

银黄参精油对日光性皮炎模型小鼠皮肤损伤的保护作用

李孟艳, 田硕, 苗明三*
(河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**观察银黄参精油对中波紫外线(UVB)致小鼠日光性皮炎模型的影响。**方法:**将60只SPF级BALB/c雌性小鼠随机分组空白组,模型组,敏立消组,银黄参精油大、小剂量组,除空白组外,模型组每天背部涂抹生理盐水 $0.25\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$,敏立消组每天涂抹敏立消 $0.0125\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$,银黄参精油小剂量组 $0.125\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$,大剂量 $0.25\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$,1次/d,连续给予相应药物8 d。除空白组外,其他各组于第6天在距308 nm紫外线15 cm处照射1.5 h,照射后1 h及照射后24 h再涂搽相应药物1次,48 h后观察皮肤,模型组背部脱毛处有红肿出现,提示造模成功。**结果:**取部分局部皮肤匀浆液测定一氧化氮(NO),一氧化氮合酶(NOS),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量,剩余部分苏木素-伊红(HE)染色观察局部组织病理形态变化。**结果:**与空白组相比,模型组局部皮肤表观红肿、破溃,组织上皮和附件缺失,表面附着大量炎性细胞及坏死物,局部组织形态病理有显著变化($P < 0.01$),NO,NOS,TNF- α 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组相比,银黄参精油大、小剂量组和敏立消组均可显著减轻局部皮肤组织表观症状($P < 0.01$),皮肤组织中NO,NOS,TNF- α 含量显著降低($P < 0.01$),显著减轻局部组织形态病理变化($P < 0.01$)。**结论:**银黄参精油大、小剂量对小鼠日光性皮炎有较好的防治作用。

[关键词] 银黄参精油;中波紫外线(UVB);中药外用;日光性皮炎

[中图分类号] R26;R285.5;R758.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)04-0013-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190437

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181106.1612.005.html>

[网络出版时间] 2018-11-09 09:00

Protective Effect of Yinhuangshen Essential Oil on Skin Damage in Mice with Solar Dermatitis

LI Meng-yan, TIAN Shuo, MIAO Ming-san*
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Yinhuangshen essential oil in mice of solar dermatitis model by ultraviolet (UVB). **Method:** Sixty SPF BALB/c female mice were randomly divided into blank group, model group, Minlixiao group, and large and small-dose Yinhuangshen essential oil groups. Except for blank group, model group was given $0.25\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$ normal saline on the back every day. The Minlixiao group was given Minlixiao every day. Low-dose Yinhuangshen essential oil group was given $0.125\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$, and large-dose group was given $0.25\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$, once a day, and the corresponding drugs were given continuously for 8 days. Except for blank group, all of the other groups were irradiated for 1.5 hours at 15 cm away from 308 nm UVB lamp on the 6th day. One hour and 24 hours after irradiation, mice were given corresponding drug once, and skin was observed 48 hours later. Contents of nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in some local skin homogenates were measured. The histopathological changes were observed by htoxylin eosin (HE) staining. **Result:** Compared with blank group, skin of model group was reddish, swollen and ulcerated, epithelium and adnexal were absent, a large number of inflammatory cells and necrosis were adhered to the surface, the local histopathological changes significantly ($P < 0.01$), and NO, NOS, TNF- α were significantly increased

[收稿日期] 20181004(004)

[基金项目] 国家国际合作基地项目(2016-65);河南省产学研项目(182107000029)

[第一作者] 李孟艳,在读硕士,从事药理研究,E-mail:1336931403@qq.com

[通信作者] *苗明三,博士,教授,从事中药药理教学与研究,E-mail:miaomingsan@163.com

($P < 0.01$). Compared with model group, contents of NO, NOS and TNF- α in the skin tissue of Minlixiao group and Yinhuangshen essential oil group were significantly decreased, and it could remarkable reduce the pathological changes in local tissue morphology ($P < 0.01$). **Conclusion:** Yinhuangshen essential oil has a good effect in preventing and treating solar dermatitis.

[**Key words**] Yinhuangshen essential oil; ultraviolet (UVB); external use of traditional Chinese medicine; solar dermatitis

日光性皮炎为一种日晒伤性皮肤病,又称为晒斑、日晒疮^[1],是在日光暴晒下产生的急性炎症反应^[2]。主要发生于面部^[3],轻者出现红肿热痛,重者有水疱产生,有灼烧感,若严重者未及时得到有效治疗,则会有瘢痕遗留^[4],给人们的生活带来极大的不便^[5],因个体肤质不同其发病率也有很大差异^[6],但此病多发于紫外线较强的地区^[7]。随着人们对生活质量要求的提高,日光性皮炎带来的烦恼就越多,此病的发病机制尚不明晰。查阅近年文献及资料发现目前日光性皮炎的治疗手段主要为药物的涂抹及内服,维生素 B₁、B₆,治疗效果明显,地塞米松因其抗炎、抗过敏等功效对炎症组织的黏连具有很好的治疗作用,清凉油具有清凉止痒作用,与肤轻松乳膏连用效果较好^[8]。中药治疗日光性皮炎以清热凉血类为佳^[9-10]。中药精油因其药效活性高,脂溶性强,易被皮肤吸收,并具有中药安全性高、副作用小等特点,但中药精油对日光性皮炎的治疗作用方面仍处于空白状态。本实验根据中药的药性、药效及中医基础理论等方面选用银黄参精油对日光性皮炎模型进行了研究,以填充中药精油治疗日光性皮炎市场的空白。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠,体质量 18 ~ 20 g,由山东省动物实验中心提供,合格证号 SCXK(鲁)2014-0007,动物实验室使用许可证号 SYXK(豫)2015-0005。本实验符合河南中医药大学实验动物伦理会标准,编号 DWLL20130021。

1.2 药物及试剂 敏立消(武汉润禾生物医药有限公司,批号 20170502);银黄参精油(苦参精油、金银花精油、大黄精油、薄荷冰等,由河南中医药大学制剂室提供,批号 20180321);一氧化氮(NO),一氧化氮合酶(NOS),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(苏州卡尔文生物科技有限公司,批号均为 E20180401A);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号 170209)。

1.3 仪器 功率 30 W,波长 303 nm 紫外灯(北京

中仪傅腾科技有限公司);HWS12 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);KDC-160HR 型高速冷冻离心机(安徽科大创新股份有限公司中佳分公司);680 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);DHG-9038A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

2 方法

2.1 给药及分组 取 60 只 SPF 级 BALB/c 6 周龄雌性小鼠,适应性饲养 3 d 后,随机分为 5 组,分别为空白组,模型组,敏立消组,银黄参精油大、小剂量组,每组 12 只。将小鼠背部皮肤 2 cm \times 2 cm 范围脱毛,模型组每天给予生理盐水(0.125 mL \cdot cm⁻²,涂抹面积 2 cm \times 2 cm,分 2 次涂搽,每次间隔 5 min);大、小剂量银黄参精油给予脱毛区相应的银黄参精油,根据前期反复预实验确定用药剂量(大剂量 0.25 mL \cdot cm⁻²,用药面积 2 cm \times 2 cm,1 次/d,每次间隔 5 min;小剂量 0.125 mL \cdot cm⁻²,用药面积 2 cm \times 2 cm,1 次/d);敏立消组均匀涂抹敏立消(厚度 0.25 mm,用药面积 2 cm \times 2 cm,约每只 0.05 g,1 次/d,即 0.012 5 g \cdot cm⁻²),连续给药 8 d^[4]。

2.2 造模 于给药后第 6 天以 308 nm 紫外线与 15 cm 处辐射 1.5 h,照射后 1 h 及照射后 24 h 再涂搽相应药物 1 次,模型组局部皮肤经 48 h 潜伏期,可见皮肤红肿,日光性皮炎模型成功建立^[11]。局部皮肤组织表观指标的评价标准,“-”皮肤正常,无红肿;“+”皮肤有红褐色斑点出现;“++”皮肤红肿,无渗出;“+++”皮肤红肿,有渗出。实验病理切片的实际状况评价标准,“-”皮肤组织正常,上皮排列整齐,皮肤附件分布均匀,未见病理改变;“+”皮肤组织基本正常,黏膜下少许炎性细胞浸润;“++”皮肤组织基本正常,局部表面附着大量中性粒细胞,黏膜下炎性细胞浸润;“+++”皮肤组织溃疡形成,肉芽肿性炎伴坏死。

2.3 ELISA 法检测皮肤组织中 NO, NOS, TNF- α 的水平 于 48 h 后,观察小鼠局部皮肤表观指标,然后取相应部位小鼠皮肤,皮肤组织匀浆,3 000 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min。取其上清液,置 -20 $^{\circ}$ C

保存备用,供测 NO, NOS, TNF- α 的水平。

2.4 HE 染色观察皮肤组织病理形态学变化 剩余部分皮肤置 10% 甲醛溶液固定,做病理切片,染色,镜检。

2.5 统计学分析 实验数据用 SPSS 21.0 统计软件处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验或 *Ridit* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠日光性皮炎模型皮肤的影响 经 *Ridit* 检验,与空白组相比,模型组小鼠皮肤出现显著红肿 ($P < 0.01$),说明造模成功。与模型组相比,银黄参精油大、小剂量组和敏立消组均能够显著改善皮肤红肿情况 ($P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对小鼠日光性皮炎模型局部皮肤组织中 NO, NOS, TNF- α 水平的影响 与空白组相比,模型组局部皮肤组织中 NO, NOS, TNF- α 水平均显著升高

表 1 银黄参精油对日光性皮炎模型小鼠局部皮肤组织观指标的影响 ($n = 12$)

Table 1 Effect of Yinhuangshen essential oil on local skin of mice with solar dermatitis ($n = 12$)

组别	剂量 /mL·cm ⁻²	皮肤损伤程度分级 动物只数/只			
		-	+	++	+++
空白	-	12	0	0	0
模型	-	0	3	6	3
敏立消	0.012 5 ¹⁾	9	2	1	0
银黄参精油	0.25	10	1	1	0
	0.125	11	1	0	0

注: ¹⁾表示剂量单位为 g·cm⁻²(表 3 同)。

($P < 0.01$)。与模型组相比,银黄参精油大、小剂量组和敏立消组局部皮肤组织中 NO, NOS, TNF- α 水平均显著降低 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 银黄参精油对日光性皮炎模型小鼠背部皮肤组织中 NO, NOS, TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of Yinhuangshen essential oil on NO, NOS and TNF- α contents in skin tissues of mice with solar dermatitis ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/mL·cm ⁻²	NO/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NOS/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	TNF- α /ng·L ⁻¹
空白	-	16.26 \pm 1.17	20.58 \pm 1.91	245.83 \pm 13.23
模型	-	18.02 \pm 0.71 ¹⁾	25.73 \pm 3.92 ¹⁾	279.50 \pm 12.57 ¹⁾
敏立消	0.012 5 ³⁾	16.64 \pm 1.04 ²⁾	22.19 \pm 1.26 ²⁾	262.84 \pm 14.63 ²⁾
银黄参精油	0.25	16.09 \pm 1.48 ²⁾	21.06 \pm 1.41 ²⁾	240.09 \pm 24.64 ²⁾
	0.125	16.29 \pm 1.24 ²⁾	21.72 \pm 1.19 ²⁾	260.25 \pm 14.00 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$; ³⁾剂量单位为 g·cm⁻²。

3.3 对小鼠日光性皮炎模型皮肤组织形态的影响

空白组小鼠皮肤表面被覆鳞状上皮(2~3层),皮脂腺、汗腺、毛囊齐全,皮下结缔组织疏松,未见病理改变。模型组小鼠皮肤破溃,上皮和附件缺失,表面附着大量炎性细胞及坏死物。敏立消组小鼠皮肤损伤处基本修复,少数细胞空泡变性,表面附着炎性细胞及坏死物即将脱落。银黄参精油大剂量组小鼠皮肤角质层,上皮层,皮肤附件基本正常,退变的炎性细胞及坏死物脱落。银黄参精油小剂量组小鼠皮肤角质层,上皮层,皮肤附件基本正常,退变的炎性细胞及坏死物脱落。见图 1。经 *Ridit* 检验,与空白组相比,模型组皮肤组织出现显著病理变化 ($P < 0.01$),说明造模成功。与模型组相比,银黄参精油大、小剂量组和敏立消组均可以显著减轻日光性皮炎模型皮肤组织的病理改变 ($P < 0.01$)。见表 3。

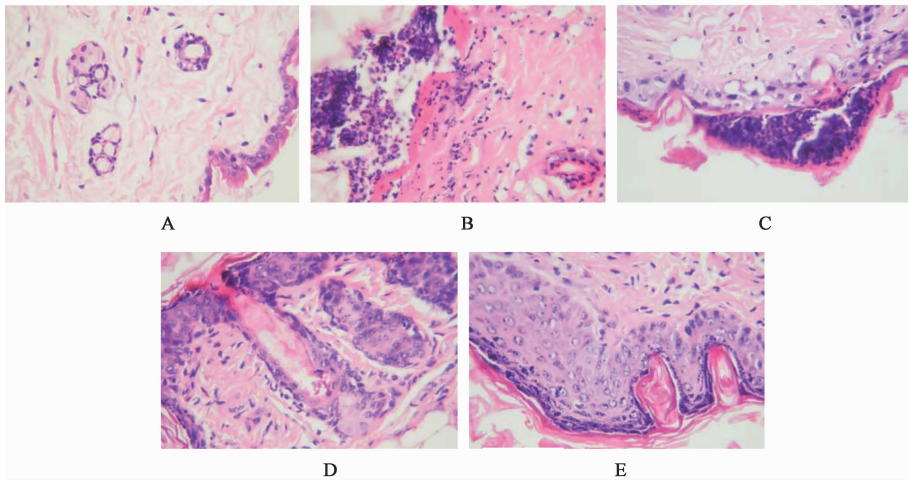
4 讨论

日光性皮炎为皮肤感受外邪所致,主要是由于皮肤经紫外线辐射释放炎症介质致血管扩张渗透增

加、组织水肿、黑色素合成加速^[12-13]。中医又称“风毒病”,中医认为由于机体内部蕴久化湿及外受日光之邪造成的,故用药多以清热利湿为主。治疗的方法多以内服、外敷为主,也有穴位自血疗法^[14]等。西医治疗多用消炎或利尿剂作为主要治疗药物,如氯磺水杨酸盐、维生素、皮质类固醇激素等^[15-16]。

银黄参精油选用中药精油配伍,其中苦参精油具有活血化瘀、生肌止痛的作用^[17],大黄精油具有活血祛瘀杀菌抗炎的作用。现代药理研究表明,金银花精油具有抗炎、抗菌等作用。薄荷脑具有一定的挥发性^[18],在外用时多作为刺激药,有清凉止痒的作用^[19]。配方精油为脂溶性,易被皮肤吸收,进而发挥药效^[20-22]。

NO 是由 L-精氨酸在 NOS 催化下合成的活性物质,可以直接参与日光性皮炎的形成,具有较强的舒血管作用,又被称为内皮源性舒张因子,对保持血管稳定有重要作用^[23],它作为炎症介质及免疫调节分子,对于疾病的发生、发展具有重要的作用。另外,



A. 空白组; B. 模型组; C. 敏立消组; D. 银黄参精油大剂量组; E. 银黄参精油小剂量组

图 1 银黄参精油对日光性皮炎模型小鼠背部皮肤组织形态的影响 (HE, ×400)

Fig. 1 Effect of Yinhuangshen essential oil on skin tissue morphology of acute solar dermatitis model in mice (HE, ×400)

表 3 银黄参精油对日光性皮炎模型小鼠局部皮肤组织形态的影响 (n = 12)

Table 3 Effect of Yinhuangshen essential oil on local skin tissue of mice with solar dermatitis (n = 12)

组别	剂量 /mL·cm ⁻²	皮肤组织形态分级动物只数/只			
		-	+	++	+++
空白	-	12	0	0	0
模型	-	0	2	10	0
敏立消	0.012 5 ¹⁾	7	3	2	0
银黄参精油	0.25	9	2	1	0
	0.125	11	1	0	0

注: ¹⁾ 剂量单位为 g·cm⁻²。

NO 具有调节皮肤血液循环、参与组织修复、细胞凋亡等生物学作用^[24], 对血小板的凝集、血管平滑肌的增殖以及白细胞对血管壁的黏附都具有调控作用。TNF-α 作为一种重要的炎症因子, 是由单核细胞、巨噬细胞以及 T 细胞产生的细胞因子, 具有多种生物学效应, 与人的免疫性疾病有着密切的关系^[25-26]。

实验结果表明银黄参精油大、小剂量组均可不同程度地降低皮肤组织中 NO, NOS, TNF-α 水平, 并改善日光性皮炎的皮肤破溃, 上皮和附件缺失, 表面附着大量炎性细胞及坏死物的病理改变, 有较好的防治作用。本实验证明了银黄参精油具有一定的防治过敏性皮炎的作用, 根据实验结果表明与敏力消的抗日光性皮炎效果相当, 提示其作用机制可能是通过局部皮肤“微作用”调节机体相关的炎症因子、免疫因子的生成以及释放发挥作用, 从而拮抗日光

性皮炎。本实验填充了银黄参精油防治日光性皮炎的市场空白, 为银黄参精油防治日光性皮炎提供了新思路。

[参考文献]

[1] 丁树栋. 治日光性皮炎方四则[J]. 农村百事通, 2018 (11): 47.

[2] 潘德海, 红梅. 浅谈日光性皮炎[J]. 中老年保健, 2015(7): 14-15.

[3] 李燕, 王爱琴, 申杰, 等. 重度植物日光性皮炎一例[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2018, 34(6): 369, 377.

[4] 李博文, 任茜, 曹长青, 等. 2 岁儿童食用灰菜致植物日光性皮炎 1 例[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11 (7): 21, 24.

[5] 刘志宏, 叶小红, 张晶, 等. 复方芦荟乳膏对豚鼠日晒伤的研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31 (12): 5294-5296.

[6] 王艳, 马彦, 冯文莉, 等. 鲜蘑菇致植物日光性皮炎一例[J]. 中华全科医师杂志, 2017, 16(12): 965-966.

[7] 王陈君. 高原地区日光性皮炎的临床分析[J]. 健康之路, 2018, 17(3): 54.

[8] 陆凌. 中西医结合治疗训练中日光性皮炎患者的临床观察[J]. 中国民康医学, 2018, 30(12): 77-78, 82.

[9] 方一妙, 马俐俐, 林金, 等. 清热凉血中药口服联合鱼腥草滴眼液湿敷治疗面部日光性皮炎临床观察[J]. 新中医, 2018, 50(4): 154-157.

[10] 王景文. 京万红软膏治疗皮肤损伤的临床应用研究进展[J]. 药物评价研究, 2014, 37(4): 375-380.

[11] 陈向齐, 曾抗, 刘向农, 等. 中波紫外线诱导小鼠表皮日晒伤细胞形成的实验研究[J]. 福建医科大学学报, 2006, 40(6): 547-549.

- [12] 李晓鹏,夏丽真,孙强.外用京万红软膏与绿药膏治疗日晒伤疗效观察[J].北京医学,2015,37(11):1092-1093.
- [13] Ozkol H U, Akdeniz N, Ozkol H, et al. Development of phytophoto-dermatitis in two cases related to plantago lanceolata[J]. J Toxicol Cutan Ocul Toxicol, 2012, 31(1):58-60.
- [14] 韩桂莲.穴位自血疗法治疗日光性皮炎一则[J].中国民间疗法,2015,23(9):27.
- [15] 丁蕾.美能联合卡介菌多糖、依巴斯汀在小儿日光性皮炎治疗中的应用[J].齐齐哈尔医学院学报,2015,36(1):10-11.
- [16] 王造林,王玉光.氟芬那酸丁酯软膏治疗日光性皮炎的疗效及安全性分析[J].中外医疗,2015,34(28):138-139.
- [17] 朱春玲.红光联合苦参油治疗外阴营养不良 110 例临床护理[J].齐鲁护理杂志,2012,18(13):92-93.
- [18] 丁礼琴,金家骅.GC 测定清凉油中薄荷脑、樟脑、桉油精和丁香酚的含量[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(13):85-89.
- [19] 沈梅芳,李小明,单琪媛.薄荷化学成分与药理作用研究新进展[J].中华中医药学刊,2012,30(7):1484-1487.
- [20] 庞渤.大黄油对皮肤细菌感染的治疗观察[J].中国医药指南,2013,11(22):262-263.
- [21] 白明,刘丹丹,缪君娴,等.不同品种大黄油糊外用抗炎作用及对大鼠皮肤溃疡、痔疮模型的影响[J].中国现代应用药学,2013,30(6):575-581.
- [22] 咸婧,符江,程锦堂,等.药用大黄地上部分化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(14):45-51.
- [23] 张燕,刘桂丽,李瑞静,等.木天蓼对 VEGF121 刺激血管内皮细胞分泌 NO 的影响[J].中国皮肤性病学杂志,2017,31(8):834-837.
- [24] 顾锦章,蔡益芹.血清一氧化氮测定在炎症性皮肤病中的意义[J].皮肤病与性病,2013,35(5):249,254.
- [25] 雒玉辉,李树君.血清 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 及 IgE 水平变化在老年皮肤瘙痒症发病机制中的作用观察[J].中国医药指南,2018,16(19):40-41.
- [26] Jr D O D, Rodrigues E B, Maia M, et al. Cytokines in neovascular age-related macular degeneration: fundamentals of targeted combination therapy[J]. Br J Ophthalmol, 2011, 95(12):1631-1637.

[责任编辑 孙丛丛]