

开玄解毒核心方通过 TrkA 受体调节 CGRP 表达与树突状细胞活化改善银屑病样炎症的机制

刘欢¹, 江梦瑶², 李佳琦¹, 孙美琪¹, 肖雪¹, 张宁馨¹, 杨斌^{1*}, 宋坪^{1*}

(1. 中国中医科学院 西苑医院, 北京 100091; 2. 中国中医科学院 广安门医院, 北京 100053)

[摘要] 目的:探讨开玄解毒核心方(KXJD)对咪喹莫特乳膏(IMQ)诱导的银屑病样小鼠神经免疫炎症的改善作用及机制。方法:24只C57BL/6J小鼠随机分为正常组、模型组、KXJD组及酪氨酸激酶A(TrkA)抑制剂GW441756组($n=6$)。模型组、KXJD组及GW441756组小鼠背部均匀涂抹5%IMQ($62.5\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$)行银屑病炎症造模,KXJD组灌胃给药($30.42\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),GW441756组腹腔注射给药($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),正常组和模型组等体积生理盐水灌胃,连续干预5d。采用银屑病皮损面积和严重程度指数(PASI)评价皮损严重程度;苏木素-伊红(HE)染色观察皮损区表皮的厚度及病理改变;免疫组化法检测小鼠皮损区增殖细胞核抗原(Ki67)、白细胞介素(IL)-17A表达;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测皮损组织中IL-23、降钙素基因相关肽(CGRP)的含量;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测TrkA、磷酸化(p)-TrkA的表达;免疫荧光法检测皮损TrkA受体、蛋白基因产物9.5(PGP9.5)、分化簇11c(CD11c)、CGRP的表达;流式细胞术检测小鼠脾脏树突状细胞(DCs)的活化。结果:与正常组比较,模型组小鼠皮肤呈现典型银屑病样炎症,表现为红斑、浸润、鳞屑等皮损改变,组织病理学可见表皮过度角化,棘层肥厚;模型组Ki67、IL-17A、IL-23、p-TrkA的表达水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),CD11c的荧光强度升高,CGRP表达明显减少($P<0.05$);脾脏DCs活化程度显著增强,表现为CD86平均荧光强度(MFI)明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,KXJD组、GW441756组均能改善小鼠银屑病样炎症皮损,IL-17A、IL-23、p-TrkA的表达明显下调($P<0.05$, $P<0.01$);CGRP表达显著上调($P<0.01$);减少CD11c⁺树突状细胞浸润并恢复小鼠脾脏DCs的活化平衡(下调CD86 MFI、回升CD80、CD40 MFI);KXJD对Ki67的抑制作用显著优于GW441756组($P<0.01$)。结论:KXJD可通过靶向抑制TrkA受体磷酸化,调节皮损CGRP表达,改善树突状细胞异常活化,进而减轻咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样炎症,并显著抑制角质形成细胞增殖。

[关键词] 开玄解毒核心方; 银屑病; 降钙素基因相关肽(CGRP); 酪氨酸激酶A(TrkA)受体; 神经免疫炎症; 树突状细胞

[中图分类号] R277;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)19-0102-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260642

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20260409.1500.004>

[网络出版日期] 2026-04-10 15:38:25 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Mechanism of Kaixuan Jiedu Core Prescription in Ameliorating Psoriasis-like Inflammation via TrkA Receptor-mediated Regulation of CGRP Expression and Dendritic Cell Activation

LIU Huan¹, JIANG Mengyao², LI Jiaqi¹, SUN Meiqi¹, XIAO Xue¹,
ZHANG Ningxin¹, YANG Bin^{1*}, SONG Ping^{1*}

(1. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

2. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the ameliorative effects and mechanisms of Kaixuan Jiedu core prescription (KXJD) on neuroimmunological inflammation in imiquimod (IMQ)-induced psoriasis-like mice. **Methods:** A total of 24 C57BL/6J mice were randomly divided into four groups ($n=6$): Normal, model, KXJD, and tropomyosin receptor kinase A (TrkA) inhibitor GW441756 groups. The mice in the model, KXJD, and GW441756 groups were topically treated with 5% IMQ cream ($62.5\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$)

[收稿日期] 2026-01-20

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82474521);北京市高层次创新创业人才支持计划“登峰、青苗、春蕾”项目(G202514020)

[第一作者] 刘欢,在读博士,从事中西医结合防治皮肤病的机制研究,E-mail:894808775lh@sina.com

[通信作者] * 宋坪,博士,主任医师,从事中西医结合防治皮肤病研究,E-mail:songping@vip.126.com;

* 杨斌,硕士,副研究员,从事中药药理学研究,E-mail:bean5@126.com

on the back to induce psoriasis-like inflammation. The KXJD group received KXJD by gavage ($30.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), the GW441756 group received intraperitoneal injection of GW441756 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and the normal and model groups received an equal volume of normal saline by gavage, with continuous intervention for 5 days. The severity of skin lesions was evaluated using the psoriasis area and severity index (PASI). Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to measure epidermal thickness and observe pathological changes in the lesioned skin. Immunohistochemistry was employed to detect the expression of proliferating cell nuclear antigen (Ki67) and interleukin-17A (IL-17A) in the lesioned skin. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to quantify the levels of interleukin-23 (IL-23) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the lesioned tissues. Western blot was used to detect the expression of TrkA and phosphorylated TrkA (p-TrkA). Immunofluorescence assay was performed to detect the expression of TrkA receptor, protein gene product 9.5 (PGP9.5), cluster of differentiation 11c (CD11c), and CGRP in the lesions. Flow cytometry was used to detect the activation of splenic dendritic cells (DCs). **Results:** Compared with the normal group, the model group exhibited typical psoriasis-like inflammation, characterized by erythema, infiltration and scaling, with histopathological findings of epidermal hyperkeratosis and acanthosis. The model group showed significantly increased expression of Ki67, IL-17A, IL-23 and p-TrkA ($P < 0.05$, $P < 0.01$), increased fluorescence intensity of CD11c, and significantly decreased CGRP expression ($P < 0.05$). The splenic DC activation was significantly enhanced, as indicated by the increased mean fluorescence intensity (MFI) of CD86 ($P < 0.05$). Compared with the model group, both the KXJD and GW441756 groups showed amelioration of the psoriasis-like skin inflammation, with significantly down-regulated expression of IL-17A, IL-23 and p-TrkA ($P < 0.05$, $P < 0.01$), significantly up-regulated expression of CGRP ($P < 0.01$), reduced CD11c⁺ DC infiltration, and restored splenic DC activation balance (down-regulated CD86 MFI and up-regulated CD80 and CD40 MFI). Furthermore, the inhibitory effect of KXJD on Ki67 was significantly superior to that of the GW441756 group ($P < 0.01$). **Conclusion:** KXJD may alleviate IMQ-induced psoriasis-like inflammation in mice by targeting and inhibiting TrkA receptor phosphorylation, regulating CGRP expression in the lesions, and ameliorating aberrant activation of dendritic cells, while also significantly inhibiting keratinocyte proliferation.

[Keywords] Kaixuan Jiedu core prescription; psoriasis; calcitonin gene-related peptide (CGRP); tropomyosin receptor kinase A (TrkA) receptor; neuroimmunological inflammation; dendritic cells

银屑病是以皮肤红斑鳞屑样改变、表皮过度增殖为主要特征的一种慢性炎症性皮肤病,全球发病率达2%~3%^[1],病程迁延且易伴发系统性并发症,严重影响患者的生活质量及心理健康^[2]。中医理论认为银屑病核心病机为“血热毒盛、肌肤失养”,常兼夹风邪、湿邪或血瘀,治疗应以“清热凉血、解毒通络”为基本原则^[3]。中药在银屑病治疗方面具有独特优势,依据“整体调节、辨证施治”原则,相较于西医常用的免疫抑制剂、生物制剂等治疗手段,中药复方可通过多通路、多靶点调节银屑病相关的炎症反应^[4]。

“玄府”是人体气机升降、津液分布的微通道,银屑病患者皮肤玄府闭塞,伴随局部气血津液运行不畅、肌肤失养,导致神经末梢递质释放紊乱、免疫细胞活化迁移,神经-免疫-皮肤轴功能失衡,形成神经免疫炎症恶性循环;开玄解毒法以“开通玄府、清解毒热”为主,恢复玄府“通透、开散”的生理功能,改善皮肤局部病理状态,调节神经末梢递质释放和免疫细胞功能,实现对神经免疫炎症的整体调控。开玄解毒核心方(KXJD)是宋坪教授在传承名老中医经验的同时,根据银屑病“玄府闭郁、热毒蕴结”病机,在麻黄汤通络的基础上,增加赤芍、青蒿凉血,虎杖、白花蛇舌草解毒,形成“开通玄府、解毒通络”的方剂。课题组以往临床观察研究发现,KXJD

能显著降低银屑病患者的严重程度指数(PASI)评分及银屑病皮损面积,减轻红斑、鳞屑、浸润等皮损症状,还能改善患者瘙痒、灼热等神经感觉异常,且服药期间未发现明显肝肾损伤^[5];KXJD可下调皮损区域白细胞介素(IL)-17A、IL-23等炎症因子的表达,调节免疫细胞活性^[5]。然而,KXJD干预神经免疫炎症的作用及靶点仍有待进一步探索。

现代医学研究认为银屑病发病与神经-免疫-皮肤失衡密切相关,神经免疫炎症是核心环节^[6],皮肤感觉神经在炎症刺激下释放降钙素基因相关肽(CGRP)等神经递质^[7],激活树突状细胞(DCs)等免疫细胞,释放IL-17A、IL-23等炎症因子进一步加重神经免疫炎症,形成恶性循环^[8]。有研究发现在银屑病的不同病程阶段皮损区CGRP的表达存在动态变化^[9],但神经免疫的调控及中药对该过程的干预作用尚未明确。部分研究发现银屑病皮损区域感觉神经末梢形态异常^[10],皮损区酪氨酸激酶A(TrkA)受体异常表达与皮损严重程度相关^[11],TrkA受体是神经生长因子(NGF)的高亲和力受体,其异常激活导致CGRP释放紊乱^[12],并介导树突状细胞活化和IL-23/IL-17A炎症释放^[8,13],是银屑病神经免疫炎症启动和维持的重要环节;课题组前期临床观察发现KXJD可改善银屑病患者感觉异常,提示其可能对神经末梢功能存在调控作用。推测TrkA可

能是KXJD干预神经免疫炎症的潜在核心靶点,但中药复方通过TrkA调节银屑病神经免疫炎症的机制尚未阐明。

本研究探讨KXJD是否通过TrkA受体调控感觉神经CGRP的表达、干预脾脏DCs的活化改善炎症,为该方治疗银屑病的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 本实验选用24只SPF级雄性C57BL/6J成年小鼠,周龄6~8周,体质量(20 ± 2)g,实验动物由中国中医科学院西苑医院实验动物中心统一购自维通利华实验动物技术有限公司(北京),动物合格证号SCXK(京)2021-0006。实验小鼠饲养环境保持温度(22 ± 2)℃、湿度(50 ± 10)%,并于正式开始试验前进行1周适应性喂养。

1.2 伦理 本研究的动物实验方案经中国中医科学院广安门医院伦理专业委员会审查批准,动物伦理批准文号为2025XLC041-2。

1.3 药品 KXJD由麻黄(批号250960521)6g、桂枝(批号251262081)9g、赤芍(批号250960001)9g、青蒿(批号251160651)20g、虎杖(批号251060921)10g、白花蛇舌草(批号251262051)20g组成,中药饮片均购自中国中医科学院广安门医院(由北京康美制药有限公司提供),经杨辉副主任药师鉴定,饮片均符合2020年版《中华人民共和国药典》标准。饮片煎制:于5倍量无菌水中加入1剂饮片浸泡30min,沸腾后转至文火30min,滤出药液,再次加入5倍量无菌水,文火30min,滤出药液。将2次药液混合并浓缩至 $3.04\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (采用称质量密度法),冰箱4℃保存。5%咪喹莫特乳膏(IMQ)(四川明欣药业有限责任公司,规格3g,国药准字H20030129,批号25083901);TrkA抑制剂GW441756(成都正能生物技术有限公司,货号308941,规格5mg、1mg,批号130602)。参考GW441756动物相关研究,结合课题组预实验,腹腔注射剂量采用 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可有效抑制小鼠体内TrkA受体的活性,且无明显不良反应^[14]。

1.4 试剂 苏木素染液、伊红染液、蛋白定量检测试剂盒、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)-山羊抗兔二抗(武汉塞维尔生物科技有限公司,货号分别为G1004-500ML、G1002-100ML、G2026-200T、GB15003、GB23303);增殖细胞核抗原(Ki67)抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号ZM-0166);IL-17A抗体、CGRP抗体、TrkA抗体、磷酸化(p)-TrkA抗体(武汉三鹰生物技术有限公

司,货号分别为26163-1-AP、14348-1-AP、34231-1-AP、84976-1-RR);蛋白基因产物9.5(PGP9.5,普洛恩科技有限公司,货号MAB60072);分化簇11c(CD11c)抗体(英国Abcam公司,货号ab219799);CGRP酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测试剂盒(武汉云克隆科技公司,货号CEA876Mu96T);小鼠IL-23 ELISA检测试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司,货号EK223-48);Fc受体阻断剂CD16/32(碧迪医疗器械上海有限公司,货号553141-2.4G2);PE-CD40、PE-Cy5-CD80、BV421-CD86荧光抗体、细胞活性检测试剂盒(北京生物科技有限公司,货号分别为124610、104734、105032、423105)。

1.5 仪器 ATD-405型自动组织脱水机、SWE-JBL5型生物组织包埋机、PM-24型病理切片机、SVE-2垂直电泳仪、SVT-2转印电泳仪(武汉塞维尔生物科技有限公司);C1型荧光显微镜(日本Nikon公司);Aurora型光谱流式细胞仪(美国赛特克生物科技有限公司);H2050R型水平离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司);Vortex-2型漩涡混匀器(上海沪析实业有限公司);RT-6100型酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药 将24只SPF级小鼠根据体质量随机分为4组($n=6$):正常组、模型组、KXJD组及TrkA抑制剂GW441756组。实验开始前1d,使用电动剃毛刀剃除小鼠背部毛发,再用脱毛膏局部涂抹后温水擦拭,充分暴露面积约 $2\text{ cm}\times 3\text{ cm}$ 的背部皮肤。正常组小鼠背部涂抹凡士林,其余3组均匀涂抹62.5mg IMQ,每天10点涂抹1次,连续5d。造模成功的标准:小鼠背部皮肤明显隆起、增厚,出现红斑伴鳞屑改变等类似银屑病样炎症表现^[15]。中药给药剂量结合课题组前期实验结果,每日给药剂量 $30.42\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,在改善银屑病样炎症方面表现出最优干预效果^[5]。KXJD组小鼠给予中药0.2mL灌胃,正常组、模型组给予生理盐水0.2mL灌胃(以生理盐水作为溶剂对照,中药采用无菌水煎煮,与生理盐水溶剂一致,可排除溶剂影响),GW441756组按 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量腹腔注射GW441756-TrkA抑制剂0.2mL(用DMSO溶解为 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 母液,使用前用生理盐水稀释至 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),每日16点灌胃或腹腔注射1次,连续5d。第5天造模干预完成后全部小鼠禁食6h不禁水,第6天早晨称体质量后取材,按 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射0.3%苯巴比妥钠溶液麻醉后,脱颈处死,收集背部皮肤,心脏灌注后取出脾脏。

2.2 评分法评价小鼠背部皮损严重程度 观察并记录小鼠背部皮肤增厚、红斑、鳞屑3项指标的变化,采用PASI评分量化评估,评分标准:无明显症状计0分,轻度症状计1分,中度症状计2分,重度症状计3分,极重度症状计4分,3项指标评分之和为PASI总分^[16]。

2.3 苏木素-伊红(HE)染色观察小鼠皮损组织病理学变化 取小鼠背部皮损组织样本,展平后置于10%甲醛浸泡固定,石蜡包埋,切片后HE染色,封片。显微镜观察组织病理学形态特征并拍照。

2.4 免疫组化法检测皮损组织 Ki67、IL-17A 表达 取小鼠皮损组织石蜡包埋,切片,依次脱蜡、梯度水化、抗原修复及封闭处理后,分别滴加一抗Ki67(1:150)、IL-17A(1:200),4℃过夜;加入二抗,室温孵育40 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染、脱水、封片。病理切片仪扫描,利用Image J软件量化分析。

2.5 ELISA 检测皮损组织 CGRP、IL-23 含量 取小鼠背部皮损组织50~100 mg,冰上剪碎后加入组织匀浆缓冲液,用电动匀浆仪在冰上匀浆(3 000 r·min⁻¹,30 s/次,3次,间隔1 min),匀浆液于4℃、12 000×g离心15 min(离心半径8 cm),取上清液检测CGRP、IL-23含量。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测皮损组织 TrkA、p-TrkA 的表达 取小鼠背部皮损组织,剪碎后加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液置于冰上30 min后提取蛋白液,蛋白定量法(BCA)测蛋白浓度。使用聚偏二氟乙烯(PVDF)转膜,加入一抗(TrkA、p-TrkA,1:1 000;β-actin,1:5 000)4℃摇床孵育过夜,TBST洗涤,将膜与二抗(1:5 000)室温孵育1 h,TBST洗膜后加入增强化学发光法(ECL)显色。采集图像,使用Image J定量分析条带灰度。

2.7 流式细胞术检测小鼠脾脏树突状细胞的活化 取心脏灌注后的小鼠脾脏,研磨过滤后制备单细胞悬液,经溶血、离心(4℃、250×g、10 min、离心半径16.2 cm)处理后,取2×10⁶个细胞,加入Fc受体阻断剂

CD16/32 2 μL、荧光抗体(CD40、CD80、CD86等)染色、死活染料工作液1 mL标记,洗涤重悬后使用Aurora光谱流式细胞仪检测,采用SpectroFlo(Cytek, V3.2.1)软件圈选锁定CD11c⁺DCs,分析其活化标志物CD86、CD80、CD40的平均荧光强度(MFI)及阳性细胞比例。

2.8 免疫荧光法检测皮损组织 TrkA、PGP9.5、CD11c、CGRP 表达 取小鼠背部皮损组织切片,经乙二胺四乙酸(EDTA)缓冲液行抗原修复后,滴加3%牛血清白蛋白(BSA)封闭液,分别滴加荧光标记的TrkA抗体(1:200)、PGP9.5抗体(1:250)、CD11c抗体(1:100)、CGRP抗体(1:200),4℃恒温孵育过夜;次日PBS洗涤3次,室温二抗孵育,PBS洗涤后滴加4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI),避光孵育10 min,PBS洗涤2次,封片。荧光显微镜下观察,采集图像。

2.9 统计学分析 采用SPSS 25.0统计软件处理分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验;多组间差异分析在符合正态分布时采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐选择最小显著性差异法(LSD)进行组间两两比较。符合正态分布的变量采用Pearson相关性分析,轻度正偏态变量经散点图验证线性关系后采用Pearson相关,并以Spearman秩相关性稳健性验证。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

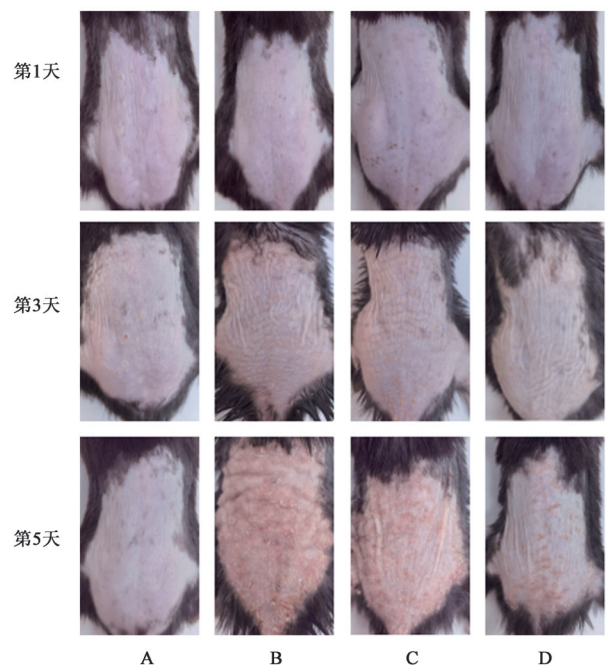
3 结果

3.1 KXJD对银屑病样小鼠皮损严重程度及组织病理学的影响 与正常组比较,模型组小鼠背部皮肤出现皮层隆起、增厚伴红斑、鳞屑样改变,PASI总分显著升高($P<0.01$);皮损组织病理学显示,模型组表皮增厚,伴表皮细胞过度角化、棘层肥厚及真皮层大量淋巴细胞浸润。与模型组比较,KXJD组和GW441756组的PASI总分均明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),表皮变薄,鳞屑减轻,淋巴细胞浸润减少;与GW441756组比较,KXJD组PASI总分更低,红斑改善效果更显著。见表1、图1、图2。

表1 开玄解毒核心方(KXJD)对银屑病样小鼠 PASI 评分(第6天)的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Effect of Kaixuan Jiedu core prescription(KXJD) on PASI score of PSO mice (Day 6) ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)						分
组别	剂量/g·kg ⁻¹	红斑评分	浸润评分	鳞屑评分	PASI 总分	
正常组		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	
模型组		3.50±0.22 ²⁾	3.67±0.21 ²⁾	3.67±0.21 ²⁾	10.83±0.40 ²⁾	
KXJD组	30.42	1.33±0.21 ⁴⁾	1.50±0.22 ⁴⁾	1.67±0.21 ⁴⁾	4.50±0.43 ⁴⁾	
GW441756组	0.01	2.67±0.21 ³⁾	1.50±0.22 ⁴⁾	1.50±0.22 ⁴⁾	5.67±0.21 ³⁾	

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2-表5同)



注：A. 正常组；B. 模型组；C. KXJD 组；D. GW441756 组（图 2-图 7 同）

图 1 KXJD 对银屑病样小鼠背部皮损的影响
Fig. 1 Effect of KXJD on skin lesions in PSO mice

3.2 KXJD 对银屑病样小鼠皮损组织 Ki67、IL-17A 表达的影响 与正常组比较,模型组 Ki67、IL-17A 相对表达面积显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, KXJD 组、GW441756 组 IL-17A 相对表达面积均显著降低 ($P<0.01$), KXJD 组 Ki67 相对表达面积显著

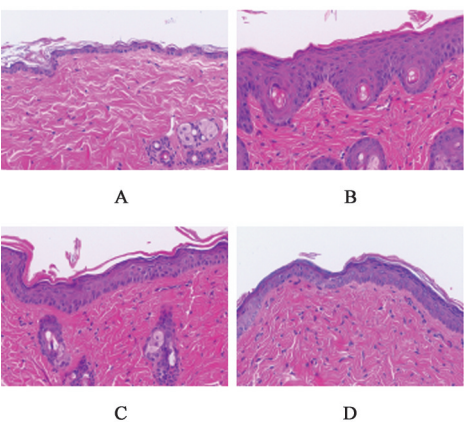


图 2 KXJD 对银屑病样小鼠皮损的病理影响 (HE, $\times 200$)
Fig. 2 Effect of KXJD on skin lesion pathology in PSO mice (HE, $\times 200$)

降低 ($P<0.01$); 其中 KXJD 组 Ki67 相对表达面积显著低于 GW441756 组。见表 2、图 3。

表 2 KXJD 对银屑病样小鼠皮损组织 Ki67、IL-17A 相对表达面积的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Ki67	IL-17A
正常组		21.50 $\pm$ 2.80	19.98 $\pm$ 5.83
模型组		46.04 $\pm$ 4.27 ²⁾	47.02 $\pm$ 8.58 ²⁾
KXJD 组	30.42	22.51 $\pm$ 2.31 ⁴⁾	26.24 $\pm$ 2.09 ⁴⁾
GW441756 组	0.01	38.95 $\pm$ 9.88	25.02 $\pm$ 4.04 ⁴⁾

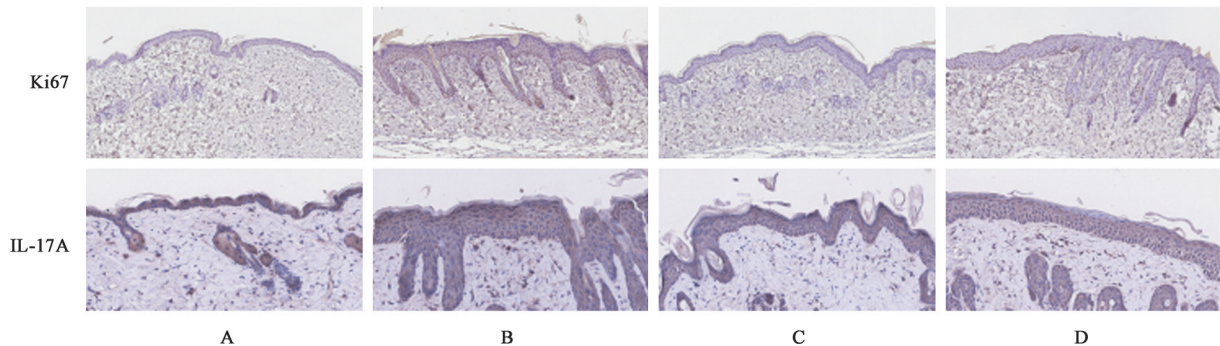


图 3 KXJD 对银屑病样小鼠皮损组织 Ki67、IL-17A 表达的影响 (免疫组化, $\times 200$)
Fig. 3 Effect of KXJD on expression of Ki67 and IL-17A in psoriatic lesions of mice (IHC, $\times 200$)

3.3 KXJD 对银屑病样小鼠皮损组织 TrkA、p-TrkA 及神经标志物表达的影响 各组皮损组织 TrkA 表达水平比较,差异无统计学意义。与正常组比较,模型组 p-TrkA 表达水平显著升高 ($P<0.01$), TrkA 受体荧光信号强度升高, PGP9.5 荧光强度降低。与模型组比较, KXJD 组、GW441756 组 p-TrkA 表达水平显著降低 ($P<0.01$), 差异具有统计学意义, PGP9.5 荧光强度均不同程度回升。

见图 4、图 5、表 3。
3.4 KXJD 对银屑病样小鼠皮损组织 CGRP、IL-23 表达及 CD11c 浸润的影响 与正常组比较,模型组小鼠 CGRP 表达明显降低 ($P<0.05$), IL-23 明显升高 ($P<0.05$), CD11c 荧光表达强度升高。与模型组比较, KXJD 组、GW441756 组 CGRP 表达显著升高 ($P<0.01$), IL-23 明显降低 ($P<0.05$), CD11c 荧光表达强度降低。见表 4、图 6。

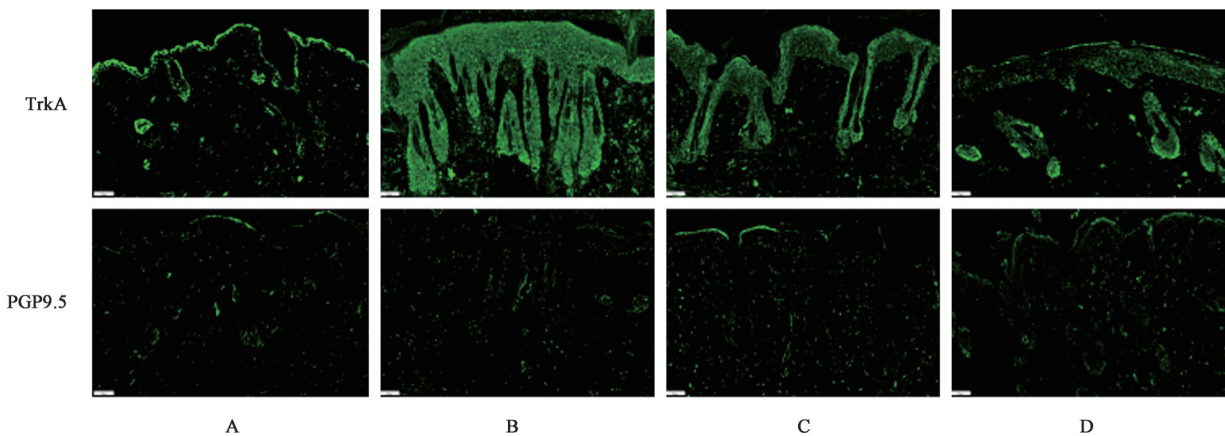


图4 KXJD对银屑病样小鼠皮损组织中TrkA、PGP9.5表达的影响(IF, ×200)

Fig. 4 Effect of KXJD on TrkA and PGP9.5 expression in skin lesions of PSO mice (IF, ×200)

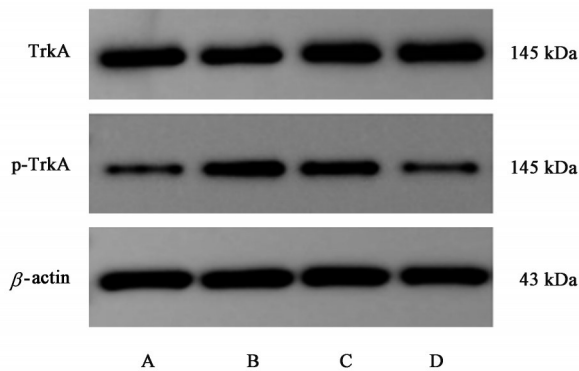


图5 小鼠皮损组织TrkA、p-TrkA蛋白表达电泳

Fig. 5 Electrophoresis of protein expression of TrkA and p-TrkA

表3 KXJD对小鼠皮损组织TrkA、p-TrkA表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of KXJD on expression of TrkA and p-TrkA in skin lesions of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TrkA /β-actin	p-TrkA /β-actin	p-TrkA /TrkA
正常组		0.94±0.08	0.16±0.01	0.18±0.02
模型组		0.95±0.07	0.89±0.04 ²⁾	0.97±0.04 ²⁾
KXJD组	30.42	0.94±0.06	0.64±0.02 ⁴⁾	0.69±0.06 ⁴⁾
GW441756组	0.01	0.89±0.08	0.16±0.02 ⁴⁾	0.18±0.02 ⁴⁾

表4 KXJD对银屑病样小鼠皮损组织炎症表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of KXJD on CGRP and IL-23 expression in skin lesions of PSO mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	CGRP	IL-23 ng·L ⁻¹
正常组		22.14±6.32	0.55±0.14
模型组		14.63±4.48 ¹⁾	1.04±0.63 ¹⁾
KXJD组	30.42	29.87±4.34 ⁴⁾	0.62±0.15 ³⁾
GW441756组	0.01	27.83±7.95 ⁴⁾	0.50±0.09 ³⁾

3.5 KXJD对银屑病样小鼠脾脏DCs活化标志物表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠脾脏DCs

的CD86阳性百分比、CD86 MFI明显升高($P<0.05$),CD80 MFI显著降低($P<0.01$),CD40阳性百分比、CD40 MFI均明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,KXJD组小鼠脾脏DCs的CD86 MFI明显降低($P<0.05$),CD80 MFI、CD40 MFI均明显升高($P<0.05$),但CD86、CD80、CD40阳性百分比差异无统计学意义;GW441756组CD86阳性百分比、CD86 MFI均显著降低($P<0.01$),CD80 MFI显著升高($P<0.01$),CD40阳性百分比、CD40 MFI均明显升高($P<0.05$)。见表5及增强出版附加材料。

3.6 小鼠皮损区p-TrkA、CGRP与Ki67表达、脾脏DCs活化的相关性分析 皮损区p-TrkA表达量与CGRP含量呈显著负相关($r=-0.678, P<0.05$);皮损区CGRP含量与脾脏DCs表面CD86 MFI呈显著负相关($r=-0.758, P<0.01$),与Ki67相对表达面积呈负相关($r=-0.608, P<0.05$);脾脏DCs表面CD86 MFI与皮损区Ki67相对表达面积无显著相关性。上述指标关联趋势在KXJD组与GW441756组一致,提示TrkA受体磷酸化与皮损区CGRP合成表达呈显著负相关,CGRP与DCs促炎活化程度、角质形成细胞病理性增殖均呈显著负相关。见表6。

4 讨论

银屑病是以表皮过度增殖、神经-免疫-皮肤失衡为核心的慢性炎症性皮肤病,感觉神经肽分泌紊乱、炎症细胞活化、角质形成细胞增殖形成恶性循环,是炎症启动和慢性维持的关键^[6]。中医理论中,银屑病归属于“松皮癣”范畴,中药治疗银屑病以“清热凉血,通络解毒”为原则,立足于“血热毒盛,脉络瘀阻”的病机,彰显了独特优势。在王永炎院士“玄府不通,气液瘀阻脑络”学说的启发下,课题组结合名老专家对银屑病的临床治疗经验,认为该

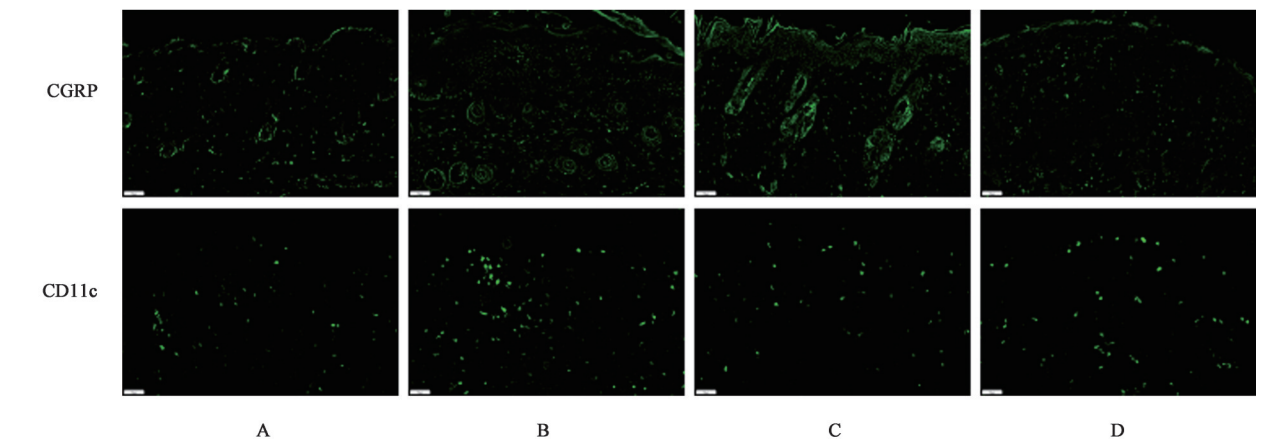


图6 KXJD对银屑病样小鼠皮损组织中CGRP、CD11c表达的影响(IF, ×200)
Fig. 6 Effect of KXJD on CGRP and CD11c expression in skin lesions of PSO mice (IF, ×200)

表5 KXJD对银屑病样小鼠脾脏DCs活化相关指标的影响(̄x±s, n=3)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	CD86/%	CD86/平均荧光强度	CD80/%	CD80/平均荧光强度	CD40/%	CD40/平均荧光强度
正常组		93.02±0.41	3 823.00±85.02	93.24±1.75	16 532.00±1 012.36	99.47±0.15	29 526.67±3 793.54
模型组		96.06±0.65 ¹⁾	5 236.00±601.10 ¹⁾	92.61±0.43	9 226.33±210.54 ²⁾	90.82±1.21 ¹⁾	21 192.33±2 050.57 ¹⁾
KXJD组	30.42	95.37±4.36	4 511.00±317.48 ³⁾	90.13±2.78	10 841.67±518.15 ³⁾	94.64±5.56	28 758.67±4 053.81 ³⁾
GW441756组	0.01	89.94±0.39 ⁴⁾	3 607.33±201.97 ⁴⁾	87.10±0.68 ³⁾	11 914.00±660.58 ⁴⁾	94.70±0.77 ³⁾	27 222.33±1 175.71 ³⁾

表6 皮损区p-TrkA、CGRP与脾脏DCs表面CD86 MFI、皮损区Ki67的相关性分析

Table 6 Correlation analysis of p-TrkA, CGRP in skin lesions with CD86 MFI on splenic DCs and Ki67 in skin lesions

变量	p-TrkA	CGRP	CD86 MFI	Ki67
p-TrkA	1.000	-0.678 ¹⁾	0.908 ²⁾	0.362
CGRP	-0.678 ¹⁾	1.000	-0.758 ²⁾	-0.608 ¹⁾
CD86 MFI	0.908 ²⁾	-0.758 ²⁾	1.000	0.350
Ki67	0.362	-0.608 ¹⁾	0.350	1.000

注: n=12(样本匹配后有效样本量), Pearson相关性分析;
¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

病是由于玄府闭塞风邪,阳气郁结,热而成毒,灼伤气血津液,阻滞脉道经脉所致,阻碍神经末梢信号传导和免疫细胞活化迁移,诱发神经免疫炎症^[3,5];宋坪教授认为“玄府闭塞,热毒蕴结”是银屑病的核心病机,创造性地运用KXJD,使用“通玄府,通络排毒”的方法治疗银屑病。方中麻黄、桂枝辛温通络,可疏通皮肤腠理(玄府)之瘀阻,改善皮损区域气血运行;赤芍、青蒿清热凉血,针对“血热毒盛”病机,减少热毒对肌肤的损伤;虎杖、白花蛇舌草解毒散结,抑制炎症因子过度释放^[17-19];现代药理学研究证实,赤芍中的活性成分芍药苷可抑制信号转导及转录激活因子3(STAT3)信号通路,缓解角质形成细胞的异常增殖^[20],为KXJD治疗银屑病提供了现代科

学支撑。前期临床研究已证实,KXJD可显著改善银屑病患者PASI评分、红斑鳞屑症状,调节免疫失衡和炎症反应^[21],但该方对神经免疫炎症的调节作用及分子机制尚未明确。

本研究以IMQ乳膏诱导的银屑病样小鼠为模型,造模后在小鼠背部出现典型银屑病样皮损和病理特征,提示造模成功^[15]。模型组小鼠皮损区CGRP含量显著降低,这与部分研究中银屑病炎症加重期CGRP低表达的现象相符^[22-23],目前CGRP在银屑病中的作用存在争议,部分研究发现CGRP可激活DCs表面受体促进IL-23分泌并介导辅助性T细胞17(Th17)细胞分化,放大炎症反应^[8],也有研究证实CGRP可抑制角质形成细胞病理性增殖、下调IL-6等促炎因子的表达^[24-25]。存在争议的原因在于CGRP的作用呈病程依赖性:炎症早期少量释放启动促炎信号,中重度阶段因神经末梢功能耗竭,CGRP合成分泌显著减少,恢复其表达可发挥抗炎作用。本研究KXJD干预后皮损区CGRP含量显著回升,同时IL-17A、IL-23等促炎因子表达下调,角质形成细胞增殖显著抑制,且相关性分析证实CGRP与DCs活化标志CD86 MFI、Ki67呈显著负相关,证实在银屑病炎症加重期,恢复CGRP表达可抑制DCs促炎活化、角质形成细胞异常增殖发挥抗炎作用,此结果的生物学意义为可逆转银屑病神经免

疫炎症的恶性循环,既抑制DCs促炎活化减少IL-23/IL-17A促炎通路的激活,又抑制角质形成细胞的病理性增殖,为CGRP在银屑病不同病程中的作用提供了实验依据,同时为临床通过干预CGRP表达治疗银屑病提供了新思路。相关性分析证实,皮损区p-TrkA表达与CGRP含量呈显著负相关,CGRP含量与DCs活化标志CD86 MFI、Ki67表达呈显著负相关,为TrkA异常活化-CGRP减少-DCs促炎活化增加-角质形成细胞病理性增殖的调控通路提供了统计学关联佐证,提示该通路可能参与银屑病样炎症中神经免疫的调节。

KXJD既减少皮损区CD11c⁺DCs的局部浸润,也纠正脾脏DCs的活化失衡。DCs一方面通过抗原提呈激活Th17细胞病理性分化,另一方面分泌IL-23等细胞因子,放大炎症反应并诱导角质形成细胞的过度增殖^[26],在银屑病的启动和慢性维持阶段均发挥关键作用;DCs的免疫功能依赖其表面共刺激分子(CD86、CD80、CD40)的协同表达,其中CD86主要介导促炎信号,CD80/CD40参与免疫应答的调控,三者表达失衡会导致DCs免疫调节功能的紊乱^[26-27],破坏皮肤局部的免疫稳态,导致银屑病炎症加重。本研究结果显示,与正常组比较,模型组小鼠脾脏DCs呈现CD86 MFI显著升高,CD80 MFI与CD40 MFI显著降低,提示模型状态下DCs促炎活性增强,而免疫调节能力明显减弱。KXJD干预后,与模型组比较,CD86 MFI显著下调,同时CD80 MFI与CD40 MFI回升,使三者表达趋近正常组水平,KXJD仅改变共刺激分子的MFI,而对阳性细胞百分比无显著影响,表明其作用机制以改善DCs单个细胞的功能状态为主,不显著改变DCs细胞群体比例。此外,TrkA抑制剂组同样可显著纠正模型组小鼠脾脏DCs的活化失衡,其调节趋势与KXJD组一致,组间比较两组无显著差异,提示TrkA信号通路可能参与DCs活化的调控,KXJD可能通过靶向TrkA信号通路调节DCs功能。

TrkA受体是NGF的高亲和力受体,其磷酸化激活是感觉神经末梢功能调节的核心环节,通过NGF-TrkA途径调节CGRP的表达^[13]。本研究中发现模型组小鼠皮损区TrkA表达无显著变化,但p-TrkA表达及p-TrkA/TrkA比值显著增加,证实IMQ诱导的银屑病炎症中以TrkA异常磷酸化为主,也是TrkA抑制剂GW441756的主要作用靶点。p-TrkA与CGRP表达呈显著关联,提示TrkA异常磷酸化可能通过调节CGRP基因合成环节,参与

CGRP表达下调的过程^[28]。KXJD可抑制TrkA受体的磷酸化活化,显著降低p-TrkA表达,减少其对CGRP合成的抑制作用,恢复感觉神经末梢的分泌功能,进而显著上调皮损区CGRP的表达。KXJD组和GW441756组对p-TrkA、CGRP、IL-23及脾脏DCs活化标志物等核心通路指标的调节趋势一致,两组间上述指标均无显著差异,证实KXJD可靶向调节TrkA信号通路。KXJD对Ki67的抑制效果显著优于GW441756组,提示KXJD除调控TrkA受体外,可能通过其他机制抑制角质形成细胞增殖,体现了中药复方多成分途径的治疗优势。本研究存在局限性:未设置TrkA受体激活实验,无法直接验证TrkA是KXJD发挥作用的特异性靶点;未动态检测CGRP在炎症启动、进展、缓解期的表达变化;未深入探究TrkA调节CGRP合成的下游通路,后续将补充相关指标,在细胞及动物实验中进一步完善通路机制研究。

综上,本研究初步发现KXJD可靶向抑制TrkA受体磷酸化,恢复皮损区CGRP表达、纠正脾脏DCs活化失衡、下调IL-23、IL-17A表达及角质形成细胞增殖,缓解咪喹莫特诱发的银屑病样炎症与皮损。本研究为TrkA-CGRP-DCs轴参与银屑病神经免疫炎症调节提供了实验依据,明确TrkA是KXJD干预银屑病神经免疫炎症的潜在靶点。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] ADAMSKI Z, KANABAJ K, KUŹNIAK A. The link between psoriasis and other diseases based on epidemiological and genetic analyses[J]. Postepy Dermatol Alergol, 2023, 40(4):496-503.
- [2] 中华医学会皮肤性病学分会银屑病专业委员会. 中国银屑病诊疗指南(2023版)[J]. 中华皮肤科杂志, 2023, 56(7): 573-625.
Committee on Psoriasis, Chinese Society of Dermatology. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of psoriasis (2023 Version)[J]. Chin J Dermatol, 2023, 56(7): 573-625.
- [3] 李佳琦, 宁博彪, 张宁馨, 等. 从“佛郁”论治银屑病[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(17):39-48.
LI J Q, NING B B, ZHANG N X, et al. Treatment of psoriasis from "Fuyu" theory[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(17):39-48.
- [4] 刘柳, 孙晓颖, 莫美, 等. 中医药临床优势病种探讨-银屑病[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(5):260-268.
LIU L, SUN X Y, MO M, et al. Clinical diseases responding specially to TCM treatment: Psoriasis[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(5):260-268.

- [5] 覃叶萍,代丹,肖雪,等. 开玄解毒核心方通过调控S1P水平改善咪喹莫特诱导银屑病样小鼠皮损症状[J]. 江苏大学学报:医学版,2023,33(2):118-125.
- QIN Y P, DAI D, XIAO X, et al. Kaixuan Jiedu decoction ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin lesions in mice by regulating S1P[J]. J Jiangsu Univ: Med Edit, 2023, 33(2):118-125.
- [6] CHEN S Q, CHEN X Y, CUI Y Z, et al. Cutaneous nerve fibers participate in the progression of psoriasis by linking epidermal keratinocytes and immunocytes[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(5):267.
- [7] PEPIN R, RINGUET J, BEAUDET M J, et al. Sensory neurons increase keratinocyte proliferation through CGRP release in a tissue engineered *in vitro* model of innervation in psoriasis[J]. Acta Biomater, 2024, 182:1-13.
- [8] CROSSON T, TALBOT S. Decoding nociceptor-DC dialogues[J]. Immunity, 2023, 56(5):906-908.
- [9] ZHANG X, CAO J, ZHAO S, et al. Nociceptive sensory fibers drive interleukin-23 production in a murine model of psoriasis via calcitonin gene-related peptide [J]. Front Immunol, 2021, 12:743675.
- [10] YIN Q, SUN L, CAI X, et al. Lidocaine ameliorates psoriasis by obstructing pathogenic CGRP signaling-mediated sensory neuron-dendritic cell communication[J]. J Invest Dermatol, 2022, 142(8):2173-2183.
- [11] RAYCHAUDHURI S P, RAYCHAUDHURI S K. Role of NGF and neurogenic inflammation in the pathogenesis of psoriasis[J]. Prog Brain Res, 2004, 146:433-437.
- [12] LEE S, HWANG C, MARINI S, et al. NGF-TrkA signaling dictates neural ingrowth and aberrant osteochondral differentiation after soft tissue trauma [J]. Nat Commun, 2021, 12(1):4939.
- [13] ZHANG Z, WANG F, HUANG X, et al. Engineered sensory nerve guides self-adaptive bone healing via NGF-TrkA signaling pathway [J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(10): e2206155.
- [14] TANI T, OIKAWA M, MISAKA T, et al. Heart failure post-myocardial infarction promotes mammary tumor growth through the NGF-TRKA pathway [J]. JACC Cardio Oncol, 2023, 6(1):55-66.
- [15] JABEEN M, BOISGARD A S, DANOY A, et al. Advanced characterization of imiquimod-induced psoriasis-like mouse model[J]. Pharmaceutics, 2020, 12(9):789-798.
- [16] KO B, JANG Y, KWAK SH, et al. Discovery of 3-phenyl indazole-based novel chemokine-like receptor 1 antagonists for the treatment of psoriasis[J]. Med Chem, 2023, 66(21): 14564-14582.
- [17] LIU Y J, XU W H, FAN L M, et al. Polydatin alleviates DSS- and TNBS-induced colitis by suppressing Th17 cell differentiation via directly inhibiting STAT3 [J]. Phytother Res, 2022, 36(9):3662-3671.
- [18] ZHANG R, MA C, WEI Y, et al. Isolation, purification, structural characteristics, pharmacological activities, and combined action of *Hedyotis diffusa* polysaccharides: A review[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 183:119-131.
- [19] 郑安平,郑晓红. 经典名方桂枝芍药知母汤沿革演变与方证信息分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(17):174-184.
- ZHENG A P, ZHENG X H. Evolution and information analysis of classical prescriptions Guizhi Shaoyao Zhimutang [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(17): 174-184.
- [20] PENG S, WANG L, OUYANG J, et al. Paeoniflorin combined with neural stem cell transplantation for Parkinson's disease: Dual mechanism of cell therapy and inflammation regulation [J]. Drug Des Devel Ther, 2025, 19:7745-7761.
- [21] 宋坪,王晓旭,杨茂誉,等. 开通玄府、通络解毒法治疗斑块状银屑病 120 例疗效观察[J]. 中医杂志, 2013, 54(17): 1476-1479.
- SONG P, WANG Y X, YANG M Y, et al. Clinical observation of 120 cases of plaque psoriasis treated with Xuanfu and Tongluo Jiedu method[J]. J Tradit Chin Med, 2013, 54(17): 1476-1479.
- [22] EI-NOUR H, SANTOS A, NORDIN M, et al. Neuronal changes in psoriasis exacerbation [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2009, 23(11): 1240-1245.
- [23] SAKAI K, SANDERS K M, YOUSSEF M R, et al. Role of Neurturin in spontaneous itch and increased nonpeptidergic intraepidermal fiber density in a mouse model of psoriasis[J]. Pain, 2017, 158(11):2196-2202.
- [24] GRANSTEIN R D, WAGNER J A, STOHL L L, et al. Calcitonin gene-related peptide: Key regulator of cutaneous immunity[J]. Acta Physiol (Oxf), 2015, 213(3):586-594.
- [25] KAMATA M, TADA Y. Dendritic cells and macrophages in the pathogenesis of psoriasis[J]. Front Immunol, 2022, 13: 941071.
- [26] CARROLL S L, PASARE C, BARTON G M. Control of adaptive immunity by pattern recognition receptors [J]. Immunity, 2024, 57(4):632-648.
- [27] DASHTI M, MOHAMMADI M, DEHNAVI S, et al. Immunomodulatory interactions between mesenchymal stromal/stem cells and immune cells in psoriasis: Therapeutic potential and challenges [J]. Stem Cell Res Ther, 2025, 16(1):241.
- [28] YU H, HUANG T, LU W W, et al. Osteoarthritis pain[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(9):4642.

[责任编辑 孙丛丛]