

中药白疔合剂对银屑病样动物模型影响的实验研究

卢益萍 李忻红 马贤德 董灵玉

【摘要】 目的 研究中药白疔合剂对银屑病样动物模型表皮细胞增殖及微血管的影响。**方法** 用盐酸普萘洛尔诱导银屑病动物模型。将实验动物按随机数字表法分组,即正常组、模型组、白疔合剂低、高剂量组、消银颗粒组,分别给予相应的药物进行动物实验。采用酶联免疫吸附测定法检测血清环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)的含量及血管内皮生长因子水平。**结果** 中药白疔合剂组血清中 cAMP 含量升高、cGMP 含量降低、cAMP/cGMP 比值升高,与模型组比较均有显著性差异($P < 0.01$);血清血管内皮生长因子水平降低,与模型组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。**结论** 中药白疔合剂对银屑病的治疗可能与提高血清中 cAMP 含量、降低 cGMP 含量、调节 cAMP/cGMP 比值及降低血清血管内皮生长因子水平有关。

【关键词】 白疔合剂; 银屑病; 动物模型

【中图分类号】 R285.6 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.04.003

The effect of white mange medicine mixture on the psoriasis-like of animal-model LU Yi-ping, LI Xin-hong, MA Xian-de, et al. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China

Corresponding author: LU Yi-ping, E-mail: luyiping-11@sohu.com

【Abstract】 Objective To study the effect of white mange medicine mixture on the psoriasis-like epidermal cells proliferation function and microvascular of animal-model. **Methods** Propranolol was applied to make the psoriasis-like model of animal. The experimental animals were randomly divided into normal group, model group, white mange (low-and-high dose) group, and Xiaoyin granules (low-and-high-dose) group, and then they were given corresponding medicine to carry on the experimentation. The level of cAMP and cGMP and serum vascular endothelial growth factor was detected by ELISA. **Results** The level of serum cAMP was increased and cGMP was decreased, the ratio of cAMP/cGMP was increased, which are of remarkable differences from the model group ($P < 0.01$). The level of serum VEGF was decreased remarkable differences from the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Chinese medical white mange possesses the significant treatment effect on psoriasis, which maybe attributed to increase the level of serum cAMP and decrease the level of cGMP, adjust the ratio of cAMP/cGMP, and decrease the level of serum vascular endothelial growth factor.

【Key words】 White mange; Psoriasis; Animal-model

银屑病是一种由多基因遗传决定的、多环境因

素刺激诱导的免疫异常性慢性炎症性增生性皮肤病^[1]。现代研究证实,炎症细胞浸润、微血管改变及表皮角质形成细胞的过度增殖为银屑病病理改变的三个特征^[2]。从表皮细胞增殖及微血管角度进行银屑病机制研究是目前研究热点,本研究通过建立银屑病样实验动物模型从血清中环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)含量、环磷

基金项目:沈阳市科学计划项目(F11-264-1-37)

作者单位:110032 沈阳,辽宁中医药大学附属医院皮肤科(卢益萍、李忻红);辽宁中医药大学教学实验中心(马贤德);沈阳市第七人民医院皮肤科(董灵玉)

作者简介:卢益萍(1966-),女,本科,主任医师,教授,硕士生导师。研究方向:银屑病的中医药研究。E-mail:luyiping-11@sohu.com

酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)含量、cAMP/cGMP 比值及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平方面,研究中药白芨合剂治疗银屑病的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药品及主要试剂

白芨合剂(院内自制中药浓缩煎剂,制剂号:Z05010105,主要组成:丹参 15 g、地黄 20 g、赤芍 20 g、山豆根 20 g、板蓝根 20 g、金银花 30 g、白茅根 20 g、白花蛇舌草 30 g、全蝎 10 g、黄柏 20 g);消银颗粒(陕西康惠制药股份有限公司,批号:Z20000019,组成:地黄、牡丹皮、当归、苦参、金银花、玄参、牛蒡子、蝉蜕、白鲜皮、防风、大青叶、红花);cAMP、cGMP 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(上海越研生物科技有限公司提供,批号 201210);VEGF ELISA 检测试剂盒(晶美生物工程有限公司提供)。5% 盐酸普萘洛尔乳剂(纯盐酸普萘洛尔原料药由天津力生制药股份有限公司提供,批号 H12020151,乳剂基质由沈阳市日用化工厂提供,取盐酸普萘洛尔原料药加入基质中配制)。

1.2 动物

健康豚鼠 60 只,体重(300 ± 30)g,雄雌各半,购自大连医科大学,动物许可证号:SCXK(辽)2008-0002,分笼饲养于实验动物中心实验室。

1.3 仪器

电子天平(上海精密科学仪器有限公司生产)、电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂生产)、低温高速离心机(德国 HERAEUS 生产)、酶标仪(奥地利 Anthos Labtec Instruments 生产)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组 健康豚鼠,采用随机数字表法随机分为 6 组:(1)正常组;(2)模型组;(3)白芨合剂低剂量组;(4)白芨合剂中剂量组;(5)白芨合剂高剂量组;(6)消银颗粒组。

1.4.2 动物造模 先脱去豚鼠背毛,约 4 cm × 4 cm 大小,3 天后开始实验。对照组脱毛处仅外涂乳剂基质,其余各组均外涂 5% 盐酸普萘洛尔乳剂,范围约 3 cm × 3 cm(1 cm × 1 cm 用药 0.3 g),2 次/天,连续 3 周。造模成功,造成豚鼠背部的银屑病样动物模型。

1.4.3 用药 灌胃量 4 ml/只,白芨合剂用药量(成人每日 100 ml/70 kg),按照人与豚鼠体表面积

比例进行换算,计算得出豚鼠给药剂量为每天 7.74 ml/kg,以此浓度设定为中剂量组,低剂量组给药剂量为 3.87 ml/kg,高剂量组给药剂量为 15.48 ml/kg。阳性对照组按人鼠等效剂量灌胃,消银颗粒组为 0.81 g/kg。正常组与模型组豚鼠每日以等量生理盐水灌胃。

1.4.4 ELISA 法检测对血清 cAMP、cGMP 的含量及比值的影响 上述豚鼠未处死前取血,离心 2000 r/min,取血清,采用酶联免疫试剂盒,按试剂盒说明书要求进行检测光密度,根据标准曲线计算结果,根据结果计算 cAMP/cGMP 比值。

1.4.5 ELISA 法检测对血清血管内皮生长因子水平的影响 上述豚鼠未处死前取血,离心 2000 r/min,取血清,采用酶联免疫试剂盒,按试剂盒说明书要求进行检测光密度,根据标准曲线计算结果。

1.5 统计学方法

所获数据采用 SPSS 11.0 版本软件进行分析。计量资料实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,并进行单因素方差分析。方差齐性检验采用 Levene 法。各样本间比较应用 SNK 检验,实验组与对照组比较用 Dunnett-t 检验,各组两两比较用 LSD 检验。

2 结果

2.1 对血清 cAMP、cGMP 的含量及比值的影响

银屑病豚鼠模型血清 cAMP 含量均显著降低, cGMP 含量均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,白芨合剂各剂量组和消银颗粒组 cAMP 含量均显著升高($P < 0.01$), cGMP 含量均降低($P < 0.01$), cAMP/cGMP 比值均升高($P < 0.01$);消银颗粒组与白芨合剂高剂量组 cGMP 含量及 cAMP 含量比较均有统计学意义($P < 0.05$)。消银颗粒组与白芨合剂各剂量组 cAMP/cGMP 比值比较无统计学意义($P > 0.05$)。提示白芨合剂能够增高银屑病豚鼠模型血

表 1 对血清 cAMP、cGMP 的含量及比值的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	cAMP(pmol/ml)	cGMP(pmol/ml)	cAMP/cGMP
空白对照组	25.79 ± 1.96 ^b	1.91 ± 0.09 ^b	13.54 ± 1.49 ^b
模型组	5.18 ± 0.35 ^a	4.15 ± 0.12 ^a	1.25 ± 0.09 ^a
白芨高剂量组	10.00 ± 0.46 ^{abc}	3.14 ± 0.10 ^{abc}	3.18 ± 0.12 ^{abd}
白芨中剂量组	9.57 ± 0.63 ^{ab}	3.26 ± 0.15 ^{ab}	2.94 ± 0.25 ^{abd}
白芨低剂量组	8.83 ± 0.34 ^{ab}	3.66 ± 0.13 ^{ab}	2.42 ± 0.08 ^{abd}
消银颗粒组	9.11 ± 0.26 ^{ab}	3.27 ± 0.14 ^{ab}	2.79 ± 0.16 ^{ab}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$;与消银颗粒组比较,^c $P < 0.05$;与消银颗粒组比较,^d $P > 0.05$

清中 cAMP 的含量,降低银屑病模型豚鼠血清中 cGMP 的含量,白芨合剂高剂量效果优于消银颗粒。白芨合剂能够升高银屑病模型豚鼠血清中 cAMP/cGMP 比值,且随浓度的增高作用增强,对 cAMP/cGMP 比值的调节,白芨合剂与消银颗粒无差别,见表 1、图 1。

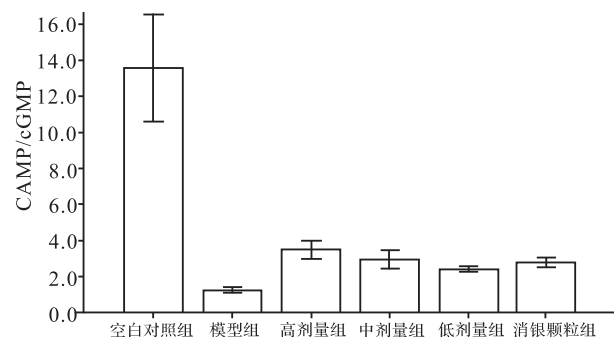


图 1 各组血清 cAMP/cGMP 比值的比较

2.2 对血清 VEGF 水平的影响

银屑病豚鼠模型血清 VEGF 显著高于正常组,造模成功。经治疗,中药白芨合剂治疗各剂量组与消银颗粒组血清 VEGF 均低于模型组 ($P < 0.01$),高剂量组与空白对照组无显著性差异 ($P > 0.05$),低剂量组与消银颗粒组无显著性差异 ($P > 0.05$),但仍高于正常对照组 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 对血清 VEGF 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF (pg/ml)	与消银颗粒组比较
空白对照组	8	68.21 \pm 3.71 ^b	<0.01
模型组	8	111.29 \pm 6.16 ^a	<0.01
白芨高剂量组	8	72.14 \pm 2.98 ^b	<0.01
白芨中剂量组	8	75.99 \pm 2.98 ^{ab}	<0.05
白芨低剂量组	8	82.31 \pm 4.60 ^{ab}	>0.05
消银颗粒组	8	81.24 \pm 6.10 ^{ab}	

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

3 讨论

中药白芨合剂为辽宁中医药大学附属医院数十年治疗银屑病的临床经验而研制成的院内制剂,取得了确切满意的疗效,尤以进展期效果最为显著。课题组对该中药多角度进行了动物模型研究,以进一步明确该中药治疗银屑病的作用机制。

现在研究认为,银屑病表皮增生与 cGMP/cAMP 的比率增高有关^[3]。环核苷酸 cAMP 和 cGMP 的调节对表皮细胞的生长和分化有重要意义。cAMP 通过激活磷酸化酶加速糖原代谢,从而

抑制表皮有丝分裂,减慢转换率,并抑制细胞周期的进程,从而达到抑制细胞增殖的作用。cGMP 在表皮细胞的增殖、分化中也起一定的作用。它能促进表皮的增殖。cGMP 可以调节 cAMP 的浓度及其信号通路,和 cAMP 是人体对立的两种调节系统,在细胞增殖发动时,细胞内的 cAMP 含量降低,cGMP 含量增高。cAMP 抑制细胞生长繁殖,cGMP 则增强细胞繁殖。现在认为,银屑病表皮的增生不是简单的由于 cAMP 减少和 cGMP 增高,更重要的是 cGMP/cAMP 的比率增高所致。

VEGF 又称血管通透因子 (vascular permeability factor, VPF),属于生长因子中的血小板衍生的生长因子家族之一。在众多血管生成因子中,VEGF 是唯一能特异性作用于血管内皮细胞的因子,是目前已知最强的促血管生成因子^[4]。VEGF 的主要作用是促进血管内皮细胞增生,提高血管的通透性。银屑病的病理损害中经常有 VEGF 及其受体表达的增高,这可能是银屑病发病中一些炎症反应及真皮乳头血管增生的分子基础^[5]。银屑病患者皮损 VEGF 增多,抑制患者 VEGF 的生成可以用来治疗该病^[6]。

本研究结果显示,中药白芨合剂可能通过提高血清中 cAMP 含量、降低 cGMP 含量、调节 cAMP/cGMP 比值抑制银屑病表皮细胞增殖。通过降低血清 VEGF 水平,从作用于微血管角度调节银屑病发病的部分炎症和免疫过程,取得疗效。下一步课题组会继续深入探讨该药对银屑病的其它免疫学机制的相关影响。

参 考 文 献

- [1] 郑敏. 银屑病发病机制研究中若干问题的思考[J]. 中华皮肤科杂志, 2006, 39(3): 121-123.
- [2] 邵长庚. 银屑病防治研究及合理治疗[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2006: 84.
- [3] 王侠生, 廖康煌. 杨国亮皮肤病学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2005: 507.
- [4] Dvorak AM, Feng D. The vesiculo-vacuolar organelle (VVO). A new endothelial cell permeability organelle[J]. J Histochem Cytochem, 2001, 49(4): 419-432.
- [5] 王刚, 张开明. 银屑病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 71.
- [6] Creamer D, Allen M, Jaggar R, et al. Mediation of systemic vascular hyperpermeability in severe psoriasis by circulating vascular endothelial growth factor[J]. Arch Dermatol, 2002, 138(6): 791-796.

(收稿日期: 2013-11-03)

(本文编辑: 秦楠)