

• 论 著 •

消银汤对银屑病小鼠模型血清中 IFN- γ 和 IL-4 的影响^{*}

宋红霞¹, 薛晓东^{2 Δ}

(1. 重庆三峡医药高等专科学校药理教研室 404000; 2. 重庆三峡医药

高等专科学校附属医院皮肤科 404000)

摘 要:目的 观察消银汤治疗银屑病小鼠模型的作用,并探讨其可能的作用机制。方法 建立小鼠阴道上皮模型,设消银汤高、中、低剂量组,甲氨蝶呤组和生理盐水组,观察各组对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响,并采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测各组小鼠血清中 γ -干扰素(IFN- γ)、白细胞介素-4(IL-4)的水平。结果 与对照组比较,消银汤高、中、低剂量组均可明显抑制小鼠阴道上皮的有丝分裂,并均可降低 IFN- γ 水平,且差异具有统计学意义($P < 0.05$),高剂量组可明显升高 IL-4 水平,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。结论 消银汤具有抑制表皮细胞增殖的作用,可能通过降低血清中 IFN- γ 水平,升高 IL-4 水平来发挥治疗作用。

关键词:银屑病; 消银汤; 干扰素- γ ; 白细胞介素-4

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.15.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)15-2109-03

Effect of Xiaoyin Decoction on serum IFN- γ and IL-4 in psoriasis mouse model^{*}

SONG Hongxia¹, XUE Xiaodong^{2 Δ}

(1. Teaching and Researching Section of Pharmacology, Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404000, China; 2. Department of Dermatology, Affiliated Hospital, Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404000, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of Xiaoyin Decoction in treating psoriasis mouse model and to investigate its possible mechanism. **Methods** The mouse vaginal epithelial model was established. The model mice were divided into the high, middle and low doses of Xiaoyin Decoction groups, methotrexate (MTX) group and normal saline group. The effects of Xiaoyin Decoction on the vaginal epithelial cell mitosis were evaluated and the levels of serum IFN- γ and IL-4 were detected by ELISA. **Results** Compared with the control group, high, middle and low doses of Xiaoyin Decoction groups could remarkable inhibit the mouse vaginal epithelial cell mitosis and decreased the IFN- γ level, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), the high dose group could significantly increase the IL-4 level, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** Xiaoyin Decoction has the effect for inhibiting epidermal cell proliferation, which plays the curative effect possibly by decreasing the serum IFN- γ level and increasing the serum IL-4 level.

Key words: psoriasis; Xiaoyin Decoction; interferon- γ ; interleukin-4

银屑病是一种常见易复发的慢性炎性皮肤病,该病因复杂,一些细胞因子如 γ -干扰素(IFN- γ)、白细胞介素-4(IL-4)等在银屑病的发病机制中起着重要作用^[1]。消银汤是笔者的临床经验方,在治疗寻常型银屑病取得了满意的疗效。本研究以消银汤为研究药物,观察消银汤对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响以及小鼠血清中 IFN- γ 、IL-4 细胞因子的水平,探讨其改善银屑病症状的机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 昆明种雌性小鼠 60 只,SPF 级,体质量为 18~22 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,合格证号:SYXK(渝)2012-0001。

1.2 药物、主要试剂及设备 消银汤药物组成:黄芩 10 g,生地 15 g,牡丹皮 12 g,赤芍 15 g,半枝莲 30 g,白花蛇舌草 15 g,槐花 10 g,紫草 10 g,玄参 15 g,丹参 15 g,鸡血藤 15 g 和甘草 6 g。制备方法:称取各药材,用水煎煮制备,共煎煮 2 次,煎出液合并,浓缩到每剂药 168 mL。消银汤的人体推荐摄入量为 168 g/d 生药,相当于 2.8 g/kg 生药(成人以 60 kg 计)。

1.3 主要试剂及设备 甲氨蝶呤片(上海信谊药业有限公司,批号:20130403),秋水仙碱注射液(吉林省辉南辉发制药股份有限公司,批号:20130915),己烯雌酚注射液(上海通用药业股份有限公司,批号:130203),小鼠 IFN- γ 、IL-4 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号:201310),光学显微镜(日本奥林巴斯公司),LP-400 酶标仪(法国巴斯德公司)。

1.4 方法 由于消银汤对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响^[2-4],取昆明种雌性小鼠 60 只,随机选取 10 只作为对照组,其余每只小鼠腹腔注射 0.2 mg 己烯雌酚,1 次/d,连续注射 3 d,使小鼠处于雌激素期。3 d 后隔天腹腔注射己烯雌酚(0.2 mg/只),至试验结束为止。第 4 d 将模型小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,即模型组,消银汤高剂量组(69.0 g/kg)、中剂量组(34.5 g/kg,相当于临床等效剂量)、低剂量组(17.3 g/kg),甲氨蝶呤组(2 mg/kg,相当于临床等效剂量),各组灌胃给药,2 次/d,连续 14 d。对照组和模型组给予等容积的生理盐水。末次给药 2 h 后,每只小鼠腹腔注射秋水仙碱 2 mg/kg,使细胞有

^{*} 基金项目:重庆市万州区科技计划项目(No. 201303042)。

作者简介:宋红霞,女,讲师,主要从事中医药治疗皮肤病的基础研究工作。 Δ 通讯作者,E-mail:xdhx163@163.com。

丝分裂周期停滞于有丝分裂中期,便于计数。6 h 后摘小鼠眼球取血,分离血清,置于-70 ℃ 保存,用于 IFN- γ 、IL-4 水平的测定。处死小鼠后,切取阴道组织,甲醛固定,石蜡包埋,组织切片,HE 染色,光镜下观察有丝分裂情况,计数 300 个基底细胞中的有丝分裂数,折算出有丝分裂指数(即每 100 个基底细胞中的有丝分裂数)。比较各组小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂指数,并作统计学处理。

1.5 IFN- γ 、IL-4 水平的测定 从-70 ℃ 冰箱取出各组血清样本,恢复至室温,具体操作步骤严格按照 IFN- γ 、IL-4 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.6 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理和统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 消银汤对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响 模型组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。消银汤高、中、低剂量组,甲氨蝶呤组分别与模型组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。消银汤高剂量组与甲氨蝶呤组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 消银汤对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	有丝分裂指数
对照组	—	10.47 $\pm$ 2.31 ^a
模型组	—	19.81 $\pm$ 3.15
消银汤高剂量组	69.0 g/kg	12.79 $\pm$ 1.34 ^{ab}
消银汤中剂量组	34.5 g/kg	15.33 $\pm$ 2.19 ^a
消银汤低剂量组	17.3 g/kg	16.00 $\pm$ 2.92 ^a
甲氨蝶呤组	2 mg/kg	15.06 $\pm$ 2.00 ^a

注:与模型组比较,^a $P < 0.01$;与甲氨蝶呤组比较,^b $P < 0.05$;—:此项无数据。

2.2 消银汤对小鼠血清 IFN- γ 和 IL-4 水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清中 IFN- γ 水平明显升高,IL-4 水平明显降低,且差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,消银汤高、中、低剂量组,甲氨蝶呤组均可降低银屑病小鼠血清 IFN- γ 水平,差异具有统计学意义($P < 0.05$);高剂量组可明显升高银屑病小鼠 IL-4 水平,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。消银汤高剂量组与甲氨蝶呤组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 消银汤对小鼠血清 IFN- γ 和 IL-4 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	IFN- γ (ng/mL)	IL-4(ng/mL)
对照组	—	6.94 $\pm$ 1.78 ^b	7.83 $\pm$ 1.71 ^b
模型组	—	15.76 $\pm$ 2.89	3.98 $\pm$ 1.34
消银汤高剂量组	69.0 g/kg	8.52 $\pm$ 1.91 ^{bc}	6.62 $\pm$ 1.64 ^{bd}
消银汤中剂量组	34.5 g/kg	10.21 $\pm$ 3.45 ^b	4.99 $\pm$ 1.76
消银汤低剂量组	17.3 g/kg	12.27 $\pm$ 3.91 ^a	3.99 $\pm$ 1.12
甲氨蝶呤组	2 mg/kg	11.97 $\pm$ 3.24 ^b	4.52 $\pm$ 1.62

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与甲氨蝶呤组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;—:此项无数据。

3 讨 论

银屑病模型包括银屑病小鼠模型、异种移植动物模型、佛波酯诱导动物模型、异种移植动物模型、自发性或基因突变模型等,但均不能完全反映银屑病的组织病理学特点,其应用均具有局限性^[5]。银屑病表皮的主要病理生理学特点包括角化不全和增生过快两个方面。雌激素期的小鼠阴道上皮细胞增殖活跃,有丝分裂增加并且上皮细胞转换加快,可以模拟银屑病表皮增殖过快的特点,通过比较小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂指数,可以较好地评价药物抑制细胞有丝分裂的作用^[6]。该模型被作为筛选抗银屑病药物的常用模型^[5]。

银屑病是一种原因不明的变态反应性皮肤病,其发病机制尚未明确^[7]。目前认为银屑病与感染、遗传、免疫异常、机体的内分泌功能及患者的精神状态等有较大的关系,其中免疫异常的观点得到了大部分人认可,即银屑病是因 T 细胞驱动,以角质形成细胞为主要效应细胞的免疫性炎症皮肤病^[8]。大量研究结果显示:Th1/Th2 比例平衡失调是引起银屑病的重要原因^[9]。Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 、TNF- α 、白细胞介素-2(IL-2)等细胞因子,以分泌 IFN- γ 为特征;Th2 细胞主要分泌 IL-4、白细胞介素-10(IL-10)等细胞因子,以分泌 IL-4 为特征^[10]。INF- γ 是促进 Th1 细胞分化的主要细胞因子,在银屑病中既可导致角质形成细胞异常增生,又可使 T 细胞进入表皮增殖活化^[11]。IL-4 的生物作用主要是刺激活化 T 细胞和 B 细胞增殖,起到调节体液免疫和适应性免疫的作用^[11]。IL-4 在 IL-10 辅助下可激活 Th2 型细胞并抑制 Th1 型细胞功能,在 IL-4 相对或绝对缺乏的情况下,会导致银屑病的发生^[12]。

本试验通过建立小鼠阴道上皮模型,随后口服不同剂量的消银汤,考察消银汤对小鼠阴道上皮细胞有丝分裂及血清细胞因子 IFN- γ 、IL-4 的影响。试验结果显示,消银汤各剂量组均可明显抑制银屑病样小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂,并均可降低 IFN- γ 水平,消银汤高剂量组可明显升高 IL-4 水平。结果提示消银汤具有抑制表皮细胞增殖的作用,可能通过降低血清中 IFN- γ 水平,升高 IL-4 水平来发挥治疗作用。消银汤治疗银屑病具有良好的应用前景,但其具体的作用机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] 陈文娟,史玉玲.银屑病免疫学的研究进展[J].国际皮肤性病杂志,2015,41(1):31-34.
- [2] 王天文,宋小仙,罗先钦,等.昆明山海棠片对银屑病动物模型的影响[J].中药新药与临床药理,2013,24(6):547-551.
- [3] 沈钰,盛国荣.退银汤治疗银屑病动物模型的实验研究[J].华西药学杂志,2013,28(6):592-595.
- [4] 曾灿丽,马桂芝,滕亮,等.骆驼蓬生物碱对银屑病模型小鼠的作用[J].中成药,2013,35(2):219-225.
- [5] 热比姑丽·伊斯拉木,阿瓦姑·伊斯拉木,斯拉甫·艾白.银屑病动物模型研究概况[J].中国药房,2015,26(19):2726-2729.
- [6] 郑海燕,李忻红.中药白疔合剂对实验性银屑病小鼠模型的影响[J].中国中西医结合皮肤性病杂志,2012,11(3):149-151.
- [7] 叶有兴,康丽,李莉.银屑病患者血清去(下转第 2113 页)

化以及腹主动脉粥样硬化中发挥了重要的趋化和促炎性损伤效应,导致单核细胞在内皮富集。本研究发现轻度和重度 SCH 组患者的 TC、LDL-C、CRP 明显增高,表明 SCH 患者的脂质代谢存在明显紊乱,同时血清学炎症反应因子 CRP 上升至 $(4.51 \pm 1.28) \text{ mg/L}$,而重度 SCH 组患者的相关脂质紊乱及炎症因子的改变更为明显,提示 TSH 增加特别是大于 20.0 mU/L 时,患者脂质代谢紊乱的发生率可进一步上升。通过超声检查对于 SCH 患者进行血管损伤分析,发现重度组 SCH 患者的 CIMA 达 $(1.15 \pm 0.31) \text{ mm}$,比对照组人群及轻度 SCH 组患者分别增加了 90% 和 50% 左右。经过矫正 LDL-C 及血清 TG 的差异后,CIMA 的差异仍然存在,TSH 水平较高的患者其 MIT 仍可大于 1.00 mm ,并认为 TSH 是 CIMA 的独立影响因素,TSH 可以通过独立于血脂的途径影响 CIMA,TSH 在 $15.0 \sim 20.0 \text{ mU/L}$ 波动时,其影响最为明显^[14]。但本研究并未对此进行分析,HDL-C 作为保护性脂蛋白,在高 TSH 组患者体内降低明显,通过综合分析后发现,SCH 患者的血清 TSH 水平与患者的 TC、LDL-C、CIMA 呈正相关关系,而与 HDL-C 水平呈负相关关系。

综上所述,SCH 患者体内的高 TSH 水平促进了脂质代谢紊乱的发生,TC、LDL-C 以及 CIMA 与对预测评估 SCH 患者动脉硬化病情具有一定的临床价值。

参考文献

[1] 袁俊菲,林杰,孔维菊,等.原发性甲状腺功能减退与血清小而密低密度脂蛋白胆固醇水平的相关分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,34(17):2282-2284.

[2] 王蓓蓓,陈新焰,张杉杉,等. 2 型糖尿病患者 TSH 水平与颈动脉粥样硬化的相关性分析[J]. 中国生化药物杂志,2014,33(8):120-123.

[3] 王安. 亚临床甲状腺功能减退症患者血清同型半胱氨酸和脂蛋白(a)水平变化及临床意义[J]. 安徽医学,2013,24(4):432-434.

[4] 滕卫平. 亚临床甲状腺功能减退症[J]. 国际内分泌代谢杂志,2003,11(6):370-372.

[5] 田利民,杨斌,高翠霞,等. 亚临床甲状腺功能减退症患者

TSH 与动脉粥样硬化相关因子关系的研究[J]. 中华内分泌代谢杂志,2015,54(2):133-135.

[6] 李菲,李志红,郭淑芹,等. 老年 2 型糖尿病患者颅内动脉粥样硬化与亚临床甲状腺功能减退的关系[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2014,54(10):1052-1056.

[7] 官娜,吕秀波,王丽红. 自身免疫性甲状腺炎经左旋甲状腺素干预后血清同型半胱氨酸表达水平[J]. 中国实验诊断学,2015,23(2):228-229.

[8] 戴立新. 亚临床甲状腺功能减退症与冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关性[J]. 实用临床医药杂志,2014,27(15):128-129.

[9] Gao CX, Yang B, Guo Q, et al. High thyroid-stimulating hormone level is associated with the risk of developing atherosclerosis in subclinical hypothyroidism[J]. Horm Metab Res, 2015, 47(3):220-224.

[10] Posadas-Romero C, Jorge-Galarza E, Posadas-Sánchez R, et al. Fatty liver largely explains associations of subclinical hypothyroidism with insulin resistance, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis[J]. Eur J Endocrinol, 2014, 171(3):319-325.

[11] 陈水龙,陈炳煌,周法光,等. 亚临床甲状腺功能减退症与冠状动脉粥样硬化性心脏病的关系[J]. 实用临床医药杂志,2015,19(13):19-22.

[12] Zhang X, Shao S, Geng H, et al. Expression profiles of six circulating microRNAs critical to atherosclerosis in patients with subclinical hypothyroidism: a clinical study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(5):E766-774.

[13] Kilic ID, Tanriverdi H, Fenkci S, et al. Noninvasive indicators of atherosclerosis in subclinical hypothyroidism[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2013, 17(2):271-275.

[14] 罗超,陈少科,李旺,等. 162 600 例新生儿甲状腺功能低下症筛查情况分析[J]. 现代仪器与医疗,2014,22(6):33-35.

(收稿日期:2016-02-22 修回日期:2016-04-25)

(上接第 2110 页)

氢表雄酮和硫酸去氢表雄酮水平的测定及临床意义[J]. 检验医学与临床,2015,12(7):919-920.

[8] 谭颖. 卡泊三醇联合复方甘草酸苷治疗斑块状银屑病的临床效果[J]. 检验医学与临床,2015,12(14):2047-2048.

[9] 盛国荣,谢勇,刘海琴. 退银汤联合窄谱中波紫外线治疗寻常型银屑病的疗效及对外周血相关细胞因子表达水平的影响[J]. 中国医院药学杂志,2014,34(7):576-580.

[10] 孙健,李东宁,阎铁夫,等. 丹参注射液对小鼠鼠尾表皮细胞分化及 Th1/Th2 细胞因子的影响[J]. 中国皮肤性病

学杂志,2013,27(8):775-777.

[11] 胡祥宇,杨文信. 血清中肿瘤坏死因子 α 、干扰素 γ 及白介素 4 与寻常型银屑病中医辨证相关性研究[J]. 西南军医,2015,17(2):156-158.

[12] 张春敏,魏国,张春红,等. 中药熏蒸联合紫外线照射治疗银屑病的疗效及对血清中 Th1/Th2 型细胞因子的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志,2009,31(7):491-492.

(收稿日期:2016-02-14 修回日期:2016-04-15)