

“消银解毒饮”对银屑病血热证外周血淋巴细胞调控作用研究

张凯辉¹ 段行武²

(1 北京中医药大学东直门医院东区皮肤科,北京,101100; 2 北京中医药大学东直门医院皮肤科,北京,100007)

摘要 目的:观察正常人及银屑病患者应用消银解毒饮治疗前后外周血 T 淋巴细胞及共刺激因子表达的变化,探讨“消银解毒饮”对银屑病血热证外周血淋巴细胞调控作用。方法:治疗组给予连续 8 周消银解毒饮治疗,用流式细胞术检测,与对照组相互比较外周血 T 细胞亚群及共同刺激分子 CD28、CD80、CD86 的表达情况。结果:治疗组治疗后皮损评分降低;治疗前后与正常人相比 CD3⁺、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 降低,CD8⁺ 细胞升高;CD28 疗前高于、疗后低于正常组;CD86 治疗前后均明显高于正常组;CD80 正常组与治疗前均无明显统计学意义,治疗后有下降的趋势。治疗组治疗前、后外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 和共刺激因子 CD28、CD80、CD86 均无明显的统计学意义。结论:消银解毒饮临床疗效肯定;银屑病患者外周血 T 细胞亚群及共刺激因子的表达存在异常;患者临床症状的好转与外周血 T 细胞亚群及共刺激因子表达的改变是否平行相关尚不确定。

关键词 消银解毒饮;银屑病血热证;T 淋巴细胞;共刺激因子

Study on Regulation Role of Xiaoyinjiedu Drink on Peripheral Blood T-lymphocytes in Blood-heat Syndrome of Psoriasis Patients

Zhang Kaihui¹, Duan Xingwu²

(1 Dermatology of Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 101100, China;

2 Dermatology of Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100007, China)

Abstract Objective: To explore the regulation role of Xiaoyinjiedu drink on peripheral blood T-lymphocytes in blood-heat syndrome of Ps (Psoriasis) patients by observing peripheral blood T lymphocytes and the expression of co-stimulatory factor changes of normal and Psoriasis patients, who received Xiaoyinjiedu Drink. **Methods:** Treatment group was given 8 weeks of medication, using flow cytometry, while comparison was made to the control group in terms of Peripheral Blood T-lymphocytes and Co-stimulatory factor CD28, CD80, CD86. **Results:** The treatment group's lesion scores decreased after treatment; CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ is reduced when compared with normal group before and after treatment; CD28 was higher than the normal group before treatment, but lower than normal group after treatment; CD86 was significantly higher than the normal group before and after treatment; There was no significant difference between the normal group and treatment before, but after treatment there was a downward trend in CD80. There was no significant difference in the peripheral T-lymphocytes CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ and Co-stimulatory factor CD28, CD80, CD86 before and after treatment in the treatment group. **Conclusion:** Xiaoyinjiedu Drink has positive clinical effect. Psoriasis patients' peripheral blood T-lymphocytes and Co-stimulatory factor have abnormal expression. It is uncertain whether the improvement of clinical symptoms of patients and the expression of T-lymphocytes and Co-stimulatory factor are parallel related.

Key Words Xiaoyinjiedu Drink; Blood-heat Syndrome of Ps; T-lymphocytes; Co-stimulatory factor

中图分类号:R243;R758.63 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.06.015

银屑病中医属“白疔”“松皮癣”“干癣”等范畴,是一种常见的慢性炎症性增生性皮肤病。关于其病机,《诸病源候论》最早记录为:“此由风湿邪气,客于膝理,复值寒湿,与血气相搏,则血气否涩,发次疾也。”由此看出,对本病的认识反映出内因(血气),外因(风、寒、湿)致病的学术思想。近现代医家多从“血热”“风燥”“热毒”等论治,认为本病以热为

主,病位在血分,血热是发病的关键因素和主要根源。关于其治疗原则,中医多从清热凉血、祛风养血、滋阴润燥等论证。自 20 世纪 90 年代初以来,对银屑病发病机制的研究取得了重大突破,人们逐渐认识到银屑病是多基因遗传背景和环境等多因素作用下的 T 细胞介导的免疫异常性疾病^[1]。一些针对 T 细胞的治疗,如应用抗 CD4 单克隆抗体、环孢素及

白介素融合毒素直接清除活性 T 细胞或抑制其活性,以及阻断细胞因子产生及其作用的发挥,均可有效治疗银屑病^[2],也提示了 T 细胞是银屑病免疫发病环节的主要介导者。

东直门医院皮肤科金起凤教授为全国中医药专家,依据其创立的经验方“消银解毒汤”而研制的“消银解毒饮”,由水牛角、牡丹皮、赤芍、金银花、蚤休、生甘草、全蝎等组成,功效为凉血清热,解毒熄风,已在本科临床应用多年,对银屑病血热证患者疗效肯定。本研究采用流式细胞术方法,通过比较银屑病患者治疗前后与正常对照组外周血 T 细胞亚群及共同刺激分子 CD28、CD80、CD86 的表达情况,探讨“消银解毒饮”对银屑病血热证外周血淋巴细胞调控作用。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 鼠抗人 FITC-CD4 (No:555346)、鼠抗人 PE-CD8 (No:555367)、鼠抗人 PE-Cy5-CD3 (No:555334)、鼠抗人 FITC-IgG1 (No:555748)、鼠抗人 FITC-CD28 (No:555728)、鼠抗人 FITC-CD80 (No:557226)、鼠抗人 FITC-CD86 (No:555657) 购于美国 BD 公司。流式细胞检测剂购于北京市晶美基因谷科技有限公司。FACS Calibur 型流式细胞仪为美国 BD 公司产品。

1.2 分组及检测方法 治疗组为 30 例进行期寻常型银屑病患者(经临床和部分病理确诊),根据《中药新药治疗白疔的临床研究指导原则》和顾伯康主编的《中医外科学》第 1 版,中医辨证符合寻常型银屑病血热证型^[3,4]。对照组为 20 例健康人,2 组在年龄、性别构成上无统计学意义。临床疗效评价以皮损情况的 PASI 评分为标准。治疗组给予消银解毒饮(东直门医院制剂室提供)100 mL/瓶,口服,每次 50 mL,2 次/d,连续用药 4 周为 1 个疗程,连续观察 2 个疗程。

流式细胞术检测治疗组治疗前、后以及 20 名健康自愿检查人员外周血中 T 细胞及共刺激因子的表达。治疗组治疗前、治疗组治疗后与对照组均抽取肘静脉血 2 mL,置于肝素抗凝管,2 h 内送检。测定 T 细胞亚群及淋巴细胞 CD28、CD80、CD86 的表达情况。

1.3 统计学方法 采用 SAS 8.0 软件统计数据,流式细胞仪分析的实验数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 治疗前后皮损 PASI 评分比较 经 *t* 检验可

得,30 例患者治疗前后皮损 PASI 评分显著下降,结果具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 患者治疗前后 PASI 评分比较($\bar{x} \pm s$)

治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i>
12.44 ± 8.37	4.11 ± 3.30	6.81	<0.01

2.2 治疗前后外周血 T 细胞亚群及共刺激因子检测结果比较 30 例患者外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值和共刺激因子 CD28、CD80、CD86 在治疗前后结果均无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表 2。

表 2 患者治疗前后外周血 T 细胞亚群及共刺激因子检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

	治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i>
CD3 ⁺	69.76 ± 7.31	66.54 ± 7.67	1.66	0.1
CD4 ⁺	33.87 ± 8.49	32.15 ± 6.64	0.87	0.38
CD8 ⁺	31.09 ± 6.81	29.57 ± 7.13	0.85	0.4
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.19 ± 0.57	1.19 ± 0.55	0.01	0.98
CD28	54.29 ± 9.59	53.84 ± 7.89	0.2	0.84
CD80	0.63 ± 0.29	0.58 ± 0.26	0.84	0.4
CD86	1.35 ± 0.7	2.29 ± 3.4	-1.47	0.15

2.3 治疗组治疗前与正常组外周血 T 细胞亚群及共刺激因子检测结果比较 30 例患者治疗前与 20 例对照组相比,CD4⁺ 治疗前明显低于正常组($P < 0.01$),CD8⁺ 治疗前明显高于正常组,CD4⁺/CD8⁺ 治疗前明显低于正常组,CD28 治疗前明显低于正常组,CD86 治疗前明显高于正常组,CD3⁺、CD8⁺ 正常组与治疗前均无明显统计学意义($P > 0.05$)。结果见表 3。

表 3 治疗组治疗前与对照组外周血 T 细胞亚群及共刺激因子检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

	治疗组治疗前	对照组	<i>t</i> 值	<i>P</i>
CD3 ⁺	69.76 ± 7.31	71.95 ± 6.1	-1.11	0.27
CD4 ⁺	33.87 ± 8.49	41.46 ± 6.88	-3.47	0.001
CD8 ⁺	31.09 ± 6.81	24.74 ± 4.91	3.83	0.000 4
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.19 ± 0.57	1.78 ± 0.61	-3.4	0.001 6
CD28	54.29 ± 9.59	59.85 ± 3.81	-2.85	0.006 8
CD80	0.63 ± 0.29	0.56 ± 0.29	0.88	0.38
CD86	1.35 ± 0.7	0.91 ± 0.39	2.84	0.006 6

2.4 治疗组治疗后与正常组外周血 T 细胞亚群及共刺激因子检测结果比较 30 例患者治疗后与正常组对比,CD3⁺ 与 CD4⁺ 治疗后低于正常组,CD8⁺ 治疗后高于正常组,CD4⁺/CD8⁺ 治疗后低于正常组,CD28 治疗后低于正常组,CD86 治疗后明显高于正常组,CD80 正常组与治疗组无统计学意义。结果见表 4。

表4 治疗组治疗后与对照组外周血 T 细胞亚群及共刺激因子检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

	治疗组治疗后	对照组	t 值	P
CD3 ⁺	66.54 ± 7.68	71.95 ± 6.1	-2.64	0.01
CD4 ⁺	32.15 ± 6.64	41.46 ± 6.88	-4.75	<0.01
CD8 ⁺	29.57 ± 7.13	24.74 ± 4.91	2.84	0.007
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.19 ± 0.55	1.78 ± 0.61	-3.44	0.001 4
CD28	53.84 ± 7.89	59.85 ± 3.81	-3.59	0.000 8
CD80	0.58 ± 0.26	0.56 ± 0.29	0.18	0.86
CD86	2.29 ± 3.41	0.91 ± 0.39	2.19	0.03

3 讨论

本研究结果显示,消银解毒饮对寻常型银屑病血热型治疗后皮损评分降低;患者治疗前后与正常人相比 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值降低,有统计学意义($P < 0.05$),而 CD8⁺ 细胞升高,有统计学意义($P < 0.05$)。CD28 治疗前高于正常组,而治疗后 CD28 低于正常组。CD86 治疗前后均明显高于正常组($P < 0.05$),CD80 正常组与治疗前均无明显统计学意义($P > 0.05$),但治疗后有下降的趋势($P < 0.05$)。30 例银屑病患者外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值和共刺激因子 CD28、CD80、CD86 在治疗前后结果均无明显的统计学意义($P > 0.05$)。

免疫学发病机制一直都是银屑病的研究热点。银屑病动物模型的建立及 T 淋巴细胞在真皮和表皮的浸润都有力证明了银屑病是一个由 T 淋巴细胞介导的自体免疫性疾病^[5]。现有研究证实,T 细胞活化是银屑病关键的发病机制,T 淋巴细胞通过信号刺激活化或通过非抗原依赖性方式活化,由活化后的 T 淋巴细胞通过特殊的方式或途径迁移至病变部位,活化的 T 淋巴细胞释放大量的细胞因子进而引发角质形成细胞的过度表达及异常分化。

关于银屑病外周血与皮损中的 T 细胞亚群的研究提示,银屑病的外周血 T 淋巴细胞处于活化状态,而抗原提呈细胞的活性增高可激活细胞免疫的发生,天然杀伤细胞与银屑病的发病也有一定关系。韩义香^[6]等对银屑病患者外周血 T 细胞及其亚群的研究显示,银屑病患者外周血 CD3⁺、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值显著降低,而 CD8⁺ 细胞升高,提示银屑病患者 Th 细胞明显减少,可能为循环中的 T 细胞浸润到银屑病皮损内或 T 细胞在干细胞水平即有损伤引起。Ferenczi^[7]的研究也显示银屑病患者外周血中 CD4⁺ T 细胞比例远低于正常人,而 CD8⁺ T 细胞比例远高于正常人,T 细胞亚群 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的比例失衡、细胞免疫状态的改变影响

着银屑病皮损的发生和发展,显示 T 淋巴细胞在银屑病的发病过程中确实起到重要的作用。

CD4⁺ T 细胞是最主要的免疫调节细胞,包括 Th1 和 Th2,分别介导细胞免疫应答和体液免疫应答。本实验显示外周血 CD4⁺ 细胞上 CD80、CD86 及 T 细胞 CD28 表达跟正常对照组相比明显上调,且与病情严重程度呈正相关。Nickoloff^[8] 研究显示,CD80、CD86 在正常人表皮和真皮内不表达或少表达,在银屑病皮损中有较强的表达,相对正常皮肤均有明显的上调,CD28、CD80、CD86 是免疫网络中主要的效应分子,CD28 与 APC 表面的 CD86 结合产生的共刺激信号,诱导其他共刺激分子的表达,相互作用进一步上调 T 细胞活性,放大 T 细胞的免疫效应。Gottlieb^[9]报道用单剂量 IDEC_114(一种抗 CD80 单抗)治疗 24 例中、重度慢性斑块型银屑病,结果斑块变平,皮损内 T 细胞数目下降。

东直门医院皮肤科对消银解毒饮治疗银屑病的前期研究显示,瞿幸^[10]等用消银解毒饮治疗银屑病血热证,对照组则服用复方青黛胶囊,治疗 8 周后的结果显示皮损 PASI 积分治疗组显著低于对照组,综合疗效、总显效率治疗组明显高于对照组,有统计学意义。段行武^[11]的实验研究表明,消银解毒饮除通过免疫调节而发挥其治疗作用外,还可通过对角质形成细胞过度增殖的直接抑制及诱导其凋亡,抑制真皮微血管的异常增生而发挥治疗作用。

研究表明,消银解毒饮治疗银屑病血热证,使患者皮损症状减轻,临床疗效显著;银屑病患者与正常人比较,外周血 T 细胞亚群及共刺激因子的表达存在异常,提示银屑病有可能是一种 T 细胞介导的疾病,银屑病患者存在细胞免疫的异常。本次实验银屑病患者服用消银解毒饮治疗 8 周后外周血 T 细胞亚群及共刺激因子的表达未出现明显变化,故未表明银屑病患者治疗 8 周后临床症状的好转与外周血 T 细胞亚群及共刺激因子表达情况的改善是否存在平行相关性。消银解毒饮对银屑病患者外周血 T 细胞亚群及共刺激因子表达的调节作用有待于更进一步的研究。

参考文献

- [1] Lowes MA, Lew W, Krueger JG. Current concepts in the immunopathogenesis of psoriasis[J]. Dermatol Clin, 2004, 22 (4): 34 - 369.
- [2] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2002:299.
- [3] 顾伯康. 中医外科学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:149.

子宫内膜中的 EMAb 的变化具有一致性,故笔者大胆突出结论:血清途径可准确体现子宫内膜异位症患者 EMAb 的变化,减少患者接受腹腔镜在生理上及心理上的负担,不失为一种简单、快捷、准确、安全的措施。

中医学认为子宫内膜异位症属于“痛经”“月经病”“不孕”等范畴,其病因主要有以下几点^[13-15]:

1) 冲任伏热,真阴不足;2) 阴虚火旺,不能摄精血;3) 湿痰闭塞子宫;4) 血瘀积血闭塞子宫。其发病与肝肾脾三脏密切相关。本研究使用蠲痛饮加减方进行治疗,发现加用中药治疗的观察组患者在缓解月经疼痛、降低 EMAb 方面均具有较为明显的优势,方中当归、赤芍、川芎、田七、赤芍共奏活血化瘀、通经止痛的功效,鸡血藤入肝肾两经,在辅助活血药化瘀作用的同时起到补血作用,龙血竭活血散瘀,定痛止血,使用于本方可达到活血兼止痛的目的。茯苓、白术、泽泻联合使用起到健脾泄热化瘀的作用,炙甘草具有缓急止痛,调节诸药的作用。纵观方中各类药物在承接了古典方蠲痛饮活血化瘀止痛的基础上又强化了化瘀健脾、温肾行气的功效,将健脾祛湿和活血化瘀止痛药灵活应用。现代药理学研究发现,蠲痛饮具有抗炎、镇痛、促排卵的作用,所以笔者相信,本方不但可以缓解子宫内膜异位症患者的痛经症状,其在治疗该病导致的不孕亦存在效果。在研究过程中,观察组和对照组均有轻微不良反应发生,笔者发现上述不良反应均属于孕三烯酮所引起的不良反应,所以蠲痛饮加减方仍应属于一种安全性高的治疗手段。

综上所述,子宫内膜异位症继发性痛经的发病机制与 EmAb 密切相关,而蠲痛饮加减方可以部分逆转该疾病的发展,从而改善患者预后。考虑可能此次入选样本量较小有关,随访时间不长等,故有待于增加样本量,进一步扩大研究予以证实蠲痛饮对

于改善子宫内膜异位症继发性痛经患者的预后及确切机制,为指导临床治疗提供参考价值。

参考文献

[1] Wang Z, Nie Z, Chen W, et al. RNF115/BCA2 E3 ubiquitin ligase promotes breast cancer cell proliferation through targeting p21 (Waf1/Cip1) for ubiquitin-mediated degradation [J]. Neoplasia, 2013, 15 (9):1028-1035.

[2] 罗元恺. 实用中医妇科学[M]. 7版. 上海:上海科学技术出版社, 2010:53.

[3] 段清珍, 江希萍. 加减薏苡附子败酱汤合抵当汤治疗子宫内膜异位症的疗效观察[J]. 四川中医, 2012, 11(10):23.

[4] 许丽华. EmAb、CA-12、TNF-α与子宫内膜异位症的相关性[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(28):51.

[5] 朱小凤, 蒋凤艳. 血清 CA125、EmAb 在子宫内膜异位症中的作用[J]. 中外医疗, 2010, 18(10):1-4.

[6] 张治宁, 丁永慧, 于黎明. 子宫内膜异位症患者血清及联合测定的诊断价值[J]. 宁夏医学院学报, 2011, 23(3):188-190.

[7] 施晓, 章波儿, 唐禹馨, 等. 血清 CA125 与抗子宫内膜抗体联合检测诊断子宫内膜异位症[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 9(6):346-347.

[8] 王静雯. 子宫内膜异位症患者细胞免疫功能测定及其发病因素探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 11(2):49-50.

[9] 朱小凤, 蒋凤艳. 血清 CA125、EMAb 在子宫内膜异位症中的作用[J]. 中外医疗, 2010, 29(18):1.

[10] 董跃兰, 李丰良, 袁涛, 等. EMAb、CA125、TNF、ACL 与子宫内膜异位症相关性研究[J]. 医学研究通讯, 2013, 32(8):33.

[11] 马小兰, 徐正安. 血清 EMAb 和 CA125 水平对子宫内膜异位症诊断价值的探讨[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(11):20.

[12] 杜海燕, 宋芳, 张琳. TNF-α及 VEGF 在子宫内膜异位症中的表达研究[J]. 中国妇幼保健研究, 2010, 21(6):756.

[13] 刘朵朵. 子宫内膜异位症患者腹腔液及血清 VEGF、TNF 测定临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2010, 39(4):448.

[14] 刘桂兰, 赵铭宇, 韩丽, 等. 从《内经·养生篇》理论分析子宫内膜异位症免疫下调的病因病机[J]. 中国医学创新, 2014, 7(2):109-110.

[15] 陈文萍, 黄晓东, 付清梅. 血清与腹腔液 CA125 测定对子宫内膜异位症的诊断价值[J]. 广东医学, 2009, 30(1):103.

(2014-09-10 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第 864 页)

[4] Gordon KB, McCormick TS. Evolution of biologic therapies for the treatment of psoriasis[J]. Skinned, 2003 Sep-Oct, 2(5):286-94.

[5] Braddock M. Editorial: bio-markers as tools for discovery of new psoriasis therapies[J]. Curr Drug Discov Technol, 2012 Mar, 9(1):1.

[6] 韩义香, 杨毅, 章圣辉, 等. 银屑病外周血 T 细胞亚群及 B7/CD28 的表达. 中国麻风皮肤病杂志, 2007, 23(10):908-909.

[7] Ferenczi K, Burack L, Pope M, et al. CD69, HLA-DR and the IL-2R identify persistently activated T cells in psoriasis vulgaris lesional skin; blood and skin comparisons by flow cytometry [J]. J Autoimmun, 2000 Feb, 14(1):63-78.

[8] Nickoloff B J, Mitra R S, Lee K et al. Discordant expression of CD28 ligands, BB-1 and B7 on keratinocytes in vitro and psoriatic; cells in vivo. Am J Pathol, 1993 Apr; 142(4):1029-40.

[9] Gottlieb AB, Lebwohl M, Totoritis MC, et al. Clinical and histologic response to single-dose treatment of moderate to severe psoriasis with an anti-CD80 monoclonal antibody. J Am Acad Dermatol. 2002 Nov, 47(5):692-700.

[10] 瞿幸, 张晓红. 消银解毒饮治疗银屑病血热证 85 例临床研究[J]. 中医杂志, 2001, 42(2):103-104.

[11] 段行武. 消银解毒饮治疗寻常型银屑病的细胞生物学研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2007.

(2014-11-04 收稿 责任编辑:徐颖)