

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.11.013

枇杷愈疮方对痤疮模型小鼠皮损组织炎症反应及皮肤屏障损伤的影响

刘唐云妮¹, 邓宇童², 贺改英³, 冯蕙裳⁴, 任雪雯⁵, 方宜梅²,
王雪皖¹, 李雅瞳¹, 蔡玲玲², 李元文²✉

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 北京中医药大学东方医院; 3. 中国中医科学院医学实验中心;
4. 北京中医药大学东直门医院; 5. 山西省中医院

[摘要] **目的** 从皮肤屏障损伤角度探讨枇杷愈疮方治疗痤疮的可能机制。**方法** 将 32 只小鼠随机分为空白组、模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组, 每组 8 只。除空白组外, 其余各组小鼠均以痤疮丙酸杆菌皮内注射联合外用人工皮脂法建立痤疮模型。造模第 1 天开始, 空白组、模型组灌胃蒸馏水 0.2 ml, 枇杷愈疮方组灌胃枇杷愈疮方混悬液 22.75 g/(kg·d), 米诺环素组灌胃米诺环素混悬液 0.013 g/(kg·d), 均每天 1 次, 连续 5 天。于实验第 0、6 天记录各组小鼠体质量, 并计算实验过程中小鼠体质量差值绝对值; 实验第 2、4、6 天采用多功能皮肤成像系统观察皮肤情况; 实验第 0、2、4、6 天检测皮肤屏障功能指标经皮水分丢失 (TEWL) 值、角质层和表皮含水量; 实验第 1、3、5 天应用光学相干断层扫描技术 (OCT) 观测皮肤角质层及皮肤厚度; 实验第 6 天 HE 染色法观察皮损组织病理学形态, ELISA 法检测皮损组织白细胞介素-17A (IL-17A) 水平, 免疫荧光法检测皮损组织结构蛋白丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 水平。**结果** 与空白组同时时间比较, 模型组小鼠第 6 天体质量降低、实验前后体质量差值绝对值升高 ($P<0.05$); 第 4、6 天 TEWL 值升高, 皮肤角质层和表皮含水量降低 ($P<0.05$); 皮损组织 IL-17A 水平升高, FLG、LOR 蛋白免疫荧光强度降低 ($P<0.05$); 多功能皮肤成像系统观测下, 模型组小鼠造模点皮肤出现丘疹或脓疱, 伴随皮损脱屑逐渐加重; OCT 显示皮损表皮呈现局灶性隆起, 表皮与真皮界限模糊, 层次结构紊乱; HE 染色结果显示皮肤伴随明显的表皮角化过度与角化不全、毛囊及腺体腔内角栓形成、角质层增厚、棘层增生, 以及真皮层炎性细胞密集浸润与毛细血管扩张。与模型组比较, 米诺环素组、枇杷愈疮方组小鼠实验前后体质量差值降低 ($P<0.05$); 第 4、6 天 TEWL 值均降低、皮肤角质层含水量均升高 ($P<0.05$); 第 6 天皮损组织 IL-17A 水平降低, FLG、LOR 蛋白免疫荧光强度升高 ($P<0.05$); 第 4、6 天皮损严重程度及红肿范围较模型组轻, 表皮厚度较前回落, 表面趋于平整, 表皮与真皮分界较前清晰; HE 染色显示皮肤角化程度有所减轻, 真皮层炎性浸润及血管扩张均较模型组有所改善。在降低第 4 天 TEWL 值方面枇杷愈疮方组优于米诺环素组 ($P<0.05$)。**结论** 枇杷愈疮方可能通过下调皮损组织 IL-17A 水平, 提高皮肤屏障相关蛋白, 发挥改善炎症反应和皮肤屏障损伤作用, 这可能是其治疗痤疮的作用机制之一。

[关键词] 痤疮; 皮肤屏障; 白细胞介素-17A; 丝聚蛋白; 兜甲蛋白; 枇杷愈疮方

痤疮是一种主要累及面部毛囊皮脂腺单位的慢性炎症性皮肤病^[1]。该病青春期多发, 皮疹多好发于颜面和胸背部, 以黑头、白头粉刺、炎症性丘

疹、脓疱为主要表现, 皮疹反复发作, 炎症消退后常伴随皮肤屏障功能受损, 导致红斑、瘢痕等后遗症。有研究^[2-3]证实, 痤疮患者存在皮肤屏障损伤, 表现为皮脂增多、经皮水分丢失 (TEWL) 增加, 表皮含水量降低、pH 升高等, 且损伤程度与痤疮严重程度呈正相关。痤疮的发生与痤疮丙酸杆菌菌群失调激活辅助性 T 细胞 17 (Th17) 炎症通路

基金项目: 中央高水平中医医院临床科研业务费资助项目 (DFRCZY-2024ARC-003); 北京市自然科学基金 (7232295); 北京“十四五”中医药重点专科项目 (BJZKBC0015)

✉ 通讯作者: 15810104902@163.com

有关,其产生的白细胞介素-17A (IL-17A) 会刺激炎症产生而引发痤疮^[4],且 IL-17A 能够下调炎症性皮肤病皮损区丝聚蛋白 (FLG)、兜甲蛋白 (LOR) 的表达,导致炎症后皮肤屏障损伤的发生^[5]。枇杷愈痤方是本团队拟定用于治疗痤疮的经验方,针对肺胃蕴热病机而设,具有清解肺胃、健脾化湿解毒之功^[6-7],可改善痤疮患者皮肤敏感、脱屑等症状^[8]。本研究拟从皮肤屏障损伤及炎症角度探究枇杷愈痤方治疗痤疮的可能机制,为其临床应用提供依据。本研究已通过中国中医科学院动物伦理委员会审批 (批号: ERCCACMS21-2508-01)。

1 材料及方法

1.1 动物

BALB/c 雄性小鼠 32 只,8 周龄,体质量 (22±2) g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物使用许可证号: SCXK (京) 2021-0006。所有小鼠饲养于中国中医科学院医学实验中心,12 h 光照/黑暗循环,温度 (25±1) °C,湿度 50%~60%,自由摄食和饮水。

1.2 药物

枇杷愈痤方颗粒剂由北京康仁堂药业有限公司提供。组成: 枇杷叶 10 g,侧柏叶 10 g,桑白皮 10 g,地骨皮 10 g,黄芩 10 g,黄连 6 g,苍术 10 g,白术 10 g,茯苓 20 g,陈皮 10 g,清半夏 9 g,山楂 20 g,白花蛇舌草 30 g,皂角刺 10 g。盐酸米诺环素胶囊,瀚晖制药有限公司 (50 mg/粒,国药准字: H20174080)。

1.3 菌株

痤疮丙酸杆菌 (*C. acnes*, 型号: ATCC6919) 标准菌株,购自广东省微生物研究所,批号: 20171018。

1.4 主要试剂及仪器

琼脂粉 (批号: 20190417), 国药集团化学试剂有限公司; 脑心浸出液 (BHI) 培养基 (批号: 3314637), 英国 OXOID 公司; 荷荷巴油 (批号: C12549907)、三油酸甘油酯 (批号: C10355340)、角鲨烯 (批号: C13374544)、油酸 (批号: C12926671), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 4% 多聚甲醛 (批号: G1101), 伊红染色液 (批号: G1100), 北京索莱宝科技有限公司; Mayer's 苏木素 (批号: AR0005), 武汉博士德生物工程有限公司; 异氟烷 (批号: R510-22-16), 深圳市瑞沃德生命科技有限公司; 小鼠 IL-17A ELISA 试剂盒 (批号: JM-03039M2), 江苏晶美生物科技有限

公司; 兔抗小鼠 FLG 抗体 (批号: 3561373001)、兔抗小鼠 LOR 抗体 (批号: 5500023427), 美国 Abclonal 公司; FITC 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (批号: BST19108A19H05), 美国 Boster 公司。

共聚焦显微镜 (型号: DU897), 日本 Olympus 公司; 小动物麻醉机 (型号: R580S), 深圳市瑞沃德生命科技有限公司; 多功能皮肤成像分析系统 (型号: C-Cube2), 法国 Pixience 公司; 角质层水分含量测试仪 (型号: MSC1001)、表皮水分含量测试仪 (型号: MDE2001)、经皮水分流失测试仪 (型号: SWL5201), 芬兰 Delfin 公司; 光学相干断层扫描仪 (型号: QSLF-1500), 深圳市斯尔顿科技有限公司; 酶标仪 (型号: 352 型), 芬兰 Labsystems 公司; 台式冷冻离心机 (型号: ALLEGRA-X-15R), 美国贝克曼库尔特有限公司。

1.5 动物分组与造模方法

小鼠适应性饲养 7 天后,于造模开始 24 h 前全部予背部实验部位脱毛处理。操作方法如下: 首先使用电动推毛器剃除小鼠背部 3 cm×4 cm 区域的毛发,确保该区域无明显长毛残留。随后涂抹脱毛膏进行化学脱毛,脱毛后立即用清水彻底清洗,以皮肤完全裸露为脱毛成功标准。脱毛后将 32 只小鼠按照随机数字表法分为空白组、模型组、枇杷愈痤方组、米诺环素组,每组 8 只,分笼饲养。设置脱毛日为第 0 天。

于造模前制备 *C. acnes* 混悬液: 将 *C. acnes* 用接种环以四区划线法接种于 BHI 培养基,厌氧环境中培养 3 天,收集 *C. acnes* 混悬液,并将浓度调节至 5×10⁸ CFU/ml 菌量,备用。于每日造模前制备人工皮脂: 将油酸 (17%)、三油酸甘油酯 (45%)、荷荷巴油 (25%) 和角鲨烯 (13%) 按照体积比混合^[9],即得人工皮脂。

根据参考文献 [10] 改进,以 *C. acnes* 皮内注射联合人工皮脂局部刺激法建立小鼠背部痤疮模型: 脱毛 24 h 后,除空白组外,其余各组小鼠经 4% 异氟烷深度麻醉,并使用面罩维持麻醉状态;随后将小鼠置于操作台上,于背部脱毛区域脊柱两侧对称选取各 3 个点位 (共 6 个点),每点皮内注射 *C. acnes* 混悬液 (浓度 5×10⁸ CFU/ml) 50 μl,连续 3 天,空白组不作皮内注射处理。自首次皮内注射 *C. acnes* 混悬液当日开始,每次注射完成后等待 5~10 min,待针孔自然闭合、皮肤表面无明显液体渗出后,于小鼠背部脱毛区域均匀薄涂一层人工皮脂,以覆盖整个脱毛区域、不出现流淌或堆积为

宜；空白组使用生理盐水涂抹小鼠背部脱毛区域，均连续 5 天。造模成功标准^[10]：小鼠背部出现典型痤疮样皮损，如红斑、丘疹或脓疱。

1.6 干预方法

在造模第 1 天至第 5 天，每日造模结束后 30 min 各组小鼠开始行灌胃处理。灌胃给药剂量依据成人与小鼠体表面积换算，参考 70 kg 标准成年人体质量，换算为小鼠用药量约为成人的 9.1 倍^[11]。枇杷愈座方组予枇杷愈座方混悬液 22.75 g/(kg·d) 灌胃，米诺环素组予米诺环素混悬液 0.013 g/(kg·d) 灌胃，空白组与模型组予 0.2 ml 蒸馏水灌胃，均每日 1 次，连续 5 天。

1.7 观察指标及方法

1.7.1 小鼠体质量 于实验第 0、6 天记录各组小鼠体质量，并计算小鼠体质量差值绝对值 = |（第 6 天体质量 - 第 0 天体质量）|。

1.7.2 多功能皮肤成像系统观察皮肤情况 在实验第 2、4、6 天，将经 4% 异氟烷麻醉的小鼠置于操作台，并通过面罩持续供给异氟烷以维持小鼠麻醉状态。使用多功能皮肤成像系统拍摄相同皮损区域周边图像，获取局部白光摄片图像，用于观察皮损变化。

1.7.3 TEWL、皮肤角质层和表皮含水量检测 实验第 0、2、4、6 天利用经皮水分流失测试仪、角质层水分含量测试仪、表皮水分含量测试仪分别检测各组小鼠背部皮肤 TEWL、皮肤角质层和表皮含水量。检测过程中，使用 4% 异氟烷对小鼠进行麻醉，以确保测试期间小鼠状态稳定。测量时将探头垂直置于目标皮损区域，轻贴皮肤表面，保持一致的操作力度。除空白组外，每只小鼠选取背部脊柱两侧对称的 6 个造模点中皮损程度居中的 1 个点位进行检测；空白组选择相应位置的皮肤区域进行对照测量。

1.7.4 光学相干断层扫描技术（OCT）观测皮肤角质层及皮肤厚度 实验第 1、3、5 天应用 OCT 对各组小鼠背部的皮肤状态进行观察。OCT 中心波长为 $\lambda=850$ nm，采用线扫描模式捕捉成像，图像分辨率为 320×240。检测过程中，使用 4% 异氟烷麻醉维持小鼠处于稳定状态。为减少因皮肤表面不平整带来的干扰，检测时尽量保持背部区域平整，在图像清晰且信号稳定后进行采集。图像采集完成后，观察皮肤角质层及整体皮肤厚度。

1.7.5 HE 染色法观察皮损组织病理学形态 实验第 6 天以上各项检测完成后，在 4% 异氟烷麻醉下，

以各组造模皮损中心为基准、向外延伸 2 mm 处取圆形皮肤组织，空白组取相同部位作为对照。每只小鼠背部 6 个造模点位所取 6 块皮损组织中，随机取 2 块置于 4% 多聚甲醛中固定用于 HE 染色，2 块置于无菌冻存管用于 ELISA 检测，2 块平铺于锡箔纸经液氮速冻后转存于 -80 °C 用于免疫荧光染色。

取 4% 多聚甲醛中固定的皮损组织，经脱水、浸蜡、包埋、切片等操作后，用苏木素染液染色 5 min，蒸馏水清洗后经分化液处理、自来水浸洗后，以伊红染液 30 s，经脱水和透明处理后滴加中性树胶封片，最后在显微镜下观察及成像。

1.7.6 ELISA 法检测皮损组织 IL-17A 水平 取 -80 °C 保存的无菌冻存管中皮损组织，匀浆离心后取上清液，严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作，检测皮损组织 IL-17A 水平。

1.7.7 免疫荧光染色法检测皮损组织 FLG、LOR 表达 取在锡箔纸上展开并经液氮速冻 -80 °C 保存的小鼠皮损组织在冷冻切片机上修整，并使用包埋剂包埋，制备 10 μ m 厚度切片，放于常温待皮损组织与切片贴合后，于 -20 °C 保存备用。染色步骤包括：切片复温 30 min，1×TBS 漂洗 3 次，每次 5 min，免疫染色强力通透液室温破膜 5 min 后再次清洗；滴加 FLG、LOR 一抗（稀释比例分别为 1：150、1：80），4 °C 孵育过夜，TBS 室温漂洗；滴加二抗（稀释比例为 1：80）室温孵育 1 h，TBS 室温漂洗。使用抗荧光淬灭封片剂封片，用共聚焦显微镜采集图片。每只小鼠采集 1 张皮肤区域图片，经质量筛选（排除聚焦不佳、染色不均者），每组随机选取 3 张图片使用 Image J 1.54p 软件测量目标区域的免疫荧光强度，以表示蛋白水平。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 27.0 软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布以均值±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较符合方差齐性的采用 LSD 法，不符合方差齐性的采用 Dunnett T_3 法；组内比较采用重复测量方差分析或 Friedman 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组小鼠不同时间体质量比较

表 1 示，第 0 天各组小鼠体质量比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与空白组同时时间比较，模型组、米诺环素组、枇杷愈座方组小鼠第 6 天体质量降低，实验前后体质量差值绝对值升高 ($P<0.05$)。与模型组比较，米诺环素组、枇杷愈座方

组小鼠实验前后体质量差值绝对值降低 ($P<0.05$)。

表 1 各组小鼠不同时间体质量及实验前后体质量差值比较

Table 1 Comparison of body weight and the difference in body weight before and after the experiment at different timepoints in each group (g, $\bar{x}\pm s$)				
组别	鼠数	第 0 天	第 6 天	实验前后体质量差值绝对值
空白组	8	21.18±0.66	21.45±0.73	0.26±0.37
模型组	8	21.86±0.77	19.72±0.81 ^{a)}	2.13±0.32 ^{a)}
米诺环素组	8	21.88±0.59	20.38±0.85 ^{a)}	1.50±0.36 ^{a) b)}
枇杷愈疮方组	8	21.61±1.02	20.27±1.03 ^{a)}	1.33±0.53 ^{a) b)}

注：a) 与空白组同时间比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组同时间比较， $P<0.05$ 。

2.2 各组小鼠不同时间多功能皮肤成像系统成像情况比较

图 1 示，空白组小鼠背部皮肤光滑，无明显红肿、丘疹或皮屑。与空白组比较，模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组小鼠在第 2 天背部造模点位皮

肤出现轻度红斑及丘疹隆起，周围可见轻度水肿；模型组在第 4、6 天出现皮损加重，红斑范围扩大，可见红色丘疹或脓疱，伴皮损周围脱屑，部分小鼠可见脓疱破溃结痂。米诺环素组、枇杷愈疮方组在第 4、6 天皮损的严重程度及红肿范围较模型组轻，皮损周围脱屑明显减少，且第 6 天部分小鼠可见皮损开始结痂消退。

2.3 各组小鼠不同时间皮损组织 TEWL 值比较

表 2 示，在第 0、2 天各组小鼠皮损组织 TEWL 值比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。与空白组同时间比较，模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组在第 4、6 天 TEWL 值均升高 ($P<0.05$)。与模型组同时间比较，米诺环素组、枇杷愈疮方组在第 4、6 天 TEWL 值均降低 ($P<0.05$)。与米诺环素组同时间比较，枇杷愈疮方组在第 4 天 TEWL 值降低 ($P<0.05$)。

组内各时间点 TEWL 值采用重复测量方差分析

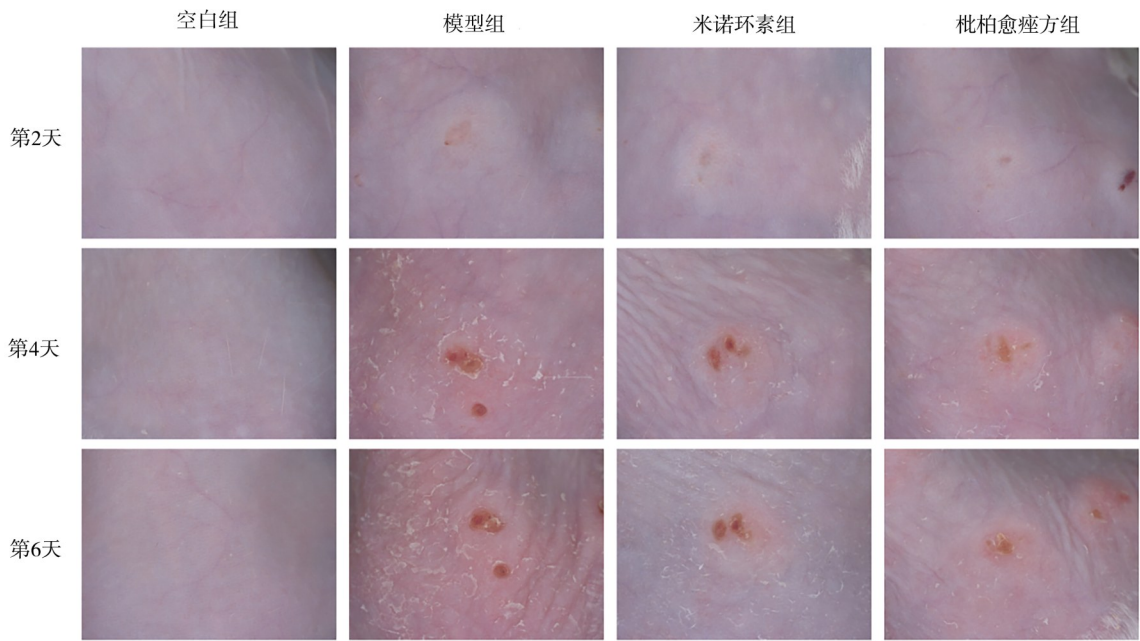


图 1 各组小鼠不同时间皮损组织多功能皮肤成像系统成像情况

Figure 1 Imaging of skin lesion tissues from mice at different timepoints using the multifunctional skin imaging system

表 2 各组小鼠不同时间皮损组织 TEWL 值比较

Table 2 Comparison of TEWL values in skin from mice at different timepoints in each group [g/ (m ² ·h), $\bar{x}\pm s$]					
组别	鼠数	第 0 天	第 2 天	第 4 天	第 6 天
空白组	8	13.49±1.71	14.85±2.01	8.83±2.26	7.51±2.92
模型组	8	13.78±2.14	17.13±4.08	28.74±3.16 ^{a)}	44.62±8.45 ^{a)}
米诺环素组	8	12.27±1.14	13.71±1.42	18.61±1.83 ^{a) b)}	26.20±4.25 ^{a) b)}
枇杷愈疮方组	8	11.80±1.07	13.25±1.59	15.51±1.70 ^{a) b) c)}	22.40±3.01 ^{a) b)}

注：TEWL，经皮水分丢失。

a) 与空白组同时间比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组同时间比较， $P<0.05$ ；c) 与米诺环素组同时间比较， $P<0.05$ 。

显示,时间与组别之间存在显著的交互作用 ($P<0.05$),表明不同组别小鼠的TEWL随时间变化的趋势存在显著差异。进一步组内比较,空白组TEWL值随着时间的变化具有统计学意义 ($P<0.05$),TEWL值在第2天较第0天略有升高,随后在第4天呈现下降趋势 ($P<0.05$),而第6天与第4天比较仍有所降低,但差异不具有统计学意义 ($P>0.05$)。模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组TEWL值在第0、2、4、6天比较差异具有统计学意义 ($P<0.05$),且随着时间的增加而逐渐增加 ($P<0.05$)。

2.4 各组小鼠不同时间皮肤角质层含水量比较

表3示,在第0、2天各组皮肤角质层含水量比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。与空白组比较,模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组在第4、6天皮肤角质层含水量均降低 ($P<0.05$)。与模型组比较,米诺环素组、枇杷愈疮方组在第4、6天皮肤角质层含水量均升高 ($P<0.05$)。

组内各时间点皮肤角质层含水量采用重复测量方差分析显示,时间与组别之间存在显著的交互作用 ($P<0.05$),表明不同组别皮肤角质层含水量随时间变化的趋势存在显著差异。进一步组内比较,各组皮肤角质层含水量随着时间的变化具有统计学意义 ($P<0.05$),空白组皮肤角质层含水量随时间增加而降低,第2天到第4天的皮肤角质层含水量变化具有统计学意义 ($P<0.05$);模型组、枇杷愈疮方组随着时间的增加而逐渐降低 ($P<0.05$);米诺环素组在第2天到第6天的皮肤角质层含水量降低具有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.5 各组小鼠不同时间皮肤表皮含水量比较

表4示,在第0、2天各组皮肤表皮含水量比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。与空白组比较,模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组在第4、6天皮肤表皮含水量均降低 ($P<0.05$)。与模型组比较,米诺环素组在第6天皮肤表皮含水量升高,枇杷愈疮方组在第4、6天皮肤表皮含水量均升高 ($P<0.05$)。

组内各时间点表皮含水量运用重复测量方差分析显示,时间与组别之间存在显著的交互作用 ($P<0.05$),表明不同组别小鼠的表皮含水量随时间变化的趋势存在显著差异。进一步组内比较,随着时间变化各组表皮含水量具有统计学意义 ($P<0.05$),空白组第0天到第2天,第4天到第6天表皮含水量降低 ($P<0.05$),第2天到第4天轻度升高 ($P>0.05$);模型组、枇杷愈疮方组表皮含水量随着时间的增加而逐渐降低 ($P<0.05$);米诺环素组在第2天到第6天的表皮含水量降低具有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.6 各组小鼠不同时间OCT下皮损组织情况比较

图2示,空白组小鼠表皮反射带信号较强,且光滑连续,表面仅见轻度生理性微波状起伏,角质层及角质层下表皮均较薄,层次结构清晰、真表皮交界明确。第1天,模型组小鼠表皮出现局灶性弧形隆起,角质层与表皮强反射带明显增厚,表面轮廓轻度不规则,真表皮交界连续性轻度受损,真皮浅层可见局灶光衰减带;与模型组比较,米诺环素组、枇杷愈疮方组表皮轻度增厚,但角质层轮廓光

表3 各组小鼠不同时间皮肤角质层含水量比较

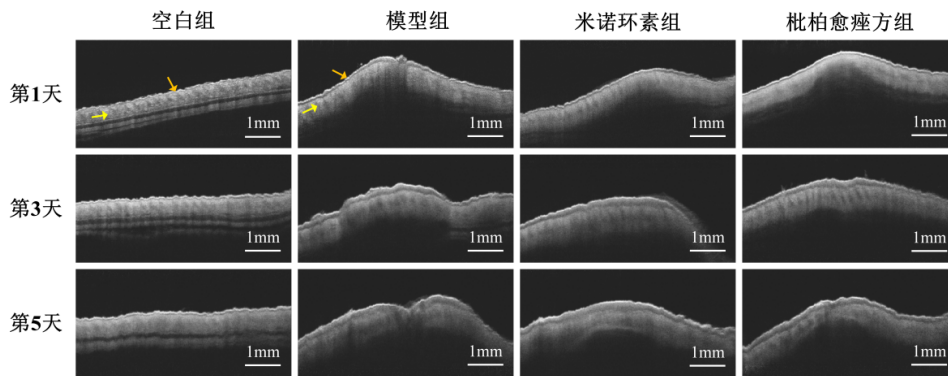
Table 3 Comparison of stratum corneum water content in skin from mice at different timepoints in each group (% , $\bar{x}\pm s$)					
组别	鼠数	第0天	第2天	第4天	第6天
空白组	8	73.41±6.40	70.66±11.37	66.70±9.39	63.95±6.91
模型组	8	75.61±5.67	62.95±10.22	41.94±2.14 ^{a)}	12.41±6.84 ^{a)}
米诺环素组	8	74.61±5.68	66.75±15.00	50.22±6.18 ^{a) b)}	26.65±2.81 ^{a) b)}
枇杷愈疮方组	8	77.27±2.83	65.84±5.56	53.61±6.19 ^{a) b)}	29.55±4.48 ^{a) b)}

注: a) 与空白组同时间比较, $P<0.05$; b) 与模型组同时间比较, $P<0.05$ 。

表4 各组小鼠不同时间皮肤表皮含水量比较

Table 4 Comparison of epidermal water content in skin from mice at different timepoints in each group (% , $\bar{x}\pm s$)					
组别	鼠数	第0天	第2天	第4天	第6天
空白组	8	65.50±2.78	61.13±4.05	62.38±4.24	57.50±3.51
模型组	8	65.38±3.85	60.13±3.23	44.75±8.83 ^{a)}	26.13±8.24 ^{a)}
米诺环素组	8	63.00±2.39	62.00±4.78	49.00±6.19 ^{a)}	39.13±6.75 ^{a) b)}
枇杷愈疮方组	8	66.88±3.00	63.88±3.52	53.37±6.25 ^{a) b)}	39.75±6.90 ^{a) b)}

注: a) 与空白组同时间比较, $P<0.05$; b) 与模型组同时间比较, $P<0.05$ 。



注：橙色箭头指示角质层，黄色箭头指示真皮层。

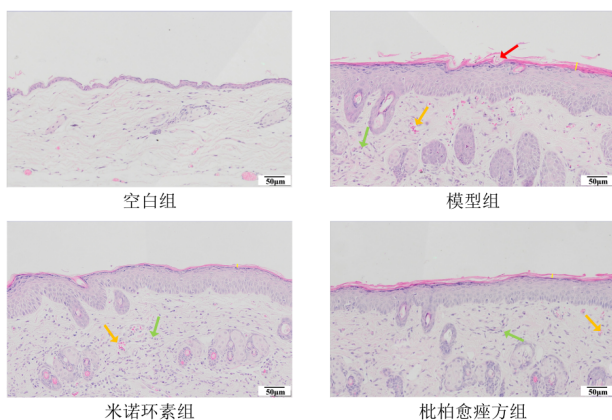
图2 各组小鼠不同时间光学相干断层扫描技术（OCT）下皮损组织图片（×10）

Figure 2 Skin lesion tissue images from mice at different timepoints under optical coherence tomography (OCT) imaging (×10)

滑，真表皮交界清晰，真皮回声基本均匀。第3天，模型组表皮厚度与隆起程度较前增强，角质层不规则突起增多，表皮与真皮分界模糊，表皮内部层次结构紊乱，回声分层不清，真皮浅层低回声区范围扩大，回声不均，光衰减增强；米诺环素组、枇杷愈疮方组表皮较前增厚，但表面轮廓平滑、层次尚存，表皮与真皮分界可辨，浅层真皮轻度回声减弱。第5天，模型组表皮较前略有减薄，表面仍呈弧形隆起，但仍显著高于空白组，表皮与真皮分界模糊，真皮内部回声未完全恢复；米诺环素组、枇杷愈疮方组表皮厚度较前回落，表面趋于平整，表皮与真皮分界较前清晰，浅层真皮回声较前提高，残留轻微低回声改变。

2.7 各组小鼠皮肤 HE 染色病理组织形态比较

图3示，空白组皮肤结构完整，角质层薄而均



注：黄色线段指示角质层，红色箭头指示角栓，橙色箭头指示毛细血管扩张，绿色箭头指示炎症细胞浸润。

图3 各组小鼠皮损组织 HE 染色结果（×10）

Figure 3 HE staining results of skin lesion tissues from mice in each group (×10)

匀连续，棘层规则，基底层细胞排列整齐，毛囊及皮脂腺结构正常，未见明显炎症细胞浸润；模型组可见角化过度及角化不全，毛囊及其附属腺体腔内可见角栓，角质层明显增厚，棘层增生，真皮内可见炎症细胞浸润，伴毛细血管扩张，符合痤疮病理表现；米诺环素组、枇杷愈疮方组皮肤角化程度有所减轻，部分毛囊腔仍可见小量角栓，表皮棘层规则性增强，基底层细胞排列整齐，真皮层炎症细胞浸润及血管扩张均较模型组有所改善。

2.8 各组小鼠皮损组织 IL-17A 水平比较

表5示，与空白组比较，模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组皮损组织 IL-17A 水平升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较，米诺环素组、枇杷愈疮方组皮损组织 IL-17A 水平降低 ($P < 0.05$)。

表5 各组小鼠皮损组织 IL-17A 水平比较

Table 5 Comparison of levels of IL-17A in skin lesion tissues from mice in each group (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

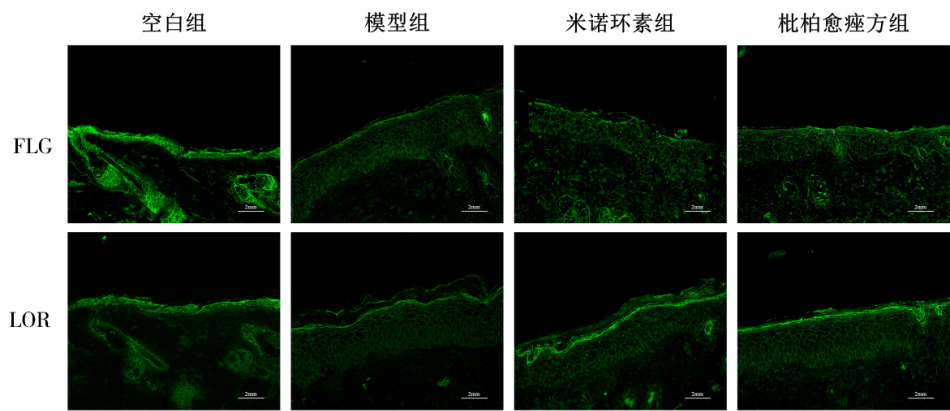
组别	鼠数	IL-17A
空白组	8	120.05±5.40
模型组	8	151.75±5.74 ^{a)}
米诺环素组	8	128.25±6.02 ^{a) b)}
枇杷愈疮方组	8	130.86±5.93 ^{a) b)}

注：IL-17A，白细胞介素-17A。

a) 与空白组比较， $P < 0.05$ ；b) 与模型组比较， $P < 0.05$ 。

2.9 各组小鼠皮损组织 FLG、LOR 蛋白免疫荧光强度比较

图4、表6示，与空白组比较，模型组、米诺环素组、枇杷愈疮方组皮损组织 FLG、LOR 蛋白免疫荧光强度降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较，米诺环素组、枇杷愈疮方组皮损组织 FLG、LOR 蛋白免疫荧光强度升高 ($P < 0.05$)。



注：FLG，丝聚蛋白；LOR，兜甲蛋白；绿色荧光为阳性表达。

图4 各组小鼠皮损组织FLG、LOR免疫荧光图（×20）

Figure 4 Immunofluorescence images of FLG and LOR in skin lesion tissues from mice in each group (×20)

表6 各组小鼠皮损组织FLG、LOR蛋白免疫荧光强度比较
Table 6 Comparison of immunofluorescence intensity of FLG and LOR proteins in skin lesion tissues from mice in each group (x̄±s)

组别	鼠数	FLG	LOR
空白组	3	177.82±14.15	196.83±6.09
模型组	3	88.93±8.36 ^{a)}	92.43±9.02 ^{a)}
米诺环素组	3	111.93±7.14 ^{a) b)}	125.64±4.71 ^{a) b)}
枇杷愈疮方组	3	122.65±1.72 ^{a) b)}	121.70±2.86 ^{a) b)}

注：FLG，丝聚蛋白；LOR，兜甲蛋白。
a) 与空白组比较，*P*<0.05；b) 与模型组比较，*P*<0.05。

3 讨论

根据临床表现，痤疮可归属于中医学“粉刺”“肺风粉刺”“面疮”“酒刺”等范畴^[12]。现代医家多从热、湿、瘀、毒、虚等角度论治痤疮，并结合脏腑功能如肺、脾、肝等进行整体调理，治疗常以清热、祛湿、活血、解毒等法为主^[13]。枇杷愈疮方中以枇杷叶、侧柏叶为君，轻清上焦，肃肺凉营，使肺胃壅遏之火热得以宣透外解。黄芩、黄连直折肺胃实火，燥湿解毒；桑白皮、地骨皮泻肺中伏热，导热下行；苍术、白术燥湿健脾，杜绝湿浊再生之源，共为臣药。白花蛇舌草清热解毒、消痈散结；茯苓、陈皮、半夏取二陈汤之旨，燥湿化痰，散结消滞；山楂活血消滞，俱为佐药，分消湿热瘀滞。皂角刺引诸药直达皮肤毛窍，托毒排脓，使邪有出路而行使药之职。全方共奏清解肺胃、健脾化湿解毒之功。盐酸米诺环素是国内外痤疮治疗指南推荐的中度炎症性痤疮一线口服药物，具有明确的抗炎活性且对皮肤屏障功能影响较小^[1]，故本研究选择盐酸米诺环素作为阳性对照药物，且灌胃给药途径与枇杷愈疮方一致，便于组间比较。

皮肤是人体最外层的组织，其屏障功能是核心保护机制，能抵御外界有害物质侵入、防紫外线伤害，并防止水分与营养流失，狭义上指表皮渗透屏障，广义还包括物理、免疫、神经及色素等多重屏障结构，共同维持皮肤稳定与健康^[14-15]。皮肤屏障是抵御外邪、维持内环境稳定的关键结构，其核心为表皮渗透屏障，而作为角质层结构蛋白LOR、FLG可维持水合功能以及角质层的机械强度和稳定性，二者均是屏障防御功能的基础^[16]。TEWL、角质层含水量等是评估皮肤屏障功能的重要指标^[15]。痤疮的发生主要与皮脂腺分泌旺盛、*C. acnes*感染等因素有关^[17]。*C. acnes*是皮肤表面主要的共生菌，当局部菌群失衡致病菌株占优势时，可诱导促炎因子释放，引发炎症反应导致痤疮产生^[18]。寻常痤疮患者常伴皮肤屏障功能受损，其机制涉及皮脂分泌亢进、炎症持续及微生态失衡的交互作用^[19]。皮脂分泌过多既为*C. acnes*提供了有利的生存环境，也促进了角质栓形成，导致毛囊口阻塞，加剧炎症状态；炎症因子及氧化应激可破坏角质层结构，削弱屏障的完整性和防御功能，故本研究采用*C. acnes*皮内注射联合外用人工皮脂成功建立小鼠痤疮模型。研究发现，Th17细胞及其关键因子IL-17A在痤疮炎症反应中发挥关键作用^[20]，痤疮患者皮损中IL-17A水平显著升高^[4]；IL-17A在多种炎症性皮肤病中可通过影响角质形成细胞分化等方式下调FLG和LOR的表达，从而削弱皮肤屏障功能^[5, 21]。因此，本研究所关注的皮肤屏障损伤正是在此痤疮模型下，由炎症反应所引发或加重的继发性皮肤屏障损伤。

本研究结果显示，模型组小鼠表现出典型痤疮

病理特征,包括丘疹、脓疱、皮损脱屑,组织病理结果显示表皮角化过度与不全、毛囊及腺体腔内角栓形成、角质层增厚、棘层增生,以及真皮层炎性细胞密集浸润与毛细血管扩张;OCT显示皮损表皮呈现局灶性隆起,表皮与真皮界限模糊,层次结构紊乱,真皮浅层局灶性光衰减带,说明小鼠存在皮肤屏障损伤。与空白组比较,模型组TEWL值升高,角质层和表皮含水量降低,FLG与LOR蛋白免疫荧光强度降低,同时IL-17A水平升高,综合提示模型小鼠皮损组织炎症活跃且皮肤屏障功能严重受损。从动态变化趋势看,模型组小鼠TEWL值随时间持续升高,而角质层和表皮含水量则随时间逐渐降低,表明痤疮炎症可导致皮肤屏障功能持续受损,且损伤程度随病程延长而加重。经枇杷愈痤疮方干预后,痤疮小鼠皮肤OCT表现为皮损表皮厚度减轻、角质层表面趋于平整、真表皮分界清晰等,提示该方可促进皮肤结构的修复与恢复;多功能皮肤成像系统和HE染色亦显示小鼠皮损严重程度减轻;同时,IL-17A水平和TEWL值降低,皮肤角质层和表皮含水量升高,皮损组织FLG、LOR蛋白免疫荧光强度升高,均可提示枇杷愈痤疮方不仅显著减轻了痤疮炎症反应,还同步改善了皮肤屏障损伤。枇杷愈痤疮方干预后,重复测量方差分析显示时间×组别交互作用显著,提示枇杷愈痤疮方组与模型组的变化趋势存在显著差异。与模型组比较,枇杷愈痤疮方组TEWL值上升幅度显著减缓,皮肤角质层和表皮含水量降低幅度亦明显减小。其动态变化轨迹的改善充分表明,枇杷愈痤疮方能够有效减轻痤疮炎症对皮肤屏障的进行性损害,显著降低TEWL的升高幅度和含水量的下降幅度,改善炎症后皮肤屏障功能。米诺环素作为本研究的阳性对照,亦能有效降低模型小鼠皮损组织IL-17A水平,减轻皮肤屏障损伤。枇杷愈痤疮方在抗炎方面与之疗效相当,但在屏障功能改善上略优,提示米诺环素主要通过抗菌抗炎发挥作用,而枇杷愈痤疮方可能通过更为全面的机制参与屏障功能修复,体现中药复方多靶点调控的特点。

综上,枇杷愈痤疮方干预痤疮模型小鼠皮损组织IL-17A水平降低,可视为其抗炎效应的结果,且屏障功能指标同步提升,FLG、LOR蛋白水平升高,表明该方可能通过抑制IL-17A介导的炎症反应,缓解其对皮损组织角质形成的抑制,从而间接促进屏障相关蛋白FLG与LOR的恢复,修复因炎症而受损的皮肤屏障,体现出枇杷愈痤疮方抗炎合并促进屏障修复的双重痤疮治疗作用路径。本实验的仅观

察了给药后5天的短期效果,未能明确方剂的量效关系,也未对IL-17A信号通路其他相关因子进行检测,后续可开展相关研究以明确其分子机制。

参考文献

- [1]中国痤疮治疗指南专家组.中国痤疮治疗指南(2019修订版)[J].临床皮肤科杂志,2019,48(9):583-588.
- [2]杨力,林新瑜.痤疮与皮肤屏障的研究进展[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2021,20(4):416-419.
- [3]STALDER J F, TENNSTEDT D, DELEURAN M, et al. Fragility of epidermis and its consequence in dermatology [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2014, 28 (Suppl 4): 1-18.
- [4]FARAG A G A, MARAEE A H, RIFAAT AL-SHARAKY D, et al. Tissue expression of IL-17A and FOXP3 in acne vulgaris patients [J]. J Cosmet Dermatol, 2021, 20(1): 330-337.
- [5]FURUE M. Regulation of filaggrin, loricrin, and involucrin by IL-4, IL-13, IL-17A, IL-22, AHR, and NRF2: pathogenic implications in atopic dermatitis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5382.
- [6]姜颖娟,杨碧莲,孔宇虹,等.李元文教授治疗痤疮经验[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2017,16(4):368-369.
- [7]李雪,李元文,任雪雯,等.李元文教授辨治痤疮的临床思路与学术特色探析[J].世界中医药,2019,14(12):3325-3328.
- [8]邓宇童.枇杷愈痤疮方治疗寻常痤疮肺胃蕴热证的临床疗效观察和机制研究[D].北京:北京中医药大学,2025.
- [9]WERTZ P W. Human synthetic sebum formulation and stability under conditions of use and storage [J]. Int J Cosmet Sci, 2009, 31(1): 21-25.
- [10]KOLAR S L, TSAI C M, TORRES J, et al. Propionibacterium acnes-induced immunopathology correlates with health and disease association [J]. JCI Insight, 2019, 4(5): e124687.
- [11]魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2010:1698.
- [12]李元文.中医皮肤病学[M].北京:科学出版社,2023:224-227.
- [13]易雪晴,王琳梓,方玉甫.中医药治疗痤疮的现状与研究进展[J].中国美容医学,2025,34(5):189-193.
- [14]涂颖,何黎.表皮的渗透屏障与其他屏障功能相关研究进展[J].皮肤科学通报,2017,34(4):379-382.
- [15]中华医学会医学美学与美容学分会皮肤美容学组.修复皮肤屏障功能的专家共识[J].中华医学美容杂志,2022,28(1):1-4.
- [16]番晓清,何黎.皮肤屏障受损与相关性皮肤病的研究

- 进展[J]. 皮肤病与性病, 2021, 43(6): 741-743.
- [17]张天博, 白彦萍. 寻常痤疮的治疗研究进展[J]. 中西医结合皮肤性病学杂志, 2019, 18(2): 180-182.
- [18]DAGNELIE M A, CORVEC S, SAINT-JEAN M, et al. *Cutibacterium acnes* phylotypes diversity loss: a trigger for skin inflammatory process[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2019, 33(12): 2340-2348.
- [19]DENG Y, WANG F, HE L. Skin barrier dysfunction in acne vulgaris: pathogenesis and therapeutic approaches[J]. Med Sci Monit, 2024, 30: e945336. doi: 10.12659/MSM.945336.
- [20]KELHÄLÄ H L, PALATSI R, FYHRQUIST N, et al. IL-17/Th17 pathway is activate in acne lesions[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e105238.
- [21]PFAFF C M, MARQUARDT Y, FIETKAU K, et al. The psoriasis-associated IL-17A induces and cooperates with IL-36 cytokines to control keratinocyte differentiation and function[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15631.

Effect of *Pibai Yucuo Formula* (枇杷愈瘰方) on Inflammatory Response in Lesional Tissue and Skin Barrier Damage in Acne Model Mice

LIU-TANG Yunni¹, DENG Yutong², HE Gaiying³, FENG Huishang⁴, REN Xuwen⁵, FANG Yimei², WANG Xuewan¹, LI Yatong¹, CAI Lingling², LI Yuanwen²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 3. Medical Laboratory Center, China Academy of Chinese Medical Sciences; 4. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; 5. Shanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medical

ABSTRACT **Objective** To investigate the possible mechanism of *Pibai Yucuo Formula* (枇杷愈瘰方, PYF) in treating acne from the perspective of skin barrier damage. **Methods** Thirty-two mice were randomly divided into blank group, model group, minocycline group, and PYF group, with 8 mice in each group. Except for the blank group, mice were induced by intradermal injection of *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) combined with topical application of artificial sebum to establish acne model. The blank group and model group received intragastric administration of 0.2 ml of distilled water, while the PYF group received intragastric administration of 22.75 g/(kg·d) of PYF, and the minocycline group received 0.013 g/(kg·d) of minocycline suspension, all once daily for 5 consecutive days. On day 0 and day 6 of the experiment, the body weight of mice in each group was recorded, and the absolute value of the body weight difference during the experiment was calculated. Skin conditions were assessed with multifunctional skin imaging system on the 2nd, 4th and 6th day of the experiment. Skin barrier function indicators including transepidermal water loss (TEWL), and the water content of the stratum corneum and epidermis on day 0, 2, 4 and 6 of the experiment. Optical coherence tomography (OCT) was used to observe stratum corneum and skin thickness on the 1st, 3rd and 5th day of the experiment. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe histopathological changes, while ELISA was used to detect interleukin-17A (IL-17A) levels, and immunofluorescence staining was used to assess skin barrier-related proteins filaggrin (FLG) and loricrin (LOR) levels of skin lesions on day 6 of the experiment. **Results** Compared to the blank group, the model group showed a decrease in body weight on day 6, and an increase in the absolute value of the difference in body weight before and after the experiment ($P < 0.05$). On day 4 and 6, TEWL values increased, while water content in the skin stratum corneum and epidermis decreased ($P < 0.05$), accompanied by elevated IL-17A level and reduced immunofluorescence intensity of FLG and LOR proteins ($P < 0.05$). The model group mice showed papules or pustules at the skin modeling site with progressively worsening desquamation under multifunctional skin imaging system. OCT revealed focal epidermal protrusions, blurred epidermal-dermal boundaries, and disorganized structural layers. HE staining showed significant epidermal hyperkeratosis and incomplete keratinization in the skin, with keratin plug formation in hair follicles and glandular lumens, thickened stratum corneum, hyperplasia of the stratum spinosum, as well as dense dermal inflammatory cell infiltration, and capillary dilation. Compared to the model group, both the minocycline group and the PYF group showed a reduced difference in body weight before and after experiment ($P < 0.05$). On day 4 and 6, the TEWL value decreased, and water content of the skin stratum corneum increased ($P < 0.05$); on day 6, the IL-17A level in the skin lesions decreased and immunofluorescence intensity of FLG and LOR proteins increased ($P < 0.05$). On day 4 and 6, the severity of the skin lesions and range of redness and swelling were lighter than those in the model group, with reverted epidermal thickness, smoother surface and clearer epidermis-dermis boundary. HE staining showed that the degree of skin keratinization was reduced, and the inflammatory infiltration and vascular dilation in the dermis were improved compared to the model group. The PYF group showed better results than the minocycline group in reducing TEWL value on day 4 ($P < 0.05$). **Conclusion** PYF may improve inflammation and skin barrier damage by downregulating IL-17A levels in lesion tissue and increasing skin barrier-related proteins, which could be one of the potential mechanism of action on acne.

Keywords acne; skin barrier; interleukin-17A; filaggrin; loricrin; *Pibai Yucuo Formula* (枇杷愈瘰方)

(收稿日期: 2025-09-11; 录用日期: 2026-01-05; 修回日期: 2026-04-21)

[编辑: 姜冰]