UHPLC-QE-MS 在正、负离子模式下对如意金黄散进行非靶标化学成分检测。基于 MS1/MS2 谱库匹配与注释规则, 共获得 1 490 个可注释化合物, 总离子流图 (TIC) 见图 1。



注: 左图为负离子模式 (ESI⁻) TIC, 右图为正离子模式 (ESI⁺) TIC, 图中标注的编号为基于 MS1/MS2 谱库匹配得分 (score) 筛选的代表性特征峰 (用于展示注释质量)。

图 1 RYJHS 药物 UHPLC-QE-MS 非靶标检测

在 UHPLC-QE-MS 注释结果基础上, 结合外用制剂潜在皮肤渗透的一般理化特征, 对候选化合物进行筛选: 遵循 Lipinski 五原则, 并设置 $TPSA < 90 \text{ \AA}^2$ 与 $1 \leq XlogP \leq 4$ 。最终获得 95 个候选成分。按峰面积排序, 前 10 个相对高丰度成分为 Bisdemethoxycurcumin、

Azelaic acid、Methoxsalen、Licochalcone B、Echinatin、Liquiritigenin、7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one、4-Hydroxybenzaldehyde、Desaminotyrosine、Demethoxycurcumin, 见表 1。

表 1 理化性质筛选后候选成分中峰面积排名前 10 的化合物

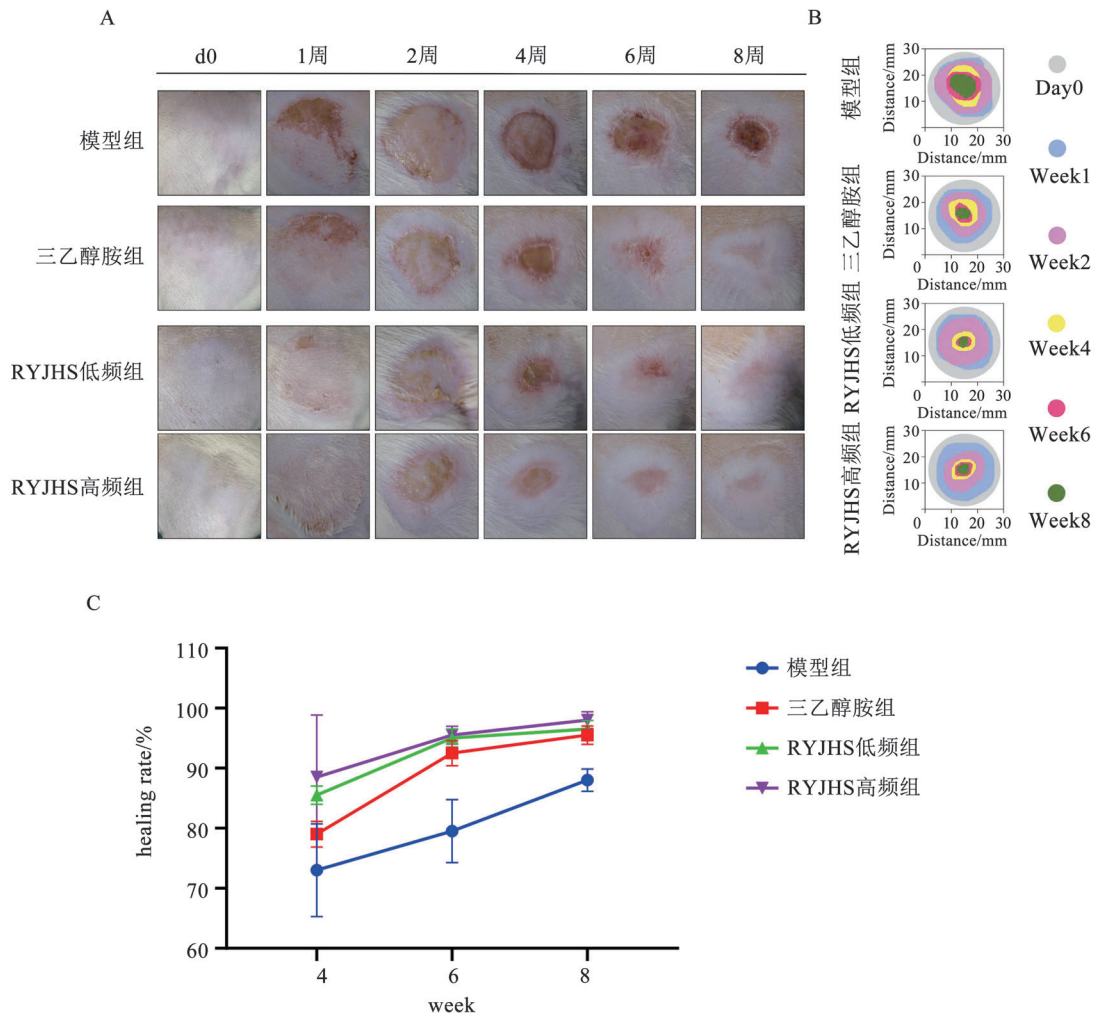
序号	化合物	模式	RT/min	m/z	峰面积
1	Bisdemethoxycurcumin	NEG	6.898	307.097 6	3.22×10^9
2	Azelaic acid	NEG	5.535	187.097 6	1.37×10^9
3	Methoxsalen	POS	6.208	217.049 9	1.17×10^9
4	Licochalcone B	POS	5.555	287.091 8	8.37×10^8
5	Echinatin	NEG	6.018	269.082 1	3.30×10^8
6	Liquiritigenin	NEG	5.688	255.066 5	2.92×10^8
7	7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	NEG	5.688	255.066 5	2.92×10^8
8	4-Hydroxybenzaldehyde	NEG	4.582	121.029 5	2.84×10^8
9	Desaminotyrosine	NEG	4.728	165.055 7	2.78×10^8
10	Demethoxycurcumin	NEG	7.000	337.108 5	2.32×10^8

2.2 RYJHS 促进放射性皮肤损伤创面愈合

为评估 RYJHS 对 RISI 创面修复的促进作用,在大鼠 RISI 造模后分别给予三乙醇胺及 RYJHS 低频、高频干预,并进行创面连续拍照与愈合率量化分析。基于创面连续拍照发现,造模后第 1 周,各组均出现照射相关急性皮损表现,其以红斑、表面粗糙及脱屑为主,模型组与三乙醇胺组、RYJHS 给药组相比,其周围红晕及皮损范围更为突出。至第 2 周,皮损进展至急性期高峰,模型组可见更明显的表皮破损与渗出、结痂样改变,创面暴露进一步显著,而三乙醇胺组及 RYJHS 低频、高频组虽同处峰值阶段,但三组创面渗出、结痂程度与皮损范围较第一周相对减轻,创缘炎症反应出现缓解。至第 4 周,各组逐步进入修复期,三乙

醇胺组及 RYJHS 干预组大鼠创缘收缩与再上皮化趋势更为明显,残余创面较模型组减少。至第 6 周与第 8 周,创面进一步愈合,三乙醇胺组及 RYJHS 干预组残余皮损持续减少,其中 RYJHS 高频组修复外观接近愈合后状态(图 2A)。

对各组大鼠进行创面愈合率定量分析,其结果显示,各组创面愈合随时间呈逐渐改善趋势。由于创面愈合率属于同一动物不同时间点的重复测量数据,本研究以双因素重复测量方差分析作为主要统计方法。结果显示,时间主效应显著($P < 0.0001$),组别主效应显著($P < 0.01$),未观察到显著时间 $\times$ 组别交互作用($P > 0.05$),提示不同处理组间总体愈合水平存在差异,见图 2B、2C。



注:A. 各组在 d 0、1 周、2 周、4 周、6 周、8 周的代表性创面外观图像;B. 各组创面轮廓随时间变化的叠加示意图;C. 第 4、6、8 周创面愈合率变化曲线。创面愈合率采用重复测量双因素方差分析,并进行 Geisser - Greenhouse 校正;时间主效应 $P < 0.0001$,组别主效应 $P < 0.01$,时间 $\times$ 组别交互效应 $P > 0.05$ 。第 4、6、8 周合并比较仅作为修复期总体效应的辅助分析。

图 2 RYJHS 促进放射性皮肤损伤创面闭合情况及愈合率($n=5$)

2.3 RYJHS 改善放射性皮肤损伤组织病理结构

辐照后第 8 周,HE 染色显示大鼠正常组皮肤结构完整,表皮分层清晰、厚度均匀,真皮结构规整,未见

明显炎症细胞浸润。与正常组大鼠相比,模型组大鼠出现显著组织学损伤,表现为表皮缺失或增生及厚度不规则,并伴真皮炎症细胞浸润与皮肤附属器结构破

坏。与模型组相比,三乙醇胺组表皮结构较为规整,炎性浸润减少。与模型组相比,经 RYJHS 治疗后大鼠皮肤组织病理状态进一步改善,低频组表皮分层基本恢复、炎性浸润减轻,高频组改善更为明显,表皮厚度接近正常,真皮炎性浸润较少,毛囊及皮脂腺等附属器结构较为完整,见图 3。为提高 HE 组织学评价的客观性,进一步对辐照后第 8 周各组大鼠皮肤组织表皮厚度、真皮层炎性细胞浸润及皮肤附属器数量进行组织形态学定量分析。结果显示,与模型组相比,三乙醇胺组、RYJHS 低频组和 RYJHS 高频组表皮厚度均明显降低

($P < 0.01$),炎性细胞浸润减少($P < 0.001$),皮肤附属器数量增加($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$)。其中,RYJHS 高频组表皮厚度为(36.46 ± 5.36) μm ,接近正常组水平;炎性细胞计数为(35.00 ± 4.12)个/HPF,提示其对炎性浸润的改善较为明显。上述定量分析结果与 HE 形态学观察结果一致,提示 RYJHS 给药后可减轻大鼠放射性皮肤损伤后表皮异常增厚、真皮炎症浸润及附属器破坏,且 RYJHS 高频组在多项组织学指标上呈现更接近正常组的改善趋势,见表 2。

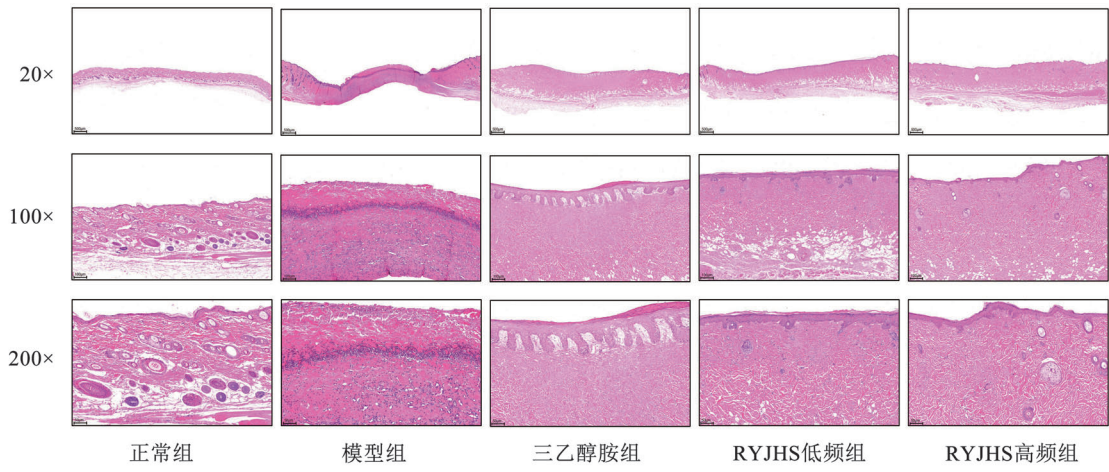


图 3 辐照后第 8 周各组皮肤组织 HE 染色代表性图($n = 5$)

表 2 辐照后第 8 周各组 HE 定量指标比较($n = 5$)

组别	表皮厚度/ μm	炎性细胞计数/ (个/HPF)	皮肤附属器计数/ (个/HPF)
正常组	33.76 ± 3.28	22.00 ± 2.24	34.80 ± 4.82
模型组	89.42 ± 7.82	338.60 ± 43.52	2.60 ± 1.82
三乙醇胺组	$52.52 \pm 4.80^{***}$	$65.80 \pm 6.87^{***}$	$10.60 \pm 1.52^{***}$
RYJHS 低频组	$44.62 \pm 6.37^{***}$	$65.20 \pm 5.26^{***}$	$8.80 \pm 2.77^{*}$
RYJHS 高频组	$36.46 \pm 5.36^{***}$	$35.00 \pm 4.12^{***}$	$14.80 \pm 3.83^{**}$

注:HPF. 高倍视野。与模型组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$

2.4 RYJHS 促进创面胶原沉积并改善基质重塑

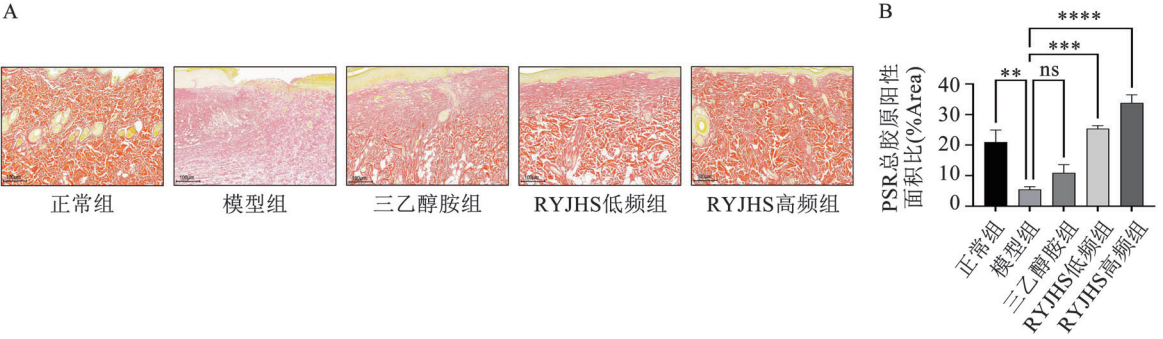
为评估 RYJHS 对放射性皮肤损伤后创面床胶原沉积及基质重塑的影响,于辐照后第 8 周对各组创面床区域进行天狼星红(Picrosirius Red, PSR)染色观察与半定量分析。天狼星红染色结果显示,正常组大鼠皮肤真皮胶原纤维分布较为丰富且走行相对有序。大鼠皮肤模型组创面床区域胶原染色明显减弱,胶原纤维稀疏、连续性下降并伴结构紊乱,提示放射损伤后胶原沉积不足及重塑异常。与模型组相比,三乙醇胺组胶原染色强度与纤维形态呈一定改善趋势,但整体差异不显著。当 RYJHS 干预后,创面床胶原染色增强,纤维分布更为连续,其中高频组胶原信号更为明显、纤维排列相对更趋规整,见图 4A。半定量分析结果显示,与正常组相比,模型组创面 PSR 总胶原阳性面积比(% Area)显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,

RYJHS 低频组与 RYJHS 高频组总胶原阳性面积比显著升高($P < 0.001, P < 0.0001$)。然而,三乙醇胺组与模型组总胶原阳性面积比差异并不显著($P > 0.05$)。上述结果进一步证实,RYJHS 可增强放射性皮肤损伤后创面床胶原相关信号并促进基质重建,且高频组呈现出更连续、排列更趋规整的胶原形态学趋势,见图 4B。

2.5 RYJHS 调节胶原亚型沉积

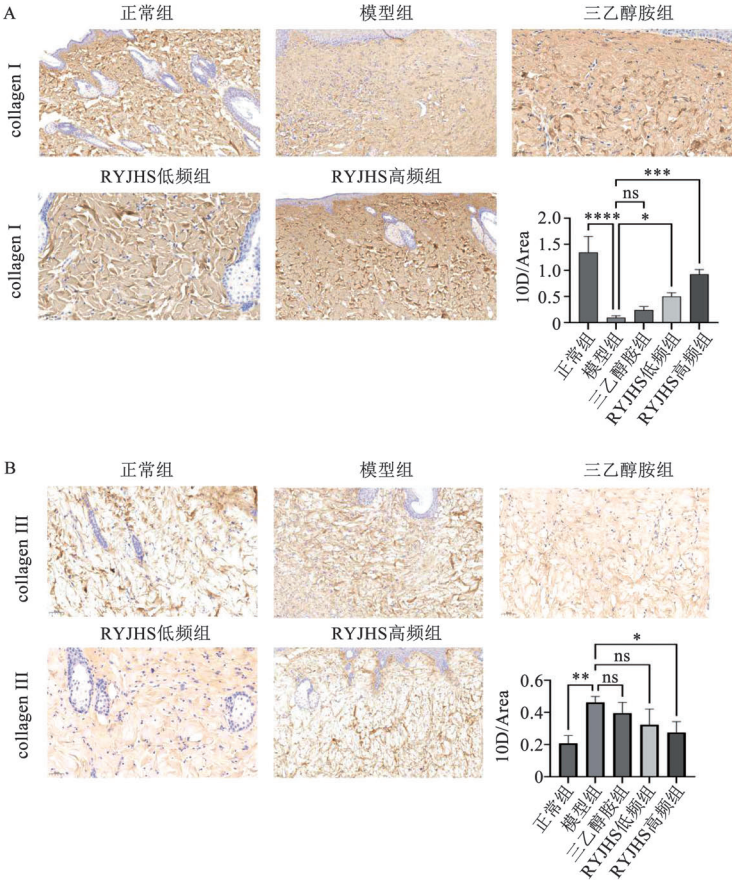
为评估 RYJHS 调节胶原亚型沉积的作用,采用免疫组化染色对 Collagen I 及 Collagen III 进行观察并进行半定量分析。结果显示,正常组大鼠皮肤真皮层 Collagen I 表达丰富,而放射性皮炎模型大鼠组与正常组相比, Collagen I 表达显著下调,提示辐射损伤可导致真皮胶原沉积及基质重塑能力受损($P < 0.0001$)。经给药干预后,与模型组比较,RYJHS 低频和 RYJHS 高频组大鼠 Collagen I 阳性表达均增强($P < 0.05, P < 0.001$),其中以 RYJHS 高频组恢复最为明显。需注意的是,三乙醇胺组虽有一定回升趋势,但与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。上述结果提示,RYJHS 可促进辐射损伤后皮肤组织 Collagen I 表达恢复,从而有助于真皮基质重塑(见图 5A)。Collagen III 的免疫组化及半定量分析结果提示,与正常组大鼠比较,模型组大鼠皮肤组织中 Collagen III 阳性表达显著

增强($P < 0.01$)。经给药干预后,三乙醇胺组、RYJHS 低频组及 RYJHS 高频组均呈不同程度下降,其中 RYJHS 高频组下降具有显著性差异($P < 0.05$),见图 5B。



注:A. 各组创面床区域天狼星红染色代表图(比例尺 = 100 μm);B. PSR 总胶原阳性面积比(% Area)半定量结果。与模型组相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图 4 天狼星红染色显示胶原沉积及半定量分析(辐照后第 8 周创面床)($n = 3$)



注:A. 各组皮肤组织 Collagen I 免疫组化代表性图像及 IOD/Area 半定量分析;B. 各组皮肤组织 Collagen III 免疫组化代表性图像及 IOD/Area 半定量分析。与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图 5 RYJHS 对急性放射性皮肤损伤皮肤组织 Collagen I、Collagen III 表达的影响($n = 3$)

2.6 DIA 定量蛋白质组学分析

2.6.1 RISI 大鼠皮肤组织蛋白质组学表达谱分析

为从蛋白质水平观察 RISI 相关分子改变及 RYJHS 干预后的整体表达谱响应,对大鼠皮肤组织进行定量蛋白质组学分析。结果显示,成功共定量 9 075 个

蛋白。PCA 结果显示,正常组大鼠、模型组大鼠与 RYJHS 高频组大鼠组内重复样本聚集良好,组间分离明显($PC1 = 35.21\%$, $PC2 = 16.18\%$),且 RYJHS 高频组在主成分空间中向正常组聚类区域偏移,提示给药可推动整体分子表达谱向正常状态回归,见图 6。

identical protein binding) 及 RNA 结合(RNA binding)等 及细胞代谢相关功能异常,见表 4。
功能,提示放射性皮肤损伤伴随蛋白合成、RNA 加工

表 3 排名前 15 位的关键逆转蛋白

序号	蛋白名称	趋势	Model <i>vs</i> Normal(<i>FC</i> ; <i>P</i>)	RYJHS <i>vs</i> Model(<i>FC</i> ; <i>P</i>)	Pullback strength
1	Krt71	Down→Up	0.021 1; <i>P</i> = 0.020 5	33.799 4; <i>P</i> = 0.011 2	5.661
2	Krt79	Down→Up	0.079 1; <i>P</i> = 1.69 × 10 ⁻⁴	12.866 6; <i>P</i> = 0.005 5	4.524
3	Krt28	Down→Up	0.142 7; <i>P</i> = 0.006 8	6.707 1; <i>P</i> = 0.017 7	3.746
4	Krt27	Down→Up	0.151 3; <i>P</i> = 0.009 2	6.804 4; <i>P</i> = 0.013 8	3.475
5	Gnmt	Down→Up	0.157 1; <i>P</i> = 4.38 × 10 ⁻⁴	6.237 3; <i>P</i> = 3.05 × 10 ⁻⁴	3.431
6	Krt25	Down→Up	0.167 9; <i>P</i> = 0.005 6	6.462 2; <i>P</i> = 0.010 9	3.421
7	Stfa2l1	Up→Down	14.275; <i>P</i> = 0.048 5	0.061 1; <i>P</i> = 0.047 1	3.115
8	Krt75	Down→Up	0.103 4; <i>P</i> = 0.009 1	4.484 1; <i>P</i> = 0.028 6	2.986
9	Tnc	Up→Down	9.385 6; <i>P</i> = 0.032 2	0.12; <i>P</i> = 0.033 3	2.914
10	Rptn	Up→Down	5.841 6; <i>P</i> = 0.015 1	0.132 7; <i>P</i> = 0.015 1	2.846
11	Casp14	Down→Up	0.134 1; <i>P</i> = 0.018 3	6.641 1; <i>P</i> = 0.013 1	2.795
12	Cpm	Down→Up	0.068 6; <i>P</i> = 0.033 2	7.023 6; <i>P</i> = 0.037 5	2.736
13	ENSRNOG00000064129	Down→Up	0.058 1; <i>P</i> = 0.012 0	5.578 4; <i>P</i> = 0.038 6	2.557
14	Nol10	Down→Up	0.149 2; <i>P</i> = 0.032 3	4.603 1; <i>P</i> = 0.007 8	2.536
15	Krt6a	Up→Down	6.053 9; <i>P</i> = 0.021 8	0.176 7; <i>P</i> = 0.020 7	2.525

注:*FC* 为原始倍数变化值(非 log2 转换),*FC* < 1 表示下调,*FC* > 1 表示上调;Pullback strength 为基于标准化蛋白表达量计算的表达回归幅度,数值越大表示越接近正常组表达水平。

表 4 模型组 *vs* 正常组差异蛋白 GO 富集分析

GO 分析	序号	GO term	Rich factor	<i>P</i> value	<i>Q</i> value
BP	1	ribosomal small subunit biogenesis	0.225 3	2.46 × 10 ⁻¹⁹	1.28 × 10 ⁻¹⁶
	2	rRNA processing	0.170 1	1.03 × 10 ⁻¹⁷	4.59 × 10 ⁻¹⁵
	3	response to xenobiotic stimulus	0.098 2	5.56 × 10 ⁻¹⁴	1.92 × 10 ⁻¹¹
CC	1	cytosol	0.096 3	2.45 × 10 ⁻¹⁰⁴	2.29 × 10 ⁻¹⁰⁰
	2	cytoplasm	0.066 9	2.46 × 10 ⁻⁶⁵	1.15 × 10 ⁻⁶¹
	3	nucleus	0.062 9	7.05 × 10 ⁻⁵²	2.20 × 10 ⁻⁴⁸
MF	1	identical protein binding	0.088	4.80 × 10 ⁻⁴⁴	7.48 × 10 ⁻⁴¹
	2	protein – containing complex binding	0.122 5	9.79 × 10 ⁻³³	1.02 × 10 ⁻²⁹
	3	RNA binding	0.090 5	2.86 × 10 ⁻²⁸	2.67 × 10 ⁻²⁵

注:Rich factor = 差异蛋白中注释到该 GO term 的蛋白数/该 GO term 注释总蛋白数;*P* value 及 *Q* value 均经 Benjamini – Hochberg 校正。BP. 生物学过程;CC. 细胞组分;MF. 分子功能。

KEGG 富集分析显示,差异蛋白主要富集于内吞作用、肌动蛋白细胞骨架调控、紧密连接、细胞周期及自噬等细胞过程通路,PI3K – Akt 及 Hippo 信号通路,核糖体、剪接体及内质网蛋白质加工等遗传信息加工

通路及代谢通路,提示大鼠放射性皮肤损伤后局部组织在细胞结构稳态、信号转导、遗传信息加工及代谢调控等方面发生广泛改变,见图 9。

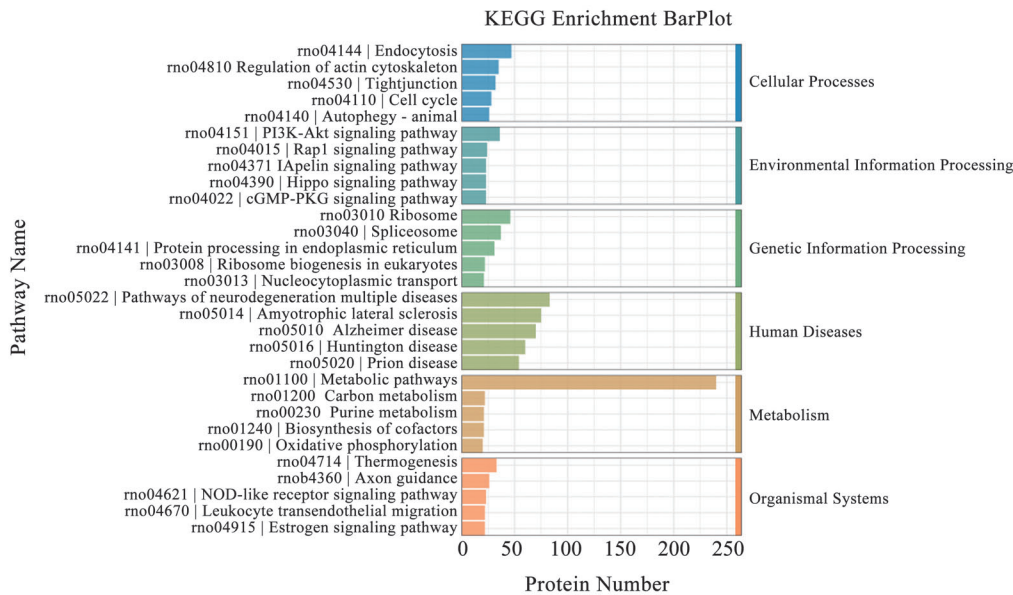


图 9 模型组 vs 正常组差异蛋白 KEGG 富集

与模型组比较,RYJHS 干预后差异蛋白的 GO 富集分析显示,在生物学过程(BP)层面,差异蛋白主要富集于中间丝组织(intermediate filament organization)、异生物刺激反应(response to xenobiotic stimulus)、营养物质应答(response to nutrient)及角化(keratinization)等过程;在细胞组分(CC)层面主要分布于胞质溶胶(cytosol)、细胞质(cytoplasm)、线粒体(mitochondrion)

等部位;在分子功能(MF)层面主要涉及同源蛋白结合(identical protein binding)、蛋白复合物结合(protein – containing complex binding)、染色质结合(chromatin binding)及酶结合(enzyme binding)等功能,提示 RYJHS 干预后局部皮损组织蛋白表达谱发生明显重塑,见表 5。

表 5 RYJHS 高频组 vs 模型组差异蛋白 GO 富集分析

GO 分析	序号	GO term	Rich factor	P value	Q value
BP	1	intermediate filament organization	0.1618	1.04×10^{-13}	6.65×10^{-11}
	2	response to xenobiotic stimulus	0.0632	3.43×10^{-13}	2.02×10^{-10}
	3	response to ethanol	0.0919	1.54×10^{-12}	7.75×10^{-10}
CC	1	cytosol	0.0474	1.91×10^{-47}	1.35×10^{-43}
	2	cytoplasm	0.0346	9.46×10^{-36}	3.34×10^{-32}
	3	mitochondrion	0.0526	2.83×10^{-25}	5.00×10^{-22}
MF	1	identical protein binding	0.0486	6.22×10^{-29}	1.46×10^{-25}
	2	protein – containing complex binding	0.0588	8.94×10^{-15}	6.31×10^{-12}
	3	chromatin binding	0.0495	1.41×10^{-11}	6.65×10^{-9}

KEGG 富集分析进一步显示,差异蛋白主要富集于肌动蛋白细胞骨架调控、内吞作用、细胞周期、细胞衰老及细胞黏附分子等细胞过程通路,MAPK 及 PI3K – Akt 信号通路,内质网蛋白质加工、泛素介导的蛋白水解等遗传信息加工通路,以及 PPAR 信号通路、NOD

样受体信号通路和代谢通路(富集蛋白数量最多),提示 RYJHS 干预可能通过协同调控细胞骨架重塑、炎症信号、蛋白质稳态及脂质代谢等过程,推动放射性皮肤损伤后的组织修复,见图 10。

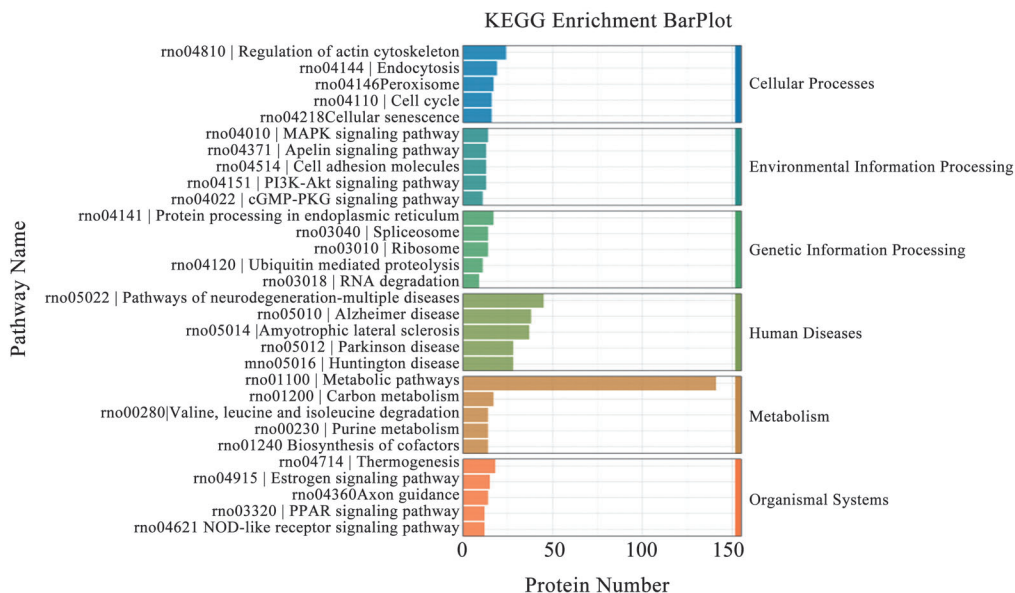


图 10 RYJHS 高频组 *vs* 模型组差异蛋白 KEGG 富集

3 讨论

中医理论认为, RISI 归属于“火毒疮疡”“热毒灼肤”范畴, 治疗应以清热解毒、燥湿祛瘀及生肌敛疮为法则。RYJHS 出自《外科正宗》, 是中医外科疮疡经典方, 该方具有清热解毒、燥湿止痛、祛瘀生新等功效, 与 RISI 病机治法高度契合, 对治疗放射性皮肤损伤具有潜在临床价值。因此, 从成分和机制层面探索具有现实意义。

本研究基于 UHPLC - QE - MS 技术鉴定出 RYJHS 中 1 490 个化合物。结合外用制剂特点与理化性质筛选得到 95 个候选活性成分, 主要归属于黄酮类、姜黄素类及蒽醌类等, 构成了其“清解火毒、生肌”的核心药效骨架。近期研究表明, 天然产物及中药单体可通过抑制氧化应激、减轻炎症风暴及调控细胞外基质 (ECM) 重塑, 在放射性皮肤损伤中发挥多维保护作用^[14]。例如, 双脱甲氧基姜黄素不仅能加速创面闭合, 还可改善异常瘢痕化倾向^[15]。甘草素等黄酮类化合物则兼具抗炎与促再上皮化作用^[16]。上述物质基础为 RYJHS 改善 RISI 创面微环境提供了药理学支撑。

放射性创面修复的核心不仅在于表皮愈合, 更在于修复质量^[17]。本研究组织病理学结果显示, RYJHS 干预后不仅可加速创面愈合, 且显著减轻表皮异常增厚与真皮炎性浸润。值得注意的是, 辐射常导致真皮胶原沉积不足与排列紊乱, 既往研究已证实 COL1/ COL3 比例的动态平衡是基质由增生期向成熟期过渡的关键^[18-19]。天狼星红及免疫组化结果表明, RYJHS 可促进创面总胶原沉积, 上调 COL1 表达, 下调辐射诱

导的 COL3 异常高表达。这一结果表明, RYJHS 并非单纯促进创面表面闭合, 或可通过调控胶原亚型转换, 推动创面向更规整的基质重塑状态转变。

为进一步揭示上述表型的分子基础, 采用蛋白质组学技术对靶区皮肤蛋白表达变化进行表征。结果显示, RYJHS 逆转了 1 186 个因辐射下调的蛋白表达。在关键逆转蛋白中, Krt71、Krt79 等毛囊内根鞘 (IRS) 特异性角蛋白在给药后呈显著上调趋势。既往研究表明, 电离辐射可直接损伤毛囊干细胞并导致 IRS 角蛋白表达下降, 是放射性脱发及附属器损伤的标志^[20]。本研究中 Krt71、Krt79 的表达回升, 与 HE 染色中观察到的皮肤附属器损伤减轻一致, 提示 RYJHS 可能有助于保护或促进毛囊等附属器结构的恢复。此外, 表皮屏障关键酶 CASP14 在干预后亦显著上调。CASP14 参与丝聚蛋白降解及角质层天然保湿因子的生成, 其表达缺失与皮肤屏障功能受损及对紫外线、电离辐射敏感性增加密切相关^[21-22]。这提示干预可能促进了受损表皮屏障功能的重建。

在基质微环境调控方面, 损伤相关分子模式 (DAMP) 蛋白——Tenascin - C (TNC) 的显著下调值得关注。TNC 在正常成体皮肤中极少表达, 但在组织损伤及辐射后常呈爆发性高表达, 其持续高表达可驱动巨噬细胞浸润并导致病理性纤维化^[23-24]。本研究结果显示, 辐射导致 TNC 表达增加, 而 RYJHS 干预后其表达显著下调。结合胶原沉积的改善, 提示抑制 TNC 介导的促炎与促纤维化微环境, 推测其可能为 RYJHS 改善 ECM 重塑的重要分子途径之一。

GO 与 KEGG 富集分析进一步拓展了对潜在机制

的认知。近期关于黄连素干预 RISI 的蛋白质组学研究指出,调控炎症反应与细胞骨架组装是天然产物促修复的共性途径^[25]。本研究发现,RYJHS 干预后的差异蛋白显著富集于中间丝组织、角化及肌动蛋白细胞骨架调控通路。中间丝如角蛋白网络不仅提供机械支撑,更是上皮细胞迁移和创面闭合的核心动力^[26]。同时,干预后差异蛋白特异性富集于代谢通路及 NOD 样受体等炎症信号通路。此外,电离辐射可导致皮肤脂质代谢重塑,其中胆固醇合成受抑会严重损害角质层屏障功能,而 NOD 样受体特别是 NLRP3 炎症小体的过度激活则是驱动放射性皮肤组织坏死和持续炎症的关键执行者^[27-28]。这表明,RYJHS 可能通过“调脂代谢—抑 NLRs 炎症—促角蛋白组装”的多靶点网络,协同纠正辐射诱导的组织微环境失衡。

相较于既往多聚焦于单一靶点或表型的研究,本研究结合外用制剂特性初步明确了 RYJHS 的药效物质基础,并从“表型—组织—全局蛋白质组”多维度,预测了其对 RISI 修复质量的提升作用,为中药复方外用治疗 RISI 提供依据。

然而,本研究仍存在以下局限性,1. 蛋白质组学样本量相对较小,且属于发现性研究,Krt71、CASP14 及 TNC 等逆转蛋白的表达变化尚需进一步验证;2. 复方外用制剂的透皮吸收率及活性成分在创面局部的实际有效浓度未经验证;3. 大鼠单次大剂量局部辐射模型与临床肿瘤患者经历的分割放疗在病理演变上存在差异。后续研究将采用更贴近临床的动物模型,结合分子生物学手段对关键通路进行验证,以期为其临床规范化应用提供更坚实的循证基础。

参考文献:

- [1] BEHROOZIAN T, GOLDSSTEIN D, RYAN WOLF J, et al. MASCC clinical practice guidelines for the prevention and management of acute radiation dermatitis: part 1) systematic review [J]. *eClinicalMedicine*, 2023, 58: 101886.
- [2] DADKHAHFAR S, FAROKH P, DEMEHRI S, et al. Radiation - induced skin injury: mechanisms, clinical manifestations, and management [J]. *Int J Dermatology*, 2026, 65(5): 963 - 973.
- [3] DEMYASHKIN G, SHAPOVALOVA Y, MARUKYAN A, et al. Immunohistochemical and histochemical analysis of the rat skin after local electron irradiation [J]. *Open Vet J*, 2023, 13(12): 1570.
- [4] FAN M, FENG M, YUAN S H. Chinese clinical practice guidelines for the prevention and treatment of radiation - induced dermatitis [J]. *Precis Radiat Oncol*, 2023, 7(3): 160 - 172.
- [5] GOSSELIN T, GINEX P, BACKLER C, et al. ONS guidelinesTM for cancer treatment - related radiodermatitis [J]. *Oncol Nurs Forum*, 2020, 47(6): 654 - 670.
- [6] SALVO N, BARNES E, VAN DRAANEN J, et al. Prophylaxis and management of acute radiation - induced skin reactions: a systematic review of

the literature [J]. *Curr Oncol*, 2010, 17(4): 94 - 112.

- [7] 王寅, 孙立巧, 康宁, 等. 从燥邪理论探讨放射性皮炎 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(21): 3065 - 3069.
- [8] 王照东方, 刘思达, 薛莹, 等. 基于孙络“溢邪邪, 通营卫”理论论治急性放射性皮炎 [J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2647 - 2650.
- [9] 李志明, 李全, 王芬, 等. 李全论治急性放射性皮炎验案举隅 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2021, 23(4): 110 - 113.
- [10] 方逸雯, 王惠芬, 徐慧婷. 如意金黄散外敷辅治恶性肿瘤体表破溃创面验案 1 则 [J]. *临床合理用药*, 2025, 18(5): 160 - 161, 165.
- [11] 晏晓宁. 如意金黄散外敷在慢性创面治疗中应用效果 [J]. *中外医学研究*, 2024, 22(20): 46 - 49.
- [12] 董浩宇, 冯硕, 常晓丹, 等. 如意金黄散的实验研究进展 [J]. *西部中医药*, 2024, 37(10): 85 - 87.
- [13] YAO C L, ZHOU Y, WANG H, et al. Adipose - derived stem cells alleviate radiation - induced dermatitis by suppressing apoptosis and downregulating cathepsin F expression [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 447.
- [14] LI X X, YU L Y, XU H C, et al. Research on the mechanisms of natural products in radiation protection [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2025, 13: 1640682.
- [15] XIANG Y, FAN B B, SHANG P P, et al. VR23 and bisdemethoxycurcumin enhanced nanofiber niche with durable bidirectional functions for promoting wound repair and inhibiting scar formation [J]. *Small Meth*, 2024, 8(12): 2400273.
- [16] MENG X, XUE M Z, ZENG Z Q, et al. Liquiritigenin - loaded poly (acrylic acid) - carboxymethyl cellulose hydrogels: formulation optimization, performance evaluation, and assessment of therapeutic efficacy for wound healing and sepsis caused by wound bacterial infection [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2026, 13: 1732535.
- [17] AL MAMUN A, SHAO C X, GENG P W, et al. Recent advances in molecular mechanisms of skin wound healing and its treatments [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1395479.
- [18] CUI J, WANG T J, ZHANG Y X, et al. Molecular biological mechanisms of radiotherapy - induced skin injury occurrence and treatment [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 180: 117470.
- [19] ZHOU C J, GUO Y. Mini review on collagens in normal skin and pathological scars: current understanding and future perspective [J]. *Front Med*, 2024, 11: 1449597.
- [20] NANASHIMA N, ITO K, ISHIKAWA T, et al. Damage of hair follicle stem cells and alteration of keratin expression in external radiation - induced acute alopecia [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(3): 579 - 584.
- [21] ECKHART L, SACHSLEHNER A P, STEINBINDER J, et al. Caspase - 14 - like proteases: an epidermal caspase and its evolutionarily ancient relatives [J]. *Biomolecules*, 2025, 15(7): 913.
- [22] HOSTE E, KEMPERMAN P, DEVOS M, et al. Caspase - 14 is required for filaggrin degradation to natural moisturizing factors in the skin [J]. *J Invest Dermatol*, 2011, 131(11): 2233 - 2241.
- [23] WANG Y C, WANG G F, LIU H. Tenascin - C: a key regulator in angiogenesis during wound healing [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(11): 1689.
- [24] BHATTACHARYYA S, WANG W X, MORALES - NEBREA L, et al. Tenascin - C drives persistence of organ fibrosis [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11703.

- [25] ZOU J, XIAO X J, ZHANG P, et al. Berberine in the treatment of radiation – induced skin injury: insights from proteomics and network pharmacology[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1542851.
- [26] RAMMS L, FABRIS G, WINDOFFER R, et al. Keratins as the main component for the mechanical integrity of keratinocytes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(46): 18513 – 18518.

- [27] XIAO Y J, MO W, JIA H M, et al. Ionizing radiation induces cutaneous lipid remodeling and skin adipocytes confer protection against radiation – induced skin injury[J]. *J Dermatol Sci*, 2020, 97(2): 152 – 160.
- [28] LIU G Y, CHEN Y, DAI S J, et al. Targeting the NLRP3 in macrophages contributes to senescence cell clearance in radiation – induced skin injury[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1): 196.

Exploration on the Role and Potential Mechanisms of Ruyi Jinhuang Powder in Promoting the Repair of Radiation – Induced Skin Injury Based on Proteomics

XUE Ying¹, PANG Boxian¹, ZHANG Yiwen¹, QU Yuting¹, KANG Ning²,
GONG Wenxin¹, ZHANG Haojun³, LI Tong^{1,2}

1. *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

2. *The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

3. *Institute of Clinical Medical Sciences, China – Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China*

Abstract Objective: To investigate the promoting effect of Ruyi Jinhuang Powder on wound repair in rats with radiation – induced skin injury and its potential mechanisms. Methods: Untargeted detection of the chemical components of Ruyi Jinhuang Powder was performed using UHPLC – QE – MS. Seventy – five male SD rats were randomly divided into normal group, model group, triethanolamine group (TEA), Ruyi Jinhuang Powder low – frequency group (Ruyi Jinhuang Powder – L), and Ruyi Jinhuang Powder high – frequency group (Ruyi Jinhuang Powder – H). Except for the normal group, rats in all other groups received a single dose of 90 Gy irradiation on the left buttock to establish a radiation – induced skin injury model, followed by continuous drug treatment for 8 weeks. Wound healing was assessed by wound photography and ImageJ measurement. Histopathological changes were observed via HE staining, and collagen deposition was evaluated by Sirius Red staining and immunohistochemistry. Skin tissues from the normal group, model group, and Ruyi Jinhuang Powder – H group were collected at 4 weeks post – irradiation for DIA quantitative proteomic analysis, followed by functional enrichment analysis of differentially expressed proteins. Results: A total of 1,490 annotable compounds were identified by UHPLC – QE – MS, and 95 candidate components were screened based on the physicochemical properties of the topical formulation, providing a chemical basis for subsequent mechanistic analysis. Ruyi Jinhuang Powder promoted wound closure in radiation – induced skin injury, increased the healing rate ($P < 0.01$), alleviated epidermal structural disruption and dermal inflammatory cell infiltration ($P < 0.001$), and improved insufficient collagen deposition and disordered fiber arrangement ($P < 0.001, P < 0.0001$), with more pronounced effects in the high – frequency group. Proteomics quantified a total of 9,075 proteins, among which 3,183 differentially expressed proteins were identified between the model group and the normal group, and 1,614 differentially expressed proteins were identified between the Ruyi Jinhuang Powder – H group and the model group. Further analysis revealed that Ruyi Jinhuang Powder reversed 1,186 abnormally expressed proteins, mainly involving molecules related to epidermal barrier function, keratinization/differentiation, tight junctions, and extracellular matrix remodeling. GO enrichment analysis showed that after Ruyi Jinhuang Powder intervention, the differentially expressed proteins were mainly enriched in biological processes such as intermediate filament organization, response to xenobiotic stimulus, cholesterol biosynthesis, and keratinization. KEGG enrichment analysis showed that the differentially expressed proteins were significantly enriched in pathways including regulation of actin cytoskeleton, endocytosis, MAPK signaling pathway, PI3K – Akt signaling pathway, protein processing in endoplasmic reticulum, ubiquitin – mediated proteolysis, PPAR signaling pathway, NOD – like receptor signaling pathway, and metabolic pathways. Conclusion: Ruyi Jinhuang Powder can promote wound repair in radiation – induced skin injury, improve histological damage and collagen – related abnormalities, and its mechanisms may involve the regulation of epidermal barrier function, keratinization/differentiation, tight junctions, extracellular matrix remodeling, and protein homeostasis. These findings provide an experimental basis and theoretical foundation for subsequent validation of key targets and functional studies.

Key words Radiation – induced skin injury; Ruyi Jinhuang Powder; External treatment of traditional Chinese medicine; Proteomics; Matrix remodeling