

消银解毒饮对金黄色葡萄球菌肠毒素 B 型诱导小鼠血清白细胞介素-8 水平的影响^{*}

刘 铭^{1△} 瞿 幸² 周冠芬² 钱家骏¹ 张建中³

内容提要 目的 研究消银解毒饮治疗银屑病的机理。方法 采用金黄色葡萄球菌肠毒素 B 型(SEB), 诱导小鼠血清 IL-8 异常升高, 随后观察消银解毒饮与复方青黛胶囊对 SEB 诱导 IL-8 的拮抗作用。结果 小鼠腹腔注射 SEB 3~5h 后血清 IL-8 水平达到高峰, 消银解毒饮大小剂量组均能显著拮抗 SEB 的诱导作用, 而大剂量组的作用尤为显著。结论 消银解毒饮大、小剂量均能有效地拮抗 SEB 诱导 IL-8 的作用, 结合超抗原理论, 从细胞生物学水平阐发了消银解毒饮的清热凉血解毒功效。

关键词 消银解毒饮 金黄色葡萄球菌肠毒素 B 型 白细胞介素-8

Effect of Xiaoyin Jiedu Yin on Staphylococcus Aureus Enterotoxin B Induced Serum Interleukin 8 in Mice LIU Ming, QU Xing, ZHOU Guan-fen, et al *Beijing University of TCM, Beijing (100029)*

Objective : To explore the therapeutic mechanism of Xiaoyin Jiedu Yin (XYJDY) in treating psoriasis.

Methods : Abnormal elevation of interleukin 8 (IL-8) level in mice was induced by Staphylococcus aureus enterotoxin B (SEB), then the antagonizing effects of XYJDY and Composite Qingdai Capsule were observed.

Results : Serum IL-8 level arose and reached the peak 3-5 hrs after SEB induction. XYJDY could antagonize the induction significantly, and the effect was more significant when large dosage was given. **Conclusion** : XYJDY, in either large or small dose, could effectively antagonize the SEB induction on IL-8. Applying with superantigen theory, this fact could be used to elucidate the mechanism of XYJDY in removing Heat, cooling blood and detoxifying at cell biologic level.

Key words Xiaoyin Jiedu Yin, Staphylococcus aureus enterotoxin B, interleukin 8

银屑病是一种慢性复发性皮肤病,许多因素均可诱发银屑病,其中感染因素尤为明显。根据超抗原理论⁽¹⁾,某些细菌、病毒可作为超抗原,激活 T 细胞,启动免疫系统,分泌多种细胞因子,刺激角质细胞发生银屑病改变。诸多细胞因子中,白细胞介素-8(IL-8)不仅是中性粒细胞的趋化因子,也是角质细胞的有丝分裂原,临床资料显示银屑病患者血清 IL-8 水平与病情及 PASI 积分密切相关^(2,3)。我科采用“消银解毒汤”治疗银屑病血热证总有效率为 91.8%⁽⁴⁾,实验研究表明,该药能降低银屑病患者鳞屑中 IL-8 含量,改善患者微循环状况⁽⁵⁾。本研究根据超抗原理论,观察了消银解毒饮对金黄色葡萄球菌肠毒素 B 型诱导小鼠血清 IL-8 的拮抗作用,进一步探讨了其治疗银屑病过程中的作用机理。

材料和方法

1 材料

1.1 动物 BALB/c 小鼠,一级雄性,6 周龄,体重 20~22g,购自中国医学科学院动物中心,在北京中医药大学生化教研室动物房(国家一级)饲养。

1.2 试剂 金黄色葡萄球菌肠毒素 B 型(SEB),4mg,购自邦定泰克生物技术公司。IL-8 放免药盒,购自东亚免疫技术公司。

1.3 药物 消银解毒饮(水牛角、金银花、赤芍、丹皮、蚤休、全蝎等)每毫升含生药量 1.7g,购自北京中医药大学东直门医院自制药房,东直门医院药剂科制,生产批号 990915。复方青黛胶囊(青黛、土茯苓、丹参、白芷、紫草等)阳性对照药,陕西榆林地区中药厂制,生产批号 990709,每粒 0.5g。

1.4 仪器 超净工作台 北京半导体厂生产。低速自动平衡离心机 LD-25-II 型,北京医用离心机厂生产。FI-630G 微机多道 γ 测定仪,北京 261 厂生产。

2 方法

^{*} 国家中医药管理局重点课题科研基金课题资助(No. 95A2415)

1. 北京中医药大学(北京 100029) 2. 北京中医药大学东直门医院

3. 北京大学人民医院

[△] 现在苏州大学医学院附属第一医院皮肤科

2.1 SEB 对小鼠 IL-8 水平的影响 将 BALB/c 小鼠 36 只随机分为 6 组,每组 6 只,常规饲养 3 天后,第 4 天将 1~5 组小鼠腹腔注射 SEB 25 μ g/20g,分别于 1、3、5、8、12h 后随对照组摘除眼球放血,8000r/min,离心 5min,吸取上清,-30℃ 存,采用放射免疫法测定血清中 IL-8 含量。测取 IL-8 高峰值出现时间。

2.2 消银解毒饮对小鼠血清 IL-8 含量的影响 将 BALB/c 小鼠 72 只随机分为 5 组:(1)模型组,15 只,生理盐水灌胃,平均灌胃量 0.3ml/20g。(2)复方青黛胶囊组,15 只,将 12 粒复方青黛胶囊的内容颗粒溶于 100ml 蒸馏水中,平均灌胃量 0.3ml/20g,20g 小鼠单位体重药量相当于 70kg 成人单位体重药量的 10 倍。(3)消银解毒饮小剂量组,18 只,平均灌胃量 0.3ml/20g,20g 小鼠单位体重药量相当于 70kg 成人单位体重药量的 10 倍。(4)消银解毒饮大剂量组,18 只,消银解毒饮浓缩 1 倍,平均灌胃量 0.3ml/20g,20g 小鼠单位体重药量相当于 70kg 成人单位体重药量的 20 倍。(5)对照组,10 只,生理盐水灌胃,平均灌胃量 0.3ml/20g。各组小鼠连续灌胃 3 天,第 4 天,1~4 组小鼠腹腔注射 SEB 25 μ g/20g,4h 后随对照组摘除眼球放血,8000r/min,离心 5min,吸取上清,-30℃ 保存,采用放射免疫法测定血清中 IL-8 含量。

3 统计学方法 采用 *t* 检验。

结 果

1 SEB 对小鼠血清 IL-8 含量的影响 见表 1。小鼠腹腔注射 SEB 3~5h 后血清 IL-8 水平达到高峰,与对照组比较,差异有显著性($P<0.01$),随后逐渐回落至正常水平。

表 1 SEB 对小鼠 IL-8 水平变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-8(μ g/L)
对照	6	0.8770 $\pm$ 0.0660
1h	6	0.7934 $\pm$ 0.1702
3h	6	1.3837 $\pm$ 0.3032 *
5h	6	1.3698 $\pm$ 0.2924 *
8h	6	0.9750 $\pm$ 0.1850
12h	5	0.7488 $\pm$ 0.1154

注 与对照组比较,* $P<0.01$;12h 组有 1 只小鼠注射药物后死亡

2 消银解毒饮对 SEB 所致小鼠血清 IL-8 含量的影响 见表 2。消银解毒饮小剂量组血清中 IL-8 水平低于模型组,两者差异有显著性($P<0.05$)消银解毒饮大剂量组血清中 IL-8 水平也低于模型组,两者差异有显著性($P<0.001$)复方青黛胶囊组血清中 IL-8 水平虽然低于模型组,但两者间差异无显著性($P>0.05$)。消银解毒饮大剂量组血清中 IL-8 水平低于消

表 2 消银解毒饮对 SEB 所致小鼠血清 IL-8 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-8(μ g/L)
对照	8	0.1547 $\pm$ 0.0858 **
模型	13	0.4148 $\pm$ 0.1758
消银解毒饮小剂量	16	0.2660 $\pm$ 0.1186 *
消银解毒饮大剂量	16	0.1610 $\pm$ 0.0910 ** Δ
复方青黛胶囊	14	0.2990 $\pm$ 0.1608

注 与模型组相比较,* $P<0.05$,** $P<0.001$ 与消银解毒饮小剂量组相比较, $\Delta P<0.01$ 各组小鼠因操作原因灌药后各有 1~2 只死亡 银解毒饮小剂量组($P<0.01$)。模型组血清中 IL-8 水平明显高于对照组,两者差异有显著性($P<0.001$)。

讨 论

银屑病是一种炎症增生性皮肤病,银屑病患者存在多种细胞因子的异常,如 IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 等,而 IL-8 的作用尤为明显^[6]。

多种细胞如单核/巨噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞、角朊细胞等受到一定刺激(LPS、IL-1、TNF- α 、ConA)后均可产生 IL-8,IL-8 的主要生物学活性是趋化并激活中性粒细胞,促进中性粒细胞的溶酶体活化和吞噬作用,同时对嗜碱性粒细胞和 T 细胞也有强烈的趋化作用^[7]。皮下注射 IL-8 能导致局部炎症反应^[8]。同时 IL-8 还是角朊细胞的强有丝分裂原,可加速表皮增殖^[9]。娄卫海等在观察凉血活血汤临床疗效时,检测了治疗前后银屑病患者血清 IL-8 水平,发现 IL-8 疗后较疗前降低($P<0.01$),IL-8 尚与 PASI 积分相关($P<0.01$),推断 IL-8 可能会成为银屑病严重程度的客观指标^[10]。钱起丰也有类似报道^[3]。同时有意义的是,国外研究表明,抗银屑病药物呈剂量依赖性通过抑制角朊细胞表面 IL-8 受体表达及功能来发挥其治疗作用,可见 IL-8 受体是这类药物作用的靶受体^[11,12]。IL-8 常用的诱导剂为 LPS 和 IL-1 α 、TNF- α 等。本研究结合银屑病的超抗原学说,选用 SEB 作为诱导剂,实验中,模型组与对照组血清 IL-8 水平差异有显著性($P<0.001$),取得了令人满意的诱导效果,其诱导效果与 IL-8 峰值出现时间与 LPS 相似。

本实验用药“消银解毒饮”为北京中医药大学附属东直门医院院内制剂。“消银解毒饮”治疗以清热凉血解毒为主,兼散瘀熄风止痒。全方由水牛角、金银花、赤芍、丹皮、蚤休、全蝎等组成,方中水牛角为君,味咸性寒,功能凉血消斑、清热解毒。赤芍、丹皮、金银花、蚤休共为臣药,赤芍、丹皮味辛苦,性微寒,归心肝肾经,功能清热凉血,活血化瘀,与水牛角一起取犀角地

黄汤之意,以清血分郁热而收解毒化斑之效。金银花味苦性寒,归肺胃大肠经,本品能清热解毒,且有轻宣疏散之功,与水牛角、丹皮等合用,使血中热毒透解,共奏清热凉血解毒之效。蚤休味苦性微寒有小毒,归肝经,功能清热解毒,熄风定痉兼能化瘀,辅助君药以加强清热解毒化瘀之力。佐以全蝎味甘辛性平有毒,入肝经,功擅熄风定痉,故有镇静止痒作用,又有攻毒通络之效,取其以毒攻毒而化消斑片。综观全方,符合中医辨证论治,方从法出的原则,在临床实践中取得了令人满意的疗效⁽⁴⁾。治疗前后检测患者鳞屑中 IL-8 含量,表明消银解毒饮有降低鳞屑中 IL-8 含量的作用⁽⁵⁾。本实验采用预防给药的方法,观察了消银解毒饮对 SEB 诱导的小鼠血清中 IL-8 的拮抗作用,结合超抗原理论,从细胞生物学水平阐发了消银解毒饮的清热凉血解毒之功效。但其具体作用机理及消银解毒饮与其他细胞因子如 IL-2、IL-6、TNF- α 等作用有待进一步研究。

参 考 文 献

1. 陈 扬. 银屑病与超抗原相关性的研究进展. 国外医学 1997 23(2):81—84.
2. 张开明,刘梅青,周 敏. 银屑病患者白介素 8 含量测定. 中华皮肤科杂志 1995 28(5):319—321.
3. 钱起丰. 银屑病及其他炎性皮肤病患者血清 IL-8 水平的观

察. 中华皮肤科杂志 1996 29(4):114—115.

4. 瞿 幸,张晓红,牛福玲. 消银解毒饮治疗银屑病血热证临床研究. 中医杂志 2001 42(2):103—104.
5. 张晓红,瞿 幸,牛福玲. 消银解毒饮对银屑病患者鳞屑白介素 8 的影响. 中华皮肤科杂志 2000 33(2):124.
6. Kaplan A, Matsue H, Shibaki A. The effects of cyclosporin A and FK506 on proliferation and IL-8 production of cultured human keratinocytes. J Invest Dermatol 1995 10(2):130—138.
7. 余传霖,叶天星,陆德源,等. 现代医学免疫学. 上海:上海医科大学出版社,1998:136.
8. Leonard EJ, Yoshimura T. Neutrophil attractant activating protein-1 (NAP-1) (interleukin-8). Am J Respir Cell Mol Biol 1990 2:479.
9. Reusch M, Sutudtmann M, Schroder JM, et al. NAP-1/IL-8 is a potent mitogen for human keratinocytes in vitro (abstr.). J Invest Dermatol 1990 95:485.
10. 姜卫海,张志礼,邓丙戎,等. 凉血活血汤治疗进行期银屑病的临床及实验研究. 中华皮肤科杂志 1999 32(2):80—81.
11. Kemeny L, Kenderessy AS, Olasz E, et al. The IL-8 receptor: a potential target for antipsoriasis therapy? Eur J Pharmacol 1994 258:269.
12. Schulz BS, Mihoel G, Wagner S, et al. Increased expression of epidermal IL-8 receptor in psoriasis: down-regulation by FK-506 in vitro. J Immunol 1993 153:4399—4406.

(收稿 2001-05-18 修回 2001-07-16)

欢迎订阅 2002 年《中医药管理杂志》

《中医药管理杂志》是由国家中医药管理局主办的行业指导性期刊。为国际标准大 16 开本,64 页,彩色四封,封面覆膜。本刊名誉主编为卫生部部长张文康、主编为卫生部副部长兼国家中医药管理局局长余靖。办刊宗旨是以党的中医药政策为指导,宣传党和政府有关中医药政策法规及中医药发展成就,借以提高广大中医药管理人员的业务素质和管理水平,总结交流中医药管理的经验和成果,从而推动中医药行业各部门管理工作,为促进中医药事业的发展服务。

本刊发行对象为:国家医药行业主管部门、各省市医药卫生主管机构及职能管理部门、全国各级中医医院、中西医结合医院院长和中医药科研单位及高等中医药院校领导与管理部门。

主要专栏有:政策与法规;专题研究;改革与发展;人物专访;院长访谈;卫生经济;科研管理;人才管理;企业风采;专科建设;示范中医院;医院采风;质量与规范;中药与新药管理;学科进展;网络与新技术应用;民族医药;中医药工作大事记;信息要闻等。

订阅办法 本刊自办发行,双月刊,全年共计 60 元(含邮费);订阅地址 北京东直门内北新仓 18 号《中医药管理杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)64062098。

《中国民间疗法》杂志 2002 年征订启事

《中国民间疗法》是由国家中医药管理局主管,中国中医药出版社与中国民间中医医药研究开发协会联合主办的中医药期刊,国内外公开发行。融医疗、预防、保健、康复于一炉,广泛征集中国民间传统医疗方法,辟有老中医经验、独特疗法、秘方验方、专科临床、专病报道、民族医药、针灸经络、推拿按摩、中西医结合、养生保健、内病外治、古方今用、家庭医生等栏目,每期刊约登百余篇文章,适合广大医药卫生人员尤其是基层医务工作者及中医爱好者阅读和参考。

《中国民间疗法》月刊,正文 64 页,每册定价 5.80 元,全年定价 69.60 元,邮发代号 82-695,各地邮电局(所)均办理订阅。确因从当地邮局订阅困难者,可直接从本刊邮购,含邮费全年订价 79.60 元。邮购地址:北京市朝阳区东兴路 7 号《中国民间疗法》编辑部,邮编 100027,电话:(010)64150341。