

# 洋金花治疗银屑病有效部位的药理作用研究( II) ——对免疫功能、上皮细胞有丝分裂及皮肤角化的影响

王秋红, 肖洪彬, 杨炳友, 姚凤云, 夏永刚, 匡海学\*  
(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 研究洋金花治疗银屑病有效部位对免疫功能、皮肤角化及上皮细胞有丝分裂的影响, 进一步阐明其药理作用, 为临床应用和开发新药提供依据。方法: 通过对小鼠溶血素含量的影响及对植物血凝素(PHA)刺激的小鼠淋巴细胞转化的影响, 研究其对免疫功能的作用; 研究其对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂活性和对小鼠尾背部皮肤鳞片角化的影响。结果: 洋金花治疗银屑病有效部位对正常小鼠溶血素含量有降低的趋势, 但无明显差异性; 对 PHA 刺激的小鼠淋巴细胞转化无明显影响。可显著抑制小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂; 显著提高小鼠尾鳞片颗粒层形成数, 有明显的促进皮肤角化的作用。结论: 洋金花治疗银屑病有效部位对实验动物的体液免疫和细胞免疫无明显影响; 具有明显抑制小鼠阴道上皮细胞有丝分裂和促进小鼠尾背部皮肤鳞片角化的作用。

[关键词] 洋金花; 洋金花胶囊; 银屑病; 有效部位; 药理作用

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)11-0032-03

## Studies on Pharmacological Actions of the Active Parts in Flos Daturae for Psoriasis( II)

——on Immune Function, Epithelial Cell Mitosis and Skin Keratosis

WANG Qiu-hong, XIAO Hong-bin, YANG Bing-you, YAO Feng-yun, XIA Yong-gang, KUANG Hai-xue\*  
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of active parts in *Datura metel* L. (APD) for psoriasis on immune function, skin keratinized and epithelial cells mitosis, to clarify the mechanism for clinical applications and developing new drug. **Methods:** APD's effects on immune function were measured by the content of mice's hemolysin and lymphocyte transformation stimulated by phytohemagglutinin(PHA). The influence on the activity of vaginal epithelial mitotic cells and the effect on skin scales keratosis at the back of tail were also observed. **Results:** APD showed a trend of lowering the content of hemolysin in normal mice; and had no significant impact on lymphocyte transformation stimulated by PHA. APD could significantly inhibit the mitosis of vaginal epithelial cells; and obviously increase the quantities of scaly particles layers of mice tail with a clear role in the promotion of skin keratosis. **Conclusion:** APD may have no obvious effect on humoral and cell-mediated immunity to the experimental animals. However, APD appears to inhibit with epithelial cell mitosis and promote the keratosis of skin scales obviously.

[Key words] Flos Daturae; Yangjinhua capsule; psoriasis; the active parts; pharmacological actions

[收稿日期] 2008-04-09

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划资助课题(2006CB504708); 国家自然科学基金资助课题(30672633)

[通讯作者] \* 匡海学, Tel: (0451) 82193001; E-mail: hxkuang@hotmail.com

洋金花为茄科植物白花曼陀罗 *Datura metel* L. 的干燥花对银屑病具有显著的疗效<sup>[1]</sup>。本课题组通过研究,确定了洋金花治疗银屑病的有效部位,经药效研究证明该有效部位具有较强的抗炎、抗皮肤瘙痒及抗过敏作用<sup>[2]</sup>。本文从对免疫功能的影响,以及对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂活性和对小鼠尾背部皮肤鳞片角化的影响方面进行了研究。

### 1 实验材料

**1.1 药物** 洋金花胶囊是以洋金花治疗银屑病有效部位为原料加入辅料制备而成的制剂,由黑龙江中医药大学药学院中药化学教研室研制,每 1 g 胶囊内容物含洋金花有效部位 100 mg,批号:20011015。本文投与剂量均为洋金花胶囊内容物量;注射用氨甲喋呤,上海华联制药有限公司生产,批号:040506A;消银片,黑龙江省福和华星制药集团股份有限公司生产,批号:020308。

**1.2 动物** 昆明种小鼠,体重(20~24)g,雌雄各半,合格证号 P00102004 号,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供。

**1.3 仪器** Sartorius 电子天平,型号:110S;台式离心机 TDL-5A,上海安亭科学仪器厂;紫外-可见分光光度计 UV265FW,日本岛津公司;光学显微镜 ECLIPSE FN1 日本尼康公司。

**1.4 统计学方法** 实验数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用 *t* 检验。

### 2 实验方法与结果

#### 2.1 对免疫功能的影响

**2.1.1 对小鼠溶血素含量的影响<sup>[4]</sup>** 取体重健康小鼠 50 只,按体重均匀分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,分组和给药剂量见表 1。均为 ig 给药,对照组给同体积水,每日 1 次,连续给药 9 d,停药后次日处死动物。在处死动物前 4 d,每只小鼠 ip 绵羊红细胞(SRBC)悬液 0.2 mL(约 4 亿个细胞)进行免疫。摘眼球取血,放置 30 min 后,2 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,用生理盐水将血清按 1:300 稀释。将稀释后的小鼠血清 1 mL,SRBC 液 0.5 mL 加入试管中,再加入经生理盐水 1:10 稀释的豚鼠血清 1 mL。空白对照组以等体积生理盐水代替小鼠血清。将试管置于 37 ℃水浴 10 min 后,立即置于冰浴以终止反应,冷却后离心。取上清液 1 mL、都氏液 3 mL 加入试管中,混匀后静置 10 min,在 540 nm 处测定吸收度值。另在一试管中加 0.25 mL SRBC 和都氏液 3.75 mL,

测定 SRBC 半数溶血时的吸收度值。

样品半数溶血值 HC<sub>50</sub>=

$$\frac{\text{样品吸收度值}}{\text{SRBC 半数溶血时的吸收度值}} \times \text{血清稀释倍数}$$

表 1 洋金花胶囊对小鼠溶血素含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg·kg <sup>-1</sup> )	HC <sub>50</sub> (%)	抑制率 (%)
空白对照	—	354.2 ± 95.5	—
洋金花胶囊	104	295.8 ± 91.5	16.5
	52	288.7 ± 78.8	18.5
	26	329.4 ± 93.1	7.0
消银片	1 636	295.7 ± 73.5	16.5

注:与空白对照组相比较,<sup>1)</sup> *P* < 0.05; <sup>2)</sup> *P* < 0.01(下同)

表 1 结果表明,洋金花胶囊对正常小鼠溶血素含量仅有降低的趋势,提示洋金花胶囊在上述剂量对小鼠的体液免疫功能无明显的影响。

**2.1.2 对小鼠体内淋巴细胞增殖的影响<sup>[4]</sup>** 取健康雄性小鼠,按体重均匀分为 5 组,分组方法及给药剂量见表 2。每只小鼠每日 im 浓度为 0.16% 的植物血凝素(PHA) 8 mg·kg<sup>-1</sup>,共 3 d。同时各组均 ig 给药,每日 1 次,连续 9 d,末次给药后 24 h 剪尾,取血推片,瑞氏染色,油镜下计数 100 个淋巴细胞,分别求出淋巴母细胞及过渡态细胞所占的百分率。

表 2 洋金花胶囊对小鼠淋巴细胞增殖的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	剂量 (mg·kg <sup>-1</sup> )	淋巴母细胞 (%)	过渡态细胞 (%)
空白对照	12	—	16.3 ± 2.5	37.2 ± 5.1
洋金花胶囊	11	104	17.3 ± 3.2	34.6 ± 4.1
	12	52	16.9 ± 2.9	36.0 ± 5.9
	12	26	16.5 ± 3.5	35.7 ± 4.9
消银片	11	1 636	17.9 ± 3.1	37.1 ± 7.8

从表 2 结果可知,洋金花胶囊上述剂量给药,对 PHA 刺激的小鼠淋巴细胞增殖均无明显影响。

**2.2 对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响<sup>[5]</sup>** 取健康雌性小鼠 50 只,按体重均匀分为 5 组:空白对照组每日 ig 生理盐水 20 mL·kg<sup>-1</sup>;洋金花胶囊高,中,低剂量组剂量同前,ig 给药,每日 1 次,共 7 d;氨甲喋呤为阳性对照组。空白对照组和洋金花胶囊高,中,低剂量组自给药前 3 d 开始 ip 己烯雌酚,每次 0.2 mg/只,每日 1 次,连续注射 3 d。氨甲喋呤组于注射己烯雌酚 3 d 后,ip 氨甲喋呤 1 mg·kg<sup>-1</sup>,每日 1 次,共 3 d。为避免细胞有丝分裂的昼夜节律对

数据的影响,最后 1 次给药统一在上午 8:00,上午 9:00 ig 秋水仙碱  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,使有丝分裂停止于 M 期的中期而便于计数。于末次给药当天下午 2:00 处死小鼠,取阴道标本常规固定、包埋 HE 染色。用光学显微镜观察细胞有丝分裂,计数 500 个基底细胞中的有丝分裂数,算出每 100 个基底细胞的有丝分裂数为有丝分裂指数。

表 3 洋金花胶囊对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂及尾部鳞片角化的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	有丝分裂指数	颗粒层鳞片数 (%)
空白对照	—	$19.6 \pm 3.47$	$8.3 \pm 3.5$
洋金花胶囊	104	$11.6 \pm 2.01^{2)}$	$33.3 \pm 5.51^{2)}$
	52	$12.2 \pm 2.69^{2)}$	$30.5 \pm 5.81^{2)}$
	26	$12.3 \pm 2.83^{2)}$	$30.7 \pm 6.27^{2)}$
氨甲喋呤	1.0	$11.8 \pm 2.78^{2)}$	$33.0 \pm 6.87^{2)}$

从表 3 结果可知,洋金花胶囊各给药组同空白对照组相比,有丝分裂指数显著降低( $P < 0.01$ ),表明洋金花胶囊可明显抑制小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的活性,具有明显的抗增殖作用。

**2.3 对小鼠尾部鳞片角化的影响<sup>[5]</sup>** 取昆明种小白鼠 50 只,雌雄各半,按体重均匀分为 5 组:空白对照组;洋金花胶囊高,中,低剂量组,剂量及给药方法同 2.2;阳性对照药氨甲喋呤组,ip 氨甲喋呤  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,隔日给药 1 次。各组动物最后 1 次给药翌日脱颈椎处死小鼠,取尾部距离尾根约 2 cm 处背面皮肤一长条,常规固定、包埋 HE 染色,在光学显微镜下观察每只小鼠的尾部鳞片。凡是一个鳞片有连接成行的颗粒层细胞者,称为有颗粒层的鳞片。计数每 100 个鳞片中的有颗粒层的鳞片数。

从表 3 结果可知,同空白对照组相比,洋金花胶囊各给药组小鼠尾鳞片颗粒层形成数显著提高( $P < 0.01$ ),表明洋金花胶囊对小鼠尾背部皮肤鳞片的角化有明显的促进作用。

### 3 讨论

银屑病的发病机理复杂,可能通过遗传、病毒、细菌感染、精神因素、内分泌因素、外伤、饮食、代谢障碍、免疫功能异常等多环节,因此确立反映该病发病机制的药效学模型和方法很困难。目前已做过的包括:对自发型突变动物的遗传育种、转基因动物的培育、皮损-免疫缺陷鼠嵌合体 T 细胞皮内注射构建银屑病动物模型等。但总的来说,仅能作为理论

研究,尚无药效学筛选的意义。从病理环节着手仍是现行的主要筛选方法。

雌激素周期中小鼠阴道上皮增生活跃;鼠尾鳞片缺乏颗粒层,有角化不全的特点,因此可用以模拟银屑病表皮动力学紊乱的特点,进行药物筛选研究。在前期研究证明洋金花治疗银屑病有效部位制成的胶囊剂具有较强的抗炎、抗瘙痒和抗过敏作用的基础上,又选用雌激素周期小鼠阴道上皮和鼠尾鳞片表皮动物实验模型,分别模拟银屑病基本病理、生理的两个方面,即:角质形成细胞过度增生和角化不全的特点,以检测洋金花治疗银屑病有效部位抑制增生和诱导分化两方面的作用。此外,考察了对免疫功能的影响。

本文的药理实验研究结果表明,洋金花胶囊即洋金花治疗银屑病有效部位具有明显促进皮肤鳞片角化、对抗有丝分裂等作用,为洋金花胶囊治疗银屑病,有效改善银屑病患者皮肤角化不全及表皮过度增殖的临床生理、病理表现提供了实验支持。

另外,实验研究还表明,洋金花治疗银屑病有效部位对免疫功能影响不大,其对体液免疫虽有一定的抑制倾向,但无显著性差异,对细胞免疫无明显影响。目前,临床上用于银屑病治疗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。与这些药物相比较,洋金花治疗银屑病有效部位既呈现出确切的临床疗效,又对免疫功能不产生明显的影响,这表明洋金花治疗银屑病有效部位作为新的治疗银屑病药物,具有明显的优势和广阔的前景。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005:188.
- [2] 王玉玺. 中药洋金花为主治疗银屑病 242 例报告[J]. 中医杂志,1985,26(2):32.
- [3] 王秋红,肖洪彬,杨炳友,等. 洋金花治疗银屑病有效部位的药理作用研究(I)—抗炎、抗瘙痒及抗过敏作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(2):49-51.
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:1426-1437.
- [5] 冯泽海,高文平,徐汉卿,等. 复方青黛胶囊对银屑病实验模型影响的研究[J]. 中国皮肤性病学杂志,1996,10(6):337.