

参考文献:

- [1] 肖长虹, 顾为望, 张嘉宁, 等. 南蛇藤醇提物对类风湿关节炎滑膜增生和软骨侵蚀及降解的抑制作用[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(7): 945-950.
- [2] Quesada AR, Munoz-Chapuli R, Medina MA. Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials[J]. Med Res Rev, 2006, 26(4): 483-530.
- [3] Upchurch KS, Kay J. Evolution of treatment for rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology(Oxford), 2012, 51(Suppl 6): i28-i36.
- [4] 杨蒙蒙, 佟丽, 陈育尧. 南蛇藤不同提取部位的抗炎作用实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(4): 241-243.
- [5] 陈佩虹. 过山枫提取物抗类风湿关节炎有效部位筛选及药理药效学研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2010.
- [6] 吴新荣, 仲寒冰, 袁进, 等. 麦考酚酸对 flk-GFP 斑马鱼模型抗血管生成的作用机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2008, 24(4): 311-314.
- [7] Paleolog EM. The vasculature in rheumatoid arthritis: cause or consequence[J]. Int J Exp Pathol, 2009, 90(3): 249-261.
- [8] Tobia C, De Sena G, Presta M. Zebrafish embryo, a tool to study tumor angiogenesis[J]. Int J Dev Biol, 2011, 55(4-5): 505-509.

(编辑: 梁进权)

益母草对瘙痒、湿疹动物模型的影响

苗明三, 张雪侠, 吴 巍(河南中医学院, 河南 郑州 450046)

摘要: **目的** 探讨益母草外用的祛湿、止痒功效。**方法** 建立磷酸组胺致豚鼠皮肤瘙痒模型、右旋糖酐致小鼠瘙痒模型、豚鼠接触性湿疹模型、2, 4-二硝基氯苯(DNCB)诱发小鼠迟发型超敏反应模型, 观察益母草外用对致痒阈、30 min 小鼠瘙痒次数、耳廓肿胀度、湿疹评分的影响, 并观察耳组织病理学变化。**结果** 益母草水煎液或糊剂外用可抑制磷酸组胺引起的瘙痒($P < 0.01$), 改善瘙痒症状($P < 0.01$, $P < 0.05$), 抑制豚鼠湿疹耳廓肿胀度($P < 0.01$), 改善豚鼠接触性湿疹耳廓组织病理学变化($P < 0.01$, $P < 0.05$), 抑制小鼠迟发型超敏反应模型耳廓肿胀度($P < 0.01$)和组织病理学改变($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 益母草外用具有祛湿、止痒功效。

关键词: 益母草; 瘙痒模型; 湿疹模型; 过敏反应**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)06-0540-04**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.06.003

Effect of Herba Leonuri on Pruritus and Eczema Animal Models

MIAO Mingsan, ZHANG Xuexia, WU Wei(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046 Henan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the damp-dispelling and itching-relieving effects of Herba Leonuri for external application. **Methods** We established guinea pig skin pruritus model induced by histamine phosphate, mice dextran-induced pruritus model, guinea pig model of contact eczema, 2, 4-dinitrochlorobenzol (DNCB)-induced delayed type hypersensitivity mice model, and then observed the effect of external application of Herba Leonuri on itching threshold, itching frequency with 30 min, auricular swelling, eczema scores and pathological changes of the ear tissue. **Results** External application of the decoction or paste of Herba Leonuri could inhibit itching($P < 0.01$), relieve the symptom of itching($P < 0.01$, $P < 0.05$), and inhibit auricular swelling($P < 0.01$) in guinea pig pruritus model induced by histamine phosphate. Herba Leonuri could also improve the auricular pathological changes of guinea pig contact eczema model($P < 0.01$, $P < 0.05$), and inhibit auricular swelling($P < 0.01$) and auricular pathological changes($P < 0.01$, $P < 0.05$) in DNCB-induced delayed type hypersensitivity mice model. **Conclusion** Herba Leonuri for external application has damp-dispelling and itching-relieving efficacy.

Keywords: Herba Leonuri; Pruritus model; Eczema model; Allergic response

收稿日期: 2013-06-23

作者简介: 苗明三, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药药理。Email: miaomingsan@163.com。

基金项目: 国家“十一五”支撑计划课题(2008BAI53B09); 高校科技创新团队项目(2012IRTSTHN011); 河南中医学院科技创新团队计划项目(2010XCXTD0)。

益母草为唇形科一年生或二年生草本植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的地上部分, 苦、辛, 微寒, 归肝、心包经, 具有活血调经、利尿消肿、清热解毒之功效, 用于月经不调、痛经闭经、恶露不尽、水肿尿少、疮痈肿毒。益母草现代临床外用常以水煎液外洗或研成极细粉敷患处, 用于治疗皮肤痒疹、荨麻疹、痤疮、疔肿、脂溢性皮炎、耳聋、黑白斑斑、皮肤黑色素等, 疗效确切^[1-2], 且大剂量的益母草有一定抑制皮肤真菌的作用, 但益母草已有功效不能很好解释其临床外用。本课题针对益母草的外用现状观察其祛湿、止痒的功效, 以期为临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂 益母草, 亳州市长生中药饮片有限公司, 经河南中医学院生药教研室鉴定为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的干燥地上部分。肤得安, 沈阳康氏医药保健品有限公司, 批号: 20100508; 巧蜜儿脱毛膏, 广州市壹佰雅化妆品有限公司, 批号: 20100321; 氯化钠注射液, 郑州永和制药有限公司, 批号: 100422052; 磷酸组织胺, 中国科学院上海生化所东风生化技术公司, 批号: 0911034; 右旋糖酐-40 葡萄糖注射液, 六安华源制药有限公司, 批号: 090715045; 2, 4-二硝基氯苯 (DN CB), 上海华硕精细化学品有限公司, 批号: 20080702。

1.2 动物 普通级豚鼠, 体质量 200~250 g, 雌雄各半, 由河南康达实验动物有限公司提供, 合格证号: 007267; 清洁级昆明种小鼠, 体质量 18~21 g, 雌雄各半, 由河北省实验动物中心提供, 合格证号: 1011022。

1.3 仪器 FA(N)/JA(N) 系列电子天平, 上海民桥精密仪器有限公司; AR1140/C 电子分析天平, 奥豪斯 (上海) 公司; 微量移液器, 上海求精生化试剂仪器有限公司。

1.4 对组胺致豚鼠皮肤痒痒模型的影响 取豚鼠 70 只, 实验前 1 d 右后足用巧蜜儿脱毛膏脱毛, 脱毛局部均未出现明显的损伤。然后将豚鼠随机分为 7 组, 分别为益母草水煎液高、中、低剂量组及糊剂高、低剂量组, 肤得安组和模型组。每组 10 只, 雌雄各半。脱毛 24 h 后, 各组豚鼠右后足背脱毛部位均用两层纱布吸附相应药物敷药。益母草水煎液高、中、低剂量组均敷相应药液 0.5 mL (1.5, 1, 0.5 g·mL⁻¹, 相当于每足的药物量分别为 0.75 g, 0.50 g, 0.25 g); 益母草糊剂高、低剂量组均敷相应糊剂 0.25, 0.15

g·mL⁻¹ (相当于每足 0.3, 0.18 g); 肤得安组敷肤得安药膏 0.3 g; 模型组敷 0.9 % 氯化钠注射液 0.5 mL。敷药后保鲜膜覆盖、固定, 保持右后足背脱毛处与药物接触时间 2 h。给药 2 h 后, 0.9 % 氯化钠注射液洗净药物。连续用药 3 d。末次给药 2 h 后, 用 0.9 % 氯化钠注射液洗净药物, 然后用纱布磨擦局部至有渗血点 (以渗血、无明显出血为度), 面积 1 cm², 分别在创面处涂抹 0.05 % 磷酸组织胺 50 μL^[3], 3 min 内豚鼠如不出现舔擦伤皮肤处动作, 再涂抹 1 次磷酸组织胺, 如此重复操作, 直至豚鼠出现回头舔右后足为止。记录每只豚鼠给予的磷酸组织胺总量, 即为致痒阈 (μg)。

1.5 对右旋糖酐致小鼠瘙痒模型的影响 取昆明种小鼠 70 只, 雌雄各半, 脱毛前处理、分组及敷药均同 1.4 项下, 每天敷药 1 次, 保持脱毛部位与药物接触时间 6 h, 连续给药 3 d。第 3 天给药 2 h 后, 0.9 % 氯化钠注射液洗净药物, 各小鼠尾静脉注射 0.025 % 低分子右旋糖酐-40 (1.25 mg·kg⁻¹)。以小鼠前爪搔头部、后爪搔躯干、嘴咬全身各部位作为瘙痒指征, 记录 30 min 内小鼠搔痒次数^[4-5]。

1.6 对豚鼠接触性湿疹模型的影响 取豚鼠 80 只, 雌雄各半, 脱毛前处理同 1.4 项下。除 10 只作为空白对照组外, 其余 70 只复制模型, 在脱毛后第 3 天用 5 % DN CB 丙酮溶液 25 μL 外涂颈背部致敏, 2 周后每只豚鼠右耳内侧涂 0.1 % DN CB 溶液 100 μL 激发, 连续激发 4 次, 每周 1 次。第 4 次激发后 72 h, 分组同 1.4 项下。各组豚鼠右耳正反两面涂药, 益母草水煎液高、中、低剂量组涂抹相应药物 0.3 mL (1.5, 1, 0.5 g·mL⁻¹; 相当于每耳 0.45, 0.3, 0.15 g); 益母草糊剂高、低剂量组均涂抹相应糊剂 0.25, 0.15 g·mL⁻¹ (厚度 2 mm, 相当于每耳 0.18, 0.1 g); 肤得安组涂抹肤得安药膏 0.18 g; 模型组与空白对照组涂抹 0.9 % 氯化钠注射液。每天给药 6 次, 每 10 min 给药 1 次, 连续给药 10 d。于用药第 5 天与第 11 天观察耳廓的恢复情况, 按照豚鼠接触性湿疹模型评分标准进行评分, 然后处死豚鼠, 用 8 mm 打孔器取下双耳片, 称量双耳, 计算肿胀度 (肿胀度 = 右耳片质量 - 左耳片质量)。称量后固定, 做病理切片, 观察耳组织病理改变。豚鼠接触性湿疹模型评分标准: 1 分: 耳廓正常, 颜色淡红色, 无皮屑; 2 分: 耳廓外观基本接近 1 分标准, 但可摸到其轻度增厚; 3 分: 耳廓轻度增厚, 颜色较红或微红, 有少许皮屑脱落; 4 分: 耳廓明显增厚, 颜色较红, 有少许皮屑脱落。

1.7 对 DN CB 诱发小鼠迟发型超敏反应的影响 取

昆明种小鼠 80 只,雌雄各半,脱毛前处理、涂药方法及分组均同 1.6 项下。益母草水煎液高、中、低剂量组均涂抹相应药液 0.05 mL (1.5, 1, 0.5 g·mL⁻¹;相当于每耳用药 0.075, 0.05, 0.025 g);益母草糊剂高、低剂量组分别涂抹糊剂 0.25, 0.15 g·mL⁻¹;相当于每耳 0.06, 0.04 g;肤得安组涂抹肤得安药膏 0.06 g;模型组与空白对照组涂抹 0.9 %氯化钠注射液 0.05 mL。每天涂药 6 次,每 10 min 给药 1 次,连续给药 7 d。除空白对照组外,第 2 天与第 3 天均用 5 %溶液 DNCB 溶液 0.1 mL 均匀涂抹各组小鼠腹部致敏,第 7 天于涂药后 2 h,用 1 %DNCB 0.1 mL 涂各小鼠右耳激发,在激发 24 h 后,颈椎脱臼处死小鼠,剪下双耳,对齐,用 8 mm 打孔器取下圆型耳片,迅速用分析天平称量双耳,并计算肿胀度。称量后耳片固定,做病理切片,观察耳组织病理改变^⑥。

1.8 统计学处理方法 应用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本的 *t* 检验,等级资料采用 *Riddit* 分析。

2 结果

2.1 益母草对瘙痒模型的影响 见表 1。与模型组比较,益母草水煎液、糊剂各剂量组和肤得安组均可显著提高磷酸组胺致豚鼠瘙痒的阈值($P < 0.01$);益母草水煎液、糊剂各剂量组和肤得安组均可显著减少 30 min 内右旋糖酐致小鼠瘙痒次数($P < 0.01$),说明益母草水煎液、糊剂外用均可显著抑制豚鼠和小鼠瘙痒。

表 1 益母草对磷酸组胺致豚鼠瘙痒和右旋糖酐致小鼠瘙痒的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of Herba Leonuri on histamine phosphate-induced guinea pig skin itching model and dextran-induced mice pruritus model

组别	致痒阈 /μg	30 min 内瘙痒次数
模型组	175.0 ± 20.4	26.1 ± 4.1
肤得安组	590.0 ± 29.4**	15.2 ± 3.3**
益母草水煎液高剂量组	472.5 ± 34.3**	15.8 ± 1.8**
益母草水煎液中剂量组	480.0 ± 32.9**	16.6 ± 2.1**
益母草水煎液低剂量组	475.0 ± 33.3**	15.9 ± 2.0**
益母草糊剂高剂量组	487.0 ± 39.5**	16.6 ± 1.9**
益母草糊剂低剂量组	477.5 ± 38.1**	15.4 ± 4.4**

注:与模型组比较, ** $P < 0.01$ 。

2.2 益母草对豚鼠接触性湿疹模型的影响 见表 2。与空白对照组比较,模型组豚鼠第 5 天和第 11 天湿疹模型症状积分显著升高,耳廓质量明显增加 ($P < 0.01$),说明模型复制成功;与模型组比较,益母草

水煎液、糊剂高剂量组和肤得安组在第 5 天可明显降低湿疹模型症状积分($P < 0.05$);益母草水煎液、糊剂各剂量组和肤得安组在第 11 天均可显著降低湿疹模型症状积分($P < 0.01$),显著降低豚鼠接触性湿疹模型的耳廓肿胀度($P < 0.01$),说明益母草水煎液及糊剂均可显著抑制豚鼠湿疹耳廓肿胀,且以益母草糊剂高剂量效果相对较好。

表 2 益母草对豚鼠接触性湿疹模型的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of Herba Leonuri on contact eczema in guinea pig model

组别	湿疹评分 /分		左耳质量 /mg	右耳质量 /mg	肿胀度 /mg
	第 5 天	第 11 天			
空白对照组	1.0 ± 0.0**	1.0 ± 0.0**	74.7 ± 4.8	75.8 ± 5.2**	1.1 ± 1.6**
模型组	3.6 ± 0.5	2.7 ± 0.5	77.7 ± 4.8	88.8 ± 5.4	11.1 ± 2.3
肤得安组	3.0 ± 0.7*	2.1 ± 0.9**	77.7 ± 5.1	83.3 ± 3.7**	7.4 ± 2.0**
益母草水煎液高剂量组	3.0 ± 0.5*	2.2 ± 0.4**	76.3 ± 4.4	84.5 ± 5.1*	8.2 ± 1.5**
益母草水煎液中剂量组	3.2 ± 0.6	2.4 ± 0.5**	75.9 ± 2.7	86.1 ± 4.5	8.4 ± 1.8**
益母草水煎液低剂量组	3.2 ± 0.4	2.2 ± 0.4**	77.7 ± 3.1	86.4 ± 3.3	8.7 ± 1.8**
益母草糊剂高剂量组	3.1 ± 0.3*	2.3 ± 0.5**	76.4 ± 5.7	84.2 ± 5.3*	7.8 ± 2.6**
益母草糊剂低剂量组	3.2 ± 0.6	2.3 ± 0.5**	77.2 ± 4.0	85.5 ± 3.5	8.3 ± 1.3**

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.3 益母草对豚鼠接触性湿疹模型病理组织变化的影响 与空白对照组比较,模型组出现明显的湿疹病理特征($P < 0.01$),说明模型复制成功;与模型组比较,益母草水煎液、糊剂各剂量组和肤得安组均可显著减轻豚鼠接触性湿疹耳廓皮肤的病理变化($P < 0.01$, $P < 0.05$),说明益母草水煎液和糊剂均可有效改善豚鼠接触性湿疹耳廓皮肤病变,且以益母草糊剂高剂量效果相对较好,见表 3。

表 3 益母草对豚鼠接触性湿疹模型组织病理变化的影响($n=10$)

Table 3 Effect of Herba Leonuri on ear pathological change in guinea pig contact eczema model

组别	组织病理变化				<i>P</i> 值
	-	+	++	+++	
空白对照组	10	0	0	0	$P < 0.01$
模型组	0	0	0	10	
肤得安组	8	2	0	0	$P < 0.01$
益母草水煎液高剂量组	7	3	0	0	$P < 0.01$
益母草水煎液中剂量组	0	2	3	5	$P < 0.01$
益母草水煎液低剂量组	0	0	6	4	$P < 0.05$
益母草糊剂高剂量组	8	2	0	0	$P < 0.01$
益母草糊剂低剂量组	0	6	4	0	$P < 0.01$

注:“-”皮肤基底细胞层、棘细胞层、角化层基本正常;“+”皮肤基底细胞层、棘细胞层稍有增生,角化层明显增厚;“++”皮肤基底细胞层、棘细胞层增生,角化层增厚;“+++”皮肤基底细胞层、棘细胞层明显增生,角化层变薄;*P* 值为与模型组比较的结果。

2.4 益母草对 DNCB 诱发小鼠迟发型超敏反应的影响 见表 4。与空白对照组比较,模型组小鼠的耳廓肿胀明显($P < 0.01$),说明模型复制成功;与模型组比较,益母草水煎液、糊剂各剂量组和肤得安组均可显著降低 DNCB 所致小鼠迟发型变态反应性耳廓肿胀度($P < 0.01$),说明益母草水煎液和糊剂外用可显著抑制 DNCB 所致小鼠迟发型变态反应性耳廓肿胀,且以益母草糊剂高剂量效果相对较好。

表 4 益母草对 DNCB 诱发小鼠迟发型超敏反应的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of Herba Leonuri on DNCB-induced delayed type hypersensitivity mice model

组别	肿胀度 /mg
空白对照组	0.04 ± 0.47**
模型组	5.33 ± 0.90
肤得安组	3.26 ± 0.67**
益母草水煎液高剂量组	3.33 ± 0.28**
益母草水煎液中剂量组	3.58 ± 0.49**
益母草水煎液低剂量组	3.39 ± 0.45**
益母草糊剂高剂量组	2.79 ± 0.37**
益母草糊剂低剂量组	3.06 ± 0.53**

注:与模型组比较, ** $P < 0.01$ 。

2.5 益母草对 DNCB 诱发小鼠迟发型超敏反应模型组织病理变化的影响 与空白对照组比较,模型组出现显著的湿疹病理特征($P < 0.01$),说明模型复制成功。与模型组比较,益母草水煎液、糊剂各剂量组和肤得安组均可显著减轻小鼠迟发型超敏反应模型耳廓皮肤的病理变化($P < 0.01$),说明益母草水煎液和糊剂可显著改善小鼠迟发型超敏反应模型耳廓皮肤病变,且以益母草糊剂高剂量效果相对较好,见表 5。

3 讨论

组胺是人们最早发现的瘙痒介质之一,在许多过敏性疾病的动物模型建立中广泛应用。常用来制作瘙痒模型的实验动物有小鼠、大鼠、豚鼠和家兔等,由于豚鼠具有自身易致敏的特性被广泛用于皮肤过敏动物模型的建立^[7],其对组胺的敏感性,成为组胺致瘙痒模型的首选动物。

由于湿疹的发病机制属迟发性变态反应,从病理结果看,接触性皮炎与湿疹的病理基本一致,因此多采用接触性皮炎作为湿疹的动物模型^[8]。变态反应性接触性皮炎(ACD)是最常见的皮肤病之一。用 DNCB 建立的小鼠 ACD 模型已有数十年历史,该皮炎模型用耳廓作为皮炎的靶部位,根据炎症耳廓的厚度及单位面积炎细胞数来判断抗皮炎药物的疗效^[9]。

表 5 益母草对 DNCB 诱发小鼠迟发型超敏反应模型组织病理变化的影响($n = 10$)

Table 5 Effect of Herba Leonuri on ear pathological change in DNCB-induced delayed type hypesensitivity model

组别	组织病理变化				P 值
	-	+	++	+++	
空白对照组	10	0	0	0	$P < 0.01$
模型组	0	0	0	10	
肤得安组	0	2	8	0	$P < 0.01$
益母草水煎液高剂量组	8	2	0	0	$P < 0.01$
益母草水煎液中剂量组	0	0	7	3	$P < 0.01$
益母草水煎液低剂量组	0	0	5	5	$P < 0.05$
高剂量益母草糊剂组	10	0	0	0	$P < 0.01$
低剂量益母草糊剂组	0	4	6	0	$P < 0.01$

注:“-”耳廓皮肤各层组织均正常;“+”耳廓皮肤鳞状上皮及角化层稍有增厚;“++”耳廓皮肤鳞状上皮丘状隆起,角化层增厚,皮下组织炎细胞浸润和充血;“+++”耳廓皮肤鳞状上皮明显丘状隆起,角化层明显增厚,皮下组织大量炎细胞浸润和高度充血;P 值为与模型组比较的结果。

益母草水煎液和糊剂在外用药理实验中,均可显著减少右旋糖酐致小鼠瘙痒次数,显著提高磷酸组胺致豚鼠瘙痒的阈值,对 DNCB 所致小鼠迟发型变态反应性耳廓肿胀和豚鼠接触性湿疹模型耳廓肿胀均有明显抑制作用,能有效改善小鼠迟发型变态反应模型和豚鼠接触性湿疹模型的耳廓病理改变。从效应强度看,益母草糊剂的作用有强于益母草水煎液的趋势,且以益母草糊剂高剂量最优。本研究确证了益母草外用具有祛湿、止痒的作用。

参考文献:

[1] 柳方. 浅谈益母草外治机理与应用[J]. 山西中医, 2003, 19(6): 39-40.

[2] 郭鹏, 高颖, 张静泽, 等. 益母草的药理学研究进展[J]. 武警医学院学报, 2008, 17(1): 83.

[3] 张文平, 陈惠群, 张文书, 等. 四物汤抗炎止痒作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(9): 1685-1686.

[4] 刘明平, 吴依娜, 韦品清, 等. 蛇床子止痒有效组分筛选及作用机制研究[J]. 中医药导报, 2009, 15(7): 66-67.

[5] 李静平, 李庆生, 陈海, 等. 肤敏水煎剂抗过敏的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(3): 182-185.

[6] 佟岩, 王淑君, 周晓棉, 等. 杨梅素对小鼠被动皮肤过敏反应的影响[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(10): 822-825.

[7] 汪艳, 陈迟, 张守尧, 等. 药物过敏动物模型研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(4): 330-334.

[8] 吴艳霞, 孙虹. 中医药治疗湿疹的实验研究近况[J]. 云南中医中药杂志, 2007, 28(4): 50-51.

[9] 许宗严, 吴铁, 吴志华. 鼠皮炎湿疹模型建立的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(7): 730-732.

(编辑: 梁进权)