

七参连湿疹膏对特应性皮炎模型豚鼠的改善作用研究[△]

姚荣成^{1*}, 刘 韬², 何 波³, 杨仁华³, 沈志强^{3#}, 陈 鹏³(1.曲靖市第一人民医院药械部, 云南曲靖 655000; 2.红河卫生职业学院药系, 云南红河 661100; 3.昆明医科大学药学院/云南省天然药物药理重点实验室, 昆明 650500)

中图分类号 R758.23;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)12-1603-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.12.04

摘要 目的:考察七参连湿疹膏对特应性皮炎(AD)模型豚鼠的改善作用,并探讨其可能机制。方法:将雌性豚鼠随机分为正常对照组,模型对照组,基质对照组(七参连湿疹膏基质,1 g/kg),七参连湿疹膏低、中、高剂量组(0.5、1、2 g/kg)和丁酸氢化可的松乳膏组(0.5 g/kg),每组10只。以卵清蛋白为抗原,激发豚鼠皮肤变态反应以复制AD模型。末次激发48 h后,正常对照组和模型对照组豚鼠涂以生理盐水,基质对照组豚鼠涂以七参连湿疹膏基质,各给药组豚鼠涂以相应药物;每天2次,连续14 d。记录各组豚鼠给药前后的红斑、水肿、抓痕等症状评分;采用苏木精-伊红染色法观察豚鼠皮肤组织形态学特征;采用TUNEL法检测豚鼠皮肤组织角质形成细胞凋亡情况;采用酶联免疫吸附测定法检测豚鼠皮肤组织干扰素 γ (IFN- γ)水平。结果:与正常对照组比较,模型对照组和基质对照组豚鼠皮肤组织中均可见炎症细胞浸润、表皮角化过度、棘层增厚等症状,其红斑、水肿、抓痕评分及总评分和皮肤组织中IFN- γ 水平均显著升高,角质形成细胞凋亡数均显著减少($P<0.01$)。与模型对照组和基质对照组比较,各给药组豚鼠上述症状均有不同程度的减轻,其中各给药组豚鼠给药后的红斑、水肿、抓痕评分及总评分以及七参连湿疹膏中、高剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组豚鼠皮肤组织中IFN- γ 水平均显著降低,且给药组上述评分均显著低于同组给药前($P<0.05$ 或 $P<0.01$);各给药组豚鼠角质形成细胞凋亡数均显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:七参连湿疹膏对AD模型豚鼠具有一定的改善作用,这种作用可能与促进角质形成细胞凋亡、降低皮肤组织INF- γ 水平有关。

关键词 七参连湿疹膏;特应性皮炎;症状评分;角质形成细胞;干扰素 γ ;豚鼠;机制

Study on Improvement Effects of Qishenlian Eczema Cream on the Atopic Dermatitis Model Guinea Pigs

YAO Rongcheng¹, LIU Tao², HE Bo³, YANG Renhua³, SHEN Zhiqiang³, CHEN Peng³ (1. Dept. of Drug and Equipment, Qujing First People's Hospital, Yunnan Qujing 655000, China; 2. Dept. of Pharmacy, Honghe Vocational College of Health, Yunnan Honghe 661100, China; 3. Pharmaceutical College, Kunming Medical University/Yunnan Province Key Lab of Pharmacology for Natural Products, Kunming 650500, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the improvement effects of Qishenlian eczema cream on the atopic dermatitis (AD) model guinea pigs, and to investigate its possible mechanism. METHODS: Female guinea pigs were randomly divided into normal control group, model control group, matrix control group (Qishenlian eczema cream matrix, 1 g/kg), Qishenlian eczema cream low-dose, medium-dose and high-dose groups (0.5, 1, 2 g/kg) and Hydrocortisone butyrate cream group (0.5 g/kg), with 10 guinea pigs in each group. Using ovalbumin as antigen, the skin allergy of guinea pigs was stimulated to induce AD model. Forty-eight hours after the last excitation, guinea pigs were smeared with normal saline in normal control group and model control group, while those were smeared with Qishenlian eczema cream matrix in matrix control group, and administration groups were treated with relevant medicine, twice a day, for consecutive 14 d. The scores of erythema, edema and scratch before and after administration were recorded in each group. The morphological characteristics of skin were observed by HE staining. TUNEL method was used to detect the apoptosis of keratinocytes in skin tissue. The level of IFN- γ in skin lesions was detected by ELISA. RESULTS: Compared with normal control group, inflammatory cell infiltration, hyperkeratosis of epidermis and thickening of spinous layer were observed in skin tissue of guinea pigs in model control group and matrix control group; the scores of erythema, edema and scratch and their total score, the level of IFN- γ in skin tissue were increased significantly; the apoptosis number of keratinocytes was decreased significantly ($P<0.01$). Compared with model control group and matrix control group, above symptoms of medication groups were relieved to different extents; the scores of erythema, edema and scratch and their total score after medication in medication groups, the level of IFN- γ in skin tissue in Qishenlian eczema cream medium-dose and high-dose groups and Hydrocortisone butyrate cream group were decreased significantly, and above scores in medication groups were significantly lower than before medication ($P<0.05$ or $P<0.01$); the apoptosis number of keratinocytes was increased significantly in medication groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: Qishenlian eczema cream has certain improvement effect on AD

[△]基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81660613);云南省教育厅科学研究基金项目(No.2018JS692)

*主任药师。研究方向:医院药学。E-mail: yrc2352@126.com

#通信作者:教授,博士。研究方向:药理学。电话:0871-65922781。

E-mail: 704896604@qq.com

model guinea pigs, the mechanism of which may be associated with promoting the keratinocyte apoptosis, reducing the level of INF- γ in skin tissue.

KEYWORDS Qishenlian eczema cream; Atopic dermatitis; Symptom score; Keratinocyte apoptosis; IFN- γ ; Guinea pigs; Mechanism

湿疹(Eczema)是皮肤科临床常见的一类变态反应性皮肤病,主要包括变应性接触性皮炎(Allergic contact dermatitis, ACD)、湿疹和特应性皮炎(Atopic dermatitis, AD)。目前,学者普遍认为湿疹是由机体内、外因共同作用所致,且易反复发作^[1-2]。其中,AD是由活化的T辅助淋巴细胞2(Th2)、嗜酸性粒细胞和肥大细胞之间复杂的相互作用所导致的,以炎症细胞浸润为主要机制,以反复发作、多形性皮损、皮肤干燥、剧烈瘙痒等为基本临床特征的炎症性皮肤病,其发病可能与遗传因素所致的免疫失常、皮肤屏障功能障碍以及环境因素等密切相关^[3-4]。AD的临床治疗主要包括含糖皮质激素、钙调神经磷酸酶抑制剂的外用药物治疗和含抗组胺药、抗炎介质药物、糖皮质激素及免疫抑制剂的系统治疗^[5]。但上述药物可能造成嗜睡、口干、乏力、皮肤色素沉着及皮肤萎缩等不良反应,长期应用可能导致耐药现象的发生,且存在一定的停药反应(如皮损加重、激素依耐性皮炎等),导致其临床应用受到极大限制^[6-7]。

中医认为,湿疹的发病主因为“风”“湿”“热”^[8-9]。有研究指出,中医药对湿疹的治疗独具优势,能通过多种途径祛风利湿、清热润燥、抗过敏,具有疗效好、副作用少的优点,受到学者的普遍关注^[9]。七参连湿疹膏由黄连、苦参、苍术、重楼、三七、白鲜皮、炉甘石、花椒、冰片、甘草等药材组成,具有清热燥湿、活血消肿、祛风止痒之功效,临床用于治疗因风湿热毒瘀阻所致的AD,效果肯定^[10-11],但其基础研究证据有限。为此,本研究以卵清蛋白(OVA)诱导的AD模型豚鼠为对象,对七参连湿疹膏的药效学进行评价,并探索其可能的作用机制,旨在为该药的临床应用及机制明确提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

MK3型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);RM2235型石蜡切片机(德国 Leica 公司);CX21 FS1型光学显微镜(日本 Olympus 公司);03024R型高速冷冻离心机(美国 Scilogex 公司);Scientz-950E型超声波破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 药品与试剂

七参连湿疹膏(批准文号:国药准字B20020421,批号:20160402,规格:15 g/支);七参连湿疹膏基质(由氢氧化钾、三乙醇胺、乙醇、硬脂酸、甘油、硬脂醇、液体石蜡等组成,批号:20160402)均购自云南蓝绿康药业有限公司;丁酸氢化可的松乳膏[阳性对照,天津金辉药业有限公司,批准文号:国药准字H10940095,批号:20151002,规格:0.1%(10 g:10 mg)];OVA(中国医药集团上海化学试剂公司,批号:F20010702,纯度:98%);干扰素 γ (IFN- γ)酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(美国 RayBiotech 公司,批号:0828150131);TUNEL 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号:07E16BM);十二烷基硫酸钠(SDS)(美国 Amresco 公司,批号:151-21-3);

医用白凡士林(甘肃润康药业有限公司,批号:20140604);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(北京雷根生物技术有限公司,批号:201550730);DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:60882801);RIPA 裂解液(碧云天生物技术公司,批号:P0013B);其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

普通级雌性豚鼠,2月龄,体质量320~350 g,由昆明医科大学提供,动物生产许可证号:SCXK(滇)K2015-0005。所有动物均于通风环境中饲养,自由饮食饮水,适应性饲养1周后进行后续实验。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将豚鼠随机分为正常对照组,模型对照组,基质对照组(七参连湿疹膏基质,1 g/kg),七参连湿疹膏低、中、高剂量组[0.5、1、2 g/kg;剂量根据本课题组前期皮肤刺激性和过敏性试验结果(安全剂量 \leq 2 g/kg)设定]和丁酸氢化可的松乳膏组(0.5 g/kg;该药药品说明书并未注明外用剂量,本研究剂量根据均匀涂满致敏皮肤区域预估),每组10只。除正常对照组外,其余各组豚鼠均按文献[12]方法复制豚鼠AD模型:在每只动物背部两侧去毛,每侧面积约为2 cm \times 3 cm。豚鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)进行麻醉,在左侧去毛处皮内注射OVA-氢氧化铝溶液(每10 mL生理盐水中含OVA 10 μ g、氢氧化铝0.5 mg)100 μ L。注射1周后,用纱布(3 cm \times 4 cm)将10% OVA+10% SDS+30% 凡士林+50% 水(g/mL,下同)敷于去毛处,保持48 h;注射后3周后,用纱布(3 cm \times 4 cm)将10% OVA+5% SDS+37% 凡士林+48% 水敷于去毛处,保持48 h;休息1周后,用双层纱布(1 cm \times 1 cm)将10% OVA+70% 凡士林+20% 水敷于去毛处,保持24 h,进行抗原激发反应。右侧去毛处用不含OVA、SDS、氢氧化铝、凡士林的湿纱布同法处理,作为自身对照。末次激发48 h后,对致敏的左侧皮肤进行处理:正常对照组和模型对照组豚鼠均涂以生理盐水(1 mL/kg),基质对照组豚鼠涂以七参连湿疹膏基质,各给药组豚鼠均涂以相应药物;每天2次,连续14 d。

2.2 症状评分

造模后,分别于给药前后按如下标准对各组豚鼠致敏侧的皮肤症状进行评分^[12]——(1)红斑:无为0分,轻微红斑为1分,明显红斑但无痂皮为2分,中、重度红斑伴轻、中度痂皮为3分,重度红斑伴重度痂皮为4分;(2)水肿:无为0分,轻度为1分,中、重度为2分;(3)抓痕:无为0分,有为1分。总评分为上述各项评分之和。

2.3 皮肤组织形态学观察

末次用药24 h后,处死豚鼠,取致敏侧(正常对照组取同侧)皮肤组织适量,用10%中性福尔马林溶液固定24 h后,切片(厚度约4 μ m),经HE染色后,使用光学显微镜观察各组豚鼠皮肤组织的病理学变化和炎症细胞

浸润情况[镜下炎症细胞(主要是淋巴细胞和单核细胞)呈点状,以蓝色为主。其中,淋巴细胞小而圆,胞浆稀少,核呈紫蓝色;单核细胞体积大,胞浆淡红,核卵呈圆形、深蓝色]。

2.4 皮肤组织角质形成细胞凋亡情况检测

采用TUNEL法检测。取各组豚鼠致敏侧(正常对照组取同侧)皮肤组织适量,用10%中性福尔马林溶液固定24 h后,切片(厚度约5 μm),经常规贴片、烤片后,行常规脱蜡、水化,用TUNEL试剂盒染色,再用DAB显色,以水终止显色反应,行常规乙醇梯度脱水、二甲苯透明,中性树脂封片。于光学显微镜下观察并拍照,直接计数视野中TUNEL染色阳性细胞数[呈深棕褐色的细胞即为凋亡阳性角质形成细胞(胞核着色,呈圆形)]。每个组织切片取4个视野分别进行计数后,取均值作为该切片的TUNEL阳性细胞数;每个样本取3张组织切片进行上述计数后,取均值作为该样本的TUNEL阳性细胞数。

2.5 皮肤组织中IFN-γ水平检测

表1 各组豚鼠红斑、水肿、抓痕评分及总评分比较($\bar{x} \pm s, n=10$,分)

Tab 1 Comparison of erythema, edema, scratch scores and total score of guinea pigs in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$, score)

组别	红斑评分		水肿评分		抓痕评分		总评分	
	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组	0	0	0	0	0	0	0	0
模型对照组	3.40 ± 0.84**	3.10 ± 0.88**	1.60 ± 0.51**	1.80 ± 0.42**	0.60 ± 0.46**	0.60 ± 0.52**	5.60 ± 0.97**	5.50 ± 1.27**
基质对照组	3.20 ± 1.03**	2.90 ± 0.74**	1.60 ± 0.52**	1.60 ± 0.41**	0.60 ± 0.56**	0.50 ± 0.53**	5.40 ± 1.58**	4.70 ± 1.34**
七参连湿疹膏低剂量组	3.20 ± 0.92**	2.40 ± 0.97 ^{#Δ□}	1.70 ± 0.44**	1.00 ± 0.12 ^{#Δ□}	0.60 ± 0.52**	0 ^{#ΔΔ□}	5.50 ± 0.97**	3.40 ± 0.97 ^{#Δ□}
七参连湿疹膏中剂量组	3.50 ± 0.53**	1.60 ± 0.70 ^{#ΔΔ□}	1.60 ± 0.51**	0.90 ± 0.32 ^{#ΔΔ□}	0.50 ± 0.53**	0 ^{#ΔΔ□}	5.60 ± 0.97**	2.50 ± 0.85 ^{#ΔΔ□}
七参连湿疹膏高剂量组	3.10 ± 0.74**	0.60 ± 0.53 ^{#ΔΔ□}	1.80 ± 0.42**	0.60 ± 0.52 ^{#ΔΔ□}	0.80 ± 0.42**	0 ^{#ΔΔ□}	5.70 ± 0.82**	1.20 ± 0.63 ^{#ΔΔ□}
丁酸氢化可的松乳膏组	3.40 ± 0.84**	1.10 ± 0.57 ^{#ΔΔ□}	1.70 ± 0.33**	0.50 ± 0.53 ^{#ΔΔ□}	0.70 ± 0.48**	0 ^{#ΔΔ□}	5.50 ± 1.18**	1.60 ± 0.70 ^{#ΔΔ□}

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与基质对照组比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$;与同组给药前比较,[□] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, ** $P < 0.01$; vs. model control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; vs. matrix control group, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$; vs. before administration, [□] $P < 0.05$

3.2 各组豚鼠皮肤组织形态学观察

正常对照组豚鼠表皮无增厚,真皮下层未见毛细血管扩张或炎症细胞浸润,真皮层结构规整,无明显细胞间或细胞内水肿。模型对照组豚鼠真皮浅层小血管周围可见轻度以淋巴细胞为主的炎症细胞浸润,毛细血管数量增多,内皮细胞肿胀并增生,皮肤表皮角化过度,棘层肥厚。基质对照组豚鼠皮肤组织被覆鳞状上皮,角化过度,表皮层的颗粒层及棘层增厚,真皮浅层有慢性炎症细胞浸润,以淋巴细胞、单核细胞为主。各给药组豚鼠皮肤上述症状均有不同程度的改善,其中七参连湿疹膏高剂量组和丁酸氢化可的松组改善更明显,详见图1。

3.3 各组豚鼠皮肤组织角质形成细胞凋亡情况比较

正常对照组豚鼠皮肤组织中可见着色明显的圆形阳性染色细胞,且伴有核固缩;模型对照组和基质对照组豚鼠皮肤组织中的角质形成细胞增殖明显增多、凋亡明显减少,其阳性染色细胞数均较正常对照组显著减

采用ELISA法检测。取各组豚鼠致敏侧(正常对照组取同侧)皮肤组织适量,用眼科剪剪碎,于液氮下研磨后,加入RIPA裂解液800 μL,于冰浴下超声(功率:100 W,频率:20 kHz)匀浆30 s,以3 000 r/min离心20 min后,收集上清液,以酶标仪于450 nm波长处检测IFN-γ水平,严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.6 统计学方法

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)或LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组豚鼠红斑、水肿、抓痕评分及总评分比较

给药前,模型对照组、基质对照组和各给药组豚鼠的红斑、水肿、抓痕评分及总评分均较正常对照组显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$);给药后,各给药组豚鼠的上述评分均较模型对照组和基质对照组显著降低,且显著低于同组给药前,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表1。

少,差异均有统计学意义($P < 0.01$);各给药组豚鼠皮肤组织中角质形成细胞凋亡明显增多,其阳性染色细胞数均较模型对照组和基质对照组显著增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见图2、表2。

3.4 各组豚鼠皮肤组织中IFN-γ水平比较

与正常对照组比较,模型对照组和基质对照组豚鼠皮肤组织中IFN-γ水平均显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与模型对照组和基质对照组比较,七参连湿疹膏中、高剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组豚鼠皮肤组织中IFN-γ水平均显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表2。

4 讨论

AD动物模型包括OVA激发豚鼠模型、NC/Nga小鼠模型、半抗原诱导小鼠模型、转基因和基因敲除小鼠模型,其中OVA激发豚鼠模型较为常用^[13]。OVA是鸡蛋清中所含的主要蛋白质,是AD病情加重的主要变应原,

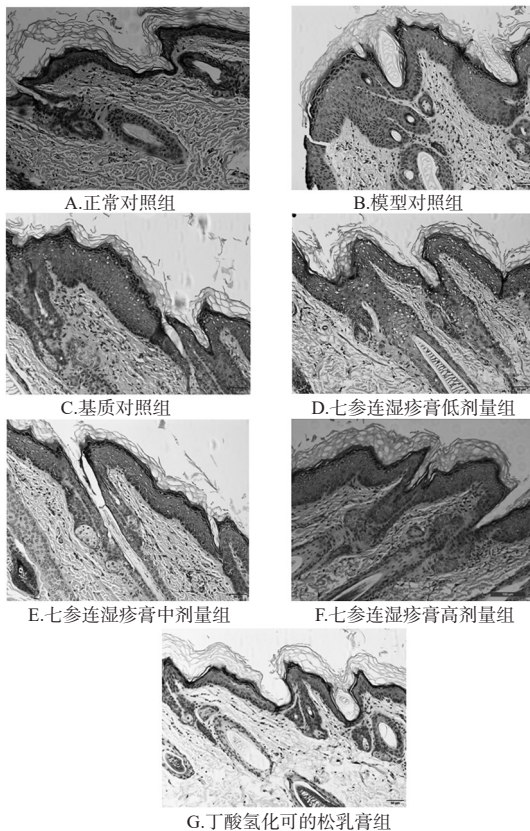


图1 各组豚鼠皮肤组织形态学观察显微图(HE染色, ×200)

Fig 1 Histomorphological micrographs of skin tissue of guinea pigs in each group(HE staining, ×200)

其腹腔注射、皮肤接触或雾化吸入均能诱导实验动物发生AD^[14];此外,OVA反复激发豚鼠AD模型的病理基础与该症的发病机制较为一致^[15]。因此,本研究选择OVA诱导AD模型豚鼠作为对象。目前,临床就糖皮质激素外用治疗湿疹已达成共识,临床证据表明,丁酸氢化可的松乳膏的临床疗效确切,且安全性较高^[16-17],故本研究选用该药作为阳性对照药物。

七参连湿疹膏组方中的黄连、苦参、苍术、白鲜皮可清热燥湿、泻火解毒、杀菌止痒,重楼、三七可清热消肿、活血止痛,炉甘石可收敛生肌,花椒、冰片可杀虫止痛,甘草可缓急止痛、调和诸药;诸药合用,共奏清热燥湿、活血消肿、祛风止痒之功效^[10-11]。本研究考察了七参连湿疹膏对AD豚鼠模型的改善作用,结果显示,造模后、给药前,模型对照组、基质对照组和各给药组豚鼠皮肤组织均可见炎症细胞浸润、表皮角质化过度、棘层增厚等症状,其红斑、水肿、抓痕评分及总评分均较正常对照组显著升高,提示模型复制成功。经不同剂量七参连湿疹膏或丁酸氢化可的松乳膏处理后,各给药组豚鼠皮肤组织上述症状均有不同程度的好转,且七参连湿疹膏高剂量组和丁酸氢化可的松组改善更明显;各给药组豚鼠红斑、水肿、抓痕评分及总评分均较模型对照组和基质对照组显著降低,且显著低于同组治疗前,提示七参连湿疹膏对OVA诱发的AD具有一定的治疗作用。

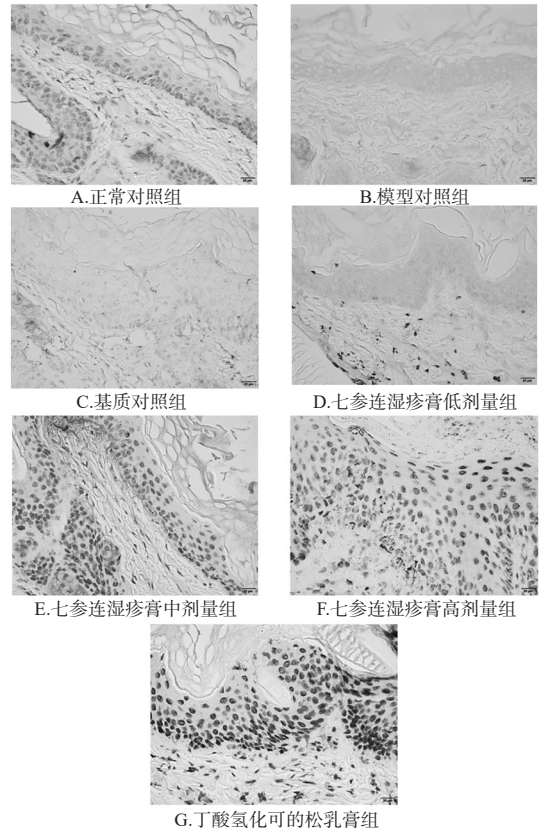


图2 各组豚鼠皮肤组织中角质形成细胞凋亡显微图(TUNEL染色, ×200)

Fig 2 Micrographs of the apoptosis of keratinocytes in skin tissues of guinea pigs in each group (TUNEL staining, ×200)

表2 各组豚鼠皮肤组织中角质形成细胞凋亡情况及IFN-γ水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Comparison of keratinocyte apoptosis and IFN-γ levels in the lesion skin tissues of guinea pigs in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	TUNEL染色阳性细胞,个	IFN-γ, ng/mL
正常对照组	33.2 ± 10.1	0.952 ± 0.443
模型对照组	2.5 ± 0.8**	15.613 ± 5.703**
基质对照组	3.5 ± 2.1**	16.349 ± 6.637**
七参连湿疹膏低剂量组	6.9 ± 2.4 ^Δ	14.749 ± 3.611
七参连湿疹膏中剂量组	27.9 ± 13.2 ^{###ΔΔ}	11.470 ± 2.589 ^Δ
七参连湿疹膏高剂量组	62.0 ± 23.7 ^{###ΔΔ}	3.268 ± 1.049 ^{###ΔΔ}
丁酸氢化可的松乳膏组	77.4 ± 20.7 ^{###ΔΔ}	2.445 ± 0.702 ^{###ΔΔ}

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,[#] $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$;与基质对照组比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, ** $P < 0.01$; vs. model control group, [#] $P < 0.05$, ^{###} $P < 0.01$; vs. matrix control group, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$

湿疹的发生发展与角质形成细胞的凋亡密切相关,该症的主要病变部位为皮肤表皮,角质形成细胞则是表皮的主要组成细胞。当AD发生时,皮肤组织中的T淋巴细胞被激活,后者产生的炎症细胞因子可通过杀伤介质诱导角质形成细胞凋亡,从而启动角质形成细胞的修复机制,使得该细胞快速增殖,最终导致AD的表皮、棘

层增厚;与此同时,过度增生的角质形成细胞可分泌多种细胞因子,使得局部组织再次损伤,进一步加重AD所致的炎症反应,形成恶性循环^[18-19]。本研究结果显示,正常对照组豚鼠皮肤组织中可见明显的着色阳性细胞,且伴有核固缩,提示角质形成细胞呈凋亡状态;模型对照组和基质对照组豚鼠皮肤组织中的阳性染色细胞显著减少,提示角质形成细胞增殖明显增多、凋亡明显减少;经不同剂量七参连湿疹膏处理后,各给药组豚鼠皮肤组织中阳性染色细胞均较模型对照组和基质对照组显著增加,提示七参连湿疹膏可抑制角质形成细胞增殖、促进其凋亡。

AD是由T细胞介导的迟发型变态反应,以IV型变态反应为主,其中Th1/Th2的动态失衡导致的IFN- γ 等细胞因子分泌紊乱在AD的发生发展中发挥着重要作用^[20-21]。IFN- γ 不仅能促进Th1细胞的成熟、抑制Th2细胞的增殖,同时还能抑制B淋巴细胞产生免疫球蛋白E(IgE),从而减少超敏反应的发生^[22]。由此可见,IFN- γ 是反映Th1/Th2细胞免疫应答参与程度及平衡状态的重要指标之一。有临床研究表明,AD患者血清中IFN- γ 水平升高,Th1细胞亚群功能明显增强,并伴有IV型变态反应的临床和病理表现^[23]。本研究结果显示,模型对照组和基质对照组豚鼠皮肤组织中IFN- γ 水平较正常对照组显著升高,提示AD可能促发并维持了机体内炎症细胞的浸润。经给药处理后,七参连湿疹膏中、高剂量组和丁酸氢化可的松乳膏组豚鼠皮肤组织中IFN- γ 水平均较模型对照组和基质对照组显著降低,提示七参连湿疹膏可降低AD模型豚鼠体内炎症细胞因子水平。

综上所述,七参连湿疹膏对AD模型豚鼠具有一定的改善作用,这种作用可能与促进角质形成细胞凋亡、降低皮肤组织IFN- γ 水平有关。但AD的发病机制复杂且诱发因素较多,具体作用机制仍有待后续研究进一步深入探索。

参考文献

[1] 杜宇,杨西群,熊霞,等.复方氟米松乳膏联合复方利多卡因乳膏治疗慢性湿疹疗效观察[J].泸州医学院学报,2010,33(5):520-522.

[2] 袁伟,晏文,陈晓红,等.复方甘草酸苷联合氟米松乳膏治疗慢性湿疹疗效观察[J].中国皮肤性病学杂志,2009,23(9):612-613.

[3] BRUNNER PM, GUTTMAN-YASSKY E, LEUNG DY. The immunology of atopic dermatitis and its reversibility with broad spectrum and targeted therapies[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(4S):S65-S67.

[4] JURAKIĆ TONČIĆ R, MARINOVIĆ B. The role of impaired epidermal barrier function in atopic dermatitis[J]. *Acta Dermatovenerol Croat*, 2016, 24(2):95-109.

[5] 中华医学会皮肤性病学分会免疫学组,特应性皮炎协作研究中心.中国特应性皮炎诊疗指南:2014版[J].全科医

学临床与教育,2014,12(6):603-606.

[6] 蒋祖玲,汤倩倩,黄安,等.慢性湿疹的药物外治治疗研究进展[J].医学综述,2018,24(20):4103-4107.

[7] 王涛,刘跃华,尹佳,等.奥洛他定与西替利嗪治疗皮肤瘙痒症的有效性和安全性对照研究[J].临床皮肤科杂志,2011,40(5):300-302.

[8] 李曰庆,何清湖.中医外科学[M].9版.北京:中国中医药出版社,2012:142-147.

[9] 安军艳,王利兰,姜红伶.浅谈祛风、清热、除湿法在常见皮肤病中的重要应用[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(96):317-318.

[10] 尚静雯.七参连软膏治疗皮炎湿疹43例临床疗效观察[J].中国皮肤性病学杂志,2007,21(7):448.

[11] 梁玲,相茂芹.七参连软膏治疗皮炎湿疹疗效观察[J].中国麻风皮肤病杂志,2006,22(12):1045-1046.

[12] 易雪梅,温海,付文成,等.复方酮康唑膜对豚鼠湿疹模型的实验研究[J].中国皮肤性病学杂志,2005,19(3):141-148.

[13] SHIOHARA T, HAYAKAWA J, MIZUKAWA Y. Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease? [J]. *J Dermatol Sci*, 2004, 36(1):1-9.

[14] 胡佳,张美华,毕志刚,等.卵清蛋白经皮致敏诱发BALB/c小鼠特异性皮炎样病变的探讨[J].临床皮肤科杂志,2006,35(6):373-375.

[15] 刘欣欣,陈立新,王莹,等.特异性免疫治疗对BALB/c小鼠特异性皮炎模型的疗效观察[J].中国皮肤性病学杂志,2016,30(11):1112-1115.

[16] 何康.维A酸霜与丁酸氢化可的松软骨联合治疗慢性湿疹疗效观察[J].广西医学,2008,26(9):1373.

[17] 刘琪琪.尤卓尔软膏治疗湿疹及神经性皮炎临床研究[J].国外医药抗生素分册,2015,36(5):231-233.

[18] 孙占学,张丰川,李元文.甘石青黛膏对大鼠湿疹模型皮损角质形成细胞与淋巴细胞凋亡的影响[J].中华临床医师杂志,2013,7(3):1146-1150.

[19] 祝青,刁庆春,白晋,等.聚焦超声对慢性湿疹模型豚鼠皮肤淋巴细胞和角质形成细胞凋亡的影响[J].中国医学影像技术,2008,24(2):167-170.

[20] 陆丽明,程楷涛.湿疹发生机理的研究进展[J].亚太传统医药,2007,3(9):76-78.

[21] 瞿旻晔,袁晓琳,马健.特应性皮炎发病过程及其机制研究现状探讨[J].中国皮肤性病学杂志,2015,29(10):1085-1087.

[22] PENG W, NOVAK N. Pathogenesis of atopic dermatitis [J]. *Clin Exp Allergy*, 2015, 45(3):566-574.

[23] 盛楠,宗文凯,余美文,等.咪唑斯汀治疗湿疹和特应性皮炎临床疗效及免疫机制的初步研究[J].临床皮肤科杂志,2009,38(7):440-442.

(收稿日期:2018-10-08 修回日期:2019-04-02)

(编辑:张元媛)