

## 清消饮对痤疮大鼠角质形成细胞增殖及 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的影响

梅连敏<sup>1</sup>, 冯立群<sup>1</sup>, 王雨晴<sup>1</sup>, 宋晓丹<sup>1</sup>, 马学妍<sup>1</sup>, 胡月<sup>1</sup>, 马圣凯<sup>1</sup>, 吕天元<sup>1</sup>,  
张晓云<sup>1</sup>, 成秀梅<sup>1,2\*</sup>, 薛思思<sup>1\*</sup>

(1. 河北中医药大学, 河北 石家庄 050091; 2. 河北省中西医结合肝肾病证研究重点实验室, 河北 石家庄 050091)

**摘要:** **目的** 观察清消饮对痤疮大鼠角质形成细胞过度增殖的影响。**方法** 将40只雌雄各半Wistar大鼠随机分为正常组、模型组、异维A酸组及清消饮组。除正常组外,其余大鼠于右耳廓内均匀涂抹100%油酸21d制备痤疮大鼠模型。异维A酸组予3.13 mg/kg异维A酸,清消饮组予11.25 g/kg清消饮,正常组和模型组予等体积蒸馏水,连续灌胃2周。观察各组大鼠耳廓表现形态变化;HE染色观察病理改变并测量皮脂腺导管处角质形成细胞厚度;免疫组织化学法检测大鼠耳廓组织中KRT16表达;ELISA法检测大鼠耳廓组织中IL-1 $\alpha$ 水平;Western blot和免疫荧光法检测大鼠耳廓组织中PCNA表达;RT-qPCR和Western blot法检测大鼠耳廓组织中Wnt10a、GSK-3 $\beta$ 、 $\beta$ -catenin、c-Myc mRNA和蛋白表达。**结果** 模型组大鼠耳廓呈暗红色,增厚粗糙明显,毛囊口见散在粟粒状丘疹;病理见颗粒层增厚,棘层增厚,皮脂腺导管处角质形成细胞增多,毛囊角栓。与正常组比较,模型组大鼠耳廓组织皮脂腺导管处角质形成细胞厚度增加( $P<0.01$ ),耳廓组织IL-1 $\alpha$ 水平和KRT16、PCNA蛋白表达升高( $P<0.01$ ),Wnt10a、 $\beta$ -catenin、c-Myc mRNA和蛋白表达升高( $P<0.01$ ),GSK-3 $\beta$  mRNA和蛋白表达降低( $P<0.01$ );与模型组比较,异维A酸组和清消饮组大鼠耳廓组织皮脂腺导管处角质形成细胞厚度降低( $P<0.05$ ),耳廓组织IL-1 $\alpha$ 水平和KRT16、PCNA蛋白表达降低( $P<0.05$ ),Wnt10a、 $\beta$ -catenin、c-Myc mRNA和蛋白表达降低( $P<0.05$ ),GSK-3 $\beta$  mRNA和蛋白表达升高( $P<0.05$ )。**结论** 清消饮可调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的过度激活,下调KRT16、PCNA、IL-1 $\alpha$ 表达抑制角质形成细胞过度增殖,改善痤疮大鼠毛囊皮脂腺导管过度角化。

**关键词:** 清消饮;痤疮;角质形成细胞;细胞增殖;Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1149-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.011

## Effects of Qingxiao Yin on the proliferation of keratinocytes and the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in acne rats

MEI Lian-min<sup>1</sup>, FENG Li-qun<sup>1</sup>, WANG Yu-qing<sup>1</sup>, SONG Xiao-dan<sup>1</sup>, MA Xue-yan<sup>1</sup>, HU Yue<sup>1</sup>,  
MA Sheng-kai<sup>1</sup>, LÜ Tian-yuan<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-yun<sup>1</sup>, CHENG Xiu-mei<sup>1,2\*</sup>, XUE Si-si<sup>1\*</sup>

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China; 2. Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Liver and Kidney Syndromes in Hebei Province, Shijiazhuang 050091, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To observe the effects of Qingxiao Yin on excessive proliferation of keratinocytes in acne rats. **METHODS** Forty male and female Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, isotretinoin group and Qingxiao Yin group. Except for the normal group, the remaining rats were uniformly applied with 100% oleic acid on the right auricle for 21 days to establish the rat acne model. The isotretinoin group was given 3.13 mg/kg isotretinoin, the Qingxiao Yin group was given 11.25 g/kg Qingxiao Yin, and the normal group and the model group were given the same volume of distilled water for 2 weeks. The apparent morphological changes in the auricles of each group of rats were observed; HE staining was used to observe pathological changes, and the

收稿日期: 2025-03-03

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(2024083, 2020151)

作者简介: 梅连敏(1999—),女,硕士,从事中医药治疗皮肤病的机制研究。E-mail: 1966505402@qq.com

\*通信作者: 成秀梅(1964—),女,博士,教授,从事中医药治疗皮肤病的机制研究。E-mail: chengxiumei@hebcm.edu.cn

薛思思(1992—),女,博士,讲师,从事中医药防治皮肤与肛肠疾病的规律研究。E-mail: xuesisi@hebcm.edu.cn

thickness of keratinocytes at the sebaceous gland duct was measured; immunohistochemistry was used to detect the expression of KRT16 in rat auricle tissues; ELISA was used to detect the level of IL-1 $\alpha$  in rat auricle tissue; Western blot and immunofluorescence were used to detect the expression of PCNA in rat auricle tissue; RT-qPCR and Western blot were used to detect the expressions of Wnt10a, GSK-3 $\beta$ ,  $\beta$ -catenin, and c-Myc mRNA and protein in rat auricle tissue. **RESULTS** In the model group, the auricle was dark red with obvious thickening and roughness, and scattered miliary papules were seen at the hair follicle mouth. Pathologically, the granular layer was thickened, the spinous layer was thickened, the number of keratinocytes at the sebaceous gland duct was increased, and the hair follicle angle plug was found. Compared with the normal group, the thickness of keratinocytes in the sebaceous duct of the auricle tissue in the model group increased ( $P < 0.01$ ), the level of IL-1 $\alpha$  and the protein expressions of KRT16 and PCNA in the auricle tissue increased ( $P < 0.01$ ), and the mRNA and protein expressions of Wnt10a,  $\beta$ -catenin, c-Myc increased ( $P < 0.01$ ), while mRNA and protein expressions of GSK-3 $\beta$  increased ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the thickness of keratinocytes in the sebaceous duct of the auricle tissue in isotretinoin group and Qingxiao Yin group decreased ( $P < 0.05$ ), the level of IL-1 $\alpha$  in auricle tissue and the protein expressions of KRT16 and PCNA decreased ( $P < 0.05$ ), the mRNA and protein expressions of Wnt10a,  $\beta$ -catenin and c-Myc decreased ( $P < 0.05$ ), while mRNA and protein expressions of GSK-3 $\beta$  decreased ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION** Qingxiaoyin can regulate the over-activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway, down-regulate the expressions of KRT16, PCNA and IL-1 $\alpha$ , inhibit the over-proliferation of keratinocytes, and improve the hyperkeratosis of sebaceous ducts in hair follicles of acne rats.

**KEY WORDS:** Qingxiao Yin; acne; keratinocytes; proliferation; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

痤疮是毛囊皮脂腺的一种常见疾病,多发生在面部、胸背部等皮脂腺分布丰富的区域。近年来,痤疮在亚洲青少年皮肤性疾病的患病率中位居第一<sup>[1]</sup>,是全球第二大流行的皮肤病,且发病率一直呈上升趋势<sup>[2]</sup>。现代医学治疗痤疮存在不良反应广泛、复发率高等不足<sup>[3-5]</sup>。临床实践发现中药治疗痤疮疗效确切,且不良反应少、复发率低。

痤疮发病机制复杂,与多种因素有关<sup>[6]</sup>,其中角质形成细胞(keratinocytes, KC)过度增殖会导致的毛囊皮脂腺导管角化异常是引发痤疮的重要因素。正常情况下皮脂腺分泌的皮脂和脱落的KC通过毛囊皮脂腺导管排出体外,而当KC过度增殖导致导管过度狭窄,皮脂和脱落的KC不能及时排出,局部形成角栓,形成微粉刺<sup>[7]</sup>。微粉刺是痤疮周期性发展的初始阶段,称为粉刺发生。研究显示,微粉刺的密度和大小与痤疮的严重程度呈正相关<sup>[8]</sup>,故抑制KC过度增殖是治疗痤疮的关键。

前期研究表明,清消饮治疗痤疮临床疗效确切,但清消饮能否抑制KC过度增殖改善毛囊皮脂腺导管过度角化治疗痤疮尚不明确。本研究拟通过观察大鼠耳廓组织KC中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关蛋白Wnt10a、糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 beta, GSK-3 $\beta$ )、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin,  $\beta$ -catenin)、原癌基因(cellular

myelocytomatosis oncogene, c-Myc)的表达及角质形成细胞增殖指标角蛋白16(keratin16, KRT16)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、白介素-1 $\alpha$ (interleukin-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ )的表达,探讨清消饮对KC增殖的作用,以期清消饮的临床应用提供可靠的依据。

## 1 材料

1.1 药物 清消饮由枇杷叶(批号17112411)、桑白皮(批号18030321)、黄芩(批号18030711)、连翘(批号18122161)、槐花(批号17101551)、赤芍(批号19060341)、浙贝母(批号18082611)各9g,黄连(批号18061911)、栀子(批号19011851)、皂角刺(批号17010661)各6g,金银花(批号18120421)、生山楂(批号18052121)各12g及甘草(批号18050521)3g组成,各中药颗粒制剂购自河北中医药大学国医堂,由神威药业集团有限公司生产。异维A酸软胶囊(国药准字H10930210)购自上海信谊延安药业有限公司。

1.2 实验动物 SPF级Wistar大鼠40只,雌雄各半,6周龄,体质量190~210g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(京)2021-0006],饲养于河北中医药大学实验动物中心[实验动物使用许可证号SYXK

(冀) 2022-010], 温度 22~26 ℃, 相对湿度 50%~60%, 12 h/12 h 白昼/黑夜交替, 实验过程中大鼠自由摄食饮水。本动物实验经河北中医药大学伦理委员会批准进行(伦理号 DWLL202312011)。

1.3 试剂 KRT16 抗体(美国 Affinity 公司, 货号 AF5482); PCNA、 $\beta$  微管蛋白( $\beta$ -Tubulin) 抗体(美国 Proteintech 公司, 货号 10205-2-AP、80713-1-RR); IL-1 $\alpha$  ELISA 检测试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司, 货号 JYM0649Ra); Wnt10a 抗体[艾比玛特生物医药(上海)有限公司, 货号 TD7572]; GSK-3 $\beta$  抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号 D5C52);  $\beta$ -catenin、反转录试剂盒、扩增试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司, 货号 GB15016、G3337-100、G3321-15); c-Myc 抗体(英国 Abcam 公司, 货号 ab32072); 总 RNA 提取试剂盒(美国 Omega 公司, 货号 R6934-01); 组化通用二步法试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司, 货号 PV-9000)。

1.4 仪器 Gel Logic 100 凝胶电泳系统、Trans-Blot SD 半干转膜仪(美国 Bio-Rad 公司); e-Blot TouchIm-ager 化学发光成像系统(上海易亨特光电技术有限公司); Digital Sight 10 显微镜(日本 Nikon 公司); EVOS FL Auto 细胞显微成像系统、7500Fast 实时荧光定量 PCR 仪、NanoDrop2000 分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

## 2 方法

2.1 分组、造模和给药 将 40 只雌雄各半的 Wistar 大鼠采用 SPSS 软件随机分为正常组、模型组、异维 A 酸组和清消饮组, 每组 10 只。参考张睿<sup>[9]</sup>、林姗姗等<sup>[10]</sup>造模方法建立痤疮模型, 于大鼠右耳廓内侧均匀涂抹 100% 油酸, 每天 1 次, 每次约 0.3 mL, 连续 3 周。

根据人与大鼠等效剂量换算方法, 成人体质量以 60 kg 计, 大鼠用药剂量为成人用量的 6.25 倍, 清消饮成人用量为生药量 1.8 g/kg, 换算成大鼠剂量为 11.25 g/kg; 异维 A 酸软胶囊成人用量约 0.5 mg/kg, 换算成大鼠剂量为 3.13 mg/kg, 给药体积均为 10 mL/kg。造模成功后, 于每天上午 9 时灌胃给药 1 次, 连续给药 2 周。

2.2 标本采集 末次给药后, 大鼠禁食不禁水 24 h, 腹腔注射戊巴比妥钠 50 mg/kg 进行麻醉, 用小动物剃毛机除去大鼠耳廓毛发, 取耳廓组织病灶部位, 部分于-80 ℃冰箱保存, 部分于 4% 多聚甲醛溶液中固定。

2.3 大鼠耳廓表现形态变化 造模期间及给药后, 从耳廓厚度、皮色变化、表皮角化程度、毛囊口丘疹等方面, 对各组大鼠右侧耳廓表现形态变化进行评价。

2.4 HE 染色观察耳廓组织病理形态 大鼠耳廓组织经 4% 多聚甲醛浸泡固定、脱水透明、包埋切片、烤片脱蜡、HE 染色后进行脱水透明、封片, 于显微镜下观察并采集图像, 通过 Image J 1.8.0 软件测量毛囊皮脂腺导管处角质形成的细胞厚度。

2.5 免疫组织化学法检测耳廓组织 KRT16、Wnt10a、 $\beta$ -catenin、c-Myc 蛋白表达 将大鼠耳廓组织石蜡切片经脱蜡、抗原修复后滴加内源性过氧化物酶阻断剂, 37 ℃ 孵育 10 min, 丢弃封闭液, 滴加一抗 KRT16 (1:200)、Wnt10a (1:200)、 $\beta$ -catenin (1:500)、c-Myc (1:200) 4 ℃ 孵育过夜, 次日弃一抗, 滴加二抗室温孵育, 滴加反应增强液, 37 ℃ 孵育 20 min, 随后 DAB 显色, 苏木素复染细胞核, 最后梯度脱水及封片, 静置晾干, 于显微镜下观察阳性表达并采集图片。

2.6 免疫荧光法检测耳廓组织 PCNA 蛋白表达 将大鼠耳廓组织石蜡切片脱蜡, 二甲苯和乙醇水化; 切片封闭 30 min 后, 加一抗 PCNA (1:500) 4 ℃ 孵育过夜; 次日用磷酸盐缓冲液(PBS) 洗涤后, 加二抗室温孵育 1 h, 随后 DAPI 染色细胞核, 于荧光显微镜下观察并采集图像。

2.7 ELISA 法检测耳廓组织 IL-1 $\alpha$  水平 取大鼠耳廓组织, 匀浆后取上清, 严格按照试剂盒说明书步骤进行操作, 用 ELISA CALC 软件绘制标准曲线并计算出各组大鼠耳廓组织中 IL-1 $\alpha$  水平。

2.8 RT-qPCR 法检测耳廓组织 Wnt10a、 $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、c-Myc mRNA 表达 剪取大鼠耳廓部分组织, 严格按照 RNA 试剂说明书提取组织总 RNA, 采用超微量分光光度计测定 RNA 浓度。根据反转录试剂盒说明书, 将总 RNA 逆转录为 cDNA, 逆转录反应条件为 25 ℃ 5 min, 50 ℃ 30 min, 85 ℃ 5 s, 1 个循环。取各组等量 cDNA, 根据 PCR 扩增试剂盒进行扩增, 反应体系 20  $\mu$ L, PCR 扩增反应条件为 95 ℃ 预变性 20 s, 95 ℃ 变性 10 s, 60 ℃ 退火/延伸 30 s, 共 40 个循环。溶解曲线反应条件为 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 60 s, 95 ℃ 15 s。以 GAPDH 为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 Wnt10a、 $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、c-Myc mRNA 相对表达, 引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列	长度/bp
Wnt10a	正向 5'-GCCTGGAGACTCGGAACAAAG-3'	148
	反向 5'-CCGCAAGCCTTCAGTTTACC-3'	
β-catenin	正向 5'-TGAGGACAAGCCACAGGACTAC-3'	96
	反向 5'-TGTCACAGTCCGAGATCAGCACT-3'	
GSK-3β	正向 5'-GAGAACTGGTCGCCATCAAGAA-3'	241
	反向 5'-TTGACATAAATCAGAGGGAGCG-3'	
c-Myc	正向 5'-TGGAGGAGACATGCTGAATCAG-3'	110
	反向 5'-AAGCCGCTCCACATACAGTCC-3'	
GAPDH	正向 5'-CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'	138
	反向 5'-GGTGAAGAATGGGAGTTGCT-3'	

2.9 Western blot 法检测耳廓组织 PCNA、Wnt10a、GSK-3β、β-catenin、c-Myc 蛋白表达 取大鼠耳廓组织，按比例加入蛋白酶抑制剂、PMSF 和 RIPA 裂解液，破碎提取耳廓组织全蛋白，收集上清液，BCA 法测定蛋白浓度，计算上样量。组织蛋白进行电泳后转至 PVDF 膜，5% 脱脂奶粉封闭液室温封闭 1 h，洗膜后，分别加入稀释后的一抗 PCNA (1 : 1 000)、Wnt10a (1 : 500)、GSK-3β (1 : 500)、β-catenin (1 : 1 000)、c-Myc (1 : 1 000)、β-Tubulin (1 : 5 000) 4 ℃ 孵育过夜；次日弃一抗，加二抗室温孵育 1 h，洗膜后，采用 ECL 法显影、曝光，使用 Image J 1.8.0 软件分析目的蛋白条带灰度值。

2.10 统计学分析 采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行数据处理及作图，符合正态分布的计量资料以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，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。

### 3 结果

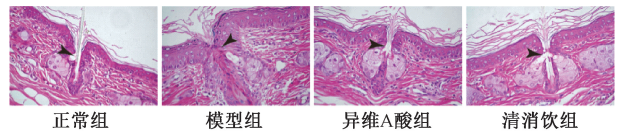
3.1 清消饮对痤疮大鼠耳廓表观形态变化的影响 正常组大鼠耳廓质地柔软光滑，颜色淡红，毛囊口无丘疹、粉刺等；模型组大鼠耳廓增厚质地粗糙，颜色暗红，毛囊口可见散在丘疹；与模型组比较，异维 A 酸组和清消饮组大鼠耳廓变薄，质地较柔软，毛囊口丘疹减少；异维 A 酸组和清消饮组耳廓表观形态变化比较无明显差异，见图 1。



图 1 各组大鼠耳廓表观形态

Fig. 1 Apparent morphology of auricle of rats in each group

3.2 清消饮对痤疮大鼠耳廓组织病理变化的影响 HE 结果显示，正常组大鼠耳廓组织表皮层次清晰；模型组大鼠耳廓组织颗粒层增厚，棘层增厚，毛囊皮脂腺导管处 KC 增厚导致导管狭窄，毛囊口被堵；异维 A 酸组和清消饮组均有不同程度的颗粒层变薄，棘层变薄，毛囊皮脂腺导管处 KC 增殖减少，毛囊口通畅；异维 A 酸组和清消饮组无明显差异，见图 2。与正常组比较，模型组大鼠角质形成细胞厚度增加 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，异维 A 酸组和清消饮组大鼠角质形成细胞厚度减少 ( $P < 0.05$ )，见表 2。



注：黑色箭头代表毛囊皮脂腺导管开口。

图 2 各组大鼠耳廓组织病理变化 (HE 染色, ×400)  
Fig. 2 Pathological changes in the ear tissue of rats in each group (HE staining, ×400)

表 2 各组大鼠角质形成细胞厚度比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )  
Tab. 2 Comparison of thickness of rat keratinocytes in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	厚度/ $\mu\text{m}$
正常组	20.8±0.8
模型组	49.3±0.8**
异维 A 酸组	23.4±0.8 <sup>#</sup>
清消饮组	23.6±0.9 <sup>#</sup>

注：与正常组比较，\*\* $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

3.3 清消饮对痤疮大鼠耳廓组织 KRT16 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠耳廓组织 KRT16 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，异维 A 酸组和清消饮组大鼠耳廓组织 KRT16 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ )；异维 A 酸组与清消饮组比较，KRT16 表达无明显变化 ( $P > 0.05$ )，见图 3、表 3。

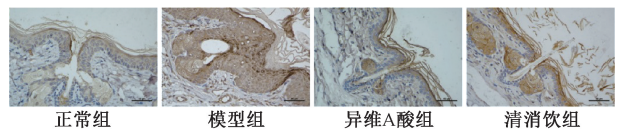


图 3 各组大鼠耳廓组织 KRT16 蛋白定位及表达 (×400)  
Fig. 3 Localization and expression of KRT16 protein in auricle tissue of rats in each group (×400)

3.4 清消饮对痤疮大鼠耳廓组织 PCNA 蛋白表达的影响 Western blot 结果显示，与正常组比较，模型组大鼠耳廓组织 PCNA 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，异维 A 酸组和清消饮组大鼠耳廓组织 PCNA 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ )；异维

A 酸组与清消饮组比较, PCNA 蛋白表达无明显变化 ( $P>0.05$ ), 见图 4、表 4。

表 3 各组大鼠耳廓组织 KRT16 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Tab. 3 Comparison of KRT16 protein expression in auricle tissue of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	KRT16
正常组	0.98±0.12
模型组	3.68±0.24**
异维 A 酸组	1.52±0.18 <sup>#</sup>
清消饮组	1.63±0.22 <sup>#</sup>

注: 与正常组比较, \*\*  $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup> $P<0.05$ 。

免疫荧光结果显示, PCNA 主要表达在细胞核。与正常组比较, 模型组 PCNA 表达增加 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 异维 A 酸组和清消饮组 PCNA 表达减少 ( $P<0.05$ ); 异维 A 酸组与清消饮组比较, PCNA 表达无明显变化 ( $P>0.05$ ), 见图 5、表 4。

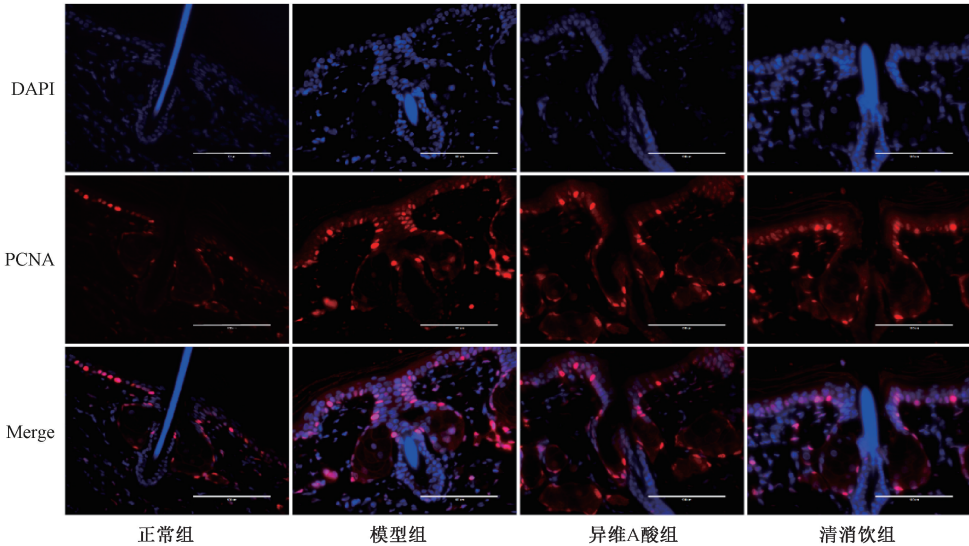


图 5 各组大鼠耳廓组织 PCNA 蛋白免疫荧光染色 ( $\times 400$ )

Fig. 5 Immunohistochemical staining of PCNA protein in auricle tissue of rats in each group ( $\times 400$ )

3.5 清消饮对痤疮大鼠耳廓组织 IL-1 $\alpha$  水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠耳廓组织 IL-1 $\alpha$  水平升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 异维 A 酸组和清消饮组大鼠耳廓组织 IL-1 $\alpha$  水平降低 ( $P<0.05$ ); 异维 A 酸组和清消饮组比较, IL-1 $\alpha$  水平无明显变化 ( $P>0.05$ ), 见表 5。

3.6 清消饮对痤疮大鼠耳廓组织 Wnt10a、GSK-3 $\beta$ 、 $\beta$ -catenin、c-Myc mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠耳廓组织 Wnt10a、 $\beta$ -catenin、c-Myc mRNA 表达升高 ( $P<0.01$ ), GSK-3 $\beta$  mRNA 表达降低 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 异维 A 酸组和清消饮组大鼠耳廓组织 Wnt10a、 $\beta$ -catenin、c-

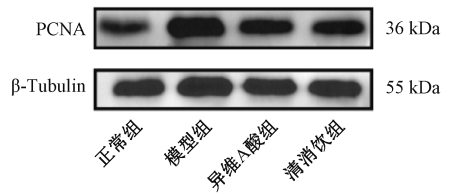


图 4 各组大鼠耳廓组织 PCNA 蛋白条带图

Fig. 4 Bands of PCNA protein in auricle tissue of rats in each group

表 4 各组大鼠耳廓组织 PCNA 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Tab. 4 Comparison of PCNA protein expression in auricle tissue of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	PCNA/ $\beta$ -Tubulin	PCNA 荧光染色面积比/%
正常组	0.596±0.141	1.577±0.235
模型组	1.015±0.377**	3.458±0.368**
异维 A 酸组	0.810±0.299 <sup>#</sup>	2.188±0.145 <sup>#</sup>
清消饮组	0.822±0.234 <sup>#</sup>	2.787±0.134 <sup>#</sup>

注: 与正常组比较, \*\*  $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup> $P<0.05$ 。

Myc mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ ), GSK-3 $\beta$  mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ ); 异维 A 酸组与清消饮组比较, Wnt10a、GSK-3 $\beta$ 、 $\beta$ -catenin、c-Myc mRNA 表达无明显变化 ( $P>0.05$ ), 见表 6。

表 5 各组大鼠耳廓组织 IL-1 $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Tab. 5 Comparison of IL-1 $\alpha$  level in auricle tissue of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	IL-1 $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> )
正常组	63.7±14.1
模型组	270.3±27.9**
异维 A 酸组	162.3±21.9 <sup>#</sup>
清消饮组	184.7±21.0 <sup>#</sup>

注: 与正常组比较, \*\*  $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup> $P<0.05$ 。

表6 各组大鼠耳廓组织 *Wnt10a*、*GSK-3β*、*β-catenin*、*c-Myc* mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 6 Comparison of mRNA expressions of *Wnt10a*, *GSK-3β*, *β-catenin* and *c-Myc* in auricle tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	<i>Wnt10a</i>	<i>GSK-3β</i>	<i>β-catenin</i>	<i>c-Myc</i>
正常组	0.45±0.25	0.99±0.55	1.02±0.21	1.01±0.13
模型组	1.66±0.31**	0.13±0.03**	1.99±0.46**	1.94±0.57**
异维A酸组	1.04±0.26 <sup>#</sup>	0.45±0.13 <sup>#</sup>	1.42±0.42 <sup>#</sup>	1.37±0.42 <sup>#</sup>
清消饮组	1.11±0.39 <sup>#</sup>	0.43±0.17 <sup>#</sup>	1.43±0.23 <sup>#</sup>	1.41±0.38 <sup>#</sup>

注：与正常组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

3.7 清消饮对痤疮大鼠耳廓组织 *Wnt10a*、*GSK-3β*、*β-catenin*、*c-Myc* 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠耳廓组织 *Wnt10a*、*β-catenin*、*c-Myc* 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ )，*GSK-3β* 蛋白表达降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，异维A酸组和清消饮组大鼠耳廓组织 *Wnt10a*、*β-catenin*、*c-Myc*

表7 各组大鼠耳廓组织 *Wnt10a*、*GSK-3β*、*β-catenin*、*c-Myc* 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 7 Comparison of protein expressions of *Wnt10a*, *GSK-3β*, *β-catenin* and *c-Myc* in auricle tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	<i>Wnt10a</i> /β-Tubulin	<i>GSK-3β</i> /β-Tubulin	<i>β-catenin</i> /β-Tubulin	<i>c-Myc</i> /β-Tubulin
正常组	0.50±0.07	1.12±0.16	0.44±0.05	0.33±0.07
模型组	1.20±0.03**	0.41±0.19**	0.82±0.05**	0.82±0.03**
异维A酸组	0.74±0.05 <sup>#</sup>	0.83±0.12 <sup>#</sup>	0.63±0.13 <sup>#</sup>	0.54±0.07 <sup>#</sup>
清消饮组	0.81±0.09 <sup>#</sup>	0.84±0.18 <sup>#</sup>	0.68±0.10 <sup>#</sup>	0.56±0.06 <sup>#</sup>

注：与正常组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

#### 4 讨论

痤疮归属于中医“肺经粉刺”范畴，与脏腑功能失调密切相关。中医认为，素体阳热，外感风热蕴结于肺，或过食辛辣肥甘，损伤脾胃，湿热内生，或情志不畅，肝郁化火等均可导致火热之邪循经上犯面部，使气血运行不畅，瘀滞于局部，发为痤疮。根据痤疮“热”“瘀”“结”的病机特点，确立其治法为“清其热，消其瘀，散其结”。《外科启玄·明内消法论》曰：“消者灭也，灭其形症也。”消法是中医外科学的三大治法总则之一。本课题采用“清消”法，自拟清消饮治疗痤疮，方中枇杷叶、桑白皮、金银花为君，清泻肺胃之热；黄芩、黄连为臣，助君药清热泻火；栀子、连翘、山楂、皂角刺、赤芍、浙贝母、槐花为佐，加强消痈散结之力；生甘草为使，消痈疽疔毒，调和诸药，全方共奏清热解毒、消痈散结之效。前期研究证明，清消饮可减轻痤疮炎症反应<sup>[11]</sup>，调节皮肤微生态<sup>[12]</sup>，促进 KC 凋亡<sup>[13]</sup>，治疗痤疮效果显著。本研究发现，清消饮可改善痤疮大鼠的表现症状。

*KRT16* 是构成 KC 的中间丝蛋白的一种，其在

蛋白表达降低 ( $P<0.05$ )，*GSK-3β* 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ )；异维A酸组和清消饮组比较，*Wnt10a*、*GSK-3β*、*β-catenin*、*c-Myc* 蛋白表达无明显变化 ( $P>0.05$ )，见图6、表7。

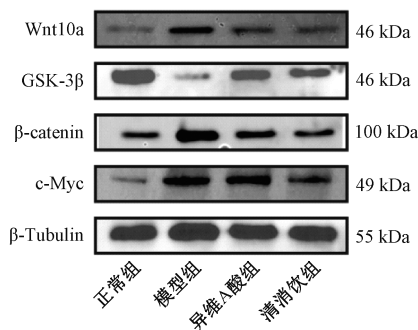


图6 各组大鼠耳廓组织 *Wnt10a*、*GSK-3β*、*β-catenin*、*c-Myc* 蛋白条带图

Fig. 6 Protein bands of *Wnt10a*, *GSK-3β*, *β-catenin* and *c-Myc* in auricle of rats in each group

正常皮肤中低表达。研究表明，*KRT16* 在过度增殖的 KC 中表达增多，是 KC 异常分化和过度增殖的标志<sup>[14-15]</sup>；*IL-1α* 是一种由 KC 分泌的细胞因子，当 KC 过度增殖时，其水平升高<sup>[16]</sup>。有研究表明 *IL-1α* 在痤疮患者的皮损中分泌增多<sup>[17]</sup>。*PCNA* 是 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白，在细胞周期的 S 期 (DNA 合成期) 表达显著升高，是细胞增殖的关键标记物<sup>[18]</sup>，其表达直接反映 KC 的增殖活性<sup>[19]</sup>。本研究结果显示，模型组大鼠耳廓组织中 *KRT16*、*IL-1α* 和 *PCNA* 表达均升高，表明大鼠耳廓组织中 KC 过度增殖，清消饮组 *KRT16*、*IL-1α* 和 *PCNA* 表达均降低，提示清消饮可下调大鼠耳廓组织中 *KRT16*、*IL-1α* 和 *PCNA* 表达，改善 KC 过度增殖的情况。

经典的 *Wnt*/β-catenin 信号通路参与细胞增殖、分化、凋亡等多种生理和病理过程<sup>[20]</sup>。*Wnt10a* 是 *Wnt* 家族分泌型糖蛋白的一种。研究表明，*Wnt10a* 是表皮细胞增殖和分化所必需的<sup>[21]</sup>。*Wnt10a* 能够特异性地与 *Frizzled* 受体家族成员结合，激活该通路。*GSK-3β* 在 *Wnt*/β-catenin 信号通路中发挥重要

作用,当Wnt信号通路处于抑制状态时,GSK-3 $\beta$ 与APC、Axin等蛋白形成复合物,泛素化降解 $\beta$ -catenin,使细胞内的 $\beta$ -catenin处于低水平。当Wnt信号通路激活时,GSK-3 $\beta$ 的活性被抑制, $\beta$ -catenin得以在细胞质内稳定积累,并进入细胞核与转录因子(T cell factor/lymphoid enhancer factor,TCF/LEF)结合,激活下游靶基因的表达,促进KC的增殖<sup>[22]</sup>。在KC中, $\beta$ -catenin与TCF/LEF结合后能够激活c-Myc基因的转录<sup>[23-24]</sup>。c-Myc是Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的靶基因,其表达上调能够促进KC的增殖和生长<sup>[25]</sup>。研究显示,在痤疮中,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路异常活化<sup>[14-15,26]</sup>,在维持KC过度增殖的特征中具有重要作用。本研究结果表明,清消饮能有效下调Wnt10a、 $\beta$ -catenin、c-Myc表达,上调GSK-3 $\beta$ 表达,提示清消饮可调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的过度激活,抑制KC的过度增殖,改善毛囊皮脂腺导管过度角化,进而治疗痤疮。

综上所述,清消饮可通过抑制KC过度增殖,改善导管角化过度,治疗痤疮,其作用与调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关,本研究为清消饮的临床应用提供了一定的理论依据。

#### 参考文献:

[1] 黄巧,樊文龙,胡敏,等. 1990—2019年亚洲青少年皮肤病疾病负担研究[J]. 中国预防医学杂志, 2023, 24(9): 928-934.

[2] Zhu Z, Zhong X, Luo Z, et al. Global, regional, and national burdens of acne vulgaris in adolescents and young adults aged 10-24 years from 1990 to 2021: a trend analysis[J]. *Br J Dermatol*, 2025, 192(2): 228-237.

[3] Xu H, Li H. Acne, the skin microbiome, and antibiotic treatment[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2019, 20(3): 335-344.

[4] 冯睿,蒋娟. 痤疮的抗雄激素治疗进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2022, 38(7): 483-487.

[5] 孙欣荣,刘志宏,黄爱文,等. 痤疮发病机制及其药物治疗的研究进展[J]. 中国药房, 2017, 28(20): 2868-2871.

[6] Dréno B. What is new in the pathophysiology of acne, an overview[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2017, 31 Suppl 5: 8-12.

[7] 曾小芳,许爱娥. 微粉刺研究新进展[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2023, 22(3): 296-298.

[8] Xie L, Hamblin M R, Zheng D, et al. The role of microcomedones in acne: moving from a description to treatment target? [J]. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2024, 22(1): 9-16.

[9] 张睿,吕美豫,张建军,等. 痤疮动物模型建立及评价研究进展[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(4): 398-405.

[10] 林姗姗,金鑫,黄炜,等. 复方颠倒凝胶对大鼠耳廓痤疮模型治疗研究[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(5): 392-395.

[11] 薛兵,赵一霏,成秀梅,等. 清消饮通过调节TLR-2/NF- $\kappa$ B通路对大鼠痤疮局部炎症反应的改善作用研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(8): 1275-1278.

[12] 周湘,王雨晴,薛思思,等. 清消饮对痤疮患者面部皮肤微生态的调节作用[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(11): 1311-1316.

[13] 王雨晴,宋晓丹,成秀梅,等. 清消饮对痤疮模型大鼠角质形成细胞凋亡的影响[J]. 中成药, 2025, 47(3): 937-941.

[14] Kurokawa I, Nakase K. Recent advances in understanding and managing acne[J]. *F1000Res*, 2020, 9: F1000 Faculty Rev-792.

[15] 吕明锐,王倩然,张锐,等. 藏红花及其组分对兔耳微痤疮模型抗角化作用的研究[J]. 西南医科大学学报, 2018, 41(2): 124-127.

[16] Tanghetti E A. The role of inflammation in the pathology of acne[J]. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2013, 6(9): 27-35.

[17] 刘颖,林新瑜,程石,等. 四川地区汉族寻常痤疮患者白细胞介素-1 $\alpha$ 基因单核苷酸多态性研究[J]. 临床皮肤科杂志, 2020, 49(10): 594-596.

[18] 宋楠萌,桑建利,徐恒. 增殖细胞核抗原(PCNA)的分子结构及其生物学功能研究进展[J]. 自然科学进展, 2006, 16(10): 1201-1209.

[19] González-Magaña A, Blanco F J. Human PCNA structure, function and interactions[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(4): 570.

[20] Hayat R, Manzoor M, Hussain A. Wnt signaling pathway: a comprehensive review[J]. *Cell Biol Int*, 2022, 46(6): 863-877.

[21] Xu M, Horrell J, Snitow M, et al. WNT10A mutation causes ectodermal dysplasia by impairing progenitor cell proliferation and KLF4-mediated differentiation[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15397.

[22] Nusse R, Clevers H. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999.

[23] Shah K, Kazi J U. Phosphorylation-dependent regulation of WNT/ $\beta$ -catenin signaling[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 858782.

[24] Kim M H, Jin S C, Baek H K, et al. *Astragalus membranaceus* and *Cinnamomum cassia* stimulate the hair follicle differentiation-related growth factor by the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(11): 8607-8621.

[25] Wang Z, Li Z, Ji H. Direct targeting of  $\beta$ -catenin in the Wnt signaling pathway: current progress and perspectives[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(4): 2109-2129.

[26] Shang W, Tan A Y Q, van Steensel M A M, et al. Aberrant Wnt signaling induces comedo-like changes in the murine upper hair follicle[J]. *J Invest Dermatol*, 2022, 142(10): 2603-2612.