

退银汤对寻常性银屑病患者外周血 NE 表达水平的影响

刘海琴, 盛国荣*

(南通市疾病预防控制中心皮防所, 江苏南通 226006)

[摘要] **目的:**探讨退银汤对寻常性银屑病外周血中性粒细胞蛋白酶(NE)表达的影响。**方法:**采用酶联免疫吸附竞争法检测40例寻常性银屑病患者在使用退银汤前后外周血血清NE水平,并与40例正常对照组进行比较。**结果:**40例寻常性银屑病血清NE水平为 $(16.90 \pm 3.30) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,正常对照组NE水平为 $(3.67 \pm 1.49) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,两组有极显著性差异($P < 0.01$)。经退银汤治疗12周后,银屑病患者血清NE水平明显下降 $[(9.16 \pm 2.43) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}]$ 与治疗前有极显著性差异($P < 0.01$)。**结论:**退银汤可以降低寻常性银屑病血清中NE的表达水平,NE可能参与了角质形成细胞的增殖,参与银屑病的发病过程。

[关键词] 退银汤; 银屑病; 中性粒细胞蛋白酶

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0294-03

Effect of Tuiyin Tang on NE in Psoriasis

LIU Hai-qin, SHENG Guo-rong*

(Department of Dermatology, Nantong Center for Disease Control and Prevention of Jiangsu Province, Nantong 226006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the impact of Tuiyin tang on expression level of neutrophil elastase (NE) in peripheral blood of psoriasis vulgaris. **Method:** Competing-ELISA was used to detect peripheral blood levels of NE in 40 cases of psoriasis vulgaris before and after treatment with Tuiyin tang, and those of the control group were also detected. **Result:** Forty cases of psoriasis vulgaris showed that serum level of NE was $(16.90 \pm 3.30) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and normal control group was $(3.67 \pm 1.49) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). After Tuiyin tang treatment for 12 weeks, NE level in psoriasis patients was significantly decreased $(9.16 \pm 2.43) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, which had statistically significant difference compared with before treatment ($P < 0.01$). **Conclusion:** Tuiyin tang can reduce the serum level of NE in patients with psoriasis vulgaris, and NE may be involved in the pathogenesis of psoriasis.

[Key words] Tuiyin tang; psoriasis; neutrophil elastase

银屑病患者皮损部位炎症细胞浸润及毛细血管扩张是其病理变化,多种细胞因子和其他活性成分参与构成复杂的免疫系统反应网络,中性粒细胞蛋白酶(NE)是嗜中性粒细胞(PMNs)分泌的一种重要蛋白酶,主要存在于中性粒细胞嗜天青颗粒中,

当PMNs活化时被释放到细胞外从而参与炎症反应过程。中医学认为,银屑病病因病机为血热与风寒湿热之邪合而为病,风寒湿热之邪侵袭肌肤,不得宣通,郁久化热,蕴热于肌肤与血热结合而发本病,久治不愈热毒壅滞血络而成瘀,气血凝滞、肌肤失养致本病迁延不愈。本研究采用酶联免疫吸附竞争法检测40例寻常性银屑病患者在使用退银汤前后外周血血清NE水平,并与40例正常对照组进行比较,以探讨中性粒细胞蛋白酶(NE)在银屑病发病中的作用。

1 材料和方法

1.1 临床资料 选择2010年10月至2012年3月

[收稿日期] 20120522(014)

[基金项目] 南通市科技局项目(HS2011031)

[第一作者] 刘海琴,主治医师,硕士,从事银屑病的发病机制与临床治疗研究, Tel: 18762846469, E-mail: liuliuli999@yahoo.com.cn

[通讯作者] *盛国荣,主任医师,学士,从事医院新制剂的研发, Tel: 13615202386, E-mail: ntsgr@126.com

南通市疾控中心皮防所门诊寻常性银屑病患者 40 例,男 24 例,女 16 例,年龄 18 ~ 73 岁,平均 (42.75 ± 14.06) 岁,病程 3 月 ~ 27 年,平均 (11.25 ± 6.50) 年。排除红斑狼疮、天疱疮、皮炎及风湿性关节炎等自身免疫性疾病以及其他严重的系统性疾病,并且在 3 个月内未曾使用大剂量免疫抑制剂和皮质类固醇激素等影响免疫功能的药物,无本病外的其他系统性和免疫性疾病。排除孕期、哺乳期的患者。同期选择正常对照组 40 人,均来自南通市疾病预防控制中心开发区站健康体检者,男 22 例,女 18 例,年龄 16 ~ 63 岁,平均 (39.23 ± 13.00) 岁。两组患者的年龄、性别均具有可比性。入选患者详细记录病史,签署知情同意书,并经本中心医学伦理会批准。

1.2 试剂及仪器 酶标仪(ELx-800)(美国宝特),人 NE ELISA 试剂盒(上海蓝基生物科技有限公司,批号 20120319),TGL-16C 台式离心机(上海医疗器械厂),HH-W21-600 恒温水浴箱(上海医疗恒温设备厂)。

1.3 退银汤治疗 予以退银汤(生地黄 30 g,土茯苓 30 g,当归 15 g,何首乌 15 g,白蒺藜 15 g,女贞子 10 g,黄精 10 g,麦冬 10 g,乌梢蛇 10 g,蜈蚣 10 g,金银花 10 g,丹皮 10 g,桃仁 10 g,红花 10 g,甘草 5 g。共煎煮 2 次,每次煎出液 200 mL)内服,每日 2 次,每次 200 mL,连服 6 d 停 1 d,共 12 周。治疗过程中,出现明显的过敏反应,如红斑、丘疹或较为严重的腹泻反应即停止治疗,并按过敏反应处理。治疗过程中停用其他任何内服或外用药物。记录患者一般病史资料,并在治疗前后进行 PASI 评分和观察不良反应。

1.4 检测方法 治疗结束后,抽取治疗组患者及对照组人员外周静脉血 3.0 mL,使用不含热原和内毒素的试管收集血液,离心后将血清和红细胞迅速进行分离移至 Ep 管中, $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存待用,并避免反复冻融。实验开始前,各试剂均应平衡至室温 $(20 \sim 25)\text{ }^{\circ}\text{C}$,实验过程应在室温 $(20 \sim 25)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 内进行;试剂或样品稀释时均需混匀,混匀时应尽量避免起泡。实验前应先预测样品含量,如样品浓度过高时,应对样品进行稀释,以使稀释后的样品符合试剂盒的检测范围,计算时再乘以相应的稀释倍数。按照 NE 试剂盒说明书操作。

使用 logit-log 双对数标准曲线作相应的数据处理,以标准浓度取 log 值为横坐标,对应的 logit 值为纵坐标画出标准曲线,根据样品的吸光度值,由标准

曲线查出相应的浓度,乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度。

1.5 疗效判定标准 根据 PASI 评分标准,病情改善率 $(\%) = [(\text{治疗前 PASI 评分} - \text{治疗后 PASI 评分}) / \text{治疗前 PASI 评分}] \times 100\%$ 。治愈为病情改善率 $\geq 90\%$,显效为病情改善率 $60\% \sim 89\%$,好转为病情改善率 $25\% \sim 59\%$,无效为改善率 $< 25\%$,有效率以治愈加显效所占的百分比计算。

1.6 统计学处理 所有统计学处理在 SPSS 17.0 及 Excel 2007 软件中完成,分析数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示;组间差异检验采用 *t* 检验进行分析,并对血清中 NE 的表达水平与 PASI 指数的关系采用相关性线性分析。观察值 $P < 0.05$ 为有统计学意义,组间差异显著; $P < 0.01$ 为有极显著差异。

2 结果

银屑病患者治疗前、后 PASI 评分分别为 (30.07 ± 7.17) , (7.85 ± 3.03) (表 1),差异有极显著性 $(P < 0.01)$ 。其中治愈 2 例,显效 32 例,好转 6 例。无效 0 例,有效率为 85%。治疗过程中有 2 例患者出现红斑、丘疹反应,经减量并给予抗过敏治疗后好转,3 例出现轻度腹泻反应,减量后渐渐好转,所有患者均能坚持完成疗程。治疗前 40 例银屑病患者与正常对照组 NE 分别为水平为 (16.90 ± 3.30) , $(3.67 \pm 1.49)\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,两组有极显著性差异 $(P < 0.01)$ 。40 例银屑病患者治疗前、后 NE 值 $[(16.90 \pm 3.30)$, $(9.16 \pm 2.43)\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}]$ (表 1),差异有极显著性 $(t = 13.227, P < 0.01)$ 。寻常型银屑病患者血清 NE 的表达水平与银屑病疾病活动指数之间的 Pearson 相关系数值 *r* 为 0.859, $P < 0.05$,二者具有正向的线性相关性(图 1)。

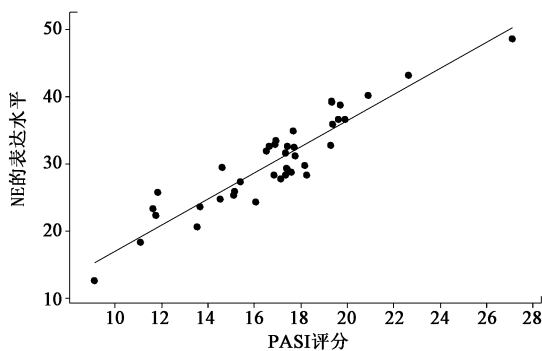


图 1 寻常型银屑病患者血清中 NE 表达水平与 PASI 评分的相关性

3 讨论

NE 是 PMNs 分泌的一种重要的蛋白酶,贮存在中性粒细胞的嗜苯胺蓝颗粒中或表达于细胞表

表 1 退银汤对银屑病患者治疗前、后 PASI 及 NE 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

| 组别 | 时间 | NE/mg·L ⁻¹ | PASI |
|-------|-----|---------------------------|---------------------------|
| 正常对照 | | 3.67 ± 1.49 ¹⁾ | |
| 银屑病患者 | 治疗前 | 16.90 ± 3.30 | 30.07 ± 7.17 |
| | 治疗后 | 9.16 ± 2.43 ¹⁾ | 7.85 ± 3.03 ¹⁾ |

注: ¹⁾与银屑病患者治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

面^[1]。在内外因素的影响下 PMNs 被激活, NE 从嗜苯胺蓝颗粒中释放到细胞外, 它能够分解几乎所有细胞外基质和许多重要的血浆蛋白, 被认为是破坏较强的酶类之一^[2]。它可直接或间接的导致组织损伤, 所以各种体液或组织中弹性蛋白酶表达水平的高低可以很好地反映该组织损伤的严重程度^[3]。银屑病是以表皮增殖性红斑和炎症为特征的红斑鳞屑性皮肤病, 其重要的组织学就是皮损区 PMNs 的浸润, 其在银屑病发生中的作用已得到共识^[4]。中医学认为, 银屑病由出发至后期迁延, 由轻至重, 由皮肤至关节内脏, 病位无不涉及卫、气、营、血, 其核心为血分有热, 血热而诸症衍生^[5], 治当以清热解毒、祛风除湿、活血化瘀、宣肺透表为大法。南通市疾病预防控制中心皮防所曾以“退银汤联合阿维 A 胶囊治疗寻常型银屑病疗效分析”^[6], 取得了理想的疗效。

本实验研究发现, 寻常性银屑病患者血清中 NE 的表达水平有不同程度的提高, 与正常对比人群存在显著性差异。患者组 NE 表达水平与银屑病病情活动指数呈一定的正向线性相关。在使用退银汤 12 周后, 患者血清中 NE 的表达水平呈现下降趋势, 与治疗前有显著性差异。结果显示退银汤能显著降低银屑病患者血清中 NE 的表达水平, 而 NE 参与了银屑病的发生过程, 并可能发挥着重要的作用, 也可以说明 NE 可以作为寻常性银屑病病情活动的重要的观察和评价指标。

NE 通过与 PMNs 的相互作用, 在银屑病发生过程 PMNs 的浸润、脓肿的形成及其他炎症因子的表达异常方面发挥这重要的作用, 两者可能协同参与了银屑病的发生。另外 NE 能诱导一些细胞因子的表达, 而这些因子在银屑病中的表达也存在着异常, 如 IL-8, GM-CSF, MGF^[7], SCF^[8] 等, 这些物质能吸

引和激活 PMNs, 进而在炎症发生过程中造成更多 NE 的表达, 所以 NE 也可能通过这种间接的作用参与了银屑病的发生。目前, 临床上用于治疗银屑病的一些化学药物大多是从抗肿瘤药或免疫抑制剂移植而来, 这些药物虽然有一定的治疗效果, 但是它们都存在包括免疫抑制作用在内的严重的毒副作用^[9]。中药制剂既有明确的临床疗效, 又能对免疫功能不产生明确的影响, 是值得研究并推广的治疗方法。而退银汤是如何通过 NE 和中性粒细胞的关系及促进相关因子的释放影响银屑病患者炎症反应并进一步影响 KC 细胞增殖的具体机制还尚未明了, 还需进一步进行系统的综合的研究。

[参考文献]

[1] Sato T, Takahashi S, Mizumoto T, et al. Neutrophil elastase and cancer [J]. Surg Oncol, 2006, 15 (4): 217.

[2] Horwitz M, Duan Z, Korkmaz B, et al. Neutrophil elastase in cyclic and severe congenital neutropenia [J]. Blood, 2007, 109:1817.

[3] Sun Z, Yang P. Role of imbalance between neutrophil elastase and (1-antitrypsin in cancer development and progression [J]. Lancet Oncol, 2004, 5: 182.

[4] 赵辨. 临床皮肤病学 [M]. 3 版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001: 759.

[5] 张建波, 王乐秋, 古朝霞. 中药制剂在银屑病治疗中的辨证应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (10): 287.

[6] 谢勇. 退银汤联合阿维 A 胶囊治疗寻常型银屑病疗效分析 [J]. 实用中医学杂志, 2006, 11 (22): 684.

[7] 孙建方. 银屑病免疫学发病机制研究进展 [J]. 青岛大学医学院学报, 2001, 37 (1): 1.

[8] Li B, Berman J, Tang J T, et al. The early growth response factor-1 is involved in stem cell factor (SCF)-induced interleukin 13 production by mast cells, but is dispensable for SCF-dependent mast cell growth [J]. J Biol Chem, 2007, 282 (31): 22573.

[9] 王秋红, 肖洪彬, 杨柄友, 等. 洋金花治疗银屑病有效部位的药理作用研究 (II) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14 (11): 32.

[责任编辑 邹晓翠]