

救顽汤对慢性湿疹模型大鼠作用研究*

陆锦锐^{1,2} 张德龙³ 曹芳² 张林魁² 马淑然⁴ 刘晓焱²✉

(1.云南中医药大学中药学院,云南 昆明 650500;2.黔南民族医学高等专科学校药学系,贵州 都匀 558013;
3.北京御心堂生物科技股份有限公司,北京 100024;4.北京中医药大学中医院,北京 102488)

摘要:目的 通过观察救顽汤对慢性湿疹大鼠模型皮损、脾脏指数,初步评价救顽汤治疗慢性湿疹作用。方法 随机将60只雄性SD大鼠分为6组,每组10只,分别为空白组、模型组、阳性组、救顽汤低剂量组、中剂量组、高剂量组。除空白组外,各组大鼠运用2,4-二硝基氯苯(DNCB)复制慢性湿疹动物模型。模型建立后连续给药10d,比较各组间皮损程度、脾指数。结果与空白组相比较,模型组大鼠皮损评分显著升高,脾脏指数降低($P<0.01$);与模型组相比较,救顽汤高剂量、中剂量组给药后皮损评分明显降低,脾脏指数升高($P<0.01$),低剂量组无差异($P>0.05$)。结论 救顽汤能有效减轻慢性湿疹大鼠模型的皮损程度,降低皮损评分,具有明显的治疗作用。救顽汤能有效升高湿疹模型降低的脾指数,其治疗慢性湿疹的作用机制可能与提高机体免疫有关。

关键词:救顽汤;慢性湿疹;白介素-4,γ-干扰素

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2020.01.048

文章编号:1672-2779(2020)-01-0115-03

Effects of JIUWAN Decoctionon chronic eczema in rats

Jinrui-LU12, delong-ZHANG3, fang-CAO2, linsu-ZHANG2, shuran-MA4, xiaoyan-LIU2*

(1.Yunnan university of Chinese medician, Traditional Chinese Medicine College, Yunnan Kunming, 650500;

2.Qiannan medical college for nationalities, Department of Pharmacy, Guizhou Duyun, 558013;

3.Beijing yuxintang biotechnology co., LTD, Beijing, 100024;

4.Beijing university of Chinese medician, School of Chinese Medicine, Beijing, 102488)

Abstract: Objective To observe the effects of Jiuwan Decoction on skin lesions, spleen in rats model of chronic eczema, the model was established to initially investigate the immune mechanism of Jiuwan Decoction in curing chronic eczema. **Methods** 60 SD rats were randomly divided into 6 groups including blank group, model group, positive group, low-dose, mid-dose and high-dose groups with 10 rats in each group. The test groups were used to replicate the animal model of chronic eczema using 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) except for the blank group. These rats were doses for 10 days after successful model establishment. The degree of skin lesions and spleen index were compared among these groups. **Results** Compared with the blank group, the skin lesion score of the model group increased statistically whereas the spleen index decreased significantly ($P<0.01$). Compared with the model group, the skin lesion score level in the high- and mid-dose groups of Jiuwan Decoction decreased significantly, and the spleen index content increased ($P<0.01$). There was no difference in the low dose group ($P>0.05$). **Conclusion** JIUWAN Decoction can effectively reduce the degree of skin lesions in the rat model of chronic eczema, reduce the score of skin lesions, and has an obvious therapeutic effect. JIUWAN Decoction can effectively increase the spleen index reduced in the eczema model, and its therapeutic mechanism for chronic eczema may be related to the improvement of body immunity.

Keywords: JIUWAN Decoction ;chronic eczema;

慢性湿疹是一种临床常见以炎性为主的慢性疾病,研究认为其发病机制是由T细胞所介导的IV型变态反应,其病因可能是遗传、免疫损伤、细胞凋亡以及环境因素等共同作用的结果^[1]。由于慢性湿疹的发病机制较为复杂,在免疫损伤方面,研究发现该病发生的重要免疫学因素之一即TH1/TH2失衡所致^[2]。救顽汤出

自清代医家陈士铎所著^[3]《辨证录》第735条:“人有久生恶疮,或在手足,或在胸背,或在头面,终年经岁而不愈,世人谓之顽疮,救顽汤治之。”该方为中和医派杨建宇教授治疗慢性湿疹的常用方。本实验拟通过建立大鼠慢性湿疹模型,观察救顽汤对慢性湿疹大鼠模型皮损、脾指数的影响,初步探讨救顽汤治疗慢性湿疹的作用。

1 材料与方法

1.1 动物 60只健康清洁级SD雄性大鼠,体质量200~220g,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供

* 基金项目: 黔南民族医学高等专科学校科研基金【No.QNYZ201830】

✉通讯作者:936640736@qq.com

(SCXK GD 2015-0001)。

1.2 药物 救顽汤由当归 30 g, 黄芪 30 g, 炒白术 30 g, 生甘草 10 g, 熟地黄 30 g, 山萸肉 15 g, 麦冬 30 g, 柴胡 30 g, 茯苓 15 g, 法半夏 6 g, 防风 3 g, 连翘 3 g, 黑顺片 3 g 组成。由北京医珍堂制成每剂饮片为 32 g/袋配方颗粒。用时将一袋配方颗粒加水溶解至 100 mL, 既得含生药 2.35 g/mL 救顽汤药液。强的松由贵州一树湘君连锁药业有限公司提供, 规格为 25 mg/片, 生产批号为: 70600201。

1.3 试剂 2, 4-二硝基氯苯 (DNCB)、丙酮溶液、乙醚溶液 (分析纯, 科密欧试剂); 薇婷脱毛膏 (利洁时家化(中国)有限公司, 批号 2017070601H; IFN- γ 、IL-4 试剂盒 (武汉纯度生物科技有限公司, 批号 20181206)。

2 方法

2.1 动物模型的建立 参照文献[4]运用薇婷脱毛膏于大鼠背部皮肤脱毛, 脱毛面积 5 cm×4 cm, 分为 A、B 两处。用移液枪吸取 7%DNCB 丙酮溶液 100 μL 均匀涂抹于 A 处皮肤进行致敏。一周后在 B 处皮肤涂抹 5%DNCB 丙酮溶液 50 μL 进行激发, 每 5 d 激发一次。激发后 B 处皮肤逐渐出现红斑、丘疹、抓痕、鳞屑、结痂, 每次激发后记录皮损情况并进行评分。连续激发 6 次后, 各大鼠背部皮肤均出现红斑、鳞屑、抓痕、皮肤表面粗糙、苔藓样变, 符合《常见疾病的诊断与疗效判断(标准)》^[5]和《临床疾病诊断依据治愈好转标准》^[6]中慢性湿疹诊断标准, 且评分按 2.3.1 执行, 平均分大于或等于 2 分则说明模型复制成功。

2.2 动物分组及给药 大鼠进场基础饲料适应性喂养一周后, 随机分为 6 组, 依次为空白组 (A 组)、模型组 (B 组)、阳性组 (C 组)、救顽汤高剂量组 (D 组)、救顽汤中剂量组 (E 组), 救顽汤低剂量组 (F 组), 每组 10 只, 分笼饲养。用药剂量按动物体表面积换算, C 组给强的松 2.08 mg/Kg 剂量灌胃, F 给救顽汤 1.67 g/Kg 剂量灌胃, E 给救顽汤 3.3 g/Kg 剂量灌胃, D 给救顽汤 6.6 g/Kg 剂量灌胃。连续给药 10 d, 每天一次, A 组与 B 组不做处理。

2.3 观察指标

2.3.1 皮损观察与评分 根据慢性湿疹诊断标准以及皮损表现, 评分分为四项, 包括: 红斑, 鳞屑 / 结痂, 抓痕, 增厚 / 粗糙。每一皮损表现的严重度以 0~3 分计分, 无皮损计 0 分, 轻度皮损计 1 分, 中度皮损计 2 分, 重度皮损计 3 分, 各种症状分值之间可记 0.5 分, 总评分即为皮损得分。严重度评分按以下方法界定: 无皮损为 0 分, 此症状仔细观察后也不能确定; 轻度为 1 分, 此症

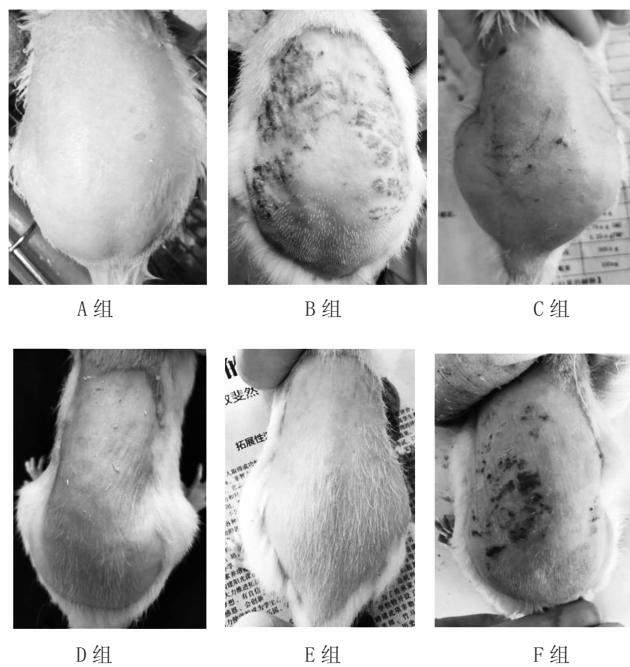
状的确存在, 但需仔细观察才能见到; 中度为 2 分, 此症状可立即看到; 重度为 3 分, 此症状非常明显, 较中度严重。

2.3.3 脾指数的测定 各组大鼠于取材前进行称重, 仔细分离脾脏周围结缔组织后摘取脾脏, 用吸水纸吸去脏器表面残血后立即用分析天平称取脾脏质量, 计算脾脏指数。计算方法如下: 脾脏指数 (g/kg) = 脾脏重量 (g) / 实验鼠体质量 (g)。每组分别与对照组比较, 计算出差异性。

2.3.4 统计学方法 统计方法采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析, 当计量资料服从正态分布时以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较则采用单因素方差分析, 两两比较则采用 LSD 法。P < 0.05 则表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠皮损形态学观察 空白组: 大鼠背部皮肤为淡红色, 细致滑嫩, 质地柔软, 皮肤纹理清晰可见。模型组: 大鼠背部皮损明显, 可见皮肤红斑、浸润、鳞屑、结痂、粗糙增厚、色素沉着、抓痕, 符合慢性湿疹诊断标准, 说明模型复制成功。给药组: 与模型组相比, 阳性组、救顽汤高剂量组、中剂量组大鼠背部皮损明显好转, 皮肤较光滑, 无明显红斑、鳞屑、结痂、以及抓痕, 救顽汤低剂量组则与模型组皮损无较大差异。详见图 1。



A.空白组; B.模型组; C.阳性组; D.救顽汤高剂量组; E.救顽汤中剂量组; F.救顽汤低剂量组

图 1 各组大鼠背部皮损情况

3.2 各组大鼠背部皮损评分比较 较空白组, 模型组大鼠背部皮损评分显著升高 (P < 0.01), 且大于 2 分, 表明



造模成功；较模型组，阳性组、救顽汤高剂量组、中剂量组大鼠皮损评分均显著降低 ($P < 0.01$)，救顽汤低剂量组与模型组相比，皮损评分无统计学差异 ($P > 0.05$)；各治疗组之间比较，救顽汤高剂量组、中剂量组大鼠皮损评分均明显低于阳性对照组，低剂量组评分高于阳性组，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。详见表1。

表1 各组大鼠皮损评分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	例数	给药剂量(g/kg)	平均得分
空白组	9	-	0 ^a
模型组	10	-	2.63 ± 0.24
阳性组	8	0.002	0.92 ± 0.21 ^a
救顽汤高剂量组	8	6.66	0.38 ± 0.19 ^{1,2}
救顽汤中剂量组	8	3.33	0.48 ± 0.12 ^{1,2}
救顽汤低剂量组	9	1.67	2.62 ± 0.17 ^b

注：与模型组比较^a $P < 0.01$ ；与阳性对照组比较^b $P < 0.01$

3.3 各组大鼠之间脾脏指数比较 与空白组相比，模型组大鼠脾脏指数降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比，阳性给药组及救顽汤高剂量组、中剂量组脾脏指数显著增高 ($P < 0.01$)，救顽汤低剂量组与模型组相比则无统计学差异 ($P > 0.05$)；与阳性组对比，救顽汤高剂量组大鼠脾指数升高 ($P < 0.01$)，救顽汤中剂量组无差异 ($P > 0.05$)。详见表3。

表1 各组大鼠间脾脏指数比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	例数	给药剂量(g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	平均得分
空白组	9	-	2.64 ± 0.08 ^a
模型组	10	-	1.66 ± 0.11
阳性组	8	0.002	2.07 ± 0.14 ^a
救顽汤高剂量组	8	6.66	2.55 ± 0.10 ^{1,2}
救顽汤中剂量组	8	3.33	2.09 ± 0.10 ^{1,3}
救顽汤低剂量组	9	1.67	1.69 ± 0.16 ^{2,3}

注：与模型组比较^a $P < 0.01$ ；与阳性对照组比较^b $P < 0.01$ ；与救顽汤高剂量组比较^c $P < 0.01$

4 讨论

救顽汤出自清代医家陈士铎所著《辨证录》第735条。原方由当归一两，黄芪一两，白术一两，生甘草三钱，熟地一两，山茱萸五钱，麦冬一两，柴胡一两，茯苓五钱，半夏二钱，防风一钱，连翘一钱，附子一片组成，该方具有温阳解表、益气活血、清热透疹之功效。杨建宇教授临床常用于治疗慢性湿疹反复不愈的患者，取得了较好的疗效，且马淑然教授等运用温阳解表、清热利湿法治疗慢性湿疹取得了较好的疗效^[7]，而该方的药理作用与机制研究则未见相关报道。经研究发现方中黄芪、白术、甘草、柴胡、附片、山茱

萸等单味中药都具有抗炎之功效。白术中的白术内酯I可显著抑制二甲苯所致的小白鼠耳肿胀；黄芪中的总皂苷与总黄酮能降低血管通透性和抑制白细胞游出、降低PLA2活性、减少IL-8、PGE₂、NO等炎症介质的产生；甘草中的黄酮类化合物、甘草酸是其抗炎、抗变态反应的有效成分，对IgE介导的小鼠三相耳肿有较强的抑制用，且甘草、附片则具有肾上腺皮质激素样作用，可促进ACTH的分泌和释放，通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)增加肾上腺皮质激素的分泌，下调集体免疫细胞分泌细胞因子的水平，降低细胞因子的活性，最终抑制免疫炎症的反应^[8-13]。

本实验研究表明，救顽汤可有效升高慢性湿疹模型降低的脾脏指数，改善大鼠慢性湿疹模型炎症情况，降低皮损评分，有效控制病情发展，证实本方的作用机制可能与调节大鼠免疫功能有关。此外，结合本方以及本方中单味药材的中药药理研究成果，救顽汤治疗慢性湿疹的作用机制是否与调节HPA轴功能有关则有待进一步研究。

参考文献

- 徐公国,李强,付青姐,等.湿疹的病因病机及中医药治疗研究进展[J].实用医药杂志,2014,31(3):268-270.
 - 赵辩.中国临床皮肤病学[M].南京:江苏科学技术出版社,2010:725-731.
 - 清·陈士铎.辨证录[M].北京:中国中医药出版社,2007:525-526.
 - 苗明三,田硕,白明.湿疹动物模型制备规范(草案)[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(24):6-10.
 - 吴少祯,吴敏.常见疾病的诊断与疗效判断(标准)[M].北京:中国中医药出版社,1999:810-839.
 - 孙传兴.临床疾病诊断依据治愈好转标准[M].2版.北京:人民军医出版社,1998:290.
 - 马淑然,龙晓华,徐雅,等.湿热兼阳虚型慢性湿疹的临床治疗思路[J].环球中医药,2016,9(2):239-241.
 - Baker B S. The role of microorganisms in atopic dermatitis[J]. Clin Exp Immunol, 2006, 114(1):1-9.
 - 李孜怡.金雀凉血解毒颗粒对大鼠湿疹模型免疫调节作用机制研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2018.
 - 谢锋.白术不同提取物免疫佐剂作用的研究[D].杭州:浙江大学,2012.
 - 朱华野,朴龙.黄芪提取物抗炎、镇痛、耐缺氧及抗疲劳作用的研究[J].时珍国医国药,2007(5):1156-1157.
 - 杨沁,陈敏珠.黄芪总苷的抗炎与镇痛作用及其作用机制[J].安徽医科大学学报,2000(5):376.
 - 王丽娜,汪巍,徐驰,等.柴胡醋制前后抗炎作用比较研究[J].中成药,2013,35(5):1079-1081.
- (本文编辑:张文娟 本文校对:龙贤齐 收稿日期:2019-06-06)