

基于STEP/NR2B信号通路探讨当归饮子加减方调控慢性 荨麻疹“瘙痒-焦虑”循环的机制

李明玥¹, 肖昕菀², 陈安婧³, 刘娥², 王栩芮^{4*}, 周沁^{4*}

(1. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072; 2. 成都中医药大学, 成都 611137;
3. 成都市第一人民医院, 成都 610499; 4. 四川省医学科学院·四川省人民医院, 成都 610072)

[摘要] 目的:探究当归饮子加减方对慢性荨麻疹(CU)“瘙痒-焦虑”模型大鼠的作用及机制。方法:选取36只SPF级6~8周龄雌性SD大鼠,随机分为空白组,模型组,阳性药组,当归饮子加减方低、中、高剂量组($n=6$)。采用腹腔注射氯化钠与氢氧化铝混悬液、卵白蛋白联合慢性不可预知情绪应激刺激构建“瘙痒-焦虑”模型。造模成功后,阳性药组给予西替利嗪($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和氟西汀($2.08\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)药物溶液灌胃,当归饮子加减方低、中、高剂量组分别按 1.44 、 2.88 、 $5.76\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给予中药灌胃,空白组和模型组给予等体积生理盐水灌胃,均连续干预15 d。通过高架十字迷宫实验[检测进入开放臂次数比例(OE%)、开放臂停留时间比例(OT%)、进入开放臂和封闭臂的总次数(TNE)]、旷场实验(检测总活动量、平均移动速度、进入中央区域潜伏期)、搔抓行为观察评估大鼠行为学变化;对皮肤组织进行苏木素-伊红(HE)染色和甲苯胺蓝染色观察病理改变,对杏仁核组织进行HE染色、尼氏染色及免疫荧光检测离子钙结合接头蛋白-1(Iba-1);酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清免疫球蛋白E(IgE)、白细胞介素-33(IL-33)、组胺及杏仁核谷氨酸含量;运用蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测杏仁核纹状体富集蛋白酪氨酸磷酸酶(STEP)、N-甲基-D-天冬氨酸2B亚基(NR2B)、钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(CaMK II)、磷酸化(p)-CaMK II、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、p-MAPK、核转录因子- κ B(NF- κ B)、p-NF- κ B和突触后致密蛋白-95(PSD-95)蛋白表达。结果:与空白组比较,模型组大鼠出现明显焦虑样行为(OE%、OT%、TNE降低,总活动量减少、平均移动速度减慢、进入中央区域潜伏期延长)、搔抓次数增多,皮肤炎症及肥大细胞脱颗粒明显,杏仁核组织损伤严重,杏仁核谷氨酸含量升高,血清IgE、IL-33水平上升;杏仁核中STEP、NF- κ B、p-NF- κ B、NR2B、MAPK、p-MAPK、CaMK II、p-CaMK II蛋白表达增加,PSD-95蛋白表达降低($P<0.05$)。与模型组比较,当归饮子加减方各剂量组OE%、OT%、TNE、总活动量、平均移动速度升高,进入中央区域潜伏期、搔抓次数缩短或减少,皮肤炎症及肥大细胞脱颗粒减轻,杏仁核组织损伤缓解,杏仁核谷氨酸含量降低,血清IgE、IL-33水平下降;杏仁核中STEP、NF- κ B、p-NF- κ B、NR2B、MAPK、p-MAPK、CaMK II、p-CaMK II蛋白表达均降低,PSD-95蛋白表达上升,且存在明显的剂量效应关系,高剂量组调节作用最为明显($P<0.05$)。结论:当归饮子加减方对CU“瘙痒-焦虑”模型大鼠具有治疗作用,其机制可能与调控杏仁核内谷氨酸代谢、调节STEP/NR2B/CaMK II/MAPK/NF- κ B通路及PSD-95表达有关。

[关键词] 慢性荨麻疹; 瘙痒-焦虑循环; 当归饮子加减方; 杏仁核; 谷氨酸

[中图分类号] R242;R758.3+1;R758.24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)13-0123-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252194

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250711.1352.003>

[网络出版日期] 2025-07-11 15:06:03



Exploring Mechanism of Modified Danggui Yinzi in Regulating "Itch-anxiety" Cycle of Chronic Urticaria Based on STEP/NR2B Signaling Pathway

LI Mingyue¹, XIAO Xinyu², CHEN Anjing³, LIU E², WANG Xurui^{4*}, ZHOU Qin^{4*}

(1. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610072, China;

[收稿日期] 2025-04-15

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82505598);成都市医学科研课题(2024287);四川省科技计划项目(2024NSFSC1852);四川省人民医院院基金项目(2023QN12)

[第一作者] 李明玥,从事中医基础研究,E-mail:617106382@qq.com

[通信作者] *王栩芮,博士,主治医师,从事中西医结合临床及基础研究,E-mail:623216874@qq.com;

*周沁,硕士,主管技师,从事中医基础研究,E-mail:1303273159@qq.com

2. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 3. Chengdu First People's Hospital, Chengdu 610499, China; 4. Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects and mechanism of the modified Danggui Yinzi on "itch-anxiety" model rats of chronic urticaria (CU). **Methods:** The 36 SPF-grade 6-8-week-old female SD rats were randomly divided into a blank control group, a model group, a positive control group, a low-dose modified Danggui Yinzi group, a medium-dose modified Danggui Yinzi group, and a high-dose modified Danggui Yinzi group. A "itch-anxiety" model was established by intraperitoneal injection of a suspension of sodium chloride and aluminum hydroxide and ovalbumin, combined with chronic unpredictable emotional stress stimulation. After successful modeling, rats in each group were administered drugs by gavage. The positive control group was given intragastric administration of the drug solutions of cetirizine and fluoxetine ($2.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ fluoxetine, $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ cetirizine), the low-, medium-, and high-dose modified Danggui Yinzi groups were administered traditional Chinese medicine at 1.44, 2.88, $5.76 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively, while the blank control group and model group were given an equal volume of normal saline. All interventions lasted for 15 days. Behavioral changes were evaluated by the elevated plus-maze test (detecting the percentage of entries into the open arms (OE%), the percentage of time spent in the open arms (OT%), and the total number of entries into the open and closed arms (TNE)), the open-field test (detecting total activity, average movement speed, and latency to enter the central area), and scratching behavior observation. Pathological changes of skin tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining and toluidine blue staining, while those of amygdala tissues were observed by HE staining, Nissl staining, and immunofluorescence detection of ionized calcium-binding adapter molecule-1 (Iba-1). The content of immunoglobulin E (IgE), interleukin-33 (IL-33), histamine in serum and glutamate in the amygdala was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blot was used to detect the protein expression of striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP), *N*-methyl-*D*-aspartate receptor subunit 2B (NR2B), calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II), phosphorylated CaMK II (p-CaMK II), mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphorylated MAPK (p-MAPK), nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), phosphorylated NF- κ B (p-NF- κ B), and postsynaptic density protein-95 (PSD-95) in the amygdala. **Results:** Compared with the blank control group, the model group rats showed obvious anxiety-like behaviors (decreased OE%, OT%, and TNE, reduced total activity, slower average movement speed, and prolonged latency to enter the central area), increased scratching times, obvious skin inflammation and mast cell degranulation, severe amygdala tissue damage, increased glutamate content in the amygdala, and elevated levels of IgE and IL-33 in serum. The expression of STEP, NF- κ B, p-NF- κ B, NR2B, MAPK, p-MAPK, CaMK II, and p-CaMK II proteins in the amygdala increased, while the expression of PSD-95 protein decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the modified Danggui Yinzi group of each dose had increased OE%, OT%, TNE, total activity, and average movement speed, shortened latency to enter the central area, reduced scratching times, alleviated skin inflammation and mast cell degranulation, relieved amygdala tissue damage, decreased glutamate content in the amygdala, and reduced levels of IgE and IL-33 in serum. Moreover, compared with the model group, the low-, medium-, and high-dose modified Danggui Yinzi groups showed decreased expression levels of STEP, NF- κ B, p-NF- κ B, NR2B, MAPK, p-MAPK, CaMK II, and p-CaMK II proteins in the amygdala, and increased expression of PSD-95 protein. There was a significant dose-effect relationship, with the high-dose group showing the most significant regulatory effect ($P < 0.05$). **Conclusion:** The modified Danggui Yinzi has a therapeutic effect on "itch-anxiety" model rats of CU. Its mechanism may be related to regulating glutamate metabolism in the amygdala, modulating the STEP/NR2B/CaMK II /MAPK/NF- κ B pathway, and regulating the expression of PSD-95.

[Keywords] chronic urticaria; itch-anxiety cycle; modified Danggui Yinzi; amygdala; glutamate

慢性荨麻疹(CU)发病率为0.5%~1%^[1],平均病程3~5年^[2],其反复发作的原因与“瘙痒-焦虑”恶性循环形成有关,即皮肤反复出现风团和剧烈瘙痒可引发患者焦虑、抑郁等精神障碍,而焦虑又进一步加重瘙痒症状,严重影响患者生活质量^[3-4]。CU发病涉及免疫、神经、炎症等多系统,肥大细胞和嗜碱性粒细胞激活后释放组胺、白三烯等炎症介质,引发皮肤风团和瘙痒^[5-6]。而神经肽如P物质、降钙素基因相关肽(CGRP)等参与瘙痒传导,在“瘙痒-焦虑”循环中发挥作用^[7-8]。目前,抗组胺药物和生物制剂是治疗CU的常用手段^[9],但长期使用易出现耐药性、不良反应、治疗费用高昂,且对“瘙痒-焦虑”循

环的改善效果有限。因此,探寻其他有效治疗方案,对提高患者生活质量具有重要临床意义。荨麻疹在中医学中属于“瘾疹”的范畴,慢性期以血虚风燥证多见,而当归饮子以“益气养血,祛风止痒”见长,故在临床应用中缓解CU症状具有显著疗效。但在长期的临床观察中发现患者瘙痒症状常伴随焦虑等情绪障碍复发。本研究在不改变当归饮子原方整体结构的基础上,加大当归饮子重白芍、防风剂量达到原方剂量2~3倍(达到白芍30g,防风20g),形成当归饮子加减方,旨在通过增强原方“柔肝散郁安神”的功效,调节“肝脑失维”,抑制CU中枢高敏状态,打破“瘙痒-焦虑”循环^[10-11]。本研究构

建“瘙痒-焦虑”大鼠模型,通过检测杏仁核纹状体富集蛋白酪氨酸磷酸酶(STEP)、*N*-甲基-*D*-天冬氨酸2B亚基(NR2B)、钙调蛋白依赖性蛋白激酶Ⅱ(CaMKⅡ)、磷酸化(p)-CaMKⅡ、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、p-MAPK、核转录因子- κ B(NF- κ B)、p-NF- κ B和突触后致密蛋白-95(PSD-95)蛋白的表达,血清及杏仁核中谷氨酸含量,验证当归饮子加减方通过谷氨酸、STEP对*N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体NMDAR/CaMKⅡ/STEP/NF- κ B通路磷酸化信号的调控作用,期望为其治疗CU的临床应用提供理论依据与实验支持。

1 材料

1.1 动物 本研究选用36只SPF级6~8周龄雌性SD大鼠,购自成都达硕实验动物有限公司,合格证号SCXK(川)2020-030。饲养于成都里来斯诺生物科技有限公司动物房,实验动物使用许可证号SYXK(川)2021-246,房内温度维持在(24±1)℃,相对湿度控制在(50±5)%,遵循12 h光照与12 h黑暗交替的照明制度,大鼠可自由进食与饮水。本实验已获得四川省人民医院伦理委员批准,批准批号为伦审(研)2024年第532号。

1.2 药物和试剂 卵蛋白(美国Sigma公司,货号A5503);氢氧化铝(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,货号A110527)。当归饮子加减方免煎颗粒由华润三九医药股份有限公司提供,中药处方包括当归20 g(批号2404003C),白芍30 g(批号2405012C),防风20 g(批号2401015C),川芎15 g(批号2401015C),生地黄15 g(批号2404012C),荆芥12 g(批号2405011C),黄芪20 g(批号2409051C),鸡血藤15 g(批号2405005S),刺蒺藜9 g(批号240401C),制何首乌10 g(批号2409056C),炙甘草6 g(批号2401002C)。免疫球蛋白(Ig)E、组胺试剂盒(湖北Elabscience公司,货号分别为E-EL-R0517、E-BC-K893-M);白细胞介素-33(IL-33)、谷氨酸试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,货号分别为JL20891-96T、JL-T0861-96T);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、甲苯胺蓝(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为G1005、G1033);离子钙结合接头蛋白-1(Iba-1)抗体、 β -肌动蛋白(β -actin)内参抗体(1:5 000稀释)、辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔IgG二抗(1:10 000稀释)(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为10904-1-AP、66009-1-Ig、SA00001-2);STEP抗体(1:1 000稀释)、CaMKⅡ抗体(1:2 000稀释)、p-CaMKⅡ抗体(1:

2 000稀释)、p38 MAPK抗体(1:1 000稀释)、p-p38 MAPK抗体(1:1 000稀释)、NF- κ B抗体(1:1 000稀释)、p-NF- κ B抗体(1:1 000稀释)、PSD-95抗体(1:1 000稀释)、HRP标记山羊抗小鼠IgG二抗(1:10 000稀释)(武汉ABclonal公司,货号分别为A16585、A0198、AP1386、A5049、AP1508、A19605、AP1355、A0131、AS003);NR2B抗体(1:1 000稀释)(英国Abcam公司,货号ab183942);Alexa Fluor 488标记山羊抗兔IgG(美国Invitrogen公司,货号A11034)。

1.3 仪器 LDZM-40L型立式高压蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂);CS101-3ABN型电热鼓风干燥箱(重庆康诚永生试验设备有限公司);Research Plus系列移液器(德国Eppendorf公司);1658001型电泳仪、1703930型转膜仪(美国Bio-Rad公司);Multiskan MK3型酶标仪(美国赛默飞公司);NIKON ECLIPSE CI型荧光显微镜(日本尼康公司);RM2235型切片机、HI 1210型展片机、HI 1220型烤片机(德国Leica公司);EthoVision XT 15型行为分析系统(荷兰Noldus公司);ANY-maze视频分析系统(美国Stoelting公司)。

2 方法

2.1 药物制备 用蒸馏水将当归饮子加减方免煎颗粒配制成质量浓度分别为1.44、2.88、5.76 g·mL⁻¹的溶液,各溶液配制量依据大鼠数量及给药体积确定,确保满足21 d连续给药需求,且现用现配。盐酸左西替利嗪(5mg/片,浙江永宁药业,批号2206106)、氟西汀胶囊(20mg/粒,苏州俞氏药业,批号H20093454),西替利嗪、氟西汀采用0.9%氯化钠溶液充分溶解,分别配制成西替利嗪0.2 g·L⁻¹、氟西汀1.0 g·L⁻¹的给药溶液,溶液配制量以足量覆盖整个实验周期给药需求为准。

2.2 分组、给药 将36只大鼠随机分为空白组、模型组、阳性药组、当归饮子加减方低、中、高剂量组(中药低、中、高剂量组),每组6只。除空白组外,其余大鼠均建立“瘙痒-焦虑”模型。采用氯化钠与氢氧化铝混悬液、卵白蛋白腹腔注射制作被动皮肤致敏模型:将氢氧化铝1.2 mg与生理盐水100 μ L混合配制氢氧化铝悬液,于氢氧化铝悬液100 μ L添加卵白蛋白10 μ g制成混悬液,在第1、3、5、15、19天给予大鼠腹腔内注射该混悬液进行致敏。采用慢性不可预知情绪应激刺激的方法构建焦虑模型,寒冷刺激:将大鼠置于4℃低温箱45 min后放回原环境;强迫游泳:在直径30 cm、高50 cm且水深30 cm、水温(25±1)℃的玻璃缸中让大鼠游泳20 min,结束后

擦干放回;夹尾刺激:用软质塑料夹夹大鼠尾巴距尾尖2 cm处30 min后检查并放回;食物和水剥夺:晚上19:00移除食物和水,次日早7:00恢复;每天随机选1种刺激,同种不连续,持续28 d。瘙痒模型建立成功标准:CU模型成功标准为大鼠耳部及背部皮肤出现规则皮丘且有搔抓行为;血清学检测显示血清IgE、组胺、IL-33水平显著高于空白组;背部皮肤HE染色呈现表皮增厚、真皮水肿及炎性细胞浸润,甲苯胺蓝染色显示肥大细胞数量增多、活化明显且有脱颗粒现象。焦虑模型成功标准为在高架十字迷宫实验中,大鼠进入开放臂次数和停留时间减少,进入开放臂次数比例(OE%)、开放臂停留时间比例(OT%)、进入开放臂和封闭臂的总次数(TNE)低于空白组;旷场实验里,大鼠总活动量减少、平均速度下降、进入中央区潜伏期时间增加。只有同时符合CU和焦虑模型的各项标准,才能判定“瘙痒-焦虑”模型建立成功^[12-13]。各组大鼠在第2周的第1天(造模即第8天)开始给药。参照中药药理实验人与动物体表面积换算系数,大鼠与成人等效剂量换算比例为6.25:1。本研究当归饮子加减方成人临床日用生药量为172 g,按60 kg成人折算临床给药剂量约为 $2.87 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,换算得大鼠临床等效剂量为 $17.92 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。中药低、中、高剂量组分别按1.44、2.88、5.76 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药,分别相当于成人临床等效剂量的0.08、0.16、0.32倍,以此剂量给予大鼠灌胃。阳性药组给予西替利嗪和氟西汀的0.9%氯化钠溶液灌胃(氟西汀 $2.08 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、西替利嗪 $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。空白组和模型组则给予等体积的生理盐水。各组动物均每日灌胃1次,连续给药21 d。

2.3 观察指标

2.3.1 一般情况 采用标准化的观察量表,详细记录大鼠的精神状态、每日饮食量和饮水量、皮毛状况、大小便情况等。

2.3.2 高架十字迷宫实验 实验装置由有机玻璃制成,包含2个开放臂(50 cm×10 cm×30 cm)和2个封闭臂(50 cm×10 cm×40 cm),中央区面积10 cm×10 cm。实验前将大鼠置于实验环境适应30 min,环境光照强度控制在(50±5) lux,背景噪音≤50 dB。使用EthoVision XT 15型行为分析系统记录5 min内大鼠行为参数OE%、OT%及TNE。每只大鼠测试后用75%乙醇擦拭迷宫表面,避免气味干扰。

2.3.3 旷场实验 采用50 cm×50 cm×50 cm无盖有机玻璃箱,底面划分16个10 cm×10 cm方格,中央区为距边缘15 cm的正方形区域。使用ANY-maze

视频分析系统记录300 s内总移动距离(mm)、平均速度($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$)及中央区潜伏期(s)。实验间隔用10%乙酸溶液清洁箱体,消除上只大鼠气味残留。

2.3.4 搔抓行为观察 每日09:00—11:00将大鼠置于透明观察箱(50 cm×50 cm×50 cm)适应5 min后,采用双人盲法计数30 min内搔抓次数。定义搔抓行为为后肢快速抬升并搔抓头面部、颈部或耳部的动作,连续动作间隔>2 s则计为多次。

2.3.5 皮肤组织病理 取背部皮肤组织经4%多聚甲醛固定24 h,梯度乙醇脱水(75%、85%、95%、100%,各2 h),二甲苯透明(2×15 min),石蜡包埋后切片(5 μm)。HE染色:切片经二甲苯脱蜡(2×10 min),梯度乙醇水化(100%、95%、80%、70%,各3 min),苏木素染色8 min,1%盐酸乙醇分化10 s,伊红染色2 min,梯度乙醇脱水(70%、80%、95%、100%,各2 min),中性树胶封片。光镜下(×200)观察表皮厚度、真皮层炎症细胞浸润程度。甲苯胺蓝染色:切片脱蜡水化后,1%甲苯胺蓝溶液(pH 4.0)染色15 min,0.5%乙醋酸分化5 s,梯度乙醇脱水,封片。光镜下(×200)随机选取10个视野,观察肥大细胞及脱颗粒情况。

2.3.6 脑杏仁核组织病理 取大鼠脑杏仁核组织进行石蜡包埋切片(5 μm),采用Leica RM2235型切片机进行连续切片。HE染色:操作同皮肤组织,光镜下(×200)观察神经元形态(肿胀/固缩)、核质比例及排列结构。尼氏染色:切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化后,50 °C预热的1%甲苯胺蓝溶液染色30 min,95%乙醇分化5 s,梯度脱水封片。免疫荧光染色:切片经0.01 mol·L⁻¹枸橼酸钠缓冲液(pH 6.0)微波抗原修复(95 °C, 10 min),5%山羊血清封闭1 h,加入兔抗Iba-1抗体(1:200)4 °C孵育过夜。次日磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后,加入Alexa Fluor 488标记的山羊抗兔IgG(1:800)室温孵育1 h,DAPI染核5 min。使用NIKON共聚焦显微镜采集图像,分析Iba-1阳性细胞密度。

2.3.7 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清指标 大鼠经1%戊巴比妥钠(30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔麻醉后,腹主动脉取血5 mL,4 °C,3 500 r·min⁻¹离心10 min(离心半径15 cm,下同)分离血清。采用双抗体夹心ELISA检测IgE、IL-33和谷氨酸水平,操作严格按试剂盒说明书进行。

2.3.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠杏仁核相关蛋白表达 取杏仁核组织(约100 mg)加入含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液冰上匀浆,4 °C,

12 000 r·min⁻¹离心 15 min 收集上清。采用 BCA 法测定蛋白浓度后,取蛋白 40 μg 与 5×上样缓冲液混合,100 °C 变性 5 min。10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳分离蛋白(80 V 浓缩胶,120 V 分离胶),电转至 PVDF 膜(0.45 μm)。5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h 后,依次加入一抗 4 °C 孵育过夜。次日 TBST 洗膜后,HRP 标记二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,ECL 化学发光法显影。ImageJ 软件分析条带灰度值,以 β-actin 为内参计算目标蛋白相对表达量。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism 9 对实验数据进行统计分析及绘图。行为学实验指标(高架十字迷宫实验、旷场实验的中央区停留时间、总活动量等)、血清和杏仁核相关物质浓度(血清 IgE、组胺、IL-33 水平,杏仁核和血清谷氨酸浓度)等计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较运用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差异法(LSD)-*t* 检验。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠一般情况的影响 实验期间,空白组大鼠活动频率正常,对外界刺激的反应敏捷度,精神状态正常,饮食饮水量、大小便正常,皮毛光滑,无异常脱毛及皮损。与空白组比较,“瘙痒-焦虑”模型组大鼠精神萎靡、活动量少、毛发杂乱、饮食饮水减少、粪便异常,搔抓行为增加。阳性药组、当归饮子低、中、高剂量组较模型组上述表现均有改善,其中高剂量组改善最为明显,趋近于空白组大鼠状态;中剂量组效果次之,低剂量组改善程度相对较小。

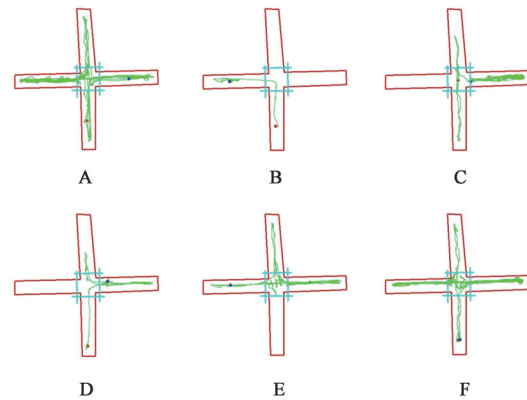
3.2 对大鼠高架十字迷宫实验的影响 在高架十字迷宫实验中,空白组大鼠活跃探索,轨迹遍布开放臂和封闭臂。而模型组大鼠表现出明显的焦虑样行为,轨迹主要集中在封闭臂,与空白组比较,模型组大鼠 TNE、OE% 和 OT% 均明显降低(*P*<0.05)。与模型组比较,各给药组 TNE、OE% 和 OT% 均明显升高(*P*<0.05),显示出焦虑样行为的缓解。与阳性药物组比较,中药高剂量组 TNE、OE% 和 OT% 均明显升高(*P*<0.05)。见表 1、图 1。

3.3 对大鼠旷场实验的影响 在旷场实验中,空白组大鼠在旷场中活动活跃,足迹遍布中央区域,表现出积极的探索行为。与空白组比较,CU“瘙痒-焦虑”循环模型组大鼠的活动受到明显抑制,轨迹主要集中在周边区域,移动距离明显减少,潜伏期明显增加,平均速度明显减少(*P*<0.05)。与模型组比较各给药组移动距离和平均速度明显增加

表 1 当归饮子加减方对各组大鼠 TNE、OT%、OE% 的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 1 Effect of modified Danggui Yinzi on TNE, OT% and OE% in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	TNE/次	OT%/%	OE%/%
空白组		16.33±4.59	17.17±7.43	19.25±9.47
模型组		0.67±0.81 ¹⁾	3.19±2.38 ¹⁾	3.10±1.48 ¹⁾
阳性药组	2+2.08	7.00±2.53 ²⁾	12.58±3.60 ²⁾	14.87±5.54 ²⁾
中药低剂量组	1 440	2.17±1.94 ²⁾	4.35±1.80 ²⁾	4.09±0.93 ²⁾
中药中剂量组	2 880	7.33±3.01 ²⁾	12.12±6.69	12.15±2.56 ²⁾
中药高剂量组	5 760	13.83±6.43 ^{2),3)}	26.77±10.50 ^{2),3)}	20.84±5.56 ^{2),3)}

注:与空白组比较¹⁾*P*<0.05;与模型组比较²⁾*P*<0.05;与阳性药组比较³⁾*P*<0.05(表 2-表 5 同)



注:A.空白组;B.模型组;C.阳性药组;D-F.中药低、中、高剂量组(图 2-图 8 同)

图 1 当归饮子加减方对各组大鼠高架十字迷宫移动轨迹的影响
Fig. 1 Effect of modified Danggui Yinzi on movement trajectory of rats in elevated plus maze test

(*P*<0.05),阳性药组、中药中、高剂量组潜伏期明显减少(*P*<0.05)。与阳性药物组比较,中药高剂量组移动距离和平均速度明显增加(*P*<0.05)。见表 2、图 2。

3.4 对大鼠搔抓实验的影响 在对大鼠搔抓行为的观察中,与空白组比较,模型组大鼠的搔抓次数明显增加(*P*<0.05),且搔抓行为主要集中在耳部和背部,搔抓频率和强度都较高,这表明该组大鼠皮肤瘙痒症状严重。与模型组比较,各给药组的搔抓次数明显减少(*P*<0.05)。与阳性药物组比较,中药高剂量组的搔抓次数明显减少(*P*<0.05)。见表 3。

3.5 对大鼠皮肤组织病理的影响 HE 染色显示,空白组皮肤组织的表皮、真皮结构清晰完整,细胞排列紧密且有序。表皮细胞层次分明,细胞核形态规则、染色均匀;真皮层纤维组织排列整齐,胶原纤维呈淡红色,纹理清晰,其间的血管、毛囊等结构正常。与空白组比较,模型组大鼠皮肤表皮增厚,

表2 当归饮子加减方对各组大鼠移动距离、潜伏期、平均速度的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of modified Danggui Yinzi on moving distance, latency period and average speed in rats of each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	移动距离/mm	潜伏期/s	平均速度/mm·s ⁻¹
空白组		27 456±4 725	65.40±33.66	73.88±16.40
模型组		2 988±2 768 ¹⁾	241.60±64.55 ¹⁾	9.48±9.72 ¹⁾
阳性药组	2+2.08	22 060±2 757 ²⁾	131.30±38.70 ²⁾	51.71±5.74 ²⁾
中药低剂量组	1 440	20 662±3 253 ²⁾	220.50±75.90	20.96±9.99 ²⁾
中药中剂量组	2 880	13 927±1 950 ²⁾	129.10±29.38 ²⁾	47.06±6.23 ²⁾
中药高剂量组	5 760	26 249±2 962 ^{2,3)}	86.13±31.81 ²⁾	71.57±10.02 ^{2,3)}

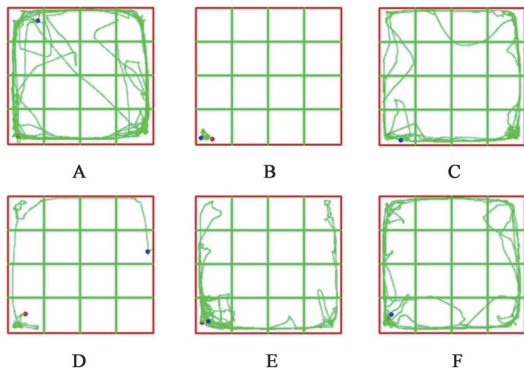


图2 当归饮子加减方对各组大鼠旷场实验运动轨迹的影响
Fig. 2 Effect of modified Danggui Yinzi on motor trajectory of rats in open field test

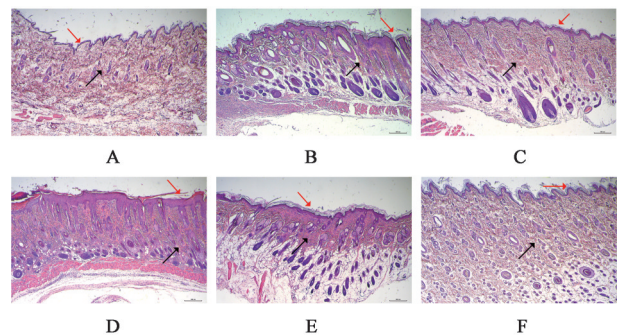
表3 当归饮子加减方对各组大鼠搔抓行为的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of modified Danggui Yinzi on scratching behaviors of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	搔抓次数/次
空白组		1.67±0.82
模型组		10.33±1.03 ¹⁾
阳性药组	2+2.08	6.50±1.05 ²⁾
中药低剂量组	1 440	7.50±1.05 ²⁾
中药中剂量组	2 880	6.83±0.75 ²⁾
中药高剂量组	5 760	3.83±0.75 ^{2,3)}

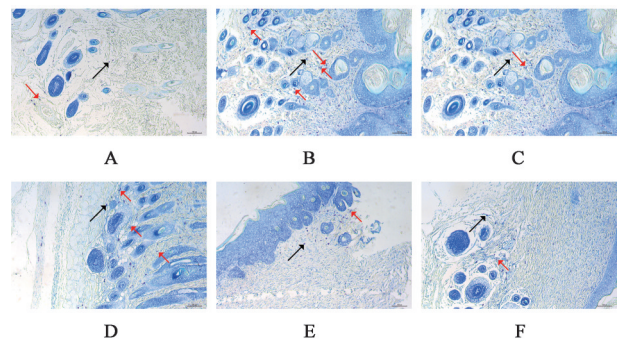
细胞排列紊乱,部分细胞水肿,细胞核形态异常,染色加深;真皮层可见大量炎症细胞浸润,血管扩张充血,部分胶原纤维肿胀、断裂,染色不均匀。与模型组比较,中药低、中剂量组,表皮细胞排列稍显规则,炎症细胞浸润略有减少,真皮层血管扩张减轻,胶原纤维排列更整齐,染色更均匀;高剂量组皮肤组织基本恢复正常,表皮和真皮结构清晰,细胞排列紧密有序,炎症细胞浸润少,大多胶原纤维形态和染色正常。见图3。甲苯胺蓝染色结果,空白组大鼠皮肤组织中肥大细胞数量较少,分布均匀,呈紫红色,细胞核呈浅蓝色,形态规则,未见明显脱颗粒现象;背景呈淡蓝色,染色清晰。与空白组比较,

模型组大鼠皮肤组织中肥大细胞数量明显增多,且多呈活化状态,可见大量肥大细胞脱颗粒,细胞形态不规则,紫红色加深;背景染色较深且不均匀,提示组织炎症反应强烈。与模型组比较,当归饮子低、中低剂量组肥大细胞数量减少,活化程度降低,脱颗粒现象明显缓解,背景染色变浅。中药高剂量组大鼠肥大细胞数量减少明显,脱颗粒减少,细胞形态恢复,背景染色清晰。见图4。



注:红色箭头示表皮层,黑色箭头示真皮层
图3 当归饮子加减方对各组大鼠皮肤组织病理改变的影响 (HE, ×200)

Fig. 3 Effect of modified Danggui Yinzi on pathological changes of skin tissues in rats of each group (HE, ×200)



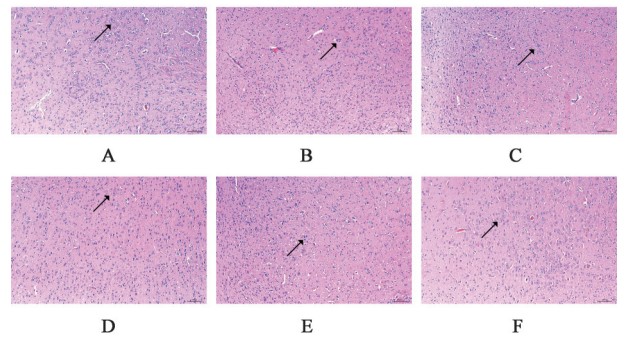
注:黑色箭头示未脱颗粒的肥大细胞,红色箭头示脱颗粒的肥大细胞

图4 当归饮子加减方对各组大鼠皮肤组织病理改变的影响 (甲苯胺蓝, ×200)

Fig. 4 Effect of modified Danggui Yinzi on pathological changes of skin tissues in rats of each group (Toluidine blue, ×200)

3.6 对 各 组 大 鼠 杏 仁 核 组 织 病 理 的 影 响 杏 仁 核 是 位 于 大 脑 颞 叶 内 侧 的 一 组 核 团, 属 于 边 缘 系 统 的 核 心 结 构, 主 要 负 责 处 理 情 绪 相 关 的 信 息, 尤 其 是 对 恐 惧、焦 虑 等 负 面 情 绪 的 识 别、生 成 和 记 忆 存 储。HE 染 色 下, 空 白 组 大 鼠 大 脑 杏 仁 核 细 胞 形 态 规 则, 细 胞 核 大 小 均 一、染 色 质 分 布 均 匀 呈 蓝 色, 细 胞 质 淡 红 色, 细 胞 排 列 紧 密 有 序。模 型 组 细 胞 肿 胀, 细 胞 核 固 缩、染 色 加 深 且 形 态 不 规 则, 细 胞 质 染 色 不 均, 细 胞 排 列 紊 乱, 可 见 炎 症 细 胞 浸 润。当 归 饮 子 低、中 剂 量 组, 细 胞 肿 胀 和 细 胞 核 固 缩 有 所 减 轻, 细 胞 排 列 稍 显 有 序, 炎 症 细 胞 浸 润 略 有 减 少; 高 剂 量 组 细 胞 形 态 接 近 正 常, 细 胞 核 和 细 胞 质 染 色 清 晰, 细 胞 排 列 有 序, 炎 症 细 胞 浸 润 基 本 消 失。染 色 结 果 见 图 5。尼 氏 染 色 显 示, 空 白 组 大 鼠 杏 仁 核 神 经 元 内 尼 氏 小 体 均 匀 分 布、数 量 多 且 形 态 完 整, 细 胞 核 淡 蓝 色、轮 廓 清 晰。模 型 组 杏 仁 核 神 经 元 细 胞 层 次 欠 清 晰, 排 列 疏 松, 细 胞 大 小 不 均 匀、部 分 肿 胀、结 构 不 完 整, 细 胞 核 不 饱 满, 核 膜 显 示 不 清, 胞 质 内 尼 氏 小 体 减 少、分 布 异 常, 与 空 白 组 差 异 显 著。阳 性 药 组、当 归 饮 子 低、中、高 剂 量 组 大 鼠 神 经 元 数 量 和 尼 氏 小 体 数 量 均 较 模 型 组 增 加。高 剂 量 当 归 饮 子 组 的 尼 氏 小 体 数 量 增 加 最 多, 与 其 他 3 组 差 异 显 著; 中 剂 量 当 归 饮 子 组 和 阳 性 药 组 的 尼 氏 小 体 数 量 相 近, 且 均 多 于 低 剂 量 当 归 饮 子 组。见 图 6。免 疫 荧 光 检 测 杏 仁 核 Iba-1 发 现, 空 白 组 杏 仁 核 Iba-1 标 记 的 小 胶 质 细 胞 呈 分 支 状, 分 布 均 匀; DAPI 染 色 的 细 胞 核 规 则, Merge 显 示 二 者 分 布 协 调。模 型 组 大 鼠 杏 仁 核 小 胶 质 细 胞 Iba-1 荧 光 增 强, 细 胞 核 形 态 异 常, Merge 显 示 细 胞 分 布 紊 乱。低、中 剂 量 组 大 鼠 杏 仁 核 小 胶 质 细 胞 部 分 恢 复 分 支 状, Iba-1 荧 光 减 弱, 细 胞 核 异 常 缓 解, Merge 显 示 细 胞 关 系 改 善。高 剂 量 组 大 鼠 杏 仁 核 小 胶 质 细 胞 形 态 Iba-1 标 记 的 小 胶 质 细 胞 形 态 以 分 支 状 为 主, 胞 体 和 分 支 形 态 接 近 空 白 组, 但 仍 能 观 察 到 轻 微 差 异, 如 分 支 的 伸 展 程 度 稍 弱。Iba-1 荧 光 强 度 恢 复。DAPI 染 色 下 细 胞 核 形 态 正 常, 排 列 整 齐。Merge 图 像 显 示, 小 胶 质 细 胞 与 周 围 细 胞 界 限 清 晰, 分 布 较 为 协 调。见 图 7。

3.7 对 各 组 大 鼠 血 清 IL-33、IgE 及 杏 仁 核 谷 氨 酸 的 影 响 ELISA 检 测 结 果 显 示, 与 空 白 组 比 较, 模 型 组 血 清 IgE、IL-33 水 平 明 显 升 高 ($P < 0.05$)。与 模 型 组 比 较, 各 给 药 组 的 IgE、IL-33 水 平 明 显 降 低 ($P < 0.05$), 与 阳 性 药 物 组 比 较, 中 药 中、高 剂 量 组 IgE、IL-33 水 平 明 显 降 低 ($P < 0.05$)。与 空 白 组 比 较, 模 型 组 杏 仁 核 中 谷 氨 酸 含 量 明 显 升 高 ($P < 0.05$)。与



注: 黑色箭头示杏仁核细胞(图6同)

图 5 当 归 饮 子 加 减 方 对 各 组 大 鼠 杏 仁 核 组 织 病 理 改 变 的 影 响 (HE, ×200)

Fig. 5 Effect of modified Danggui Yinzi on pathological changes of amygdala tissues in rats of each group (HE, ×200)

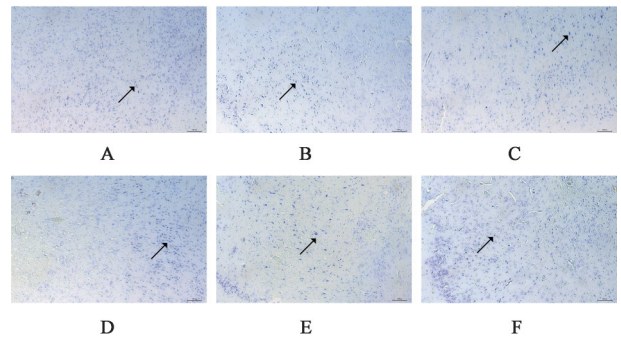
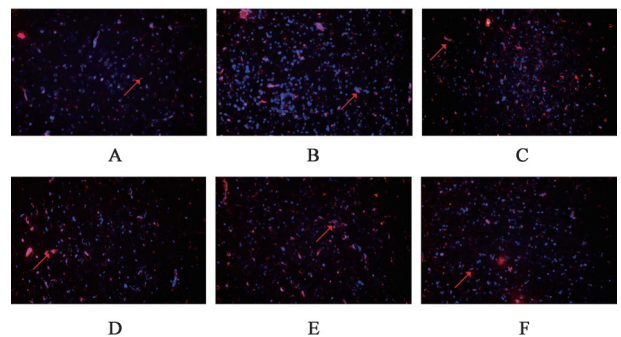


图 6 当 归 饮 子 加 减 方 对 各 组 大 鼠 杏 仁 核 组 织 病 理 改 变 的 影 响 (尼 氏, ×200)

Fig. 6 Effect of modified Danggui Yinzi on pathological changes of amygdala tissues in rats of each group (Nissl, ×200)



注: 黑色箭头示杏仁核小胶质细胞

图 7 当 归 饮 子 加 减 方 对 各 组 大 鼠 杏 仁 核 组 织 Iba-1 表 达 的 影 响 (免 疫 荧 光, ×200)

Fig. 7 Effect of modified Danggui Yinzi on expression of Iba-1 in amygdala tissues of rats in each group (IF, ×200)

模 型 组 和 阳 性 药 物 组 比 较, 中 药 低、中、高 剂 量 组 杏 仁 核 中 谷 氨 酸 含 量 均 明 显 降 低 ($P < 0.05$)。见 表 4。

3.8 对 各 组 大 鼠 杏 仁 核 组 织 STEP、NR2B、CaMK II、p-CaMK II、MAPK、p-MAPK、NF-κB、p-NF-κB、PSD-95 蛋 白 表 达 的 影 响 与 空 白 组 比 较, 模 型 组 杏 仁 核 中 STEP、NF-κB、p-NF-κB、NR2B、MAPK、p-MAPK、

表4 当归饮子加减方对各组大鼠血清IL-33、IgE和杏仁核谷氨酸的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 Effects of modified Danggui Yinzi on levels of serum IL-33, IgE and glutamate in amygdala of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	杏仁核谷氨酸 /μg·g ⁻¹	IL-33 /ng·L ⁻¹	IgE /μg·L ⁻¹
空白组		93.10±14.22	231.0±71.8	509.9±36.8
模型组		194.40±18.12 ¹⁾	687.0±303.2 ¹⁾	819.5±71.1 ¹⁾
阳性药组	2+2.08	184.00±8.22	448.2±133.2 ²⁾	660.7±71.4 ²⁾
中药低剂量组	1 440	93.63±32.89 ^{2,3)}	432.9±104.4 ²⁾	473.7±48.8 ^{2,3)}
中药中剂量组	2 880	60.04±25.58 ^{2,3)}	278.1±44.1 ^{2,3)}	371.9±73.3 ^{2,3)}
中药高剂量组	5 760	43.83±11.82 ^{2,3)}	278.2±61.5 ^{2,3)}	348.5±74.1 ^{2,3)}

CaMK II、p-CaMK II 蛋白表达明显增加 ($P<0.05$), PSD-95 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。与模型组比较, 中药低、中、高剂量组 STEP、NF-κB、p-NF-κB、NR2B、MAPK、p-MAPK、CaMK II、p-CaMK II 蛋白表达均明显降低 ($P<0.05$), PSD-95 蛋白表达上升 ($P<0.05$)。与阳性药物组比较, 中药高剂量组 STEP、NF-κB、p-NF-κB、NR2B、MAPK、p-MAPK、CaMK II、p-CaMK II 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$), PSD-95 蛋白表达上升 ($P<0.05$)。见表5、图8。

4 讨论

CU 患者常陷入“瘙痒-焦虑”循环, 严重影响生活质量和疾病预后。目前针对“瘙痒-焦虑”循环的治疗手段有限, 因此探究其发病机制并寻找有效治疗方法迫在眉睫。瘙痒刺激通过皮肤感觉神经传导至中枢神经系统, 激活杏仁核, 进而引发焦虑情绪^[14]。焦虑情绪又可通过神经内分泌系统影响皮

肤的生理状态, 促进神经肽释放, 进一步加剧皮肤的炎症反应和瘙痒感, 形成恶性循环^[15]。在免疫方面, 慢性应激状态下产生的焦虑情绪可导致机体免疫功能紊乱, 使肥大细胞和嗜碱性粒细胞更加容易被激活, 释放更多炎症介质, 加重皮肤症状^[16]。研究还发现, “瘙痒-焦虑”循环可能涉及多种神经递质和神经调质的变化, 如5-羟色胺(5-HT)、γ-氨基丁酸(GABA)等, 其在调节瘙痒感知和情绪反应中发挥着重要作用^[17]。目前对于“瘙痒-焦虑”循环中具体的神经免疫交互作用机制和各神经递质之间的精确调控关系仍不清楚, 需进一步深入研究。

中医学“肝脑相维”的理论为理解CU的发病机制提供了新的视角, 认为“肝脑失维”可导致中枢敏化, 引发慢性瘙痒和情绪障碍。人体的感觉(如瘙痒)和情绪(如焦虑)的产生都以“气血”为物质基础, 并接受“神”的调控^[11]。肝的藏血功能对于脑气血的调畅则起着重要的作用。肝主疏泄功能正常才能气机调达, 使得脑清神聪, 魂化而主司运动及内在思维。因此, 肝脑在生理上相互为用, 共同维持人体正常感觉和情绪。当肝脑失维, 便可能导致中枢敏化, 反复出现慢性瘙痒和焦躁易怒等异常感觉和情绪障碍^[18], 在CU患者中形成“瘙痒-焦虑”循环, 故治疗应以“益气养血, 祛风止痒”为基本法则。当归饮子源自宋代《重订严氏济生方》, 原方由当归、川芎、白芍等12味中药组成, 功效为“益气养血, 祛风止痒”。然而, 前期研究及临床实践发现, 原方虽能在一定程度上缓解CU症状, 但在远期随访中, 部分患者瘙痒常伴随焦虑复发。这是因为原方“柔

表5 对各组大鼠杏仁核组织STEP、NR2B、CaMK II、p-CaMK II、MAPK、p-MAPK、NF-κB、p-NF-κB、PSD-95蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=63$)

Table 5 Effect of modified Danggui Yinzi on expressions of STEP, NR2B, CaMK II, p-CaMK II, MAPK, p-MAPK, NF-κB, p-NF-κB and PSD-95 in amygdala tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=63$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	STEP/β-actin	NR2B/β-actin	CaMK II/β-actin	p-CaMK II/β-actin	MAPK/β-actin
空白组		1.000±0.043	1.000±0.019	1.004±0.045	1.000±0.070	1.000±0.028
模型组		2.915±0.041 ¹⁾	2.276±0.122 ¹⁾	1.905±0.259 ¹⁾	3.150±0.273 ¹⁾	3.003±0.056 ¹⁾
阳性药组	2+2.08	2.374±0.078	2.318±0.271	1.806±0.287	3.104±0.628	1.273±0.046
中药低剂量组	1 440	2.047±0.131 ²⁾	1.709±0.155 ²⁾	1.390±0.273 ²⁾	2.413±0.397 ²⁾	2.590±0.253 ²⁾
中药中剂量组	2 880	1.050±0.036 ²⁾	1.462±0.292 ²⁾	1.110±0.011 ²⁾	1.732±0.369 ²⁾	2.129±0.029 ²⁾
中药高剂量组	5 760	0.993±0.025 ^{2,3)}	1.245±0.261 ^{2,3)}	1.066±0.032 ^{2,3)}	1.316±0.261 ^{2,3)}	1.103±0.189 ^{2,3)}

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	p-MAPK/β-actin	NF-κB/β-actin	p-NF-κB/β-actin	PSD-95/β-actin
空白组		1.000±0.078	1.000±0.018	1.000±0.054	1.000±0.070
模型组		2.625±0.113 ¹⁾	3.376±0.171 ¹⁾	3.201±0.153 ¹⁾	0.320±0.013 ¹⁾
阳性药组	2+2.08	1.102±0.064	0.975±0.100	1.044±0.039	0.348±0.040
中药低剂量组	1 440	2.313±0.092 ²⁾	2.300±0.152 ²⁾	2.591±0.045 ²⁾	0.411±0.072 ²⁾
中药中剂量组	2 880	1.433±0.036 ²⁾	1.979±0.223 ²⁾	1.613±0.064 ²⁾	0.621±0.140 ²⁾
中药高剂量组	5 760	1.150±0.027 ^{2,3)}	1.213±0.170 ^{2,3)}	1.042±0.030 ^{2,3)}	1.091±0.219 ^{2,3)}

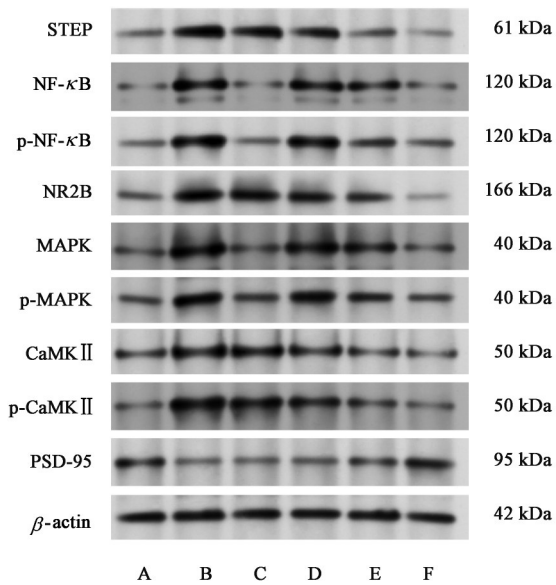


图8 各组大鼠杏仁核组织STEP、NR2B、CaMK II、p-CaMK II、MAPK、p-MAPK、NF-κB、p-NF-κB、PSD-95蛋白表达电泳
Fig. 8 Electrophoresis of protein expressions of STEP, NR2B, CaMK II, p-CaMK II, MAPK, p-MAPK, NF-κB, p-NF-κB and PSD-95 in amygdala tissues of rats in each group

肝散郁安神”之力不足,难以打破“瘙痒-焦虑”循环。本研究不增减当归饮子原方药味,以重用白芍、防风两味中药剂量的方式对原方进行改良。白芍味酸、性微寒,现代药理学研究表明其主要成分芍药苷具有镇静、抗炎、免疫调节等作用,重用白芍可显著增强柔肝阴、理肝气、缓急止痛之效,不仅能缓解皮肤炎症,还能调节神经系统功能以减轻焦虑^[19-20]。防风味辛甘、性微温,其挥发油成分具有抗过敏、抗炎^[21-22]特性,重用防风可强化祛风止痒、辛散肝郁的作用,有效减轻皮肤瘙痒,改善因瘙痒引发的焦虑情绪。二者协同,使当归饮子加减方在原方“养血祛风止痒”的基础上,极大增强“柔肝散郁安神”的功效,针对患者“肝脑失维”的病理基础,形成从治身到调神的功能闭环,更精准地针对CU“瘙痒-焦虑”循环的发病机制发挥作用,为CU的治疗提供更有效的方案。

作为调控情绪和学习记忆能力的关键脑区,近年来杏仁核在瘙痒及其情绪部分中的调控作用开始受到关注,这可能与杏仁核在长期刺激中形成突触长时程增强(LTP),产生瘙痒和焦虑记忆有关。突触前长期感觉信号(瘙痒或焦虑)诱导大量谷氨酸释放至突触间隙,谷氨酸与突触后NMDAR结合,伴随突触后神经元去极化释放大量Ca²⁺内流入突触后膜,Ca²⁺作为第二信使激活CaMK II,由此启动下游MAPK/NF-κB反应,二者能激活NMDAR相

关基因转录,促进更多NMDAR合成,以促进LTP,维持并巩固瘙痒、焦虑记忆^[23-25]。STEP广泛表达于海马、杏仁核、纹状体等脑区,既往在神经、精神相关疾病的机制研究较多,暂未查及其参与荨麻疹等瘙痒性皮肤病的相关报道。本次研究发现,当归饮子加减方可降低“瘙痒焦虑大鼠”杏仁核中STEP、NF-κB、p-NF-κB、NR2B、MAPK、p-MAPK、CaMK II、p-CaMK II蛋白表达,提高PSD-95蛋白表达。生理条件下,NMDAR与谷氨酸结合后激活,受STEP去磷酸化修饰而失活。而谷氨酸/NMDAR激活后大量内流的Ca²⁺与钙调磷酸酶结合使STEP一个调节位点上的丝氨酸残基去磷酸化而激活。STEP与NMDAR在激活与失活的过程中存在双向调节机制。NMDAR属于配体与电压双门控离子通道,NMDAR的磷酸化激活释放大量Ca²⁺内流是引起杏仁核内LTP形成,产生记忆的关键环节。NMDAR的NR2B亚基磷酸化紊乱在疼痛中枢致敏^[26]和焦虑样行为^[27]的调控中的作用已得到验证,但STEP与NMDAR的相互调节机制在瘙痒-焦虑敏化中的作用仍不明确,需进一步实验探索。CaMK II在神经元中含量丰富,其活性对于诱导NMDAR依赖性LTP至关重要,在给予CaMK II抑制剂或者敲除CaMK II后,能够阻碍LTP的产生^[28]。CaMK II的自身磷酸化参与调节LTP的生成^[29],且触发LTP后CaMK II自抑制结构促使自身磷酸化仍持续增加^[30]。CaMK II可激活下游MAPK/NF-κB信号通路^[31]。MAPK/NF-κB信号通路参与调节环境的应激适应等多种重要的细胞生理/病理过程,二者能激活NMDAR相关基因转录,促进更多NMDAR合成,以促进LTP,维持并巩固包括CU引发的瘙痒、焦虑记忆。PSD-95作为主要的突触后支架蛋白,在神经元信号传递和突触可塑性方面发挥着至关重要的作用。其可以直接绑定NMDAR的NR2B亚基,并参与NMDAR的转运、锚定和内化^[32]。本研究中,当归饮子加减方提高“瘙痒-焦虑”模型大鼠PSD-95表达,推测其通过增强PSD-95与NR2B结合、促进STEP降解等机制,稳定NMDAR,增强谷氨酸能神经传递,改善杏仁核LTP。

本次研究行为学实验结果表明,当归饮子加减方高剂量组能够改善CU“瘙痒-焦虑”循环模型大鼠的焦虑样行为和瘙痒行为,增加大鼠在高架十字迷宫开放臂的停留时间和进入次数,以及在旷场实验中央区的停留时间和活动量,表明当归饮子加减方可有效减轻“瘙痒-焦虑”模型大鼠的瘙痒、焦虑症

状。本次研究发现模型大鼠杏仁核神经元损伤、小胶质细胞活化,而当归饮子加减方对其有一定的改善作用。小胶质细胞活化可释放多种炎症因子,进一步加重神经元损伤和中枢敏化^[33]。当归饮子加减方可能通过抑制小胶质细胞活化,减轻炎症反应,保护杏仁核神经元,从而改善CU“瘙痒-焦虑”循环相关症状。在CU指标检测方面,当归饮子加减方中剂量和高剂量组可降低血清IgE、IL-33水平,减轻皮肤组织损伤和肥大细胞活化,提示其对CU症状有明显的改善作用。在杏仁核相关指标检测中,当归饮子加减方各剂量组对杏仁核组织损伤、神经元损伤、小胶质细胞活化及谷氨酸浓度均有一定的调节作用。本研究结果显示,CU“瘙痒-焦虑”循环模型大鼠杏仁核中谷氨酸表达水平异常,当归饮子加减方能够调节谷氨酸水平,提示其可能通过调控杏仁核内谷氨酸代谢发挥作用。谷氨酸作为哺乳动物神经系统中重要的兴奋性神经递质,其代谢异常与NMDAR活化过度密切相关。在CU状态下,谷氨酸与NMDAR紧密结合,导致NMDAR持续激活,引发下游CaMK II/ERK/MAPK通路磷酸化信号紊乱,建立突触LTP,产生瘙痒、焦虑记忆^[34]。当归饮子加减方可能通过调节谷氨酸代谢,抑制NMDAR过度活化,阻断异常的信号传导通路,进而抑制杏仁核中枢敏化,打破“瘙痒-焦虑”循环。

综上所述,本研究构建CU“瘙痒-焦虑”模型大鼠,证实当归饮子加减方通过调控杏仁核内谷氨酸代谢及STEP/NR2B信号通路、PSD-95蛋白表达,改善模型大鼠焦虑样行为、搔抓次数、皮肤炎症及杏仁核组织损伤,但存在模型未能完全模拟人类CU自身免疫机制及心理共病复杂性、未利用基因敲除技术验证通路分子因果关系、未结合膜片钳技术检测神经元电活动以验证LTP参与机制及复方多成分协同物质基础未明确、缺乏长期毒性实验数据等局限。未来可构建基因敲除大鼠联合过敏原激发的复合型模型,结合光遗传学和钙成像技术明确通路时序调控机制,运用代谢组学解析脑组织活性代谢产物并结合在体微透析构建“成分-靶点-神经递质”调控网络,开展多中心II期临床试验并结合fMRI观察神经调控效应,同时通过毒理实验评估复方长期用药安全性,为“肝脑相维”理论提供科学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] EUN S J, LEE J Y, KIM D Y, et al. Natural course of new-onset

urticaria: Results of a 10-year follow-up, nationwide, population-based study[J]. *Allergol Int*, 2019, 68(1):52-58.

[2] 潘娥,孙仁山. 荨麻疹的流行病学研究进展[J]. *皮肤病诊疗学杂志*, 2020, 27(4):291-294.

PAN E, SUN R S. Advances in epidemiological research of urticaria[J]. *J Diagn Ther Derm Venereol*, 2020, 27(4):291-294.

[3] YONG S S, ROBINSON S, KWAN Z, et al. Psychological well-being, quality of life and patient satisfaction among adults with chronic spontaneous urticaria in a multi-ethnic Asian population[J]. *Psychol Health Med*, 2023, 28(2):324-35.

[4] 黄雪梅,欧珊珊,邹荟,等. 慢性自发性荨麻疹患者的焦虑和抑郁水平评估[J]. *皮肤病诊疗学杂志*, 2024, 31(8):536-541.

HUANG X M, OU S S, ZOU H, et al. Assessment of anxiety and depression levels in patients with chronic spontaneous urticaria[J]. *J Diagn Ther Derm Venereol*, 2024, 31(8):536-541.

[5] HE L, YI W, HUANG X, et al. Chronic urticaria: Advances in understanding of the disease and clinical management[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2021, 61(3):424-448.

[6] 吉凯峰,蔡海斌,伍洲炜,等. 中医药调控PI3K/Akt分子通路治疗慢性荨麻疹研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(17):292-298.

JI K F, CAI H B, WU Z W, et al. Research progress of traditional Chinese medicine regulating PI3K/Akt molecular pathway in treatment of chronic urticaria[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(17):292-298.

[7] 郑亚红,杨丽萍. 钕激光结合卤米松乳膏对结节性痒疹的恢复情况及对血清P物质水平、瘙痒视觉模拟评分的影响[J]. *中国中西医结合皮肤病学杂志*, 2021, 20(3):264-267.

ZHENG Y H, YANG L P. Effect of erbium laser combined with halometasone cream on recovery of prurigo nodularis and its influence on serum substance P level and pruritus visual analogue scale[J]. *Chin J Integr Tradit West Dermatol Venereol*, 2021, 20(3):264-267.

[8] OKANO M, HIRAHARA K, KIUCHI M, et al. Interleukin-33-activated neuropeptide CGRP-producing memory Th2 cells cooperate with somatosensory neurons to induce conjunctival itch[J]. *Immunity*, 2022, 55(12):2352-2368.

[9] 赵作涛. 慢性荨麻疹诊治:现状与展望[J]. *中华皮肤科杂志*, 2021, 54(12):1105-1109.

ZHAO Z T. Diagnosis and treatment of chronic urticaria: Current status and prospects[J]. *Chin J Dermatol*, 2021, 54(12):1105-1109.

[10] 王翎芮,李明玥,刘娥,等. 当归饮子治疗慢性荨麻疹瘙痒-焦虑循环的临床疗效[J]. *时珍国医国药*, 2025, 36(3):483-488.

WANG X R, LI M Y, LIU E, et al. Clinical efficacy of Danggui Yinzi in treatment of chronic urticaria pruritus-anxiety cycle[J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2025, 36(3):483-488.

[11] 邓金钗,詹向红,侯俊林,等. 基于“肝脑相维”探析肝脏象与痴呆发病的关系[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(8):4466-4469.

DENG J C, ZHAN X H, HOU J L, et al. Analysis of relationship between liver manifestation and pathogenesis of dementia based on "liver-brain interrelation"[J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2022, 37(8):4466-4469.

[12] 宫欢欢,许伟,李秀敏,等. 基于中西医临床病证特点的荨麻疹

- 动物模型分析[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(6): 93-96.
- GONG H H, XU W, LI X M, et al. Analysis of Urticaria Animal Models Based on Clinical Characteristics of Traditional Chinese and Western Medicine[J]. Chin Pharm Clin, 2023, 39(6): 93-96.
- [13] 秦勇, 游春花, 熊正英. 慢性不可预知心理应激对大鼠自由基代谢及酶活性的影响[J]. 西安工业大学学报, 2017, 37(1): 16-21.
- QIN Y, YOU C H, XIONG Z Y. Effects of chronic unpredictable psychological stress on free radical metabolism and enzyme activity in rats[J]. Xi An Univ Technol, 2017, 37(1): 16-21.
- [14] 黄潇潇, 谢忠礼, 谢梦跃, 等. 基于 Glu/GABA 代谢平衡探讨清宫汤抗广泛性焦虑症的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(24): 28-35.
- HUANG X X, XIE Z L, XIE M Y, et al. Mechanism of Qinggong tang against generalized anxiety disorder based on Glu/GABA metabolic balance[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(24): 28-35.
- [15] NGUYEN L T H, CHOI M J, SHIN H M, et al. Coptisine alleviates imiquimod-induced psoriasis-like skin lesions and anxiety-like behavior in mice[J]. Molecules, 2022, 27(4): 1412.
- [16] YANG S, CHEN L, ZHANG H, et al. Beyond the itch: The complex interplay of immune, neurological, and psychological factors in chronic urticaria[J]. J Neuroinflammation, 2025, 22(1): 75.
- [17] GUO S S, GONG Y, ZHANG T T, et al. A thalamic nucleus reuniens-lateral septum-lateral hypothalamus circuit for comorbid anxiety-like behaviors in chronic itch[J]. Sci Adv, 2024, 10(33): eadn6272.
- [18] 黄睿婷, 张鹏横, 阮璐薇, 等. 从肝脑相维初探围绝经期肝郁证神经环路的研究策略[J]. 中国医学创新, 2021, 18(2): 168-171.
- HUANG R T, ZHANG P H, RUAN L W, et al. Preliminary exploration of research strategy on neural circuit of perimenopausal liver depression syndrome from liver-brain interrelation[J]. Chin Med Innov, 2021, 18(2): 168-171.
- [19] 代鑫, 李柔, 胡洋, 等. 基于 AMPK/mTOR 自噬通路探讨芍药苷保护溃疡性结肠炎小鼠的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 45-53.
- DAI X, LI R, HU Y, et al. Mechanism of paeoniflorin in protecting ulcerative colitis mice based on AMPK/mTOR autophagy pathway[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(3): 45-53.
- [20] 李萍, 李艺杰, 薛玲, 等. 芍药苷对 Bayk8644 诱导大鼠抑郁焦虑样行为的改善作用及机制研究[J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(6): 489-495.
- LI P, LI Y J, XUE L, et al. Improvement effect and mechanism of paeoniflorin on Bayk8644-induced depression- and anxiety-like behaviors in rats[J]. Lab Anim Comp Med, 2020, 40(6): 489-495.
- [21] 李依林, 左泽平, 田颖颖, 等. 体外抗过敏作用研究方法优化及中药药对抗过敏活性筛选[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(5): 1261-1268.
- LI Y L, ZUO Z P, TIAN Y Y, et al. Optimization of in vitro anti-allergic activity research methods and screening of anti-allergic activity of traditional Chinese medicine drug pairs[J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med, 2024, 26(5): 1261-1268.
- [22] 刘淇, 纪雅菲, 周洪莉, 等. 基于网络药理学探索荆芥-防风药对抗过敏作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(5): 136-143.
- LIU Q, JI Y F, ZHOU H L, et al. Study on anti-allergic effect of *Schizonepeta-Saposhnikovia* drug pair based on network pharmacology[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(5): 136-143.
- [23] JONES S K, MCCARTHY D M, VIED C, et al. Transgenerational transmission of aspartame-induced anxiety and changes in glutamate-GABA signaling and gene expression in the amygdala[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(49): e2213120119.
- [24] LINSAMBARTH S, CARVAJAL F J, MORAGA-AMARO R, et al. Astroglial gliotransmitters released via Cx43 hemichannels regulate NMDAR-dependent transmission and short-term fear memory in the basolateral amygdala[J]. FASEB J, 2022, 36(2): e22134.
- [25] CHEN S F, CHENG W J, CHAO C C, et al. Baseline-dependent enhancement of working memory by memantine in male rats: Involvement of NMDA receptor subunits and CaMKII signaling[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2024, 245: 173904.
- [26] WANG X Y, ZHOU H R, WANG S, et al. NR2B-Tyr phosphorylation regulates synaptic plasticity in central sensitization in a chronic migraine rat model[J]. J Headache Pain, 2018, 19(1): 102.
- [27] MOHAMMADI S, NASERI M, FARIDI N, et al. Saffron carotenoids reversed the UCMS-induced depression and anxiety in rats: Behavioral and biochemical parameters, and hippocampal BDNF/ERK/CREB and NR2B signaling markers[J]. Phytomedicine, 2023, 119: 154989.
- [28] PARK J, CHÁVEZ A E, MINEUR Y S, et al. CaMKII phosphorylation of TARP γ -8 is a mediator of LTP and learning and memory[J]. Neuron, 2016, 92(1): 75-83.
- [29] TULLIS J E, LARSEN M E, RUMIAN N L, et al. LTP induction by structural rather than enzymatic functions of CaMKII[J]. Nature, 2023, 621(7977): 146-153.
- [30] BAYER K U, GIESE K P. A revised view of the role of CaMKII in learning and memory[J]. Nat Neurosci, 2025, 28(1): 24-34.
- [31] JIANG H, ASHRAF G M, LIU M, et al. Tiliain ameliorates cognitive dysfunction and neuronal damage in rats with vascular dementia via p-CaMK II/ERK/CREB and ox-CaMK II-dependent MAPK/NF- κ B pathways[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 6673967.
- [32] LI A, HUANG C J, GU K P, et al. PSD-95 in the anterior cingulate cortex contributes to neuropathic pain by interdependent activation with NR2B[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 17114.
- [33] 王英, 巩子汉, 梁文青, 等. 基于 JAK2/STAT3 信号通路探讨温阳解郁方调节小鼠海马小胶质细胞激活的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(8): 88-96.
- WANG Y, GONG Z H, LIANG W Q, et al. Mechanism of Wenyang Jieyu fang in regulating microglial activation in hippocampus of mice based on JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(8): 88-96.
- [34] LAI K, PRITIŠANAC I, LIU Z Q, et al. Glutamate acts on acid-sensing ion channels to worsen ischaemic brain injury[J]. Nature, 2024, 631(8022): 826-834.

[责任编辑 王鑫]