

本文引用: 王琦, 席建元, 张玉凤, 谢汶芳, 祁林, 羊羨, 陈邦第, 李小鹏. 基于 STAT3/Survivin 通路探讨银屑平丸含药血清对 NETs 诱导 HaCat 细胞增殖迁移作用的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(8): 1427-1433.

基于 STAT3/Survivin 通路探讨银屑平丸含药血清对 NETs 诱导 HaCat 细胞增殖迁移作用的影响

王琦¹, 席建元², 张玉凤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** 探索银屑平丸抑制信号转导及转录激活因子 3(STAT3)/Survivin 信号通路在中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)诱导 HaCat 细胞增殖迁移作用中的相关机制。**方法** 从银屑病(PsO)患者及健康体检者(HC)外周静脉血中分离出对应 NETs, 参照中药血清药理学方法制备空白血清、银屑平丸及阿维 A 含药血清。将 HaCat 细胞分为对照组、HC-NETs 组、PsO-NETs 组、空白血清组、银屑平丸含药血清组、阿维 A 含药血清组、银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组。通过 CCK-8 法、细胞划痕实验检测各组 HaCat 细胞增殖、迁移能力; Western blot 法检测 STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平。**结果** 与对照组相比, PsO-NETs 组、空白血清组细胞增殖能力、细胞迁移率明显升高($P<0.01$), STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平明显升高($P<0.01$); 与 PsO-NETs 组相比, 银屑平丸含药血清组细胞增殖能力、细胞迁移率明显降低($P<0.01$), STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平均降低($P<0.05, P<0.01$); 与银屑平丸含药血清组相比, 银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组细胞增殖能力、细胞迁移率明显升高($P<0.01$), STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平均升高($P<0.05, P<0.01$)。**结论** 银屑平丸含药血清可降低 NETs 诱导 HaCat 细胞的增殖迁移能力, 其作用机制可能与抑制 STAT3/Survivin 信号通路有关。

[关键词] 银屑病; 银屑平丸; 中性粒细胞胞外诱捕网; STAT3/Survivin 信号通路; 人角质形成细胞

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.08.005

Effects of Yinxieping Pill-containing serum on NETs-induced proliferation and migration of HaCaT cells via the STAT3/Survivin pathway

WANG Qi¹, XI Jianyuan², ZHANG Yufeng¹, XIE Wenfang², QI Lin², YANG Xian²,
CHEN Bangdi², LI Xiaopeng^{2*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism by which Yinxieping Pill (YXPP)-containing serum inhibits the signal transducer and activator of transcription3 (STAT3)/Survivin signaling pathway in neutrophil extracellular traps (NETs)-induced proliferation and migration of HaCaT cells. **Methods** NETs were isolated from the peripheral venous blood of psoriasis (PsO) patients and healthy controls (HC). Blank serum, YXPP-containing serum, and acitretin-containing serum were prepared following the method of serum pharmacology in Chinese medicine. HaCaT cells were assigned into the control group, HC-NETs group, PsO-NETs group, blank serum group, YXPP-containing serum group, acitretin-containing serum group, and YXPP-containing serum + colivelin TFA group. The proliferation and migration abilities of HaCaT cells in each group were checked by CCK-8 assay and scratch wound healing assay. The protein expression levels of STAT3, p-STAT3, and Survivin were measured by Western blot.

[收稿日期] 2025-03-13

[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); 长沙市自然科学基金项目(kq2202457)。

[通信作者] * 李小鹏, 男, 硕士, 副主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: lixiaopeng139@126.com。

Results Compared with the control group, the proliferation ability, migration rate, and protein expression levels of STAT3, p-STAT3, and Survivin were significantly increased in the PsO-NETs group and blank serum group ($P<0.01$). Compared with the PsO-NETs group, the YXPP-containing serum group showed significantly reduced proliferation ability, migration rate, and protein expression levels of STAT3, p-STAT3, and Survivin ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the YXPP containing serum group, the YXPP-containing serum + Colivelin TFA group showed significantly higher cell proliferation ability and migration rate ($P<0.01$), and protein expression levels of STAT3, p-STAT3, and Survivin ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** YXPP-containing serum can inhibit NETs-induced proliferation and migration of HaCaT cells, and its mechanism of action may be related to the suppression of the STAT3/Survivin signaling pathway.

[**Keywords**] psoriasis; Yinxieping Pill; neutrophil extracellular traps; STAT3/Survivin signaling pathway; human keratinocyte

银屑病(psoriasis, PsO)是一种免疫介导的慢性炎症性疾病^[1],表现为红色斑块表面覆有银白色鳞屑,严重时可全身分布^[2]。PsO的主要病理机制是真皮中浸润的免疫细胞与过度增殖的角质形成细胞的相互作用^[3]。目前,西医主要采用紫外线光疗、局部外用药物、系统性免疫抑制剂及靶向性生物制剂等治疗方法,临床疗效有限,且部分生物制剂存在潜在致癌风险^[4-5]。

中性粒细胞通过多种免疫调节机制参与炎症进展^[6-7],中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)是其经历的一种特殊的死亡方式^[8]。中性粒细胞由病原微生物激活,经染色质解凝、核膜解体等过程,将解凝染色质及髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、抗菌肽等多种蛋白挤出细胞外^[9]。解凝染色质与抗菌肽结合形成免疫刺激配体复合物,激活树突状细胞,启动并促进炎症细胞因子的产生,如白细胞介素(interleukin, IL)-17A、IL-36 γ ^[10]。IL-17A是PsO中最重要效应细胞因子,主要作用于角质形成细胞,发挥诱导各种炎症介质和促进角质形成细胞异常增殖的作用。IL-36 γ 能够诱导角质形成细胞中IL-23的基因表达,形成从IL-23、IL-17到IL-36 γ 的PsO炎症放大回路^[11]。此外,NETs已被证实可以促进Th17细胞分化以及激活巨噬细胞,促进PsO炎症的维持^[12]。

目前研究表明,信号转导及转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)与NETs的形成相关^[13]。在结肠癌中,STAT3过表达促进NETs形成^[14]。动物实验表明,皮肤屏障的破坏可以激活角质细胞中的STAT3蛋白,介导IL-23/IL-17轴的下游炎症信号及趋化因子,如CXC型趋化因子配体1和CXC型趋化因子配体2,进一步促进中性粒细胞和巨噬细胞的浸润和激活,放大PsO炎症反应^[15]。Survivin是STAT3调节的细胞凋亡抑制蛋白

之一,是细胞增殖与细胞凋亡交叉部位的抑制剂^[16]。本课题组前期研究表明,STAT3通过激活Survivin的表达参与寻常型PsO的发病^[17]。然而,NETs如何通过STAT3/Survivin通路影响HaCat细胞的增殖和迁移尚不明确。

银屑病平丸是湖南中医药大学第一附属医院席建元教授在国医大师传承团队指导下,经临床验证具有显著疗效的自主研发中药制剂。既往研究表明,银屑病平丸可通过多靶点调节免疫应答、抑制炎症因子释放、诱导细胞周期停滞等机制发挥治疗作用^[18-19]。本研究采用体外细胞模型,基于STAT3/Survivin信号通路,对银屑病平丸干预NETs诱导的HaCat细胞增殖、迁移作用进行探究,现将研究结果阐述如下。

1 材料

1.1 动物及细胞

SPF级雄性SD大鼠,年龄为8周龄,体质量(200 \pm 10)g,购自湖南省斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SYXK(湘)2021-0002。本研究已取得该中心的伦理审查批准,动物实验伦理批件编号:HNUCM21-2501-34,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2024-0014。

HaCat细胞购买于武汉普诺赛生命科技有限公司(货号:CL-0090)。

1.2 主要药物

银屑病平丸:从湖南中医药大学第一附属医院购入,药物由生地黄、赤芍、山药、女贞子、墨旱莲、紫草、丹参、白花蛇舌草、半枝莲、大青叶、甘草组成,每瓶装60g。

阿维A胶囊:重庆华邦制药有限公司(批号:H20010126,规格:10mg/粒)。

1.3 血液样本

血液样本来自PsO患者及健康体检者(healthy

control, HC)外周静脉血。本研究严格遵循《涉及人的生物医学研究伦理审查办法》,经湖南中医药大学第一附属医院医学伦理委员会审查批准(伦理审批号:HN-LL-KY-2024-020-01)。所有受试者均接受标准知情程序,自愿签署知情同意书并捐献样本。

1.4 主要试剂与仪器

胎牛血清(美国 Cellmax 公司,批号:SA201.02); MEM 液体培养基、青霉素-链霉素溶液、胰蛋白酶消化液(0.25%)含酚红、PBS 缓冲液(武汉普诺赛生命科技有限公司,批号:PM150410、PB180120、PB180226、PB180327); Percoll 细胞分离液(北京索莱宝科技有限公司,批号:P8370); dsDNA 检测试剂盒(上海懋康生物科技有限公司,批号:MF0781-0.5ML); CCK-8 试剂(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:E-CK-A362); MPOmAb、中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)mAb(美国 CST 公司,批号:14569T、89241T); RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量检测试剂盒(江苏碧云天生物技术有限公司,批号:P0013B、P0012); PMSF(武汉碧昕生物科技有限公司,货号:BL507A)。

二氧化碳培养箱(上海一恒科学仪器有限公司,型号:BNP-150CH); 细胞计数仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,型号:C100-SE); 高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司,型号:NEOFUGE 15R); EnSpire®多功能酶标仪(美国Perkin Elmer 公司,型号:Enspire); 倒置荧光显微镜(上海仪圆光学仪器有限公司,型号:YYF-800E)。

2 方法

2.1 含药血清的制备

参考文献[20]制备含药血清方法,选取 15 只 8 周龄雄性 SD 大鼠,随机数字表法分为空白血清组、银屑平含药血清组及阿维 A 含药血清组,每组 5 只。所有动物在湖南中医药大学实验动物中心 SPF 级环境中进行 7 d 适应性喂养,维持温度(19±2)℃、湿度 40%~70%,自由摄食饮水。按照人与大鼠剂量-体表面积^[21]换算方法给药,银屑平丸含药血清组按 3.82 g/(kg·d)、阿维 A 含药血清组按照 2.54 mg/(kg·d)经口灌胃给药;空白血清组给予等体积生理盐水 20 mL/(kg·d),连续干预 7 d。末次给药后实施腹腔注射麻醉,无菌条件下经腹主动脉采血,转移至抗凝管。室温静置 30 min,4℃条件下离心 15 min;上清

液转移至 EP 管,56℃水浴灭活 30 min,经 0.22 μm 滤膜除菌分装,-80℃超低温冰箱冻存备用。

2.2 中性粒细胞的分离与鉴定

采集 PsO 患者、HC 外周静脉血样本后,参照文献[22]与预实验,首先将 Percoll 原液与 8.77% NaCl 溶液按 9:1 体积比混合制备标准工作液(密度标记为 100%)。使用无菌生理盐水梯度稀释,分别配制 60%(密度 1.079 g/mL)和 75%(密度 1.090 g/mL)两种浓度的分离介质。同步配制 6% Dextran T-500 溶液作为红细胞沉降促进剂,使用前需经 0.22 μm 滤膜除菌处理。采集静脉血与 3.8%枸橼酸钠按 9:1 体积比混合,离心 15 min;收集界面白膜层细胞,加入等体积生理盐水稀释后,加入 6% Dextran 溶液 1 mL,混合后直立静置 30 min 促进红细胞聚集沉降;取上层白细胞悬液离心 8 min 洗涤后,采用无血小板血浆重悬细胞沉淀。将细胞悬液按 1:2:2 体积比分层加注至预置的 75%~60% Percoll 梯度介质离心管中,离心 14 min;收集 60%~75% Percoll 界面层细胞,经 PBS 洗涤 3 次彻底清除胶体微粒。最终将纯化细胞重悬于 1 mL PBS 缓冲液,弃上清液,使用 5 mL 含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基重悬细胞,吹打至均匀分散后,进行细胞培养。

2.3 NETs 的鉴定

参考文献[23],将各组中性粒细胞按照 5×10^5 个/孔密度接种于预处理的细胞玻片,置于 24 孔培养板内。4%多聚甲醛溶液细胞固定。使用 5%正常山羊血清进行封闭处理,移除封闭液,一抗孵育,4℃孵育过夜。次日弃去一抗溶液,加入荧光标记的二抗(1:400),室温避光孵育 50 min。PBS 洗涤 3 次后,滴加 0.5 μg/mL DAPI 溶液进行核染色,避光孵育 10 min,加入自发荧光淬灭剂 5 min,流水冲洗 10 min。稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片,于共聚焦显微镜下拍照观察。

2.4 NETs 的定量检测

收集各组中性粒细胞上清液,根据 Quant-iT™TmPicoGreen®dsDNA Reagent and Kits 试剂盒说明书,配制 PicoGreen dsDNA reagent、Lambda DNA Standard 工作液,添加完毕后室温孵育 3 min,采用荧光染料法对各组 dsDNA/NETs 进行定量分析。

2.5 细胞培养、分组及干预方法

去除 HaCat 细胞上清液,PBS 缓冲液清洗后,加入 2 mL 含 0.25%胰蛋白酶的消化液。显微镜下密

切观察细胞形态变化,待细胞呈现圆形且将发生脱落时,转移至培养箱继续消化约 3.5 min。随后加入完全培养基(MEM 培养基添加 10%胎牛血清及 1%青霉素-链霉素双抗)终止消化,离心收集细胞并重悬,接种于 T25 培养瓶中,37 °C 恒温培养箱常规培养。

将 HaCat 细胞采用 6 孔板进行分组处理:对照组、HC-NETs 组(HC-NETs)、PsO 患者 NETs 组(PsO-NETs)、空白血清组、银屑平丸含药血清组、阿维 A 含药血清组、银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组。各组处理方法如下:对照组正常培养;HC-NETs 组和 PsO-NETs 组分别添加 0.5 ng/mL NETs^[24]悬液;空白血清组加入 0.5 ng/mL NETs 与 20%空白血清^[20];银屑平丸含药血清组和阿维 A 含药血清组分别加入 0.5 ng/mL NETs 与 20%浓度对应含药血清;银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组在银屑平丸含药血清组基础上加入 Colivelin TFA^[25](终浓度 50 μM)。每组设置 3 个复孔,实验重复 3 次。

2.6 CCK-8 检测细胞增殖能力

细胞分组参照“2.5”,细胞按照 1×10^4 个/孔密度接种于 96 孔板,培养 24 h 后进行 CCK-8 检测,每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,置于 37 °C、5%CO₂ 孵育箱内进行 2 h 细胞代谢活化,酶标仪 450 nm 处检测各孔吸光度。

2.7 细胞划痕实验检测细胞迁移能力

细胞分组参照“2.5”,细胞按照 1×10^6 个/孔的密度接种 6 孔板。待细胞融合至覆盖面积 $\geq 90\%$ 时,进行划痕处理后,加入不含血清的培养基继续孵育,设定划痕结束(0 h)及 24 h 时间节点。在严格无菌操作下,采集细胞图像,通过 Image J 图像分析软件对划痕区域进行定量测量,根据公式(原始划痕面积-移动后残留面积)/原始划痕面积 $\times 100\%$ 计算细胞迁移率。

2.8 Western blot 法检测 STAT3/Survivin 信号通路相关蛋白表达

细胞分组参照“2.5”,细胞加入裂解液,于 4 °C 条件下 12 000 r/min 离心 5 min;收集上清液并通过 BCA 蛋白定量测定仪进行蛋白浓度测定;经凝胶电泳,转至 PVDF 膜;转膜后以 5%脱脂牛奶封闭液室温孵育 1 h;一抗孵育:兔抗目标蛋白单克隆抗体(1:500 稀释),4 °C 过夜,洗膜三次;二抗孵育:山羊抗兔 IgG(1:5 000 稀释),室温 2 h;最后加入 ECL 避光反应 5 min 后显影;化学发光信号经 Image Lab

软件定量分析。

2.9 统计学分析

通过 SPSS 24.0 软件及 GraphPad Prism 10.0 平台完成统计分析。定量数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”形式呈现。实验数据分布满足正态性假设且组间方差齐同。组间差异分析采用独立样本 *t* 检验进行处理,多组数据对比运用单因素方差分析(One-way ANOVA)。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 银屑平丸含药血清对 HaCat 细胞增殖能力的影响

与对照组相比,PsO-NETs 组、空白血清组细胞增殖能力增强($P < 0.01$);与 PsO-NETs 组相比,银屑平丸含药血清组、阿维 A 含药血清组细胞增殖能力降低($P < 0.01$);与银屑平丸含药血清组相比,银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组细胞增殖能力增强($P < 0.01$)。详见图 1。

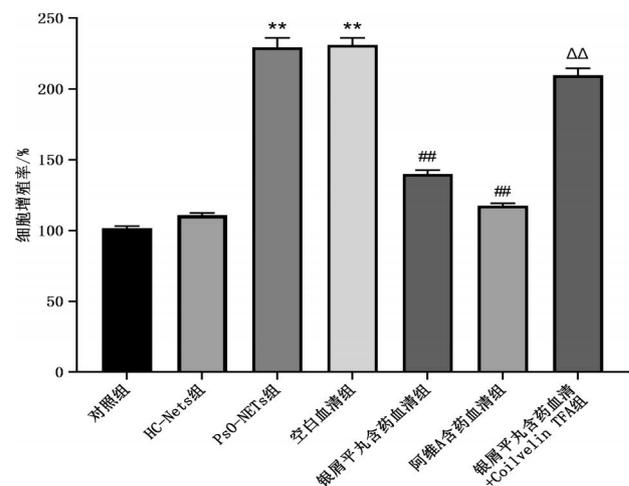


图1 银屑平丸含药血清对 NETs 诱导 HaCat 细胞增殖能力的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.1 Effects of YXPP-containing serum on NETs-induced proliferation capacity of HaCaT cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:与对照组相比,** $P < 0.01$;与 PsO-NETs 组相比,## $P < 0.01$;与银屑平丸含药血清组相比,ΔΔ $P < 0.01$ 。

3.2 银屑平丸含药血清对 HaCat 细胞迁移作用的影响

与对照组相比,PsO-NETs 组、空白血清组细胞迁移率升高($P < 0.01$);与 PsO-NETs 组相比,银屑平丸含药血清组、阿维 A 含药血清组细胞迁移率降低($P < 0.01$);与银屑平丸含药血清组相比,银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组细胞迁移率升高($P < 0.01$)。详见图 2。

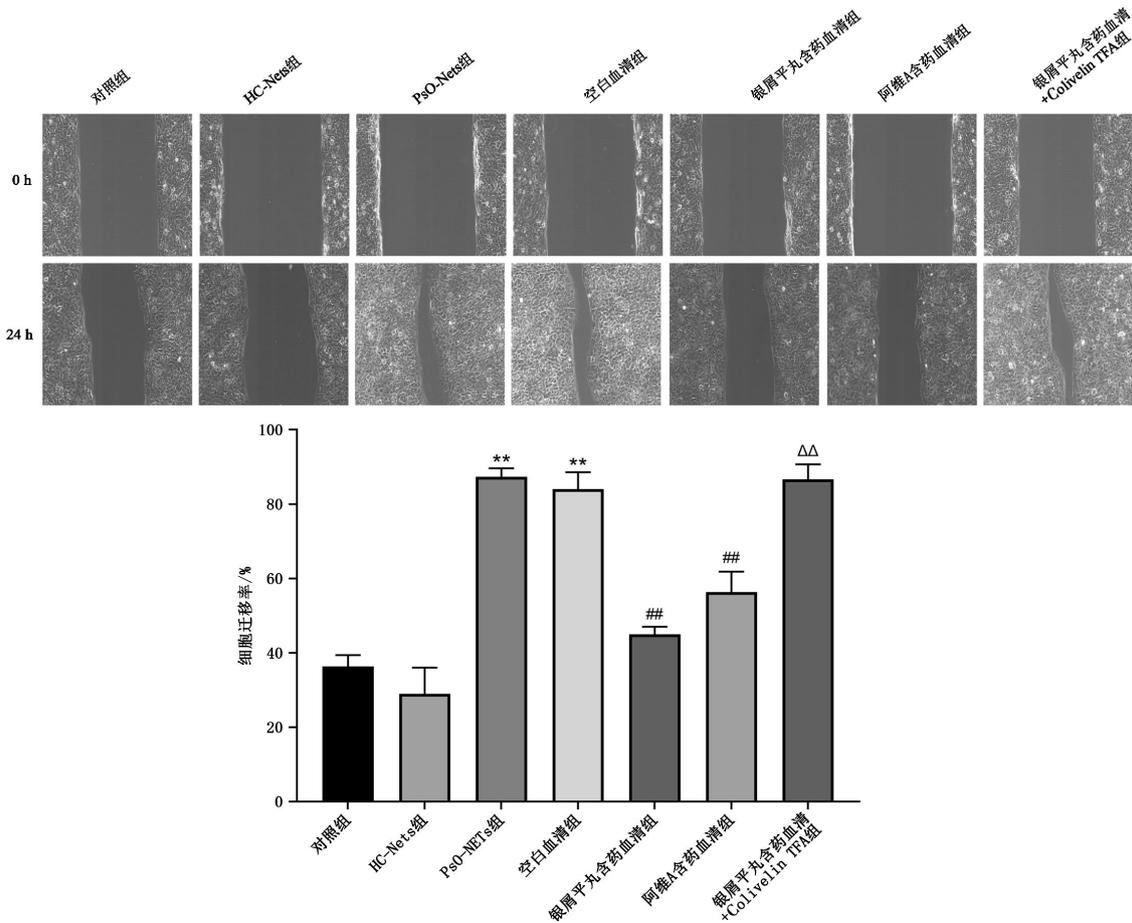


图 2 银屑平丸含药血清对 NETs 诱导 HaCaT 细胞迁移能力的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.2 Effects of YXPP-containing serum on NETs-induced migratory ability of HaCaT cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与对照组相比,** $P<0.01$;与 PsO-NETs 组相比,## $P<0.01$;与银屑平丸含药血清组相比,△△ $P<0.01$ 。

3.3 银屑平丸含药血清对 HaCaT 细胞 STAT3/Survivin 通路的蛋白表达的影响

与对照组相比,PsO-NETs 组、空白血清组 STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平、p-STAT3/STAT3 比值升高($P<0.01$);与 PsO-NETs 组相比,银屑平丸含药血清组、阿维 A 含药血清组 STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平、p-STAT3/STAT3 比值降低($P<0.05, P<0.01$);与银屑平丸含药血清组相比,银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组 STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平、p-STAT3/STAT3 比值升高($P<0.05, P<0.01$)。详见图 3、图 4。

4 讨论

PsO 在中医学中归属于“白疔”范畴,目前认为该病以血热、血燥、血瘀三重病理因素为致病机制,表现为阴液亏损、津液耗伤所致血液失荣,进而引发肌肤失养、瘙痒难耐及皮屑脱落等症状。阿维 A 胶囊作为现代医学治疗寻常型 PsO 的常规药物,属于维生素 A 类衍生物,其药理作用主要包括调节表皮

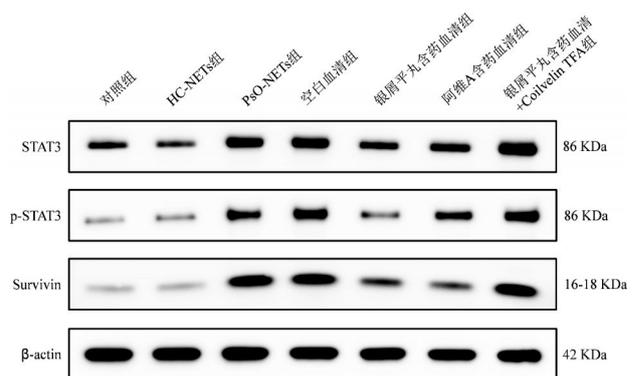


图 3 银屑平丸含药血清对 NETs 诱导 HaCaT 细胞 STAT3/Survivin 通路相关蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.3 Effects of YXPP-containing serum on STAT3/Survivin pathway-related proteins expression in NETs-induced HaCaT cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

细胞增殖分化过程、介导炎症反应与免疫调节^[26]。基于此,本研究选用阿维 A 含药血清作为阳性对照。本研究采用的银屑平丸基于凉血清热、活血化瘀、养阴润燥的配伍原则,包含生地黄、赤芍、山药、女贞子、墨旱莲、紫草、丹参、白花蛇舌草、半枝莲、大青叶

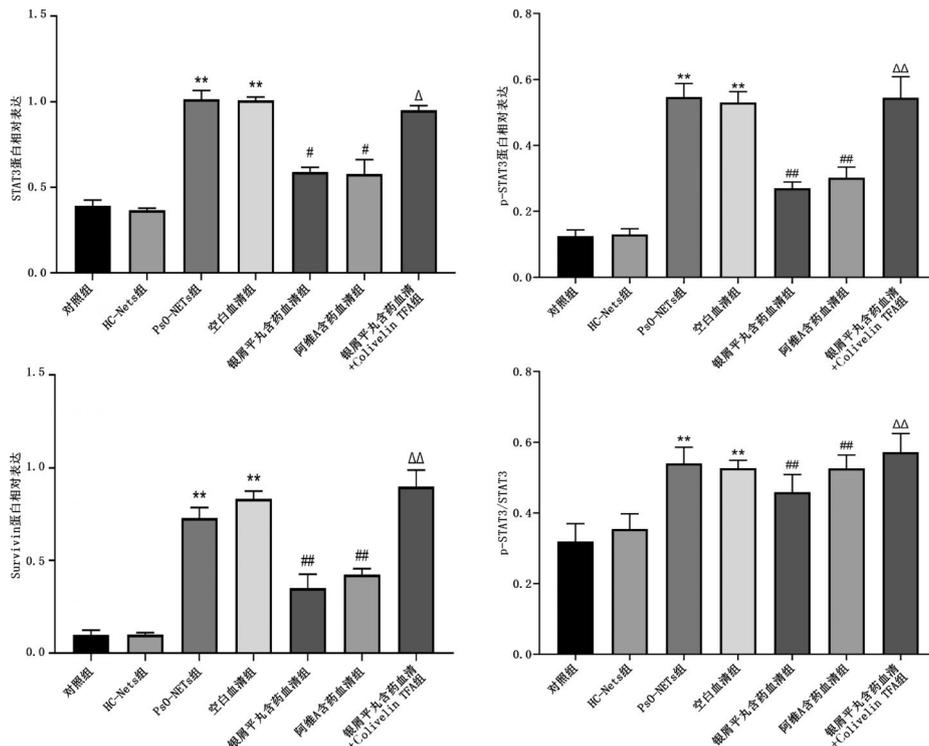


图4 银屑平丸含药血清对 Nets 诱导 HaCat 细胞 STAT3/Survivin 通路相关蛋白表达影响的分析($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.4 Effects of YXPP-containing serum on STAT3/Survivin pathway-related protein expression in NETs-induced HaCaT cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:与对照组相比,** $P<0.01$;与 PsO-NETs 组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与银屑平丸含药血清组相比, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

及甘草。生地黄作为君药发挥滋阴生津的核心作用;赤芍、山药、丹参等七味药材配伍为臣药,协同荡涤肠胃、推陈致新;女贞子与墨旱莲互为佐药,增强滋阴润燥之效;甘草作为使药,既可清热解毒又可调和诸药。全方通过多组分协同作用,达到滋阴凉血、祛邪解毒、清热化痰的功效。结果显示,银屑平丸组与阿维 A 含药血清在抑制细胞增殖方面呈现相似效应,提示两者具有相当的生物学活性。

中性粒细胞作为人体中最丰富的免疫细胞,通过吞噬、脱颗粒和释放 NETs 实现致病作用,调节 PsO 的炎症反应^[27]。大量研究^[28-29]表明,在 NETs 的形成过程中,表达过量的抗菌肽,通过电荷作用促进中性粒细胞跨膜转运宿主来源 RNA 及细菌外泌 RNA,引起免疫应答级联反应,同时诱导 NETs 持续释放表型,这一过程使得浆细胞样树突状细胞和其他免疫细胞加入由内源性核酸驱动的激活恶性循环,放大和维持病理性皮肤的炎症。本研究表明,PsO-Nets 组患者外周血中性粒细胞 NETs 释放量较 HC-Nets 组显著升高,提示其 NETs 生成通路存在异常活化。体外实验证实,经 NETs 诱导的 HaCat 细胞增殖速率与迁移能力在 PsO 模型组呈现增强特征。采用银屑平丸含药血清干预后,上述生物学行为得到了显著逆转,表明银屑平丸可能通过调控 NETs 介导

的信号通路发挥治疗作用。

为了进一步研究银屑平丸是否通过抑制 STAT3/Survivin 信号通路影响 NETs 诱导下 HaCat 细胞的增殖迁移,本研究采用 STAT3 激活剂 Colivelin TFA,通过激活 STAT3 蛋白抵消银屑平丸的抑制作用。Nets 诱导下 HaCat 细胞增殖、迁移速率,STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平明显升高,而加入银屑平丸含药血清组 HaCat 细胞增殖、迁移速率,STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平明显降低,银屑平丸含药血清+Colivelin TFA 组 STAT3、p-STAT3、Survivin 蛋白表达水平较银屑平丸含药血清组明显增强,表明恢复 STAT3 蛋白活性有效。STAT3 激活的主要机制是通过酪氨酸-705 的磷酸化。磷酸化 STAT3 单体结合形成二聚体并易位到细胞核中,然后将其与特定的 DNA 元素结合以启动转录。STAT3 蛋白可以通过酪氨酸脱磷酸化失活并返回细胞质。STAT3 和 p-STAT3 蛋白表达水平变化趋势相同,表明银屑平丸的抑制作用可能是通过抑制 STAT3 磷酸化实现。

本研究结论表明,银屑平丸可能通过阻断 STAT3 磷酸化抑制 STAT3/Survivin 信号通路,降低 NETs 诱导的 HaCat 细胞增殖与迁移能力,从而发挥 PsO 治疗作用。未来研究应进一步探讨其多靶点

作用,并通过体内实验验证关键信号分子的调控效应。

参考文献

- [1] RENDON A, SCHÄKEL K. Psoriasis pathogenesis and treatment[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(6): 1475.
- [2] BOEHNCKE W H, SCHÖN M P. Psoriasis[J]. *The Lancet*, 2015, 386(9997): 983-994.
- [3] 徐虎, 李娜, 赢双, 等. 银屑病的组织病理学表现[J]. *临床皮肤科杂志*, 2024, 53(11): 694-695.
- [4] 李欣, 张博. 银屑病慢病管理专家共识[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2025, 39(7): 709-734.
- [5] ARMSTRONG A W, GOODERHAM M, WARREN R B, et al. Deucravacitinib versus placebo and apremilast in moderate to severe plaque psoriasis: Efficacy and safety results from the 52-week, randomized, double-blinded, placebo-controlled phase 3 POETYK PSO-1 trial[J]. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2023, 88(1): 29-39.
- [6] 赵宁, 底婷婷, 王燕, 等. 健脾养血解毒方抑制咪喹莫特诱导的银屑病样皮损模型的炎症细胞浸润[J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(9): 1618-1624.
- [7] CAO T Y, YUAN X, FANG H, et al. Neutrophil extracellular traps promote keratinocyte inflammation via AIM2 inflammasome and AIM2-XIAP in psoriasis[J]. *Experimental Dermatology*, 2023, 32(4): 368-378.
- [8] WILSON A S, RANDALL K L, PETTIT J A, et al. Neutrophil extracellular traps and their histones promote Th17 cell differentiation directly via TLR2[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 528.
- [9] VOROBYEVA N V. Neutrophil extracellular traps: New aspects[J]. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2020, 75(4): 173-188.
- [10] 罗辉清, 张文娟, 乔猛, 等. Circ_0061012 通过靶向 miR-4310/7157-5p 簇和 HIF-1A 轴促进 IL-17A 诱导的角质形成细胞异常增殖[J/OL]. *中国免疫学杂志*, 2024: 1-21. (2024-09-30). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZMXZ20240929001&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [11] 朱小凤, 林雅雯, 窦越, 等. HMGB1-TLR4-IL-23-IL-17A 轴在寻常型银屑病患者血清中的表达水平及临床意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2024, 40(7): 1479-1483.
- [12] LI R L, XIONG Y J, MA L Q, et al. Neutrophil extracellular traps promote macrophage inflammation in psoriasis[J]. *Clinical Immunology*, 2024, 266: 110308.
- [13] CHEN X J, JIANG C W, CHEN M H, et al. SYK promotes the formation of neutrophil extracellular traps by inducing PKM2 nuclear translocation and promoting STAT3 phosphorylation to exacerbate hepatic ischemia-reperfusion injury and tumor recurrence[J]. *Molecular Medicine*, 2024, 30(1): 146.
- [14] ZHANG Z X, ZHU Q L, WANG S Y, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits the formation of neutrophil extracellular traps and suppresses the migration and invasion of colon cancer cells by regulating STAT3/CXCL8 pathway[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2023, 478(4): 887-898.
- [15] ZHENG T T, DENG J Q, WEN J H, et al. p38 α deficiency ameliorates psoriasis development by downregulating STAT3-mediated keratinocyte proliferation and cytokine production[J]. *Communications Biology*, 2024, 7: 999.
- [16] CORTÉS-BALLINAS L, LÓPEZ-PÉREZ T V, ROCHA-ZAVALA L. STAT3 and the STAT3-regulated inhibitor of apoptosis protein survivin as potential therapeutic targets in colorectal cancer (Review)[J]. *Biomedical Reports*, 2024, 21(6): 175.
- [17] 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.
- [18] 沈乐乐, 席建元, 孙立新, 等. 基于网络药理学及分子对接技术分析“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病的作用机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(12): 2136-2145.
- [19] 沈乐乐, 沈浮, 孙立新, 等. 基于生物信息学方法探讨银屑病关键差异基因的免疫浸润机制及相关中药预测分析[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(11): 1663-1674.
- [20] 沈乐乐, 李森, 彭子怡, 等. 基于 Notch 信号通路探讨银屑平丸含药血清对 TNF- α 诱导的人表皮角质形成细胞相关蛋白及炎症因子的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(9): 1171-1178.
- [21] 魏伟, 吴希美, 李元建. *药理实验方法学*[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [22] 李鹏, 邢杰. 中性粒细胞的分离与纯化[J]. *医学理论与实践*, 2005, 18(3): 272-275.
- [23] 张永强, 丁从珠, 孙玥. 青藤碱抑制 PDGF/PDGFR 信号通路在 NETs 诱导 RA-FLS 迁移作用中的机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(7): 1947-1955.
- [24] TONELLO S, RIZZI M, MIGLIARIO M, et al. Low concentrations of neutrophil extracellular traps induce proliferation in human keratinocytes via NF- κ B activation[J]. *Journal of Dermatological Science*, 2017, 88(1): 110-116.
- [25] ZHANG Y, PAN Y Y, ZHANG P Y, et al. AhR agonist tapinarof ameliorates lupus autoimmunity by suppressing Tfh cell differentiation via regulation of the JAK2-STAT3 signaling pathway[J]. *Immunity, Inflammation and Disease*, 2023, 11(6): e903.
- [26] 田敏, 熊炜, 涂云华, 等. 司库奇尤单抗联合阿维 A 治疗中、重度斑块型银屑病患者的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(24): 3523-3527.
- [27] CHEN J L, BAI Y X, XUE K, et al. CREB1-driven CXCR4hi neutrophils promote skin inflammation in mouse models and human patients[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 5894.
- [28] HERSTER F, BITTNER Z, ARCHER N K, et al. Neutrophil extracellular trap-associated RNA and LL37 enable self-amplifying inflammation in psoriasis[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 105.
- [29] MASUCCI M T, MINOPOLI M, DEL VECCHIO S, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps (NETs) in tumor progression and metastasis[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1749.