

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110524. 1345. 012

## 青鹏膏剂对豚鼠瘙痒及湿疹模型的影响

王彦礼<sup>1</sup>, 包旭宏<sup>2</sup>, 王怡薇<sup>1\*</sup>, 李涛<sup>1</sup>, 周钟鸣<sup>1</sup>, 杨伟鹏<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 甘肃奇正藏药有限公司, 兰州 730000)

**[摘要]** **目的:**观察青鹏膏剂对豚鼠瘙痒及湿疹模型的影响。**方法:**豚鼠用磷酸组织胺致痒,观察青鹏膏剂 0.48, 0.24, 0.12 g·kg<sup>-1</sup> 经皮给药 3 d 后的豚鼠各给药组的致痒阈;造成豚鼠湿疹模型,青鹏膏剂 0.48, 0.24, 0.12 g·kg<sup>-1</sup> 经皮给药 10 d 后观察综合评分,测定血清中 IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  水平,取背部皮片做病理组织学观察和真皮炎性细胞计数。**结果:**青鹏膏剂高、中剂量组能显著延长豚鼠舔足时间,提高豚鼠的组胺致痒阈,对湿疹模型豚鼠,青鹏膏剂各给药组红斑缩小或消退,评分较模型组有所下降,均有显著性差异,对血清中 IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  水平无明显影响;青鹏膏剂高、低剂量组 IL-4 值较模型组升高,有显著性差异。病理组织学检查,青鹏膏剂各给药组可不同程度地改善表皮角化、棘细胞层增厚、表皮突延长等病理表现,真皮内炎性细胞计数较模型组有明显降低,各给药组与模型组相比具有显著性差异。**结论:**青鹏膏剂具有止痒作用,可有效治疗湿疹红斑水肿等症状,其治疗湿疹的作用机制可能与抑制炎性细胞、调节相关致炎、抑炎因子有关。

**[关键词]** 湿疹;青鹏膏剂;瘙痒;细胞因子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0233-04

## Effect of Qingpeng Plaster on Pruritus and Eczema in Guinea-pigs

WANG Yan-li<sup>1</sup>, BAO Xu-hong<sup>2</sup>, WANG Yi-wei<sup>1\*</sup>, LI Tao<sup>1</sup>, ZHOU Zhong-ming<sup>1</sup>, YANG Wei-peng<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
2. Gansu Qizheng Tibetan Materia Medica Co, Ltd. Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Qingpeng plaster on the pruritus and eczema in guinea-pigs. **Method:** The pruritus threshold of all plaster groups (0.48, 0.24, 0.12 g·kg<sup>-1</sup>, 3 d) of guinea-pigs caused by histamine phosphate was investigated. After causing eczema in guinea-pigs, the overall score was observed and measure the contents of interleukin-2, interlenkin-4, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferin (IFN- $\gamma$ ) in serum were measured, and histopathological changes in the back skin of the guinea-pigs were observed, and the amount of inflammatory cells in dermis was counted. **Result:** Low dose group and high dose group could extend the period of time on guinea-pig feet-licking significantly, and increase the pruritus threshold of histamine phosphate in guinea-pig. Compared to guinea-pigs with eczema, each drug group showed as the area reduction or subsiding of spiloplaxia, so that the components scale of the drug groups were lower than those of the models, and there were obvious difference between the drug groups and the module groups. Qingpeng plaster had little impact on the IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  in serum. Comparing to the model groups, the IL-4 of high and low dose groups was increased and showed difference obviously. Through histopathologic examination, each drug group showed pathological features in

**[收稿日期]** 2011-03-11

**[第一作者]** 王彦礼, 实验师, 从事中药药理、中药药代动力学研究, Tel: 010-64014411-2981, E-mail: bjwangyl@sina.com

**[通讯作者]** \* 王怡薇, 助理研究员, 博士, 从事中药药理、中药药代动力学研究, Tel: 010-64014411-2981, E-mail: yiwei1231@yahoo.com.cn

\* 杨伟鹏, 副研究员, 博士, 从事中药药理、中药药代动力学研究, Tel: 010-64014411-2981, E-mail: hrbywp@sina.com

**[网络出版时间]** 2011-05-24 13:45

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110524.1345.012.html>

varying degrees, such as the improvement on the cornification of epidermis, the thickening of prickle-cell layer, and the extension of trochanterellus. Moreover, the amount of the inflammatory cells in dermis of drug groups decreased obviously compared with that of model groups, and there were significant differences between the drug groups and the model groups. **Conclusion:** Qingpeng plaster has anti-pruritic action and can treat eczema effectively. The mechanism of treating eczema maybe related to inhibition of the inflammatory cells and adjustment of the inflammatory factors.

[**Key words**] eczema; Qingpeng plaster; pruritus; cytokines

现代医学认为湿疹(eczema)是一种过敏性疾病,是由多种内外因素引起的一种具有明显渗出倾向的皮肤炎症反应。湿疹发病时瘙痒明显、病程迁延、易于复发,给患者带来痛苦,影响正常的工作和生活。目前常用的皮质类固醇激素、组胺拮抗类、钙剂、维生素等药物控制症状效果良好,但停药后易复发,且不良反应多而强。青鹏膏剂是西藏奇正藏药股份有限公司生产的外用软膏,具有消肿止痛等多种功效,我们的既往研究表明,青鹏膏剂还具有体内外抗菌作用、抗炎镇痛、活血化瘀以及一定的免疫抑制作用,主要用于骨伤科疾病引起的疼痛,有临床应用显示,青鹏膏剂对湿疹也有较好的治疗作用<sup>[1]</sup>。本研究建立大鼠湿疹模型,观察青鹏膏剂的治疗作用,并探讨其可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 豚鼠,体重 250 ~ 280 g,由北京市海淀兴旺动物养殖场提供,合格证号 SCXK(京)2006-0006。

**1.2 药物、试剂、仪器** 青鹏膏剂(含生药 0.15 g/g 膏,批号 080302),空白基质(批号 20061002,由西藏奇正藏药股份有限公司提供),999 皮炎平(复方醋酸地塞米松乳膏,批号 0804081,三九医药股份有限公司);组胺磷酸盐(批号 F20080505,国药集团化学试剂有限公司),2,4-二硝基氯苯(DNCB,北京市东环联合化工厂,批号 951104)。白细胞介素-2(IL-2),白细胞介素-4(IL-4),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ ) 放免试剂盒(批号 20090120),Sn-695B 型免疫计数器(上海核所日环光电仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 青鹏膏剂对豚鼠皮肤瘙痒的影响<sup>[2]</sup>** 取豚鼠 50 只,按体重随机分为 5 组,分别为对照组(空白基质)、青鹏膏剂高、中、低(生药 0.48, 0.24, 0.12 g·kg<sup>-1</sup>) 剂量组、999 皮炎平组(0.5 g 膏/kg,相当于地

塞米松 0.375 mg·kg<sup>-1</sup>),每组 10 只,右后腿脱毛,经皮给药 2 d,第 3 天,用粗砂纸擦伤动物右后腿剃毛处,面积为 3 cm<sup>2</sup>,局部再涂药 1 次,对照组涂以空白基质。末次给药后 30 min,开始在创面处滴以 0.01% 磷酸组织胺 0.05 mL/只,每隔 3 min 滴 1 次,直至出现豚鼠回头舔右后足,以开始出现豚鼠回头舔右后足时所给予的磷酸组织胺总量为致痒阈。记录并比较各组致痒阈,进行组间 *t* 检验。

**2.2 青鹏膏剂对豚鼠湿疹模型的影响** 参照 Boyera 方法加以改进<sup>[3]</sup>造模。取豚鼠 56 只,雌雄各半(48 只造模,8 只作为正常对照),致敏前 1 d,豚鼠腹部固定部位(3 cm × 3 cm)用硫化钡脱毛,次日,脱毛部位涂 5% DNCB 50  $\mu$ L 致敏 1 次。致敏 2 周后,豚鼠背部固定部位(3 cm × 3 cm)脱毛。次日,外涂 0.1% DNCB 100  $\mu$ L 激发,1 次/周,连续 4 周。第 4 周致敏 3 d 后,造模结束,处死 8 只取背部皮片作病理观察(模型组 1)。将余下 40 只随机分为模型组(给空白基质)、青鹏膏剂高(0.48 g·kg<sup>-1</sup>)、中(0.24 g·kg<sup>-1</sup>)、低(0.12 g·kg<sup>-1</sup>) 剂量组、999 皮炎平软膏组(0.5 g 膏/kg) 5 组,每组 8 只。各组经皮给药,1 次/d,连续 10 d。另取 8 只豚鼠做正常对照组。每天观察评分。10 d 后各取血,测定血清中 IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  水平;取背部皮片 HE 染色做病理组织学观察和真皮炎性细胞计数。用组间 *t* 检验对数据进行统计分析。

**症状评分标准** 红斑:无为 0 分,轻微为 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 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、抓痕评分的总和。

## 3 结果

**3.1 对豚鼠皮肤瘙痒的影响** 在豚鼠破损皮肤上滴组胺可致豚鼠因瘙痒而发生舔足反应,青鹏膏剂高、中剂量组能显著延长豚鼠舔足时间,提高豚鼠的

表1 青鹏膏剂对组胺所致豚鼠瘙痒的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	舔足时间/min	组胺量/ $\mu L$
对照	-	7.8 ± 5.5	130 ± 90.9
皮炎平	0.5 <sup>3)</sup>	17.7 ± 10.3 <sup>1)</sup>	295 ± 172.3 <sup>1)</sup>
青鹏膏剂	0.48	17.7 ± 11.7 <sup>1)</sup>	295 ± 195.0 <sup>1)</sup>
	0.24	15.9 ± 8.9 <sup>1)</sup>	265 ± 149.2 <sup>1)</sup>
	0.12	9.9 ± 8.5	165 ± 141.5

注:与正常组相比<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup>皮炎平剂量单位为克膏/kg(表2~4同)。

组胺致痒阈,对抗组胺引起的瘙痒反应,与对照组相比有显著性差异( $P < 0.05$ ),见表1。

### 3.2 对豚鼠湿疹模型的影响

**3.2.1 湿疹模型评分** 造模后,豚鼠背部出现湿疹样反应,表现为不同程度的弥漫性红斑、水肿、抓痕伴血痂,边界不清,其上有少许粟粒样丘疹,部分有渗出。给药4 d后观察,模型组表现为不同程度的弥漫性红斑、水肿、抓痕;给药各组豚鼠背部红斑颜色变淡,轻度水肿,有少许抓痕和血痂,评分较模型组有所下降,均有显著性差异。给药7 d后观察,模

型组无明显改善;给药各组豚鼠背部红斑缩小,水肿消退,抓痕陈旧,评分较模型组有所下降,均有显著性差异。给药10 d,模型组红斑缩小,边界不清,偶有水肿和轻度抓痕;给药组红斑缩小或消退,评分较模型组有所下降,均有显著性差异。见表2。

表2 青鹏膏剂对豚鼠湿疹模型综合评分的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	综合评分			
		1 d	4 d	7 d	10 d
模型组	-	3.63 ± 1.41	3.25 ± 0.46	2.25 ± 0.46	2.25 ± 0.71
皮炎平 <sup>3)</sup>	0.5	3.50 ± 1.20	1.00 ± 0.53 <sup>2)</sup>	0.38 ± 0.52 <sup>2)</sup>	0.25 ± 0.46 <sup>2)</sup>
青鹏膏剂	0.48	3.50 ± 1.20	2.00 ± 0.76 <sup>2)</sup>	1.38 ± 0.52 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.52 <sup>2)</sup>
	0.24	3.63 ± 1.41	1.75 ± 0.71 <sup>2)</sup>	1.13 ± 0.35 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.52 <sup>2)</sup>
	0.12	3.38 ± 1.30	1.88 ± 0.99 <sup>2)</sup>	1.13 ± 0.35 <sup>2)</sup>	1.00 ± 0.53 <sup>2)</sup>

注:与模型组相比<sup>1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表3~4同)。

**3.2.2 对湿疹模型豚鼠血清中细胞因子的影响** 模型组IL-4较正常对照组降低,各给药组与模型组相比数值均有升高,其中青鹏膏剂高、低剂量组与模型组相比有显著性差异( $P < 0.05$ )。IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  各组间均无显著性差异,见表3。

表3 青鹏膏剂对豚鼠湿疹模型血清细胞因子的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-2/ $ng \cdot mL^{-1}$	IL-4/ $ng \cdot mL^{-1}$	TNF- $\alpha$ / $ng \cdot mL^{-1}$	IFN- $\gamma$ / $pg \cdot mL^{-1}$
正常		2.85 ± 1.23	0.45 ± 0.14	1.23 ± 0.25	101.36 ± 2.57
模型	-	3.08 ± 1.18	0.33 ± 0.08	1.02 ± 0.23	102.20 ± 2.38
皮炎平	0.5 <sup>3)</sup>	2.65 ± 0.98	0.46 ± 0.09 <sup>1)</sup>	1.13 ± 0.18	102.73 ± 2.45
青鹏膏剂	0.48	2.92 ± 1.94	0.46 ± 0.11 <sup>1)</sup>	1.07 ± 0.15	102.09 ± 2.39
	0.24	3.79 ± 1.70	0.39 ± 0.08	1.13 ± 0.19	100.67 ± 3.14
	0.12	3.87 ± 1.13	0.44 ± 0.07 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.07	104.05 ± 2.60

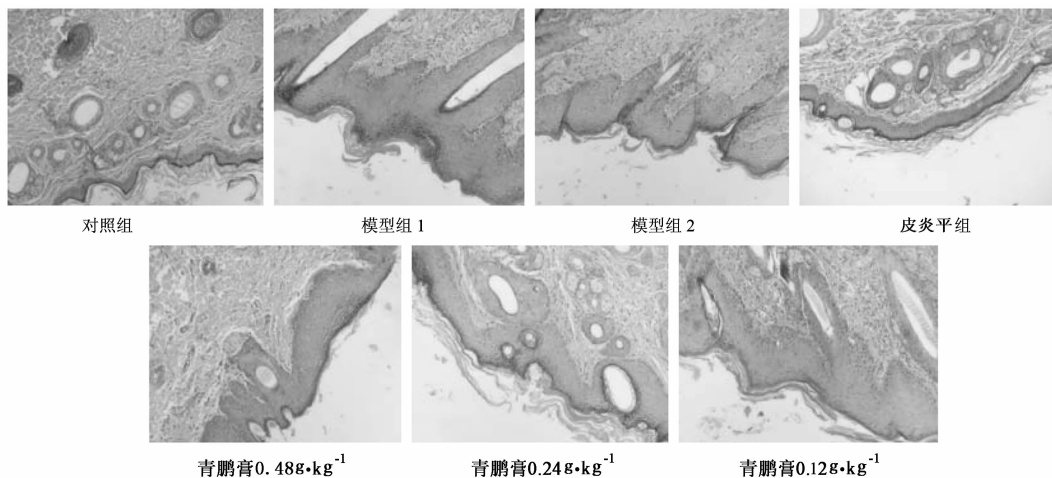


图1 各组豚鼠皮肤病理照片(HE, ×50)

### 3.2.3 病理组织学检查

**3.2.3.1 对湿疹模型豚鼠皮肤病变的影响** 模型 1 组(造模结束后立即取材)致敏后豚鼠表皮中度角化,偶见局灶性角化不全和灶性表皮坏死灶,表皮明显增厚,棘细胞层增加,部分棘细胞肿胀,或核周空隙较大,真皮突拉长,表皮至真皮炎性细胞增多;模型组(造模后 10 d)表皮轻度角化,偶见灶性角化不全,中-轻度增厚。青鹏膏剂各给药组表皮角化、棘细胞层增厚、表皮突延长等病理表现均有不同程度改善。见图 1。

**3.2.3.2 对湿疹模型豚鼠真皮内炎性细胞计数的影响** 模型组平均真皮细胞数明显增加,各给药组平均真皮细胞数与模型组相比明显减少,有显著性差异( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 青鹏膏剂对豚鼠湿疹模型真皮内炎性细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	炎性细胞数/HPF
正常对照	-	$15.45 \pm 3.19^{(1)}$
模型	-	$27.92 \pm 5.65$
皮炎平	$0.5^{(3)}$	$19.68 \pm 6.98^{(1)}$
青鹏膏剂	0.48	$21.35 \pm 5.39^{(1)}$
	0.24	$19.68 \pm 5.58^{(1)}$
	0.12	$22.10 \pm 3.44^{(1)}$

## 4 讨论

湿疹是由多种内外复杂因素引起的一种常见的过敏性、炎症性皮肤病,病因和发病机制比较复杂。目前多数实验表明 T 淋巴细胞的异常在湿疹发病中占重要地位,特别是 T 辅助淋巴细胞(Th1/Th2)的动态失衡引起细胞因子分泌紊乱在湿疹炎症的发展中起重要作用<sup>[4]</sup>。根据细胞因子的分泌模式,CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞可分为 Th1 和 Th2 亚群,Th1 主要分泌 IL-2,IFN- $\gamma$  等称为 Th1 型细胞因子,并介导细胞免疫;Th2 主要分泌 IL-4,IL-5 等称为 Th2 型细胞因子,并介导体液免疫<sup>[5]</sup>,但对于湿疹发病中 IL-2,IL-4,IFN- $\gamma$  水平,文献报道不一<sup>[6-9]</sup>。IL-4 可以抑制 IL-1,IL-6 和 TNF- $\alpha$  分泌<sup>[10]</sup>,通过抑制促炎因子而具有抗炎作用。人类亚急性和(或)慢性湿疹病理表现为炎性细胞浸润较轻,而表皮角化过度、表皮突延长明显。本研究结果显示,青鹏膏剂对组胺引起的豚鼠瘙痒有显著的抑制作用,能显著延长豚鼠舔足时间,提高豚鼠的组胺致痒阈,其止痒作用的机制

可能与抑制组胺有关。本实验湿疹模型豚鼠的病理表现与人类湿疹类似,成功建立了豚鼠接触性湿疹模型,青鹏膏剂各剂量组治疗后评分明显下降,较模型组有显著性差异,可有效地缓解湿疹引起的红斑、水肿等症状;病理组织学检查,各给药组与模型组相比,可不同程度的改善表皮角化、棘细胞层增厚、表皮突延长等病理表现,真皮内炎性细胞计数较模型组有明显降低,各给药组与模型组相比具有显著性差异。青鹏膏剂对于血清中 IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  无明显影响;青鹏膏剂各剂量组 IL-4 值较模型组升高,其中高、低剂量组与模型组相比有显著性差异。其治疗湿疹的作用机制可能与抑制炎性细胞、调节相关致炎、抑炎因子有关。

### [参考文献]

- [1] 陈少君,宋艳丽,刘青云,等. 青鹏膏剂外用治疗慢性湿疹临床观察[J]. 中国实用医药,2010,27(5):72.
- [2] 宋光煜,张一红. 消风止痒颗粒药理作用的实验研究[J]. 中成药,1995,17(12):30.
- [3] 孙明立,魏敏杰,金万宝,等. 两种变应性接触性皮炎动物模型的建立及比较[J]. 中国实验动物学报,2008,12(2):132.
- [4] 陆丽明,程楷涛. 湿疹发生机理的研究进展[J]. 亚太传统医药,2007,3(9):76.
- [5] Marcinkiewicz J, Chain B M. Regulation of *in vitro* release of the type cytokines (IL-4, IL-6) in the T cell response to the trinitrophenyl TNP hapten [J]. Cell Immunol,1993,146(2):406.
- [6] 李丽,甄莉. 黄芪对湿疹大鼠皮损中白细胞介素-4 和干扰素- $\gamma$  影响的实验研究[J]. 中国药物与临床,2010,10(1):53.
- [7] 钟爱莹,李娟,谢红伟. 荆芥连翘汤治疗亚急性湿疹及对血清 IL-2,IL-4 水平的影响[J]. 陕西中医,2010,31(9):1159.
- [8] 梁秀宇,关洪全. 消风散对 IV 型超敏反应中 IL-4,IFN- $\gamma$  及 sIL-2R 的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(4):37.
- [9] 姚春海,迟慧彦,宋艳丽,等. 清热除湿对急性湿疹患者细胞因子的影响[J]. 第四军医大学学报,2008,29(1):94.
- [10] 魏伟,李晓辉,张洪泉,等. 抗炎免疫药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:224.

[责任编辑 何伟]