

基于网络药理学探究敦煌芮草膏减轻荨麻疹小鼠皮肤瘙痒的机制

尚芸¹, 张莉¹, 王强¹, 王艺¹, 海洋^{1,2}, 蔺兴遥^{1,2*}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 2. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃兰州 730000)

摘要: 目的 基于网络药理学探究敦煌芮草膏减轻荨麻疹小鼠皮肤瘙痒的机制。方法 将小鼠随机分为空白组、模型组、丁酸氢化可的松乳膏组和敦煌芮草膏低、中、高剂量组, 每组 12 只, 采用卵白蛋白和氢氧化铝混悬液建立小鼠荨麻疹模型, 记录 24 h 搔抓情况。空白组和模型组涂抹 PBS, 敦煌芮草膏低、中、高剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组按照指尖单位法给药, 持续 18 d。给药结束后, 每只小鼠自股动脉采血检测 BASO、EOS 水平, 取背部皮肤组织检测 IL-4、IgE、TNF- γ 水平, HE 染色观察皮肤组织病理变化。基于 TCMSP、UniProt、OMIM 等公共数据库和 KEGG 通路分析等网络药理学基本方法预测潜在通路。采用蛋白印迹法检测皮肤组织 PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达以验证网络药理学预测结果。结果 与空白组比较, 模型组小鼠血液中嗜碱性粒细胞计数及百分比、嗜酸性粒细胞计数及百分比, 患处皮肤组织 IL-4、IgE 水平升高 ($P<0.01$), TNF- γ 水平降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 敦煌芮草膏各剂量组均能降低小鼠血液中嗜碱性粒细胞计数及百分比、嗜酸性粒细胞及百分比和皮肤组织 IL-4、IgE 水平 ($P<0.01$), 并升高 TNF- γ 水平 ($P<0.01$)。网络药理预测该方可能通过 PI3K/Akt 信号通路发挥止痒作用。药理研究显示, 敦煌芮草膏能下调 PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达 ($P<0.01$)。结论 敦煌芮草膏能有效改善荨麻疹小鼠瘙痒症状, 其作用机制可能与 PI3K/Akt 信号通路有关。

关键词: 敦煌芮草膏; 蕨麻疹; 瘙痒; 网络药理学; PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R966; R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1339-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.054

EAACI/ GA²LEN/EDF/WAO 联合会议对荨麻疹的定义为: “荨麻疹是一种以出现风团、血管性水肿或两者兼有为特征的疾病”^[1], 发病时常伴有剧烈瘙痒, 因此也有“魔鬼之痒”之称^[2]。有研究表明, 白介素 4 (IL-4) 可以增加感觉神经元对其他瘙痒介质的反应性^[3], 当病原入侵时, 由鼻咽部、扁桃体、支气管等黏膜固有层产生的免疫球蛋白 E (IgE) 与高亲和力受体相互作用, 导致肥大细胞脱颗粒、炎性物质释放^[4], 辅助型 T 细胞 2 (Th2) 分泌的多效细胞因子 IL-4 通过调节 IgE 合成参与这一反应^[5]。此时皮肤过敏部位的嗜碱性粒细胞 (BASO) 和嗜酸性粒细胞 (EOS) 便会被募集, 导致荨麻疹患者皮损处 BASO、EOS 高于健康人^[6]。目前荨麻疹治疗手段多以缓解并发症为主, 发病机制尚不明确, 因此本研究拟从中药外治法探究治疗荨麻疹皮肤瘙痒的作用及机制。

敦煌医学是“敦煌学”重要分支之一, 是关于整理和研究敦煌遗书、敦煌壁画、敦煌中医药史料及应用的一门学科。荨麻疹, 中医称为“瘾疹”, 敦煌遗书记载: “芮草膏 (P. 3731), 主诸风毒脚气, 恶肿疼痛, 隐疹, 恶疮, 拿急不随 皆主之方……”^[7]。其治则治法与风寒证、气血亏虚证荨麻疹的病机相契合。因此, 本实验开展了敦煌芮

草膏的制备并探讨了其治疗荨麻疹的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 BALB/c 小鼠 72 只, 体质量 (20±2) g, 28~31 日龄, 雌雄各半, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 合格证号 110324210104236547, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010, 实验动物使用许可证号 SYXK (甘) 2021-0004, 饲养环境为室温 20~25 ℃, 相对湿度 40%~52%, 换气量 10~20 次/h, 日光灯采光, 明暗交替 12 h/12 h, 常规充足饲料喂养, 自由饮水。研究经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会审批 (伦理号 2021-371)。

1.2 试剂与药物 芮草 (何首乌)、附子、丹参、细辛、当归、花椒、吴茱萸、白芷、踯躅、升麻、桂心、牛酥、白术、水牛角、青木香、丁香、零陵、当陆 (浙江九信中药有限公司, 批号 220401), 经甘肃省药品检验研究院马潇主任药师鉴定为正品。米醋 (上海宝鼎酿造有限公司, 批号 SC103310331011200929); 丁酸氢化可的松乳膏 (湖南迪诺制药股份有限公司, 批号 H20083557); 卵白蛋白 [西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司, 批号 A2512]; 氢氧化铝 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 S30353); 一次

收稿日期: 2022-09-20

基金项目: 2021 年度甘肃省人才发展专项资金 (40160401)

作者简介: 尚芸 (1995—), 女, 硕士, 从事中医药在免疫性疾病方面的研究。Tel: 13363935261, E-mail: shangyunsx@163.com

* 通信作者: 蔺兴遥 (1975—), 男, 硕士, 教授, 从事中医药在免疫性疾病方面的研究。Tel: 18919998880, E-mail: 878104134@

qq.com

性使用真空采血管(兰州康益杰医疗科技有限公司,批号202103041);IL-4、IgE ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司,批号6500901、45931M1);PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt一抗(美国CST公司,批号4942T、4691T、4228、4060);β-actin、二抗(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号AF7018、S0001)。

1.3 仪器 ADVIA型全自动五分类血细胞分析仪(德国西门子公司);SM-650D型超声波细胞破碎仪(南京舜玛仪器设备有限公司);Biofuge Stratos型高速冷冻离心机、全波长酶标仪(美国Thermo Scientific公司);Scientz-48型高通量冷冻组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司);P100+型超微量分光光度计(美国Pultton公司);BX51型光学显微镜(日本奥林巴斯公司);DYY-60型电泳仪、WD-9405F型脱色摇床(北京六一生物科技有限公司);C300型化学发光成像系统(美国Azure公司)。

2 方法

2.1 分组与造模 小鼠适应性饲养2周后,按随机数字表法分为空白组、模型组、丁酸氢化可的松乳膏组和敦煌芮草膏低、中、高剂量组,每组12只(雌雄各半)。参考文献[8]报道方法,剃除小鼠背部6 cm²左右矩形区域的毛发,温水彻底洗净,使实验部位皮肤裸露。第1天,空白组腹腔注射0.1 mL PBS,其余各组分别注射0.1 mL PBS混悬液(含卵清蛋白0.1 mg、氢氧化铝100 mg),第10天以同样方法进行第2次致敏。除空白组外,其余造模组小鼠在注射后2 h内出现精神萎靡、不思饮食等情况,4 h逐渐出现搔抓现象,8 h搔抓次数达到高峰,12 h出现风团、流泪、眼肿、果冻样便等症状,与荨麻疹特征基本符合,说明模型建立成功。

2.2 药膏制备 敦煌芮草膏(P. 3731)为隋唐及其之前的民间验方,根据现代剂量换算得处方量为芮草55.2 g、附子207 g、丹参55.2 g、细辛41.4 g、当归41.4 g、吴茱萸55.2 g、白芷82.8 g、花椒55.2 g、踯躅27.6 g、升麻27.6 g、桂心41.4 g、牛酥1 200 mL、白术55.2 g、犀角27.6 g、青木香27.6 g、丁香27.6 g、零陵27.6 g、当陆55.2 g、醋3 000 mL^[9]。将上述药材用醋浸渍一晚,第2天取牛酥煎炸,上下多次翻搅,待药物炸枯后去渣、取油、冷却,即得,生药量为1.06 g/mL。

2.3 给药 指尖单位(FTU)是目前使用最广泛的体表给药计量单位,1 FTU=0.49 g^[10]。根据小鼠与人的剂量换算,敦煌芮草膏低、中、高剂量为0.1、0.2、0.4 FTU(人临床等效剂量0.5、1、2倍),丁酸氢化可的松乳膏剂量为0.2 FTU(人临床等效剂量),造模第2天开始给药,空白组、模型组背部单位面积涂抹纯水,每天1次,连续18 d,每5 d称体质量1次,记录小鼠饮水、摄食情况。

2.4 观察小鼠一般情况 在第1、2次腹腔注射后24 h,观察小鼠饮食、大小便、皮毛,以及有无抓挠、躁动、排便、流泪、风团、死亡情况,并进行致敏评分,评分标准

为0分,正常;1分,躁动、搔抓;2分,呼吸急促、果冻样便、流泪;3分,痉挛、旋转、风团;4分,死亡。

2.5 取材及指标检测 第20天,小鼠股动脉采血于EDTA-K₂抗凝管,摇匀后进行血常规检测,分析血液中嗜碱性粒细胞计数及百分比、嗜酸性粒细胞计数及百分比。每只小鼠取背部3 cm×2 cm皮肤,-80℃冷冻保存,ELISA法检测皮肤组织IL-4、IgE、TNF-γ水平,蛋白印迹法检测皮肤组织PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt蛋白表达。取1 cm×1 cm皮肤组织,经固定、水洗、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、连续切片、苏木精-伊红染色、中性树胶封固后于光学显微镜下观察皮下炎症、水肿、血管等情况。

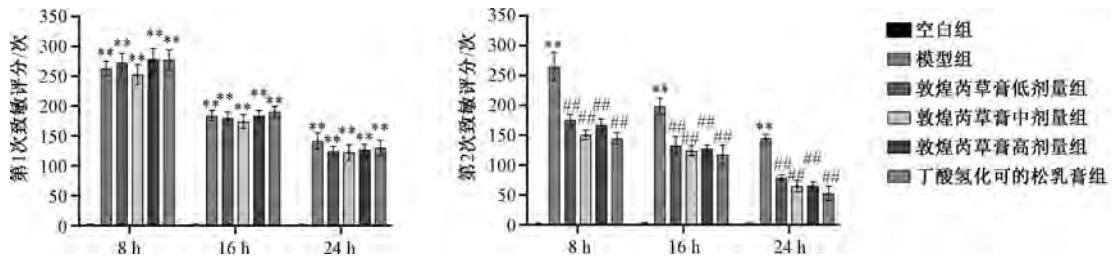
2.6 网络药理学分析 利用中药系统药理学分析平台TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)检索方中君药芮草(何首乌)、当归,臣药附子、花椒、细辛的主要活性成分,而未检索到的“何首乌”使用传统中医药综合数据库TCMID(<http://www.megabionet.org/tcmid/>)查询。根据TCMSP数据库提供的ADME筛选标准,以生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18为有效参数,并通过查阅文献作适当补充^[11],筛选敦煌芮草膏药物活性成分及潜在作用靶点。利用UniProt数据库将药物靶点蛋白校正为官方名称。在OMIM(<https://omim.org>)及Genecards(<http://www.genecards.org/>)数据库中筛选荨麻疹靶点,经Venny 2.1.0在线软件(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)处理后得到敦煌芮草膏与荨麻疹共同靶点,在DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库中分别进行GO功能、KEGG功能富集分析。

2.7 统计学分析 通过Graphpad Prism9.0软件进行处理,数据以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。以P<0.05为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 敦煌芮草膏对荨麻疹小鼠一般情况的影响 各组小鼠在接受2次致敏注射后,空白组无明显异常,造模组均出现不同程度的过敏反应。第1次致敏后,与空白组比较,造模组出现过敏反应症状(P<0.01),在8 h达到峰值,而后随着时间推移逐渐下降。第2次致敏后,与空白组比较,模型组出现过敏反应症状(P<0.01);与模型组比较,敦煌芮草膏各剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组过敏反应有所减缓(P<0.01),见图1。

3.2 敦煌芮草膏对荨麻疹小鼠皮肤病理变化的影响 空白组小鼠皮肤组织的表皮及真皮结构完整、形态正常,细胞排列有序,结构清晰,未见水肿等异常改变;模型组小鼠表皮结构不完整,鳞状上皮脱落,真皮肿胀变形、间隙增宽疏松,可见明显的毛细血管扩张及炎性细胞浸润;与模型组比较,敦煌芮草膏各剂量组小鼠皮肤组织的病理形态均有不同程度改善,低剂量组真皮间隙增宽,少量炎性细胞浸润;中剂量组表现良好,真皮网状层胶原纤维结构相对完整;高剂量组水肿减轻,鳞状上皮脱落减少;阳性药



注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

图1 各组小鼠2次致敏评分 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

丁酸氢化可的松乳膏组上皮略变薄, 其余表现良好, 见图2。

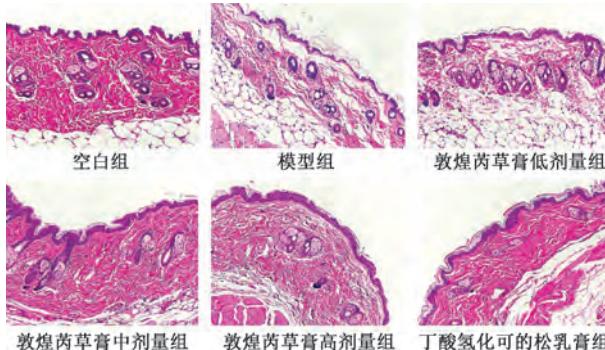
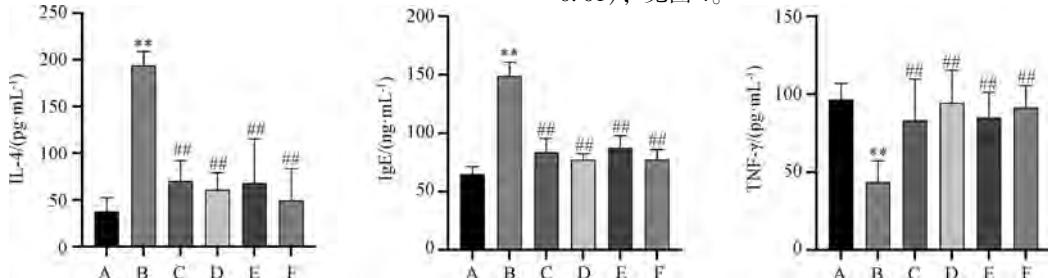


图2 各组小鼠皮肤组织HE染色 ($\times 200$)

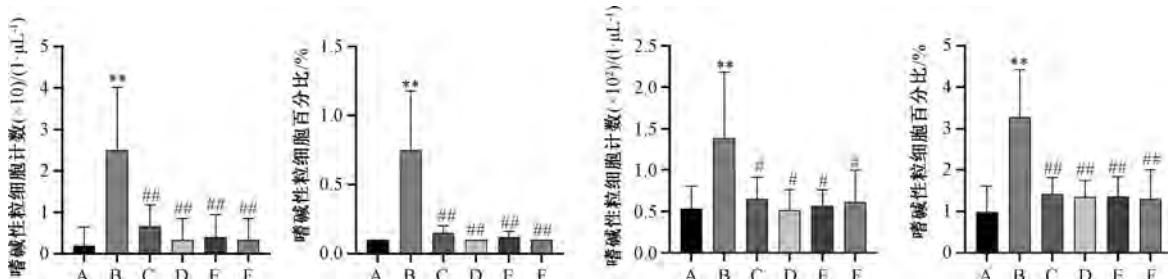
3.3 敦煌芮草膏对荨麻疹小鼠皮肤IL-4、IgE、TNF- γ 水平的影响 与空白组比较, 模型组小鼠皮肤IL-4、IgE水平升高 ($P < 0.01$), TNF- γ 水平降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 敦煌芮草膏各剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组小鼠皮肤IL-4、IgE水平降低 ($P < 0.01$), TNF- γ 水平升高 ($P < 0.01$), 见图3。

3.4 敦煌芮草膏对荨麻疹小鼠血液中嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞的影响 与空白组比较, 模型组小鼠血液中嗜碱性粒细胞计数及百分比、嗜酸性粒细胞计数及百分比均升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 敦煌芮草膏各剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组小鼠血液中嗜碱性粒细胞计数及百分比、嗜酸性粒细胞计数及百分比均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见图4。



注: A~F为白色组, 模型组, 敦煌芮草膏低、中、高剂量组, 丁酸氢化可的松乳膏组。与白色组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

图3 各组小鼠皮肤IL-4、IgE、TNF- γ 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注: A~F为白色组, 模型组, 敦煌芮草膏低、中、高剂量组, 丁酸氢化可的松乳膏组。与白色组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图4 各组小鼠血液中嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞计数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.5 网络药理学分析

3.5.1 敦煌芮草膏活性成分及作用靶点筛选 得到何首乌靶点蛋白16个、当归66个、附子25个、花椒199个、细辛158个。将对应198个靶点蛋白(删除重复靶点)数据

导入Cytoscape3.8.2软件构建敦煌芮草膏活性成分作用靶点网络图, 见图5。敦煌芮草膏潜在活性成分见表1。

3.5.2 敦煌芮草膏与荨麻疹疾病交集靶点 在OMIM、Genecards数据库输入“urticaria”“itch”等检索词, 以疾病

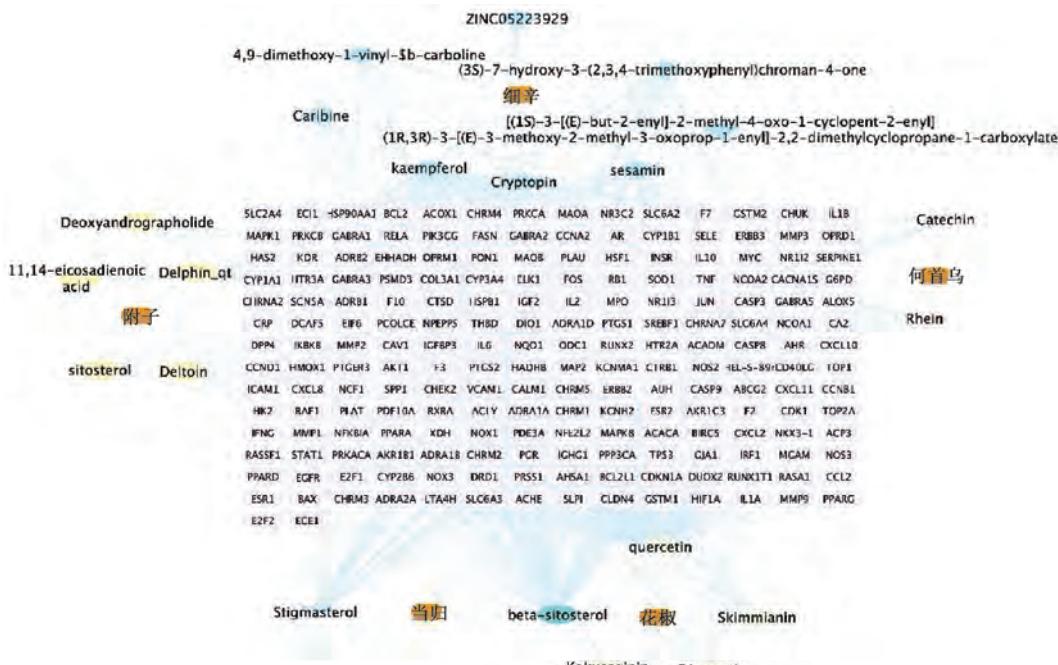


图5 敦煌芮草膏活性成分作用靶点

表1 敦煌芮草膏潜在活性成分信息

归属中药	编号	活性成分	OB/%	DL
何首乌	MOL000492	catechin	54.83	0.24
	MOL002268	rhein	47.07	0.28
当归	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
附子	MOL002211	11,14-eicosadienoic acid	39.99	0.20
	MOL002388	delphin_qt	57.76	0.28
花椒	MOL002392	deltoin	46.69	0.37
	MOL002395	deoxyandrographolide	56.30	0.31
花椒	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
	MOL013271	kokusaginin	66.68	0.20
花椒	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
	MOL002663	skimmianin	40.14	0.20
细辛	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
	MOL002881	diosmetin	31.14	0.27
细辛	MOL012140	4,9-dimethoxy-1-vinyl- β -carboline	65.30	0.19
	MOL012141	carboline	37.06	0.83
	MOL001460	cryptopin	78.74	0.72
	MOL001558	sesamin	56.55	0.83
	MOL002501	[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl] (1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	62.52	0.31
	MOL002962	(3S)-7-hydroxy-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl) chroman-4-one	48.23	0.33
	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
	MOL009849	ZINC05223929	31.57	0.83

相关评分>1为筛选标准,找到1257个荨麻疹疾病靶点,通过Venny 2.1网站获取各药物潜在治疗靶点共98个,见图6。

3.5.3 GO功能富集分析 将98个靶点通过DAVID数据库进行GO功能富集分析,GO分析包括生物过程(BP)、分子功能(MF)及细胞组成(CC),其中生物过程主要富集在基因表达的正向调控、药物反应、正调控转录,分子

功能主要富集在细胞外空间、大分子复杂、膜筏,细胞组成主要富集在酶结合、相同的蛋白结合等,见图7。

3.5.4 KEGG通路富集分析 将98个靶点通过DAVID数据库进行KEGG功能富集分析,共得到153条通路,主要富集在PI3K-Akt信号通路、麻疹、弓形虫病、IL-17信号通路、TNF信号通路等,见图8。

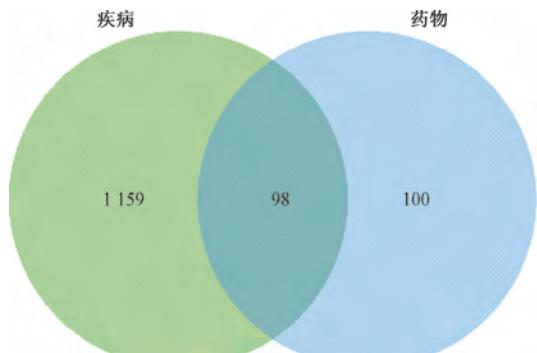


图6 敦煌芮草膏与疾病靶点韦恩图

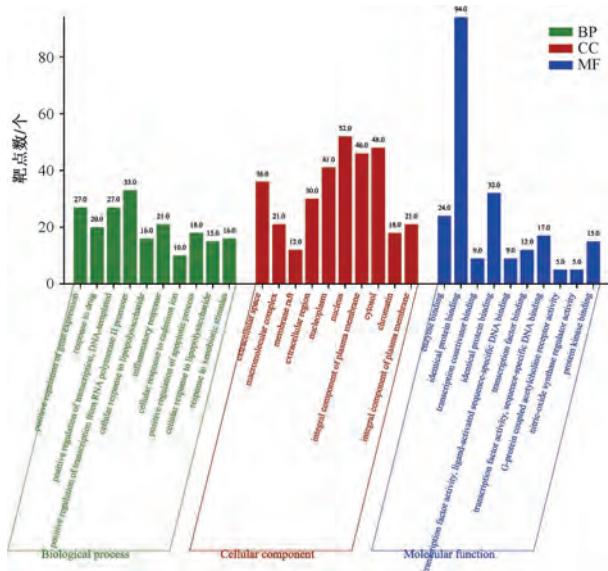


图7 潜在靶点GO富集分析图

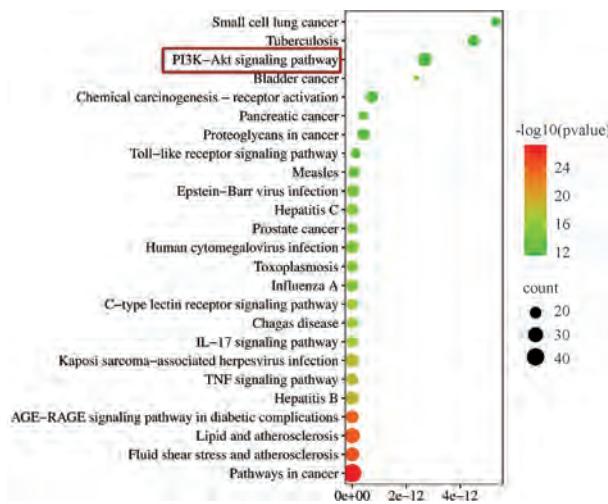
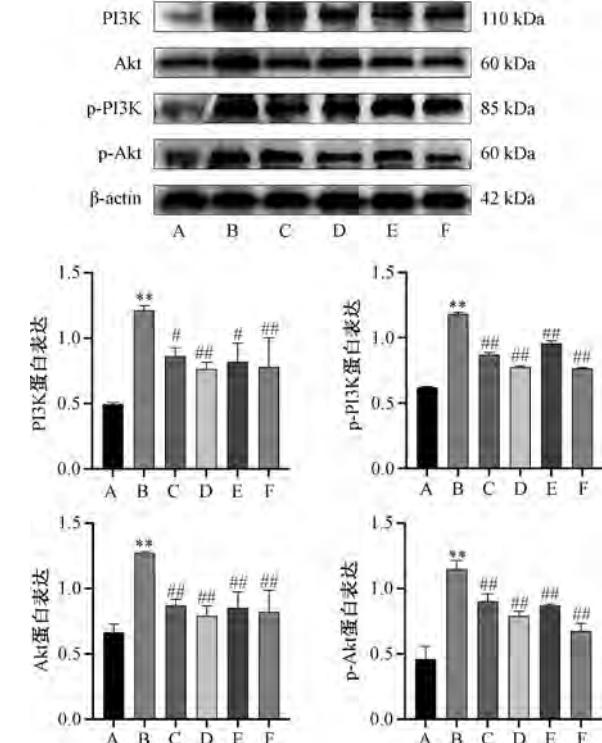


图8 潜在靶点KEGG通路富集图

3.6 敦煌芮草膏对荨麻疹小鼠PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组小鼠荨麻疹病样皮损组织中PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt蛋白表达升高($P<0.01$); 与模型组比较, 敦煌芮草膏各剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组小鼠皮损组织中PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt蛋

白表达均降低($P<0.05$, $P<0.01$), 见图9。



注: A~F 分别为空白组, 模型组, 敦煌芮草膏低、中、高剂量组, 丁酸氢化可的松乳膏组。与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图9 各组小鼠皮肤组织PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

4 讨论

PI3K/Akt信号通路具有广泛的生物学效应, 参与调节细胞分裂、增殖、凋亡、代谢等多个环节^[12]。有研究表明, G蛋白偶联受体与周围瘙痒密切相关^[3]。当同源受体在神经元上表达时, 它们的配体是瘙痒的直接介质; 当受体在非神经元细胞上表达时, 它们的配体是瘙痒的间接介质, 蛋白酶激活受体与其相互作用导致MAPK、PI3K等物质被激活。经过网络药理学分析和实验验证发现, 敦煌芮草膏可以调控PI3K/Akt信号通路的表达, 降低皮肤炎症因子, 改善荨麻疹皮肤瘙痒症状。TNF- γ 和IL-4分别是Th1和Th2的特征性细胞因子, 参与细胞免疫及炎症反应。研究发现, IgE介导的I型变态反应中Th1分泌的TNF- γ 水平降低和Th2分泌的IL-4水平升高, 可能是导致慢性荨麻疹发病的原因之一^[13]。有研究发现, IL-4/13双抗剂度普利尤在治疗瘙痒性苔藓化结节、恶性肿瘤相关瘙痒以及不明原因的慢性瘙痒性皮炎中均取得了良好的效果^[14-15]。Garcovich等^[16]将各种细胞因子介导的皮肤疾病造成的瘙痒程度进行了评级, L-4、IL-13、IL-31介导的疥疮瘙痒程度为4级, 远高于IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、IL-22等介导的其他慢性瘙痒性皮肤病。奥马珠单抗是一种重组人源化IgE单克隆抗体^[17], 其阻断IgE与其受体Fc ϵ RI的结合, 防止BASO和肥大细胞的激活。减少荨麻疹瘙痒、红肿等症状,

是目前 IgE 介导的 I 型超敏反应研究的热点^[18]。相较于被 EOS 侵袭的皮肤,健康皮肤中通常不存在 EOS, 炎性细胞浸润、组织重塑、药物治疗引起的瘙痒也相对减少^[19]。O'Sullivan 等^[6]建立 IgE 依赖性过敏性炎症小鼠模型以研究 EOS 在病理诱导中的作用,通过 BASO 中 FceRI 的表达, 分泌 IL-4/IL-13 协调 EOS 的再吸收,使 EOS 外渗到耳廓。在没有 EOS 的情况下不会引起耳肿胀,因此阻断 BASO 激活和减少 EOS 数量的联合治疗方法也是改善慢性皮肤过敏性疾病治疗的策略之一^[20]。

2017 年中华中医药学会皮肤科分会达成的瘾疹中医治疗共识认为隐疹即荨麻疹^[21]。经过本团队前期专家论证认为,敦煌芮草膏可治疗风寒证、气血亏虚证荨麻疹。处方中芮草为君药,养血祛风,消痈止痒。丹参、当归,养血补虚,与芮草合用,增强养血祛风,消痈止痒之力;附子、吴茱萸、桂心、蜀椒为辛热之品,散寒止痛;细辛、白芷、踯躅,祛风湿,上述共为方中臣药。以醋醋为引,充分发挥药性,诸药合用共奏养血活血、调气和血、散寒除湿、祛风止痛之功。本研究发现,敦煌芮草膏可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路,减轻荨麻疹小鼠瘙痒、风团等炎症反应,为敦煌芮草膏治疗荨麻疹瘙痒症提供了实验依据,同时也为挖掘敦煌医学、开发治疗荨麻疹的外用中药制剂奠定了基础。

参考文献:

- [1] Zuberbier T, Aberer W, Asero R, et al. The EAACI/GA² LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria: the 2013 revision and update [J]. *Allergy*, 2014, 69(7): 868-887.
- [2] Saini S S, Kaplan A P. Chronic spontaneous urticaria: The devil's itch [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2018, 6(4): 1097-1106.
- [3] Cevikbas F, Lerner E A. Physiology and pathophysiology of itch [J]. *Physiol Rev*, 2020, 100(3): 945-982.
- [4] Jensen R K, Jabs F, Miehe M, et al. Structure of intact IgE and the mechanism of ligelizumab revealed by electron microscopy [J]. *Allergy*, 2020, 75(8): 1956-1965.
- [5] Gour N, Wills-Karp M. IL-4 and IL-13 signaling in allergic airway disease [J]. *Cytokine*, 2015, 75(1): 68-78.
- [6] O'Sullivan J A, Bochner B S. Eosinophils and eosinophil-associated diseases: An update [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(2): 505-517.
- [7] 史正刚, 刘喜平, 张 炜. 敦煌遗书膏摩古医方探析 [J]. 中民族民间医药, 2015, 24(15): 4-5.
- [8] Hayashi T, Fujii T. Acute urticaria [corrected] -like lesions in allergen-unexposed cutaneous tissues in a mouse model of late allergic rhinitis [J]. *Int J Exp Pathol*, 2008, 89(3): 188-200.
- [9] 刘喜平. 敦煌古医方研究 [M]. 北京: 科学普及出版社, 2006.
- [10] Long C C, Finlay A Y. The finger-tip unit—a new practical measure [J]. *Clin Exp Dermatol*, 1991, 16(6): 444-447.
- [11] 张 晗. 基于网络药理学、分子对接与实验验证探讨七宝美髯丹延缓皮肤光老化的机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [12] Ediriweera M K, Tennekoon K H, Samarakoon S R. Role of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in ovarian cancer: Biological and therapeutic significance [J]. *Semin Cancer Biol*, 2019, 59: 147-160.
- [13] Kolkhir P, Pogorelov D, Olisova O, et al. Comorbidity and pathogenic links of chronic spontaneous urticaria and systemic lupus erythematosus—a systematic review [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46(2): 275-287.
- [14] Holm J G, Agner T, Sand C, et al. Dupilumab for prurigo nodularis: Case series and review of the literature [J]. *Dermatol Ther*, 2020, 33(2): e13222.
- [15] Zhai L L, Savage K T, Qiu C C, et al. Chronic pruritus responding to Dupilumab-A case series [J]. *Medicines (Basel)*, 2019, 6(3): 72.
- [16] Garcovich S, Maurelli M, Gisondi P, et al. Pruritus as a distinctive feature of type 2 inflammation [J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(3): 303.
- [17] Erickson S, Heul A V, Kim B S. New and emerging treatments for inflammatory itch [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2021, 126(1): 13-20.
- [18] Kaplan A P, Giménez-Arnau A M, Saini S S. Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria [J]. *Allergy*, 2017, 72(4): 519-533.
- [19] Eberle J U, Radtke D, Nimmerjahn F, et al. Eosinophils mediate basophil-dependent allergic skin inflammation in mice [J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(9): 1957-1965. e2.
- [20] Altrichter S, Frischbutter S, Fok J S, et al. The role of eosinophils in chronic spontaneous urticaria [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(6): 1510-1516.
- [21] 中华中医药学会皮肤科分会. 瘹疹(荨麻疹)中医治疗专家共识 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2017, 16(3): 274-275.