

☆ XXXX ☆

电针对特应性皮炎小鼠皮肤屏障、瘙痒及免疫失衡的整体调控作用机制

唐倩^{1,2,3}, 周聪^{1,2,3}, 田赐秋^{1,2,3}, 陆大敏^{1,2,3}, 周民锋⁴, 黄桂晨⁴, 田浩然^{1,2,3}, 吴群⁵, 梁凤霞^{1,2,3}
(¹湖北中医药大学针灸骨伤学院, 武汉 430061; ²针灸治未病湖北省协同创新中心, 武汉 430061;
³湖北时珍实验室, 武汉 430060; ⁴华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科, 武汉
430022; ⁵武汉市第八医院, 武汉 430000)

【摘要】 目的:探讨电针对特应性皮炎(AD)小鼠皮肤屏障、炎性反应和瘙痒的影响及其机制。方法:40只雌性BALB/c小鼠随机分为正常组、模型组、电针组和假电针组($n=10$)。除正常组外,其余组小鼠均用卡泊三醇(MC903)局部滴涂14d诱导AD模型。电针干预与造模同步进行(“足三里”+皮损围刺,100 Hz, 3 mA, 30 min/日,隔日1次);假电针组穴位旁浅刺不导电。干预前后评估皮损(SCORAD评分)和搔抓行为。干预结束后,采用HE染色检测皮肤组织病理变化并计算表皮厚度;ELISA法检测血清IgE、白细胞介素-4(IL-4)、IL-5和IL-13水平;Western blot法和qPCR法检测皮肤丝聚蛋白(FLG)、兜甲蛋白(LOR)、IL-4、IL-31、降钙素基因相关肽(CGRP)和瞬时受体电位香草酸亚型1(TRPV1)的蛋白及mRNA表达。结果:与正常组相比,模型组小鼠皮损评分和抓挠次数增加($P<0.01$)、皮肤增厚并出现炎性浸润,血清免疫球蛋白E(IgE)、IL-4、IL-5和IL-13含量均显著增高($P<0.01$),皮肤屏障蛋白FLG、LOR蛋白及mRNA表达均降低($P<0.01$),皮肤中的炎性瘙痒因子IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1蛋白及mRNA表达均升高($P<0.01$)。与模型组比,电针组皮损评分和抓挠次数减少($P<0.01$)、血清炎性因子IgE、IL-4、IL-5和IL-13含量均降低($P<0.01$),皮肤中FLG、LOR蛋白及mRNA表达增加($P<0.01$),而皮肤中的炎性瘙痒因子IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1蛋白及mRNA表达均减少($P<0.01$)。电针组作用显著优于假电针组($P<0.01$)。结论:电针可能通过上调FLG、LOR修复皮肤屏障,抑制CGRP释放,并降低IL-4、IL-5、IL-13、IL-31等水平,从而减轻AD炎性反应、瘙痒及免疫失衡,发挥整体调控作用。

【关键词】 电针;特应性皮炎;皮肤屏障;瘙痒;免疫失衡

Mechanism underlying the overall regulatory effect of electroacupuncture on skin barrier, itch and immune imbalance in mice with atopic dermatitis

TANG Qian^{1,2,3}, ZHOU Cong^{1,2,3}, TIAN Ci-qiu^{1,2,3}, LU Da-min^{1,2,3}, ZHOU Min-feng⁴, HUANG Gui-chen⁴, TIAN Hao-ran^{1,2,3}, WU Qun⁵, LIANG Feng-xia^{1,2,3} (¹College of Acupuncture-Moxibustion and Orthopedics & Traumatology, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China; ²Hubei Provincial Collaborative Innovation Center of Preventive Treatment by Acupuncture and Moxibustion, Wuhan 430061; ³Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430060; ⁴Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022; ⁵The Eighth Hospital of Wuhan, Wuhan 430000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the effect of electroacupuncture (EA) on skin barrier function, inflammatory response, and itching in mice with atopic dermatitis (AD), so as to explore its underlying mechanism.

Methods Forty female BALB/c mice were randomly divided into a normal group, a model group, an EA group, and a sham EA group ($n=10$ per group). Except for the normal group, mice in all other groups were induced with topical

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20251091

引用格式:唐倩,周聪,田赐秋,等.电针对特应性皮炎小鼠皮肤屏障、瘙痒及免疫失衡的整体调控作用机制[J].针刺研究,XXXX,XX(X):1-11.

项目来源:湖北省自然科学基金联合项目(No.2024ADF272);针灸治未病湖北省协同创新中心科研项目(No.HBPCIC-2023-01);孝感市自然科学基金项目(No.XGKJ2025010005);湖北中医药大学2025年度博士研究生创新能力提升计划项目(No.2025BSCX04)

通信作者:吴群,E-mail:87522062@qq.com;梁凤霞,E-mail:fxliang5@hotmail.com

application of calcipotriol (MC903) for 14 days to establish an AD model. EA intervention (100 Hz, 3 mA, 30 min/day, once every other day) was performed at Zusanli (ST36) plus perilesional acupuncture synchronously with modeling. The sham EA group received shallow insertion adjacent to acupoints without electrical stimulation. Skin lesions (SCORAD score) and scratching behavior were evaluated before and after intervention. After intervention, histopathological changes in skin tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and epidermal thickness was measured. Serum levels of immunoglobulin E (IgE), interleukin-4 (IL-4), IL-5, and IL-13 were detected by ELISA. Protein and mRNA expressions of filaggrin (FLG), loricrin (LOR), IL-4, IL-31, calcitonin gene-related peptide (CGRP), and transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) in skin were determined by Western blot and qPCR, respectively. **Results** Compared with the normal group, the model group showed increased skin lesion scores and scratching frequency ($P<0.01$), skin thickening and inflammatory infiltration, significantly elevated serum IgE, IL-4, IL-5, and IL-13 contents ($P<0.01$), down-regulated protein and mRNA expressions of skin barrier proteins FLG and LOR ($P<0.01$), and up-regulated protein and mRNA expressions of inflammatory and pruritic factors IL-4, IL-31, CGRP, and TRPV1 in skin ($P<0.01$). Compared with the model group, the EA group exhibited reduced skin lesion score and scratching times ($P<0.01$), decreased serum levels of inflammatory factors IgE, IL-4, IL-5, and IL-13 ($P<0.01$), increased protein and mRNA expressions of FLG and LOR in skin ($P<0.01$), and down-regulated protein and mRNA expressions of inflammatory and pruritic factors IL-4, IL-31, CGRP, and TRPV1 in skin ($P<0.01$). The effect in the EA group was significantly superior to that in the sham EA group ($P<0.01$). **Conclusion** EA may repair the skin barrier by up-regulating FLG and LOR, inhibit CGRP release, and reduce the levels of IL-4, IL-5, IL-13, IL-31, etc., thereby alleviating inflammation, itching, and immune imbalance in AD, exerting an overall regulatory effect.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; Atopic dermatitis; Skin barrier; Itch; Immune imbalance

特应性皮炎(AD)是一种常见的慢性炎性皮肤病,以剧烈瘙痒为主要特征,并位居非致命性皮肤病发病率之首。目前全球受AD影响的人口已超过20亿,且其患病率仍呈持续上升趋势^[1-2]。AD的发病机制复杂,其中免疫系统异常活化是核心环节^[2]。当前AD的临床治疗策略主要包括光疗,以及以局部外用糖皮质激素、钙调神经磷酸酶抑制剂等非激素类抗炎药和润肤剂为基础的方案,辅以系统性免疫抑制剂,旨在控制局部炎症反应症状。然而,长期治疗需求、药物相关不良反应频发、潜在依赖性、疗效个体差异显著等因素,严重制约了现有药物的临床应用^[3-5]。因此,深入解析AD的核心病理机制并探索安全有效的整体治疗策略,已成为该领域研究的重要方向。

近年来研究表明,AD的发病机制不仅涉及免疫失调,更与感觉神经元和免疫细胞之间的复杂交互密切相关,形成“神经免疫单元”^[6]。一方面,AD皮损中,角质形成细胞和免疫细胞,如辅助性T细胞(Th)2、肥大细胞释放白细胞介素-31(IL-31)等炎症瘙痒介质通过直接激活皮肤中的感觉神经元诱发持续性瘙痒;另一方面,活化的神经元释放P物质、降钙素基因相关肽(CGRP)等神经肽进一步促进Th2分化和白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-13(IL-13)释放,增强2型炎症反应。由此可见,AD的神经免疫调控网络通过双向交互驱动疾病进程。

因此,AD的治疗策略不应仅局限于免疫系统调控,更需全面阻断神经-免疫交互的恶性循环。

基于其安全、有效、操作方便等优势,针灸被广泛用于治疗牛皮癣、荨麻疹和AD等炎性皮肤病^[7]。与现代药物治疗相比,针灸已被证明能够有效改善慢性湿疹皮肤瘙痒症状,并具有长期疗效^[8]。研究^[7-9]指出,针刺通过外周和中枢机制调节免疫功能对AD发挥整体调节效应。这与中医针灸具有“标本兼治,调和阴阳”的作用不谋而合,突显了中医针灸治疗AD的独特优势。因此,基于上述背景,本研究聚焦针灸通过调控神经-免疫网络,深入研究电针在AD治疗中的作用机制,将为针灸治疗炎性皮肤病提供新思路 and 科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

SPF级雌性BALB/c小鼠40只,体质量18~22g,购于长沙市天勤生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2024-0021。饲养于湖北中医药大学实验动物中心SPF动物实验室,室内温度22~24℃,相对湿度40%~60%,12h明/暗交替,自由摄食、饮水,适应性喂养1周。从40只小鼠中随机选取10只作为正常组,其余30只诱导AD小鼠模型,将造模成功的小鼠分为模型组、电针组和假电针组,每组10只。本实验通过湖北中医药大学动物

实验中心伦理委员会伦理审批(批准号:HUCMS58884767)。本实验过程中对动物的处置符合科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》和相关伦理规定^[10]。

1.2 主要试剂与仪器

卡泊三醇(MC903,上海阿拉丁),HE染色试剂盒(上海碧云天),RNA反转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒(日本TOYOBO),ELISA试剂盒(上海酶联),丝聚蛋白(FLG)抗体(A23193)、兜甲蛋白(LOR)抗体(A21039)、IL-4抗体(A24733)、IL-31抗体(A14982)、CGRP抗体(A5542)、瞬时受体电位香草酸亚型1(TRPV1)抗体(A8564)、 β -actin抗体(AC038)和山羊抗兔IgG二抗(AS014)均购自武汉爱博泰克。

一次性使用无菌针灸针(0.22 mm \times 13 mm,北京中研太和),LH202H型韩氏电针仪(南京济生),酶标仪(上海美谷),DYY-7C型电泳仪(北京六一),化学发光成像系统(美国Bio-Rad),实时荧光定量PCR仪(苏州东胜),显微镜(德国蔡司)。

1.3 模型制备

参考文献^[11]建立MC903诱导的AD小鼠模型。使用异氟烷(浓度为2%)对小鼠进行吸入性麻醉,2~3 min内以小鼠翻正反射消失、保持呼吸与心率

等基础生命体征为标准确认麻醉深度,随后使用脱毛膏对小鼠背部以2 cm \times 2 cm的面积进行脱毛。将MC903溶于100%乙醇,每天局部滴涂40 μ L MC903溶液(2 nmol)于小鼠背部皮肤,连续给药14 d诱导AD模型;同时,正常组小鼠背部滴涂40 μ L 100%乙醇作为溶剂对照。造模成功的小鼠可见其背部脱毛处皮肤具有红斑、丘疹、水肿、鳞屑覆盖等症状表现。

1.4 干预方法

电针组:干预从造模当天开始。穴位参考《实验动物常用穴位名称与定位 第3部分:小鼠》^[12],取双侧“足三里”和背部皮损局部外围进行围刺。操作:小鼠取俯卧位固定于鼠架台上,局部皮肤常规消毒,选用0.22 mm \times 13 mm一次性针灸针,“足三里”直刺2 mm,背部皮损围刺1 mm,同侧背部皮损周围围刺针与同侧“足三里”接为一组电针,选用连续波、电流3 mA、频率100 Hz,每次30 min,隔日1次,共14 d。

假电针组:小鼠固定方式、干预时间和频次同电针组。针刺选取背部非皮损区域、非经穴部位(距离皮损边缘约5 mm),以及双侧后肢“足三里”旁开2 mm非经穴点,针刺为浅刺(深度约1 mm),不通电。造模及干预时间见图1。

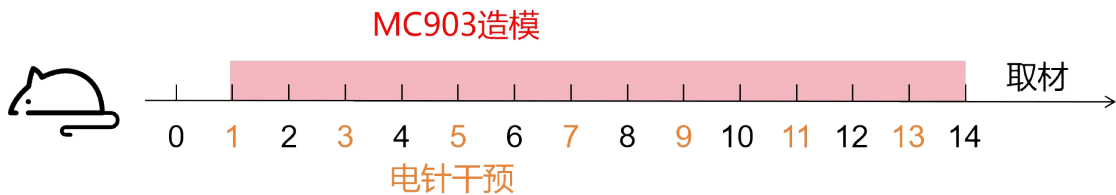


图1 特应性皮炎小鼠的造模及干预时间流程图

Fig. 1 Time flow chart of modeling and intervention in atopic dermatitis mice

1.5 观察指标及检测方法

小鼠皮肤状态及皮损特应性皮炎评分(SCORAD):分别于实验的第1、5、10、14天采用SCORAD评分方法对小鼠背部皮损的严重程度进行评分,评分包括4种症状,分别评定为0分、1分、2分、3分,皮损严重度总分为4项症状评分相加(总分0~12分),具体评分标准见表1。

小鼠抓挠行为检测:分别于造模的第14天将各组小鼠置于10 cm \times 10 cm \times 10 cm的透明观察笼中,适应5 min后,在安静环境下持续拍摄30 min,由另外2位不知分组情况的研究人员计数小鼠抓挠次数。小鼠后爪离开地面,对颈背部皮损区域抓挠1次或多次并后爪落地,为1次抓挠。

取材:干预结束后当日将小鼠使用异氟烷(3%,300~500 mL/min)吸入麻醉进行处死,摘眼球法取小鼠静脉血约0.5 mL置于离心管中,静置2 h后4 $^{\circ}$ C离心15 min,取上清液,-80 $^{\circ}$ C保存用于ELISA检测;收集背部皮损区域中的皮肤组织放置在4%多聚甲醛中固定用于HE染色检测;其余背部皮损组织置于冻存管中,-80 $^{\circ}$ C保存用于Western blot和qPCR检测。

HE染色观察小鼠皮肤组织病理形态变化:取多聚甲醛固定好的小鼠背部皮损区域皮肤组织,经过洗涤、脱水、透明处理,进行石蜡包埋固定,切片机制备厚度为5 μ m的组织切片,HE染色,中性树脂封片,在光学显微镜下观察各组小鼠皮肤组织病理

表1 小鼠皮损评分表
Table 1 Skin lesion score in mice

皮损形态	评分	
红斑/出血	0分:未见红斑	1分:少许红斑,颜色较淡
	2分:片状红斑,颜色鲜红	3分:红斑泛发,颜色鲜红或紫红,皮温升高
渗出或结痂	0分:无渗出	1分:渗出较少,点状浆痂
	2分:渗出伴片状浆痂	3分:渗出较多,可见明显浆液、结痂
干燥或脱屑	0分:未见干燥或脱屑	1分:表皮轻度干燥或脱屑
	2分:表皮中度干燥或脱屑	3分:表皮重度干燥或脱屑
脱落、糜烂	0分:皮损未见脱落、糜烂	1分:皮损可见点状脱落、糜烂
	2分:皮损脱落、糜烂明显,呈小片散在	3分:皮损脱落、糜烂明显,呈大片分布

学形态改变,使用 Image J 软件测量表皮厚度(μm)。

ELISA 法检测小鼠血清免疫球蛋白 E(IgE)、IL-4、IL-5、IL-13 含量:取小鼠静脉血上清液,严格按照相应试剂盒说明书操作,复温后在酶标板中依次加入梯度浓度的标准品和样本,并设置空白孔、标准孔和样本孔。封板后 37 °C 恒温孵育,洗涤,加生物素化抗体工作液,温育洗涤后加酶结合物工作液,温育洗涤后再加显色底物,避光温育,最后加入终止液,使用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度值。并根据标准品的浓度和吸光度值对应关系绘制标准曲线,将样本的平均吸光度值代入曲线方程中得到样本浓度。

Western blot 法检测小鼠皮肤组织 FLG、LOR、IL-4、IL-31、CGRP、TRPV1 蛋白表达:取小鼠皮肤组织,冰上研磨裂解后离心,取上清液用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度,上样后进行电泳、转膜、封闭,FLG(1:2 000)、LOR(1:800)、IL-4(1:4 000)、IL-31(1:1 200)、CGRP(1:3 000)、TRPV1(1:700)、 β -actin(1:10 000)抗体 4 °C 孵育过夜。次日 4 °C 孵育二抗(1:8 000)2 h,显影后得到条带,使用 Image J 软件分析条带灰度值,并分析目的蛋白条带与内参 β -actin 条带的灰度值比值,以该比值作为目的蛋白的相对表达量,并以正常组作为对照进行归一化。

实时荧光定量 PCR 法检测小鼠皮肤组织 FLG、LOR、IL-4、IL-31、CGRP、TRPV1 mRNA 表达:取 15 mg 皮肤组织加入 1 mL RNA 提取液冰上研磨,离心后取上清,100 μL 氯仿替代物充分混匀,离心后取上清加入异丙醇沉淀 RNA,加入 1 mL 75% 乙醇混匀并洗涤 RNA,使用 RNA 溶解液溶解 RNA 并进行浓度和纯度检测。按照 DNA 去除与反转录试剂盒说明书步骤进行 cDNA 合成。使用荧

光定量 PCR 仪进行扩增反应,扩增条件为 95 °C 预变性 30 s;95 °C 变性 15 s,60 °C 退火加延伸 30 s,共 40 个循环。记录每孔 Ct 值后使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因相对表达量。引物信息见表 2。

表2 引物序列
Table 2 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
FLG	上游 CTGGGAGGCAAGCTACAACAAC	88
	下游 GTCTGCTCTGGGTCTTCTGTTTC	
LOR	上游 GTGCTTCAGGGTAACCCTTCTC	92
	下游 AGAGGTCTTTCCACAACCCACA	
IL-4	上游 CAGCTAGTTGTGCATCCTGCTCTTC	118
	下游 TCCCTTCTCCTGTGACCTCGTT	
IL-31	上游 TGCCTTCCTGTGTGGAACAA	101
	下游 TCGATATTGGGGCACCAGAAG	
CGRP	上游 CACCGCTCACCAGGAAGG	83
	下游 ATGCCTGGTACAGGAGCAAG	
TRPV1	上游 ACTCTTACCACACAGCAGCC	99
	下游 GCCCAATTTGCAACCAGCTA	
β -actin	上游 CACTGTGCGAGTCGCGTCC	89
	下游 TCATCCATGGCGAACTGGTG	

注:FLG 为丝聚蛋白,LOR 为兜甲蛋白,IL-4 为白细胞介素-4,IL-31 为白细胞介素-31,CGRP 为降钙素基因相关肽,TRPV1 为瞬时受体电位香草酸亚型 1。

1.6 统计学处理

数据采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行分析和作图。计量资料采用均数士标准差($\bar{x}\pm s$)表示。符合正态分布的数据组间比较采用单因素方差分析,若方差齐则两两比较采用 LSD 检验,方差不齐则采

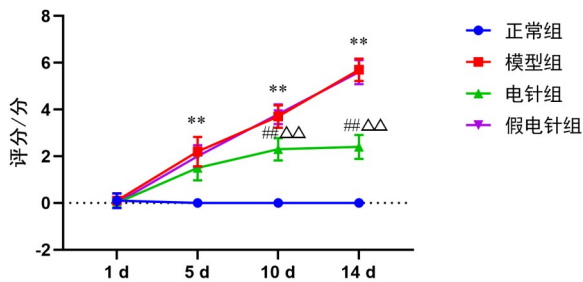
用 Games-Howell 法检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 电针对 AD 小鼠皮损严重程度的影响

电针干预结束后各组小鼠背部皮损情况见图 2。正常组小鼠备皮区外观正常；模型组小鼠备皮区出现明显皮肤干燥、增厚、片状红斑及脱屑；电针组小鼠备皮区出现增厚、轻微干燥，无明显红斑及脱屑；假电针组背部皮肤明显干燥、片状红斑及脱屑。

实验期间，对各组小鼠进行了阶段性的皮损严重程度评分，结果显示：实验第 5 天开始，与正常组相比，模型组小鼠皮损评分显著增加 ($P < 0.01$)；实验第 10 天开始，与模型组和假电针组相比，电针组小鼠皮损评分显著降低 ($P < 0.01$)，见图 2。



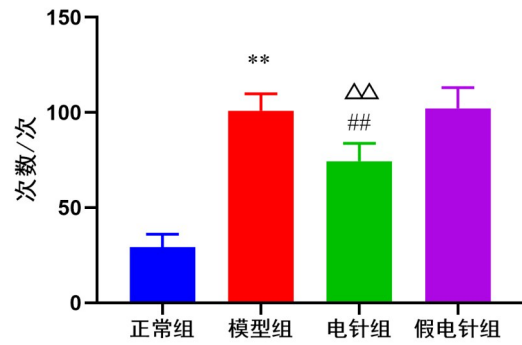
注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$ ；与假电针组比较，ΔΔ $P < 0.01$ 。

图 2 各组小鼠皮损外观和不同时间点皮损评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 10 只鼠/组)

Fig. 2 Comparison of skin lesion appearance and dermatitis scores at different time points of mice in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 10 mice/group)

2.2 电针对 AD 小鼠抓挠次数的影响

电针干预结束后各组小鼠进行了抓挠次数结果显示：与正常组相比，模型组小鼠抓挠次数显著增加 ($P < 0.01$)；与模型组和假电针组相比，电针组小鼠抓挠次数明显减少 ($P < 0.01$)，见图 3。



注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$ ；与假电针组比较，ΔΔ $P < 0.01$ 。

图 3 各组小鼠抓挠次数比较 ($\bar{x} \pm s$, 10 只鼠/组)

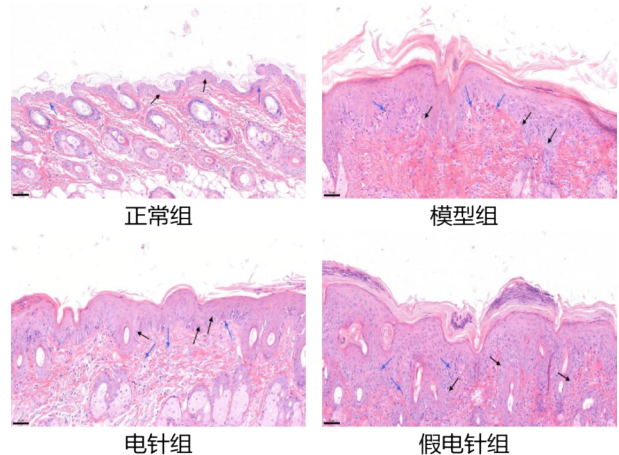
Fig. 3 Comparison of scratching frequency of mice in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 10 mice/group)

2.3 电针对 AD 小鼠皮肤组织病理的影响

正常组小鼠皮肤组织厚度正常，为 $(26.83 \pm 2.78) \mu\text{m}$ ，未见明显炎性细胞浸润；AD 模型小鼠皮肤表皮厚度增至 $(124.21 \pm 6.02) \mu\text{m}$ ，伴角质层过度角化，局部可见淋巴细胞、中性粒细胞等炎性细胞主要浸润于表皮-真皮交界处及真皮浅层；与模型组相比，电针组小鼠皮损厚度降低，为 $(79.74 \pm 9.54) \mu\text{m}$ ，炎性细胞浸润减少；与电针组相比，假电针组小鼠表皮出现增厚至 $(134.74 \pm 27.33) \mu\text{m}$ ，炎性细胞浸润增加，见图 4、图 5。

2.4 电针对各组小鼠血清炎性指标含量的影响

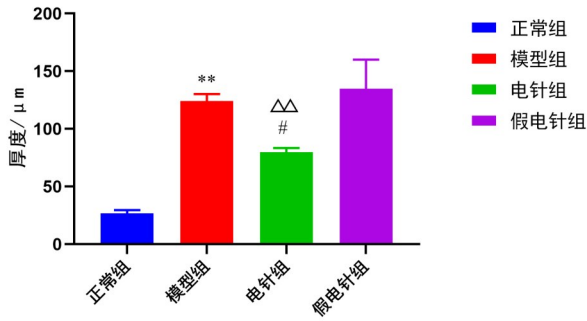
与正常组相比，模型组小鼠血清 IgE、IL-4、IL-5 和 IL-13 含量均显著增加 ($P < 0.01$)；与模型组相



注：黑色箭头示中性粒细胞，蓝色箭头示淋巴细胞。标尺 = $50 \mu\text{m}$ 。

图 4 各组小鼠皮肤组织病理形态学比较 (HE 染色)

Fig. 4 Comparison of histopathological morphology of skin of mice in the 4 groups (HE staining)



注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$;与假电针组比较,△△ $P < 0.01$ 。

图5 各组小鼠皮肤表皮厚度比较($\bar{x} \pm s$, 3只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of epidermal thickness of mice in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 3 mice/group)

比,电针组小鼠血清IgE、IL-4、IL-5和IL-13含量均明显减少($P < 0.01$);与假电针组相比,电针组小鼠血清IgE、IL-4、IL-5和IL-13含量均明显减少($P < 0.01$),见图6。

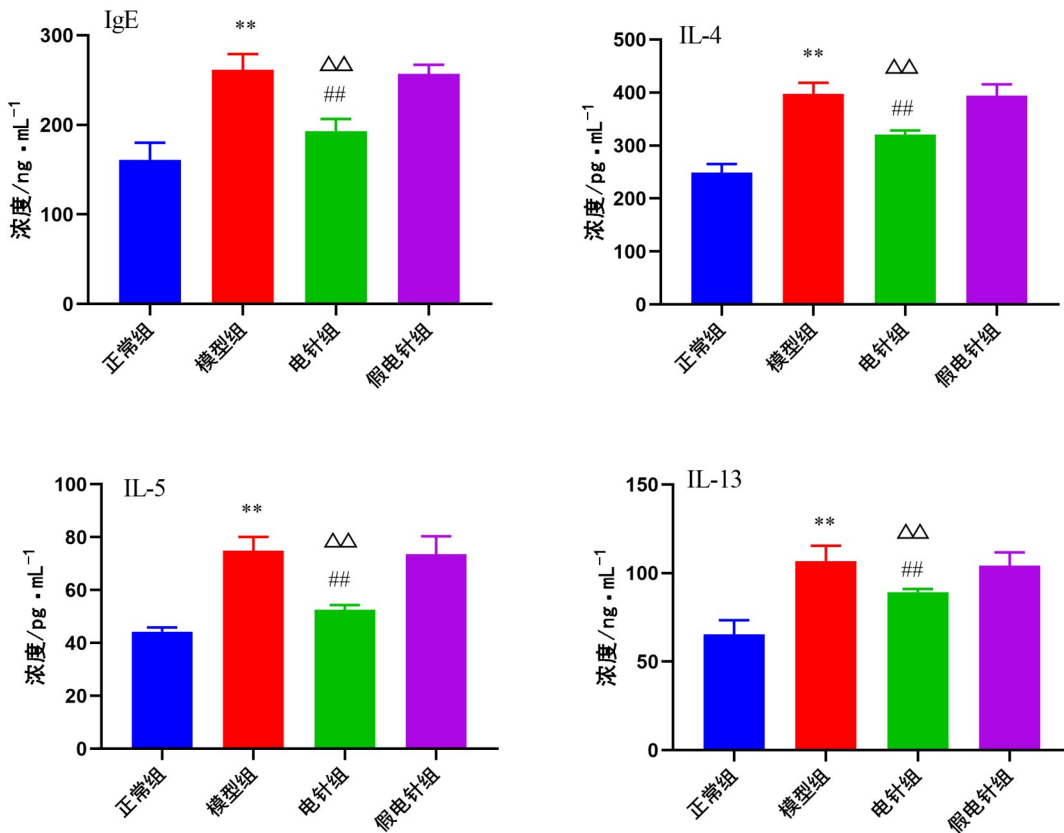
2.5 电针对小鼠皮肤组织中FLG、LOR、IL-4、IL-

31、CGRP、TRPV1蛋白表达的影响

与正常组相比,模型组小鼠皮肤组织中FLG和LOR的蛋白表达显著降低($P < 0.01$),IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1的蛋白表达显著增加($P < 0.01$);与模型组相比,电针组小鼠皮肤组织中FLG和LOR的蛋白表达显著增加($P < 0.01$),IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1的蛋白表达显著降低($P < 0.01$);与假电针组相比,电针组小鼠皮肤组织中FLG和LOR的蛋白表达显著增加($P < 0.01$),IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1的蛋白表达显著降低($P < 0.01$),见图7。

2.6 电针对小鼠皮肤组织中FLG、LOR、IL-4、IL-31、CGRP、TRPV1 mRNA表达的影响

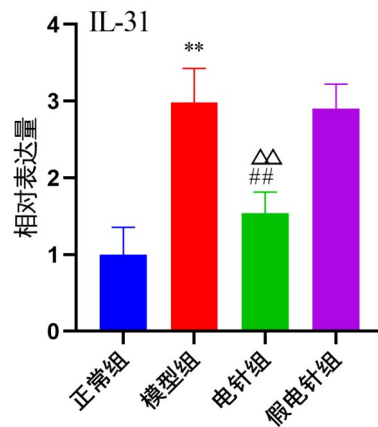
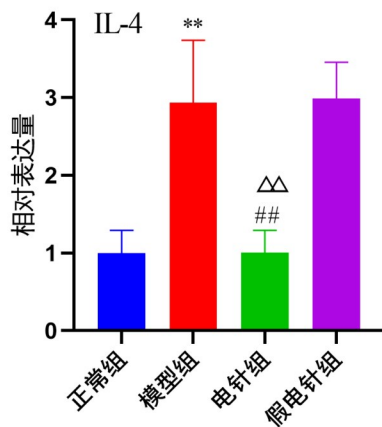
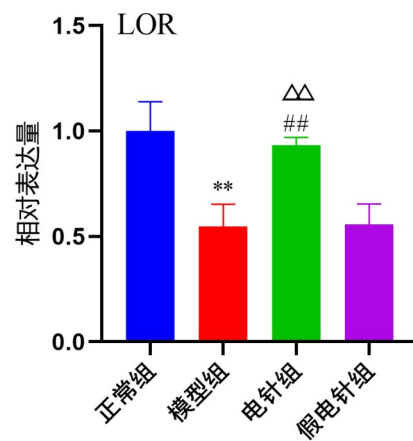
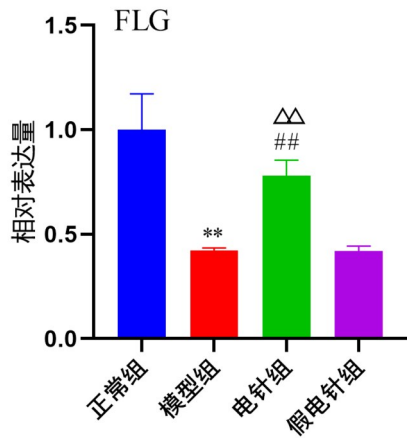
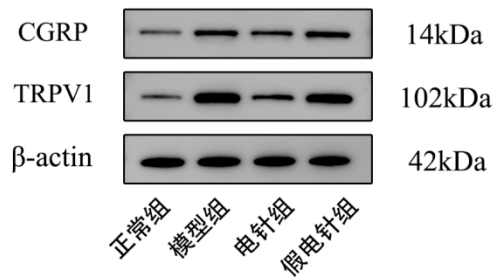
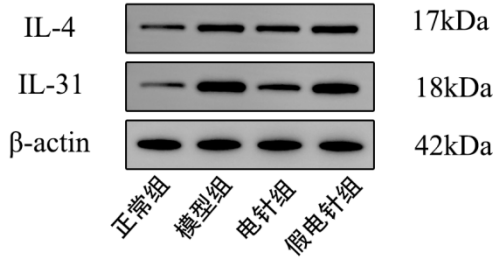
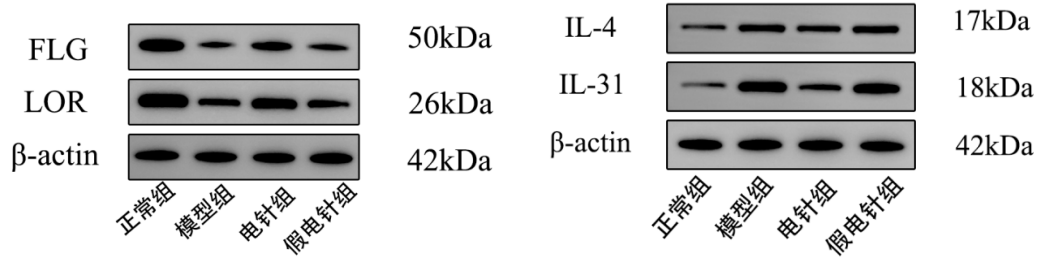
与正常组相比,模型组小鼠皮肤组织中FLG和LOR的mRNA表达显著降低($P < 0.01$),IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1的mRNA表达显著增加($P < 0.01$);与模型组相比,电针组小鼠皮肤组织中FLG和LOR的mRNA表达显著增加($P < 0.01$),IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1的mRNA表达显著降低($P < 0.01$),见图8。

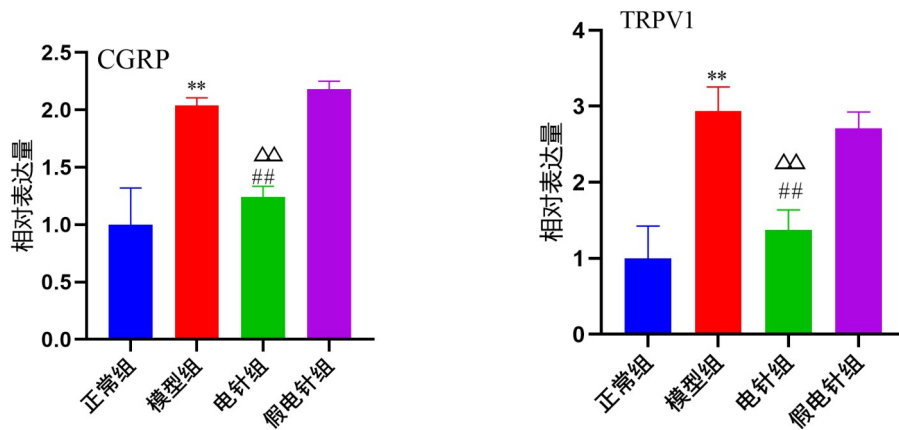


注:IL为白细胞介素,IgE为免疫球蛋白E。与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.01$;与假电针组比较,△△ $P < 0.01$ 。

图6 各组小鼠血清炎症指标含量比较($\bar{x} \pm s$, 6只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of serum inflammatory indicators contents of mice in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 mice/group)





注:FLG为丝聚蛋白,LOR为兜甲蛋白,IL-4为白细胞介素-4,IL-31为白细胞介素-31,CGRP为降钙素基因相关肽,TRPV1为瞬时受体电位香草酸亚型1。与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与假电针组比较,△△ $P<0.01$ 。

图7 各组小鼠皮肤组织中FLG、LOR、IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)

Fig.7 Comparison of protein expression of FLG, LOR, IL-4, IL-31, CGRP and TRPV1 in skin tissue of mice in the 4 groups ($\bar{x}\pm s$,3 mice/group)

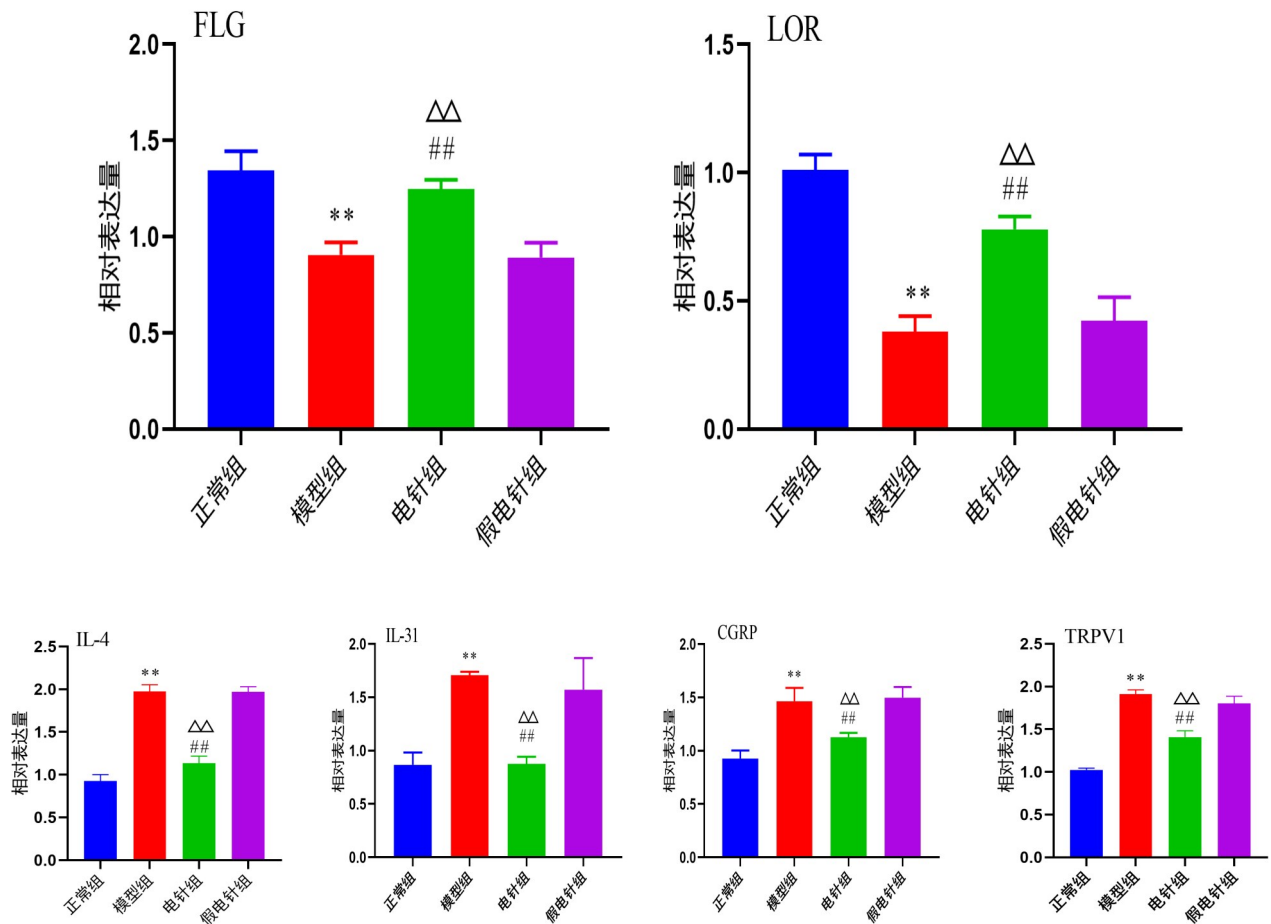
<0.01);与假电针组相比,电针组小鼠皮肤组织中FLG和LOR的mRNA表达显著增加($P<0.01$),IL-4、IL-31、CGRP和TRPV1的mRNA表达显著降低($P<0.01$),见图8。

3 讨论

在中医学中,AD被归类为“四弯风”的范畴,这一分类来源于古代医学经典《外科大成》。中医学认为,“四弯风”的发病源于个体先天禀赋不耐,随后受到外来的风、湿、热、虫、毒等因素的侵袭,饮食失调,导致人体肌表的气血不和,湿热蕴结,久之则湿热耗气伤津,致血虚风燥,肌肤失养。故本病脾虚血虚为本,风燥为标。治宜标本兼治,以健脾养血为治本,祛风止痒为治标。作为中医传统的外治法,针灸通过刺激特定的腧穴,调和阴阳平衡,疏通经络,发挥其独特的治疗作用^[13]。笔者研究团队前期基于针灸“治未病”理念,强调顾护正气的思路下提出“标本配穴”的选穴配伍法来治疗各类疾病^[14-15]。标本配穴理论强调了在治疗中选用针对正气的“本穴”(如固护后天之本的足三里和固护先天之本的关元)和针对病变局部或病位的“标穴”,标本兼治以调和阴阳平衡,疏通经络。这一理论为针灸治疗AD提供了更为系统和全面的指导,强调了治疗的个体化和整体性^[16]。因此在本研究中,选用“足三里”以健脾养血,局部皮损围刺以祛风止痒,达到标本兼治,调和阴阳的效果。

既往研究认为,皮肤屏障功能障碍和免疫失调

是AD发病的关键病理机制^[17]。FLG、LOR是皮肤屏障功能的关键蛋白^[18],FLG编码的丝聚蛋白与角蛋白中间丝相互交联形成致密的角质细胞内骨架;LOR编码的兜甲蛋白与角蛋白、丝聚蛋白等结合并交联后在角质细胞外形成坚韧的角质层包膜,二者内外配合搭建了角质层的物理屏障结构,以抵御外界损伤和微生物入侵。FLG降解后还能够生成尿酸等天然保湿因子,保障角质层含水量和屏障功能^[19]。FLG基因功能丧失或突变导致的皮肤屏障功能障碍是AD发生和持续的关键风险因素^[20-21]。皮肤屏障的缺陷引起过敏原的入侵,驱动免疫系统的过度激活,导致局部炎症反应、皮肤干燥瘙痒及对感染的易感性增加^[22]。AD以Th2介导的Th2型免疫应答为主,由Th2等免疫细胞释放的IL-4、IL-5、IL-13和IL-31等促炎因子被认为是AD慢性炎症反应的活跃分子,也是加重瘙痒的直接致痒介质。这些细胞因子通过作用于初级感觉神经元(瘙痒感受器)或改变其对其他瘙痒介质的敏感性,驱动慢性瘙痒^[23]。IL-31被认为是介导炎症性瘙痒的关键因子。临床研究表明,成人及青少年AD患者的慢性瘙痒严重程度与IL-31水平呈直接正相关^[24]。IL-31与TRPV1通路的协同作用是神经-免疫交互致痒的核心机制。AD患者皮损区皮肤中表达IL-31受体(IL-31RA)与TRPV1的共表达神经元比例显著升高,且该比例与瘙痒严重程度呈正相关^[25]。IL-31通过直接结合感觉神经元上的IL-31受体A(IL-31RA)和抑瘤素M受体 β (OSMR β)形成的异二聚



注: FLG 为丝聚蛋白, LOR 为兜甲蛋白, IL-4 为白细胞介素-4, IL-31 为白细胞介素-31, CGRP 为降钙素基因相关肽, TRPV1 为瞬时受体电位香草酸亚型 1。与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$; 与假电针组比较, △△ $P < 0.01$ 。

图 8 各组小鼠皮肤组织中 FLG、LOR、IL-4、IL-31、CGRP 和 TRPV1 mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$, 3 只鼠/组)

Fig. 8 Comparison of mRNA expression of FLG, LOR, IL-4, IL-31, CGRP and TRPV1 in skin tissue of mice in the 4 groups($\bar{x} \pm s$, 3 mice/group)

体受体,直接诱发钙离子内流,触发瘙痒感觉冲动。该受体复合物与 TRPV1 及 TRPA1 高度共表达于小直径肽能感觉神经元。此外,IL-31 能够促进感觉神经末梢分支生长,增加皮肤内的神经密度,从而放大瘙痒感知^[26]。值得注意的是,IL-4 因免疫微环境和靶细胞的差异而在不同疾病背景下发挥截然不同的作用效应。具体而言,在银屑病中,IL-4 能够抑制 Th17 分化及其关键促炎因子(如 IL-17、IL-23)的释放,从而发挥抗炎作用^[27]。与之相反,在本次研究的 AD 疾病中,IL-4 是驱动 2 型免疫应答的核心致病因子,它不仅能诱导初始 T 细胞向 Th2 方向分化,还能促进 B 细胞产生 IgE^[28]。这一促炎机制也为临床应用 IL-4 受体抑制剂(如度普利尤单抗)治疗 AD 提供了直接的理论依据^[29]。最新研究

表明电针治疗可通过降低 AD 皮肤组织中的 IL-4、IL-13 和 IL-31 的表达,以及减少脊髓背根神经节中的炎性介质受体的表达来打破瘙痒-抓挠循环^[30]。在本研究中,我们观察到电针能够上调 FLG 和 LOR 的表达促进皮肤屏障修复,同时下调 IL-4、IL-5、IL-13 和 IL-31 等 2 型细胞因子的水平,减少 AD 中炎症反应与皮肤屏障损伤之间的交互影响。

近年来,越来越多的研究表明,感觉神经元在 AD 发病机制中扮演着更为主动的角色,其可通过释放神经肽作用于免疫细胞,诱导神经源性炎症反应,形成“瘙痒-抓挠”的恶性循环^[31]。AD 患者皮损区感觉神经纤维密度显著增加^[32],提示神经支配增强是 AD 病理过程的关键特征之一。CGRP 作为一种重要的促炎神经肽,主要由表达 TRPV1 或瞬时

受体电位锚蛋白1(TRPA1)的感觉神经元被激活后释放,并通过与免疫细胞表面的特异性受体结合进一步放大2型炎症反应和瘙痒信号传导^[33]。临床观察进一步证实,AD皮损组织中CGRP阳性神经纤维的密度显著升高,且与疾病严重程度相关^[34]。针灸疗法已被证实能够有效缓解AD患者及模型动物的慢性瘙痒和皮肤炎症反应。其潜在机制涉及多层调控,包括下调外周致痒介质(如5-羟色胺)的表达^[35]、调节肠道屏障功能^[36]等。然而,针灸是否及如何通过调节感觉神经-免疫对话来发挥作用,尚不完全清楚。本研究初步证实,电针干预能够显著降低AD模型小鼠皮肤组织中CGRP的表达水平。这一结果提示,电针可能通过抑制CGRP等促炎神经肽的释放,削弱神经肽与免疫细胞之间的异常互动,进而阻断神经源性炎症反应、减轻瘙痒,这为阐释针灸治疗AD的神经免疫整合机制提供了新的实验依据。

综上所述,电针可通过多靶点整合机制同步改善皮肤屏障和局部神经源性炎症反应以治疗AD。本研究聚焦于“神经-免疫”交互在针灸效应中的作用,初步验证了“标本配穴”法电针治疗AD的有效性。其机制是通过上调FLG和LOR以修复皮肤物理屏障;下调CGRP等神经肽以抑制神经源性炎症反应;同时降低IL-4、IL-13等Th2型细胞因子以缓解免疫失衡。这些观察为AD的针灸治疗提供了新的科学解释。本研究亦存在一定局限。例如,在机制探讨层面,尚未对局部免疫细胞亚群(如Th1/Th2比例、Th2/Treg比例)的动态变化进行流式分析;在神经层面,也未能直接检测皮肤组织中感觉神经纤维的密度变化或神经元的兴奋性。这些均是未来研究需要进一步探索和验证的重要方向。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。作者梁凤霞为本刊编委,但未参与本文的审理。

参考文献

- [1] LAUGHTER M R, MAYMONE M B C, MASHAYEKHI S, et al. The global burden of atopic dermatitis: lessons from the Global Burden of Disease Study 1990-2017 [J]. *Br J Dermatol*, 2021, 184(2): 304-309.
- [2] CHOVIATYIA R. Atopic dermatitis (eczema) [J]. *JAMA*, 2023, 329(3): 268.
- [3] PAGAN A D, DAVID E, UNGAR B, et al. Dupilumab improves clinical scores in children and adolescents with moderate to severe atopic dermatitis: a real-world, single-center study [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2022, 10(9): 2378-2385.
- [4] SIMPSON E L, GOODERHAM M, WOLLENBERG A, et al. Efficacy and safety of lebrikizumab in combination with topical corticosteroids in adolescents and adults with moderate-to-severe atopic dermatitis: a randomized clinical trial (ADhere) [J]. *JAMA Dermatol*, 2023, 159(2): 182-191.
- [5] PENA J, ZAMEZA P A, PIXLEY J N, et al. A comparison of topical corticosteroids and topical calcineurin inhibitors for the treatment of atopic dermatitis [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2023, 11(5): 1347-1359.
- [6] SIDBURY R, ALIKHAN A, BERCOVITCH L, et al. Executive summary: American Academy of Dermatology guidelines of care for the management of atopic dermatitis in adults with topical therapies [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2023, 89(1): 128-129.
- [7] TANG Y, CHENG S R, WANG J, et al. Acupuncture for the treatment of itch: peripheral and central mechanisms [J]. *Front Neurosci*, 2022, 15: 786892.
- [8] 刘琨. 毫火针半刺配合针刺治疗慢性湿疹的临床研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [9] LIU K. Clinical research on superficial insertion of filiform-fire needle combined with acupuncture on chronic eczema (in Chinese) [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2017.
- [9] YEOM M, AHN S, JANG S Y, et al. Acupuncture attenuates comorbid anxiety- and depressive-like behaviors of atopic dermatitis through modulating neuroadaptation in the brain reward circuit in mice [J]. *Biol Res*, 2022, 55(1): 28.
- [10] 《针刺研究》编辑部. 《针刺研究》实验动物福利伦理审查清单 [J]. *针刺研究*, 2024, 49(2): 220.
- [10] Editorial Board of *Acupuncture Research*. Review list of welfare ethics of experimental animals in *Acupuncture Research* (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(2): 220.
- [11] XU Y, QIU Z Q, GU C Y, et al. Propionate alleviates itch in murine models of atopic dermatitis by modulating sensory TRP channels of dorsal root ganglion [J]. *Allergy*, 2024, 79(5): 1271-1290.
- [12] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第3部分: 小鼠 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(5): 445-446.
- [12] China Association of Acupuncture and Moxibustion. Nomenclature and location of commonly used acupoints in experimental animals. Part 3: mice (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(4): 445-446.
- [13] 孙坤坤, 韩学超, 孙孝凤, 等. 中医药防治特异性皮炎研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(5): 266-273.
- [13] SUN K K, HAN X C, SUN X F, et al. Prevention and treatment of atopic dermatitis with traditional Chinese medicine: a review (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2022, 28(5): 266-273.
- [14] 曾林, 严江天, 唐宏图. 基于元气亏虚浅析针灸“标本配穴”法防治糖尿病的理论内涵 [J]. *针灸临床杂志*, 2023, 39(6): 96-99.
- [14] ZENG L, YAN J T, TANG H T. A brief analysis of

- theoretical connotation of 'acupoints compatibility of Biao Ben' in acupuncture and moxibustion to prevent and treat DM based on source-qi deficiency (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2023, 39(6): 96-99.
- [15] 陈茜, 梁凤霞, 吴松, 等. 标本配穴的理论探讨与临床应用 [J]. *中国针灸*, 2018, 38(5): 505-509.
CHEN Q, LIANG F X, WU S, et al. Theoretic exploration and clinical application of acupoint combination based onbiaoben theory (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2018, 38(5): 505-509.
- [16] 张聿菲, 陈丽, 梁凤霞. “五脏皆令人痒”浅析及针灸治疗选穴 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2023, 47(6): 664-668.
ZHANG Y F, CHEN L, LIANG F X. The analysis based on “five Zang organs can cause itching” and the acupuncture-moxibustion treatment point selection (in Chinese) [J]. *Journal of Zhejiang Chinese Medical University*, 2023, 47(6): 664-668.
- [17] YANG G, SEOK J K, KANG H C, et al. Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in atopic dermatitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2867.
- [18] 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.
- [19] KIM Y, LIM K M. Skin barrier dysfunction and filaggrin [J]. *Arch Pharm Res*, 2021, 44(1): 36-48.
- [20] STEFANOVIC N, IRVINE A D. Filaggrin and beyond: New insights into the skin barrier in atopic dermatitis and allergic diseases, from genetics to therapeutic perspectives [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2024, 132(2): 187-195.
- [21] FÖLSTER-HOLST R, REIMER R, NEUMANN C, et al. Comparison of epidermal barrier integrity in adults with classic atopic dermatitis, atopic prurigo and non-atopic prurigo nodularis [J]. *Biology*, 2021, 10(10): 1008.
- [22] AFSHARI M, KOLACKOVA M, ROSECKA M, et al. Unraveling the skin; a comprehensive review of atopic dermatitis, current understanding, and approaches [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1361005.
- [23] GARCOVICH S, MAURELLI M, GISONDI P, et al. Pruritus as a distinctive feature of type 2 inflammation [J]. *Vaccines*, 2021, 9(3): 303.
- [24] DUCA E, SUR G, ARMAT I, et al. Correlation between Interleukin 31 and clinical manifestations in children with atopic dermatitis: an observational study [J]. *Allergol Immunopathol*, 2022, 50(1): 75-79.
- [25] LEE S, LIM N Y, KANG M S, et al. IL-31RA and TRPV1 expression in atopic dermatitis induced with trinitrochlorobenzene in nc/nga mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17): 13521.
- [26] NEMMER J M, KUCHNER M, DATSI A, et al. Interleukin-31 signaling bridges the gap between immune cells, the nervous system and epithelial tissues [J]. *Front Med*, 2021, 8: 639097.
- [27] ONDERDIJK A J, BAERVELDT E M, KUREK D, et al. IL-4 downregulates IL-1 β and IL-6 and induces GATA3 in psoriatic epidermal cells: route of action of a Th2 cytokine [J]. *J Immunol*, 2015, 195(4): 1744-1752.
- [28] CHIRICOZZI A, MAURELLI M, PERIS K, et al. Targeting IL-4 for the treatment of atopic dermatitis [J]. *Immunotargets Ther*, 2020, 9: 151-156.
- [29] BERDYSHEV E, GOLEVA E, BISSONNETTE R, et al. Dupilumab significantly improves skin barrier function in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis [J]. *Allergy*, 2022, 77(11): 3388-3397.
- [30] GE W Q, LIU X, HU X F, et al. Electroacupuncture exerts antipruritic and anti-inflammatory effects on atopic dermatitis by activating CB2 receptor [J]. *Chin Med*, 2025, 20(1): 72.
- [31] WANG F, KIM B S. Itch: a paradigm of neuroimmune crosstalk [J]. *Immunity*, 2020, 52(5): 753-766.
- [32] 宣臻全, 陈轩祎, 姚志荣. 神经免疫紊乱在特应性皮炎中的作用研究进展 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2023, 43(8): 1049-1055.
XUAN Z Q, CHEN X Y, YAO Z R. Research progress in neuroimmune disorders in atopic dermatitis (in Chinese) [J]. *Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Science)*, 2023, 43(8): 1049-1055.
- [33] KIM Y J, GRANSTEIN R D. Roles of calcitonin gene-related peptide in the skin, and other physiological and pathophysiological functions [J]. *Brain Behav Immun Health*, 2021, 18: 100361.
- [34] ABDELHADI S, NORDLIND K, JOHANSSON B, et al. Expression of calcitonin gene-related peptide in atopic dermatitis and correlation with distress [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2024, 46(1): 67-72.
- [35] PARK H J, AHN S, LEE H, et al. Acupuncture ameliorates not only atopic dermatitis-like skin inflammation but also acute and chronic serotonergic itch possibly through blockade of 5-HT (2) and 5-HT (7) receptors in mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 93: 399-408.
- [36] YEOM M, AHN S, HAHM D H, et al. Acupuncture ameliorates atopic dermatitis by modulating gut barrier function in a gut microbiota-dependent manner in mice [J]. *J Integr Med*, 2024, 22(5): 600-613.

收稿日期:2025-10-11 修回日期:2025-12-03