

陈文培,杨威,戴锦龙,等. 2,4-二硝基氯苯诱导 BN 大鼠慢性特应性皮炎模型的建立和验证 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(7): 48-54.

Chen WP, Yang W, Dai JL, et al. Establishment and evaluation of a chronic atopic dermatitis model induced by 2, 4-dinitrochlorobenzene in Brown Norway rats [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(7): 48-54.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.07.007

2,4-二硝基氯苯诱导 BN 大鼠慢性特应性皮炎模型的建立和验证

陈文培^{1,2}, 杨威^{1,2}, 戴锦龙², 郭健敏^{1,2*}

(1.广州湾区生物医药研究院,广州 510990;2.广东莱恩医药研究院有限公司,广东省药物非临床评价研究企业重点实验室,广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心,广州 510990)

【摘要】 目的 建立 2,4-二硝基氯苯诱发的 Brown Norway (BN) 大鼠特应性皮炎 (atopic dermatitis, AD) 模型,并评估验证其在药效试验中的应用。**方法** BN 大鼠随机分为对照组、模型组、他克莫司组。分别于 1、3、7、9、12、14、16、19、21、23 和 25 d 对模型组和他克莫司组 BN 大鼠双耳涂布 0.5% 2,4-二硝基氯苯 (DNCB) 溶液,每耳 40 μ L。对照组在相同时间给予等容积的基质溶液。他克莫司组在造模期间给予他克莫司软膏涂抹右耳,连续 25 d。试验期间对耳部皮肤进行炎症评分和耳厚度测定;造模 26 d 后取耳片进行称重;部分耳片组织行苏木素-伊红染色和甲基胺蓝染色,剩余耳片匀浆测定 IgE 含量。**结果** 模型组自造模 9 d 起耳厚度明显增加,12 d 出现明显的耳组织炎症症状,16~25 d 处于高峰阶段;造模 26 d,模型组耳重量明显增加,IgE 含量明显升高,耳组织呈表皮增厚、表皮内和真皮层炎细胞浸润、肥大细胞浸润等病理改变。他克莫司软膏明显改善上述指标。**结论** DNCB 诱导 BN 大鼠发展出稳定的 AD 样症状,适用于药物药效作用评价。

【关键词】 特应性皮炎;BN 大鼠;2,4 二硝基氯苯;IgE;肥大细胞

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 07-0048-07

Establishment and evaluation of a chronic atopic dermatitis model induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in Brown Norway rats

CHEN Wenpei^{1,2}, YANG Wei^{1,2}, DAI Jinlong², GUO Jianmin^{1,2*}

(1. Guangzhou Bay Area Institute of Biomedicine, Guangzhou 510990, China. 2. Guangdong Lewwin Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Guangdong Provincial Key Laboratory of Drug Non-Clinical Evaluation and Research, Guangdong Engineering Research Center for Innovative Drug Evaluation and Research, Guangzhou 510990)

【Abstract】 Objective To establish and evaluate a chronic model of atopic dermatitis (AD) induced by 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) in Brown Norway rats. **Methods** Brown Norway rats were randomly divided into negative, model, and tacrolimus groups. The ear skin of rats in model and tacrolimus groups were challenged by 0.5% DNCB at days 1, 3, 7, 9, 12, 14, 16, 19, 21, 23 and 25. Rats in the control group were administered a substrate solution at the same volume at the same time points. Rats in the tacrolimus group were transdermally administered tacrolimus ointment for 25

[基金项目] 广东省药物非临床评价研究企业重点实验室 (2018B030323024); 广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项 (2019B020202002); 广州市基础与应用基础研究项目 (202102020984)。

[作者简介] 陈文培 (1990—), 女, 博士研究生, 研究方向: 皮肤药理学。E-mail: chenwp317@126.com

[通信作者] 郭健敏 (1987—), 女, 高级工程师, 研究方向: 药物药理毒理学。E-mail: guojianmin@lewin.com.cn

consecutive days. The inflammation score of ear skin and the thickness of ear tissue were evaluated. Ear tissues were collected and weighted after 26 days of modeling. Histopathological examination and toluidine blue staining of ear tissue were also performed. The IgE level in ear tissue was detected. **Results** The ear thickness in model rats was significantly increased after 9 days of challenge by DNCB, while whereas inflammation score was remarkably improved after 12 days and reached a peak at 16~25 days. The weight of ear tissue and the IgE level in the ear were increased at day 26 of challenge. Pathological changes, such as epidermal thickening, inflammatory cell infiltration, and mast cell infiltration, occurred in the model group. Tacrolimus significantly reversed these changes. **Conclusions** Brown Norway rats challenged by DNCB develop stable AD-like symptoms, which are appropriate for pharmacological evaluation.

[Keywords] atopic dermatitis; Brown Norway rat; 2,4-dinitrochlorobenzene; IgE; mast cell

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)是一种自身免疫相关的慢性瘙痒炎症性皮肤病,可伴随疼痛、红斑状丘疹、干皮症、湿疹等症状和临床表现^[1]。AD在成人中发病率为10%,而在发达地区儿童的患病率更是高达20%^[2-3];而半数以上的患者最终会发展为其他特应性疾病,如哮喘、过敏性鼻炎等^[4]。目前AD尚无治愈手段,临床以外用药为主,包括糖皮质激素、钙调神经磷酸酶抑制剂、抗组胺药等治疗用药,以及抗生素、抗菌药等对症抗感染用药^[5];近年来,Janus 激酶抑制剂、磷酸二酯酶抑制剂-4 抑制剂、生物制品表现出较好的潜力^[6-7]。理想的动物模型是AD病理机制研究和药物药效评价的良好载体。常用的AD动物模型有转基因小鼠模型(如白介素4转基因小鼠)、自发小鼠模型(如Nc/Nga小鼠)、半抗原(卵清蛋白、2,4-二硝基脲苯、2,4-二硝基氯苯(2,4-dinitrochlorobenzene, DNCB)等)诱发的小鼠模型^[8-10]。Brown Norway (BN)大鼠为近交系大鼠,具有较高的致敏性,近年来常被用于过敏^[11]、哮喘^[12]等免疫性疾病研究。应用大鼠模型考察经皮制剂的抗皮炎药效作用,在给药准确性、操作方面优于小鼠模型。本研究以BN大鼠为研究对象,建立DNCB诱发AD模型,对模型的表现指征、因子和病理改变等进行检测,并采用他克莫司软膏考察模型的适用性,为AD治疗药物开发提供合适的模型工具。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF级BN大鼠共20只,雌性,8~10周龄,体重130~160 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2021-0011],实验环境为广东莱恩医药研究院有限公司屏障环境动物房[SYXK(粤)2022-0146]。动物自由摄食、饮水,动物房环

境温度控制在20~26℃,相对湿度40%~70%,最小换气次数15 times/h,12 h/12 h光照/黑暗交替。本试验设计实施经广东莱恩医药研究院有限公司实验动物伦理研究委员会审核通过(IA-PD2021010-01)。按照实验动物使用的3R原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

0.1%他克莫司软膏(Astellas Pharma Inc.,批号057040);2,4-二硝基氯苯(DNCB,西亚化学科技(山东)有限公司,批号WJ6J6);丙酮(广州化学试剂厂,批号2021020109);橄榄油(佳格投资(中国)有限公司,批号2021BZ20191212);异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,批号21022101);IgE ELISA试剂盒(Reagent Genie Ireland Ltd.,批号R1074G064);肥大细胞染色液(甲苯胺蓝法)(北京雷根生物技术有限公司,批号0607A21)。

电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);螺旋测微仪(三丰精密量具(上海)有限公司);VMR型麻醉机(Midmark Corporation);酶标分析仪(BioTek Instruments, Inc.);生物显微镜(Leica Biosystems)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组与造模

将BN大鼠按体重随机分为3组,分别为对照组、模型组、他克莫司组。对照组4例动物,模型组和他克莫司组8例动物。分组当天记为D0。模型组和他克莫司组动物于D1、D3、D7、D9、D12、D14、D16、D19、D21、D23和D25,双耳均匀涂抹0.5% DNCB溶液(丙酮:橄榄油=3:1)40 μL;对照组动物双耳均匀涂抹丙酮-橄榄油溶剂40 μL。造模期间大鼠佩戴伊丽莎白圈。

1.3.2 给药

首次造模当天开始,对他克莫司组动物右耳经皮涂抹他克莫司软膏每耳30 mg,每天1次,连续给

药 25 d。给药 6 h 后以生理盐水轻轻拭擦除去药物。每天给药后至除药前,大鼠佩戴伊丽莎白圈。对照组和模型组大鼠双耳、他克莫司组左耳不做处理。

1.3.3 耳部炎症症状评分

每次造模约 6 h 后,对造模耳进行炎症症状评分。评分由干燥/脱屑,出血/红疹,溃烂/表皮脱落,水肿症状综合评定。每个症状评分标准如下:无症状计 0 分,轻度(症状存在,需仔细辨别观察方可看到)计 1 分,中度(症状可立即看到)计 2 分,重度(症状非常明显)计 3 分。最终评分为 4 种症状评分之和,总分值为 0~12 分。

1.3.4 耳厚度测量

首次造模前、每次造模约 6 h 后,测量耳厚度。

1.3.5 耳重量测定

末次造模次日,对动物实施异氟烷吸入麻醉后腹主动脉放血安乐死,裁取对照组双耳、模型组和他克莫司组右耳近似部位约 8 mm 的圆片,进行称重。

1.3.6 耳组织 IgE 测定

取部分耳圆片,以 9 倍磷酸盐缓冲液进行匀浆,2000 r/min 下离心 10 min,取上清液。以酶联免疫吸附法测定 IgE 含量。

1.3.7 耳组织病理学检查

取部分耳圆片组织置于 10%福尔马林中固定,经常规脱水、石蜡包埋、切片后,常规苏木素-伊红染色和甲苯胺蓝染色后,光学显微镜下观察皮肤组织增厚、基底细胞变性坏死、炎细胞和肥大细胞浸润等病理改变。病理改变程度根据下述级别进行判定:正常,未观察到组织学改变或组织结构基本正常;轻微,病理损伤范围零星可见,不构成区域性;轻度,灶性、多灶性或散在分布的损伤,这些损伤范围在 100 倍镜下可见 1/3~1 个视野;中度,损伤在组织中占主导地位,灶性、多灶性或散在分

布的损伤,这些损伤范围在 100 倍镜下可见 1~3 个视野;重度,损伤在组织中占绝对优势,灶性、多灶性或散在分布的损伤,这些损伤范围在 100 倍镜下可见 3 个视野以上。

1.4 统计学方法

数据采用平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。对数据先采用 F-test 进行组间方差齐性分析,方差齐同时,组间比较采用 Student-T 检验,组间方差不齐时,采用校正的 Student-T 检验进行统计分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠耳部炎症症状观察和评分

造模 12 d 后,模型组大鼠右耳和左耳耳部皮肤出现红肿、脱屑、出血等炎症症状,症状评分值显著提高($P<0.01$),16 d 分值达到最高,直至 25 d 均维持在高水平,见图 1。给药 12~25 d,与模型组相比,他克莫司组大鼠给药右耳耳部炎症症状评分值显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),非给药左耳耳部炎症症状评分值亦明显降低($P<0.05$)。

2.2 大鼠耳厚度变化

与对照组相比,造模 1 d 开始,模型组动物左耳和右耳逐渐增厚;造模 9~25 d,模型组大鼠左耳和右耳呈显著性增厚($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见图 2。给药 9~25 d,他克莫司组大鼠给药右耳增厚程度明显低于模型组右耳($P<0.05$),非给药左耳增厚程度呈现低于模型组左耳的作用及趋势。

2.3 大鼠耳重量变化

与对照组相比,模型组大鼠左耳和右耳片重量均明显增加($P<0.05$);与模型组相比,他克莫司组大鼠给药右耳重量显著减小($P<0.01$),非给药左耳重量亦显著减小($P<0.05$),见表 1。

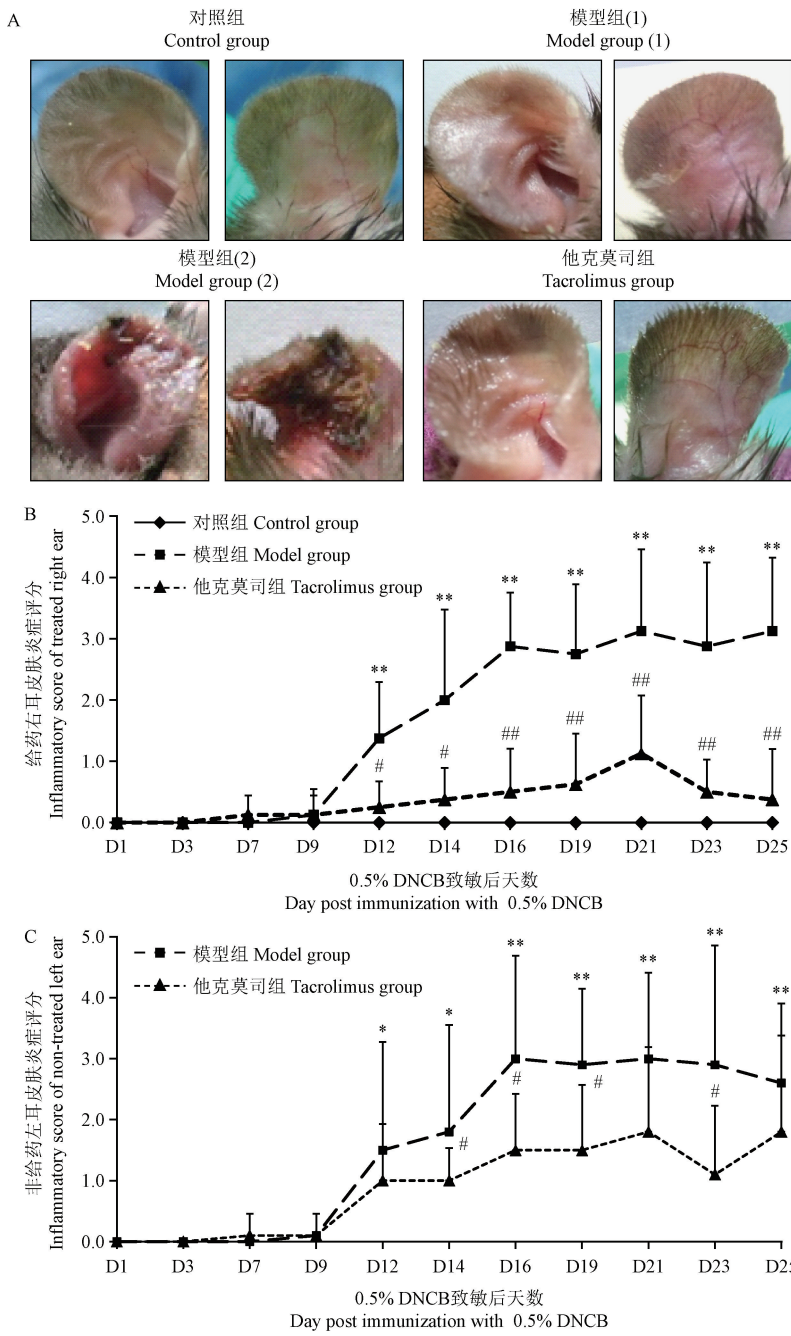
2.4 大鼠耳组织 IgE 变化

与对照组(58.33 ± 11.49 ng/g 组织)相比,模型

表 1 DNCB 诱导 BN 大鼠耳重量变化($n=8$)
Table 1 Ear weight in rats induced by DNCB

组别 Groups	给药右耳重量(g) Treated right ear weight	非给药左耳重量(g) Non-treated left ear weight
对照组 Control group	0.0275±0.0027	/
模型组 Model group	0.0350±0.0063 [*]	0.0336±0.0058 [*]
他克莫司组 Tacrolimus group	0.0261±0.0018 ^{##}	0.0276±0.0034 [#]

注:与对照组相比, ^{*} $P<0.05$;与模型组相比, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ 。
Note. Compared with control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with model group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$.



注:A:造模第 25 天耳部图;B:大鼠右耳组织炎症评分;C:大鼠左耳组织炎症评分。与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型组同侧耳相比, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 1 DNCB 诱导大鼠耳组织炎症反应评分($n=8$)

Note. A, Ear image after 25 d after stimulation with DNCB. B, Inflammatory score of right ear in rats. C, Inflammatory score of left ear in rats. Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. Compared with the same side of model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

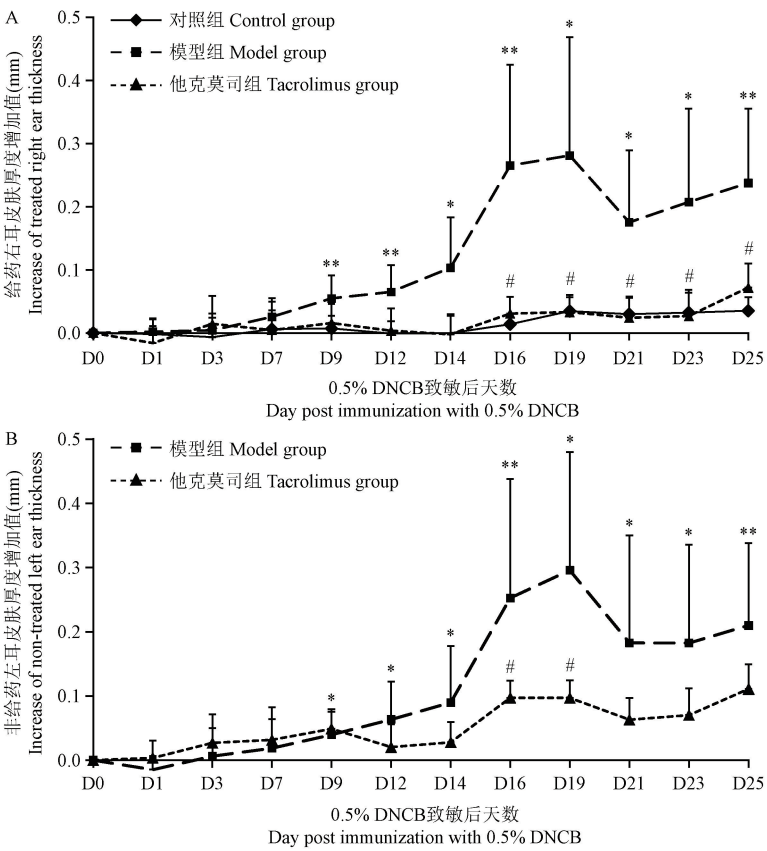
Figure 1 Inflammatory reaction of ear in rats induced by DNCB

组大鼠右耳 IgE 含量明显增加 (113.07 ± 64.43 ng/g 组织, $P<0.05$); 与模型组右耳相比, 他克莫司组大鼠给药右耳 IgE 含量明显减少 (49.33 ± 20.99 ng/g 组织, $P<0.05$)。

2.5 大鼠耳部组织病理学改变

组织病理学结果见图 3 和表 2。对照组耳部皮

肤各层结构清晰完整, 表皮无增厚, 真皮层散在性个别肥大细胞(箭头指示); 模型组右耳组织皮肤角化过度 and/或不全、颗粒层增厚、基底细胞变性坏死、细胞内水肿, 伴随真皮层大量的炎细胞浸润, 肥大细胞明显浸润; 他克莫司组右耳皮肤各层结构完整, 表皮无增厚, 真皮层散在性个别肥大细胞。



注:A:大鼠右耳组织增厚图;B:大鼠左耳组织增厚图。与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型组同侧耳相比, # $P<0.05$ 。

图2 DNCB 诱导大鼠耳组织增厚($n=8$)

Note. A, Increased thickness of right ear in rats. B, Increased thickness of left ear in rats. Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. Compared with the same side of model group, # $P<0.05$.

Figure 2 Increased thickness of ear in rats induced by DNCB

表2 大鼠耳部皮肤病理学改变
Table 2 Pathological changes of ear in rats

组别 Groups	病变程度 Lesion degree	表皮增厚 Epidermal thickening	基底细胞变性坏死 Basel cell necrosis	炎细胞浸润 Inflammatory cell infiltration	肥大细胞浸润 Mast cell infiltration
对照组 Control group	-	8	8	8	0
	±	0	0	0	8
	+	0	0	0	0
	++	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0
模型组 Model group	-	0	0	0	0
	±	0	0	0	1
	+	4	1	2	7
	++	4	7	6	0
	+++	0	0	0	0
他克莫司组 Tacrolimus group	-	8	8	8	0
	±	0	0	0	8
	+	0	0	0	0
	++	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0

注:-、±、+、++、+++分别表示正常、轻微、轻度、中度和重度。
Note. -, ±, +, ++, +++ were represented as normal, slight, mild, moderate and sever degree, respectively.

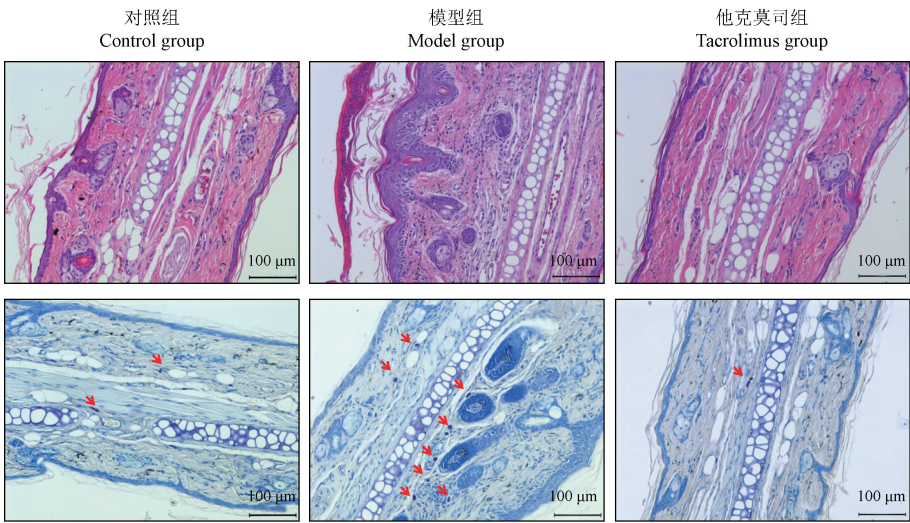


图3 大鼠耳组织病理学变化(HE 染色,甲基胺蓝染色)

Figure 3 Pathological changes of ears in rats (HE staining, toluidine blue staining)

3 讨论

AD 是一种遗传性的慢性、复发性、炎性皮肤病,发病机理目前尚未完全阐明,多数认为 AD 是 Th1/Th2 细胞亚群失衡导致的免疫性疾病。AD 的发生发展经历三个阶段^[13]:前期时,未破损皮肤表皮屏障缺陷,微生物多样性降低;急性期时,IgE 介导的效应与 Th2 型炎症并行,加剧表皮屏障功能障碍,皮肤出现瘙痒、红疹、水疱,甚至溃烂、结痂等表现;在向慢性 AD 转化时,优势 Th1 型细胞分泌 IFN- γ 、IL-1 等抑制 Th2 型炎症反应,形成瘙痒/抓挠的恶性循环,从而导致皮肤增厚。有研究表明,BN 大鼠对 Th2 优势的实验性自身免疫性疾病,如氯化汞、青霉素诱导的自身免疫性疾病易感。BN 大鼠经青霉素刺激后,Th2 细胞特征因子 IL-4、IL-6、IL-10 明显升高和 Th1 细胞特征因子 IFN- γ 、IL-1 升高^[14]。由此可推测,BN 大鼠具有 AD 发病的免疫学基础。

DNCB 为常用的化学半抗原性致敏原,常被用于制备免疫性模型。对于 AD 模型,众多研究采用的是经小鼠背部涂抹 DNCB 致敏后再于耳部涂抹 DNCB 激发,经皮给药部位为致敏背部,实际操作中会存在以下问题:(1)毛发是小动物皮肤疾病模型建立和炎症评分的障碍,尤其对于慢性皮肤疾病模型,目前的脱毛剂如脱毛膏、硫化钠溶液等脱毛效果不佳且维持时间短;(2)背部皮肤致敏导致破损后,容易受到饲养微环境的影响,需考虑采用玉米芯等少尘少屑的垫料,尽量减少环境对皮肤炎症反应的影响;(3)皮肤疾病药物多采用局部给药途径,毛发影响了药量准确性。基于上述问题,本研究以

DNCB 为诱导剂,考察对 BN 大鼠耳部涂抹刺激诱导产生皮肤 AD 样反应的可行性。

本研究在造模期间,通过对皮肤炎症症状进行评分,并且测量耳部相近部位的厚度,综合评估模型的发展;于末期时,通过耳肿胀和组织病理学检查,评估模型的病变程度。模型组大鼠耳部皮肤自造模 12 d 起出现明显的干燥、脱屑、红疹、溃烂、水肿等炎症反应,造模 16 d 时,炎症反应达到峰值。模型组大鼠造模耳于造模后 9 d 起明显增厚,于造模后 16 d 厚度达到最大。模型组大鼠耳组织炎症反应和耳厚度在造模 16~25 d 均维持在高水平。末期,模型组耳肿胀明显,耳部组织皮肤出现表皮增厚、基底细胞变性坏死、细胞内水肿,伴随真皮层大量的炎细胞浸润等 AD 样病理学改变。此外,模型组大鼠 IgE 水平明显升高,且皮肤组织增厚和炎细胞浸润程度与 IgE 水平呈现正相关性。上述研究结果显示,DNCB 能诱导 BN 大鼠出现 AD 样反应。

他克莫司软膏临床应用于成人及儿童 AD,均有较明显的疗效^[15-16]。本研究以他克莫司软膏评估所建立的 AD 模型用于药效研究的适用性。本研究表明,他克莫司干预后大鼠造模耳组织炎症反应、耳厚度、耳重量、IgE 水平、耳组织结构基本改善至恢复正常水平。本研究他克莫司组动物同时造模和给药,药物效应与已有文献报道相当^[17-18],表明他克莫司能明显改善 DNCB 诱导的 BN 大鼠 AD 样改变。该结果也表明 DNCB 诱导 BN 大鼠 AD 模型适用于评价 AD 治疗性药物的疗效,于造模后 16~25 d 内进行评价较为稳定。

目前常用的制备 AD 模型的方法是对小鼠应用

0.5%~1%的 DNCB 经背部皮肤大面积致敏后经耳激发。小鼠激发耳皮肤炎症症状以及耳厚度随着激发次数增多而逐渐加重(评分 8 分以上,耳增厚 0.2~0.6 mm,耳重量增加约 5 倍);耳部皮肤呈现角化过度伴角化不全,上皮层明显增厚,真皮层嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、肥大细胞等炎细胞浸润;血清 IgE 显著增加^[19-21]。该模型倾向于发展为中重度 AD 样改变。本研究 BN 大鼠应用 0.5% DNCB 经耳部皮肤致敏和激发,耳部皮肤呈现角化过度 and/或 不全、颗粒层增厚、伴随真皮层大量的炎细胞浸润和肥大细胞明显浸润,与小鼠模型病理改变类型相似;耳皮肤炎症症状以及耳厚度也是随着激发次数增多而逐渐加重(评分约 3 分,耳增厚约 0.3 mm);组织 IgE 明显增加。本研究大鼠模型更倾向于发展中等程度 AD 样改变。此外,本模型在建模和药物评价中具有以下优势:改善动物的整体情况,能减少动物出现非造模直接因素,如垫料粉尘导致的皮肤损伤感染,降低动物的疼痛级别,满足 3R 原则中的“优化”原则;采用大鼠模型考察经皮给药制剂药效作用时,直接对造模耳给药,不仅避免毛发的干扰,而且给药后短时间内能使用伊丽莎白圈辅助防止大鼠抓挠给药部位,均能保证给药剂量的相对准确性。综上所述,DNCB 能诱导 BN 大鼠出现 AD 样改变,该模型适用于评价中等程度 AD 治疗药物的药效作用,尤其是经皮给药制剂。

参考文献:

- [1] 苏峰,鲁胜男,李庆,等. 新型特应性皮炎治疗药物的临床研究进展 [J]. 中南药学, 2021, 19(5): 937-943.
- [2] Silverberg JI, Barbarot S, Gadkari A, et al. Atopic dermatitis in the pediatric population: a cross-sectional, international epidemiologic study [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2021, 126(4): 417-428.
- [3] Laughter MR, Maymone MBC, 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.
- [4] 曾路婷,黄义杰,孙广臣. 特应性皮炎动物模型与免疫学机制及中药治疗的研究进展 [J]. 中南药学, 2019, 17(5): 696-700.
- [5] 周淑英,弓月,张晨曦,等. 特应性皮炎临床合理用药 [J]. 人民军医, 2021, 64(5): 468-470.
- [6] Zhang L, Du D, Wang L, et al. Efficacy and safety of topical Janus kinase and phosphodiesterase inhibitor-4 inhibitors for the treatment of atopic dermatitis: a network meta-analysis [J]. J Dermatol, 2021, 48(12): 1877-1883.
- [7] 冯佩英. 生物制剂治疗特应性皮炎和特应性共病的研究进展 [J]. 中山大学学报(医学科学版), 2022, 43(1): 1-9.
- [8] 郭亚南,文海泉. DNCB 致敏/激发 Nc/Nga 小鼠特应性皮炎模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(5): 12-14, 84.
- [9] Hwang DH, Koh PO, Kang C, et al. Rosa *davurica* Pall. improves DNCB-induced atopic dermatitis in mice and regulated TNF- α /IFN- γ -induced skin inflammatory responses in HaCaT cells [J]. Phytomedicine, 2021, 91: 153708.
- [10] Yamanishi Y, Mogi K, Takahashi K, et al. Skin-infiltrating basophils promote atopic dermatitis-like inflammation via IL-4 production in mice [J]. Allergy, 2020, 75(10): 2613-2622.
- [11] 陈如程,李娜,樊柏林,等. BN 大鼠致敏动物模型研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(1): 14-17.
- [12] 楚慧伦,孔德明,丁子桐,等. Brown-Norway 大鼠咳嗽变异性哮喘模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(3): 63-66.
- [13] Fania L, Moretta G, Antonelli F, et al. Multiple roles for cytokines in atopic dermatitis: from pathogenic mediators to endotype-specific biomarkers to therapeutic targets [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(5): 2684.
- [14] Huang Y, Lin Z, Huo Y, et al. Procainamide-induced autoimmunity: relationship to T-helper 2-type T-cell activation [J]. Hum Exp Toxicol, 2018, 37(6): 647-662.
- [15] 魏明辉,余碧娥,陈连军,等. 他克莫司软膏治疗儿童与成人特应性皮炎的随机双盲对照临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2006, 22(1): 11-14.
- [16] 凌诗琪,宗文凯. 他克莫司软膏在皮肤科的主要临床应用 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2018, 32(8): 950-954.
- [17] 刘丹,焦泽龙,赵梓纲,等. 他克莫司对慢性湿疹小鼠的治疗作用 [J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(2): 157-160.
- [18] Kumar P, Sharma DK, Ashawat MS. Topical creams of piperine loaded lipid nanocarriers for management of atopic dermatitis: development, characterization, and *in vivo* investigation using BALB/c mice model [J]. J Liposome Res, 2022, 32(1): 62-73.
- [19] 王欣欣,李思佳,关洪全,等. DNCB 对 BALB/c 小鼠特应性皮炎的诱导作用及其机制 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2020, 46(3): 439-443, 669.
- [20] Kim KM, Kim SY, Mony TJ, et al. *Moringa concanensis* L. alleviates DNCB-induced atopic dermatitis-like symptoms by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β in BALB/c mice [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2022, 15(10): 1217.
- [21] Jiang X, Lan Y, Wei B, et al. External application of NF- κ B inhibitor DHMEQ suppresses development of atopic dermatitis-like lesions induced with DNCB/OX in BALB/c mice [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2017, 39(3): 157-164.

[收稿日期]2022-10-01