

[9] Luna R A, Foster J A. Gut brain axis; diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 32: 35-41.

[10] Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, *et al.* Correlation between the human fecal microbiota and depression [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2014, 26(8): 1155-1162.

[11] Jiang H, Ling Z, Zhang Y, *et al.* Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder[J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 48: 186-194.

[12] 李 萱, 贾丽丽. 柴胡加龙骨牡蛎汤加减治疗抑郁症疗效观察[J]. 中国实用医药, 2022, 17(12): 22-25.

[13] 王一旭, 李媛媛, 张碧涛, 等. 逍遥散对慢性不可预知温和应激大鼠下丘脑弓状核 JAK/STAT 通路变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(21): 21-27.

[14] 赵迪克, 牛 君, 杜志欣, 等. 基于 cAMP/PKA/CREB/BDNF 信号通路探讨柴胡加龙骨牡蛎汤抗抑郁的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(3): 17-25.

[15] Yu M, Jia H M, Zhou C, *et al.* Variations in gut microbiota and fecal metabolic phenotype associated with depression by 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics [J]. *J Pharm Biom Anal*, 2017, 138: 231-239.

[16] Lassale C, Batty G D, Baghdadli A, *et al.* Healthy dietary indices and risk of depressive outcomes: a systematic review and meta-analysis of observational studies [J]. *Mol Psychiatry*, 2019, 24(7): 965-986.

[17] Soto M, Herzog C, Pacheco J A, *et al.* Gut microbiota modulate neurobehavior through changes in brain insulin sensitivity and metabolism[J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23(12): 2287-2301.

[18] Strandwitz P, Kim K H, Terekhova D, *et al.* GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(3): 396-403.

[19] Ruhé H G, Mason N S, Schene A H. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies [J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(4): 331-359.

[20] Jameson K G, Hsiao E Y. Linking the gut microbiota to a brain neurotransmitter [J]. *Trends Neurosci*, 2018, 41(7): 413-414.

紫草素对白癜风小鼠黑素细胞功能的影响

王 解, 彭子辉*, 王润和, 李进先, 李 刚
[襄阳市中心医院 (湖北文理学院附属医院) 皮肤科, 湖北 襄阳 441003]

摘要: **目的** 探讨紫草素对白癜风小鼠黑素细胞功能的影响。**方法** 小鼠随机分为对照组、模型组、白癜风胶囊组 (504 mg/kg) 和紫草素低、中、高剂量组 (20、40、80 mg/kg), 除对照组外其余各组小鼠涂抹 2.5% 氢醌软膏 60 d 构建白癜风模型, 各组灌胃给药 21 d。观察毛发脱色情况, 进行毛发脱色评分, HE 染色观察小鼠皮肤病理组织学, 计数黑色素毛囊及基底层黑素细胞数, ELISA 法检测小鼠血清 α -黑色素细胞刺激素 (α -MSH)、TYR、IL-23、IL-17 水平, 流式细胞术检测外周血 Th17 细胞比例, RT-PqCR 法检测小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达。**结果** 对照组小鼠皮肤组织表皮无增生, 含有大量黑色素毛囊及基底层黑素细胞。与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织表皮增生, 涂药部位和非涂药部位毛发脱色评分、血清 IL-23 及 IL-17 水平、外周血 Th17 细胞比例、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达升高 ($P<0.05$), 黑色素毛囊及基底层黑素细胞数、血清 α -MSH 及 TYR 水平降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 紫草素各剂量组小鼠皮肤组织表皮增生减轻, 涂药部位和非涂药部位毛发脱色评分、血清 IL-23 及 IL-17 水平、外周血 Th17 细胞比例、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达降低 ($P<0.05$), 黑色素毛囊及基底层黑素细胞数、血清 α -MSH 及 TYR 水平升高 ($P<0.05$), 并呈剂量依赖性; 紫草素高剂量组与白癜风胶囊组作用相当。**结论** 紫草素可下调 IL-23/Th17 通路, 抑制 Th17 细胞分化, 抑制炎症反应, 减轻黑素细胞功能损伤, 改善白癜风小鼠症状。

关键词: 紫草素; 白癜风; IL-23/Th17 通路; 黑素细胞功能

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)10-3452-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.051

白癜风是一种多见于青少年的皮肤科常见疾病，患者黑素细胞出现数目减少及功能受损，临床症状以毛发、黏膜或皮肤色素脱失为主，发病部位常定位于手脚，但有时也能蔓延到面部，使患者常因外表而痛苦尴尬，导致部分患者抑郁^[1-2]。白癜风是一种慢性炎症性皮肤病，免疫 T 细胞的分化参与介导其发病过程，Th17 细胞及其表达合成的促炎因子 IL-17 在白癜风患者体内增加，抑制 Th17 细胞分化，可保护黑素细胞，减轻白癜风患者色素脱失症状^[3-4]；IL-23 作为一种炎症因子，可激活 Th17 细胞信号，引发炎症，在胸腺炎等多种自身免疫性疾病中发挥重要调控作用^[5]，且 IL-23 及 Th17 细胞因子 IL-17 水平在白癜风患者血清中升高^[6]，表明 IL-23/Th17 信号是白癜风的一个潜在治疗靶点。紫草素是紫草科紫草 *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. 根中的活性成分，具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等生物学功效，可降低炎症因子 IL-6、IL-17 和 IL-23 水平，抑制其促炎症作用，改善银屑病症状，对白癜风也有较好疗效^[7-8]，但其药理机制目前还未明确。本文以紫草素处理白癜风模型小鼠，探讨其对白癜风小鼠黑素细胞功能的影响及作用机理。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6 小鼠，SPF 级，体质量 13~17 g，购自济南朋悦实验动物繁育有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 2019-0003]，在动物中心适应饲养 1 周，温度 21 ℃，相对湿度 45%。实验过程均遵循国家及单位关于实验动物保护与使用的准则，并经本单位实验动物伦理委员会批准 (伦理号 2019-10)。

1.2 试剂 氢醌、羧甲基纤维素钠 (批号 20170704、F20090916，国药集团化学试剂有限公司)。紫草素对照品 (纯度 ≥ 98%，美国 Sigma-Aldrich 公司)。白癜风胶囊 (0.45 g/粒，批号 20170527，长春银诺克药业有限公司)。HE 染色试剂盒、小鼠 IL-23 ELISA 试剂盒、小鼠 IL-17 ELISA 试剂盒、红细胞裂解液、动物总 RNA 快速抽提试剂盒 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司]；小鼠 α-黑色素细胞刺激素 (α-melanocyte stimulating hormone, α-MSH) ELISA 试剂盒 (南京森贝伽生物科技有限公司)；反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司)；IL-23、β-actin、IL-17 引物 (苏州吉玛基因股份有限公司)；FITC-CD4 单克隆抗体、FITC-IL-17 单克隆抗体 (上海北诺生物科技有限公司)。

1.3 仪器 Multiskan FC 型酶标仪 (上海腾名生物科技有限公司)；DM4000 型光学显微镜、RM2245 型切片机 (德国徕卡公司)；7900HT 型荧光定量 PCR 仪、3900 型高通量 DNA 合成仪 (美国应用生物系统公司)；FACSCalibur 型流式细胞仪 (美国 Becton Dickinson 公司)；TD-4M 型低温高速离心机 (济南来宝医疗器械有限公司)。

2 方法

2.1 模型建立、分组及给药 小鼠随机分为对照组、模型组、白癜风胶囊 (504 mg/kg) 组和紫草素低、中、高剂量

(20、40、80 mg/kg) 组，每组 12 只。除对照组外其余各组按参考文献 [9] 报道制备白癜风模型，小鼠颈背部脱毛，每天均匀涂抹 0.5 mL 2.5% 氢醌软膏 (将 1 g 羧甲基纤维素钠、2.5 g 氢醌加到 100 mL 去离子水中，磁力搅拌 1 h，即得)，持续 60 d (每 5 d 脱毛 1 次)，观察到小鼠脱毛区毛发、肤色变白，表示造模成功。对照组 12 只小鼠于背部脱毛处每日均匀涂抹空白基质 (将 1 g 羧甲基纤维素钠加到 100 mL 去离子水中，磁力搅拌 1 h，即得)。

以生理盐水溶解紫草素、白癜风胶囊内容物，制得 2、4、8 mg/mL 紫草素^[10]，50.4 mg/mL 白癜风胶囊^[11]药液，用药组小鼠每天上午 10:00 灌胃给予对应药液 10 mL/kg，模型组、对照组小鼠每天上午 10:00 灌胃给予生理盐水 10 mL/kg，每天 1 次，持续 21 d。

2.2 小鼠毛发脱色情况检测及标本采集 末次给药 24 h 后，观察小鼠涂药 (2.5% 氢醌软膏) 部位和非涂药部位脱色情况，参照文献 [12] 标准进行评分，每个部位总分 5 分。毛发基本无脱色为 0 分，0<毛发脱色面积 ≤ 10% 为 1 分，11% ≤ 毛发脱色面积 ≤ 25% 为 2 分，26% ≤ 毛发脱色面积 ≤ 50% 为 3 分，51% ≤ 毛发脱色面积 ≤ 75% 为 4 分，76% ≤ 毛发脱色面积 ≤ 100% 为 5 分。脱颈处死小鼠，取腹主动脉血 2.0 mL，6 只小鼠血液中加入红细胞裂解液，冰水浴孵育 0.5 h，100×g 离心，取细胞沉淀备用；剩余 6 只小鼠血液 100×g 离心，取血清备用 (保存于 -80 ℃)。剪取小鼠造模处皮肤组织 0.5 g (保存于液氮)，再剪取小鼠造模处皮肤组织 (1 cm×1 cm)，多聚甲醛固定。

2.3 HE 染色观察小鼠皮肤病理组织学 取“2.2”项下固定的小鼠皮肤组织，脱水、透明、包埋后切片，按照试剂盒说明书方法进行 HE 染色，封片后置于显微镜下观察皮肤组织病理形态，并扫描横切面，采用 CaseViewer 软件分析同等放大倍数下视野中黑色素毛囊、基底层黑素细胞数。

2.4 小鼠血清 α-MSH、TYR、IL-23、IL-17 水平检测 取“2.2”项下小鼠血清，冰水浴中提前解冻，按照 ELISA 试剂盒说明书检测 α-MSH、TYR、IL-23、IL-17 水平。

2.5 小鼠外周血 Th17 细胞比例检测 取“2.2”项下小鼠外周血细胞沉淀，以 PBS 缓冲液洗涤后重悬，计数后调整密度为 1.0×10⁶/mL，取 1 mL 悬液，依次加入 FITC-CD4、FITC-IL-17 单克隆抗体混匀，上机检测，计算 Th17 细胞比例。

2.6 小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达检测 取“2.2”项下于 -80 ℃ 保存的小鼠皮肤组织，提取总 RNA 后进行逆转录反应，制得 cDNA，均按照相应试剂盒说明书进行操作，配制 RT-qPCR 反应预混液，加入皮肤组织 cDNA 模板，混匀后上机进行 PCR 扩增，反应体系配制和反应条件设定均按照荧光定量 PCR 试剂盒说明书指导进行，以 β-actin 基因为内参，2^{-ΔΔCT} 法分析 IL-23、IL-17 mRNA 相对表达，引物序列见表 1。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析，两两比

表 1 引物序列	
基因	序列(5'→3')
IL-23	正向 CATGCTAGCCTGGAACGCACAT
	反向 ACTGGCTGTTCCTTGAGTCC
β-actin	正向 CCTGGGACTGCTGCCGTGA
	反向 CCGTGTAGGGGTTTCCGTA
IL-17	正向 CAGACTACCTCAACCGTTCCAC
	反向 TCCAGCTTCCCTCCGATTGA

较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 紫草素对白癜风小鼠毛发脱色评分的影响 与对照组比较,模型组小鼠涂药部位、非涂药部位毛发脱色评分升高 ($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组小鼠涂药部位、非涂药部位毛发脱色评分降低 ($P<0.05$),并呈剂量依赖性 ($P<0.05$);与白癜风胶囊组比较,紫草素高剂量组小鼠涂药部位、非涂药部位毛发脱色评分无明显变化 ($P>0.05$),见表 2。

表 2 各组小鼠毛发脱色评分比较 (分, $\bar{x}\pm s, n=12$)		
组别	涂药部位毛发脱色评分	非涂药部位毛发脱色评分
对照组	0±0	0±0
模型组	4.25±0.67 *	2.00±0.43 *
紫草素低剂量组	2.75±0.52 #	1.42±0.16 #
紫草素中剂量组	1.42±0.31 #△	0.75±0.08 #△
紫草素高剂量组	0.42±0.05 #△▲	0.08±0.03 #△▲
白癜风胶囊组	0.50±0.10 #△▲	0.17±0.04 #△▲

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,△ $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,▲ $P<0.05$ 。

3.2 紫草素对白癜风小鼠皮肤病理组织学和黑素细胞的影响 对照组小鼠皮肤组织表皮无增生,含有大量黑色素毛囊及基底层黑素细胞;与对照组比较,模型组小鼠皮肤组织表皮增生,黑色素毛囊及基底层黑素细胞数降低 ($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组小鼠皮肤组织表皮增生减轻,黑色素毛囊及基底层黑素细胞数增加 ($P<0.05$),并呈剂量依赖性;与白癜风胶囊组比较,紫草素高剂量组小鼠皮肤组织表皮增生程度相似,黑色素毛囊、基底层黑素细胞数无明显变化 ($P>0.05$),见图 1、表 3。

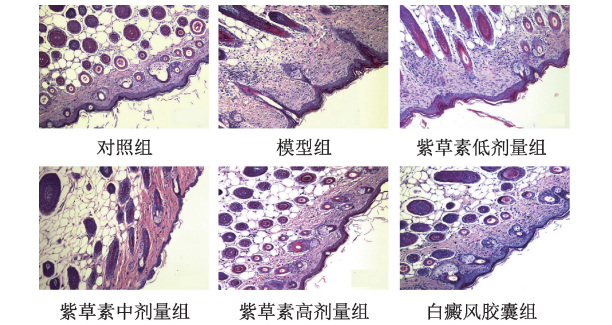


图 1 各组小鼠皮肤组织 HE 染色 (×200)

3.3 紫草素对白癜风小鼠血清 α-MSH、TYR 水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清 α-MSH、TYR 水平降低 ($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组小鼠血清

3454

表 3 各组小鼠黑色素毛囊、基底层黑素细胞数比较 (个, $\bar{x}\pm s, n=12$)		
组别	黑色素毛囊数	基底层黑素细胞数
对照组	112.06±17.34	143.37±20.02
模型组	38.52±6.12 *	58.86±8.78 *
紫草素低剂量组	65.42±7.54 #	80.92±10.61 #
紫草素中剂量组	85.23±10.07 #△	107.75±12.07 #△
紫草素高剂量组	109.58±12.19 #△▲	140.83±18.04 #△▲
白癜风胶囊组	108.06±11.94 #△▲	138.96±17.47 #△▲

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,△ $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,▲ $P<0.05$ 。
α-MSH、TYR 水平升高 ($P<0.05$),并呈剂量依赖性;与白癜风胶囊组比较,紫草素高剂量组小鼠血清 α-MSH、TYR 水平无明显变化 ($P>0.05$),见表 4。

表 4 各组小鼠血清 α-MSH、TYR 水平比较 (μg/L, $\bar{x}\pm s, n=6$)		
组别	α-MSH	TYR
对照组	24.03±2.10	92.67±7.08
模型组	13.95±1.02 *	60.02±3.42 *
紫草素低剂量组	16.73±1.25 #	70.43±4.10 #
紫草素中剂量组	20.44±1.46 #△	81.98±4.23 #△
紫草素高剂量组	23.78±1.43 #△▲	91.41±3.94 #△▲
白癜风胶囊组	23.57±1.50 #△▲	90.76±4.05 #△▲

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,△ $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,▲ $P<0.05$ 。

3.4 紫草素对白癜风小鼠外周血 Th17 细胞比例的影响 与对照组比较,模型组小鼠外周血 Th17 细胞比例升高 ($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组小鼠外周血 Th17 细胞比例降低 ($P<0.05$),并呈剂量依赖性;与白癜风胶囊组比较,紫草素高剂量组小鼠外周血 Th17 细胞比例无明显变化 ($P>0.05$),见表 5。

表 5 各组小鼠外周血 Th17 细胞比例比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)	
组别	Th17 细胞比例/%
对照组	1.13±0.09
模型组	3.45±0.31 *
紫草素低剂量组	2.76±0.28 #
紫草素中剂量组	1.98±0.20 #△
紫草素高剂量组	1.25±0.19 #△▲
白癜风胶囊组	1.30±0.13 #△▲

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与紫草素低剂量组比较,△ $P<0.05$;与紫草素中剂量组比较,▲ $P<0.05$ 。

3.5 紫草素对白癜风小鼠血清 IL-23、IL-17 水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清因子 IL-23、IL-17 水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组小鼠血清 IL-23、IL-17 水平降低 ($P<0.05$),并呈剂量依赖性;与白癜风胶囊组比较,紫草素高剂量组小鼠血清 IL-23、IL-17 水平无明显变化 ($P>0.05$),见表 6。

3.6 紫草素对白癜风小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达升高 ($P<0.05$);与模型组比较,紫草素各剂量组小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达降低 ($P<$

表 6 各组小鼠血清 IL-23、IL-17 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	IL-23	IL-17
对照组	123.00±8.74	112.16±9.05
模型组	273.51±21.23 [*]	227.38±15.81 [*]
紫草素低剂量组	227.64±15.41 [#]	190.95±12.63 [#]
紫草素中剂量组	187.21±10.73 ^{#△}	154.72±10.78 ^{#△}
紫草素高剂量组	130.05±12.42 ^{#△▲}	119.84±9.47 ^{#△▲}
白癜风胶囊组	134.58±11.92 ^{#△▲}	122.91±10.04 ^{#△▲}

注：与对照组比较,^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$ ；与紫草素低剂量组比较,[△] $P<0.05$ ；与紫草素中剂量组比较,[▲] $P<0.05$ 。0.05),并呈剂量依赖性；与白癜风胶囊组比较,紫草素高剂量组小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$),见表 7。

表 7 各组小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	IL-23/ β -actin	IL-17/ β -actin
对照组	1.01±0.17	0.97±0.13
模型组	3.62±0.34 [*]	3.43±0.30 [*]
紫草素低剂量组	2.75±0.27 [#]	2.65±0.28 [#]
紫草素中剂量组	1.92±0.22 ^{#△}	1.90±0.20 ^{#△}
紫草素高剂量组	1.10±0.19 ^{#△▲}	1.09±0.16 ^{#△▲}
白癜风胶囊组	1.15±0.24 ^{#△▲}	1.13±0.25 ^{#△▲}

注：与对照组比较,^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$ ；与紫草素低剂量组比较,[△] $P<0.05$ ；与紫草素中剂量组比较,[▲] $P<0.05$ 。

4 讨论

目前白癜风发病机制还未得到明确阐释,研究者认为环境因素、遗传因素、外伤、心理因素、自身免疫失衡等均与白癜风发生有关。激素治疗、手术与激光治疗在临床得到广泛应用,但疗效并不显著,且费用高昂,副作用较多,因此探寻安全有效的治疗方法是临床迫切所需^[13-14]。本实验通过背部脱毛区均匀涂抹 2.5% 氢醌软膏的方法构建白癜风模型小鼠,结果显示,建模小鼠皮肤组织表皮增生,涂药部位和非涂药部位毛发脱色评分、血清 IL-23 及 IL-17 水平、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达升高,表明氢醌软膏可诱导促炎因子大量合成释放,引发炎症,造成毛发脱色。 α -MSH 是垂体产生的一种激素,可促进黑素细胞产生黑色素,而 TYR 是调控黑色素合成的关键酶,血清 α -MSH、TYR 水平可反映黑素细胞功能^[9,15]。本研究结果显示,模型小鼠黑色素毛囊及基底层黑素细胞数、血清 α -MSH、TYR 水平降低,表明氢醌软膏可诱导黑素细胞死亡,破坏其功能。以上结果提示白癜风小鼠模型建立成功。

紫草素是提取自紫草的天然药物成分,还是治疗白癜风的中药制剂白癜风胶囊中含有的重要活性成分,可抑制促炎因子表达,促使抗炎因子表达,缓解人牙髓细胞炎症,对银屑病、白癜风等多种皮肤病具有较明显的治疗作用^[7-8,16-17]。本实验结果显示,以不同剂量紫草素处理白癜风模型小鼠,能减轻小鼠皮肤组织表皮增生,降低涂药部位和非涂药部位毛发脱色评分、血清 IL-23 及 IL-17 水平,

升高黑色素毛囊及基底层黑素细胞数、血清 α -MSH 及 TYR 水平,且呈剂量依赖性,表明紫草素可抑制促炎因子表达合成,减轻炎症,缓解黑素细胞功能损伤,改善小鼠毛发脱色情况,且在一定剂量范围内,紫草素剂量越高,作用越强。

白癜风是一种自身免疫性炎症疾病,免疫细胞 Th17 的激活分化与其发病过程密切相关。研究显示,白癜风患者体内 Th17 细胞数量增加,皮肤组织 Th17 细胞因子 IL-17 水平也升高,IL-23 是调控 Th17 细胞活化的重要炎性因子,能刺激 Th17 细胞激活,促使其生成促炎因子 IL-17,引发黑素细胞受损,导致白癜风,因而 IL-23/Th17 轴可作为白癜风的一个防治靶点^[3-6,18-20]。本实验结果显示,白癜风模型小鼠外周血中 Th17 细胞比例、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达升高;经紫草素给药后,其外周血中 Th17 细胞比例、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达降低,表明 IL-23/Th17 轴参与介导白癜风的发病过程,紫草素可阻止 IL-23/Th17 通路激活,抑制免疫 T 细胞向 Th17 分化,降低炎性因子 IL-23、IL-17 表达释放,减轻白癜风小鼠脱色症状。

综上所述,紫草素可下调 IL-23、IL-17 表达,抑制免疫 Th17 细胞活化,降低其比例,减轻黑素细胞炎症损伤,改善其功能,促进黑色素合成,缓解白癜风小鼠脱色症状,阻断 IL-23/Th17 信号传导可能是其药理机制之一。但本实验未通过上调和下调该信号进行对照验证,后续会对其药理机制进行深入探讨。

参考文献:

[1] Spritz R A, Santorico S A. The genetic basis of vitiligo[J]. *J Invest Dermatol*, 2021, 141(2): 265-273.

[2] Chen J R, Li S L, Li C Y. Mechanisms of melanocyte death in vitiligo[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(2): 1138-1166.

[3] Martins C, Darrigade A S, Jacquemin C, *et al.* Phenotype and function of circulating memory T cells in human vitiligo[J]. *Br J Dermatol*, 2020, 183(5): 899-908.

[4] Huo J, Liu T B, Li F H, *et al.* MicroRNA-21-5p protects melanocytes *via* targeting STAT3 and modulating Treg/Teff balance to alleviate vitiligo[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(1): 51-61.

[5] Villegas J A, Bayer A C, Ider K, *et al.* IL-23/Th17 cell pathway: a promising target to alleviate thymic inflammation maintenance in myasthenia gravis[J]. *J Autoimmun*, 2019, 98(1): 59-73.

[6] Gholijani N, Yazdani M R, Dastgheib L. Predominant role of innate pro-inflammatory cytokines in vitiligo disease[J]. *Arch Dermatol Res*, 2020, 312(2): 123-131.

[7] 行 敏,任宏伟,屈慧明,等. 寻常型银屑病血清中 IL-17 的表达及紫草素对 IL-17 刺激 HaCaT 细胞分泌 IL-6 和 IL-23 的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(5): 958-962.

[8] 顾 衡,张 毅,杨登科,等. 紫草治疗湿热风燥型白癜风的用药分析[J]. 中医临床研究, 2020, 12(16): 28-30.

[9] 杨爱霞, 徐 蕾, 张力凡. 祛白颗粒对氢醌诱导白癜风小鼠的疗效[J]. 医药导报, 2019, 38(12): 1596-1600.

[10] 张 凡, 王星星, 朱新景, 等. 紫草素通过调控 Hippo-YAP 信号通路对咪喹莫特诱导银屑病小鼠保护作用的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(6): 578-583.

[11] 杜艳燕. 白癜风胶囊联合他克莫司治疗白癜风的临床疗效及其安全性[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(6): 101-103.

[12] 热沙拉提·依孜则, 马 丽, 马福昌, 等. 白热斯丸对氢醌致 C57BL/6 小鼠白癜风模型的治作用及机制研究[J]. 中国医药导报, 2020, 17(13): 18-21.

[13] Searle T, Al-Niaimi F, Ali F R. Vitiligo: an update on systemic treatments[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2021, 46(2): 248-258.

[14] Migayron L, Boniface K, Seneschal J. Vitiligo, from physiopathology to emerging treatments: a review[J]. *Dermatol Ther (Heidelb)*, 2020, 10(6): 1185-1198.

[15] Liu Z Q, Jiang M, Zhao J M, *et al*. Efficacy of a wound-dressing biomaterial on prevention of postinflammatory hyperpigmentation after suction blister epidermal grafting in stable vitiligo patients: a controlled assessor-blinded clinical study with *in vitro* bioactivity investigation[J]. *Arch Dermatol Res*, 2020, 312(9): 635-645.

[16] 杜 暘, 金 鼎, 高秀秋. 紫草素通过 TLR4/NF-κB 信号通路抑制由 LPS 诱导的人牙髓细胞炎症研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2020, 36(1): 15-19.

[17] 花芙蓉, 葛卫红, 廖 俊, 等. 基于中药网络药理学探讨白癜风胶囊治疗白癜风的作用机制[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(18): 1910-1914.

[18] Bhardwaj S, Rani S, Kumaran M S, *et al*. Expression of Th17- and treg-specific transcription factors in vitiligo patients[J]. *Int J Dermatol*, 2020, 59(4): 474-481.

[19] Egeberg A, Gisondi P, Carrascosa J M, *et al*. The role of the interleukin-23/Th17 pathway in cardiometabolic comorbidity associated with psoriasis[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020, 34(8): 1695-1706.

[20] Leccese G, Bibi A, Mazza S, *et al*. Probiotic lactobacillus and bifidobacterium strains counteract adherent-invasive escherichia coli (AIEC) virulence and hamper IL-23/Th17 axis in ulcerative colitis, but not in Crohn's disease[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1824-1843.

黄芩苷通过调控 MET/EGFR 通路对肝癌细胞增殖的影响

胡志萍, 甘 宁, 李 嫚, 付皓云, 胡齐欣
(湖北省肿瘤医院, 湖北 武汉 430079)

摘要: **目的** 考察黄芩苷通过调控 MET/EGFR 通路对肝癌细胞增殖的影响。**方法** HepG-2 细胞以 0、2.5、5、7.5、10、12.5 μg/mL 黄芩苷分别处理 12、24、48 h, CCK-8 法筛选黄芩苷最适质量浓度、作用时间。将 HepG-2 细胞分为对照组、黄芩苷组 (12.5 μg/mL)、克唑替尼组 (1 μmol/L)、黄芩苷+克唑替尼组 (12.5 μg/mL+1 μmol/L)、吉非替尼组 (1 μmol/L)、黄芩苷+吉非替尼组 (12.5 μg/mL+1 μmol/L)、克唑替尼+吉非替尼组 (1 μmol/L+1 μmol/L)、黄芩苷+克唑替尼+吉非替尼组 (12.5 μg/mL+1 μmol/L+1 μmol/L), 给药处理 48 h 后, CCK-8 法检测细胞增殖抑制率, 流式细胞仪检测细胞凋亡率和细胞周期, Western blot 法检测细胞 MET/EGFR 通路蛋白表达。**结果** 与对照组比较, 各给药组细胞增殖抑制率、凋亡率、G₁ 期细胞比例升高 ($P<0.05$), p-MET、p-EGFR 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与吉非替尼组比较, 黄芩苷+吉非替尼组细胞增殖抑制率、凋亡率、G₁ 期细胞比例升高 ($P<0.05$), p-MET、p-EGFR 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与克唑替尼组比较, 黄芩苷+克唑替尼组细胞增殖抑制率、凋亡率、G₁ 期细胞比例升高 ($P<0.05$), p-MET、p-EGFR 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与克唑替尼+吉非替尼组比较, 黄芩苷+克唑替尼+吉非替尼组细胞增殖抑制率、凋亡率、G₁ 期细胞比例升高 ($P<0.05$), p-MET、p-EGFR 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 黄芩苷可能通过抑制 MET/EGFR 信号通路蛋白进而抑制增殖、凋亡, 并影响细胞周期。

关键词: 黄芩苷; 肝癌细胞; 增殖; 凋亡; 细胞周期; MET/EGFR 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)10-3456-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.052