

犀角(水牛角)地黄汤对急性皮炎及变态反应性皮炎动物模型作用的实验研究

张云璧^{1,2}, 瞿 幸², 任 映², 李曰庆^{2*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究犀角地黄汤对急性皮肤炎症及迟发型变态反应性皮炎的作用, 探讨其治疗皮肤病血热证的治疗作用及作用机理。方法: 选用二甲苯致小鼠耳肿胀模型、二硝基氯苯诱导的迟发型变态反应性皮炎小鼠模型, 观察犀角地黄汤对小鼠耳肿胀度及胸腺、脾指数及血清中 IFN- γ 的影响。结果: 犀角地黄汤组二甲苯所致的小鼠耳肿胀有所减轻, 但与模型组比较无明显差异。犀角地黄汤大剂量组能够显著抑制二硝基氯苯诱导的小鼠耳肿胀, 与模型组相比较有明显差异。而大剂量组能够抑制小鼠脾指数的增高及血清中 IFN- γ 的增高, 与模型组比较有明显差异。结论: 犀角地黄汤对二甲苯刺激导致的急性皮肤炎症作用不明显, 而对小鼠迟发型变态反应性皮炎具有明显的抑制作用。

[关键词] 犀角地黄汤; 皮肤炎症; 变态反应

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)03-0061-03

犀角地黄汤源于《千金备急药方》, 其功效主要为凉血散瘀, 清热解毒, 已被公认为治疗温病血分证的代表方剂。近年来临床应用犀角地黄汤治疗皮肤病报道甚多, 疗效满意。因犀角属珍稀药材, 目前临床多用水牛角代替, 水牛角功效似犀角, 由《中国药典》^[1] 记载, 今人应用犀角地黄汤多以其代犀角, 用于治疗多种炎症性、变态反应性皮肤病, 同样能取得较为满意的疗效^[2,3]。这些皮肤病的共同临床表现为皮损鲜红灼热, 病理表现均为皮肤炎症, 故推测犀角(水牛角)地黄汤治疗炎症性、变态反应性皮肤病作用机制可能与其抗炎、抗变态反应作用有关。本研究选用二甲苯致小鼠耳肿胀模型、二硝基氯苯诱导的迟发型变态反应性皮炎小鼠模型, 观察犀角地黄汤对小鼠耳肿胀度、血清中干扰素 γ (IFN- γ) 水平及胸腺、脾指数的影响, 报道如下。

1 材料

1.1 药物与试剂 犀角(水牛角)地黄汤: 水牛角 30 g (先煎), 生地 25 g, 赤芍 9 g, 丹皮 6 g。药物浸泡 1 h, 第 1 次加 12 倍量水, 煎煮 40 min, 过滤, 药渣再加 10 倍量水煎煮 40 min, 过滤, 合并 2 次滤液, 浓缩至 1:1 浓度, 高压消毒后放冰箱备用。氢化可的松

注射剂: 天津金辉氨基酸有限公司生产, 批号: 0607061。羧甲基纤维素钠(CMC): 上海化学试剂站供给, 批号: 970926。二甲苯购自北京化学试剂公司。二硝基氯苯(DNCB)为上海试剂一厂生产, 批号: 960401。小鼠 IFN- γ 试剂盒, 购自武汉博士德公司。

1.2 动物 ICR 小鼠, 清洁级, 由中国药品生物制品鉴定所实验动物中心供给, 许可证号: 京动许字(2000)第 017 号。饲养和实验均在清洁级动物实验室内进行, 合格证号: 京动许字(1999)第 039 号。小鼠饲料为消毒饲料, 由北京科奥协力饲料有限公司供给。小鼠垫料为消毒垫料, 饮水为消毒水。

1.3 仪器 YLS-Q4 耳肿打耳器, 购自山东省医学科学设备站。DT-100 精密天平, 北京光学仪器厂生产。CliniBio 128C 全自动酶标仪, 奥地利生产。

2 方法

2.1 犀角地黄汤对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 清洁级小鼠 72 只, 雌雄各半, 随机分为 6 组, 即模型组、犀角地黄汤小、中、大剂量组、阳性对照药消银解毒饮组和氢化可的松组。犀角地黄汤大、中、小剂量组分别为 17.92, 8.96, 4.98 g 生药/kg 体重(分别为临床用药量的 12, 6, 3 倍); 氢化可的松 24 mg·kg⁻¹ (为临床用药量的 12 倍); 消银解毒饮 32 g 生药/kg; 模型组灌服 0.5% CMC。以上中药均用 0.5% CMC 配制, 氢化可的松用无菌生理盐水配置, 各实验组给药体积均为 10 mL·kg⁻¹ 体重, 模型组和中药组灌胃

[收稿日期] 2007-09-20

[通讯作者] * 李曰庆, Tel: (010) 84013207; E-mail: dzmpfk@sohu.com

给药, 氢化可的松皮下注射给药, 每天给药 1 次, 连续给药 3 d, 于末次给药前禁食 10 h, 末次给药后 1 h 将二甲苯 30 μL 均匀滴于鼠右耳内外两侧。1 h 后将小鼠颈椎脱臼处死, 沿耳廓基线剪下两耳。用直径 9 mm 的金属鼠耳打孔器分别于左右耳同一部位打下圆耳片, 用分析天平称两耳片的重量, 左右耳片重量之差代表肿胀度。

2.2 犀角地黄汤对二硝基氯苯(DNCB)诱导的小鼠迟发型变态反应的影响 清洁级小鼠 96 只, 雌雄各半, 随机分为 6 组, 每组 16 只。即正常对照组(对照组)、模型组、犀角地黄汤组 4.98, 17.92 g 生药/kg 组、消银解毒饮组和氢化可的松组(剂量、给药方法同 2.1)。模型组灌服 0.5% CMC。各实验组给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重, 模型组和犀角地黄汤组灌胃给药, 氢化可的松皮下注射给药。每天给药 1 次。DNCB 以丙酮配成相应浓度溶液, 将每鼠(除正常组外)腹部去毛, 去毛范围约为 $3 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ 大小, 将 5% DNCB 100 μL 均匀涂于去毛部位致敏, 次日同法强化 1 次。末次致敏后第 5 天再以 1% DNCB 溶液(以丙酮: 橄榄油 1: 1 配制) 30 μL 均匀涂于右耳诱发皮炎。自致敏当天开始每天给药 1 次, 在第 5 天诱发前 2 h 及诱发后 6 h 各给药 1 次。DNCB 涂耳 24 h 后将小鼠摘眼球取血, 室温下放置 2 h 后, $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 分离血清, -20°C 冻存待测。ELISA 检测程序严格按照试剂盒操作说明进行, 最后置酶标仪 450 nm 波长处测各孔吸光度值, 用 IFN- γ 标准品浓度及对应的 OD 值(复孔均值)建立回归方程, 绘制标准曲线, 并依此求得各小鼠血清中 IFN- γ 的含量。取血后将小鼠脱颈椎处死, 打孔器摘取左右耳片称重, 以左右耳片重量之差表示反应强度。同时取脾脏及胸腺称重, 以每 10 g 体重之脾重和胸腺重表示脾指数和胸腺指数。

2.3 统计学方法 实验数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 用 SPSS13.0 软件统计分析, 组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为显著性差异。

3 结果

3.1 犀角(水牛角)地黄汤对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 实验结果表明, 犀角(水牛角)地黄汤组二甲苯所致的小鼠耳肿胀有所减轻, 并随剂量的增加而减小, 表现出一定的剂量依赖性, 但与模型组比较无明显差异。消银解毒饮组与模型组相比较亦未见明显差异, 见表 1。

表 1 犀角(水牛角)地黄汤对二甲苯所致的小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	<i>n</i>	鼠耳重量差(mg)
模型组	—	15	5.017 $\pm$ 1.617
犀角(水牛角)地黄汤组	4.98	15	4.604 $\pm$ 1.802
	8.96	14	4.142 $\pm$ 1.677
	17.92	15	3.736 $\pm$ 1.495
氢化可的松组	0.024	15	2.867 $\pm$ 2.069 ²⁾
消银解毒饮组	32	14	4.472 $\pm$ 1.759

注: 同模型组相比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.2 犀角(水牛角)地黄汤对 DNCB 诱导的小鼠迟发型变态反应的影响 实验结果表明, 犀角(水牛角)地黄汤大剂量组能够显著抑制 DNCB 诱导的小鼠耳肿胀, 与模型组相比 $P < 0.05$ 。模型组脾指数明显增高, 而犀角(水牛角)地黄汤大剂量组能抑制小鼠脾指数的增高, 与模型组相比较有明显差异($P < 0.05$)。消银解毒饮亦能抑制小鼠耳肿胀。模型组胸腺指数明显降低, 氢化可的松组胸腺指数降低得更加明显, 而犀角(水牛角)地黄汤组及消银解毒饮组胸腺指数与模型组相比较无明显差异, 见表 2。

表 2 犀角(水牛角)地黄汤对 DNCB 诱导的小鼠耳肿胀度、胸腺指数、脾指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	<i>n</i>	鼠耳重量 差(mg)	脾指数 (mg/10 g)	胸腺指数 (mg/10 g)
正常组	—	15	0.953 $\pm$ 0.941 ²⁾	97.75 $\pm$ 0.018 67 ²⁾	72.05 $\pm$ 21.89 ²⁾
模型组	—	15	2.473 $\pm$ 1.691	136.70 $\pm$ 27.02	28.39 $\pm$ 11.74
犀角(水牛角)地黄汤组	4.98	14	2.660 $\pm$ 2.56	147.80 $\pm$ 43.34	29.41 $\pm$ 5.96
	17.92	15	1.430 $\pm$ 0.843 ¹⁾	115.70 $\pm$ 25.86 ¹⁾	22.83 $\pm$ 9.16
氢化可的松组	0.024	15	1.027 $\pm$ 0.688 ²⁾	64.37 $\pm$ 18.39 ²⁾	10.15 $\pm$ 5.71 ²⁾
消银解毒饮组	32	14	1.146 $\pm$ 0.846 ²⁾	147.1 $\pm$ 57.23	38.30 $\pm$ 19.85

3.3 犀角地黄汤对 DNCB 诱导的小鼠血清中 IFN- γ 的影响 实验结果表明, 模型组小鼠血清中 IFN- γ 水平明显增高($P < 0.05$)。与模型组相比犀角(水牛角)地黄汤大剂量组能够显著抑制 DNCB 诱导的 IFN- γ 的增高($P < 0.01$)。而小剂量组未表现出明显的抑制作用。氢化可的松组同样能显著抑制 IFN- γ 的增高($P < 0.05$), 见表 3。

4 讨论

本研究实验结果表明, 犀角(水牛角)地黄汤对二甲苯所致的小鼠耳肿胀急性炎症未表现出明显的抑制作用, 而对 DNCB 诱导的小鼠迟发型变态反应(下转第 65 页)

(上接第 62 页)

表 3 犀角(水牛角)地黄汤对 DNCB 诱导的
小鼠血清中 IFN- γ 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	n	血清中 IFN- γ (pg/mL)
正常组	—	9	47.13 $\pm$ 39.82 ¹⁾
模型组	—	7	93.53 $\pm$ 45.52
犀角(水牛角)地黄汤组	4.98	6	101.42 $\pm$ 148.82
	17.92	8	16.01 $\pm$ 10.36 ²⁾
氢化可的松组	0.024	6	42.10 $\pm$ 28.35 ¹⁾
消银解毒饮组	32 g	6	53.46 $\pm$ 61.75

具有明显的抑制作用,为临床用药及治疗提供了实验依据。此外,实验结果表明,犀角(水牛角)地黄汤大剂量组能够显著抑制 DNCB 诱导的 IFN- γ 的增高,表现出与氢化可的松组类似的作用。

本实验还发现 DNCB 诱导的迟发型变态反应模型小鼠脾指数增高,胸腺指数降低,而氢化可的松组小鼠的胸腺指数及脾指数明显降低,甚至显著低于正常对照组。在临床上,应用皮质激素治疗严重感染以及炎症后遗症虽然有效,但能引起机体正常免疫系统的抑制或免疫功能减退,抑制细胞免疫使淋

巴细胞减少,白细胞总数降低,而且还损伤免疫器官,使其体积缩小,重量下降,这些结果在实验中已得到证实^[4]。本实验结果也证明氢化可的松在抑制变态反应的同时也损伤了免疫器官,进而可能引起免疫功能减退。而犀角(水牛角)地黄汤虽然对诱导后小鼠脾指数的增高有一定的抑制作用,但能够使脾指数接近于正常组而未出现明显下降,同时对胸腺指数无明显影响,说明犀角(水牛角)地黄汤能够抑制变态反应性皮炎,但与皮质类固醇激素相比,对机体的免疫器官重量无明显的抑制。其治疗变态反应的具体机制,尚需进一步的观察和研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 56.

[2] 柯俊兴. 犀角地黄汤加味治疗荨麻疹 30 例[J]. 广西中医药, 1990, 13(4): 6.

[3] 刘斌湘. 加味犀角地黄汤治疗药物过敏性皮炎 38 例[J]. 湖南中医杂志, 1998, 14(1): 39.

[4] 史正刚, 于 霞, 张士清. 知柏地黄丸对肾上腺皮质激素致肾阴虚幼龄大鼠免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(1): 62-64.