

引用:张玉凤,席建元,王琦,谢汶芳,祁林,羊羨,陈邦第,李小鹏.基于STAT3/Survivin信号通路研究银屑平丸调控中性粒细胞外诱捕网对银屑病样小鼠的影响[J].中医药导报,2025,31(10):1-7.

实验

基于STAT3/Survivin信号通路研究银屑平丸调控中性粒细胞外诱捕网对银屑病样小鼠的影响*

张玉凤¹,席建元²,王琦¹,谢汶芳²,祁林²,羊羨²,陈邦第²,李小鹏²

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;

2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007)

[摘要] 目的:基于信号转导与转录激活因子3(STAT3)/生存素(Survivin)信号通路研究银屑平丸通过调节中性粒细胞外诱捕网(NETs)对银屑病样(Ps)小鼠的改善作用及其机制。方法:将48只小鼠随机分成6组:空白组、对照组、阿维A组、银屑平丸高剂量组、银屑平丸中剂量组及银屑平丸低剂量组,每组8只。每日在小鼠背部脱毛区域外涂咪喹莫特乳膏(IMQ)以建立银屑病样皮损,同时分别给予相应的药物灌胃干预,连续给药7 d。实验期间每天记录小鼠背部皮损变化,采用银屑病皮损面积和严重程度指数(PASI)进行量化评估;取皮损组织进行HE染色观察组织病理学改变;采用免疫荧光染色检测瓜氨酸化组蛋白H3(Cit-H3)的表达;通过蛋白质印迹法(Western blotting)检测STAT3、p-STAT3和Survivin蛋白的表达水平;运用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清中髓过氧化物酶(MPO)、中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)和NETs的含量。结果:与空白组比较,对照组小鼠背部皮肤呈现出显著的银屑病样改变,如表皮角化不全、棘层厚度减少、真皮乳头水肿伴微血管扩张充血等典型特征;而阿维A组及不同剂量银屑平丸干预组病理损伤程度均有所缓解;相较于空白组,造模后的对照组、阿维A组及不同剂量银屑平丸干预组小鼠PASI评分均显著升高($P<0.01$)。同时皮损中的Cit-H3、p-STAT3、Survivin及血清中MPO、NE、NETs水平均显著上调($P<0.01$);与对照组比较,阿维A组及银屑平丸各剂量组小鼠PASI评分均降低,且上述各指标表达水平明显下调($P<0.05$),但各组STAT3表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:银屑平丸可显著改善Ps小鼠模型的皮损症状,其治疗作用可能与抑制NETs生成有关。此外,STAT3/Survivin信号通路的激活可能参与了银屑病的发病过程。

[关键词] 银屑病;银屑平丸;中性粒细胞外诱捕网;STAT3/Survivin信号通路;小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)10-0001-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.10.001

Investigating the Impact of Yinxieping Wan (银屑平丸) on Neutrophil Extracellular Traps in Psoriasis-Like Mouse Models via the STAT3/Survivin Signaling Pathway

ZHANG Yufeng¹, XI Jianyuan², WANG Qi¹, XIE Wenfang², QI Lin², YANG Xian², CHEN Bangdi², LI Xiaopeng²

(1.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China;

2.The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410007, China)

[Abstract] Objective: To investigate the therapeutic effects and mechanisms of Yinxieping Wan on psoriasis (Ps) in mice by regulating neutrophil extracellular traps (NETs) through the STAT3/Survivin signaling pathway. Methods: Totally 48 mice were randomly allocated into six groups, including blank group, control group, acitretin group, high-dose Yinxieping Wan group, medium-dose Yinxieping Wan group, and low-dose Yinxieping Wan group, 8 mice in each group. Psoriasis-like skin lesions were induced by daily topical application of imiquimod (IMQ) cream on depilated dorsal skin for 7 consecutive days, with simultaneous intragastric administration of

*基金项目:湖南省科技创新计划项目(2021SK51411);湖南省自然科学基金部门联合基金项目(2023JJ60490);湖南省教育厅科学研究项目(23A0726,czxm-rsk-2024052);长沙市自然科学基金项目(kq2202457)

通信作者:李小鹏,男,副主任医师,研究方向为中医药防治皮肤病

corresponding treatments. Dorsal lesions were daily evaluated using the Psoriasis Area and Severity Index (PASI). Skin lesions were collected for hematoxylin-eosin (HE) staining to assess histopathological changes. Citrullinated histone H3 (Cit-H3) expression was detected by immunofluorescence staining. Western blotting measured STAT3, p-STAT3 and Survivin protein levels. Serum myeloperoxidase (MPO), neutrophil elastase (NE) and NETs concentrations were quantified via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Results: Compared with the blank group, the control group exhibited significant psoriasis-like features including parakeratosis, reduced epidermal thickness, dermal papillary edema, and dilated/congested capillaries. Pathological damage was alleviated in acitretin group, high-dose Yinxieping Wan group, medium-dose Yinxieping Wan group, and low-dose Yinxieping Wan group. PASI scores significantly increased in control group, acitretin group, high-dose Yinxieping Wan group, medium-dose Yinxieping Wan group, and low-dose Yinxieping Wan group versus blank group ($P<0.01$). Lesional Cit-H3, p-STAT3 and Survivin expression, along with serum MPO, NE, and NETs levels, were markedly elevated in model mice ($P<0.01$). Compared with the control group, acitretin group, high-dose Yinxieping Wan group, medium-dose Yinxieping Wan group, and low-dose Yinxieping Wan group showed reduced PASI scores and downregulated expression of all measured biomarkers ($P<0.05$), though STAT3 levels remained unchanged across groups ($P>0.05$). Conclusion: Yinxieping Wan can ameliorate psoriatic skin lesions in mice, potentially by inhibiting NETs formation. Activation of the STAT3/Survivin signaling pathway may contribute to psoriasis pathogenesis.

[Keywords] psoriasis; Yinxieping Wan; neutrophil extracellular traps; STAT3/Survivin signaling pathway; mice

银屑病(psoriasis)为多因素介导的免疫遗传性疾病,临床以边界清晰之红斑、鳞屑、点状出血及显著瘙痒为典型表现,部分患者可伴束状发、指甲顶针样凹陷等特征性改变^[1]。流行病学数据显示,本病患病率呈持续上升之势,且有显著地域分布差异,可累及各年龄段人群^[2-3]。其炎症反应不仅囿于皮损,还可并发代谢综合征、银屑病关节炎、心血管疾病及抑郁症等系统性病变。本病核心发病机制在于先天免疫与适应性免疫系统间促炎性细胞因子介导的相互作用失调^[4]。此过程中,固有免疫反应激活中性粒细胞,经染色质解聚释放核内容物,形成关键免疫效应结构——中性粒细胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)。该网状基质富含瓜氨酸化组蛋白H3(citrullinated histone H3, Cit-H3)、中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)及髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)等颗粒蛋白,实为中性粒细胞应对免疫性炎症的核心效应机制^[5-6]。此外,表皮角质形成细胞(keratinocytes, KC)异常增殖与凋亡调控基因表达失常密切相关,是疾病演进的重要监测指标^[7]。其中,信号转导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)及生存素(Survivin)是调控KC增殖/凋亡平衡的关键因子^[8]。研究证实,磷酸化STAT3可激活下游靶基因Survivin表达,进而驱动KC病理性增生^[9-10]。

当前临床常用疗法^[11-12]涵盖维生素D衍生物(如钙化三醇)、免疫抑制剂、维A酸类及糖皮质激素等,然长期应用可致免疫抑制、戒断反应、严重口干等副作用,且患者经济负担沉重。据此,针对STAT3-Survivin信号轴及NETs形成关键分子的干预策略,已成为研发新型靶向药物的重要方向。银屑平丸系湖南中医药大学第一附属医院遵循“血分伏热、毒瘀互结”病机理论自主研发的中药复方制剂,具清热凉血、活血化瘀功效。本课题组前期研究证实,银屑平丸可显著降低银屑病样(Ps)小鼠银屑病面积和严重程度指数(psoriasis area and severity index, PASI)评分,并下调STAT3、Survivin信号蛋白表达^[13]。基

于此,本研究旨在通过检测Ps小鼠体内相关目标因子表达水平,深入探究银屑平丸对NETs形成及STAT3/Survivin信号转导通路的干预作用,以阐明其作用机制,为临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 48只6周龄SPF级雄性BALB/c小鼠,体质量(20 ± 2)g,购自湖南省斯莱克景达实验动物有限公司。动物生产许可证号:SCXK(湘)2021-0002。质量合格证号:430727241103069715。在温度22~25℃、相对湿度为(55±5)%的环境中适应性饲养。本研究方案经湖南中医药大学动物实验伦理委员会审批,编号:HNUNCNZ-2501-10。

1.2 实验药物 银屑平丸(湖南中医药大学第一附属医院自主研制,生产批号:20191129,组方:生地黄、赤芍、山药、丹参、紫草、半枝莲、墨旱莲、女贞子、白花蛇舌草、大青叶、甘草;规格:60 g/瓶);阳性对照药:阿维A胶囊(华邦制药,批号:H20010126);造模试剂:5%咪唑莫特乳膏(四川明欣药业有限责任公司,批号:H20030129);辅料对照:白凡士林(南昌白云药业有限公司,批号:20230321)。

1.3 主要试剂 MPO酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号:E20250110-25634)和NE ELISA试剂盒(批号:E20250110-36241)均购自上海苗彩生物科技有限公司;NETs ELISA试剂盒(江苏酶免生物科技有限公司,批号:2025010574A);BCA Protein Assay Kit(批号:20240516-1)、AP(批号:20250116)、RIPA裂解液(批号:20240930-2)、磷酸化蛋白酶抑制剂(批号:2024062202)、TRIS(批号:20240105)、甘氨酸(批号:250104L033)、SDS(批号:231225C001)、Tween 20(批号:231020L111)和ECL化学发光底物(批号:CR2207037-1)均购自皮诺飞生物;蛋白酶抑制剂(Beyotime,批号:A069B250702);蛋白Marker(百赛生物,批号:250417E01-51);Goat anti-Rabbit IgG (H+L)(批号:10694858)和Goat anti-mouse IgG (H+L)(批号:10715380)均购自Servicebio公司;Cit-H3特异性一抗(批

号:3517050113)、Cit-H3二抗(批号:3517050113)、STAT3一抗(批号:00143630)、p-STAT3一抗(批号:F107224)和Survivin一抗(批号:00047594)均购自Proteintech公司。

1.4 主要仪器 全景切片扫描仪(3DHISTECH公司,型号:PANNORAMIC DESK/MIDI/250/1000);酶标仪(美谷分子仪器有限公司,型号:SpectraMAX Plus38);恒温水浴锅(上海力辰邦西仪器科技有限公司,型号:HH-6);高速组织研磨仪(Servicebio公司,型号:KZ-II);高速冷冻微量离心机(SCILOGEX公司,型号:CF1524R);SVE-2垂直电泳仪、SVT-2转印电泳仪和DS-2S100旋涡混合器均购自Servicebio公司;化学发光显影仪(杭州申花科技有限公司,型号:SH-compact523)。

1.5 动物分组及模型建立 通过随机数字表法将48只小鼠分为6组:空白组、对照组、阿维A组、银屑平丸高剂量组、银屑平丸中剂量组及银屑平丸低剂量组,每组8只。实验预处理阶段,所有小鼠麻醉后,在脊柱旁侧2 cm×3 cm矩形区域进行脱毛处理、暴露表皮。空白组每日涂1次凡士林乳膏(62.5 mg/次),其余各组每日外涂1次咪唑莫特乳膏(62.5 mg/次),连续涂药7 d建立Ps小鼠模型^[14]。

1.6 干预方法 按照人与小鼠体质量的换算比例(小鼠用药参照《中医药理学研究方法》),获得阿维A组的等效剂量为6 mg/(kg·d),银屑平丸低、中、高剂量组的剂量分别为11.7、23.4、46.8 g/(kg·d),分别对应成人等效剂量的0.5倍、1.0倍和2.0倍。将阿维A胶囊和银屑平丸分别用0.9%NaCl溶液加热溶解后得到实验药液。空白组和对照组每日灌胃生理盐水,其余各组分别灌胃相应浓度的药物,0.2 mL/次,1次/d,连续灌胃7 d。

1.7 取材 末次给药后1 h,通过腹膜内注射戊巴比妥钠(80 mg/kg)深度麻醉各组小鼠后,进行眼球取血,离心得到上清液后迅速冻存于-80 ℃冰箱。随后脱颈处死小鼠,无菌条件下采集造模区域皮肤组织后于4%多聚甲醛中固定浸渍,置于-80 ℃冰箱保存,用于后续病理学分析。

1.8 观察指标

1.8.1 PASI评分 造模期间,每日给药24 h后,系统评估各组小鼠背部皮肤的表皮增厚程度、红斑、鳞屑并进行评分,三方面评分总和即为PASI总分。评分标准见表1。

表1 皮肤PASI评分标准

皮肤反应		分值		
		0分	1分	2分
厚度	正常	稍高于正常皮肤	皮肤隆起	皮肤明显隆起
红斑	无红斑	轻度红斑	中度红斑	重度红斑
鳞屑	无鳞屑	少量鳞屑	鳞屑呈片状,覆盖面积大	鳞屑几乎全部覆盖皮肤

1.8.2 HE染色观察皮损病理组织 将4%多聚甲醛固定的皮损组织,依次进脱水、石蜡包埋、切片烘干、HE染色、再脱水透明、封片,采集照片,观察皮损形态学改变。在光镜下观察、记录各组小鼠皮损病理学的改变。

1.8.3 免疫荧光染色检测Cit-H3水平 组织切片经脱蜡、抗原热修复后置于4%过氧化氢溶液中孵育20 min。用5%牛血清白蛋白(BSA)溶液封闭并在室温孵育1 h。随后将切片与稀释比例为1:100的Cit-H3特异性一抗在4 ℃下孵育12~16 h。次日,经磷酸盐缓冲液(PBS)充分洗涤后,加入适当二抗,37 ℃

避光孵育2 h。最后,用含DAPI的抗荧光淬灭封片后,在荧光显微镜下采集图像并进行定量免疫荧光分析。

1.8.4 蛋白质印迹法(Western blotting)检测皮损组织STAT3、p-STAT3、Survivin蛋白表达水平 取皮损组织与RIPA裂解液混合研磨匀浆后,抽取上清液采用BCA蛋白定量试剂盒测定样本浓度,取50 μg变性蛋白样品上样,经SDS-PAGE电泳分离、半干转膜45 min将蛋白转印至PVDF膜,充分洗涤后加5%脱脂奶粉-TBST封闭液室温下封闭1 h,各加入STAT3一抗、p-STAT3一抗、Survivin一抗(1:1 000稀释),4 ℃孵育过夜,回收一抗,加TBST洗涤液反复洗涤3次(10 min/次),加HRP标记的羊抗兔二抗(1:3 000稀释),4 ℃孵育过夜,回收二抗,TBST洗涤液反复洗涤3次,加ECL发光液,于凝胶成像系统中拍照,使用ImageJ软件测定目标条带灰度值,β-actin校正。

1.8.5 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中MPO、NE和NETs的生成情况 实验严格遵循试剂盒操作指南,具体流程:试剂盒室温平衡30 min后,用碳酸盐缓冲液(pH 9.6)预包被孔48酶标板,取板条设置标准品孔(梯度浓度标准品50 μL/孔)、样本孔(待测样本50 μL/孔)及空白孔;除空白孔外,其余孔加入HRP标记检测抗体100 μL,37 ℃温育1 h;弃液后洗板5次,滤纸吸干;加入显色液(50 μL/孔)避光显影15 min,快速加入终止液(50 μL/孔)终止反应,随后立即用酶标仪测定450 nm处OD值。NETs检测额外步骤:样本孔预加样品稀释液40 μL后依次加入待测样本10 μL、酶标试剂100 μL/孔,显色前使用20倍稀释洗涤液;其余步骤同MPO、NE检测。

1.9 统计学方法 实验数据分析采用SPSS 27.0与GraphPad Prism 9.0协同处理。所有计量资料均以“均数±标准差”($\bar{x} \pm s$)表示。实验数据符合正态分布及方差齐性,多组差异分析通过单因素方差分析(ANOVA)完成,两两比较采用LSD法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠背部皮肤PASI评分 实验第7天,空白组小鼠未出现明显的病理样变,对照组小鼠呈现出典型的银屑病样皮肤改变,其余各药物治疗组均显示出不同程度的银屑病样改变。对各组小鼠第3、5、7天的皮损情况进行重复测量并评分,结果显示:与空白组比较,其他各组小鼠PASI评分均升高。与对照组比较,各药物治疗组小鼠PASI评分均降低($P < 0.01$)。阿维A组及银屑平丸各剂量组间小鼠的PASI评分比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。(见图1、表2)

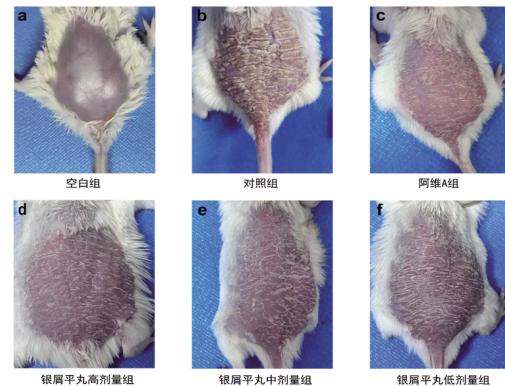


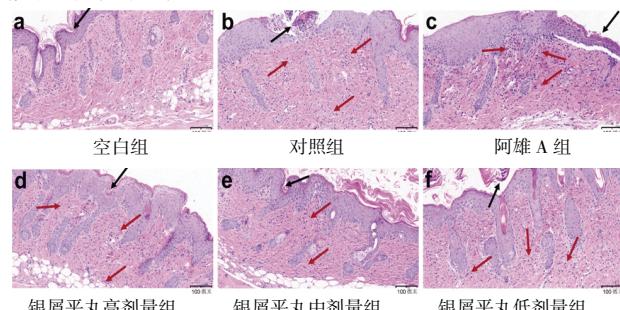
图1 各组小鼠第7天背部皮肤对比图

表2 各组小鼠第3、5、7天PASI评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	n	第3天	第5天	第7天
空白组	8	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
对照组	8	3.500 ± 0.756	6.857 ± 0.690	9.571 ± 0.976
阿维A组	8	2.375 ± 0.744 ^b	5.125 ± 0.641 ^b	7.375 ± 1.302 ^b
银屑平丸高剂量组	8	2.500 ± 0.925 ^b	5.375 ± 0.581 ^b	7.500 ± 0.756 ^b
银屑平丸中剂量组	8	2.750 ± 0.707 ^a	5.571 ± 0.535 ^b	8.000 ± 0.535 ^b
银屑平丸低剂量组	8	2.875 ± 0.834	5.800 ± 0.789 ^b	8.111 ± 0.601 ^b

注:与对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$ 。

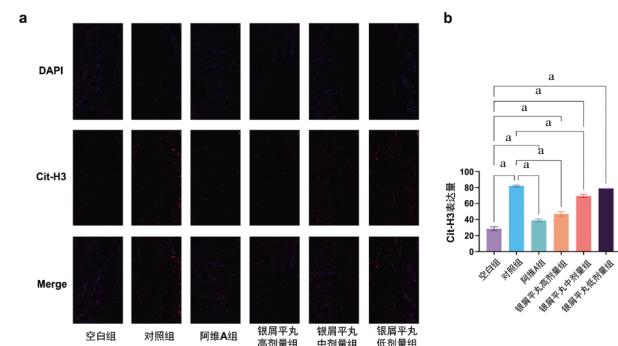
2.2 各组小鼠皮损组织病理学比较 HE染色结果显示,空白组小鼠皮肤组织表皮完整,厚薄均匀,未见明显的坏死及炎症细胞浸润等异常。对照组呈现典型银屑病样病理特征,皮肤组织表皮厚薄不均,局部表面可见较多瘤层,伴角化不全,同时可见乳头层出血水肿及特征性“杵状乳头”样改变。阿维A组及银屑平丸各组小鼠皮肤组织角质层断裂、乳头水肿出血现象均表现出不同程度的减轻,无明显或偶见炎症细胞浸润。(见图2)



注:黑色箭头表示角质层;红色箭头表示淋巴细胞、粒细胞等炎症细胞浸润。

图2 各组小鼠皮损组织形态 (HE染色, $\times 200$)

2.3 各组小鼠Cit-H3生成情况比较 免疫荧光定量分析显示,与空白组比较,对照组、阿维A组及银屑平丸各剂量组小鼠Cit-H3荧光强度均呈现显著上升趋势,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,阿维A组及银屑平丸高、中剂量组的Cit-H3表达水平呈现显著下调趋势($P<0.05$);银屑平丸低剂量组虽较对照组有所降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。(见图3)



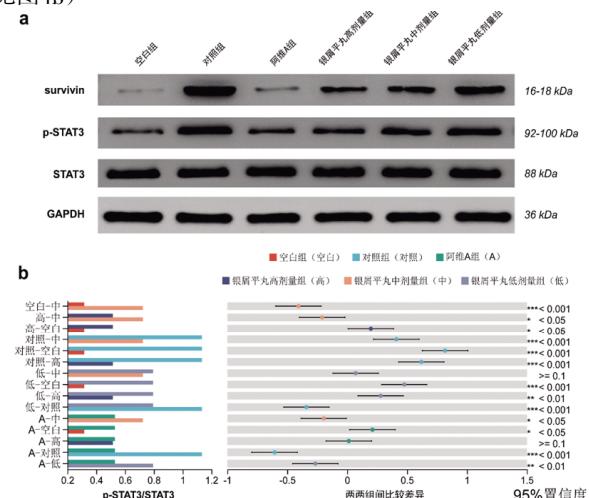
注:a.免疫荧光染色病理图($\times 200$);b.两组间比较,^a $P<0.001$ 。

图3 各组小鼠Cit-H3表达水平比较

2.4 各组小鼠STAT3、p-STAT3、Survivin蛋白表达水平比较 Western blotting定量分析结果显示,与空白组比较,对照

组、阿维A组及银屑平丸各剂量组小鼠p-STAT3和Survivin蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。与对照组比较,阿维A组及银屑平丸各剂量组p-STAT3和Survivin表达水平呈显著降低趋势($P<0.05$),其中阿维A组抑制效应最为显著,其次是银屑平丸高、中、低剂量组。各组间STAT3总蛋白表达量比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。(见图4a、表3)

进一步对磷酸化蛋白占总蛋白的比例进行分析,以探究STAT3通路的生物学功能激活状态。与空白组(0.3160 ± 0.0704)比较,对照组比值显著升高至(1.1340 ± 0.1193)($P<0.001$),证实银屑病样皮炎伴随STAT3信号过度活化。药物治疗后,阿维A使比值降至(0.5281 ± 0.0250)(较对照组下降53.4%, $P<0.001$),银屑平丸高剂量组比值达 0.5145 ± 0.0679 (降幅54.6%,与阿维A组差异无统计学意义),中、低剂量组呈剂量依赖性抑制(较对照组分别下降36.2%和30.0%, $P<0.01$)。结果表明,STAT3磷酸化激活是银屑病关键驱动事件,而银屑平丸以剂量依赖方式抑制STAT3磷酸化,从而缓解银屑病的发作,且高剂量银屑平丸阻断STAT3活化效能与阿维A胶囊类似($P>0.05$)。(见图4b)



注:a.各组小鼠Cit-H3表达水平;b.两组别间p-STAT3/STAT3比值差异性分析。

图4 各组小鼠STAT3、p-STAT3、Survivin蛋白表达水平比较

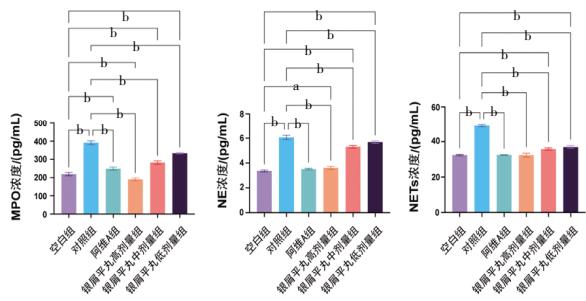
表3 各组STAT3、p-STAT3、Survivin蛋白表达水平比较

组别	n	STAT3/GAPDH	p-STAT3/GAPDH	Survivin/GAPDH
空白组	8	0.90 ± 0.092	0.28 ± 0.055 ^a	0.06 ± 0.015 ^a
对照组	8	0.96 ± 0.110	1.08 ± 0.020	1.15 ± 0.030
阿维A组	8	1.00 ± 0.084	0.53 ± 0.021 ^a	0.16 ± 0.015 ^a
银屑平丸高剂量组	8	1.05 ± 0.080	0.54 ± 0.032 ^a	0.48 ± 0.100 ^a
银屑平丸中剂量组	8	1.06 ± 0.081	0.77 ± 0.015 ^a	0.58 ± 0.006 ^a
银屑平丸低剂量组	8	1.09 ± 0.076	0.86 ± 0.010 ^a	0.79 ± 0.020 ^a

注:与对照组比较,^a $P<0.01$ 。

2.5 各组小鼠MPO、NE、NETs生成情况比较 ELISA检测结果显示,与空白组比较,对照组小鼠血清MPO、NE、NETs含量均显著升高($P<0.01$);与对照组比较,阿维A组及银屑平丸各组上述指标均显著降低($P<0.01$),该结果证实银屑平丸可抑制中性粒细胞活化相关介质的释放,且银屑平丸各剂量组间

干预效果具有一定差异,其中银屑平丸高剂量组疗效最佳。(见图5)



注:两组比较,^aP<0.05,^bP<0.001。

图5 各组小鼠血清MPO、NE、NETs表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

3 讨 论

银屑病是一种常见的由多种免疫细胞介导的慢性复发性皮肤病,其发病机制复杂,涉及多种免疫调节因子和细胞通路,核心病理特征表现为Th17/IL-23细胞轴介导的角质形成细胞(KC)恶性增殖与分化异常^[15-16]。IL-23由树突状细胞分泌,可诱导CD4⁺T细胞分化成Th17细胞。Th17细胞分泌的IL-17不仅可以使角质形成细胞增殖,还可刺激其释放CXCL1、CXCL2及CXCL20等趋化因子,募集更多炎症细胞(如中性粒细胞)迁移至表皮释放产生NETs,从而参与银屑病的发生发展^[17-19]。银屑病进展期皮损中可见Kogoj与Munro微脓肿等特征性病理标志,二者均为中性粒细胞在表皮层形成的局部浸润性病灶^[20]。表皮内浸润的中性粒细胞产生NETs可通过作用角质形成细胞并协同IL-36 γ 刺激IL-36R,进而上调MyD88、TRAF6及TAK1的表达,最终激活NF- κ B信号通路,诱导脂质运载蛋白(LCN2)的过量转录表达,而LCN2又可募集中性粒细胞迁移至表皮继续释放NETs,从而形成一个皮肤炎症环境维持和放大的恶性循环^[21-23]。

此外,NETs形成时,中性粒细胞释放的IL-6通过旁分泌或自分泌方式作用于角质形成细胞、免疫细胞。IL-6与靶细胞膜上的IL-6受体(IL-6R)结合后,募集跨膜糖蛋白gp130形成受体复合物,可引起与受体偶联的Janus激酶(JAK)发生自体磷酸化,进而激活STAT3^[24-25]。研究表明,IL-17与IL-6的协同作用可显著延长STAT3信号持续时间^[26-27]。IL-17主要通过与角质形成细胞表面的IL-17受体(IL-17R)结合,激活NF- κ B和MAPK通路。这些信号通路进一步诱导角质形成细胞分泌IL-6、IL-22等促炎因子,形成正反馈环路,放大IL-6/STAT3信号的强度。课题组前期研究已验证银屑平丸可降低血清IL-6、IL-17及IL-23水平^[28]。本实验结果显示银屑平丸可减轻咪唑莫特乳膏诱导构建的Ps小鼠皮损症状,降低皮损组织中的NETs及MPO、NE、Cit-H3水平,提示银屑平丸可能通过抑制NETs的释放来治疗银屑病。

磷酸化后的STAT3(p-STAT3)能够直接与Survivin基因启动子结合,上调其表达水平^[29]。这种调控机制不仅增强了KC对凋亡信号的抵抗能力,还可诱导IL-6、TNF- α 、IL-17A等炎症因子的释放,进而促进NETs的形成,并且这些炎症因子又可反过来持续激活STAT3信号^[30]。此外,NETs的形成过程与中性粒细胞凋亡密切相关,而凋亡抑制蛋白Survivin的表达水平

可能通过调控中性粒细胞凋亡进程,影响NETs的释放和炎症反应的持续,最终形成恶性循环,推动银屑病慢性进展^[31]。本研究结果证实了STAT3磷酸化激活(p-STAT3/STAT3比值)是驱动银屑病样炎症的关键事件:对照组比值较空白组升高258%,而银屑平丸高剂量干预使比值回归至生理水平,其抑制效能与阳性药阿维A胶囊相当。这表明银屑平丸通过靶向STAT3磷酸化修饰(而非蛋白表达量),可精准阻断JAK-STAT信号轴活化,从功能层面解释其抑制NETs生成的核心机制。

银屑病首见于《外科大成》“白疕,肤如疹疥,色白而痒”,首次确立“白疕”的病名,并指出其病因在于“风邪客于皮肤,血燥不能营养所致”^[32]。燕京皮肤科流派创始人赵炳南教授在继承前人经验的基础上,创新性地提出了“血分辨证”理论体系和“从血论治”的基本原则,认为本病发病以血热、血瘀、血燥为主,多治以凉血解毒、活血散瘀、滋阴润燥^[33]。银屑平丸由生地黄、赤芍、山药、丹参、紫草、半枝莲、墨旱莲、女贞子、白花蛇舌草、大青叶、甘草组成。方中生地黄清热凉血,养阴生津为臣药;赤芍、紫草、大青叶、丹参、半枝莲、白花蛇舌草共为君药,增强清热解毒,凉血消斑之功;佐以女贞子、墨旱莲、山药养阴润燥,平衡清热药之燥性;甘草调和药性。清热不忘养阴,祛邪兼顾扶正,全方共奏清热凉血,活血化瘀之效,在临床应用中疗效显著。

根据中医药学理论及现代研究,我们对银屑平丸中抑制银屑病关键机制的主要活性物质进行了整合分析。生地黄、赤芍、丹参、大青叶、甘草及半枝莲主要通过调控中性粒细胞活性抑制NETs形成。生地黄中的梓醇可降低Cit-H3表达并清除活性氧(ROS)^[34-35];赤芍中的苯甲酰芍药苷能抑制PAD4酶和TNF- α 三聚化,阻断组蛋白瓜氨酸化过程^[36];丹参中的丹参酮ⅡA调节ROS/中性粒细胞弹性蛋白酶平衡^[37];大青叶中的靛玉红通过TLR4/NF- κ B通路抑制炎性因子释放^[38],甘草酸则干扰PKC/MAPK磷酸化级联反应^[39-40];半枝莲中的野黄芩苷通过抗氧化及抑制IL-36信号减轻中性粒细胞浸润^[41-42]。这些成分共同靶向NETosis关键环节,减少银屑病炎症微环境中的NETs沉积。在STAT3/Survivin通路调控方面,紫草中的紫草素可强力阻断STAT3核转位及JAK2磷酸化^[43];赤芍中的芍药苷与山药中的山药皂苷分别通过抑制STAT3磷酸化及激活PPAR γ 通路干扰STAT3-DNA结合^[44-46];女贞子中的齐墩果酸与墨旱莲中的蟛蜞菊内酯协同促进STAT3泛素化降解^[47-48]。上述活性成分的协同作用充分证明了银屑平丸中清热凉血中药的多靶点干预对银屑病“血热证”病理核心的调控优势。

结合课题前期研究,我们证实了NETs的异常表达及STAT3/Survivin信号通路的激活可能在银屑病发病过程中发挥重要作用。而银屑平丸可能通过抑制NETs的释放进而调控STAT3/Survivin信号通路,从而抑制角质形成细胞的异常增殖及相关炎症因子产生,以达到治疗银屑病的目的。接下来,银屑平丸发挥治疗作用的具体活性成分及分子靶点网络仍需深度解析。未来工作将结合谱效关系分析与分子对接技术,系统筛选方中清热凉血药群的关键活性单元,并通过成分敲除/补入实验验证其对STAT3磷酸化及NETs形成的调控权重,

为优化“成分-靶点”明确的精准制剂提供依据。同时,我们将建立体外NETosis模型,利用共聚焦显微成像技术(如Sytox Green+MPO/Cit-H3共定位)动态观测银屑平丸提取物对NETs结构的直接解聚作用,并结合三维重构算法实现NETs成网率的智能定量,从空间分辨率层面补强银屑病“免疫-上皮”交互作用的可视化证据链。

参考文献

- [1] ELDAWOUDY M M, ABDELSALAMDS, GHATTAS M H, et al. Comprehensive insights into psoriasis: Disease types, underlying mechanisms, and effective treatments[J]. *Rec Pharm Biomed Sci*, 2024, 8(1): 212-230.
- [2] ZHANG Y M, GUO Y L, ZHANGK Y, et al. Comorbidities among adult patients with psoriasis in Tianjin: A cross-sectional analysis of the health database study[J]. *BMJ Open*, 2024, 14(5): e083683.
- [3] TSAI C J, LIN Y C, CHEN C Y, et al. The effects of biologics on hematologic malignancy development in patients with ankylosing spondylitis, psoriasis, or psoriatic arthritis: A national cohort study[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(9): 2510.
- [4] BECHER G, CONNER S, INGRAM J A, et al. A retrospective real-world study of the effectiveness and tolerability of tildrakizumab in UK adults with moderate-to-severe chronic plaque psoriasis [J]. *Dermatol Ther (Heidelberg)*, 2022, 12(10): 2343-2354.
- [5] MASUCCI M T, MINOPOLI M, DEL VECCHIO S, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps (NETs) in tumor progression and metastasis[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1749.
- [6] TAKAHASHI T, YAMASAKI K. Psoriasis and antimicrobial peptides[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6791.
- [7] KAMATA M, TADA Y. Crosstalk: Keratinocytes and immune cells in psoriasis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1286344.
- [8] WANG A L, WEI J N, LU C J, et al. Genistein suppresses psoriasis-related inflammation through a STAT3-NF- κ B-dependent mechanism in keratinocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69: 270-278.
- [9] WANG A L, WEI J N, LU C J, et al. Genistein suppresses psoriasis-related inflammation through a STAT3-NF- κ B-dependent mechanism in keratinocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69: 270-278.
- [10] MARTÍNEZ-GARCÍA D, MANERO-RUPÉREZ N, QUESADA R, et al. Therapeutic strategies involving survivin inhibition in cancer[J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(3): 887-909.
- [11] MENG X, GUO R, FAN C, et al. RIPK1 downregulation enhances neutrophil extracellular traps in psoriasis [J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2022, 39(1): 72-80.
- [12] SONG A, LEE S E, KIM J H. Immunopathology and immunotherapy of inflammatory skin diseases[J]. *Immune Netw*, 2022, 22(1): e7.
- [13] 席建元, 温柔, 陈偶英, 等. 基于STAT3/Survivin信号通路探讨银屑平丸对寻常型银屑病的干预作用[J]. 中医药导报, 2016, 22(11): 20-23.
- [14] 赵亚, 吴亚运, 刘丽娟, 等. 米喹莫特致不同免疫状态小鼠银屑病模型比较研究[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(6): 41-47.
- [15] MEGNA M, POTESIO L, RUGGIERO A, et al. JAK inhibitors in psoriatic disease[J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2023, 16: 3129-3145.
- [16] WANG Q, LUO X, SU Y W, et al. Tanshinone I ameliorates psoriasis-like dermatitis by suppressing inflammation and regulating keratinocyte differentiation[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2025, 19: 539-552.
- [17] KIM J, LEE J, LI X, et al. Multi-omics segregate different transcriptomic impacts of anti-IL-17A blockade on type 17 T-cells and regulatory immune cells in psoriasis skin[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1250504.
- [18] LEE J J, KIM M Y, KIM H J, et al. Impaired autophagy in myeloid cells aggravates psoriasis-like skin inflammation through the IL-1 β /CXCL2/neutrophil axis[J]. *Cell Biosci*, 2024, 14(1): 57.
- [19] FAN X Z, SHU P Y, WANG Y, et al. Interactions between neutrophils and T-helper 17 cells[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1279837.
- [20] WANG Z Y, SHEN C B, FEI W M, et al. Accuracy of dermoscopic and reflectance confocal microscopic criteria for diagnosis of psoriasis[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(24): 3010-3012.
- [21] LI X, XIAO S H, FILIPCZAKN, et al. Role and therapeutic targeting strategies of neutrophil extracellular traps in inflammation[J]. *Int J Nanomedicine*, 2023, 18: 5265-5287.
- [22] 李若琳. 中性粒细胞胞外诱捕网在银屑病中的作用及机制[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2022.
- [23] SHAO S, FANG H, DANG E L, et al. Neutrophil extracellular traps promote inflammatory responses in psoriasis via activating epidermal TLR4/IL-36R crosstalk[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 746.
- [24] MAZUREK-MOCHOL M, BONSMANN T, MOCHOL M, et al. The role of interleukin 6 in periodontitis and its complications[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(4): 2146.
- [25] TSOI H, MAN E P S, CHAU K M, et al. Targeting the IL-6/STAT3 signalling cascade to reverse tamoxifen resistance in estrogen receptor positive breast cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(7): 1511.

- [26] LI L S, LU J Y, LIU J, et al. Immune cells in the epithelial immune microenvironment of psoriasis: Emerging therapeutic targets[J]. *Front Immunol*, 2024, 14: 1340677.
- [27] LIU Z H, LEI M, BAI Y X. Chronic stress mediates inflammatory cytokines alterations and its role in tumorigenesis[J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 1067-1090.
- [28] 羊羨,席建元,谢汶芳,等.银屑平丸调节cGAS-STING信号通路对银屑病小鼠的保护作用[J].*陕西中医*,2024,45(11):1466-1470.
- [29] CORTÉS-BALLINAS L, LÓPEZ-PÉREZ T V, ROCHA-ZAVALETA L. STAT3 and the STAT3-regulated inhibitor of apoptosis protein survivin as potential therapeutic targets in colorectal cancer (Review)[J]. *Biomed Rep*, 2024, 21(6):175.
- [30] HAN L H, LI P J, HE Q L, et al. Revisiting skeletal muscle dysfunction and exercise in chronic obstructive pulmonary disease: Emerging significance of myokines[J]. *Aging Dis*, 2023, 15(6):2453-2469.
- [31] DE SOUZA F F L, SCHNEIDER A H, MACHADO C C, et al. Synovial fluid survivin and NETs as independent biomarkers in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2023, 41(7):1473-1479.
- [32] 崔国宁,易腾达,虎峻瑞,等.中医治疗银屑病研究进展[J].*今日药学*,2023,33(4):257-261.
- [33] 何治宏,杨顶权,张虹亚,等.赵炳南荆防方治疗风热血热型瘙痒性皮肤病探析[J].*安徽中医药大学学报*,2024,43(3):31-34.
- [34] LIU A M, ZHANG B X, ZHAO W, et al. Catalpol ameliorates psoriasis-like phenotypes via SIRT1 mediated suppression of NF-κB and MAPKs signaling pathways[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1):183-195.
- [35] 刘嘉研,李俊峰,车楠,等.梓醇对哮喘小鼠气道炎症及AMPK/ROS/NF-κB信号通路的影响[J].*郑州大学学报(医学版)*,2019,54(6):823-827.
- [36] WEI J J, LI M M, DU L Y, et al. Benzoypaeoniflorin alleviates psoriasis-like inflammation by modulating immune balance and inhibiting NF-κB signaling pathway[J]. *Bioorg Chem*, 2025, 163:108711.
- [37] XU L J, LIU X, ZHANG Y R, et al. Tanshinone IIA improves acute gouty arthritis in rats through regulating neutrophil activation and the NLRP3 inflammasome [J]. *Dis Markers*, 2022, 2022:5851412.
- [38] LAI J L, LIU Y H, LIU C, et al. Indirubin inhibits LPS-induced inflammation via TLR4 abrogation mediated by the NF-κB and MAPK signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(1):1-12.
- [39] 石丹.甘草次酸通过NADPH氧化酶-ROS/p38MAPK信号通路抑制巨噬细胞放射性炎症反应[D].福州:福建医科大学,2017.
- [40] 张吴越,顾永春,汤颖,等.甘草酸对支气管哮喘小鼠ERK1/2和p38 MAPK信号通路的影响[J].*中华医学杂志*,2018,98(16):1273-1278.
- [41] YANG X G, HAN J H, HUAN Z R, et al. Baicalin ameliorates lung injury in rats by inhibiting NLRP3 inflammasome activation via NF-[formula: See text] B signaling pathway[J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(4):979-996.
- [42] 姜蔚.野黄芩苷药理作用及机制研究进展[J].*中国药理学通报*,2018,34(12):1634-1637.
- [43] XU Y Y, XU X G, GAO X H, et al. Shikonin suppresses IL-17-induced VEGF expression via blockage of JAK2/STAT3 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(2):327-333.
- [44] 何芳,丁敏,甄海宁,等.芍药苷通过STAT3抑制IL-13诱导的BEAS-2B细胞氧化应激和自噬[J].*中国医院药学杂志*,2024,44(13):1535-1540.
- [45] 范晓阳,侯彦婕,贾世艳,等.山药化学成分及皂苷类成分药理作用的研究进展[J].*中医药信息*,2021,38(9):79-84.
- [46] LIANG X J, GUO Y C, SUN T Y, et al. Anti-angiogenic effect of total saponins of Rhizoma Dioscorea nipponica on collagen induced-arthritiis in rats[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(4):2155-2160.
- [47] HU J B, LIU W, ZOU Y, et al. Allosterically activating SHP2 by oleanolic acid inhibits STAT3-Th17 axis for ameliorating colitis[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(6): 2598-2612.
- [48] 姜姗,刘森,张黎,等.蟛蜞菊内酯通过抑制JAK2/STAT3信号通路诱导人肺腺癌A549细胞凋亡[J].*华中科技大学学报(医学版)*,2021,50(4):488-492.

(收稿日期:2025-06-16 编辑:罗英姣)