

乌蛇驱风汤及诸加减方对豚鼠慢性湿疹模型的疗效比较

林靛^{1*}, 滕浦陵², 许日红²

(1. 安徽中医药高等专科学校, 安徽 芜湖 241000; 2. 芜湖市中医院, 安徽 芜湖 241000)

[摘要] **目的:**比较乌蛇驱风汤及诸加减方对豚鼠慢性湿疹的疗效。**方法:**健康豚鼠58只,随机抽取8只,雌雄各半,作为正常组,将其余的50只豚鼠参照进行造模,背部剃毛,小剂量2,4-二硝基氯苯为抗原,多次刺激豚鼠皮肤制备慢性湿疹模型,将造模成功的48只豚鼠分雌雄随机分为6组,分别为1号方组(乌蛇驱风汤原方, $8.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),2号方组($7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),3号方组($11.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),4号方组($12.86 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),丁酸氢化可的松乳膏组($0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、模型组,口服 i_g 给药,连续给药7d,末次用药后24h,处死所有实验动物,根据皮损局部的症状评分和皮损处的病理改变进行疗效评估。**结果:**与正常组比较,模型组病理症状评分明显升高($P < 0.05$),模型组皮损处的病理表现仍呈现表皮和真皮水肿,表皮层增厚,以棘层细胞增生为主,真皮浅层血管轻度扩张,周围有以淋巴细胞为主的炎症细胞浸润;与模型组比较,1号方组,2号方组,3号方组,4号方组及丁酸氢化可的松乳膏组病理症状评分明显降低($P < 0.05$),乌蛇驱风汤组及丁酸氢化可的松乳膏组皮损组织病理改变较模型组明显改善,与氢化可的松组病理表现相似;各乌蛇驱风汤加减方组组织病理表现较模型组改善不明显。**结论:**乌蛇驱风汤对豚鼠慢性湿疹的疗效优于诸加减方,与丁酸氢化可的松乳膏组疗效相当。

[关键词] 乌蛇驱风汤; 慢性湿疹; 豚鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0137-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200137

Efficacy Comparison of Wushe Qufeng Decoction and Its Derivative Prescriptions in Chronic Eczema Model of Guinea Pigs LIN Liang^{1*}, TENG Pu-lin², XU Ri-hong² (1. Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Wuhu 241000, China; 2. Wuhu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu 241000, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the efficacy of Wushe Qufeng decoction and its derivative prescriptions in chronic eczema of guinea pigs. **Method:** Eight guinea pigs (4 female and 4 male) were randomly selected from 58 healthy guinea pigs as the normal group. The remaining 50 guinea pigs were used to make the chronic eczema models by irritating the skins of their shaved backs with low-dose 2, 4-dinitrochlorobenzene as the antigen for repeated stimulation. 48 successfully modeled ones were randomly divide into 6 groups: No. 1 prescription group (Wushe Qufeng decoction, $8.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), No. 2 prescription group ($7.22 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), No. 3 prescription group ($11.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), No. 4 prescription group ($12.86 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), hydrocortisone butyrate cream group ($0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and model group. The guinea pigs in these groups were given orally for 7 days. 24 h after the last administering, all experiment animals were sacrificed, and the efficacy was assessed according to the symptom scores in local skin lesions and pathological changes of the skin lesions. **Result:** Symptom score: compared with normal group, the pathological symptom scores in model group were significantly higher ($P < 0.05$). Compared with model group, the pathological symptom scores in No. 1 prescription group, No. 2 prescription group, No. 3 prescription group, No. 4 prescription group and hydrocortisone butyrate cream group were significantly reduced ($P < 0.05$). The pathological changes in skin lesions were significantly improved in Wushe Qufeng decoction group and hydrocortisone butyrate cream group, similar to those in drug control group. No obvious difference was found between the groups of the derivative prescriptions of the Wushe Qufeng decoction and the model group. **Conclusion:** The efficacy of the Wushe Qufeng decoction in the chronic eczema of guinea pigs is better than that of its derivative prescriptions, equaling to that of the drug control group.

[Key words] Wushe Qufeng decoction; chronic eczema; guinea pigs

[收稿日期] 20140826(025)

[基金项目] 省级优秀青年人才基金项目(2009SQRZ215)

[通讯作者] * 林靛, 硕士, 讲师, 主治医师, 主要从事方剂学教学和研究, Tel: 18949523474, E-mail: whynot100@sina.com

乌蛇驱风汤为近代中医皮肤科名医朱仁康的验方,具有搜风清热,败毒止痒的功效,用于风热之邪内郁日久,未经发泄,致皮肤剧痒的病证^[1]。皮肤科临床常以其加减治疗慢性湿疹^[2],但如何客观评价不同加减方对慢性湿疹的临床疗效,尚未见文献报道。为探索乌蛇驱风汤的不同加减方与临床疗效的关系,本研究建立豚鼠慢性湿疹模型,以比较诸加减方的疗效,为临床组方用药提供参考。

1 材料

1.1 动物 豚鼠,体重(250±20)g,由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供,动物合格证号SCXK(苏)2012-0008。

1.2 药物及试剂 1号方(乌蛇驱风汤原方):乌梢蛇9g,蝉衣6g,防风9g,荆芥9g,白芷6g,羌活9g,黄芩9g,黄连6g,银花9g,连翘9g,甘草6g。

2号方:蝉衣6g,防风9g,荆芥9g,白芷6g,羌活9g,黄芩9g,黄连6g,银花9g,连翘9g,甘草6g。

3号方:乌梢蛇9g,蝉衣6g,防风9g,荆芥9g,白芷6g,羌活9g,黄芩9g,黄连6g,银花9g,连翘9g,甘草6g,茯苓10g,薏苡仁20g,苍术10g。

4号方:乌梢蛇9g,蝉衣6g,防风9g,荆芥9g,白芷6g,羌活9g,黄芩9g,黄连6g,银花9g,连翘9g,甘草6g,地黄10g,玄参10g,当归6g,赤芍10g,牡丹皮10g,红花6g(以上中药饮片均购自芜湖市中医院)。以上4方分别浸泡30min后煎煮,煮沸后再煎30min,共煎2次,合并煎液,过滤,浓缩至50mL,冷冻保存。2,4-二硝基氯苯(DNCB,成都艾科达化学试剂有限公司,批号201301021),丙酮(南京宁试化学试剂厂,批号2010120602),丁酸氢化可的松乳膏(天津药业集团有限公司,批号121110311)。

1.3 仪器 BX43型新柏氏病历管理系统的图像采集系统(日本Olympus公司),PS1086型电动剃毛器(奔腾公司)。

2 方法

2.1 分组及造模 取健康豚鼠58只,随机抽取8只,雌雄各半,作为正常组,将其余的50只豚鼠参照刘东玉和Boyera的方法进行造模^[3-4]。每只豚鼠背部剃毛20mm×20mm大小,除正常组外,剃毛处外涂7%DNCB丙酮溶液100μL致敏;2周后每只豚鼠于初次给药处外涂1%DNCB丙酮溶液100μL作为激发,每周1次,连续4次;于第4次涂药24h后随机处死2只造模豚鼠,取皮损部位作病理观察,

观察是否呈现慢性湿疹改变。将剩余的48只豚鼠分雌雄随机分为6组,每组雌雄各半,分别为1号方组,2号方组,3号方组,4号方组,外用丁酸氢化可的松乳膏(以下简称氢化可的松组)、模型组。

2.2 给药 第4次外涂1%DNCB丙酮溶液24h后,1~4号方组分别ig给相应药物,每日4.625mL·kg⁻¹,每天1次(剂量相当于临床成人每日用量)。氢化可的松组皮损处外涂丁酸氢化可的松乳膏(0.5g·kg⁻¹),每天2次,正常组灌饲生理盐水,每次4.625mL·kg⁻¹,每天1次,分别连续给药7d。末次用药后24h,处死所有实验动物。

2.3 观察指标

2.3.1 皮损观察及症状评分 给药7d后,对各组豚鼠进行症状评分。评分标准:红斑,无为0分,轻度为1分,明显红斑无痂皮为2分,中、重度红斑伴轻中度痂皮为3分,重度红斑伴重度痂皮为4分;水肿,无为0分,轻度1分,中、重度为2分;抓痕,无为0分,有为1分。综合评分为红斑、水肿、痂皮、抓痕评分的总和^[5]。

2.3.2 病理观察 在皮损处采取组织,固定于10%福尔马林液中24h,常规石蜡包埋切片。用HE染色,在光镜下观察组织病理变化。

2.4 统计学分析 采用SPSS 19.0统计学软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 慢性湿疹的造模结果 1%DNCB丙酮溶液第4次激发后24h观察皮损:除正常组外,其余各组豚鼠均有抓挠后背的表现;豚鼠后背剃毛区表现为局部红肿、糜烂、肥厚、上结血痂。组织病理可见表皮突延长,表皮增厚,以棘层增厚为主,局部表皮层出现破溃、表皮下出血、渗出,真皮浅层水肿,可见大量的淋巴细胞和少量浆细胞浸润,符合慢性湿疹的病理表现。

3.2 给药后各组豚鼠皮损表现及症状评分 给药7d后,模型组豚鼠皮损处仍红肿、肥厚,上覆厚痂;1号方组和氢化可的松组豚鼠皮损处红肿消退,痂皮大部分脱落,表皮肥厚基本消退;2号方组,3号方组,4号方组豚鼠皮损处,痂皮部分脱落,仍有红肿,表皮仍有肥厚;正常组剃毛处无异常。症状学评分表明,与模型组比较,1号方组,氢化可的松组、正常组症状评分明显降低($P < 0.05$);与模型组相比较,2号方组,3号方组,4号方组症状评分无明显差异;

1号方组和氢化可的松组相比较,差异无显著性;与氢化可的松组相比较,2号方组,3号方组,4号方组的症状评分均明显升高($P < 0.05$);与1号方组相比较,2号方组,3号方组,4号方组的症状评分均明显升高($P < 0.05$)。见图1,表1。

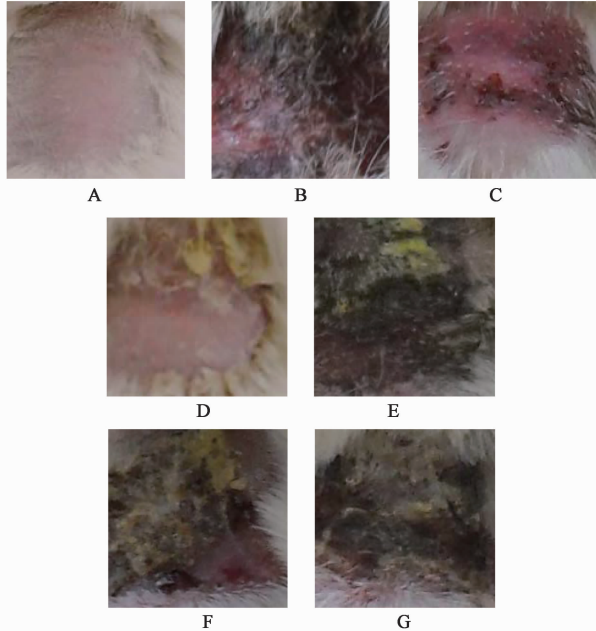


图1 乌蛇驱风汤及诸加减方对豚鼠皮损表现的影响
A. 正常组; B. 模型组; C. 氢化可的松组; D. 1号方组; E. 2号方组; F. 3号方组; G. 4号方组

表1 乌蛇驱风汤及诸加减方对豚鼠皮肤症状评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effects of Wushe Qufeng decoction and its derivative prescriptions on score of skin lesions degree ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	症状评分/分
正常	-	0.00 ± 0.00 ^{1,4)}
模型	-	5.38 ± 0.75 ⁴⁾
氢化可的松	0.5	2.88 ± 0.64 ¹⁾
1号方	8.05	3.38 ± 0.74 ¹⁾
2号方	7.22	4.75 ± 1.04 ^{2,3)}
3号方	11.75	4.62 ± 1.07 ^{2,3)}
4号方	12.86	5.13 ± 0.99 ^{2,3)}

注:与模型组相比较¹⁾ $P < 0.05$;与氢化可的松组比较²⁾ $P < 0.05$;与1号方组相比较³⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 对豚鼠皮损组织病理学的影响 给药7d后,正常组剃毛处为正常的皮肤组织结构;模型组皮损处的病理表现仍呈现表皮和真皮水肿,表皮层增厚,以棘层细胞增生为主,真皮浅层血管充血扩张,周围

有以淋巴细胞为主的炎症细胞浸润。各用药组病理改变均有不同程度减轻。1号方组与氢化可的松组改善明显,病理表现为表皮轻度增厚,真皮浅层轻度充血水肿,真皮层少量炎症细胞浸润。2号方组,3号方组,4号方组的病理改变类似于模型组,病理改变较模型组改善不明显。见图2。

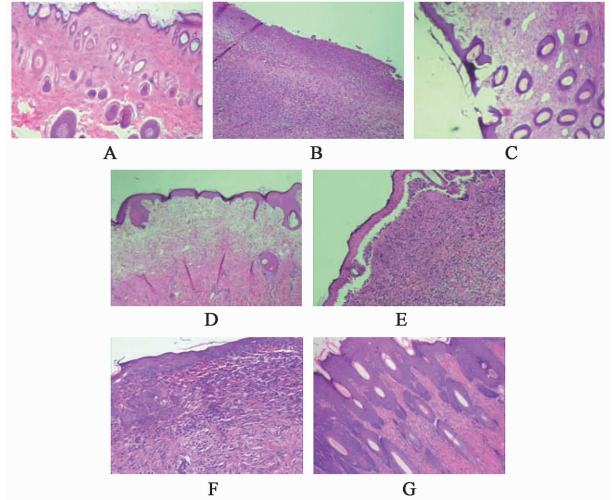


图2 乌蛇驱风汤及诸加减方对豚鼠皮损组织病理学的影响 (HE, ×400)
A. 正常组; B. 模型组; C. 氢化可的松组; D. 1号方组; E. 2号方组; F. 3号方组; G. 4号方组

Fig. 2 Effects of Wushe Qufeng decoction and its derivative prescriptions on pathological changes of skin lesions (HE, ×400)

4 讨论

湿疹是由多种内外因素引起的真皮浅层和表皮炎症,有急性湿疹、亚急性湿疹、慢性湿疹之分。慢性湿疹主要表现为患处皮肤浸润性暗红斑上有丘疹、鳞屑、抓痕、局部皮肤粗糙、肥厚,有不同程度的苔藓样变、色素沉着或色素减退,伴有明显的瘙痒。现代医学治疗慢性湿疹多以抗组胺药、镇静安定剂内服,糖皮质激素外用抗炎、止痒^[6]。丁酸氢化可的松乳膏为不含氟的中效皮质激素,对非感染引起的皮肤病有显著的抗炎作用,临床上用于非感染性皮肤病的治疗,故本研究将其作为阳性药物。中医认为慢性湿疹多是由于风湿热毒久蕴于肌表,与气血相互搏结而形成。乌蛇驱风汤是名医朱仁康的经验方,方中乌梢蛇、蝉衣搜剔风邪,疏通经络,防风、荆芥、羌活、白芷祛风止痒,黄连、黄芩清热燥湿,连翘、银花、甘草清热解毒。诸药共用可使久蕴于皮肤的风湿热毒之邪复从皮肤而出^[1]。所以临床常以之加减治疗慢性湿疹。

本研究中1号方是乌蛇驱风汤原方,研究结果

显示1号方对慢性湿疹的皮损在7d内即有明显的改善作用,其疗效与阳性药组丁酸氢化可的松乳膏外用相当,说明乌蛇驱风汤确为治疗慢性湿疹的有效方剂。2号方是乌蛇驱风汤原方去掉乌梢蛇,运用此方7d后皮疹虽有改善,但改善不明显,疗效较1号方明显降低。说明乌梢蛇是乌蛇驱风汤起效的主要药物。乌梢蛇是中医治疗皮肤科顽癣的常用药,《药性论》言其:“治热毒风,皮肤生疮,眉须脱落,痒疥等”;《开宝本草》言其:“主诸风瘙癢疹,疥癣,皮肤不仁,顽痹”;《本草求原》则言其:“入血散风”。现代药理研究显示:乌梢蛇具有明显抗炎作用,其提取物中水溶性成分和醇溶性成分均对二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀及醋酸所致的腹腔毛细血管通透性增高有明显的抑制作用,并呈一定的量效关系,乌梢蛇水溶性成分又明显较醇溶性成分具有更好的药效活性^[7]。慢性湿疹的发病机制还未明确,目前认为可能与Th1/Th2失衡,Th1占优势相关^[8]。乌梢蛇提取物可能通过刺激体内的Th2淋巴细胞的功能,抑制Th1细胞功能,对慢性湿疹起治疗作用^[9-11]。因此在临床使用乌蛇驱风汤时,尽量不要因为乌梢蛇价格昂贵而将其减去。

3号方是乌蛇驱风汤原方加茯苓、薏苡仁、苍术以增强健脾祛湿之功,为脾虚湿盛型慢性湿疹的常用加减方。4号方是原方加地黄、玄参、当归、赤芍、牡丹皮、红花,以增强凉血活血之力,是治疗血热瘀滞型慢性湿疹的常用加减方。本研究中3,4号方在给药7d后,皮损较之模型组改善不明显,疗效均明显不如乌蛇驱风汤原方,说明所加药物可能与原方药物产生拮抗作用,致使疗效降低。此结果与传统的认识不符,其机制还需进一步研究。

[参考文献]

[1] 朱仁康. 朱仁康临床经验集-皮肤外科[M]. 第1辑. 北京:人民卫生出版社, 2005:246-247.

[2] 陈惠铭. 乌蛇驱风汤加减治疗湿疹58例[J]. 皖南医学院学报, 1996, 15(1):75-77.

[3] Boyera N, Cavey D, Bouclier M, et al. Repeated application of dinitrochlorobenzene to the ears of sensitized guinea pigs: a preliminary characterization of a potential new animal model for contact eczema in humans[J]. Skin Pharmacol, 1992, 5(3):184-188.

[4] 刘东玉, 高春燕, 孔晶, 等. 小鼠实验性接触性皮炎模型制作方法探讨[J]. 实验动物科学与管理, 2005, 27(9):7-9.

[5] 祝青, 刁庆春, 白晋, 等. 聚焦超声辐照豚鼠慢性湿疹模型的实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2008, 24(7):594-597.

[6] 张学军. 皮肤性病学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社, 2008:106.

[7] 马哲龙, 梁家红, 陈金印, 等. 乌梢蛇的抗炎镇痛作用[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(6):58-60.

[8] 郭庆, 米向斌, 曾凡钦, 等. 青蒿琥酯对慢性湿疹患者外周血淋巴细胞功能的影响[J]. 中国实用医药, 2008, 35(3):17-18.

[9] 陈浩, 郭在培. 湿疹患者血清中IL-10, IL-12p40及IL-18水平检测[J]. 中国皮肤性病杂志, 2008, 22(10):592-596.

[10] 沈杰, 鲍建芳, 张之澧. 乌梢蛇水解液对炎性和抗炎性细胞因子的作用[J]. 临床内科杂志, 2002, 19:94-96.

[11] 王浩, 冯知涛, 朱俊卿, 等. 乌梢蛇II型胶原蛋白调控胶原诱导性关节炎小鼠肠系膜淋巴结Treg/Th17平衡[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(5):622-626.

[责任编辑 周冰冰]