

# 从免疫角度探讨黄芪桂枝五物汤对小鼠衰老皮肤瘙痒模型的影响

赵乐, 李艳彦\*

(山西中医学院 基础医学院, 太原 030024)

**[摘要]** **目的:**研究黄芪桂枝五物汤对小鼠衰老皮肤瘙痒的作用,并从免疫学角度探讨衰老皮肤瘙痒的发病机制。**方法:**昆明种小鼠84只,随机分为7组,每组12只,分别为正常组,皮肤衰老组,皮肤衰老瘙痒模型组,苯海拉明组( $0.65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),黄芪桂枝五物汤低、中、高剂量组( $3.25, 6.5, 13 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),除正常组外,其余各组采用D-半乳糖 $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 连续颈背部皮下注射42 d建立皮肤衰老小鼠模型,在此基础上,行尾静脉注射右旋糖酐注射液 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,复制出衰老皮肤瘙痒模型。观察黄芪桂枝五物汤ig给药7 d后对小鼠皮肤瘙痒反应的瘙痒潜伏时间及瘙痒次数。酶联免疫吸附法测定血清白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ ),IL-4,蛋白酶激活受体-2(PAR-2),P物质(SP),显微镜下计数肥大细胞数目。**结果:**与正常组比较,皮肤瘙痒组及皮肤衰老瘙痒模型组瘙痒潜伏时间降低,及瘙痒次数明显升高,小鼠血清IL- $1\beta$ ,PAR-2,P物质表达明显升高,PAR-2含量明显降低( $P < 0.05$ );黄芪桂枝五物汤能明显延长衰老皮肤瘙痒小鼠瘙痒潜伏搔抓时间( $P < 0.05$ ),减轻皮肤瘙痒小鼠搔抓次数( $P < 0.05$ )。用药后,各用药组小鼠血清IL- $1\beta$ ,PAR-2,P物质表达较衰老皮肤瘙痒模型组降低( $P < 0.05$ ),IL-4水平较衰老皮肤瘙痒模型组显著升高( $P < 0.05$ ),肥大细胞较衰老皮肤瘙痒模型组显著性减少( $P < 0.05$ )。**结论:**黄芪桂枝五物汤对衰老皮肤瘙痒模型作用显著,其减轻皮肤瘙痒的作用与调节免疫失衡状态有关。

**[关键词]** 黄芪桂枝五物汤;老年性皮肤瘙痒;瘙痒次数;免疫失衡

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)04-0127-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016040127

## Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang in Senile Pruritus Mouse Model from Perspective of Immunology

ZHAO Le, LI Yan-yan\*

(School of Basic Medicine, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the treating effect of Huangqi Guizhi Wuwu Tang in senile mouse with pruritus disease, and its possible mechanism from the perspective of immune imbalance. **Method:** Totally 84 Kunming mice were randomly into the normal group, the skin aging group, the skin aging pruritus model group, the diphenhydramine group ( $0.65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), and low, middle and high-dose Huangqi Guizhi Wuwu Tang group ( $3.25, 6.5, 13 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), with 12 mice in each group. Except for the normal group, all of the remaining groups were injected with D-galactose  $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  through mouse neck and back for consecutively 42 days to build the senile mouse model; based on that, the senile pruritus model was induced by injecting dextran  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  through mouse caudal vein. Seven days later, mouse's scratching frequency and the scratching latency time of were observed with digital video camera. Then the content of interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), IL-4, protease-activated receptor-2 (PAR-2) and substance P in serum were determined the enzyme linked immunosorbent assay, and the mast cells number in skin was counted under microscope. **Result:** Compared with the normal group, the skin pruritus group

**[收稿日期]** 20150110(003)

**[基金项目]** 山西省卫生厅科技攻关项目(201201101)

**[第一作者]** 赵乐, 硕士, 从事方证相关物质基础的研究, Tel: 15135150952, E-mail: zleva2012@126.com

**[通讯作者]** \*李艳彦, 博士, 副教授, 从事方证相关物质基础的研究, Tel: 13935158720, E-mail: liyy1002@163.com

and skin aging pruritus model group showed significant decreases in scratching latency time and PAR-2 content and increases in scratching frequency and serum IL-1 $\beta$ , PAR-2 and substance P expression ( $P < 0.05$ ). Huangqi Guizhi Wuwu Tang can significantly extend the latent scratching time ( $P < 0.05$ ) and decrease the scratching frequency ( $P < 0.05$ ). After intragastric administration, contents of IL-1, PAR-2 and substance P in serum of drug-treated mouse groups were lower than that of the skin aging pruritus model group ( $P < 0.05$ ), while IL-4 level in serum was significantly higher than the senile pruritus mouse model group ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, mast cells number is decreased ( $P < 0.05$ ) compared with the senile pruritus mouse model group. **Conclusion:** Huangqi Guizhi Wuwu Tang has prominent therapeutic effect in senile pruritus, and its mechanism is correlated with the body's function of regulating immune imbalance.

[**Key words**] Huangqi Guizhi Wuwu Tang; senile pruritus; scratching frequency; immune imbalance

老年性皮肤瘙痒症是老年人常见皮肤病之一,患者有明显的不适感,常不可忍,采用抗组胺,镇静催眠等方法来治疗本病,患者症状可暂时得缓,但易复发<sup>[1]</sup>,且常出现一系列副作用,不可长期用药。临床医学认为本病是免疫平衡失调引起的变态反应<sup>[2]</sup>,老年性皮肤瘙痒症,属中医“风瘙痒”,目前对本病的治疗,包括抗组胺、镇静催眠及激素等药物治疗,虽能暂时缓解瘙痒不适,但不能治愈瘙痒,病久反复用药,还易出现其他副作用,如嗜睡、皮肤改变及皮肤血管的变化等<sup>[1]</sup>。中医认为,本病是患者年老气血虚弱,血虚生风,复感风、寒、湿诸邪,致营卫不和而引起<sup>[4]</sup>。除此之外,笔者认为本病与肺和肝脏的关系密切<sup>[5]</sup>:“肺合皮毛”,肝藏血,肺和肝脏功能减退,肺不宣发肃降,肝不藏血,气机郁闭,升降失调,水液输布失常,机体功能下降,正气不足,致风、寒之邪内侵,皮毛失于濡养,而发瘙痒。临床通过补气养血、滋阴润燥,瘙痒可以得到很好的治疗<sup>[6]</sup>。笔者通过 D-半乳糖及低分子右旋糖酐建立衰老皮肤瘙痒模型,黄芪桂枝五物汤出自《金匮要略》,本实验在研究黄芪桂枝五物汤对皮肤衰老瘙痒小鼠模型有效性的基础上,进一步探讨皮肤瘙痒与免疫失衡的关系。

## 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠 84 只, SPF 级, 雄性, 体重 (40  $\pm$  2) g, 由中国人民解放军军事医学科学院提供, 合格证号 SCXF(军)2012-0004。恒温环境饲养, 温度 (20  $\pm$  2)  $^{\circ}\text{C}$ , 湿度 40% ~ 70%, 饲养环境为光照节律 12 h: 12 h (6:00 ~ 18:00), 自由进食进水, 实验前适应性喂养 1 周。

**1.2 药物及试剂** 黄芪桂枝五物汤由黄芪、桂枝、白芍、生姜、大枣组成, 购自北京同仁堂药店。方中诸药按《金匮要略》原书比例 (黄芪-桂枝-白芍-生姜-大枣 1:1:1:2:1) 分 2 次煎煮, 分别加 10 倍和 8 倍量水, 头次浸泡 30 min, 2 次各煎煮 25 min 和

15 min, 过滤后合并滤液, 并浓缩至含生药剂量 6.5 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>, 冰箱保存备用。白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ELISA 试剂盒 (上海西唐公司, 批号 1309101), IL-4 ELISA 试剂盒 (武汉博士德公司, 批号 12781120917), 蛋白酶激活受体-2 (PAR-2) ELISA 试剂盒 (上海西唐公司, 批号 1308253), P 物质 ELISA 试剂盒 (上海西唐公司, 批号 1309201), 低分子右旋糖酐-40 (青岛首和金海制药公司, 批号 H20060169), 盐酸苯海拉明片 (北京同仁堂药店太原分店, 批号 H14021492)。

**1.3 仪器** SP550UZ 型摄像机 (日本 Olympus 公司), Spectramax190 型连续光谱酶标测试仪 (美国分子仪器公司), DFC 450C 型倒置显微镜 (德国莱卡公司)。

## 2 方法

**2.1 分组, 造模及给药** 适应性饲养 1 周后, 将小鼠随机分为 7 组, 每组 12 只, 分别为正常组; 皮肤衰老组; 皮肤衰老瘙痒模型组; 苯海拉明组; 黄芪桂枝五物汤低剂量组; 黄芪桂枝五物汤中剂量组; 黄芪桂枝五物汤高剂量组。实验开始后, 除正常组外, 其余各组小鼠颈背部 sc D-半乳糖注射液 125 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>, 连续 6 周 (正常组予同等剂量生理盐水)。第 7 周开始, 各用药组小鼠按 10 mL  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> 体重 *ig* 给药, 苯海拉明组 0.65 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>, 低、中、高剂量组分别给药 3.25, 6.5, 13 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>, 于每日清晨给药 1 次, 连续 7 d (其余 3 组每日 *ig* 给予同等剂量蒸馏水)。第 7 天清晨给药后, 将衰老皮肤瘙痒模型组和各用药组分别 *iv* 0.025% 低分子右旋糖酐-40 注射液 1.25 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup><sup>[3]</sup> (其余 2 组 *iv* 给予同等剂量生理盐水)。实验过程中, 小鼠颈背部剪刀剃毛, 保持颈背部无毛。

**2.2 指标检测** 于第 7 天 *ig* 1 h 后, *iv* 予 0.025% 低分子右旋糖酐-40 注射液, 30 min 后, 摄像机记录小鼠搔抓表现 30 min。摘眼球取血, 3 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>

离心 10 min, 取血清, 酶联免疫吸附法检测血清 IL-1 $\beta$ , IL-4, PAR-2, P 物质含量。制作皮肤病理切片, 甲苯胺蓝染色后, 镜下观察肥大细胞。取皮下注射部位颈背部皮肤 1 cm  $\times$  2 cm, 去除皮下脂肪, 10% 中性甲醛固定, 制作病理切片, 甲苯胺蓝染色后, 每个样本镜下随机取 3 个视野, 计数肥大细胞数目总和。

**2.3 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间均数比较采用 LSD-*t* 方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对小鼠瘙痒潜伏期及瘙痒次数的影响** 与皮肤衰老组比较, 衰老皮肤瘙痒模型组瘙痒潜伏时间缩短 ( $P < 0.05$ ), 瘙痒次数增多 ( $P < 0.05$ ); 与衰老皮肤瘙痒模型组比较, 用药后各用药组瘙痒潜伏时间显著延长 ( $P < 0.05$ ), 瘙痒次数显著减少 ( $P < 0.05$ )。与苯海拉明组比较, 黄芪桂枝五物汤中、高剂量组瘙痒潜伏时间延长 ( $P < 0.05$ ), 瘙痒次数减少 ( $P < 0.05$ ), 与黄芪桂枝五物汤低剂量组比较, 黄芪桂枝五物汤中、高剂量组瘙痒潜伏时间显著性延长, 瘙痒次数显著性减少 ( $P < 0.05$ )。黄芪桂枝五物汤中高剂量组之间差别无统计学意义。见表 1。

表 1 黄芪桂枝五物汤对小鼠瘙痒潜伏时间及瘙痒次数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 1 Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang on itching latent time and number of itching in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	潜伏期 /min	瘙痒次数 /30 min 内
皮肤衰老	-	14.22 $\pm$ 1.39 <sup>1)</sup>	11.00 $\pm$ 1.50 <sup>1)</sup>
衰老皮肤瘙痒模型	-	5.00 $\pm$ 1.00	26.60 $\pm$ 2.30
苯海拉明	0.65 $\times$ 10 <sup>-3</sup>	9.67 $\pm$ 1.37 <sup>1)</sup>	21.00 $\pm$ 2.68 <sup>1)</sup>
黄芪桂枝五物汤	3.25	9.86 $\pm$ 0.90 <sup>1)</sup>	21.43 $\pm$ 2.30 <sup>1)</sup>
	6.5	11.43 $\pm$ 0.98 <sup>1,2,3)</sup>	18.57 $\pm$ 1.27 <sup>1,2,3)</sup>
	13	12.40 $\pm$ 1.17 <sup>1,2,3)</sup>	17.67 $\pm$ 1.75 <sup>1,2,3)</sup>

注: 与衰老皮肤瘙痒模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与苯海拉明组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; 与黄芪桂枝五物汤低剂量组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.01$  (表 2, 5 同)。

**3.2 对皮肤瘙痒小鼠血清 IL-1 $\beta$ , IL-4 的影响** 与皮肤衰老组比较, 衰老皮肤瘙痒模型组 IL-1 $\beta$  显著性升高, IL-4 显著性降低 ( $P < 0.05$ ); 与衰老皮肤瘙痒模型组比较, 用药后各用药组 IL-1 $\beta$  显著性降低, IL-4 显著性升高 ( $P < 0.05$ ), 说明苯海拉明与黄芪桂枝五物汤均有减轻皮肤瘙痒的作用。与苯海拉明组比较, 黄芪桂枝五物汤 3 组 IL-1 $\beta$  均显著性降低, 黄芪桂枝五物汤中、高剂量组 IL-4 显著性升高 ( $P < 0.05$ ), 说明, 黄芪桂枝五物汤在调节参与皮肤瘙痒

过程的血清 IL-1 $\beta$ , IL-4 水平方面, 效果较苯海拉明好。见表 2。

表 2 黄芪桂枝五物汤对小鼠 IL-1 $\beta$ , IL-4 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 2 Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang on IL-1 $\beta$ , IL-4 in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ /ng·L <sup>-1</sup>	IL-4 /ng·L <sup>-1</sup>
皮肤衰老	-	13.20 $\pm$ 0.60 <sup>1)</sup>	15.39 $\pm$ 1.16 <sup>1)</sup>
衰老皮肤瘙痒模型	-	19.40 $\pm$ 0.70	10.75 $\pm$ 1.04
苯海拉明	0.65 $\times$ 10 <sup>-3</sup>	18.33 $\pm$ 0.78 <sup>1)</sup>	12.52 $\pm$ 0.91 <sup>1)</sup>
黄芪桂枝五物汤	3.25	15.27 $\pm$ 0.90 <sup>1,2)</sup>	13.38 $\pm$ 1.06 <sup>1)</sup>
	6.5	15.15 $\pm$ 0.90 <sup>1,2)</sup>	13.76 $\pm$ 0.72 <sup>1,2)</sup>
	13	14.36 $\pm$ 0.67 <sup>1,2)</sup>	14.02 $\pm$ 0.75 <sup>1,2)</sup>

**3.3 对皮肤瘙痒小鼠血清 PAR-2 的影响** 与正常组比较, 皮肤衰老组 PAR-2 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 衰老皮肤瘙痒模型组 PAR-2 含量显著性升高 ( $P < 0.05$ ), 与皮肤衰老组比较, 衰老皮肤瘙痒模型组 PAR-2 含量显著性升高 ( $P < 0.05$ )。用药后, 与衰老皮肤瘙痒模型组比较, 各用药组 PAR-2 含量显著降低 ( $P < 0.05$ )。与苯海拉明组比较, 黄芪桂枝五物汤低、中、高剂量组 PAR-2 含量降低 ( $P < 0.05$ ), 黄芪桂枝五物汤低、中、高剂量组之间差别无统计学意义。见表 3。

表 3 黄芪桂枝五物汤对小鼠血清 PAR-2 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 3 Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang on PAR-2 in mice serum ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	PAR-2/ $\mu$ g·L <sup>-1</sup>
正常	-	277.90 $\pm$ 88.12
皮肤衰老	-	298.21 $\pm$ 91.39 <sup>1,2)</sup>
衰老皮肤瘙痒模型	-	1 272.88 $\pm$ 91.39 <sup>1)</sup>
苯海拉明	0.65 $\times$ 10 <sup>-3</sup>	1 036.31 $\pm$ 77.12 <sup>2)</sup>
黄芪桂枝五物汤	3.25	544.10 $\pm$ 79.95 <sup>2,3)</sup>
	6.5	570.32 $\pm$ 67.84 <sup>2,3)</sup>
	13	494.06 $\pm$ 71.49 <sup>2,3)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与衰老皮肤瘙痒模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; 与苯海拉明组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ; 与黄芪桂枝五物汤高剂量组比较<sup>4)</sup>  $P < 0.05$  (表 4 同)。

**3.4 对皮肤瘙痒血清 P 物质的影响** 与正常组比较, 皮肤衰老组及衰老皮肤瘙痒模型组 P 物质显著升高 ( $P < 0.05$ ), 与皮肤衰老组比较, 衰老皮肤瘙痒模型组 P 物质显著性升高 ( $P < 0.05$ )。用药后, 与衰老皮肤瘙痒模型组比较, 苯海拉明组及黄芪桂枝五物汤低、中、高剂量组 P 物质显著降低 ( $P < 0.05$ )。与黄芪桂枝五物汤高剂量组比较, 其余各

用药组 P 物质含量显著降低 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 黄芪桂枝五物汤对小鼠血清 P 物质的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 4 Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang on substance P in mice serum ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	P 物质/ng·L <sup>-1</sup>
正常	-	156.51 ± 20.98
皮肤衰老	-	209.78 ± 20.98 <sup>1,2)</sup>
衰老皮肤瘙痒模型	-	401.87 ± 24.03 <sup>1)</sup>
苯海拉明组	0.65 × 10 <sup>-3</sup>	365.90 ± 27.10 <sup>2,4)</sup>
黄芪桂枝五物汤	3.25	284.97 ± 30.06 <sup>2,4)</sup>
	6.5	290.02 ± 32.40 <sup>2,4)</sup>
	13	252.15 ± 24.85 <sup>2)</sup>

**3.5 对皮肤瘙痒小鼠皮肤肥大细胞及病例组织学的影响** 切片经甲苯胺蓝染色后,背景呈蓝色,肥大细胞呈紫色或紫红色,主要分布在血管旁。皮肤衰老组皮肤肥大细胞呈圆形或椭圆形,胞质着色深,胞膜边界清晰,完整。衰老皮肤瘙痒模型组肥大细胞形态多样,除圆形,椭圆形外,还有其他不规则形态,且肥大细胞胞膜有突起形成,胞浆着色较皮肤模型组淡。用药后,各用药组肥大细胞胞浆着色比衰老皮肤瘙痒模型组深,形态较规则。与皮肤瘙痒组比较,衰老皮肤瘙痒模型组肥大细胞数目显著升高 ( $P < 0.05$ )。用药后,与衰老皮肤瘙痒模型组比较,各用药组肥大细胞数目显著减少 ( $P < 0.05$ ),各用药组之间,黄芪桂枝五物汤高剂量组较苯海拉明组肥大细胞数目显著降低,差别有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),黄芪桂枝五物汤各剂量组之间差别无统计学意义。见表 5,图 1。

表 5 黄芪桂枝五物汤对小鼠皮肤肥大细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 5 Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang on skin mast cells in mice serum ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	肥大细胞数/个
皮肤衰老	-	11.20 ± 1.67 <sup>1)</sup>
衰老皮肤瘙痒模型	-	16.57 ± 1.39
苯海拉明组	0.65 × 10 <sup>-3</sup>	13.20 ± 1.30 <sup>1)</sup>
黄芪桂枝五物汤	3.25	12.33 ± 1.21 <sup>1)</sup>
	6.5	11.50 ± 1.73 <sup>1)</sup>
	13	11.40 ± 1.48 <sup>1,2)</sup>

#### 4 讨论

中医《黄帝内经》云“正气存内,邪不可干”,“邪之所凑,其气必虚”,疾病的发生是正邪交争的过程,若正邪平衡打破,不能及时纠正,则会出现一系列病理变化,这与免疫学免疫失衡异曲同工<sup>[7]</sup>;正

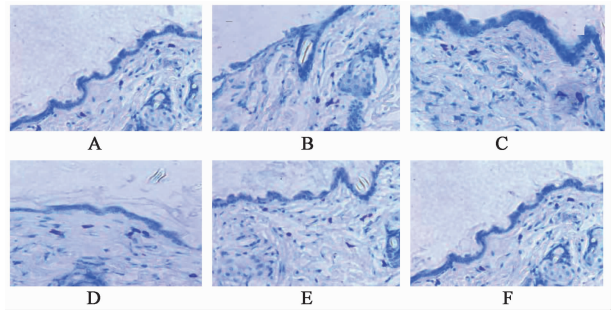


图 1 黄芪桂枝五物汤对皮肤瘙痒小鼠皮肤肥大细胞的影响 (HE, ×200)

Fig. 1 Effects of Huangqi Guizhi Wuwu Tang on skin mast cells in mice serum (HE, ×200)

常情况下,机体处于免疫平衡状态,在外界致病因素刺激下,启动免疫应答,使效应细胞特异性地清除致病因子;但是当机体免疫失衡时,免疫功能障碍,当受到外界刺激时,机体不仅不能起到清除病原体的效果,反而会引起其他的继发性损伤。因此,笔者认为,老年性皮肤瘙痒的发生与老年人免疫功能下降,机体处于免疫失衡状态有很大的关系,纠正免疫偏移,可能为老年性皮肤瘙痒的治疗机制之一<sup>[8]</sup>。实验结果表明,黄芪桂枝五物汤可显著延长皮肤瘙痒潜伏时间,减少瘙痒次数,说明黄芪桂枝五物汤对衰老皮肤瘙痒疗效确切。通过益气养阴润燥的方法,可收气血充,营卫固之效,皮肤瘙痒得到良好的治疗,有必要对其作用机制进行深入探讨。

老年性皮肤瘙痒症的发生与免疫细胞(嗜酸性粒细胞,肥大细胞等)和炎性因子(白细胞介素,组胺等)有重要的关系<sup>[2]</sup>。肥大细胞广泛存在于皮肤和组织血管周围,内含组胺,肝素,5-羟色胺等炎性因子,肥大细胞和上述炎性因子在诱导变态反应过程中发挥着重要的作用。此外,IL-1 $\beta$ 和IL-4是疾病中常见炎性因子,PAR-2是G蛋白偶联受体家族成员。PAR-2可促进血管内皮白细胞黏附迁移,促进IL-1等表达与释放,具有重要的促炎效应和介导组织损伤的作用<sup>[9]</sup>;同时,PAR-2可以刺激肥大细胞分泌IL-4<sup>[10]</sup>,静脉注射抗PAR-2抗体小鼠的瘙痒表现受到抑制<sup>[11]</sup>。实验中,皮肤瘙痒组血清PAR-2和IL-1 $\beta$ 水平提高,IL-4水平相对较低;药物治疗后,PAR-2和IL-1 $\beta$ 水平下降,IL-4水平反而升高,这与文献报道不符。笔者认为,PAR-2虽可介导IL-1 $\beta$ 的释放,但是,因为其对IL-4的影响依赖于肥大细胞,需要一定浓度的趋化因子(如RANTES)的参

与<sup>[12]</sup>,因此,在皮肤瘙痒初期,可能对肥大细胞释放 IL-4 具有协同作用的趋化因子表达不足,导致 IL-4 含量较低。同时,由于 IL-1 $\beta$  与 IL-1 受体结合不具有特异性,IL-4 可与 IL-1 受体竞争性结合,实验中 IL-4 在用药各组中水平升高,可以起到抗炎作用。P 物质是广泛存在于神经系统和各类组织器官神经纤维内的神经肽,可直接与神经激肽(NK)受体结合<sup>[13]</sup>,或间接促进肥大细胞脱颗粒,释放组胺<sup>[14]</sup>,并在 Ca<sup>2+</sup> 浓度的影响下<sup>[15]</sup>,参与皮肤瘙痒的发生。在黄小妹<sup>[16]</sup>的慢性肾衰引起的皮肤瘙痒中,尿毒症模型组中,血浆中 P 物质表达上升。在笔者的实验中,P 物质在衰老皮肤瘙痒模型组的含量比皮肤衰老模型组显著升高,用药各组 P 物质比衰老皮肤瘙痒模型组显著减少。与文献报道一致,说明,P 物质可以作为评价皮肤病诊断与治疗的依据之一。

此外,尽管临床用药中苯海拉明是对皮肤炎症疗效确切的 H<sub>1</sub> 受体拮抗剂,但是实验中发现苯海拉明对白介素及 PAR-2, P 物质的影响不及黄芪桂枝五物汤高剂量组,究其原因,可能是苯海拉明对全身肥大细胞组胺 H<sub>1</sub> 受体均有拮抗作用,导致中枢抑制,产生镇静作用,且本药属于短效药,代谢快,而实验中,白介素及 PAR-2, P 物质均与免疫相关,上述物质中在高剂量组的表达较苯海拉明组有显著性差异,而释放组胺的肥大细胞仅在苯海拉明组和高剂量组之间有差别,因此,考虑苯海拉明通过拮抗 H<sub>1</sub> 受体发挥药效,对免疫失衡方面作用甚微。

综上所述,通过黄芪桂枝五物汤的治疗,患者气血得养,血管内 PAR-2 和 P 物质表达降低,肥大细胞脱颗粒释放组胺减少,分泌 IL-1, IL-4 等的的能力下降,从而达到治疗老年性皮肤瘙痒的目的。由此得出,调节免疫失衡,可能为治疗老年性皮肤瘙痒症的机制之一,值得笔者进一步深入探讨。其中,高剂量组效果最好,说明黄芪桂枝五物汤对老年性皮肤瘙痒症疗效确切,但是,需要进一步研究确定对疾病治疗最有效的剂量范围。

[参考文献]

[1] 姜燕生. 皮肤瘙痒中医辨证论治[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(6): 93-94.

[2] 兰东,张海燕,庞宝森. 中药归参止痒方治疗血虚肝旺型老年皮肤瘙痒症的疗效及对干细胞因子与强啡肽的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(7): 611-613.

[3] 刘海龙,吴国泰,王瑞琼. 当归黄芪醇提物对实验性皮肤瘙痒模型的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 200-202.

[4] 左小红,王泽辉,吕凡,等. 论皮肤瘙痒症与营卫不和[J]. 云南中医中药杂志, 2014, 35(8): 92-93.

[5] 李艳彦,王永辉,张永刚. 黄芪桂枝五物汤从肺肝论治老年性皮肤瘙痒理论探析[J]. 山西中医学院学报, 2013, 14(2): 49-50.

[6] 刘冷,孟宏,赵嘉,等. 舒肤止痒霜治疗老年皮肤瘙痒症 42 例临床观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(2): 268-269.

[7] 杨爽,魏葆琳,孙增涛,等. 基于肺感染后机体损伤探讨正邪理论与免疫失衡的关系[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(11): 3521-3523.

[8] 王庆毅,史同新,王建英,等. 慢性特发性荨麻疹患者血清中 P 物质和神经生长因子检测[J]. 中华皮肤科杂志, 2005, 38(4): 239-240.

[9] 张艳,丁家望. 蛋白酶活化受体 2 与心血管炎症反应[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(9): 1793-1795.

[10] 张慧云,林青,林丽艳,等. 蛋白酶激活受体 2 介导肥大细胞 IL-4 分泌[J]. 中国免疫学杂志, 2009, 25(3): 213-216.

[11] 朱宇. PAR-2 在皮肤瘙痒中的作用分子机制研究[D]. 上海:第二军医大学, 2010.

[12] 张慧云,马文静,何韶衡. RANTES 对类胰蛋白酶引起的肥大细胞蛋白酶激活受体-2 表达和白细胞介素-4 释放的影响[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2010, 4(4): 262-266.

[13] 樊卓,樊翌明. P 物质在变应性接触性皮炎小鼠模型瘙痒中的作用[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2010, 24(2): 112-115.

[14] 樊卓,樊翌明. P 物质的外周致痒机制研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2007, 23(4): 323-325.

[15] 周劲松,宋天保. SP 和 Con A 对培养的大鼠皮肤肥大细胞组胺释放的影响[J]. 西安医科大学学报, 1998, 19(3): 381-384.

[16] 黄小妹,张英,何达,等. 丁黄洗剂对慢性肾功能衰竭大鼠皮肤中 P 物质表达影响的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2009, 16(2): 97-99.

[责任编辑 周冰冰]