

培土清心颗粒对豚鼠皮肤瘙痒模型的止痒效果研究

莫秀梅¹, 刘俊峰¹, 陈玉兴², 曾小慧², 薛素琴¹, 赵巍³, 陈达灿¹

1. 广东省中医院, 广东 广州 510120

2. 广东省中医研究所, 广东 广州 510095

3. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

[摘要] 目的: 观察评价培土清心颗粒对实验性瘙痒动物模型的止痒效果。方法: 采用动物实验研究方法, 观察培土清心颗粒对磷酸组胺所致豚鼠瘙痒模型、4-氨基吡啶所致小鼠瘙痒模型和右旋糖酐 40 诱发小鼠瘙痒模型的影响, 观察培土清心颗粒的止痒作用。结果: 培土清心颗粒可增加豚鼠涂抹磷酸组胺次数 ($P < 0.01$), 升高豚鼠致痒阈值 ($P < 0.01$), 减少 4-氨基吡啶致瘙痒小鼠和右旋糖酐 40 诱发瘙痒小鼠的搔抓次数 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论: 培土清心颗粒可通过减少内源性和外源性组胺释放途径缓解皮肤瘙痒症状, 对特异性皮炎具有良好的止痒效果。

[关键词] 特异性皮炎; 瘙痒; 培土清心颗粒

[中图分类号] R758.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 07-0272-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.07.121

Pharmacodynamic Research of Peitu Qingxin Keli in Relieving Itching of Experimental Itchy Skin Guinea Pig Model

MO Xiumei, LIU Junfeng, CHEN Yuxing, et al

Abstract: Objective: To observe the effect of Peitu Qingxin Keli (PQK) on relieving itching of experimental itchy skin guinea pig model. Methods: The model of 4-aminopyridine-induced mouse skin itching, dextran-induced mouse skin itching and histamine-induced guinea pig itching were set up for the study. After treatment with PQK, the antipruritic effects were observed. Results: PQK in different doses increased histamine medication times and itch threshold ($P < 0.01$), and reduced the scratching times significantly during the onset of itching induced by 4-aminopyridine and dextran ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Conclusion: PQK can effectively inhibit the skin itching symptom by decreasing endogenous and exogenous histamine release, and has better effect for relieving skin itching of atopic dermatitis.

Keywords: Atopic dermatitis; Pruritus; Peitu Qingxin Keli

瘙痒是特异性皮炎(Atopic Dermatitis, AD)患者最常见和最突出的自觉症状, 瘙痒引起的不适和失眠是特异性皮炎发生、发展和再发的重要原因, 甚或影响青少年、儿童患者的身心健康和生长发育^[1-2]。因此止痒治疗在特异性皮炎的控制过程中具有重要价值。培土清心颗粒是根据广东省中医院皮肤科临床经验方制备而成的颗粒剂, 具有培土清心、祛风止痒等功效, 主要用于治疗儿童特异性皮炎、湿疹等顽固、反复发作性、瘙痒性疾病, 经多年验证可以有效减轻患者皮损严重程度、控制瘙痒、改善生存质量, 临床疗效确切, 副作用少^[3]。为了明确培土清心颗粒的疗效机制, 本实验观察了药物对 3

种不同瘙痒动物模型的影响, 以探讨培土清心颗粒的止痒效果和机制, 现报道如下。

1 材料

1.1 实验动物 白化豚鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体重 200 ~ 250 g, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 合格证号 NO44007200010803。动物实验环境: 广东省中医药工程技术研究院 SPF 级动物实验室, 设施使用许可证号 SYXK(粤) 2010-0059。NIH 小鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体重 11 ~ 13 g, 由广东省医学实验动物中心提供, 合格证号 NO44007200009599、NO44007200009911。

[收稿日期] 2015-03-20

[基金项目] 广东省中医药局项目(粤中医[2013]17号); 广东省财政厅项目(粤财工[2014]76号, 2014KT1524); 广东省财政厅项目(粤财工[2013]134号); 广东省科技厅-广东省中医药科学院联合项目(粤科社字[2011]143号)

[作者简介] 莫秀梅(1978-), 女, 医学博士, 主治医师, 主要从事中医药治疗变态反应性皮肤病的临床研究。

[通讯作者] 陈达灿, E-mail: 4910702@163.com。

1.2 药品与试剂 培土清心颗粒,由广东省中医药工程技术研究院中药制剂研究室提供,批号 201307001。马来酸氯苯那敏片,广东三才石岐制药有限公司产品,批号 20130902。消风止痒颗粒,吉林紫鑫药业股份有限公司产品,批号 140205。

1.3 试剂 磷酸组胺(Histamine bisphosphate monohydrate),西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司(SIGMA-ALDRICH),批号 BCBC2083V。4-氨基吡啶(4-Aminopyridine),美国国际实验室 (INTERNATIONAL LABORATORY USA),批号 468109。右旋糖酐 40(Dextran 40),阿拉丁工业公司(Aladdin Industrial Corporation),批号 11324049。

1.4 仪器 JJ3000 动物电子秤, G&G 公司产品; BS224S 电子天平(1/万),德国 SARTORIUS 产品。

2 实验方法

2.1 磷酸组胺致豚鼠皮肤瘙痒模型^[4] 豚鼠 60 只,采用区组随机方法随机均分为 6 组,分别为培土清心颗粒高、中、低剂量组,空白对照组,马来酸氯苯那敏片组,消风止痒颗粒组。培土清心颗粒高、中、低剂量组分别给培土清心颗粒 1.86 g/kg、0.93 g/kg、0.47 g/kg(以生药计,分别相当于临床用药的 4 倍、2 倍、等量临床等效剂量),空白对照组给予等体积蒸馏水,马来酸氯苯那敏片组 0.47 mg/kg,消风止痒颗粒组 3.49 g/kg。各给药组按剂量灌胃给药,每天 1 次,连续 7 天。末次给药前 24 h,豚鼠用 8% Na₂S 溶液脱去右后足背毛,末次给药 30 min 后,用细砂纸轻轻擦伤各豚鼠右后足背面,使之发红,但以不出血为度,面积约 2 mm²。然后分别在各豚鼠右后足背面擦伤部位滴 0.01% 磷酸组胺 50 μL,以后每隔 3 min 在相同部位再依次滴浓度递增至 0.02%、0.03%、0.04%……等量磷酸组胺,直至出现豚鼠回头舔足为止,记录涂抹磷酸组胺次数及累积用量(致痒阈值)。

2.2 4-氨基吡啶致小鼠瘙痒模型^[5] 小鼠 72 只,随机分为 6 组,分别为培土清心颗粒高、中、低剂量组,空白对照组,马来酸氯苯那敏片组和消风止痒颗粒对照组。培土清心颗粒高、中、低剂量组分别给培土清心颗粒 3.12 g/kg、1.56 g/kg、0.78 g/kg(以生药计,相当于临床用药的 4 倍、2 倍、等量临床等效剂量),空白对照组给予等体积蒸馏水,马来酸氯苯那敏片组 0.78 mg/kg,消风止痒颗粒组 5.85 g/kg。各给药组按剂量灌胃给药,每天 1 次,连续给药 7 天。末次给药前 24 h,各组小鼠剪去颈背部毛,再用脱毛剂脱毛。末次给药后 1 h,分别在各小鼠的脱毛部位皮下注射 0.02% 4-氨基吡啶溶液 0.1 mL,记录 30 min 内各组小鼠的搔抓潜伏期和搔抓次数。

2.3 右旋糖酐 40 诱发小鼠瘙痒模型^[6] 小鼠 72 只,随机均分为 6 组,分别为培土清心颗粒高、中、低剂量组,空白对照组,马来酸氯苯那敏片组,消风止痒颗粒组。培土清心颗粒高、中、低剂量组分别给培土清心颗粒 3.12 g/kg、1.56 g/kg、0.78 g/kg(以生药计,相当于临床用药的 4 倍、2 倍、等量临

床等效剂量),空白对照组给予等体积蒸馏水,马来酸氯苯那敏片组 0.78 mg/kg,消风止痒颗粒组 5.85 g/kg。各给药组按剂量灌胃给药,每天 1 次,连续给药 7 天。末次给药后 1 h,各组小鼠尾静脉注射用氯化钠注射液配制的 0.025% 右旋糖酐 40 溶液 1.25 mg/kg,以小鼠前爪搔抓头部,后爪搔抓躯干,嘴咬全身各部位作为瘙痒指征,观察记录瘙痒潜伏时间及 30 min 内小鼠搔抓次数。

2.4 统计学方法 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数的比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间均数两两比较,正态分布及方差齐时采用 SNK 法;非正态分布或方差不齐时采用 Dunnett's T3 法。检验水平 $\alpha = 0.05$ 。所有分析采用 SPSS17.0 软件完成。

3 实验结果

3.1 各组豚鼠涂抹磷酸组胺次数与致痒阈值比较 见表 1。6 组涂抹磷酸组胺次数经方差分析,差异有统计学意义($F = 27.251, P < 0.01$);致痒阈值经方差分析,差异也有统计学意义($F = 21.615, P < 0.01$)。各用药组涂抹磷酸组胺次数及致痒阈值均较空白对照组增加,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 各组豚鼠涂抹磷酸组胺次数与致痒阈值比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量	涂抹磷酸组胺次数(次)	致痒阈值(μg)
空白对照组	等体积	3.600 ± 0.699	42.500 ± 15.138
马来酸氯苯那敏片组	0.47 mg/kg	7.100 ± 0.738 ^①	145.000 ± 27.889 ^①
消风止痒颗粒组	3.49 g/kg	5.400 ± 0.699 ^①	87.500 ± 22.267 ^①
培土清心颗粒高剂量组	1.86 g/kg	6.800 ± 0.789 ^①	134.000 ± 29.326 ^①
培土清心颗粒中剂量组	0.93 g/kg	6.300 ± 0.823 ^①	116.500 ± 27.085 ^①
培土清心颗粒低剂量组	0.47 g/kg	5.700 ± 0.823 ^①	97.000 ± 26.479 ^①

与空白对照组比较,① $P < 0.01$

3.2 各组 4-氨基吡啶致痒小鼠搔抓潜伏期与搔抓次数比较 见表 2。6 组搔抓潜伏期值经方差分析,差异无统计学意义($F = 1.631, P > 0.05$);搔抓次数经方差分析,差异有统计学意义($F = 3.798, P < 0.05$),各用药组搔抓次数均较空白对照组减少,差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 2 各组 4-氨基吡啶致痒小鼠搔抓潜伏期与搔抓次数比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量	搔抓潜伏期(s)	搔抓次数(次)
空白对照组	等体积	50.167 ± 37.711	25.417 ± 6.317
马来酸氯苯那敏片组	0.78 mg/kg	76.917 ± 38.152	17.167 ± 8.601 ^①
消风止痒颗粒组	5.85 g/kg	77.000 ± 43.413	18.167 ± 8.993 ^①
培土清心颗粒高剂量组	3.12 g/kg	105.583 ± 53.349	14.500 ± 6.474 ^①
培土清心颗粒中剂量组	1.56 g/kg	92.000 ± 63.462	16.750 ± 4.615 ^②
培土清心颗粒低剂量组	0.78 g/kg	87.917 ± 62.090	14.417 ± 7.267 ^②

与空白对照组比较,① $P < 0.05$,② $P < 0.01$

3.3 各组右旋糖酐 40 诱发痒小鼠搔抓潜伏期与搔抓次数比

较 见表 3。6 组搔抓潜伏期值经方差分析, 差异无统计学意义($F=1.765, P>0.05$); 搔抓次数经方差分析, 差异有统计学意义($F=5.123, P<0.01$), 各用药组搔抓次数均较空白对照组减少, 差异均有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。

表 3 各组右旋糖酐 40 诱发瘙痒小鼠搔抓潜伏期与搔抓次数比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量	搔抓潜伏期(s)	搔抓次数(次)
空白对照组	等体积	111.000±38.445	26.583±6.201
马来酸氯苯那敏片组	0.78 mg/kg	164.667±35.508	19.917±4.999 ^①
消风止痒颗粒组	5.85 g/kg	157.417±80.355	16.917±7.704 ^①
培土清心颗粒高剂量组	3.12 g/kg	168.167±65.697	16.583±6.626 ^①
培土清心颗粒中剂量组	1.56 g/kg	144.417±66.228	15.833±7.602 ^①
培土清心颗粒低剂量组	0.78 g/kg	180.167±78.595	15.250±5.643 ^①

与空白对照组比较, ① $P<0.05$, ② $P<0.01$

4 讨论

瘙痒是特应性皮炎的一个重要标志, 许多免疫性或非免疫性刺激都可以引发特应性皮炎患者的瘙痒。目前尚没有特异性的止痒疗法, 联合治疗、通过活性药物拮抗瘙痒介质将是很有希望的治疗策略^[4]。中医药历史悠久, 现代药理研究证实中药具有多靶点、多途径治疗的特点, 通过中药配伍应用, 可能为解决瘙痒提供可行性方案。特应性皮炎归属于中医学四弯风、奶癣、血风疮等疮、癣类疾病范畴。《素问·至真要大论》记载“诸痛痒疮, 皆属于心”, 《医宗金鉴》曰“凡诸疮作痒, 皆属心火……致起疮疡形如粟粒”, “风热湿邪, 侵袭皮肤, ……若日久风邪郁在肌肤, 则耗血生火, 火燥血短, 痒痒倍增”。可见, 特应性皮炎患者之所以瘙痒难耐、烦躁失眠, 主要是由于心火亢盛, 风热之邪蟠灼于外而作, 因此止痒当以清心、泻火、祛风为要。培土清心颗粒由太子参、白术、薏苡仁、白茅根、连翘等组成, 方中连翘、白茅根、白鲜皮等功能清心利尿、泻火解毒、祛风止痒, 配合应用可使热得凉, 火得清, 风得消, 故瘙痒得止, 这是培土清心颗粒治疗瘙痒的重要中医理论依据。

瘙痒的病理机制十分复杂, 已经证实包括组胺、蛋白酶、P 物质等在内的外周和中枢的介质在瘙痒的发生中起着重要作用。至今不存在公认、理想的皮肤瘙痒模型^[5], 组胺是最早被发现的瘙痒介质之一, 组胺由左旋组氨酸脱酸生成后, 以肝素结合形式储存于组织的肥大细胞以及血液的嗜碱性白细胞分泌颗粒中, 当这些细胞受到免疫性原因或其他理化因素刺激后, 可导致肥大细胞脱颗粒继而释放组胺, 引起皮肤和黏膜炎症反应, 刺激神经末梢而引起瘙痒。组胺致痒动物模型在许多过敏性疾病的动物模型建立中都有广泛的应用, 其中磷酸组胺致豚鼠瘙痒模型是目前应用较多的组胺致痒动物模型^[6]。4-氨基吡

啶具有促肥大细胞释放组胺的作用, 4-氨基吡啶所致小鼠瘙痒模型已被多次应用于筛选抗过敏药与测定药物止痒活性的实验中, 是经典的致痒模型^[10]。右旋糖酐本身为大分子的葡萄糖聚合物, 也是多糖化合物中促组胺释放作用最为显著的物质^[11]。本研究结果显示, 不同剂量的培土清心颗粒均能显著减少 4-氨基吡啶致痒小鼠和右旋糖酐 40 致痒小鼠的搔抓次数, 升高磷酸组胺致痒豚鼠的致痒阈值。

可见, 培土清心颗粒具有良好的止痒效果, 其机制可能通过减少内源性和外源性组胺的释放发挥作用。然而, 瘙痒的病机复杂, 神经生理传导、皮肤屏障损伤等非组胺介导因素在瘙痒中的作用目前也已有重大进展, 不排除培土清心颗粒还可能通过这些途径发挥作用, 有待进一步试验论证。

[参考文献]

- [1] Chamlin SL, Frieden IJ, Williams ML, et al. Effects of atopic dermatitis on young American children and their families[J]. Pediatrics, 2004, 114(3): 607-611.
- [2] Reuveni H, Chapnick G, Tal A, et al. Sleep fragmentation in children with atopic dermatitis[J]. Arch Pediatr Adolesc Med, 1999, 153(3): 249-253.
- [3] 莫秀梅. 培土清心法治疗特应性皮炎的多维临床疗效评价研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [4] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 901.
- [5] 徐建华, 何亦溪, 舒淑婷, 等. 一种筛选抗过敏药与止痒药的动物模型[J]. 药学学报, 1996, 31(6): 420-424.
- [6] 张淑敏, 傅阳平, 吴若术. 一种小鼠右旋糖酐皮肤瘙痒模型[J]. 中国药理通讯, 1992, 9(3): 77.
- [7] Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. 皮肤病学[M]. 2 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2011: 246.
- [8] 沈非沉, 王晖, 薛漫清. 瘙痒动物模型的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(3): 182-186.
- [9] 刘海龙, 吴国泰, 王瑞琼, 等. 当归黄芪醇提取物对实验性皮肤瘙痒模型的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 200-202.
- [10] 王晖, 沈非沉, 陈垦, 等. 组胺和 4-氨基吡啶联用建立瘙痒模型[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(7): 1454-1456.
- [11] 林宇红, 徐建华. 组胺释放剂及其作用机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 1994, 25(1): 42-47.

(责任编辑: 吴凌)