

# 漆大姑水提物外用对慢性皮炎-湿疹模型小鼠的改善作用研究<sup>△</sup>

阮毅铭<sup>1\*</sup>,梅全喜<sup>2#</sup>,关键缨<sup>3</sup>,王书芹<sup>4</sup>,伍军军<sup>5</sup>,陈剑波<sup>5</sup>,曹崇波<sup>5</sup>(1.广州中医药大学附属中山市中医院药学部,广东中山 528400;2.广州中医药大学附属中山市中医院科教科,广东中山 528400;3.广州中医药大学附属中山市中医院皮肤科,广东中山 528400;4.广州中医药大学附属中山市中医院病理科,广东中山 528400;5.广州中医药大学实验动物中心,广州 510006)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)11-1536-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.11.23

**摘要** 目的:考察漆大姑水提物外用对慢性皮炎-湿疹模型小鼠的改善作用,为开发一种皮肤科新药提供参考。方法:将60只小鼠按体质量和性别随机分为空白组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、复方醋酸曲安奈德组(阳性对照,原液)和漆大姑水提物高、中、低浓度组(以生药量计分别为2.0、1.0、0.5 g/mL),每组10只。除空白组外,其余各组小鼠均以2,4-二硝基氯苯诱导复制慢性皮炎-湿疹模型。于实验第3天开始,每天7:00和15:00分别在鼠右耳正反面涂抹相应药物2次,每次15 μL,连续用药12 d。于实验第10、13、16天,计算小鼠右耳厚度差(与实验前的差值),并记录小鼠30 min内对耳部的搔抓次数;于实验第16天,测定小鼠的耳肿胀度,计算小鼠的胸腺指数和脾指数,并在光学显微镜下观察小鼠耳组织病理学变化。结果:与空白组比较,模型组小鼠右耳厚度差、耳肿胀度、脾指数、搔抓次数均明显增加( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );耳组织发生表皮棘层明显增厚,细胞明显增生,表皮中可见海绵样水肿等病理学改变。与模型组比较,除漆大姑水提物低剂量组小鼠在实验第16天的右耳厚度差和在实验第10、16天对耳部的搔抓次数以及漆大姑水提物中、低浓度小鼠胸腺指数减少不显著外,其余组各指标均显著减少( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );各给药组小鼠耳组织的病理学变化均得到一定改善。结论:漆大姑水提物外用对小鼠慢性皮炎-湿疹有较好的改善作用,值得进一步开发研究。

**关键词** 漆大姑水提物;慢性皮炎-湿疹模型;小鼠

- [5] 朱云,刘树红,王伽伯,等.何首乌及其制剂导致药物性肝损伤的临床分析[J].中国中西医结合杂志,2015,35(12):1442-1447.
- [6] 张力,杨晓晖,邓媛媛.何首乌及其制剂国外安全性信息的评价与思考[J].中国中药杂志,2009,34(18):2414-2418.
- [7] 葛珍珍,张超,冯光远,等.何首乌提取物对正常与荷肝癌小鼠的急性肝毒性研究[J].中国药房,2014,25(15):1358-1361.
- [8] 覃鲁珊,赵海平,赵艳玲,等.大黄蒽醌与鞣质对大鼠肝脏的保护和损伤双向作用[J].中国中西医结合杂志,2014,34(6):698-703.
- [9] 马喆,赵珺睿,董冉冉,等.基于高内涵分析技术的何首乌提取物及其主要成分肝毒性研究[J].中草药,2016,47(22):4021-4029.
- [10] LI HL, WANG XB, LIU Y, et al. Hepatoprotection and hepatotoxicity of Heshouwu, a Chinese medicinal herb: Context of the paradoxical effect[J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 108(Pt B):407-418.
- [11] 吕旻,王伽伯,嵇扬,等.提取溶剂对何首乌肝细胞毒性的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):268-272.
- [12] LIN LF, NI B, LIN HM, et al. Traditional usages, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Polygonum multiflorum* Thunb.: A review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 159(15):158-183.
- [13] LV GP, MENG LZ, HAN DQ, et al., Effect of sample preparation on components and liver toxicity of *Polygonum multiflorum*[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 109(10):105-111.
- [14] 胡锡琴,李敏,杨红莲,等.何首乌中鞣质与二苯乙烯苷不同配比对大鼠肝功能指标的影[J].上海中医药杂志,2011,45(4):56-59.
- [15] 胡锡琴,李娅琳,王磊.何首乌中鞣质对大鼠肝脏生化指标的影响[J].药物评价研究,2010,33(1):63-65.
- [16] LP SP, TSE ASM, POON MKT, et al. Antioxidant activities of *Polygonum multiflorum* Thunb: in vivo and in vitro [J]. *Phytother Res*, 1997, 11(1):42-44.
- [17] 翟旭峰,李柯,娄勇军,等.中药何首乌炮制前后特征化学成分的分析[J].中南药学,2016,14(7):704-708.
- [18] 马致洁,李晓菲,吕旻,等.基于肝细胞毒价检测的何首乌炮制工艺比较研究[J].中国中药杂志,2015,40(12):2325-2329.
- [19] ZHU ZW, LI J, GAO XM, et al. Simultaneous determination of stilbenes, phenolic acids, flavonoids and anthraquinones in *Radix polygoni multiflori* by LC-MS/MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 62(2):162-166.
- [20] LIANG ZT, CHEN HB, YU ZL, et al. Comparison of raw and processed *Radix Polygoni Multiflori* (Heshouwu) by high performance liquid chromatography and mass spectrometry[J]. *Chinese Medicine*, 2010, 12(5):29-37.
- [21] 卫生部药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 1963年版.北京:人民卫生出版社,1964:141-142.
- [22] 卫生部药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 1977年版.北京:人民卫生出版社,1978:430-431.
- [23] WU XQ, CHEN XZ, HUANG QC, et al. Toxicity of raw and processed roots of *Polygonum multiflorum*[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(3):469-475.

<sup>△</sup> 基金项目:中山市科技计划资助项目(No.2015B1018)

\* 副主任药师,硕士研究生。研究方向:医院药学、中药抗过敏。

E-mail:871748596@qq.com

# 通信作者:主任中药师,教授,博士生导师。研究方向:广东地产药材药理研究与制剂开发。E-mail:meiquanxi@163.com

(收稿日期:2017-08-29 修回日期:2017-11-08)

(编辑:刘 萍)

## Study on Improvement Effect of External Administration of Water Extract from *Eriocarpus Glochidion* on Chronic Dermatitis-eczema Model Mice

RUAN Yiming<sup>1</sup>, MEI Quanxi<sup>2</sup>, GUAN Jianying<sup>3</sup>, WANG Shuqin<sup>4</sup>, WU Junjun<sup>5</sup>, CHEN Jianbo<sup>5</sup>, CAO Chongbo<sup>5</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Zhongshan Hospital of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528400, China; 2. Dept. of Science and Education, Zhongshan Hospital of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528400, China; 3. Dept. of Dermatological, Zhongshan Hospital of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528400, China; 4. Dept. of Pathology, Zhongshan Hospital of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528400, China; 5. Experimental Animal Center, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To investigate improvement effect of external administration of water extract from *Eriocarpus Glochidion* on chronic dermatitis-eczema model mice, and to provide reference for developing new dermatological drug. **METHODS:** A total of 60 mice were randomly divided into blank group (distilled water), model group (distilled water), compound triamcinolone acetonide acetate group (positive control group, original liquid), high-concentration, medium-concentration and low-concentration groups of water extract from *Eriocarpus Glochidion* (2.0, 1.0, 0.5 g/mL, calculated by crude drug), 10 mice in each group. Except for blank group, other groups were given 2,4-dinitrochlorobenzene to induce chronic dermatitis-eczema model. Since the third day of the experiment, two sides of right ears of the mice were given relevant medicine twice at 7:00 and 15:00, 15  $\mu$ L each time, for consecutive 12 d. In the tenth, thirteenth, sixteenth day of the experiment, the difference of thickness of right ears of the mice was calculated (the difference value before experiment), the times of scratching in ear of mice were recorded within 30 min. In sixteenth day of the experiment, ear swelling degree of mice was determined, and thymus index and spleen index in mice were calculated. Optical microscope was used to observe the pathological changes of ear tissues of mice. **RESULTS:** Compared with blank group, the difference of thickness of right ears, ear swelling degree, spleen index and scratching times were increased significantly in model group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The epidermis of the ear tissue was thickened, the cell proliferation was obvious, and cavernous edema was found in the epidermis. Compared with model group, other indexes in were decreased significantly, except that the difference value of thickness of right ears in sixteenth day of the experiment, scratching times in ninth and fifteenth day of the experiment were decreased slightly in low-concentration group of water extract from *Eriocarpus Glochidion* and the thymus index and spleen index in medium-concentration, low-concentration groups of water extract from *Eriocarpus Glochidion* ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The pathological changes of ear tissue were improved in administration groups to certain extent. **CONCLUSIONS:** External administration of water extract of *Eriocarpus Glochidion* has good improvement effect against chronic dermatitis-eczema in mice, which is worthy of further development and investigation.

**KEYWORDS** Water extract from *Eriocarpus Glochidion*; Chronic dermatitis-eczema model; Mice

慢性皮炎-湿疹是临床常见的一种迟发型超敏反应性皮肤病<sup>[1]</sup>,目前主要是采用局部治疗加全身抗过敏治疗。其中,局部治疗主要以皮肤外用糖皮质激素类药物为主;全身治疗主要使用H<sub>1</sub>受体拮抗药,严重者使用糖皮质激素等免疫抑制剂。但这些药物均存在作用环节单一、不良反应较大、易复发等问题,如糖皮质激素类可以抑制迟发型超敏反应,是当前治疗慢性皮炎-湿疹的最常用药物,临床上也取得了明显的效果,但无论是局部外用还是全身用药,若长期使用均表现出明显的副作用<sup>[2-4]</sup>。此外,长时间应用还会导致快速减敏或耐受现象<sup>[5]</sup>,而目前使用的抗组胺药(H<sub>1</sub>受体拮抗药)均为抗I型变态反应的药物,但本病是迟发型超敏反应,抗组胺药也只能起到暂时缓解瘙痒的作用,并不能改善局部炎症浸润,故抗组胺药在临床应用上受到了极大的限制。相比之下,中医药对慢性皮炎-湿疹的治疗独具优势,能通过多靶点、多种途径发挥作用。

漆大姑为大戟科植物毛果算盘子的枝叶,又名毛漆、漆大伯、毛果算盘子等,具有驱风利湿、止血、散瘀、消肿的功效,分布于福建、广东、海南、广西等地,南方部分地区民间将其用于治疗生漆过敏、稻田皮炎、皮肤瘙痒、荨麻疹和湿疹等病症,用药方式为鲜用或干叶煎水外洗<sup>[6-7]</sup>。《山草药指南》记载:“凡患漆疮皮肤红肿作痒,取其叶煎水洗一、二次即愈”<sup>[8]</sup>。以上报道提示漆大姑有治疗过敏性皮肤病的功用,但都是经验用药未进行药理研究,国内外亦未见漆大姑外用治疗慢性皮炎-湿疹的药效学相关研究。本课题组前期的药理研究已证实,漆大姑具有抗皮肤迟发型超敏反应的作用<sup>[9]</sup>,而皮炎-湿疹的发病原因就是皮肤的一种迟发型超敏反应。因此,本研究自制漆大姑水提物,通过研究其对慢性皮炎-湿疹模型小鼠的改善作用,为进一步利用漆大姑开发一种安全、有效、副作用小的皮肤科新药提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

BP211D电子天平(德国赛多利斯公司);游标卡尺(哈尔滨量具刃具集团有限公司);旋转蒸发器(巩义市英峪高科仪器厂);DSX100光学显微镜(日本奥林巴斯公司)。

### 1.2 药材、药品与试剂

漆大姑枝叶于2016年9月份采自广东省中山市五桂山,样品经中山市中医院曾聪彦主任中药师鉴定为真品;复方醋酸曲安奈德溶液(广东恒诚制药有限公司,批号:1608407,规格:0.001 g/mL);2,4-二硝基氯苯(DNCB,美国Sigma公司,批号:STBF4847V,纯度:99%);丙酮(天津市富宇精细化工有限公司,批号:20160626,纯度:99.9%);1,2-丙二醇(天津市富宇精细化工有限公司,批号:20161012,分析纯);橄榄油(国药集团化学试剂有限公司,批号:20160912,分析纯)。

### 1.3 动物

SPF级KM小鼠60只,18~22 g,♀♂各半,由广州中医药大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2013-0034。实验过程中,小鼠自由摄水和摄食,环境温度控制在20~22℃,湿度控制在55%~60%,正常光照。

## 2 方法

### 2.1 漆大姑水提物的制备

取漆大姑干燥枝叶1 000 g,粉碎成粗粉,加入10倍量的蒸馏水浸泡60 min后煎煮,沸后用文火煮60 min,滤出煎液;滤渣加8倍量水,沸后再用文火煮60 min,滤出煎液。合并2次滤液,4℃贮藏24 h后抽滤,在70℃旋转蒸发器中浓缩滤液至450 mL(提取率为31.6%),4℃贮藏。临用前,分别加入蒸馏水和体积分数为7.0%的药用1,2-丙二醇(作透皮促进剂),制备成高、中、低浓度(分别含漆大姑生药2.0、1.0、0.5 g/mL)的药液(给药剂量根据前期预实验结果和文献[9]确定)。

### 2.2 造模

于实验前1天,用剃毛剪对KM小鼠进行腹部脱毛,裸露皮肤面积约3 cm×2 cm。正式实验当天(d0),用微量移液器移取6% DNCB-丙酮橄榄油溶液100 μL,均匀涂抹于小鼠裸露皮肤处致敏,次日再加强致敏1次,5 d后在小鼠右耳正、反两侧均匀涂抹1% DNCB-丙酮橄榄油溶液各10 μL激发,同时在左耳涂等量的丙酮橄榄油溶液作对照,每隔3天激发1次,共激发3次<sup>[10-11]</sup>。

### 2.3 分组与给药

将60只小鼠按体质量和性别随机分为6组,每组10只,分别为空白组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、复方醋酸曲安奈德溶液组(阳性对照,原液)和漆大姑水提物高、中、低浓度组。除空白组外,其余5组小鼠均按“2.2”项

下方法造模。于实验第3天开始给药,均外涂于小鼠右耳正、反两面,每次用量共计15 μL(给药剂量是根据前期的预实验确定),每天7:00和15:00各给药1次,连续给药12 d(若于激发当日,则在激发前2 h给药)。

### 2.4 漆大姑水提物对模型小鼠右耳厚度差的影响

先用游标卡尺根据单盲法测量致敏前(d0)以及实验第9、12、15天每次激发24 h后(d10、d13、d16)小鼠右耳中部厚度,计算每次激发后与致敏前的右耳厚度差,以观察漆大姑枝叶水提物对模型小鼠耳组织炎症肿胀的改善情况。

### 2.5 漆大姑水提物对模型小鼠耳部搔抓次数的影响

先记录致敏前30 min内小鼠对耳部的搔抓次数,小鼠后爪对耳部搔或抓1下,每个动作记1次,连续抓或搔几下就记几次;前肢的活动以及后爪对面、耳部附近、腹部等处的搔抓则不作统计。以“2.4”项下小鼠右耳厚度差测定的时间为节点,顺延30 min观察小鼠由于右耳慢性皮炎-湿疹引发瘙痒导致抓搔耳部的情况,记录30 min内小鼠对耳部的搔抓次数。

### 2.6 漆大姑水提物对模型小鼠耳肿胀度的影响

末次激发后24 h,搔抓动作观察完毕后,颈椎脱臼处死小鼠,拭净小鼠耳残留药物,肉眼观察耳大体情况后沿耳廓基线剪下完整双耳,用直径0.8 cm的金属打孔器在左、右耳中部的同一位置打孔取圆形耳片,立即用电子分析天平精确称量耳片质量,并计算耳肿胀度[耳肿胀度(mg)=右耳片质量(mg)-左耳片质量(mg)]及肿胀抑制率[耳肿胀抑制率(%)=(模型组耳肿胀度-给药组耳肿胀度)/模型组耳肿胀度×100%]。

### 2.7 漆大姑水提物对模型小鼠胸腺指数和脾指数的影响

处死小鼠,分离小鼠胸腺和脾组织,称质量,计算胸腺(脾)指数[胸腺(脾)指数=胸腺(脾)质量(mg)/体质量(g)×10]。

### 2.8 漆大姑水提物对模型小鼠耳组织病理学的影响

分别将各组小鼠切下的右耳片放入10%中性缓冲福尔马林溶液中固定,浸蜡,包埋,常规制成5 μm的石蜡切片。切片行苏木精-伊红(HE)染色后,在光学显微镜下观察耳组织病理学变化。

### 2.9 统计学方法

采用SPSS 17.0统计学软件进行分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,方差齐性者组间两两比较采用LSD检验,方差不齐者采用Dennett's检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 小鼠激发后与致敏前右耳厚度差测定结果

与空白组比较,模型组小鼠激发后右耳厚度差均明显增加( $P < 0.01$ )。与模型组比较,复方醋酸曲安奈德溶液组和漆大姑水提物各浓度组小鼠的右耳厚度差均

不同程度地减小,除漆大姑水提物低浓度组小鼠在实验第16天的右耳厚度差减小不明显外,其余各组差异均有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),结果见表1。

表1 各组小鼠右耳厚度差测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}$ )

Tab 1 Difference of right ear thickness in mice in each group( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}$ )

组别	d0	右耳厚度差,mm		
		d10-d0	d13-d0	d16-d0
空白组	0.160±0.003	0.018±0.004	0.018±0.002	0.020±0.002
模型组	0.161±0.004	0.075±0.007**	0.128±0.004**	0.181±0.012**
复方醋酸曲安奈德溶液组	0.162±0.003	0.044±0.007**	0.073±0.013**	0.121±0.013**
漆大姑水提物高浓度组	0.159±0.003	0.049±0.005**	0.090±0.009**	0.143±0.019**
漆大姑水提物中浓度组	0.162±0.002	0.053±0.008**	0.097±0.011**	0.166±0.017*
漆大姑水提物低浓度组	0.161±0.004	0.066±0.006**	0.119±0.010*	0.174±0.019

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

### 3.2 小鼠30 min内耳部搔抓次数测定结果

与正常组比较,模型组小鼠耳部涂抹1%DNCB-丙酮溶液激发后,小鼠由于瘙痒出现明显搔抓患耳现象,并在24 h内达到最高峰,随后缓慢下降;随着再次激发和激发次数的增加,搔抓次数明显增加( $P<0.01$ ),表明瘙痒模型适用。与模型组比较,漆大姑水提物高、中浓度组小鼠在d10、d13、d16时对耳部的搔抓次数以及漆大姑水提物低浓度组小鼠在d13时对耳部的搔抓次数均显著减少( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );且漆大姑水提取高浓度组小鼠在d10、d13、d16时对耳部的搔抓次数显著少于复方醋酸曲安奈德溶液组( $P<0.05$ ),表明漆大姑水提物在达到一定浓度时,止痒效果比复方曲安奈德溶液好,结果见表2。

表2 各组小鼠对耳部的搔抓次数测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{次}/30 \text{ min}$ )

Tab 2 Determination results of scratching times of ear in mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{times}/30 \text{ min}$ )

组别	d0	d10	d13	d16
空白组	1.0±0.6	1.1±1.0	0.9±0.7	0.8±0.6
模型组	0.8±0.5	41.1±2.3**	44.1±2.3**	47.7±3.1**
复方醋酸曲安奈德溶液组	0.9±0.7	37.8±2.7**	40.3±2.0**	42.7±2.2**
漆大姑水提物高浓度组	0.8±0.6	35.3±3.2** <sup>Δ</sup>	38.3±11.6** <sup>Δ</sup>	39.3±1.9** <sup>Δ</sup>
漆大姑水提物中浓度组	0.7±0.4	38.3±1.6**	40.9±2.6**	43.9±3.0*
漆大姑水提物低浓度组	0.8±0.8	39.3±1.9	41.7±2.5*	45.8±3.6

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与复方醋酸曲安奈德溶液组比较,<sup>Δ</sup> $P<0.05$

Note: vs. blank group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; vs. compound triamcinolone acetonide acetate group, <sup>Δ</sup> $P<0.05$

### 3.3 小鼠耳肿胀度测定结果

与空白组比较,模型组小鼠耳肿胀度显著增加( $P<0.01$ )。与模型组比较,复方醋酸曲安奈德溶液组和漆大姑水提物各浓度组小鼠耳肿胀度均显著减少( $P<0.05$

或 $P<0.01$ );其中,复方醋酸曲安奈德溶液组和漆大姑水提物高浓度组小鼠的耳肿胀抑制率超过50%,结果见表3。

表3 各组小鼠耳肿胀度和耳肿胀抑制率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 3 Ear swelling degree and inhibitory rate of ear swelling in mice in each group( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	耳肿胀度,mg	耳肿胀抑制率,%
空白组		
模型组	6.38±1.15**	
复方醋酸曲安奈德溶液组	2.53±0.61**	60.3
漆大姑水提物高浓度组	3.02±0.71**	52.6
漆大姑水提物中浓度组	3.84±0.63**	39.8
漆大姑水提物低浓度组	5.50±0.78*	13.8

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

### 3.4 小鼠胸腺指数和脾指数测定结果

与空白组比较,模型组小鼠胸腺指数有所增加,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),脾指数显著增加( $P<0.05$ )。与模型组比较,复方醋酸曲安奈德溶液组和漆大姑水提物高浓度组小鼠的胸腺指数以及复方醋酸曲安奈德溶液组和漆大姑水提物各浓度组小鼠的脾指数均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),结果见表4。

表4 各组小鼠胸腺指数和脾指数测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 4 Determination results of thymus index and spleen index in mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	胸腺指数,g/10 g	脾指数,g/10 g
空白组	0.316±0.012	0.321±0.022
模型组	0.322±0.037	0.331±0.036*
复方醋酸曲安奈德溶液组	0.278±0.034**	0.164±0.020**
漆大姑水提物高浓度组	0.287±0.026*	0.268±0.016**
漆大姑水提物中浓度组	0.298±0.045	0.279±0.023**
漆大姑水提物低浓度组	0.305±0.026	0.300±0.026**

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

Note: vs. blank group, \* $P<0.05$ ; vs. model group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

### 3.5 小鼠耳片组织病理学观察结果

与空白组比较,模型组小鼠耳表皮棘层明显增厚,细胞明显增生,表皮中可见海绵样水肿,周围可见明显的炎性细胞浸润,表皮细胞角化过度;真皮中血管明显充血,周围可见淋巴细胞及嗜酸性粒细胞浸润。复方曲安奈德溶液组小鼠耳表皮局部可见棘层轻微增厚,表皮未见海绵样水肿也未见水泡;真皮下血管周围未见明显的淋巴细胞及嗜酸性粒细胞浸润。漆大姑水提物高浓度组小鼠耳表皮棘层稍微增厚,可见轻微海绵样水肿;真皮血管周围可见少量淋巴细胞及嗜酸性粒细胞的浸润。漆大姑水提物中浓度组小鼠耳表皮棘层增厚,可

见海绵样水肿,但未见水泡;真皮下血管周围可见淋巴细胞和嗜酸性粒细胞浸润,血管轻微充血。漆大姑水提物低浓度组小鼠耳表皮棘层明显增厚,可见海绵样水肿,细胞角化过度;真皮血管周围可见明显淋巴细胞及嗜酸性粒细胞浸润,血管充血,结果见图1、图2。

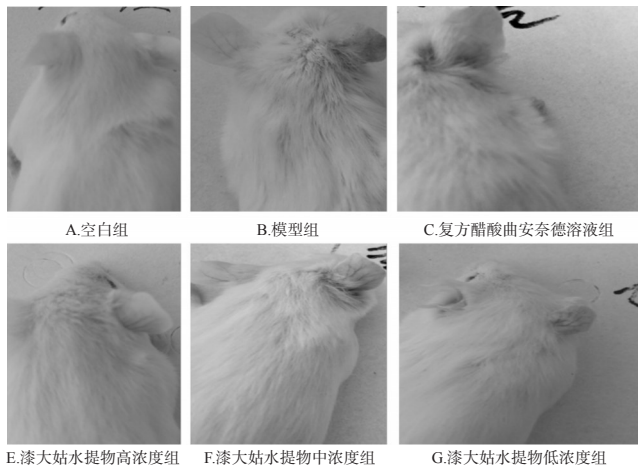


图1 各组小鼠耳组织大体观察结果

Fig 1 General observation of ear tissue of mice in each group

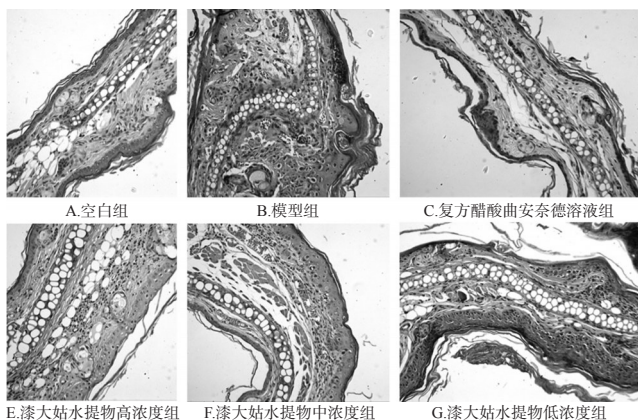


图2 各组小鼠耳组织病理学观察结果( $\times 400$ )

Fig 2 Pathological observation of ear tissue of mice in each group( $\times 400$ )

#### 4 讨论

慢性皮炎-湿疹为人类常见病、多发病,其发病机制与机体迟发型变态反应有关。本研究采用DNCB致敏并反复激发复制小鼠慢性皮炎-湿疹模型,造模后小鼠耳廓局部病理特征与文献报道<sup>[10-13]</sup>基本一致,提示造模成功,而且局部病理改变与人类慢性皮炎-湿疹类似,可用于评价药物疗效。复方醋酸曲安奈德溶液为糖皮质激素药,是目前公认的有效治疗慢性皮炎、慢性湿疹等过敏性皮肤病的常用外用药,故在本研究中笔者以其为阳性对照。

胸腺是T淋巴细胞发育成熟的场所,是机体中枢免疫器官,主要参与细胞免疫;脾是身体最大的外周免疫器官,含有大量的免疫细胞,成熟的B淋巴细胞大量聚

集于此,因此其与机体的体液免疫关系更为密切,也更容易受到糖皮质激素等药物的抑制,湿疹患者的细胞免疫及体液免疫功能往往存在显著异常。临床试验和动物研究已经证实,免疫功能异常是皮炎-湿疹发病的重要环节<sup>[14-15]</sup>。慢性皮炎-湿疹多由急性皮炎-湿疹或亚急性皮炎-湿疹转化而来<sup>[16]</sup>,机体的胸腺指数和脾指数与体质量成正比,是反映胸腺、脾免疫功能的重要指标,胸腺指数和脾指数的改变又直接反映了机体免疫功能状态的变化<sup>[17]</sup>。本研究发现,模型组小鼠的胸腺指数及脾指数均高于空白组,其中脾指数差异有统计学意义( $P < 0.05$ );各给药组小鼠胸腺指数和脾指数均较模型组不同程度降低,其中尤以脾指数降低较为明显,且差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。同时,慢性皮炎-湿疹模型小鼠的病理状态也在逐渐改善。这提示机体免疫功能的改变与慢性皮炎-湿疹的发生密切相关,漆大姑枝叶水提物能够降低模型小鼠增加的胸腺指数及脾指数,在这方面与复方醋酸曲安奈德溶液药效相似,其机制可能与免疫抑制作用有关。迟发型超敏反应是由特异性致敏效应T细胞介导的细胞免疫应答的一种类型,细胞免疫缺陷和无胸腺的裸鼠不会发生该型变态反应<sup>[18]</sup>,而自身免疫病和过敏反应都是由于免疫系统对外来物质异常敏感。因此,笔者推断,漆大姑水提物对小鼠慢性皮炎-湿疹的防治有可能是通过调节免疫功能而发挥作用的,并非单纯的局部作用,至于具体的作用机制还有待进一步研究。

陈蕾等<sup>[19]</sup>和 Yamashita H 等<sup>[20]</sup>在研究中均发现,慢性皮炎-湿疹模型组小鼠在激发后各时间点搔抓耳部的次数明显多于空白对照组,搔抓动作时程与迟发型变态反应过程类似,而且空白对照组小鼠几乎没有搔抓耳部的动作,因而认为DNCB诱发的搔抓行为是皮肤的迟发型变态反应伴随发生的瘙痒反应。所以在本研究中,另外增加了小鼠30 min内搔抓右耳次数这一观察项目,可直观地反映受试药物对模型小鼠的止痒效果。在临床中,“瘙痒-搔抓-苔藓化”的恶性循环状态是慢性皮炎-湿疹患者的常见表现,控制瘙痒是减轻痛苦的关键。采用药物外用治疗时,药物要穿透皮肤角质层到达病灶才能起作用,故在药物外用时应考虑到增加药物对皮肤的渗透力和止痒力,因为剧烈的瘙痒是慢性皮炎-湿疹患者最主要的困扰症状,所以外用药的止痒作用一定要明显有效、止痒起效时间短,故本研究中各浓度的漆大姑水提物中均含有体积分数为7%的1,2-丙二醇作为透皮促进剂<sup>[21]</sup>,可增强受试药对皮肤角质层的渗透能力,较好地发挥药物疗效。本研究结果还显示,高浓度漆大姑水提物在改善慢性皮炎-湿疹模型小鼠耳肿胀度及淋巴细胞浸润方面稍逊于复方醋酸曲安奈德溶液,但在减少模型小鼠搔抓次数方面强于复方醋酸曲安奈德溶液( $P <$

0.05),表明漆大姑水提物在达到一定浓度后止痒效果较好。

由于皮炎湿疹病位在表,病灶外露,通过中药外用治疗患处,药物的有效成分能经由皮肤、汗腺、毛囊吸收后直达病灶部位,提高病灶部位的药物有效浓度,疗效稳固、持久,既避免了内服药物的首关效应和不良反应,又提高了药物的疗效和患者用药的依从性。而且外用药物还可以通过肌腠毛窍,转运至全身,同时达到内外共治作用<sup>[22-23]</sup>。本研究在用药期间,小鼠脾指数的显著变化可能与此有关。

综上所述,漆大姑水提物对慢性皮炎-湿疹模型小鼠具有较好的改善作用,可通过抑制炎症、消肿止痒来改善症状,并可明显地抑制免疫器官指数的增加,有望开发成一种治疗慢性皮炎-湿疹的外用药物,但其具体的作用机制还有待进一步研究。

### 参考文献

[1] 赵辨.临床皮肤病学[M].3版.南京:江苏科学技术出版社,2001:604.

[2] 唐苏为,谢韶琼,宋勋,等.青鹏软膏封包治疗慢性湿疹疗效观察[J].世界临床药物,2016,37(1):38-41.

[3] 李海英,尹玉清,李衍炼.复方甘草酸苷联合盐酸非索非那定治疗面部激素依赖性皮炎的临床观察[J].中国药房,2015,26(5):672-674.

[4] 薛焱,刘欣媛,高洪波,等.长叶红砂治疗湿疹皮炎的机理研究[J].中药药理与临床,2017,33(3):120-123.

[5] 李苏,陈洁,李斌,等.芩珠凉血合剂对湿疹患者外周血GR $\alpha$ 受体的影响[J].云南中医学院学报,2016,39(1):17-20.

[6] 广州部队后勤部卫生部.常用中草药手册[M].北京:人民卫生出版社,1969:826-827.

[7] 黄红泓,甄汉深,柳贤福.毛果算盘子提取工艺及没食子酸含量测定[J].医药导报,2015,34(3):392-394.

[8] 胡真.山草药指南[M].广州:广东科技出版社,2009:142-143.

[9] 阮毅铭,彭伟文,梅全喜,等.漆大姑抗炎、抗过敏和止痒作用的实验研究[J].中药药理与临床,2017,33(5):109-110.

[10] 彭伟文,王英晶,王书芹,等.黑面神枝叶水提物治疗小鼠慢性皮炎-湿疹疗效观察[J].时珍国医国药,2014,25

(12):2954-2956.

[11] 陈佳,郭敏,周黎吻,等.野菊花提取物对小鼠湿疹模型Th1/Th2免疫功能的影响[J].中成药,2018,40(2):440-443.

[12] 陈平,杨志波,王万春,等.湿疹纳米乳膏治疗慢性湿疹的抗炎实验研究[J].江西中医药大学学报,2016,28(6):74-76.

[13] 朱学骏,涂平.皮肤病的组织病理诊断[M].2版.北京:北京医科大学出版社,2001:57,65.

[14] 王远志,蒙秉新,谭茜.氯雷他定联合白芍总苷对慢性湿疹患者免疫功能及细胞因子的影响[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2018,17(1):9-11,18.

[15] 张曼卡,马慧敏,张健,等.功能未知基因C6orf120缺失对自身免疫性肝炎大鼠CD4<sup>+</sup>T细胞活化的影响[J].中国肝脏病杂志:电子版,2017,9(3):49-53.

[16] MEAGHER LJ, WINES NY, COOPER AJ. Atopic dermatitis: review of immunopathogenesis and advances in immunosuppressive therapy[J]. *Australas Dermatol*, 2002, 43(2):247-254.

[17] 李覃,董小青,王翼腾,等.土槿乙酸抑制接触性超敏反应的药效学研究及机制探讨[J].中国药理学通报,2014,30(11):1552-1557.

[18] 吕世静.临床免疫学检验[M].北京:中国医药科技出版社,2004:363-365.

[19] 陈蕾,杨艳平,樊翌明. P物质和一氧化氮在致BALB/c小鼠变应性接触性皮炎模型瘙痒中的作用[J].皮肤性病诊疗学杂志,2010,17(3):182-186.

[20] YAMASHITA H, MAKINO T, MIZUKAMI H, et al. Pharmacological characterization of a chronic pruritus model induced by multiple application of 2, 4, 6-trinitrochlorobenzene in NC mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 563(1/2/3):233-239.

[21] 韩莉,王平,刘善新,等.不同促透剂对人参皂苷Rg<sub>1</sub>体外透皮吸收的影响[J].药学研究,2014,33(7):391-394.

[22] 苗明三,于舒雁.首乌藤外用对动物迟发超敏反应的影响[J].中药药理与临床,2014,30(3):101-104.

[23] 苗明三,于舒雁,魏荣瑞.锦灯笼外用对湿疹模型的影响[J].中药药理与临床,2014,30(5):108-111.

(收稿日期:2017-11-28 修回日期:2018-03-24)

(编辑:林静)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅