

皮炎康颗粒对小鼠慢性变应性接触性皮炎的实验研究

刘彬¹ 关小红¹ 王小辉¹ 李钰瑶²

(1 辽宁中医药大学附属医院皮肤科, 沈阳, 110032; 2 美国加利福尼亚州安大略基督教高中
加州安大略市西菲力刀飞亚街 931 号 ca91762, 加利福尼亚, 91762)

摘要 目的:探讨皮炎康颗粒对小鼠慢性变应性接触性皮炎耳肿胀度、胸腺指数、脾指数的影响。方法:采用 2,4-二硝基氯苯(DNCB)建立小鼠慢性变应性接触性皮炎(Allergic Contact Dermatitis, ACD)模型,设定皮炎康颗粒高(4 倍等效量)、中(2 倍等效量)、低(等效量)3 个剂量组和氯雷他定片高剂量(4 倍量)组、空白组、模型组。观察皮炎康颗粒对慢性 ACD 小鼠左、右耳重量差、耳厚度差、胸腺指数、脾指数的影响。结果:模型组与空白组相比耳重量差、耳厚度差均明显增加,与空白组相比,有统计学意义($P < 0.01$)。皮炎康颗粒各剂量组和氯雷他定片组均能减轻小鼠耳重量差、耳厚度差,与模型组相比,有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);模型组与空白组相比胸腺指数、脾指数均明显增加,与空白组相比,有统计学意义($P < 0.01$)。皮炎康各剂量组和氯雷他定片组均能降低小鼠胸腺指数、脾指数,与模型组相比,有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论:皮炎康颗粒可明显改善 DNCB 引起的慢性变应性接触性皮炎模型小鼠的耳部肿胀,具有一定的抗炎作用,并能降低胸腺指数及脾指数。

关键词 皮炎康颗粒;胸腺指数;脾指数

Study on Piyan Kang Granules Treating Mice with Chronic Allergic Contact Dermatitis

Liu Bin¹, Guan Xiaohong¹, Wang Xiaohui¹, Li Yuyao²

(1 Dermatology Department, Affiliated Hospital to Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;
2 No. 931 W. Philadelphia street, Ontario Christian High School, California 91762, USA)

Abstract Objective: To discuss the influence of Piyan Kang Granules on ear swelling, thymus index and spleen index of mice with allergic contact dermatitis (ACD). **Methods:** The mice ACD model was established with DNCB. There were Piyan Kang granules high dose group, middle dose group and low dose group, as well as Lomtadine high dose group, blank group and model group. The influence on weight difference of left and right ears, ear thickness, thymus index and spleen index were observed. **Results:** Compared with blank group, ear weight, ear thickness of mice in the model group were significantly increased, and there were significant differences between the two groups ($P < 0.05$); Piyan Kang granules in each dosage group and Lomtadine high dose group all showed reduction in ear weight, ear thickness, and there all were significant differences compared with the model group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$); compared with blank group, the thymus index and the spleen index of the mice in the model group were significantly increased, and there were significant differences between the two groups ($P < 0.01$); reduction of the thymus index and the spleen index were seen in Piyan Kang granules of each dosage group and Lomtadine high dose group, and there were all significant differences compared with the blank group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion:** Piyan Kang Granules can obviously improve the ear swelling of mice with DNCE-induced ACD and has anti-inflammation effect. It also can reduce the thymus index as well as the spleen index.

Key Words Piyan Kang Granules; Thymus index; Spleen index

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.09.030

皮炎康颗粒由炙黄芪、黄芩、黄柏、白芍、白术、当归、大黄、青蒿、生地、甘草等中药组成,具有清热利湿解毒、凉血疏风解痒、益气养血固表之功效,是我科临床协定方,长期应用于湿热及血虚证的急、慢性变应性接触性皮炎和急、亚急性、慢性湿疹的治疗并取得了比较满意的临床疗效。本实验通过观察皮炎康颗粒对小鼠慢性变应性接触性皮炎耳肿胀度、胸腺指数、脾指数的影响,为进一步临床应用提供了实验依据。

1 资料及方法

1.1 药物 皮炎康颗粒(含药材 2.55 g 生药/kg),由

辽宁中医药大学附属医院实验中心提供,批号:20110501。氯雷他定片,国药准字 H10970410,由上海先灵葆雅制药公司生产,批号 09JRXF1043,规格 10 mg/片,1 次/d,1 片/次。

1.2 动物 SPF 级雄性昆明种小鼠,体重 18 ~ 22 g,购自中国医科大学实验动物部,生产许可证号:SCXK(辽)2008-0005。于辽宁中医药大学附属医院实验中心饲养,许可证号:SYXK(辽)2007-0010。实验室温度 20℃ ~ 23℃,湿度 50% ~ 60%。

1.3 试剂及仪器 2,4-二硝基氯苯(分析纯),天津

市津科精细化工研究所,批号:20070622;丙酮(分析纯),沈阳化学试剂厂;批号:0303011;大豆油,嘉里粮油有限公司生产,批号:20090522;娃哈哈纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司生产。YLS-Q4 耳肿打耳器,山东省医学科学院;电子数显卡尺,桂林广陆数字测控股份有限公司生产;FA2004 分析天平,由上海舜宇恒平科学仪器有限公司生产;TD10001 电子天平,浙江余姚金诺天平仪器有限公司。

2 方法

2.1 药品的配制方法 取皮炎康颗粒,用蒸馏水配制成所需的浓度,给药体积为小鼠 40 mL/kg。

2.2 剂量选择和分组 根据受试药临床使用的剂量和预试验的结果设定空白组、模型组、皮炎康颗粒高(4 倍等效量)、中(2 倍等效量)、低(等效量)3 个剂量组和氯雷他定片高剂量(4 倍量)组。

2.3 小鼠慢性 ACD 模型的建立^[1]及给药方法^[2] 取体重 18~22 g 的小鼠 60 只,随机分为 6 组,空白组、模型组、氯雷他定片组、皮炎康颗粒 4 倍量(58.73 g 生药/kg)组、2 倍量(29.47 g 生药/kg)组、1 倍量(14.73 g 生药/kg)组。每组 10 只,实验前 1 d,在小鼠背部去毛,面积约 4 cm²,实验当日各组(除空白组)于去毛区涂以 7% DNCB 液(丙酮/大豆油 = 4:1)100 μL 致敏 1 次。5 d 后涂 1% DNCB 丙酮液 5 μL 于小鼠右耳内侧激发,每隔 3 d 激发 1 次,左耳涂抹等量基质,空白组左右耳均涂抹等量的基质。分别于第 4 次激发后 72 h 处死小鼠。致敏前 1 d 各组按规定的剂量灌胃给药,空白组和模型组给予同体积蒸馏水,1 次/d,再于末次激发后 6 h 灌药。

2.4 取材方法 激发后 72 h,将动物颈椎离断处死,用游标卡尺测量小鼠耳中部厚度后立即剪下双侧耳廓备检。使用 0.8 cm 半径的金属耳肿打孔器在左右耳中部打孔,取相同大小的耳组织,用电子天平称重,计算左右耳重量差。完整摘取小鼠胸腺及脾,用电子天平测定其重量,分别以每 10 g 小鼠的脾重(mg)和胸腺重(mg)作为脾指数和胸腺指数。

3 结果

3.1 皮炎康颗粒对慢性 ACD 小鼠耳厚度差、重量差的影响 模型组与空白组相比耳重量差、耳厚度差均明显增加,与空白组相比,有统计学意义($P < 0.01$)。皮炎康颗粒各剂量组和氯雷他定片组均能减轻小鼠耳重量差、耳厚度差,与模型组相比,有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

3.2 皮炎康颗粒对慢性 ACD 小鼠胸腺指数、脾指数的影响 由表 2 可以看出,模型组与空白组相比胸腺

指数、脾指数均明显增加,与空白组相比,有统计学意义($P < 0.01$)。皮炎康各剂量组和氯雷他定片组均能降低小鼠胸腺指数、脾指数,与模型组相比,有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 1 皮炎康颗粒对慢性 ACD 模型小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	动物 数	耳重量差 (mg)	耳厚度差 (mm)
空白组	—	10	0.68 ± 0.85	0.007 ± 0.016
模型组	—	10	7.65 ± 4.74 ^{△△}	0.131 ± 0.073 ^{△△}
氯雷他定片	0.0052	10	1.97 ± 0.82 ^{**}	0.040 ± 0.023 ^{**}
皮炎康颗粒 4 倍组	58.93	10	1.84 ± 0.67 [*]	0.033 ± 0.030 ^{**}
皮炎康颗粒 2 倍组	29.47	10	2.59 ± 1.31 [*]	0.042 ± 0.030 ^{**}
皮炎康颗粒 1 倍组	14.73	10	3.92 ± 2.38 [*]	0.056 ± 0.042 [*]

注:与模型组相比有统计学意义(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$);与空白组比较有统计学意义($\Delta\Delta P < 0.01$)。

表 2 皮炎康颗粒对慢性 ACD 模型小鼠脏器指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	动物 数	胸腺指数 (mg/10 g)	脾指数 (mg/10 g)
空白组	—	10	12.89 ± 2.66	22.20 ± 3.19
模型组	—	10	18.64 ± 4.64 ^{△△}	35.69 ± 8.11 ^{△△}
氯雷他定片	0.0052	10	13.13 ± 1.28 ^{**}	25.52 ± 2.58 ^{**}
皮炎康颗粒 4 倍组	58.93	10	12.85 ± 1.16 ^{**}	25.37 ± 2.69 ^{**}
皮炎康颗粒 2 倍组	29.47	10	13.82 ± 1.76 [*]	27.22 ± 3.98 [*]
皮炎康颗粒 1 倍组	14.73	10	14.47 ± 2.46 [*]	28.51 ± 6.19 [*]

注:与模型组相比,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与空白组相比, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

4 讨论

ACD 是机体经皮肤接受抗原刺激后当再次接触相同抗原时发生以皮肤损害为主要特征的 IV 型变态反应^[3-4],导致以单核细胞浸润为主,变性坏死为特征的炎症反应^[5]。ACD 发生的机理是针对皮肤接触性变应原发生的迟发型超敏反应,多数由 Th1 型 CD4⁺T 细胞激活活化效应细胞和分泌细胞因子,介导的炎症反应^[6]。ACD 接触部位甚至以外的部位表现为红斑、水肿、水疱甚至大疱^[7]。胸腺及脾是重要的免疫器官,机体发生超敏反应的同时脾脏、胸腺肿大,重量增加。脾指数、胸腺指数可衡量药物对免疫器官的抑制作用^[8]。而动物实验一般又常以鼠左右耳厚度和质量差值作为衡量炎症反应轻重程度指标。随着科学技术的提高,工业化的发展,出现了许多新的过敏原,接触性皮炎和湿疹发病率都呈逐渐上升的趋势。目前抗组胺药广泛应用于过敏性疾病的治疗,但由于其作用机制主要对 I 型超敏反应有着良好拮抗作用,治疗 IV 型变态反应效果不理想。虽有文献报道新一代抗组胺药物在体外呈现良好抗炎,抑制细胞的趋化以及对细胞介质的抑制作用,但是往往其浓度达到目前所应用的体内药物浓度数百倍以上^[9]。传统医学对慢性变应性接触性皮

炎和慢性湿疹的治疗有着大量临床实践和经验积累^[10-11],特别是对中药的有效成分的研究显示,其可作用于过敏反应不同环节^[12-16]。皮炎康颗粒作为科内临床协定方长期用于上述疾病的治疗并取得了比较满意的临床疗效。此方由黄芪、黄芩、黄柏、白芍、白术、当归、大黄、青蒿、生地黄、甘草等组成。方中黄芩、黄柏、大黄、青蒿、生地黄、牡丹皮、白鲜皮清热利湿,凉血疏风;而黄芪、白芍、白术、当归健脾利湿,养血益气,固表御邪;甘草调和诸药。目前慢性变应性接触性皮炎、慢性湿疹的现代医学治疗是以抗炎、抗组胺为主要方法,同时可配以免疫调节治疗。本方的治疗原则与现代医学治疗方法有相通之处,既清热利湿、凉血疏风,亦养血益气、固表御邪。本动物实验研究结果表明,皮炎康颗粒可改善 DNCB 引起的慢性变应性接触性皮炎模型小鼠的耳部肿胀,具有一定的抗炎作用,同时可降低小鼠胸腺、脾指数。

参考文献

[1]李敏.疏风饮对变应性接触性皮炎小鼠脾指数、胸腺指数及 IFN- γ 与 IL-4 分泌的影响[J].实用中医内科杂志,2011,25(1):24-25.
 [2]郝光荣.实验动物学[M].2版,上海,第二军医大学出版社,2002:276.
 [3]Bradley J, McCluskey J. Clinical Immunology[M]. Chapter 16. Oxford: Oxford University Press, 1997:330-348.
 [4]Abbas AK. Cellular and molecular immunology[M]. 3rd ed. Chaper 14 Philadelphia: W. B. Saunders company, 1997:301-308.

[5]陈妍,郭在培.变应性接触性皮炎的原位免疫学研究[J].华西医学,2006,21(1):217-218.
 [6]Sehimi T, Abe R, Nishihara J, et al. Impaired contact hypersensitivity in macrophage migration inhibitory factor-deficient mice. Eur J Immunol, 2003,33:1478-1487.
 [7]赵辨.中国临床皮肤病学[M].南京:江苏科学出版社,2009:717-718.
 [8]梁秀宇.消风散对变应性接触性皮炎抑制作用及其免疫学机制实验研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2007.
 [9]Walsh GM, Annunziato L, Frossard N, et al. New insights into the second generation antihistaminics[J]. Drugs, 2001,61:207-236.
 [10]杨宝华,陈德宇,肖顺汉.消风胶囊对小鼠迟发型超敏反应的影响及其作用机理研究[J].中国中西医结合皮肤性病学期刊,2003,2(1):13-15.
 [11]杨宝华,陈德宇,肖顺汉.消风胶囊对小鼠迟发型超敏反应的影响及其作用机理研究[J].中国中西医结合皮肤性病学期刊,2003,2(1):13-15.
 [12]黄磷,吴铁,樊翌明.6种中药抑制二硝基氟苯所致小鼠接触性皮炎的实验研究[J].现代中西医结合杂志,2007,16(13):1756-1757.
 [13]韩春雷,陈学荣,马俊江.氧化苦参碱对大鼠变应性接触性皮炎药效学作用[J].北京医科大学学报,1996,28(1):59-61.
 [14]郝飞.甘草酸国外研究进展[J].中国药房,2001,12(8):500-502.
 [15]郑咏秋,魏伟,戴敏,等.木瓜总甙抑制小鼠接触性超敏反应及对胸腺 T 淋巴细胞亚型的调节作用[J].中国药理学通报,2004,20(9):1016-1020.
 [16]陈子珊,李庆生,淤泽博,等.防风与刺蒺藜抗过敏作用的试验研究[J].云南中医中药杂志,2003,24(4):30-32.

(2013-01-09 收稿)

(上接第 1087 页)

因此,食积因素可能通过影响机体 IgM 产生、IFN- γ 、IL-4 细胞因子水平,导致机体免疫系统发生失调,从而对机体免疫功能产生了影响,说明食积可能与对肺热证的发生、发展存在一定相关性。因此,食积因素可能通过影响小儿机体免疫功能,从而使小儿易于发生呼吸系统感染,本研究提示及时消除食积内因,对于呼吸系统感染性疾病易感人群可以起到防护的目的。

参考文献

[1]陈超,汪受传.“肺与大肠相表里”理论在儿科临证中的应用[J].中药学报,2006,34(6):43.
 [2]郭海,杨进,龚婕宁,等.莲花清瘟胶囊对流感病毒感染小鼠肺组织 γ -IFN 的影响[J].河南中医,2007,27(5):29.
 [3]刘敏,董建华,段蕴华.清肺饮对流感病毒感染小鼠免疫功能的调节作用[J].北京中医药大学学报,1998,21(6):21.
 [4]王上,于河,等小儿食积的研究进展[J].北京中医药大学学报:中医临床版,2011,18(3):41.
 [5]毕可恩,刘爱华,朱有名,等.食积小鼠模型免疫功能的实验研究[J].山东中医学院学报,1991,15(4):48-50.

[6]李华玲.流行性感冒病毒诱导细胞凋亡的研究进展综述[J].国外医学临床生物化学与检验学分册,2001,22(2):85-87.
 [7]Mori I, Komatsu T, Takeuchi K, et al. In vivo induction of apoptosis by influenza virus[J]. J Gen Virol, 1995,76(11):2869-2873.
 [8]黄隽敏,徐爱晖,王明丽,等.合肥地区成人急性上呼吸道感染患者血清 IgM 测定[J].安徽医科大学学报,2008,43(1):114.
 [9]黎清交,曾素萍,黎昌茂,等.白细胞、C 反应蛋白和免疫球蛋白检测在小儿肺炎中的运用[J].山东医药,2010,50(9):65-66.
 [10]LU J, YE HP, LOU JT, et al. Application of C-reactive Protein in children Patients[J]. Shanghai Journal of Medical Laboratory Sciences, 1999,14(5):266.
 [11]LU J, YE HP, ZHANG ZJ, et al. Observation of infant Pneumonia secretion type IgA content and full body immune state[J]. Journal of Practical Pediatrics, 1991,(6):20-21.
 [12]传兵.支气管肺炎患儿治疗前后血清 SIL-2R 和 T 淋巴细胞亚群的水平探讨[J].放射免疫学杂志,2005,18(5):401-402.
 [13]靳文学,杨宇.从粘膜免疫系统看“肺与大肠相表里”[J].四川中医,2005,23(12):1-2.

(2012-12-27 收稿)