

# 癫痫清颗粒对海人藻酸致癫痫大鼠海马组织中 IL-6 含量及 GFAP、Iba-1 表达的影响<sup>A</sup>

齐越<sup>1\*</sup>, 李纪彤<sup>2</sup>, 姜鸿<sup>1</sup>, 王光函<sup>1</sup>, 刘小虎<sup>1</sup>, 向绍杰<sup>1</sup>, 秦文艳<sup>1</sup>, 韦丹<sup>3</sup>, 朱竟赫<sup>1</sup>, 贾冬<sup>3#</sup>(1.辽宁省中医药研究院药理室, 沈阳 110034; 2.辽宁中医药大学附属第三医院综合病房, 沈阳 110032; 3.辽宁中医药大学省部共建中医脏象理论及应用教育部重点实验室, 沈阳 110847)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)28-3927-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.28.11

**摘要** 目的:研究癫痫清颗粒对海人藻酸致癫痫大鼠海马组织中白细胞介素6(IL-6)含量及胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、离子钙接头分子1(Iba-1)表达的影响,探讨该药防治癫痫的作用机制。方法:将大鼠随机分为假手术组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、苯妥英钠组(0.03 g/kg,阳性对照)和癫痫清颗粒低、中、高剂量组(4.74、9.47、18.94 g/kg,以生药计),每组20只,每天ig给药1次,连续7d。末次给药1h后,除假手术组外的其余各组大鼠均于左侧海马CA1区单次注射海人藻酸复制癫痫模型,观察大鼠行为学变化及死亡情况。造模24h后,采用酶联免疫吸附法检测大鼠海马组织中IL-6含量,采用尼氏染色法对海马组织神经元进行计数,采用免疫组化法检测大鼠海马组织中GFAP、Iba-1表达。结果:与假手术组比较,模型组大鼠造模后发生明显癫痫症状,部分大鼠死亡;海马组织中IL-6含量及神经元数目明显减少( $P<0.01$ ),GFAP、Iba-1表达明显增强( $P<0.01$ )。与模型组比较,各给药组大鼠癫痫症状及死亡情况得到改善,而海马组织中IL-6含量虽均不同程度升高,但差异无统计学意义( $P>0.05$ );苯妥英钠组和癫痫清颗粒中、高剂量组大鼠海马组织神经元个数明显增加( $P<0.01$ ),GFAP表达明显降低( $P<0.01$ );苯妥英钠组和癫痫清颗粒高剂量组大鼠海马组织中Iba-1表达明显降低( $P<0.01$ )。结论:癫痫清颗粒可通过抑制海马组织中GFAP和Iba-1的表达、增加海马组织中神经元数量,从而发挥防治癫痫的作用。

**关键词** 癫痫清颗粒;白细胞介素6;胶质纤维酸性蛋白;离子钙接头分子1;大鼠

## Effects of Dianxianqing Granule on the IL-6 Content and GFAP, Iba-1 Expressions in Hippocampus Tissue of Rats with Kainate-induced Epilepsy

QI Yue<sup>1</sup>, LI Jitong<sup>2</sup>, JIANG Hong<sup>1</sup>, WANG Guanghan<sup>1</sup>, LIU Xiaohu<sup>1</sup>, XIANG Shaojie<sup>1</sup>, QIN Wenyan<sup>1</sup>, WEI Dan<sup>3</sup>, ZHU Jinghe<sup>1</sup>, JIA Dong<sup>3</sup>(1.Dept. of Pharmacology, Liaoning Provincial Institute of TCM, Shenyang 110034, China; 2.Integrated Ward, the Third Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110032, China; 3.Key Laboratory of TCM Viscera-state Theory and Applications Co-founded by Liaoning Province and Ministry of Education, Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To study the effects of Dianxianqing granule on the interleukin (IL-6) content and glial fibrillary acidic protein (GFAP), ionized calcium linker molecules 1 (Iba-1) expressions in hippocampus tissue of rats with kainate-induced epilepsy, and explore its mechanism of preventing and treating epilepsy. **METHODS:** Rats were randomly divided into sham operation group (distilled water), model group (distilled water), phenytoin group (0.03 g/kg, positive control) and Dianxianqing granule low-dose, medium-dose, high-dose groups (4.74, 9.47, 18.94 g/kg, calculated by crude drug), 20 in each group. Rats were intragastrically administrated once a day, for 7 d. After 1 h of last administration, except for sham operation group, rats in other groups received single injection of kainite in hippocampus CA1 of left side to induce the epilepsy model. Behavioral changes and death of rats were observed. After 24 h of modeling, enzyme-linked immunosorbent method was used to detect the IL-6 content in hippocampus tissue of rats, Nissl staining was used to count the hippocampus neurons, and immunohistochemistry was used to detect the GFAP, Iba-1 expressions in hippocampus tissue of rats. **RESULTS:** Compared with sham operation group, rats in model group had obvious epilepsy symptoms after modeling, and parts of rats died; IL-6 content and number of neurons in hippocampus tissue were obviously decreased ( $P<0.01$ ), while GFAP, Iba-1 expressions were obviously enhanced ( $P<0.01$ ). Compared with model group, epilepsy symptoms and death in each administration group had improved, while IL-6 content in hippocampus tissue were increased to varying degrees, with no statistical significance ( $P>0.05$ ). The numbers of neurons in phenytoin group, Dianxianqing

△基金项目:辽宁省博士科研启动基金资助项目(No.201601385)

\* 副研究员,博士。研究方向:神经药理学。电话:024-86803170。E-mail:lnzyxyqy2003@163.com

# 通信作者:研究员。研究方向:神经药理学。电话:024-31207389。E-mail:jiadg2003@126.com

granule medium-dose, high-dose groups were obviously increased ( $P<0.01$ ); GFAP expression was obviously decreased ( $P<0.01$ ). Iba-1 expressions in hippocampus tissue in phenytoin group, Dianxianqing granule high-dose group were obviously decreased ( $P<0.01$ ). **CONCLUSIONS:** Dianxianqing

granule can play the role in preventing and treating epilepsy by inhibiting GFAP, Iba-1 expressions in hippocampus tissue and increasing the number of neurons in hippocampus tissue.

**KEYWORDS** Dianxianqing granule; Interleukin 6; Glial fibrillary acidic protein; Ionized calcium linker molecule 1; Rats

癫痫是一种以脑内神经元异常反复过度放电引起的短暂性脑功能障碍综合征,其临床主要表现为肌痉挛、神志丧失、认知功能障碍、情感运动障碍及感觉异常<sup>[1]</sup>。动物实验及癫痫患者切除的结节性硬化海马中可发现神经胶质细胞被激活、炎性因子及其调节介质的存在<sup>[2-4]</sup>。因此,可通过抑制胶质细胞的活化发挥抗癫痫的作用。癫痫清颗粒为辽宁中医药大学附属第二医院的院内制剂,前期研究发现其可延长戊四唑及海人藻酸(Kainic acid, KA)致大鼠癫痫发作的潜伏期、降低发作分级、缩短发作持续时间、增加脑组织内白细胞介素4(Interleukin 4, IL-4)含量<sup>[5-9]</sup>。本研究以KA致癫痫大鼠模型为研究对象,通过对模型大鼠脑组织中IL-6含量、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和小胶质细胞(MG)标记物离子钙接头分子1(Iba-1)表达的测定,进一步探讨癫痫清颗粒抗癫痫的药理作用机制,为其临床使用提供必要的药理学基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

DW-5 脑立体定位仪(成都泰盟科技有限公司); Neofuge 13R 高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司); ELx800 酶标仪(美国伯腾仪器有限公司); BX51 显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。

### 1.2 药品与试剂

癫痫清颗粒(由辽宁中医药大学附属第二医院提供,批号:20140110,规格:生药含量为5.31 g/g); 苯妥英钠片(天津力生制药股份有限公司,批号:1312027,规格:每片0.1 g); KA(美国Sigma公司,批号:MKBQ0979V,纯度:>98%); 水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号:20100709); IL-6 酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(深圳市达科为生物技术有限公司,批号:E3060-1406-1); 兔抗 Iba-1 抗体(日本 Wako 公司,批号:CTP1721); 兔抗 GFAP 抗体(北京博奥森生物试剂有限公司,批号:140404); 超敏过氧化酶试剂盒(福州迈新生物技术有限公司,批号:1404289706); 二氨基联苯胺显色液(福州迈新生物技术有限公司,批号:1403030031)。

### 1.3 动物

SPF 级 Wistar 大鼠 120 只, ♂, 体质量(200 ± 20) g, 由辽宁长生生物技术有限公司提供[实验动物生产许可证号:SCXK(辽)2010-0001]。大鼠实验期间分笼饲养、自由饮食。

## 2 方法

### 2.1 分组与给药

将 120 只大鼠随机分为假手术组、模型组、苯妥英钠组(阳性对照)和癫痫清颗粒低、中、高剂量组,每组 20

只。根据预实验结果并参考文献[10]设置各组给药剂量:苯妥英钠组大鼠 ig 0.03 g/kg 苯妥英钠蒸馏水溶液,癫痫清颗粒低、中、高剂量组大鼠分别按生药计 ig 4.74、9.47、18.94 g/kg 癫痫清颗粒蒸馏水溶液,假手术组和模型组大鼠 ig 等体积的蒸馏水。给药体积均为 20 mL/kg,每日给药 1 次,连续给药 7 d。

### 2.2 造模

参考文献[8]方法复制 KA 致大鼠癫痫模型。末次给药 1 h 后,水合氯醛(350 mg/kg)麻醉大鼠,头部备皮后,固定于脑立体定位仪上,常规碘酒消毒,沿颅顶中线行 3~4 cm 手术切口,钝性分离骨膜,将凶门设置为零点,移动微量进样器,向后 3.00 mm,中线旁开 2.20 mm,牙科钻轻钻至穿破骨膜,自钻孔表面垂直进针约 3.70 mm。除假手术组外,其余各组大鼠在 3 min 内缓慢匀速注入 1 μg/μL KA 1.0 μL,留针 5 min;假手术组大鼠注射等体积生理盐水。最后缝合皮肤,碘伏消毒,注意大鼠保暖。观察并记录大鼠的行为学变化及死亡情况。

### 2.3 ELISA 法测定 KA 致癫痫大鼠海马组织中 IL-6 含量

造模 24 h 后,各组随机取大鼠 10 只,断头取脑,冰盘上迅速剥离海马组织,称质量,按 1:9 的比例用磷酸盐缓冲液(PBS)稀释,匀浆,在 4 °C 条件下以离心半径为 10 cm、3 000 r/min 离心 20 min,取上清液,按照试剂盒说明操作测定上清液中 IL-6 含量。

### 2.4 尼氏染色测定 KA 致癫痫大鼠海马组织神经元的表达及计数

造模 24 h 后,各组大鼠有不同程度死亡,将每组剩余大鼠(约 5~7 只) ip 3.5% 水合氯醛(10 mL/kg)麻醉,待其卧倒后剪开胸腔,暴露心脏,将输液针经心尖刺入左心室,右心耳处剪一小口,先用预冷生理盐水快速灌注,待右心房流出液体变透明时,将输液针连接至预冷的 4% 多聚甲醛,先快后慢灌注,直至大鼠肝脏发白、四肢及尾巴抽搐、僵硬时,断头取脑。4% 多聚甲醛 4 °C 固定脑组织,常规制成 5 μm 厚的石蜡切片。将切片脱蜡至水后浸入 10 g/L 甲苯胺蓝溶液中染色 6 min;蒸馏水浸泡 5 min 去除浮色,梯度乙醇脱水;再次用二甲苯透明 2 次,每次 5 min,中性树胶封片。将切片置于 200 倍显微镜下,观察各组大鼠海马 CA1 区神经细胞的染色情况;于 400 倍显微镜下进行图像采集,对各组大鼠脑切片海马组织 CA1 区相同部位进行神经元计数<sup>[9]</sup>。

### 2.5 免疫组化法测定 KA 致癫痫大鼠海马组织中 GFAP、Iba-1 的表达

取“2.4”项下 5 μm 厚的石蜡切片,常规脱蜡脱水,高压修复,5% 牛血清白蛋白封闭,滴加一抗,4 °C 过夜, PBS 洗涤后,滴加超敏过氧化酶试剂盒内的二抗,二氨

基联苯胺显色。采用400倍光学显微镜采集图片,每只大鼠取5张连续冠状切片。采用JEOA 801D形态学图像分析软件分析GFAP、Iba-1的表达(若胞浆呈棕褐色,则为阳性表达),并记录各切片中GFAP、Iba-1的平均光密度(IOD)值。

## 2.6 统计学方法

用SPSS 17.0统计学软件对结果进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。首先对数据进行正态性检验,符合正态分布的数据,多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐则采用LSD检验进行两两比较,若方差不齐则采用Dunnett's T3检验进行两两比较;若不符合正态分布,则采用非参数检验进行统计分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 大鼠行为学及死亡情况观察结果

大鼠海马组织内注射KA 5 min后,出现排便、咀嚼、呼吸急促、胡须颤动和面部肌肉抽搐等症状。约1 h后麻醉药效果消退,除上述症状外大鼠逐渐出现翘尾、流涎、节律性点头、“湿狗样”抖动、单侧(或双侧)前肢抖动症状。最后,随着癫痫发作程度的加深,出现狂跑、跳跃、翻滚、头部向硬物猛烈撞击、全身强直等癫痫大发作症状,症状反复多次,并持续数小时以上。各组大鼠均有死亡情况。癫痫清颗粒组癫痫大鼠的行为学改变有减弱,死亡情况减少。假手术组、模型组、苯妥英钠组和癫痫清颗粒低、中、高剂量组大鼠死亡只数分别为3、5、3、4、3、3只。

### 3.2 大鼠海马组织中IL-6含量的测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中IL-6含量明显减少( $P < 0.01$ );与模型组比较,苯妥英钠组和癫痫清颗粒各剂量组大鼠海马组织中IL-6的含量均有一定增加,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。假手术组、模型组、苯妥英钠组和癫痫清颗粒低、中、高剂量组大鼠海马组织中IL-6含量分别为( $2\ 633.00 \pm 457.73$ )、( $1\ 238.72 \pm 287.51$ )、( $1\ 737.75 \pm 185.87$ )、( $1\ 356.00 \pm 340.61$ )、( $1\ 524.83 \pm 272.45$ )、( $2\ 206.50 \pm 381.85$ ) pg/mL。

### 3.3 大鼠神经元染色观察及计数结果

假手术组大鼠海马组织中神经元细胞结构清晰、排列整齐,染色质分布均匀,可见丰富蓝色颗粒状的尼氏小体;与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中神经元细胞结构明显改变,神经元数目减少( $P < 0.01$ ),核内染色质凝集,尼氏小体数减少;与模型组比较,苯妥英钠组及癫痫清颗粒各剂量组大鼠海马组织中神经元细胞结构较清晰,神经元损伤减轻,其中癫痫清颗粒中、高剂量组大鼠海马组织神经元个数较模型组明显增加( $P < 0.01$ )。染色结果见图1,神经元计数结果见表1。

### 3.4 大鼠海马组织中GFAP、Iba-1表达的测定结果

3.4.1 海马组织中GFAP表达测定结果 假手术组大鼠海马组织中GFAP阳性细胞数较少,胞体较小,突起及其

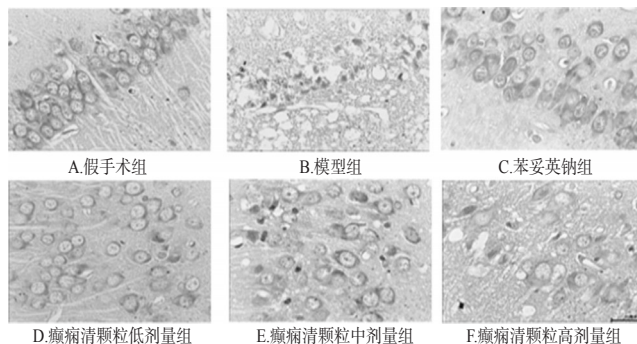


图1 各组大鼠海马组织中神经元细胞的显微镜图(尼氏染色,×400)

Fig 1 Microscopic images of neurons cells in hippocampus tissue of rats in each group (Nissl staining, ×400)

表1 各组大鼠海马组织中神经元计数结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Results of the number of neurons in hippocampus tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	神经元计数,个
假手术组	7	33.02 ± 1.52
模型组	5	17.64 ± 3.19**
苯妥英钠组	7	30.84 ± 0.70 <sup>##</sup>
癫痫清颗粒低剂量组	6	22.60 ± 1.68
癫痫清颗粒中剂量组	7	27.68 ± 1.11 <sup>##</sup>
癫痫清颗粒高剂量组	7	29.36 ± 1.66 <sup>##</sup>

注:与假手术组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, <sup>##</sup> $P < 0.01$

分枝细长而少,染色较弱。与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中GFAP阳性细胞数目明显增多,胞体增大,突起及其分枝增多且粗长,染色强度明显增强(IOD值明显升高, $P < 0.01$ )。与模型组比较,苯妥英钠组及癫痫清颗粒各剂量组大鼠海马组织GFAP阳性细胞数减少,突起及分枝亦减少,染色强度减弱(其中苯妥英钠组和癫痫清颗粒中、高剂量组IOD值明显降低, $P < 0.01$ )。免疫组化染色图见图2,测定结果见表2。

3.4.2 海马组织中Iba-1表达的测定结果 假手术组大鼠海马组织中Iba-1阳性细胞数较少,胞体较小,突起及分枝较少,免疫染色较弱,细胞呈“静息状态”。与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中Iba-1阳性细胞数增多,胞体增大变狭长状及圆形,突起增多、变短增粗,染色加深(ION值明显升高, $P < 0.01$ ),细胞呈“活化状态”。与模型组比较,苯妥英钠组及癫痫清颗粒各剂量组大鼠海马组织中Iba-1阳性细胞数较模型组减少,胞体减小,染色强度降低(其中苯妥英钠组和癫痫清颗粒高剂量组ION值明显降低, $P < 0.01$ )。免疫组化染色图见图3,测定结果见表2。

## 4 讨论

神经细胞胞质内的游离核糖体分布于粗面内质网中,光镜下呈嗜碱性颗粒或小块,即为尼氏小体。癫痫发作时,神经元受损,尼氏小体的数量会减少甚至消失,

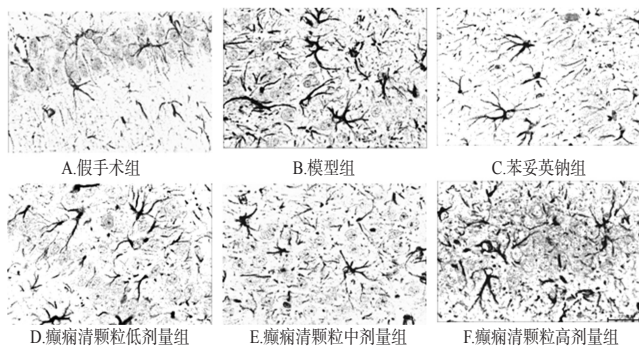


图2 各组海马组织中GFAP表达的切片图(免疫组化染色,×400)

Fig 2 Slice diagram of GFAP expressions in hippocampus tissue of rats in each group (immunohistochemical staining, ×400)

表2 各组大鼠海马组织中GFAP、Iba-1表达的测定结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 Determination results of GFAP, Iba-1 expressions in hippocampus tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IOD值	
		GFAP	Iba-1
假手术组	7	0.356 ± 0.068	0.371 ± 0.085
模型组	5	0.703 ± 0.099**	1.177 ± 0.060**
苯妥英钠组	7	0.511 ± 0.018***	0.780 ± 0.106***
癫痫清颗粒低剂量组	6	0.672 ± 0.021	1.084 ± 0.145
癫痫清颗粒中剂量组	7	0.550 ± 0.011***	1.076 ± 0.094
癫痫清颗粒高剂量组	7	0.514 ± 0.009***	0.822 ± 0.063***

注:与假手术组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,\*\*\* $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, \*\*\* $P < 0.01$

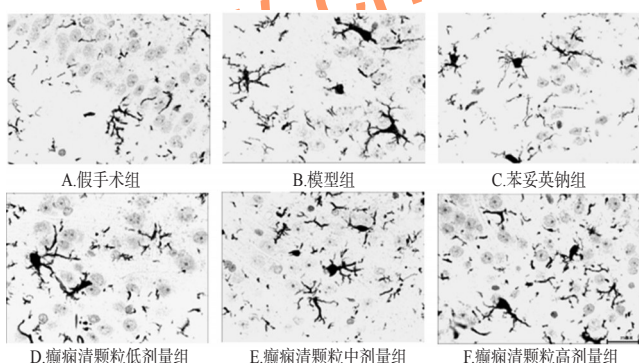


图3 各组大鼠海马组织中Iba-1表达的切片图(免疫组化染色,×400)

Fig 3 Slice diagram of Iba-1 expressions in hippocampus tissue of rats in each group (immunohistochemical staining, ×400)

影像神经细胞的数量。因此,常根据神经细胞的数量差异来判别神经细胞损伤程度。苯妥英钠除了是经典的抗癫痫药外,还可减轻癫痫发作时的炎症反应<sup>[11]</sup>,故本研究以其为阳性对照。本研究结果显示,苯妥英钠和癫痫清颗粒均可升高KA致癫痫大鼠海马组织中神经元细

胞数量,且高剂量癫痫清颗粒的作用与苯妥英钠接近,提示癫痫清颗粒具有改善神经元损伤的作用。

星型胶质细胞具有调控脑电压及离子通道平衡、保护神经元和分泌神经营养因子的作用。正常情况下,星型胶质细胞胞体较小、分枝细长,呈“静止型”。GFAP是星型胶质细胞的特异性标志物,GFAP表达量的多少可反映其活性的大小<sup>[12]</sup>。当脑组织受到外界损伤时,迅速激活的星型胶质细胞胞体增大、分枝增多,GFAP表达增强,呈“反应型”。罗景华等<sup>[13]</sup>对40例颞叶内侧癫痫患者手术中切除的海马组织进行观察,发现海马各区GFAP表达均增强。在本研究中,模型组大鼠海马组织中GFAP表达明显增强,与上述研究结果一致。与模型组比较,各给药组大鼠海马组织中GFAP的表达明显减弱,提示癫痫清颗粒可能通过降低癫痫大鼠脑组织中GFAP的表达,抑制癫痫大鼠海马组织中星型胶质细胞的激活而发挥抗癫痫作用。

小胶质细胞具有维持神经元细胞环境稳定的作用。一般情况下,小胶质细胞处于静息状态,呈分枝形。当受到外界刺激后,小胶质细胞活化可以从形态上支链状形态通过缩回这些分枝朝着超支链或变形虫样形态转变区分,几个标记物(包括Iba-1、CD11b及Mac-1等)的表达会上调。小胶质细胞活化后具有“两面性”,一面是释放促炎因子、细胞毒素等,此过程为经典途径的M1型毒性机制;另一面则是当疾病发展到一定阶段时,小胶质细胞发挥着清除死亡的神经元和吞噬细胞碎片的作用,此过程为活化的小胶质细胞替代途径的M2型神经保护机制<sup>[14]</sup>。本研究中,模型组大鼠海马组织中Iba-1表达增强,各给药组海马组织中Iba-1表达降低。

炎症反应在癫痫发作过程中具有重要的作用。癫痫动物模型和癫痫患者脑组织中均存在炎症因子的变化。IL-6主要由脑内神经胶质细胞产生,可参与机体的炎症反应、细胞免疫和造血功能调控等。研究发现,癫痫模型大鼠脑组织中IL-6表达会增加<sup>[15]</sup>。然而,也有研究表明,IL-6具有神经保护和营养的作用,其可减轻N-甲基天门冬氨酸对神经元的损伤,抑制神经元细胞凋亡<sup>[16]</sup>。小胶质细胞-凋亡细胞共培养后,IL-1 $\beta$ 及肿瘤坏死因子 $\alpha$ 的mRNA表达水平较正常培养的小胶质细胞显著降低<sup>[16]</sup>。在本研究中,模型组大鼠脑组织IL-6含量降低,笔者推测这可能是由于凋亡细胞的存在,促进了小胶质细胞的吞噬功能并抑制了IL-6的表达。给予癫痫清颗粒后IL-6含量增加,这可能是由于凋亡细胞的数目减少,小胶质细胞吞噬功能下降,从而导致IL-6表达增加,但具体机制尚需要进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] 贾冬,齐越,夏素霞,等.癫痫清片对慢性致痫大鼠海马区氨基酸含量的影响[J].辽宁中医杂志,2009,36(2):303-304.
- [2] Vezzani A, Balosso S, Ravizza T. The role of cytokines in

# 阴炎净洗剂对大鼠接触性皮炎湿疹的防治作用及机制研究<sup>△</sup>

肖作奇<sup>1\*</sup>, 欧阳波<sup>1#</sup>, 肖素希<sup>2</sup>, 潘涛<sup>1</sup>(1.湖南省妇幼保健院药制剂部,长沙 410008;2.中南民族大学生物医学工程学院,武汉 430074)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)28-3931-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.28.12

**摘要** 目的:研究阴炎净洗剂对大鼠接触性皮炎湿疹(ACD)的防治作用及机制。方法:将60只大鼠随机分为空白对照组、模型对照组、阳性对照组(地塞米松)和阴炎净洗剂高、中、低剂量组(分别给予2倍浓缩液、1倍浓缩液和原液),每组10只。除空白对照组外,其余各组大鼠均于腹、背(2 cm×2 cm)部涂布二硝基氯苯复制ACD模型。从造模第9天起,各给药组大鼠背部涂布相应药物100 μL,空白对照组和模型对照组大鼠涂布纯化水100 μL,每天给药3次,连续10 d。给药结束后,对皮肤变应性反应进行评分并测定皮肤肿胀度;采用苏木精-伊红染色观察皮肤病理变化;采用酶联免疫吸附法测定血清中白细胞介素2(IL-2)、IL-4、IL-6和干扰素γ(IFN-γ)含量。结果:与空白对照组比较,模型对照组大鼠变应性反应评分和皮肤肿胀度均显著升高( $P<0.01$ );电镜下可见表皮结痂坏死、真皮层损伤严重、毛囊坏死;血清中IL-2、IL-4、IFN-γ含量显著增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),IL-6含量略有增加( $P>0.05$ )。与模型对照组比较,除阴炎净洗剂低剂量组大鼠皮肤肿胀度、血清中IL-4含量以及各给药组大鼠血清中IL-6含量改善不显著外,其余指标均显著改善( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结论:阴炎净洗剂对大鼠ACD具有一定的防治作用,其机制可能与降低血清中IL-2、IL-4、IFN-γ含量有关。

**关键词** 阴炎净;接触性皮炎湿疹;白细胞介素;干扰素γ;大鼠

## Study on the Prevention and Treatment Effect and Its Mechanism of Yinyan Jing Lotion on Allergic Contact Dermatitis in Rats

XIAO Zuoqi<sup>1</sup>, OUYANG Bo<sup>1</sup>, XIAO Suxi<sup>2</sup>, PAN Tao<sup>1</sup>(1.Dept. of Pharmaceutical Preparations, Hunan Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha 410008, China; 2.College of Biomedical Engineering, South-central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

- the pathophysiology of epilepsy[J]. *Epilepsia*, 2008, 22(6):797-803.
- [3] 余年.炎症反应与癫痫[J].国际神经病学神经外科学杂志,2009,36(4):341-343.
- [4] 肖倩,赵永波.癫痫与炎症因子[J].中国神经免疫和神经病学杂志,2011,18(1):48-50.
- [5] 贾冬,齐越,湛鸿利,等.癫痫清片对戊四唑大鼠点燃模型的影响[J].中华中医药学刊,2009,27(2):308-310.
- [6] 黄寓,薛彦杰,齐越,等.癫痫清颗粒对戊四唑点燃癫痫大鼠行为学及脑内NMDAR2B、c-fos表达的影响[J].中华中医药学刊,2016,34(6):1319-1322.
- [7] 韦丹,齐越,张冰冰,等.白细胞介素-4水平在海人藻酸致痫大鼠海马内表达动态规律变化研究[J].辽宁中医杂志,2015,42(3):648-650.
- [8] 康凯,齐越,韦丹,等.癫痫清颗粒对海人藻酸致痫大鼠海马内肿瘤坏死因子及白细胞介素-4表达的影响[J].辽宁中医杂志,2015,42(10):1996-1998.
- [9] 刘小虎,向绍杰,齐越,等.戊四唑急性癫痫模型海马病理组织的变化[J].中国药理学通报,2015,31(4):514-518.
- [10] 张冰冰,齐越,韦丹,等.癫痫清颗粒对海人藻酸致痫大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量及学习记忆能力的影响[J].中华中医药学刊,2016,34(3):609-611.
- [11] 肖娟,赵慧,刘福祥.苯妥英钠性牙髓增生的病理机制[J].国际口腔医学杂志,2012,39(2):260-264.
- [12] 梁益,孙红斌,喻良,等.全蝎醇提物对慢性癫痫模型大鼠海马GFAP mRNA表达的影响[J].中国药房,2012,23(43):4033-4036.
- [13] 罗景华,任榕娜,杨朋范.颞叶内侧癫痫患者海马区胶质细胞中GFAP、GLAST和GLT的表达[J].国际神经病学神经外科学杂志,2009,36(6):475-478.
- [14] Elisabetta P, Barbara M. Neuroprotection: from in vitro studies to therapeutic applications[J]. *Progress Neurobiol*, 2010,92(3):293-315.
- [15] 杨宏宇,邵雪,黄程,等.颞叶内侧癫痫伴海马硬化与脑脊液细胞因子关系的研究[J].华西医学,2015,30(4):609-612.
- [16] 聂盼,刘勇,杨学森,等.小胶质细胞体外吞噬模型的建立及相关炎症因子的研究[J].中国病理生理杂志,2011,27(9):1848-1851.

△基金项目:湖南省中医药科研计划项目(No.201671)

\*主管药师,博士。研究方向:中药物质基础及活性研究。电话:0731-84332262。E-mail:xiaozuoqi87@126.com

#通信作者:副主任药师。研究方向:中药研究与开发。电话:0731-88905700。E-mail:1050495772@qq.com

(收稿日期:2017-03-29 修回日期:2017-07-12)

(编辑:林静)