

基于网络药理学和实验验证探讨生地黄-牡丹皮药对治疗银屑病的作用机制

赵 飞¹, 赵梦舒¹, 姜 昊¹, 韩孟雪¹, 关梓桐¹, 王晓琳¹, 陆 峰^{2*}, 满 帅^{1*}

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250355

摘 要: **目的** 通过网络药理学预测生地黄-牡丹皮药对 (SM) 治疗银屑病的作用机制, 并采用体内和体外实验进行验证。**方法** 通过网络药理学获取 SM 的活性成分与银屑病的交集靶点, 并进行富集分析。采用咪喹莫特 (IMQ) 构建银屑病小鼠模型, 设对照组, 模型组, 生地黄组, 牡丹皮组、SM 低、中、高剂量 (4.095、8.190、16.380 g·kg⁻¹) 组及甲氨蝶呤 (MTX) 组, 通过银屑病严重程度指数 (PASI)、皮肤病理学变化及组织中增殖细胞标志物 (Ki67) 的表达情况对药物效果进行评估。采用 CCK-8 法筛选药物的安全浓度, Western blotting 检测磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸和苏氨酸激酶 (PI3K/Akt) 通路蛋白表达, 并采用 PI3K 抑制剂 LY294002 进行验证。**结果** 通过网络药理学发现 SM 共有 169 个银屑病相关靶点, 显著富集于 PI3K/Akt 等信号通路。体内实验结果表明, SM 能明显减轻 IMQ 诱导的红斑、鳞屑及皮肤增厚, 降低 PASI 评分, 减少炎症浸润与 Ki67 的表达。体外实验证实, SM 浓度 ≤ 8 mg·mL⁻¹ 时无细胞毒性, 能剂量相关性地降低 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 的表达。加入 LY294002 后, SM 能进一步降低 p-PI3K 和 p-Akt 的表达。**结论** SM 对银屑病小鼠具有显著保护作用, 其机制可能是通过抑制 PI3K/Akt 信号通路, 从而发挥抗银屑病作用。

关键词: 生地黄-牡丹皮药对; 银屑病; 网络药理学; PI3K/Akt 信号通路; 增殖细胞标志物

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)09-3122-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.09.013

Mechanism of action of *Rehmanniae Radix-Moutan Cortex* herb pair in treating psoriasis based on network pharmacology and experimental validation

ZHAO Fei¹, ZHAO Mengshu¹, JIANG Hao¹, HAN Mengxue¹, GUAN Zitong¹, WANG Xiaolin¹, LU Feng², MAN Shuai¹

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To predict the potential mechanisms underlying the therapeutic effects of the *Rehmanniae Radix-Moutan Cortex* herb pair (SM) against psoriasis using network pharmacology, and to validate the predicted mechanisms through *in vivo* and *in vitro* experiments. **Methods** Network pharmacology was used to identify the active constituents of SM, obtain the intersection targets between SM and psoriasis, and perform enrichment analyses. An imiquimod (IMQ)-induced mouse model of psoriasis was established. Mice were divided into the control, model, *Rehmanniae Radix*, *Moutan Cortex*, low-, medium-, and high-dose (4.095, 8.190, and 16.380 g·kg⁻¹) SM, and methotrexate (MTX, positive control) groups. The therapeutic effects were evaluated based on the Psoriasis Area and Severity Index (PASI), histopathological changes in skin lesions, and Ki67 expression in skin tissues. The non-cytotoxic concentration range of SM was determined using the CCK-8 assay. The expression levels of PI3K/Akt pathway-related proteins were detected by Western blotting. The PI3K inhibitor LY294002 was further used for mechanistic verification. **Results** Network pharmacology analysis identified 169 psoriasis-related targets of SM, which were significantly enriched in several signaling pathways, including the PI3K/Akt signaling pathway. *In vivo* experiments showed that SM markedly alleviated IMQ-induced erythema, scaling, and skin thickening, reduced PASI scores, and decreased inflammatory infiltration and Ki67 expression. *In vitro* experiments demonstrated that SM showed no obvious cytotoxicity at concentrations ≤ 8 mg·mL⁻¹ and dose-dependently reduced the

收稿日期: 2026-03-26

作者简介: 赵 飞, 博士研究生, 研究方向为中医内科学。E-mail: zhaodedao@sina.com

*通信作者: 陆 峰, 博士, 主任医师, 主要从事血脉理论指导高血压血管病变防治及中医临床疗效评价与转化应用的研究。

E-mail: wangjianlufeng@163.com

满 帅, 博士, 讲师, 主要从事中药防治银屑病的药效物质基础及作用机制研究。E-mail: 13615422589@163.com

phosphorylation levels of PI3K and Akt, as indicated by decreased p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt ratios. After treatment with LY294002, SM further decreased the expression of p-PI3K and p-Akt. **Conclusion** SM exerts a significant protective effect against psoriasis in mice. The underlying mechanism may be associated with inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway, and exert an anti-psoriatic effect.

Key words: *Rehmanniae Radix-Moutan Cortex* herb pair; psoriasis; network pharmacology; PI3K/Akt signaling pathway; Ki67

银屑病, 俗称牛皮癣, 是一种常见的自身免疫性疾病, 广泛分布于世界各地, 但其发病率存在地域和种族差异^[1]。该病的主要症状为皮肤表面出现红色、厚化、鳞状样斑块, 并伴有瘙痒、脱屑和疼痛, 可能还会引发银屑病性关节炎及心脑血管疾病^[2]。西医上治疗银屑病以外用药物为主, 如皮质类固醇激素、维 A 酸类药物, 虽有一定疗效, 但可引起红斑、瘙痒等症状^[2]。系统治疗药物如甲氨蝶呤 (MTX) 和生物制剂虽然能够有效控制病情, 但治疗成本较高且有免疫抑制的风险^[3]。因此, 寻找更为安全高效的治疗方案, 已成为当前银屑病研究的重要方向。

中药因具有多成分、多靶点、多通路协同作用的特点, 在银屑病的治疗中展现出疗效快、成本低、可预防复发等优势, 能明显提高治愈率和缓解临床症状^[4]。药对是中药方剂最基本的组成单元, 是由 2 味或 3 味药物在中医理论指导下固定搭配而成, 治疗指向明确。近年来, 药对因其功能明确、配方精简、药效强劲而备受关注, 其配伍精准且符合中医用药的规范, 成为中医组方用药的一大特色^[5]。以药对为切入点研究复方配伍机制, 对于阐释方剂配伍的科学内涵、深化中医复方配伍理论, 以及拓展临床用药思路具有重要意义, 同时也为深入研究复方配伍规律提供了有价值的参考和依据^[6]。

中医认为银屑病的病机多为肝郁脾虚、湿热内蕴、血热瘀血, 遵循“从血论治”的治疗原则, 通过清除血液中的热毒和毒素, 促进血液循环, 实现祛瘀、养血以及解毒的功效^[6]。鉴于银屑病具有毒性损伤的病理特征, 兼具解热与解毒功效的中药被广泛应用于该药临床治疗中^[7]。本研究基于清热解毒类方在银屑病治疗中的关键作用, 选择生地黄-牡丹皮药对 (SM) 这一核心药物组合, 采用网络药理学筛选其有效成分及相关靶点, 分析成分与疾病共同靶点的相互作用, 探讨其信号通路及作用机制, 并通过细胞实验验证其作用机制, 通过动物实验验证其药效, 以期对银屑病的治疗提供参考。

1 材料

1.1 动物

64 只 SPF 级别雄性 BALB/c 小鼠, 体质量 18~

22 g, 购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 20200009, 饲养于山东中医药大学 SPF 级实验动物中心, 温度 (22±2) °C, 湿度 (50±10) %, 12 h/12 h 光/暗周期, 实验前适应性饲养 7 d, 自由摄食和饮水。本研究通过山东中医药大学实验动物伦理委员会批准, 所有动物均符合国家规定的实验动物质量标准 (批准号 SDUTCM20240313101)。

1.2 药物

生地黄、牡丹皮均购自北京本草方源药业集团有限公司, 经山东中医药大学徐凌川教授鉴定, 分别为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根, 毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的干燥根皮。分别将 500 g 生地黄、牡丹皮、生地黄-牡丹皮 (5:4) 在纯水中浸泡 2 h, 第 1 次用 8 倍量纯水煎煮 1 h, 第 2 次用 6 倍量纯水煎煮 1 h, 合并 2 次提取液, 将提取液浓缩、冷冻干燥后均质成细粉于 -20 °C 冷冻储存。采用液质联用技术对药液成分进行鉴定, 药液中主要成分梓醇和丹皮酚的质量分数分别为 1.473% 和 1.179%。

1.3 试剂

苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (思科捷生物技术有限公司, 货号 EE0012); Ki67 (货号 S0026)、PI3K 兔抗 (货号 25868-1-AP)、Akt 兔抗 (货号 10176-2-AP)、p-Akt 兔抗 (货号 28731-1-AP), 均购自武汉三鹰生物技术有限公司; TBST 缓冲液 (货号 T1087)、MTX、中性树胶、1×Tris-EDTA 抗原修复液 (货号 G1218-1L)、PBS (货号 P1020)、SWE 快速高分辨电泳缓冲液 (货号 G2081-1L)、免冰浴快速转膜缓冲液 (货号 G2018-1L), 北京索莱宝科技有限公司; 4% 多聚甲醛通用型组织固定液 (Biosharp 公司, 货号 BL539A); 咪喹莫特乳膏 (IMQ, 货号 344422334725, 珠海联邦制药股份有限公司); 二甲苯 (国药集团化学试剂有限公司); 山羊抗兔 IgG/辣根酶标记 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 货号 ZB-2301); 两步法免疫组化试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 货号 SV0002); 一抗稀释液 (货号 P0023A-100 mL)、BCA 蛋白浓度

测定试剂盒(货号 P0012)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(货号 P0012A),碧云天生物技术有限公司;DMEM 培养基(Biopico 公司,货号 P15124D06);胎牛血清(上海顶沃生物工程有限公司,货号 384172);0.25% Trypsin-EDTA (1X)(Gibco 公司,货号 2868002);CCK-8 试剂盒(美国 APEX BIO 公司,货号 K1080);抗体剥离液(Affinity Biosciences 公司,货号 KF8010);p-PI3K 兔抗(ABmart 医药科技有限公司,货号 T40016);小鼠转化生长因子- β 1(TGF- β 1) ELISA 试剂盒(货号 ab119557)、小鼠白细胞介素(IL)-17A ELISA 试剂盒(货号 ab199081),Abcam 公司。

1.4 仪器

Ts2 倒置显微镜(日本尼康公司);TGL-16A 医用离心机(湖南平凡科技有限公司);DHG-9245A 恒温鼓风干燥箱(上海慧泰仪器制造有限公司);组织包埋机、冻台,武汉俊杰电子有限公司;HWS-24 恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);HistoCore 149AUTO00C1 全自动轮转式切片机(徕卡生物系统);EPS600 电泳仪、Tanon 4800Multi 凝胶图像分析系统、Tanon EPS 600 转膜仪,上海天能科技有限公司;LumiStation 1800 化学发光酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司);HF90 细胞培养箱、HFsafe-1500LC 生物安全柜,上海力康生物科技控股有限公司;电子天平(德国 Sartorius 公司);BE-9008 微孔板恒温振荡器、VORTEX-5 涡旋混匀仪、水平摇床,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;小型 Mini Trans-Blot®转印槽、Mini-PROTEAN® Tetra 电泳槽,美国 Bio-rad 公司。

2 方法

2.1 SM 活性成分及相关靶点的获取

基于中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)收集 SM 的化学成分,将口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 的化学成分作为潜在活性成分,并通过检索相关文献对其进行补充,通过 Swiss TargetPrediction 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>)和 SEA 数据库(<https://sea.bkslab.org/>)获取潜在活性成分的相关靶点信息。

2.2 银屑病靶点及抗银屑病靶点的获取

以“psoriasis”为关键词在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org>)、DisGeNET 数据库

(<http://www.disgenet.org>)和 TTD 数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)中筛选并获取银屑病的相关靶点。通过 Venny2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)可视化平台将药物活性成分靶点与银屑病靶点取交集,获取抗银屑病靶点。

2.3 核心药物-活性成分-基因靶点网络图的构建

将药物、活性成分与交集靶点导入 Cytoscape 3.10.0 软件,利用 Cytoscape3.10.0 对 SM 活性成分与交集靶点间的联系进行可视化,并构建“药物-活性成分-交集靶点”的网络图。网络图的节点表示作用靶点、活性成分、药物,边表示两者之间的相互作用。

2.4 基于 STRING 数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络

将 SM 与银屑病的交集靶点导入 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>),生物类别设置成“Homo sapiens”,最小互作阈值设置成“medium confidence”(>0.4),并隐藏游离节点,下载 TSV 文件,将结果文件导入 CytoScape 3.10.0 软件,对 SM 治疗银屑病的核心蛋白网络进行分析,使用 CytoNCA 插件计算每个节点的度(Degree)值,根据 Degree 值筛选出前 10 位的核心靶点。

2.5 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析

将 SM 与银屑病的交集靶点导入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>),设置物种为“Homo sapiens”,分别进行 GO 和 KEGG 富集分析,以 $P < 0.05$ 作为筛选条件,对分析结果进行可视化展示,根据富集结果,对 SM 治疗银屑病的物质基础和分子机制进行分析预测。

2.6 分组造模及给药

将 64 只雄性 BALB/c 小鼠随机分为对照组,模型组,生地黄组,牡丹皮组,SM 低、中、高剂量组及 MTX(阳性药)组,每组 8 只。依据药物等效剂量系数折算法(按成人 70 kg)计算得到小鼠对应的剂量分别为生地黄 $2.275 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、牡丹皮 $1.82 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、SM 4.095 、 8.190 、 $16.380 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、MTX $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。造模前 1 d 去除小鼠背部毛发,暴露皮肤 $2 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ 的区域,并在 7 d 内再次脱毛。除对照组外,其余各组每天于小鼠背部涂抹 5% IMQ 50 mg,连续 7 d^[4],同时 ig 给予相应药物(每次 200 μL ,每天 1 次)。末次给药 24 h 后,将小鼠眼球摘除取血,脱颈处死后取背部皮肤组织备用。

2.7 小鼠皮损的严重程度评分

参照银屑病面积和严重程度指数 (PASI) 对小鼠皮损的严重程度进行定量评价。针对小鼠皮损的红斑程度、皮损厚度和鳞屑情况分别进行打分, 每个指标的评分范围均为 0~3 分, 具体标准为: 无症状记 0 分, 轻微记 1 分, 中度记 2 分, 重度记 3 分。将 3 个指标的得分相加, 得出总分, 范围为 0~9 分。评分工作由 3 名实验人员独立完成, 取其平均值作为最终得分^[8]。

2.8 HE 染色

用 4% 的多聚甲醛溶液对小鼠的皮肤组织进行固定, 石蜡包埋, 切片 (4~5 μm), 经 HE 染色, 中性树胶封片, 在显微镜下观察小鼠皮肤组织的病理变化。

2.9 ELISA 分析

实验结束后采集小鼠的血液样本, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下离心 30 min。取上层血清于 1.5 mL EP 管中, 于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。使用相应的 ELISA 试剂盒检测 TGF- β 和 IL-17A 的含量, 并按照制造商的说明进行分析。

2.10 免疫组化

石蜡切片脱蜡复水, EDTA 缓冲液加热修复抗原, 静置至室温后, 加入 3% H_2O_2 去除内源性过氧化物酶, 5% BSA 封闭。滴加一抗 Ki67 (1:5 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST 洗涤后, 加入带有辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 (1:5 000), 室温孵育 2 h。DAB 显色, 苏木素复染, 脱水封片。在显微镜下进行观察, 每个切片随机选取 5 个视野, Image J 计算阳性细胞数。

2.11 细胞培养

人表皮永生化细胞系角质形成细胞 (HaCaT) 来源于中国科学院细胞库 (上海), 将 HaCaT 细胞培养在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中培养至对数生长期。

2.12 CCK-8 法检测细胞的存活率

将处于对数成长期的 HaCaT 细胞接种于 96 孔板, 每孔接种的细胞数量为 5×10^3 个, 培养 24 h 使细胞充分贴壁。将细胞分为对照组和给药组、模型组, 给药组分别加入含 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00、32.00 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ SM 溶液, 模型组加入 0.125、0.250、0.500、1.000、2.000、4.000、8.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 脂多糖 (LPS) 的培养基, 对照组更换等体积的完全

培养基。继续培养 24 h 后, 向每孔内加入 10 μL CCK-8 试剂, 将细胞培养板置于培养箱内继续培养 4 h。培养完成后, 使用酶标仪在 450 nm 波长下检测各孔的吸光度, 以确定对细胞生长无毒性影响的药物浓度范围。

2.13 细胞分组与给药

HaCaT 细胞以每毫升 2×10^5 个的密度接种到 6 孔板中, 在细胞融合度达 90% 时, 除对照组外, LPS 组, SM 低、中、高剂量组和 MTX 组加入 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS 诱导细胞增殖, 持续 24 h。造模完成后, 使用完全培养基稀释 SM 冻干粉至 100 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, SM 低、中、高剂量组分别给予质量浓度为 2、4、8 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 SM 处理, MTX 组给予质量浓度为 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MTX 处理, 其余组继续使用完全培养基, 继续培养 24 h 后进行 CCK-8 法检测。

2.14 Western blotting 检测相关蛋白表达

细胞接种、分组和给药同“2.12”项, 给药 24 h 后收集细胞, 加入细胞裂解液提取总蛋白, 并通过 BCA 法进行蛋白定量。取等量蛋白样品, 经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后, 在 400 mA 恒定电流下湿转至 PVDF 膜。转膜完成后用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h。封闭后将 PVDF 膜与针对 PI3K (1:2 000)、Akt (1:2 000)、p-PI3K (1:2 000)、p-Akt (1:2 000) 及内参 GADPH (1:5 000) 的特定一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育过夜。次日, 将膜放入 TBST 溶液中清洗 3 次, 每次 5 min, 然后向体系中加入二抗 (1:5 000), 室温孵育 2 h。再次用 TBST 充分清洗后, 向 PVDF 膜上滴加显影液, 利用 Tanon 4800 Multi 成像系统显影, 用 Image J 定量蛋白条带的灰度值。

2.15 统计学分析

数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 结果分析采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行。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 生地黄、牡丹皮活性成分的筛选及相关靶点的获取

共获得生地黄活性成分 15 个, 牡丹皮活性成分 11 个, 最终得到 SM 的潜在有效成分 26 个, 对应生地黄靶点 960 个, 牡丹皮靶点 715 个, 删除重复值后最终获得 SM 的相关基因靶点 590 个。筛选获得银屑病疾病基因靶点 3 727 个, 将药物活性成分作用靶点与疾病靶点取交集, 得到 SM 治疗银屑病的潜在作用靶点 169 个; 绘制“核心药物-活性成分-基因靶点”网络图。将成分节点按 Degree 值大

小进行排序, Degree 值越大, 表示该成分在网络中的重要性越高, 结合其水溶性特征, 排在前 5 位的成分是丹皮酚、水苏糖、毛蕊花糖苷、松柏苷、芍药苷。

3.2 SM 治疗银屑病潜在作用靶点的 PPI 网络

将交集靶点导入 STRING 数据库得到 SM 治疗银屑病潜在作用靶点的 PPI 关系图, 见图 1-A, 再将数据导入 Cytoscape3.10.0 软件构建 PPI 网络, 见图 1-B。药物-疾病 PPI 网络中共有 166 个节点, 2 176 条边, 图中节点代表蛋白质, 边代表蛋白质与

蛋白质的联系, 圆形从大到小代表 Degree 值由高到低, Degree 值越高, 表明越有可能是 SM 治疗银屑病的关键核心靶点。根据 Degree 值筛选出 Top10, 分别是 IL-6、IL-1 β 、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1)、信号转导与转录激活因子 3 (STAT3)、表皮生长因子受体 (EGFR)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、非受体酪氨酸蛋白激酶 (SRC)、核因子 kappa B 亚基 1 (NFKB1)、表面抗原分化簇 4 受体 (CD4)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9), 这些靶点蛋白均为 SM 治疗银屑病的关键核心蛋白。

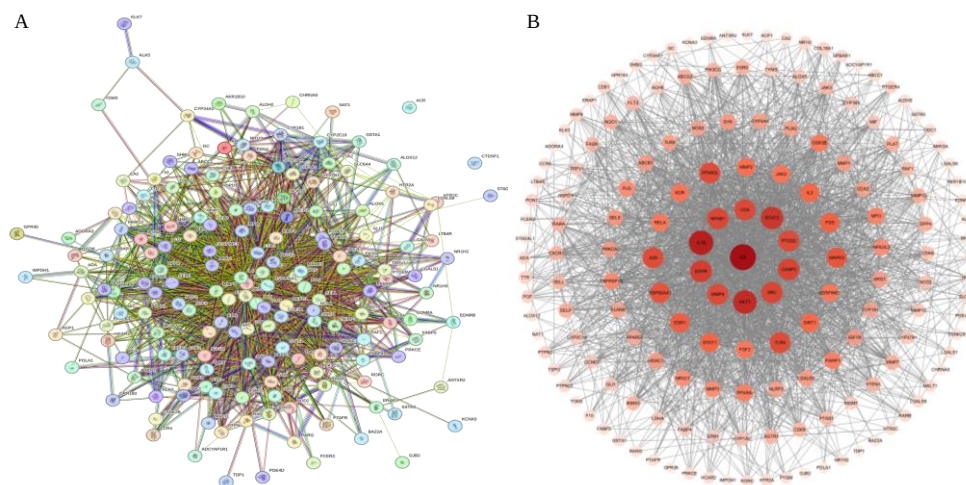


图 1 SM 治疗银屑病潜在作用靶点的 PPI 关系图 (A) 和网络图 (B)

Fig. 1 PPI relationship diagram (A) network diagram (B) of potential therapeutic targets of SM in treatment of psoriasis

3.3 GO 分析和 KEGG 通路富集分析

为深入探讨潜在作用靶点的功能, 分别对其进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析 (图 2)。共获得 249 个生物过程 (BP)、56 个细胞组成 (CC)、113 个分子功能 (MF) 和 139 条 KEGG 通路, 选取前 20 条绘制气泡图。BP 主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正/负调控、炎症反应、积极调节细胞增殖、转录正调控、DNA 模板化等; CC 主要在细胞质、细胞外、胞质、核等区域; MF 主要与蛋白结合、酶结合、锌离子结合、蛋白同型二聚化活性等有关。KEGG 显著富集到的信号通路主要包括癌症途径、脂质和动脉粥样硬化、PI3K/Akt 信号通路、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染等。

3.4 SM 对 IMQ 诱导的银屑病模型小鼠的保护作用

第 7 天时小鼠背部的皮肤状况见图 3, 对照组小鼠的背部皮肤始终光滑正常。模型组第 1 天开始出现轻微鳞屑且逐渐加重, 第 4 天时皮肤损伤达到

最严重的程度, 第 5~7 天稍有缓解。与模型组相比, 各给药组鳞屑减少、表皮变薄、红斑范围缩小, 各项皮损评分显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01) 皮损状况明显改善; 生地黄与牡丹皮合用的效果优于单用, 且呈剂量相关性。

小鼠背部皮肤组织的 HE 染色结果见图 4, 与对照组相比, 模型组小鼠的表皮层与棘层显著增厚, 真皮层炎症浸润明显 ($P < 0.01$)。给药后上述病变均可减轻, 且这种作用呈现剂量相关性。结果表明 SM 可通过抑制表皮增生和炎症细胞的浸润缓解 IMQ 诱导的小鼠银屑病样皮损, 且联合用药效果更佳。

3.5 SM 对 IMQ 诱导的银屑病模型小鼠炎症反应和细胞增殖的影响

ELISA 检测结果如图 5 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠血清中促炎因子 IL-17A 的含量显著升高 ($P < 0.01$), TGF- β 的含量显著降低 ($P < 0.01$)。相较于模型组, 给予药物干预后, IL-17A 的水平呈剂

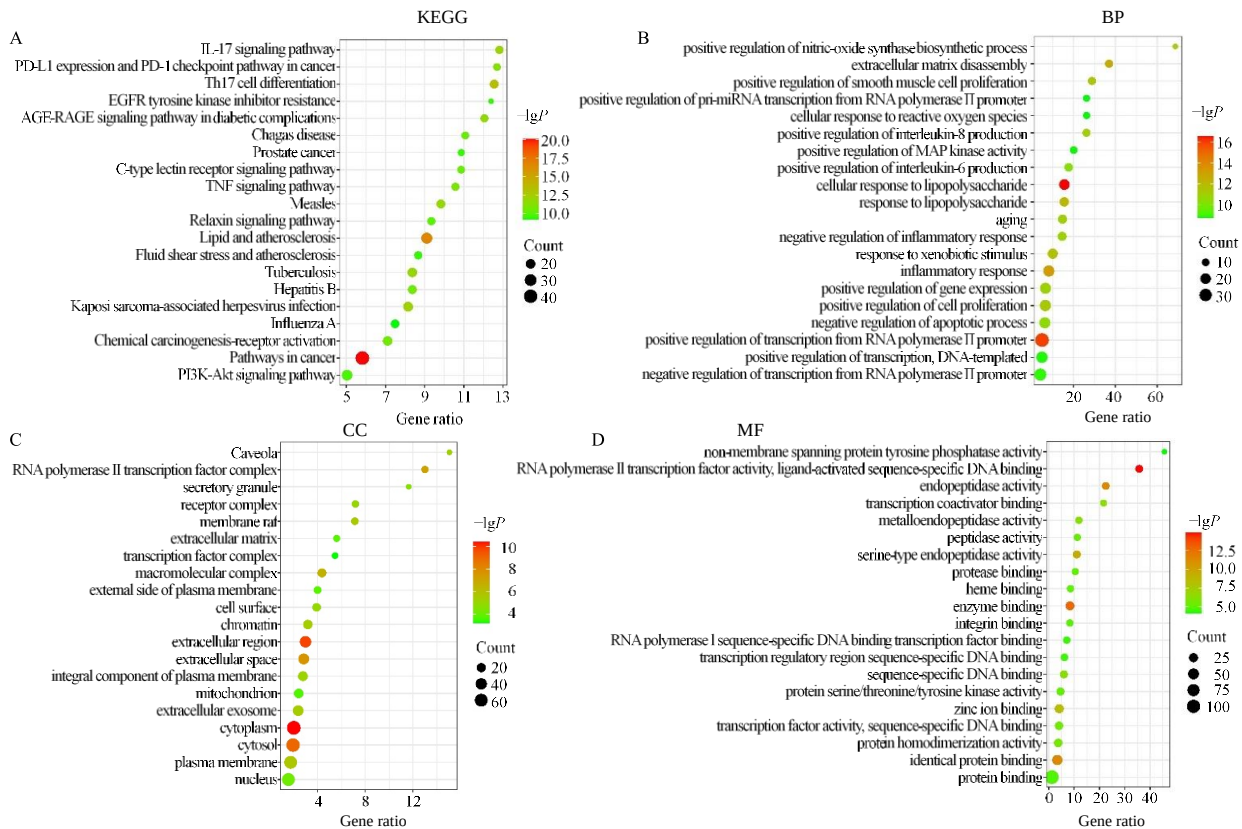
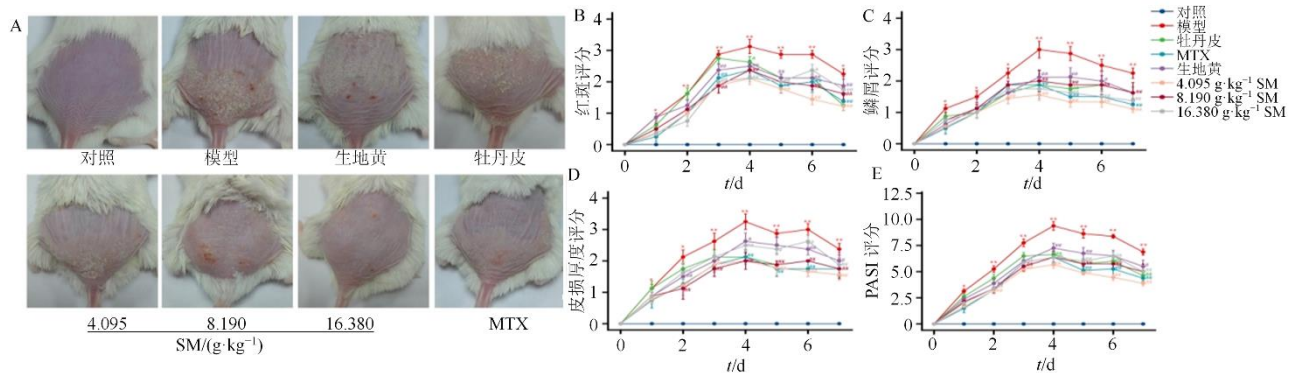


图 2 潜在作用靶点的 KEGG 通路 (A) 和 GO 富集分析 (B—D)

Fig. 2 KEGG (A) and GO analysis (B—D) pathway enrichment analysis of potential therapeutic targets



A—各组小鼠的背部皮肤情况；B—E—给药 7 d 小鼠每天的 PASI 评分统计图。与对照组比较：[#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。

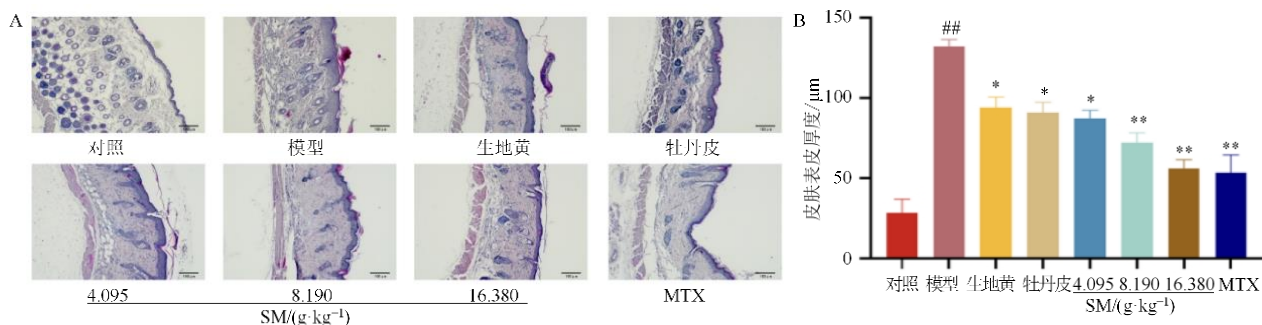
A—Dorsal skin condition of each group's mice; B—E—statistical graph of daily PASI scores in mice over 7 d of treatment; [#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 3 SM 改善小鼠银屑病样皮损的情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Fig. 3 Amelioration of psoriatic-like skin lesions in mice by SM ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

量相关性下降, TGF- β 的水平呈剂量相关性升高, 且联合用药效果更佳。这一结果表明 SM 可能通过调节炎症因子的表达, 改善银屑病相关的炎症反应。

Ki67 是一种与核糖 RNA 转录相关的核蛋白, 常被用作细胞增殖的标志物^[9]。为评价细胞增殖的

活跃程度, 对其进行了免疫组化染色, 结果见图 6。与对照组相比, 模型组小鼠表皮层中 Ki67 呈强阳性表达; 各给药组中 Ki67 的表达均较模型组降低, 这种降低呈剂量相关性, 且联合用药组的表达水平低于单用组。这些结果表明 SM 可能通过抑制表皮

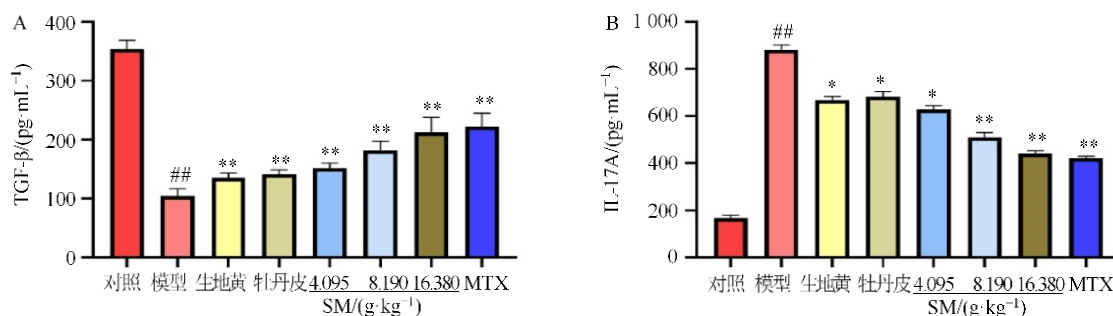


A-小鼠背部皮肤组织的 HE 染色图; B-皮肤表皮厚度; 与对照组比较: $^{##}P<0.01$; 与模型组比较: $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ 。

A-HE staining of dorsal skin tissue in mice; B-quantitative analysis of epidermal thickness; $^{##}P<0.01$ vs control group; $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs model group.

图 4 SM 改善 IMQ 诱导小鼠的银屑病样皮损组织内部的变化 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Amelioration of internal histological changes in psoriatic-like skin lesions of IMQ-induced mice by SM ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

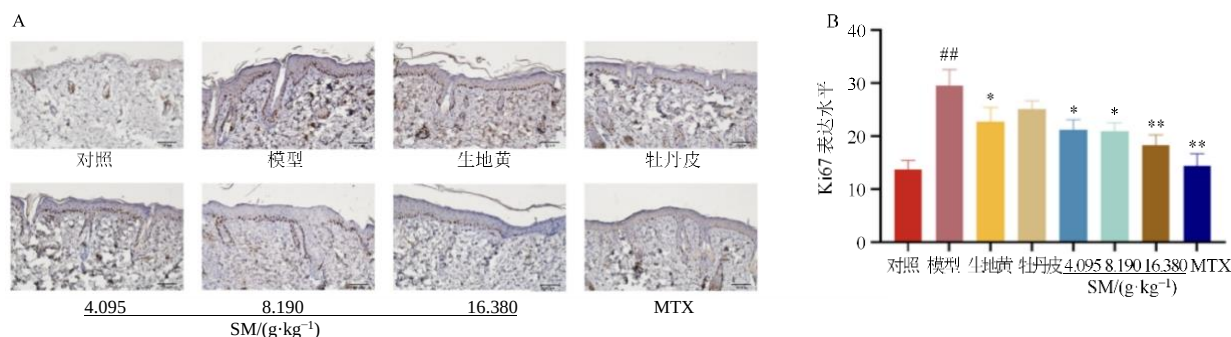


与对照组比较: $^{##}P<0.01$; 与模型组比较: $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ 。

$^{##}P<0.01$ vs control group; $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs model group.

图 5 SM 对 IMQ 诱导的银屑病小鼠血清中 TGF-β 和 IL-17A 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 5 Effect of SM on TGF-β and IL-17A expression levels in the serum of IMQ-induced psoriatic mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



A-小鼠背部皮肤免疫组化染色图; B-SM 对银屑病样小鼠皮肤中 Ki67 表达水平的影响; 与对照组比较: $^{##}P<0.01$; 与模型组比较: $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ 。

A-Immunohistochemical staining of dorsal skin in mice; B-Effect of SM on the expression level of Ki67 in the skin of psoriatic-like mice; $^{##}P<0.01$ vs control group; $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs model group.

图 6 SM 对 IMQ 诱导的银屑病小鼠皮肤中 Ki67 表达水平的影响 ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Effect of SM on Ki67 expression level in skin of IMQ-induced psoriatic mice ($\times 200$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

细胞的过度增殖, 从而减轻银屑病小鼠的症状。

3.6 SM 对 LPS 诱导的 HaCaT 细胞增殖的影响

LPS 是一种重要的致炎因子, 有研究表明 LPS 能促进细胞增殖及炎症反应, 被广泛用作细胞增殖模型

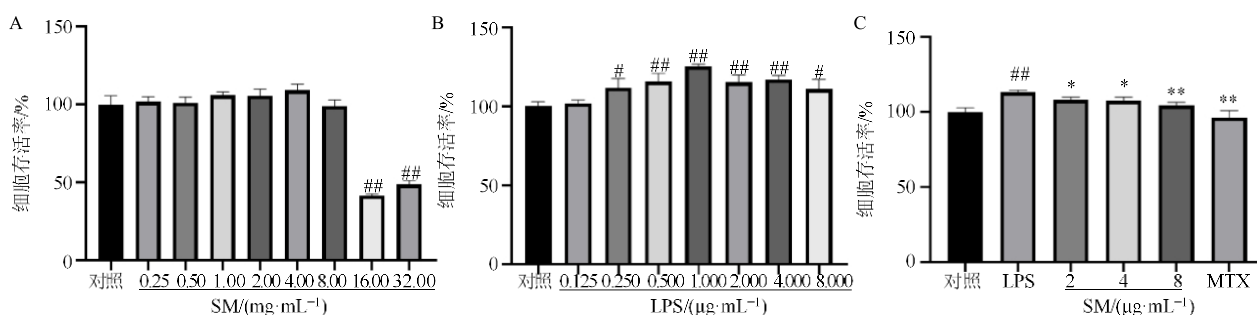
和炎症模型的诱导剂^[10], 因此细胞实验选择 LPS 进行造模, 构建细胞增殖模型。CCK-8 实验结果如图 7 所示, SM 在 $0\sim 8\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对 HaCaT 细胞无明显毒性, 质量浓度 $> 8\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对细胞增殖起到

明显的抑制作用;当 LPS 浓度在 $0.125\sim 1.000\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞存活率逐渐升高, $1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时细胞存活率最高[$(125\pm 20)\%$, $P<0.01$],随后下降。因此选用 2、4、8 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ SM 和 $1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS 进行后续实验。

采用上述条件处理细胞后发现,与对照组相比, LPS 处理 24 h 后细胞增殖活性显著升高($P<0.01$);相较于 LPS 组, SM 处理 24 h 后细胞活性呈剂量相关性降低($P<0.05$)。总体而言, SM 和 MTX 均能显著抑制 LPS 诱导的细胞增殖,但与 SM 相比, MTX 表现出更强的细胞毒性。

3.7 SM 对 HaCaT 细胞内 PI3K/Akt 信号通路蛋白的影响

结果见图 8,与对照组相比, LPS 组 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 的表达水平显著升高($P<0.05$),适当浓度的 LPS 能够促使细胞内 PI3K/Akt 信号通路的激活;相较于 LPS 组,经不同浓度 SM 处理的细胞,其 PI3K/Akt 信号通路呈现出被抑制的状态,其通路蛋白 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 的表达量明显降低,并且与剂量呈正相关。此外,在 MTX 作用于细胞 24 h 后, p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 蛋白的表达也明显受到抑制。

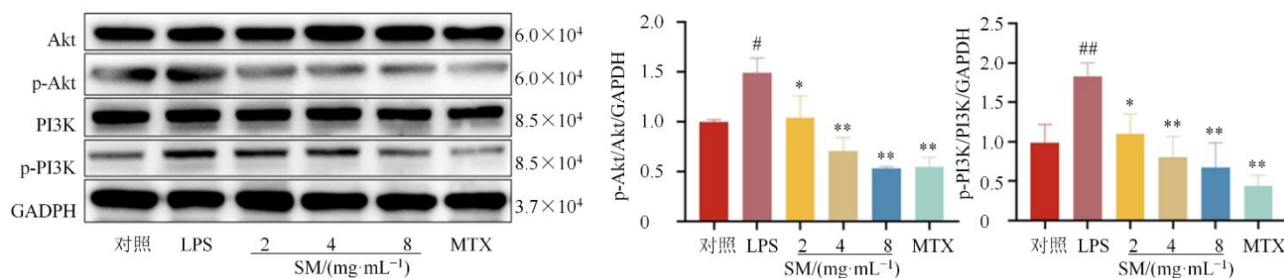


A-不同浓度 SM 对 HaCaT 细胞存活率的影响; B-LPS 对 HaCaT 细胞增殖活性的影响; C-SM 对 LPS 诱导的 HaCaT 细胞增殖的影响; 与对照组比较: $^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$; 与 LPS 组比较: $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ 。

A-Effect of different concentrations of SM on viability of HaCaT cells; B-Effect of LPS on the proliferative activity of HaCaT cells; C-Effect of SM on LPS-induced proliferative activity in HaCaT cells; $^{\#\#}P<0.01$ vs control group; $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs LPS group.

图 7 SM 对 LPS 诱导的 HaCaT 细胞增殖活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 7 Effect of SM on LPS-induced proliferative activity in HaCaT cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



与对照组比较: $^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$; 与 LPS 组比较: $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ 。

$^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$ vs control group; $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs LPS group.

图 8 SM 对 LPS 诱导的 HaCaT 细胞 PI3K/Akt 信号通路的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 8 Effect of SM on PI3K/Akt signaling pathway in LPS-induced HaCaT cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

4 讨论

近年来,研究人员发现肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-17 和 IL-23 等细胞因子所传递的致炎症信号能直接或间接地引发银屑病^[1]。针对这些细胞因子研发了一系列生物制剂^[12],但由于其价格昂贵,应用受限。而中药因其多成分、多靶点的优势,对银

屑病具有良好的治疗作用,且不良反应小、价格低廉,弥补了上述药物的不足。根据本课题组前期研究成果^[2],SM 是清热解毒类方中治疗银屑病的常用药物组合,但其潜在作用机制尚不清楚。因此本研究通过网络药理学分析及实验验证,深入探讨了 SM 在银屑病治疗中的潜在作用机制。研究结果表

明, SM 可通过多种途径发挥抗银屑病作用, 为深入理解中医药治疗银屑病的分子机制提供了实验依据和理论支撑。

网络药理学分析可知, SM 的潜在有效成分有 26 个。根据网络图可知, 阿魏酸甲酯、芹菜素、木犀草素、山柰酚、槲皮素是 SM 的主要活性成分。阿魏酸甲酯是阿魏酸的衍生物, 具有抗氧化、抗菌以及抗炎活性, 可减轻鳞屑的产生和皮肤红肿程度^[13]。木犀草素具有抗炎、抗氧化的特性, 可通过下调肥大细胞中 MrgprX2 的表达来抑制肥大细胞的活化, 降低 IL-1 β 、IL-6、环氧化酶-2 (COX-2) 等炎症因子的表达, 从而达到缓解和治疗银屑病的目的^[14]。芹菜素、山柰酚、槲皮素均为黄酮类物质。芹菜素可通过抑制 STAT3 通路和 NF- κ B 通路, 起到缓解炎症反应和抑制角质形成细胞异常增殖和分化的作用^[15]。山柰酚具有良好的抗炎作用, 可降低炎症因子的含量^[16]。槲皮素具有抗炎、抗氧化、血管保护以及免疫调节等多种生物活性, 可显著减轻银屑病皮损。

通过 PPI 网络图可推测出 SM 治疗银屑病可能与 IL-6、IL-1 β 、RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1) 等靶点相关。IL-6 具有促炎作用, 可促进 Th17 细胞分泌 IL-17, 诱导角质形成细胞的过度增殖和异常分化^[17]。此外, 有研究发现寻常型银屑病患者血清中 IL-1 β 的水平升高, 且 IL-1 β 在银屑病皮损区的表达随皮损的加重而增强, 证实了 IL-1 β 与银屑病皮损的形成密切相关^[18]。角质形成细胞增殖过速是银屑病重要的病理特征之一, 而 AKT1 是 PI3K 信号通路下游的关键分子, 抑制 AKT1 后, 介导细胞生长、增殖的 PI3K 信号通路也被抑制, 进而调节角质形成细胞的增殖^[19]。

银屑病主要的病理特征为表皮过度增生和炎症细胞浸润^[20]。动物实验结果表明, 生地黄和牡丹皮单独使用即可有效改善银屑病小鼠的皮损症状, 而联合应用效果更佳, 甚至优于临床常用药物 MTX。细胞实验结果表明, SM 可作用于 PI3K/Akt 信号通路, 该信号通路在细胞增殖、存活和代谢中起关键作用, 其异常激活与银屑病的发生发展密切相关^[21]。此外, PI3K/Akt 通路的激活还会促进炎症因子的分泌, 进一步加重免疫反应。因此, 抑制 PI3K/Akt 信号通路的异常激活, 已成为银屑病治疗的一个重要研究方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Boehncke W H, Schön M P. Psoriasis [J]. Lancet, 2015, 386(9997): 983-994.
- [2] 姜昊, 马文珂, 时沙沙, 等. 基于数据挖掘的清热解毒方治疗银屑病用药规律及其作用机制研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(4): 850-861.
Jiang H, Ma W K, Shi S S, et al. Study on medication pattern and its mechanism of action of heat-clearing and detoxification formula for psoriasis based on data mining [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(4): 850-861.
- [3] 侯丽萍. 大剂量甲氨蝶呤的临床用药研究 [J]. 中国现代药物应用, 2022, 16(7): 107-109.
Hou L P. Clinical study of high-dose methotrexate [J]. Chin J Mod Drug Appl, 2022, 16(7): 107-109.
- [4] 邓戈宇, 王宇, 卢芳, 等. 基于血清代谢组学的白鲜皮酒炙增效抗银屑病作用机制 [J]. 中草药, 2025, 56(17): 6252-6263.
Deng G Y, Wang Y, Lu F, et al. Mechanism of enhanced efficacy of wine-processed *Dictamnii Cortex* against psoriasis based on serum metabolomics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(17): 6252-6263.
- [5] Li X, Qin X M, Tian J S, et al. Integrated network pharmacology and metabolomics to dissect the combination mechanisms of *Bupleurum chinense* DC-*Paeonia lactiflora* Pall herb pair for treating depression [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 264: 113281.
- [6] 古力米来·赛买提, 刘红霞. 中医药治疗寻常型银屑病的研究进展 [J]. 临床合理用药, 2024, 17(32): 174-177.
Gulimila S, Liu H X. Research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of psoriasis vulgaris [J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2024, 17(32): 174-177.
- [7] 马冲, 陈蕾, 王兴臣, 等. 王新陆教授从血论治皮肤病经验撷菁 [J]. 天津中医药, 2021, 38(2): 152-156.
Ma C, Chen L, Wang X C, et al. Professor Wang Xinlu's experience in treating skin diseases from turbid blood [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2021, 38(2): 152-156.
- [8] Johansen C, Mose M, Ommen P, et al. IkB ζ is a key driver in the development of psoriasis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(43): E5825-E5833.
- [9] Mishra M, Jiang H, Chawsheen H A, et al. Nrf2-activated expression of sulfiredoxin contributes to urethane-induced lung tumorigenesis [J]. Cancer Lett, 2018, 432: 216-226.
- [10] Wu S D, Zhao M J, Sun Y H, et al. The potential of Diosgenin in treating psoriasis: Studies from HaCaT keratinocytes and imiquimod-induced murine model [J]. Life Sci, 2020, 241: 117115.

- [11] Hawkes J E, Chan T C, Krueger J G. Psoriasis pathogenesis and the development of novel targeted immune therapies [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140(3): 645-653.
- [12] 李红霞, 孙同毅, 王春河. 治疗银屑病的抗体药物研究进展 [J]. *华西药理学杂志*, 2021(3): 325-330.
Li H X, Sun T Y, Wang C H. Progress of antibody therapeutics in the treatment of psoriasis [J]. *West China J Pharm Sci*, 2021(3): 325-330.
- [13] Li T T, Shen Y, Chen H T, et al. Antibacterial properties of coaxial spinning membrane of methyl ferulate/zein and its preservation effect on sea bass [J]. *Foods*, 2021, 10(10): 2385.
- [14] Liao H J, Peng X, Ge Y Q, et al. Novel reactivation and degranulation of mast cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127:110157.
- [15] 马楚君, 阮彬家, 鲁人玮, 等. 芹菜素对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样皮损的影响及机制 [J]. *临床皮肤科杂志*, 2023, 52(8): 455-461.
Ma C J, Ruan B J, Lu R W, et al. Effect and mechanism of apigenin in treating IMQ-induced psoriasiform lesions: An analysis based on a flaky skin mouse model [J]. *J Clin Dermatol*, 2023, 52(8): 455-461.
- [16] 王飞, 梅群超, 冯晶, 等. 山奈酚调控 ROS/TXNIP 通路对膝关节炎大鼠软骨细胞氧化及炎性损伤的改善作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(1): 229-233.
Wang F, Mei Q C, Feng J, et al. Kaempferol regulates ROS/TXNIP pathway to improve chondrocyte oxidation and inflammatory injury in rats with knee osteoarthritis [J]. *Chin J Gerontol*, 2024, 44(1): 229-233.
- [17] 陈建霞, 冯燕艳. 巨噬细胞在银屑病发病机制中作用的研究进展 [J]. *临床皮肤科杂志*, 2019, 48(11): 714-716.
Chen J X, Feng Y Y. Progress on research of macrophages in pathogenesis of psoriasis [J]. *J Clin Dermatol*, 2019, 48(11): 714-716.
- [18] 张平平, 甄莉. β 防御素-2 和白细胞介素-1 β 在寻常型银屑病患者皮损中表达的研究 [J]. *中国医药导报*, 2012, 9(6): 21-22, 25.
Zhang P P, Zhen L. Expression of β -defensin-2 and interleukin-1 β in lesions of patients with psoriasis [J]. *China Med Her*, 2012, 9(6): 21-22, 25.
- [19] Ersahin T, Tuncbag N, Cetin-Atalay R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway [J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(7): 1946-54.
- [20] Chen Y W, Lian P P, Peng Z Q, et al. Alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor agonist alleviates psoriasis-like inflammation through inhibition of the STAT3 and NF- κ B signaling pathway [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8: 141.
- [21] Teng Y, Fan Y B, Ma J W, et al. The PI3K/Akt pathway: Emerging roles in skin homeostasis and a group of non-malignant skin disorders [J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1219.

[责任编辑 齐静雯]