

丹槐银屑浓缩丸联合阿维 A 对银屑病患者 VEGF 及受体 FLT-1、KDR 表达的影响

张 霞 康晓晶 陈少秀 缪泽群 王 恒

(十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院)皮肤科,十堰,442000)

摘要 目的:观察丹槐银屑浓缩丸联合阿维 A 对银屑病血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growthfactor, VEGF)及其受体 1(Fms related Tyrosine-1, FLT-1)、受体 2(Kinase Insert Domain-containing Receptor, KDR)表达的影响。方法:回顾性调查十堰市太和医院皮肤科 2014 年 1 月以前收治的 102 例银屑病为对照组,按入院先后将 2014 年 2 月至 2015 年 2 月收治的 306 例银屑病病例分为丹槐组、阿维 A 组、联合治疗组。对照组采用免疫调节、皮质类固醇激素等药物对症治疗,阿维 A 组在对照组治疗基础上皮损表皮涂抹阿维 A 软膏,丹槐组在对照组治疗基础上加服丹槐银屑浓缩丸,联合治疗组同时加用阿维 A 及丹槐银屑浓缩丸。检测治疗前后表皮病变组织 VEGF 蛋白及 VEGF-mRNA 表达,VEGF、FLT-1、KDR、表皮变组织真皮乳头血管密度(Skin Tissue Dermal Papillary Vascular Density, MVD),静脉血 T 淋巴细胞,并比较临床疗效。结果:联合治疗组总有效率达 83.79%,VEGF 蛋白质及 mRNA、FLT-1、KDR、MVD 表达均及 T 淋巴细胞明显降低,与阿维 A 及丹槐组比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论:丹槐银屑浓缩丸可降低 VEGF 过度表达,阻断 VEGF 与其受体结合,抑制病变组织皮下血管新生、重建,进而降低真皮乳头微血管的异常增生,阿维 A 抑制 T 细胞增殖介导的炎症反应,减轻银屑病的病理改变,两药联合应用起到协同作用,可增强疗效。

关键词 丹槐银屑浓缩丸;银屑病;血管内皮生长因子;受体;真皮乳头血管密度

Effect of Danhuai Yinxue Concentrated Pill Combined with Acitretin on Expression of VEGF and Receptor FLT-1 and KDR in Patients with Psoriasis

Zhang Xia, Kang Xiaojing, Chen Shaoxiu, Miu Zequn, Wang Heng

(Dermatological Department, Shiyan Taihe Hospital, Shiyan 442000, China)

Abstract Objective: To observe the effect of Danhuai Yinxue Concentrated Pill combined with acitretin on expression of vascular endothelial growth factor(VEGF) and its receptor(FLT-1, KDR) of patients with psoriasis. **Methods:** A retrospective investigation for 102 cases in dermatological department of Shiyan Taihe Hospital before January 1, 2014 was conducted as control group. Three hundred and six patients who received treatment in the hospital from February 2014 to February 2015 were collected and divided into Danhuai group, acitretin group, and joint treatment group. Patients in the control group were treated by immune regulative drugs or corticosteroids. Patients in acitretin group additionally adopted acitretin ointment on damaged skin, while patients in Danhuai group additionally adopted Danhuai Yinxue Concentrated Pill, compared with the control group. The joint treatment group applied acitretin ointment and Danhuai Yinxue Concentrated Pill, in addition to treatment for the control group. The expression of VEGF protein and VEGF mRNA, VEGF receptor, FLT-1 and KDR, skin tissue dermal papillary vascular density(MVD), venous blood T lymphocyte were detected and compared before and after the treatment. The clinical curative effects of all the groups were observed. **Results:** The total effective rate of the joint treatment group was 83.79%, and the VEGF protein and mRNA, FLT 1 and KDR and MVD expression and T lymphocytes significantly decreased, compared with acitretin group and Danhuai group(all $P < 0.05$). The difference showed statistical significance. **Conclusion:** Danhuai Yinxue Concentrated Pill may reduce excessive VEGF expression, block the connection between VEGF and its receptors, inhibit subcutaneous angiogenesis and reconstruction of damaged tissue to reduce the abnormal growths of dermal papilla capillaries. Acitretin may suppress inflammatory reaction induced by T cells proliferation, reduce the pathological changes in patients with psoriasis. The combination of Danhuai Yinxue Concentrated Pill and Acitretin has synergistic effects and enhance curative effects.

Key Words Danhuai Yinxue Concentrated Pill; Psoriasis; Vascular endothelial growth factor; Receptor; Dermal papillary vascular density

中图分类号:R275.9 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.11.022

银屑病(俗称牛皮癣),又称“白疙”,以血燥、血热、血瘀 3 种证型为主,中医认为银屑病系外邪化热

入血而发病,且其血瘀、血热、血燥病症并存乃现风热湿之象^[1-2]。银屑病的发病机制目前尚无定论,目前多数学者倾向于银屑病是由自分泌型血管通透性因子 VEGF 增多造成,VEGF 是一种高度特异性的促血管生长因子,具有促进多种血管活性物质合成、血管内皮细胞增殖迁移及再生的功能^[3]。在正常情况下、机体 VEGF 及其受体 HIT-1、KDR 维持着动态平衡,血管内皮及功能保持正常。当机体抵抗力下降、免疫异常、炎性反应刺激、尤其是出现激反应时,可能破坏 VEGF 及其受体 HIT-1、KDR 之间的平衡关系,VEGF 及其受体 HIT-1、KDR 均出现过度表达。刺激真皮乳头微血管的异常增生进而加重银屑病发生发展,导致严重皮损。亦有学者认为银屑病是由 T 淋巴细胞介导,T 淋巴细胞的异常增殖常导致红斑鳞屑性皮肤病^[4],故而本研究重点以 VEGF 以其受体 HIT-1、KDR 分布的相关性来研究丹槐银屑浓缩丸联合阿维 A 治疗银屑病的机制,以期为临床治疗银屑病提供理想的综合治疗方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 2 月至 2015 年 1 月我院皮肤科 2014 年 2 月至 2015 年 2 月收治的 306 例银屑病病例按入院先后分丹槐组、阿维 A 组、联合治疗组,每组 102 例。并对我院 2013 年 2 月以前收治的 102 例银屑病病例做回顾性调查,以此 102 例为对照组。对照组患者中,男 49 例、女 53 例,年龄 19~89 岁,病程 1~44 年。阿维 A 组男 50 例、女 52 例,年龄 17~88 岁,病程 1.2~42 年。丹槐组男 51 例、女 51 例,年龄 18~89 岁,病程 1.1~43 年。联合治疗组男 50 例、女 52 例,年龄 19~87 岁,病程 1~45 年。4 组病例在性别、年龄、病程等方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。均签署知情同意书,同意接受本科室各种治疗方法。

1.2 诊断标准 诊断时根据患者临床表现、流行病学特征并结合实验室检查进行鉴别诊断。可参照参照《皮肤性病学》^[5]银屑病的诊断标准,符合下列任一项的均可诊断为银屑病:1)患者 Auspitz 征阳性、皮损均具有典型的点状出血及薄膜现象;2)皮损真菌镜检阴性,病理检查患者表皮角化过度或角化不全,真皮乳头上延、表皮颗粒层减少且表皮突下延,棘层肥厚,粒细胞聚集于角质层内或下而形成 Munro 小脓疱,淋巴细胞浸润真皮浅层血管;3)患者治疗前 1 个月内未应用免疫抑制剂、丹槐银屑浓缩丸、阿维 A、皮质类固醇激素等药物,患者梅毒血清检查

RPR、TPPA 阴性,血尿常规检查 HIV 初筛试验阴性,电解质、肝肾功能检查均正常。

1.3 治疗方案 在本病案中,根据病案回顾调查,对照组基础治疗以免疫调节、皮质类固醇激素等药物并抗炎保肝和对症治疗为主,以低盐、低脂肪饮食,禁烟,酒治疗为辅。丹槐组在对照组治疗础上加用丹槐银屑浓缩丸(黑龙江省中医研究院医院研制,规格:1 g/丸,批号:090801);阿维 A 组在对照组治疗础上于病损表皮涂抹阿维 A 软膏(重庆华邦制药有限公司,10 mg,批号:20010126);联合治疗组合用丹槐银屑浓缩丸及阿维 A 软膏,4 组病例疗程均为 21 d。

1.4 疗效标准 参照国家中医药管理局《中医病证诊断疗效标准》中的相关疗效标准^[6]。治愈:皮疹完全消退或 95% 以上;显效:银屑病皮疹消退 60%~95%;好转:银屑病皮疹消退在 30% 以上但不到 60%;无效:皮疹未消退或不足 30%;治愈率 = 治愈例数/总例数 $\times 100\%$,总有效率 = (治愈例数 + 有效例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 检测指标 参照文献报道^[7],于治疗前后分别静脉取血常规测 T 淋巴细胞。分别取患者银屑病样皮损部位组织,暂存至 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存以备 VEGF 蛋白分析。采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定各组患者银屑病样皮损部位组织 VEGF、VFLT-1、KDR 蛋白表达的光密度(Optical Density, OD)OD 值。检测时将标本研磨,3 000 r/min 离心 30 min,取上清液(待测样本),将标准品、待测样本加入到预先包被的 VEGF 单克隆抗体透明酶标包被板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 30 min,洗涤后再加入酶标工作液,再于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下温育 30 min 后洗涤除去未结合的成分,依次加入底物 A、B,底物在辣根过氧化物酶催化下转化为蓝色产物,在酸的作用下变成黄色,颜色的深浅与样品 VEGF 浓度呈正比,用 SP-Max 3500FL 型多功能荧光酶标仪于 450 nm 波长下测定 VEGF 的 OD 值,对各组标本进行 RNA 提取,采用反转录-聚合酶链反应(Rreverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)测定患者 VEGF-mRNA 表达水平,VEGF 共调节趋化因子 1(VCC1)ELISA 试剂盒(厂家:上海酶联生物科技有限公司,批号:mi021457),提取 mRNA 试剂及反转录试剂(美国 Invitrogen 公司)。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,实验数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,对于 2 组间的均数检验采用多因素方差分析,组间构成比差异检

验采用 χ^2 检验,相应的多因素分析分别采用双向方差 Cmh χ^2 检验,两两比较采用 *LSD-t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组患者皮损观察 4 组患者治疗前均有不同程度的皮损,病理检查其表皮角质层过度角化,钉突延长且棘层变厚,真皮层有中重度炎细胞浸润现象,角质层内有脓肿及血管炎等银屑病性改变。在治疗 21 d 后,对照组皮损面积减轻,但部分患者仍有角化现象,钉突及脓肿,表皮毛血管炎等明显减轻但未完全痊愈。丹槐组疗效优于对照组。阳性药阿维 A 组皮损基本消失,无角化现象,钉突及脓肿基本消退。联合治疗组较优于阿维 A 组临床表现,皮损消失,无角化现象,钉突及脓肿完全消退。

2.2 4 组病例疗效比较 对照组总有效率为 62.74%,丹槐组及阿维 A 组总有效率分别为 73.52%、80.39%,与对照组比较($P < 0.05$),但 2 组间比较($P > 0.05$)。联合治疗组总有效率达 91.17%,与对照组、丹槐组及阿维 A 组组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 4 组病例疗效比较($n = 102, \bar{x} \pm s$)

组别	治愈(%)	显效(%)	有效(%)	无效(%)	总有效率(%)
对照组	36(35.29)	28(27.45)	20(19.60)	18(17.64)	62.74
丹槐组	40(39.21)	35(34.31)	14(13.72)	13(12.74)	73.52*
阿维 A 组	44(43.13)	38(37.25)	11(10.78)	9(8.82)	80.39*
联合治疗组	50(49.01)* $\Delta\Delta$	43(42.15)* $\Delta\Delta$	6(5.88)	3(2.94)* $\Delta\Delta$	91.17* $\Delta\Delta$

注:与对照组比较* $P < 0.05$;与丹槐组比较 $\Delta P < 0.05$;与阿维 A 组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

表 2 4 组患者皮损组织 VEGF、VEGFmRNA 表达及 T 淋巴细胞增殖比较($n = 102, \bar{x} \pm s$)

组别	VEGF(pg/mL)		VEGFmRNA(pg/mL)		T 淋巴细胞	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	150.42 $\pm$ 10.21	115.97 $\pm$ 7.33	1.85 $\pm$ 0.11	1.54 $\pm$ 0.10	102.82 $\pm$ 10.11	97.74 $\pm$ 9.18
丹槐组	152.01 $\pm$ 11.82	96.23 $\pm$ 8.01* Δ	1.87 $\pm$ 0.12	0.89 $\pm$ 0.11* Δ	107.82 $\pm$ 10.45	92.74 $\pm$ 7.11
阿维 A 组	150.54 $\pm$ 10.33	109.37 $\pm$ 8.15	1.79 $\pm$ 0.10	1.51 $\pm$ 0.08	105.77 $\pm$ 9.19	85.64 $\pm$ 7.08 $\Delta\Delta$
联合治疗组	151.59 $\pm$ 10.70	76.65 $\pm$ 6.15 $\Delta\Delta\Box$	1.84 $\pm$ 0.09	0.60 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta\Box$	104.85 $\pm$ 9.09	71.21 $\pm$ 6.42 $\Delta\Delta\Box$

注:与治疗前比较* $P < 0.05$;与对照组比较 $\Delta P < 0.05$;与丹槐组比较 $\Delta P < 0.05$;与阿维 A 组比较, $\Box P < 0.05$ 。

表 3 4 组患者皮损组织 HIT-1、KDR 及 MVD 比较($n = 102, \bar{x} \pm s$)

组别	HIT-1(pg/mL)		KDR(pg/mL)		MDV(pg/mL)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	6.18 $\pm$ 0.29	5.92 $\pm$ 0.30	5.89 $\pm$ 0.19	5.79 $\pm$ 0.27	18.45 $\pm$ 2.36	9.45 $\pm$ 1.05
丹槐组	6.64 $\pm$ 0.23	3.97 $\pm$ 0.20* Δ	5.85 $\pm$ 0.22	3.64 $\pm$ 0.13* Δ	19.39 $\pm$ 2.61	7.01 $\pm$ 0.62
阿维 A 组	6.29 $\pm$ 0.33	5.94 $\pm$ 0.33	6.00 $\pm$ 0.24	5.70 $\pm$ 0.23	18.59 $\pm$ 2.57	6.83 $\pm$ 2.21 $\Delta\Delta$
联合治疗组	6.18 $\pm$ 0.31	2.54 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta\Box$	5.99 $\pm$ 0.23	2.77 $\pm$ 0.19 $\Delta\Delta\Box$	18.42 $\pm$ 2.31	4.12 $\pm$ 1.97 $\Delta\Delta\Box$

注:与治疗前比较* $P < 0.05$;与对照组比较 $\Delta P < 0.05$;与丹槐组比较 $\Delta P < 0.05$;与阿维 A 组比较, $\Box P < 0.05$ 。

3 讨论

银屑病是一种慢性炎性反应性皮肤病,具有顽固性、泛发性、易复发性的特点,发病多与遗传、链球

2.3 4 组患者皮损组织 VEGF、VEGFmRNA 表达及 T 淋巴细胞增殖比较 对照组皮损组织 VEGF、VEGFmRNA 表达降低,与对照组比较, $P < 0.05$;丹槐组治疗后 VEGF、VEGFmRNA 表达,与对照组及本组治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但 T 淋巴细胞增殖无明显变化,治疗前后无明显变化($P > 0.05$);阿维 A 组治疗后 VEGF、VEGFmRNA 表达无明显变化,T 淋巴细胞降低明显,与对照组及本组治疗前比较($P < 0.05$)。联合治疗组 VEGF、VEGFmRNA 及 T 淋巴细胞均降低明显,与丹槐组及阿维 A 组比较($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 4 组患者皮损组织 HIT-1、KDR 及 MVD 比较 对照组 HIT-1、KDR 治疗前后无明显变化($P > 0.05$),MVD 降低($P < 0.05$);丹槐量组 HIT-1、KDR 及 MVD 治疗后明显降低,与治疗前及对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);阿维 A 组 HIT-1、KDR 治疗前后无明显变化,MVD 降低,与对照组比较($P < 0.05$);联合治疗组 HIT-1、KDR 及 MVD 均降低明显,与丹槐组及阿维 A 组比较($P < 0.05$)。见表 3。

菌感染、自身免疫异常造成有关,其中 T 淋巴细胞增殖、炎性反应因子、内分泌失调、精神神经因素均有可能导致银屑病发病^[8]。最新研究表明 VEGF 及

其受体分布 FLT-1、KDR 与银屑病病理改变呈正相关^[9],由 VEGF 刺激介导的真皮血管过度重构与新生尤其是真皮乳头微血管的异常增生是银屑病重要发病原因,MVD 密度增高,表皮细胞增殖过快和角化不全、毛细血管扩张均可加重银屑病皮损及病理进程^[10]。近年来研究发现抑制 VEGF 过度表达可减轻微、小静脉血管的通透性、降低血管内皮细胞分裂增殖及诱导血管再生等作用。

中医治疗讲究“治风先治血,血行风自灭”,丹槐银屑浓缩丸由丹参、槐花、黄连、柴草、鸡血藤、赤芍、地黄、大青叶和白鲜皮等诸药经传统工艺调合而成,丹参酮、丹参素、黄连素和小檗碱等为其主要有效药理成份,具有清热解毒、祛屑止痒、凉血活血之功效^[11]。观察发现,联合治疗组患者治疗后 VEGF、VEGFmRNA 表达及其受体 HIT-1、KDR, MVD 明显降低,说明丹槐银屑浓缩丸具有抑制 VEGF 分泌的作用,且阿维 A 确有抑制 T 细胞增殖作用。银屑病患者 VEGF、VEGFmRNA 表达及其受体 HIT-1、KDR 均异常增高,并在 VEGF 刺激作用下造成 MVD,说明 VEGF、VEGFmRNA 表达及其受体 HIT-1、KDR 与银屑病确有明确的相关性。本临床观察也证实 HIT-1、KDR 在银屑病皮损中血管内皮细胞和部分角质形成细胞同时表达 VEGF 与 KDR。使用丹槐银屑浓缩丸治疗 21 d 后,VEGF 及其受体 HIT-1、KDR 表达均明显下调。分析认为,在本方中,君药紫草味苦性寒,可凉血清热;臣药黄连、白鲜皮、大青叶可清热解毒,尤其黄连的有效成份黄连素、小檗碱具有确切的清热解毒、抗炎消肿之功效^[12];鸡血藤及丹参佐药皆为上等活血良药,《吴普本草》记载丹参味辛性凉。其有效成份丹参酮、丹参素具有活血化瘀,现代医学证实其具有拮抗 Ca^{2+} 内流,改善 ATP 酶活性,松弛血管平滑肌改善微循环的作用^[13]。白茅根凉血生津清热利水,泽泻甘寒泄热毒,以上君臣诸药可清泄热毒、清热解毒、凉血活血、疏通肤络而祛屑止痒。研究表明,T 淋巴细胞可通过自身的活化释放多种细胞因子而触发炎症反应,这种分子生物化学反应会加重银屑病皮。在本治疗方案中,阳性药维 A 酸为抗皮肤角化异常药,其药理作用主要是抑制 T 细胞增殖及表皮 I 型转谷氨酰胺酶、促进角质形成细胞分化,同时也有抑制角质形成细胞增殖、抑制白细胞趋化性,具有调节表皮细胞分化和增殖等作用^[14]。阿维 A 组治疗后异常增殖 T 淋巴细胞明显降低,佐证阿维 A 确有抑制 T 细胞增殖的作用。在本研究中我们还发现丹槐银屑浓缩丸具有与阿维

A 类似问题的抑制 T 淋巴细胞增殖作用,但这种作用没有阿维 A 明显,且其药理作用复杂,能否提纯用于治疗银屑病需进一步实验研究。

综上所述,丹槐银屑浓缩丸具有降低银屑病患者表皮病变组织血管内皮 VEGF 分泌、阻断 VEGF 与其受体 HIT-1、KDR 结合,抑制表皮病变组织皮下血管新生、重建,减轻受体 HIT-1、KDR 在银屑病角质形成细胞和真皮乳头微血管上表达^[15],阿维 A 抑制 T 细胞增殖介导的炎症反应,降低真皮乳头微血管的异常增生而达到减轻银屑病的病理进程。

参考文献

- [1]董亦秋. 中医治疗银屑病湿热证用药规律分析[J]. 世界中医药,2013,8(4):453-455.
- [2]李文彬,闫小宁,田庆,等. 半枝莲方对寻常型银屑病血热证患者血清 TNF- α 及 VEGF 的影响[J]. 陕西中医,2014,35(9):1211-1213.
- [3]陈艳,席建元,李小鹏. 阿维 A 治疗寻常型银屑病的疗效观察及对外周血 VEGF 表达的影响[J]. 现代实用医学,2012,24(12):1395-1396.
- [4]栾超,杨永红,王焱,等. 银屑病患者皮肤中原位记忆 T 淋巴细胞的检测[J]. 中华皮肤科杂志,2014,47(11):800-802.
- [5]张信江. 皮肤性病学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2004:110-113.
- [6]王学军,贾丽梅. 丹槐银屑浓缩丸治疗寻常型银屑病 264 例临床观察[J]. 中国中医药科技,2008,15(6):474-475.
- [7]Ozmen S, Ayhan S, Demir Y, et al. Impact of gradual blood flow increase on ischaemia-reperfusion injury in the rat cremaster microcirculation model[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2008, 61(8):939-48.
- [8]吕运通,王文岭. 调节性 T 淋巴细胞和 Th17 细胞与银屑病的研究进展[J]. 国际皮肤性病杂志,2012,38(5):313-315.
- [9]刘俊伶,冯燕艳,普雄明. 银屑病与代谢综合征的流行病学[J]. 实用皮肤病学杂志,2014,(6):444-446,449.
- [10]Li N, Zhao G, Chen T, et al. Nucleolar protein CSIG is required for p33ING1 function in UV-induced apoptosis[J]. Cell Death Dis, 2012,3:e283.
- [11]黄萍,郭俐宏,陈少秀. 丹槐银屑浓缩丸对银屑病模型兔血管内皮生长因子及其受体表达的影响[J]. 国际中医中药杂志,2016,38(4):345-349.
- [12]肖云,游顶云,余晓玲,等. 盐酸黄连素油对激素依赖性皮炎皮肤屏障功能的修复作用[J]. 皮肤病与性病,2015,37(1):53-54.
- [13]尚文斌,刘佳,于希忠,等. 小檗碱对肥胖小鼠炎症因子分泌和炎症信号通路的作用[J]. 中国中药杂志,2010,35(11):1474-1477.
- [14]刘旭星. 阿维 A 联合窄谱中波紫外线治疗 65 例中重度寻常型银屑病疗效观察[J]. 中国药物与临床,2012,12(6):786-787.
- [15]龙剑文,皮先明,涂亚庭,等. 进行期寻常性银屑病皮损 β -连环蛋白、VEGF 和 VEGFR-2 的 mRNA 表达[J]. 中国皮肤性病杂志,2015,1(1):29-31.