

消银胶囊对小鼠银屑病模型的影响

张宏¹, 杨煜², 徐宏¹, 吴岩¹, 弥宏¹, 吕文伟^{2*}

(1. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 观察消银胶囊对小鼠银屑病模型的影响。方法: 1. 消银胶囊分别以 0.8, 0.4 和 0.2 g/kg 的剂量, 对雌激素期的小鼠灌胃给药, 每日 1 次, 连续 5 d; 观察阴道上皮基底细胞的有丝分裂指数。2. 消银胶囊分别以 0.8, 0.4 和 0.2 g/kg 的剂量对小鼠灌胃给药, 每日 1 次, 连续 15 d; 观察小鼠尾表皮厚度和颗粒层形成的情况。3. 分别以 10 000, 1 000, 100 ng/mL 的消银胶囊作用于小鼠脾细胞悬液, 观察 T 淋巴细胞的增殖程度。结果: 消银胶囊对雌激素期小鼠阴道上皮有丝分裂有明显的抑制作用, 对小鼠尾部表皮增厚和颗粒形成具有明显的促进作用, 对 T 淋巴细胞增殖具明显抑制作用。结论: 消银胶囊具有改善和逆转小鼠银屑病病理模型的作用, 其机理可能与抑制表皮细胞增生过多和促进表皮形成颗粒层有关。

[关键词] 消银胶囊; 银屑病; 模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)05-0051-02

银屑病的基本病理特点为皮损部位表皮细胞过度增殖和角化不全。消银胶囊为一新研制的治疗银屑病药物。由于银屑病为人类特有的疾病, 为此, 选用下述 ③种试验观察消银胶囊对银屑病的作用。①小鼠雌激素期阴道上皮有丝分裂的模型^[1]; ②小鼠尾部表皮颗粒细胞生成的模型^[2]; ③小鼠 T 淋巴细胞增殖反应模型。

1 材料

1.1 药品和试剂 消银胶囊由吉林省中医中药研究院提供, 本品为胶陀螺 (*Bulgaria inquinans* (Pers.) Fr.) 单味药组成的胶囊剂, 0.3 g/粒。甲氨蝶呤片由上海信谊药业有限公司生产。RPMI1640 培养基和二甲基亚砷均为 GIBCO 产品, 刀豆蛋白 A (ConA) 为 Sigma 产品。

1.2 动物 昆明种小白鼠和 BALB/c 小鼠由吉林大学基础医学院动物实验中心提供, 合格证号 SCXK-2003-0001。

1.3 仪器 日本 OLYMPUS 公司 CKX41 倒置相差显微镜, 日本 SANYO 公司产 CO₂ 培养箱, 奥地利 TECAN SUNRIS-BASIC 酶标仪。

2 方法

2.1 消银胶囊对小鼠雌激素期阴道上皮有丝分裂的影响 取体重 (22 ± 2) g 雌性健康小白鼠 72 只, 随

机分 6 组, 每组 12 只。其中 5 组腹腔注射乙烯雌酚 0.2 mg/只, 每日 1 次, 连续 3 d, 使其处于雌激素期, 分别为模型对照组, 阳性对照药甲氨蝶呤片 (4 mg/kg), 消银胶囊的高剂量组 (0.8 g/kg)、中剂量组 (0.4 g/kg) 和低剂量组 (0.2 g/kg), 各组给药体积均为 10 mL/kg。其余 1 组为正常对照组, 给予相同体积的生理盐水。每日灌胃给药 1 次, 连续 3 d。末次药后 2 h 腹腔注射秋水仙碱 2 mg/kg, 6 h 后处死小鼠。取其阴道组织, 用 10% 福尔马林固定, HE 染色, 光镜下计数 300 个阴道上皮基底细胞的有丝分裂数, 其百分率为有丝分裂指数。

2.2 消银胶囊对小鼠尾部表皮颗粒细胞生成的影响 取健康小白鼠 60 只, 雌雄各半, 随机分成 5 组, 每组 12 只, 阳性对照药甲氨蝶呤组, 消银胶囊高、中、低剂量组每日灌胃给药 1 次, 剂量同上, 共计 15 次, 对照组给予相同体积的生理盐水。末次药后 2 h 处死全部小鼠, 取距鼠尾根部 1.8 cm 处背部皮肤一长条, 用 10% 福尔马林固定, HE 染色, 于光镜下 (400 ×) 计数每 100 个鳞片中含有连续成行颗粒细胞的鳞片百分数。

2.3 消银胶囊对小鼠 T 淋巴细胞增殖反应的影响

取健康 BALB/c 小鼠于无菌操作条件下取脾, 用含 5% 小牛血清的 Hank's 液制成脾细胞悬液, 离心后, 弃上清液, 加入 RPMI1640 培养液离心洗涤 3 次, 调细胞浓度至 7×10^6 /mL, 铺板加样, 设 3 复孔, 每孔取脾细胞悬液 100 μL 再加入 ConA (5 μg/mL) 及被试

[收稿日期] 2006-03-13

[通讯作者] * 吕文伟, Tel: (0431) 85619799

药物,使每孔最终体积为 200 μ L 受试药物消银胶囊(未加赋形剂的蒽醌类化合物提取物)的浓度分别为 10 000, 1 000, 100 ng/mL, 甲氨喋呤的浓度分别为 100 μ g/mL, 另设正常对照组,只加入 ConA (5 μ g/mL)。置 37 $^{\circ}$ C 孵箱孵育 48 h, 然后每孔加入噻唑蓝 10 μ L (5 mg/mL), 继续孵育 4 h。小心吸去上清, 每孔加入二甲基亚砜 100 μ L, 震荡 10 min 后于酶标仪 570 nm 处测定吸收值 A。以此反映 T 淋巴细胞的增殖程度。

2.4 统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计学处理采用组间 *t* 检验。

3 结果

3.1 对小鼠雌激素期阴道上皮有丝分裂的影响 结果见表 1。消银胶囊 0.8 g/kg, 0.4 g/kg 对小鼠雌激素期阴道上皮细胞有丝分裂有明显的抑制作用 ($P < 0.05$)。

表 1 消银胶囊对小鼠雌激素期阴道上皮有丝分裂的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量(/kg)	有丝分裂指数(%)
正常对照组	—	17.95 \pm 4.82
模型对照组	—	20.11 \pm 5.85
甲氨喋呤	4 mg	13.02 \pm 4.11 ²⁾
消银胶囊	0.8 g	12.94 \pm 6.22 ²⁾
消银胶囊	0.4 g	16.04 \pm 5.01 ¹⁾
消银胶囊	0.2 g	17.07 \pm 4.88

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对小鼠尾部表皮颗粒细胞生长的影响 结果见表 2。消银胶囊 0.8 g/kg, 0.4 g/kg 连续灌胃给药 15 d 对小鼠尾部表皮颗粒细胞生成具有明显的促进作用(与对照组比 $P < 0.05$)。

表 2 消银胶囊对小鼠尾部表皮颗粒细胞生长的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量(/kg)	颗粒细胞数(%)
正常对照组	—	6.7 \pm 3.0 ²⁾
甲氨喋呤	4 mg	10.1 \pm 2.1 ¹⁾
消银胶囊	0.8 g	10.8 \pm 2.8 ²⁾
消银胶囊	0.4 g	9.5 \pm 2.7 ¹⁾
消银胶囊	0.2 g	9.1 \pm 3.3

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.3 对 T 淋巴细胞增殖的影响 结果见表 3。

表 3 消银胶囊对小鼠 T 淋巴细胞增殖反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	浓度 (ng/mL)	A ₅₇₀
正常对照	—	0.737 \pm 0.032
甲氨喋呤	1	0.620 \pm 0.035 ¹⁾
甲氨喋呤	10	0.577 \pm 0.050 ¹⁾
甲氨喋呤	100	0.523 \pm 0.036 ²⁾
消银胶囊	100	0.637 \pm 0.055
消银胶囊	1 000	0.653 \pm 0.036 ¹⁾
消银胶囊	10 000	0.560 \pm 0.050 ¹⁾

4 讨论

银屑病为人类特有的常见且易反复发作的顽固性皮肤病。由于银屑病的基本病理变化兼有表皮增生和角化不全两个特点,又为人类特有的疾病,因此,国内外学者以处于雌激素期小鼠的阴道上皮及小鼠尾部表皮为病理模型,前者细胞增殖活跃,上皮细胞转换加快;后者的表皮结构与银屑病患者相似;另外,对淋巴细胞增殖的影响,在一定程度上反映对皮肤角质细胞的作用^[3]。本研究发现,消银胶囊 0.8 g/kg, 0.4 g/kg 两个剂量下灌胃给药,对小鼠雌激素期阴道上皮细胞的有丝分裂有明显的抑制作用 ($P < 0.05$)。消银胶囊 0.8 g/kg 及 0.4 g/kg 灌胃给药连续 15 d,对小鼠尾部表皮颗粒细胞生成具有明显的促进作用与对照组比较有明显差异 ($P < 0.01$)。消银胶囊从 1 000~ 10 000 ng/mL 对 T 淋巴细胞增殖的抑制作用明显 ($P < 0.05$)。选用上述 3 种试验观察消银胶囊对银屑病的作用,结果表明,消银胶囊具有改善和逆转银屑病病理模型的作用,值得作进一步的研究,以便为临床应用提供充分的试验依据。

[参考文献]

[1] 黄畋,林熙然.石蒜碱对表皮角化及细胞有丝分裂的影响[J].中华皮肤科杂志,1985,18(1):37.

[2] 苏秀玲,韩锐,王秀荣.维胺酸等维甲类衍生物对小鼠银屑病模型的实验治疗[J].中华皮肤科杂志,1989,22(6):400.

[3] 柳忠辉,吕昌龙.免疫学常用实验技术[M].北京:科学出版社,2002.111.