

青黛克银丸治疗银屑病模型的实验研究

刘晋华^{*}, 李玉萍, 尤光甫

(解放军第二五一医院, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 研究青黛克银丸对银屑病动物模型的治疗作用。方法: 将小鼠或豚鼠随机分为空白组、模型组、阳性组、青黛克银丸高、中、低剂量组, 每组 10 只。各组 ig 给药 1 次·d⁻¹, 连续 14 d。采用小鼠阴道上皮和小鼠尾部鳞片表皮病理模型, 观察青黛克银丸对上皮细胞有丝分裂指数及小鼠尾部表皮鳞片中有颗粒层的鳞片数; 采用豚鼠耳部皮肤银屑病样皮损模型, 观察皮损组织病理变化及耳廓表皮厚度。结果: 青黛克银丸能明显抑制阴道上皮细胞有丝分裂, 对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成有显著促进作用, 可使豚鼠银屑病样模型耳部皮肤厚度显著减少。结论: 青黛克银丸对动物银屑病模型有较好的治疗作用, 其作用机理可能与抑制表皮细胞增生和改善角化不全有关。

[关键词] 青黛克银丸; 银屑病; 有丝分裂指数; 鳞片数; 表皮厚度

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0126-03

Experimental Research on Qindaikeyin Pills in Treatment of Psoriasis

LIU Jin-hua^{*}, LI Yu-ping, YOU Guang-fu

(No. 251 Hospital of People's Liberation Army, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] Objective: To study the therapeutic actions of the Qindaikeyin Pills on animal models of psoriasis. **Method:** Mice and guinea pigs were randomly divided into blank group, model group, positive group, Qindaikeyin Pill groups (high, medium, low doses). Each group was orally administered once daily for 14 d. The effects of the pills on epithelial cells mitosis index and number of scale with granular layer in tail epidermis scale in mice were detected by using the pathologic samples of the mice vaginal epithelium and scales cuticle at the tails of mice. The model of dermal damage with psoriasis in guinea pigs ears was carried out to observe the pathologic changes in dermal tissue and epidermis thickness. **Result:** Qindaikeyin Pills showed remarkable inhibitive actions on mitosis of mice vaginal epithelial cell and promotive actions for formation of epidermal granular layer in the scales of the mice tails. Qindaikeyin Pills could decrease the thickness of epidermis with psoriasis in the guinea pigs ears. **Conclusion:** Qindaikeyin Pill possesses the significant treatment effect on animal models of psoriasis, which may be attributed to the action of suppressing hyperplasia of epidermal cells and improving imperfect keratinization.

[Key words] Qindaikeyin Pills; psoriasis; mitosis index; number of scale; epidermis thickness

银屑病是一种常见且易发的慢性、炎症性、红斑鳞屑性皮肤病。目前认为, 人类银屑病表皮典型的病理生理特点主要包括表皮过度增生和分化不全伴角质化过度。本实验利用小鼠银屑病病理模型和豚鼠银屑病样皮损模型进行试验研究, 探索青黛克银丸

治疗银屑病的可能机制, 为临床治疗银屑病提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂 青黛克银丸药物组成: 青黛 150 g, 金银花 100 g, 牡丹皮 75 g, 黄芩 75 g, 乌梢蛇 40 g, 蒲公英 100 g, 莪术 30 g, 紫草 80 g, 大黄 30 g, 土茯苓 80 g 等。制备方法: 白茅根、白花蛇舌草、蒲公英加水提取, 浓缩成 1:1 清膏, 与其他药材混匀制成细粉, 加入青黛, 30% 乙醇制成水丸(相当 0.1 g), 中国

[收稿日期] 20100415(007)

[通讯作者] * 刘晋华, 主任药师, 研究方向: 临床药学及治疗药物监测, Tel: 0313-8785290, E-mail: ljh251yy@126.com

人民解放军第二五一医院制剂室提供,批号 081124;甲氨蝶呤片,上海信谊药业有限公司,批号 080315;秋水仙碱片,北京太平洋药业有限公司,批号 080503;乙烯雌酚注射液,广州明星制药厂,批号 061103;0.9%氯化钠注射液,浙江济民制药有限公司,批号 09011001;普萘洛尔粉,中诺药业(石家庄)有限公司提供。

1.2 动物 昆明种小鼠,体质量 18~22 g,雌雄兼用,动物合格证号 SCXK(京)2002-0011;白色豚鼠,雌雄各半,体质量 300~450 g,动物合格证号 SCXK(京)2002-0026;均由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.3 仪器 XSB-3 显微镜(上海物理光学仪器厂),CH-1-B 手持式测厚仪(精密度 0.001 mm,上海精密仪器有限公司)。

1.4 统计方法 采用 SPSS 12.0 统计软件进行数据处理和统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 方法

2.1 对小鼠雌性期阴道上皮模型的影响^[1,2] 取昆明种雌性小鼠 50 只,腹腔注射乙烯雌酚 0.2 mg/只,1 次·d⁻¹,连续 3 d,使小鼠阴道上皮处于雌激素期。第 4 天将小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,即空白对照组(等体积生理盐水),青黛克银丸高剂量组(3 g·kg⁻¹,相当于临床用量的 20 倍)、中剂量组(1.5 g·kg⁻¹,相当于临床用量的 10 倍)、低剂量组(0.75 g·kg⁻¹,相当于临床用量的 5 倍),甲氨蝶呤组(2 mg·kg⁻¹),各组药物以生理盐水配制成所需溶度,ig 给药,1 次·d⁻¹,连续 14 d,给药容积为 0.02 mL·g⁻¹。末次给药 2 h 后腹腔注射秋水仙碱 2 mg·kg⁻¹,使细胞有丝分裂周期停滞于有丝分裂中期,便与计数。6 h 后脱椎处死小鼠,取其阴道组织用 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,HE 染色,光镜下计数 300 个基底细胞中的有丝分裂数,折算出每 100 个基底细胞中的有丝分裂数,称为有丝分裂指数,比较各组小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂指数。

2.2 对小鼠尾部鳞片表皮模型的影响^[3] 取昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组,每组 10 只,分组及给药方法同 2.1 项下。末次给药 24 h 后脱椎处死小鼠,取距尾根部约 1.8 cm 背部皮肤一长条,10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,HE 染色,光镜下观察并计数小鼠尾部表皮每 100 个鳞片中有颗粒层

的鳞片数(凡鳞片表皮有连续成行的颗粒细胞者,称为有颗粒层形成的鳞片)。

2.3 对普萘洛尔致豚鼠耳部银屑病样皮损模型的影响^[4] 取普萘洛尔粉 5 g,加入基质适量,配制成 5% 普萘洛尔乳膏。取白色豚鼠 65 只,雌雄各半,随机分为 6 组,即正常对照组、模型对照组、青黛克银丸高剂量组(3 g·kg⁻¹)、中剂量组(1.5 g·kg⁻¹)、低剂量组(0.75 g·kg⁻¹),甲氨蝶呤组(2 mg·kg⁻¹),正常对照组 10 只,其余各组 11 只。除正常对照组外,各组豚鼠用玻璃棒将 5% 普萘洛尔乳剂均匀涂抹于豚鼠左侧耳背皮肤,每 1 cm² 用药 0.3 g 厚度 1.0 mm,3 次/天,连续 14 d。末次用药 4 h 后,涂药各组随机抽取 1 只豚鼠脱颈椎处死,行耳组织病理学检查,确认造模成功后开始给药。模型对照组和正常对照组不给药,其余各组药物以生理盐水配制成所需溶度,ig 给药,1 次/天,连续 14 d,给药容积为 0.02 mL·g⁻¹。末次给药 24 h 后,脱椎处死豚鼠。取其左耳耳廓皮肤,10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋,HE 染色,光镜下观察耳廓皮肤角质层、颗粒层、棘细胞层、基底细胞层变化,并精确测量豚鼠同一部位耳廓表皮厚度进行组间比较。

3 结果

3.1 小鼠阴道上皮细胞有丝分裂指数比较 青黛克银丸高、中剂量组均能明降低小鼠雌性期阴道上皮细胞的有丝分裂指数,其抑制作用呈现良好的量效关系。高剂量组对小鼠细胞有丝分裂的抑制作用与甲氨蝶呤效果相近(表 1)。

表 1 青黛克银丸对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响($\bar{x} \pm s$ n=10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	有丝分裂指数
空白对照	-	21.43 ±3.21 ³⁾
青黛克银丸	3.0	14.61 ±3.57 ²⁾
	1.5	17.85 ±2.98 ^{1,3)}
	0.75	19.37 ±2.76 ³⁾
甲氨蝶呤	0.002	12.76 ±4.15 ²⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与甲氨蝶呤组比较³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成比较 青黛克银丸高、中、低剂量组对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层均有明显的促进作用,与空白对照组比较,有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$),并随剂量增加而作用增强(表 2)。

表 2 青黛克银丸对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	颗粒层形成数
空白对照	-	6.84 \pm 2.13 ³⁾
青黛克银丸	3.0	10.27 \pm 2.62 ^{2,3)}
	1.5	9.91 \pm 2.40 ^{2,3)}
	0.75	8.96 \pm 2.28 ^{1,3)}
甲氨蝶呤	0.002	13.65 \pm 2.44 ²⁾

3.3 豚鼠耳部皮肤银屑病样皮损的比较 光镜下观察,正常对照组豚鼠耳廓皮肤可见完整的角质层,颗粒层约 1~3 层、呈线状,棘细胞层约 3~5 层、呈多角形细胞,基底细胞为单层状细胞,有丝分裂较少。真表皮交接较平,真皮内有散在少数单核细胞浸润;模型对照组可见不同程度的棘层增厚、角化不全、颗粒层变薄或消失、基底层有丝分裂减少、表皮突延伸呈棒状、真皮乳突上杵状变及毛细血管扩张;青黛克银丸和甲氨蝶呤组皮损组织病理明显改善。与模型对照组比较,青黛克银丸各剂量组、甲氨蝶呤组、正常对照组豚鼠耳部皮肤厚度显著减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与甲氨蝶呤组比较,青黛克银丸各剂量组均有显著性差异 ($P < 0.05$),提示青黛克银丸对豚鼠耳部银屑病样皮损的改善程度相对甲氨蝶呤组较弱(表 3)。

表 3 青黛克银丸对豚鼠耳部表皮厚度的影响

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	表皮厚度 / mm
正常对照	-	1.034 \pm 0.06 ²⁾
模型对照	-	1.167 \pm 0.04
青黛克银丸	3.0	1.082 \pm 0.05 ^{2,3)}
	1.5	1.098 \pm 0.06 ^{2,3)}
	0.75	1.112 \pm 0.07 ^{1,3)}
甲氨蝶呤	0.002	1.039 \pm 0.04 ²⁾

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与甲氨蝶呤组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

银屑病表皮的病理生理主要特点包括增生过快和角化不全两方面。雌激素周期小鼠阴道上皮增生活跃,有丝分裂增多,细胞转换加快,模拟了人类银屑病表皮增生过快的特点,比较小鼠阴道基底细胞有丝分裂指数,可较好地评价药物抑制细胞有丝分裂作用。小鼠尾部鳞片表皮因天然表皮正常角化缺乏颗粒层形成的过程,类似人类银屑病表皮分化障

碍、角化不全的病理改变,利用小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成计数,可评价药物促进颗粒层形成作用。如果药物能够抑制阴道上皮细胞有丝分裂,或者可促进鼠尾表皮颗粒细胞形成,恢复表皮角化不全,则可认为该药物可能具有抗银屑病作用,这类筛选抗银屑病的方法一直为国内外普遍采用^[5]。本实验研究表明,青黛克银能够显著降低小鼠雌性期阴道上皮细胞的有丝分裂指数,其高剂量组与甲氨蝶呤组效果相近;青黛克银还可明显促进鼠尾表皮颗粒细胞形成,但促进能力不及甲氨蝶呤组;以上作用随剂量增大而增强,呈现良好的量效关系。

普萘洛尔涂于豚鼠耳廓皮肤造成角化过度、角化不全和棘层肥厚等银屑病样皮损,此法简便可靠、重复性好,应用较为广泛^[6]。本试验结果显示,青黛克银丸可显著抑制普萘洛尔所致的豚鼠耳部表皮异常角化和增殖,明显改善棘层增厚、角化不全、颗粒层变薄或消失、基底层有丝分裂减少、毛细血管扩张等皮损组织病理变化。

上述 3 项实验研究证实,青黛克银丸既可抑制表皮增生过快、使皮损趋于消退,亦可改善表皮角化形成、从不全角化转为有颗粒层形成的完全角化,对银屑病模型有较好的治疗作用。

[参考文献]

- [1] Bonder R H, Van Scott E J. Use of mouse vaginal and rectal epithelium to screen antimetabolic effect of systemically administered drugs. *Cancer Res*, 1971, 31: 851.
- [2] Van scott E J, Bonder R H. Intravaginal and intrarectal screening of antimetabolic drugs for topical effectiveness. *J Invest Dermatol*, 1971, 56: 132.
- [3] Jarrett A. Comparative and experimental keratinization [M] // Jarrett A. eds. *The physiology and pathophysiology of the skin*. London: Academic Press, 1973, 123.
- [4] Wang X I, Wang W M, Li J C, et al. Experimental study of Xiaoyinling ointment of treating psoriasis model [J]. *China J Tradit Med Sci Technol*, 2005, 12(2): 83.
- [5] 孙林潮,刘玉峰.银屑病动物模型研究进展 [J]. *国外医学·皮肤性病分册*, 1995, 21(5): 264.
- [6] 黄畋,张淑芝,孙令.心得安涂药造成豚鼠耳部银屑病样病理变化 [J]. *中华皮肤科杂志*, 1991, 24(2): 9.

[责任编辑 聂淑琴]