

中药联合窄谱中波紫外线对寻常型银屑病表皮中 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3 及生存素的影响

秦兰英¹ 邢卫斌¹ 叶文静¹ 李玉平²

摘要 **目的** 探讨中药联合窄谱中波紫外线(NB-UVB)在调节寻常型银屑病皮损中角质形成细胞凋亡的可能作用。**方法** 选择 30 例寻常型银屑病患者给予中药银屑病方联合 NB-UVB 治疗,疗程 8 周,取治疗前后标本,用免疫组化方法检测正常人(20 名)及患者(30 例)治疗前后皮损中 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)蛋白、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、生存素(survivin)的表达。**结果** 寻常型银屑病患者皮损中 Bcl-2(7.50 ± 2.01)的表达明显低于正常组(12.65 ± 2.83),Caspase-3(21.73 ± 3.70)的表达明显高于正常组织(8.55 ± 2.16),survivin(23.90 ± 2.82)的表达明显高于正常组织(7.06 ± 1.96 , $P < 0.01$);治疗后 Bcl-2(13.63 ± 2.14)表达上调,Caspase-3(11.70 ± 2.44)、survivin(12.46 ± 1.80)表达下调($P < 0.01$),三者均有向正常组织表达转化的趋势。银屑病面积和严重程度指数(PASI)评分由治疗前(14.24 ± 3.42)下降至治疗后(3.52 ± 1.07 , $P < 0.01$)。**结论** 中药银屑病方联合 NB-UVB 可能通过调节 Bcl-2、Caspase-3、survivin 的表达而调节角质形成细胞的凋亡达到治疗目的。

关键词 寻常型银屑病;中药;窄谱中波紫外线;B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白;天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3;生存素

Effect of Combined Therapy with Chinese Drug and Narrow Broad Ultraviolet B on Bcl-2, Caspase-3 and Survivin in Skin Lesion with Psoriasis Vulgaris QIN Lan-ying, XING Wei-bin, YE Wen-jing, et al *Department of Dermatology, Cangzhou People's Hospital, Hebei (061000)*

ABSTRACT **Objective** To reveal the possible role of combined therapy with Chinese drug and narrow broad ultraviolet B (NB-UVB) on keratinocytes apoptosis in skin lesion of psoriasis vulgaris (PV). **Methods** Skin samples were taken from 20 healthy subjects and 30 PV patients before and after they received the combined therapy for 8 weeks. SP immunohistochemical method was used to detect the expressions of Bcl-2, Caspase-3 and survivin in the samples. **Results** As compared with those in the normal skin, expression of Bcl-2 in PV skin was significantly lower (7.50 ± 2.01 vs. 12.65 ± 2.83), while expression of Caspase-3 (21.73 ± 3.70 vs. 8.55 ± 2.16), and survivin (23.90 ± 2.82 vs. 7.06 ± 1.96) were higher (all $P < 0.01$). After treatment, in skin of PV, Bcl-2 expression increased to 13.63 ± 2.14 , Caspase-3 and survivin decreased to 11.70 ± 2.44 and 12.46 ± 1.80 , respectively (all $P < 0.01$), showing a normalizing trend. Moreover, patients' psoriasis area and severity index (PASI) score decreased from 14.24 ± 3.42 before treatment to 3.52 ± 1.07 after treatment ($P < 0.01$). **Conclusion** The curing effect of the combined therapy with Chinese drug and NB-UVB in treating PV is possibly realized by way of regulating Bcl-2, Caspase-3 and survivin expressions to adjust keratinocyte apoptosis.

KEYWORDS psoriasis vulgaris; Chinese medicine; narrow broad ultraviolet B; Bcl-2; Caspase-3; survivin

我院中药协定处方银屑病方联合窄谱中波紫外线 NB-UVB 在寻常型银屑病的治疗中疗效显著。本研究

应用免疫组化方法检测中药银屑病方联合 NB-UVB 治疗前后寻常型银屑病皮损中 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2) 蛋白、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)、生存素 (survivin) 的表达,以期探讨此治疗方法在寻常型银屑病角质形成细胞凋亡调节中的可

作者单位: 1. 河北省沧州市人民医院皮肤科(河北 061000);
2. 河北医科大学第二医院皮肤科
通讯作者: 秦兰英, Tel: 0317-3521106, E-mail: qly602@163.com

能作用。

资料与方法

1 临床资料 2007 年 11 月—2009 年 1 月共收集 30 例寻常型银屑病患者,门诊 22 例,住院 8 例,其中男 14 例,女 16 例,年龄 20~60 岁(平均 33.5 岁),病程 1 个月~10 年(平均 2.6 年),均经病理证实诊断,均无光敏性、肝肾功能障碍性疾病及中药过敏史等治疗禁忌症,并经患者知情同意。治疗前环钻取标本并固定、包埋。给予中药银屑病方(土茯苓 30 g 生地 30 g 玄参 10 g 麦冬 10 g 金银花 10 g 连翘 10 g 黄芩 10 g 红花 10 g 当归 10 g 甘草 6 g)加減每日 1 剂口服,进展期加大青叶 10 g,板蓝根 10 g,丹皮 10 g;静止期皮损肥厚者加三棱 10 g,莪术 10 g,黄芪 10 g;同时给予波长为 311 nm 的 NB-UVB 皮损处照射治疗(SS-03B 型紫外线光疗仪,上海希格玛高技术有限公司),初始剂量为 0.15 J/cm²,每周 2 次,每次剂量递增 0.03 J/cm²,最大剂量达 0.8 J/cm²。治疗 8 周后环钻取皮损标本。治疗前后均根据皮损的面积、红斑、鳞屑、浸润情况进行银屑病面积和严重程度指数(Psoriasis area and severity index, PASI)评分^[1],以判断临床治疗效果,分数越高说明病变范围大,皮损程度重。对照组 20 名皆取自我院整形外科手术切除的正常人皮肤,其中男 9 例,女 11 例,年龄 23~65 岁(平均 35.6 岁)所有标本常规固定,包埋,切片。

2 试验试剂 鼠抗人多克隆抗体 Bcl-2(福建迈新生物技术有限公司,批号:81204014F1)、鼠抗人多克隆抗体 Caspase-3(美国 NeoMarkers 公司,批号:1197P801G)、兔抗人多克隆抗体 survivin(福建迈新生物技术有限公司,批号:90103536C4),SP 免疫组化染色试剂盒(即用型)及 DAB 显色剂(福建迈新生物技术有限公司)等。

3 检测方法 3 种蛋白的检测均采用 SP 免疫组化法进行,按产品使用说明书操作,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,脱水,透明,封片后光镜下观察并摄片。用已知阳性片做阳性对照,空白对照滴加 PBS 液代替一抗。

4 结果判定 切片标本中可见胞浆或胞核内出现棕黄或棕褐色均匀分布的颗粒状沉积物为阳性细胞,Bcl-2 蛋白阳性反应均定位在细胞核;Caspase-3 阳性反应定位在细胞浆及细胞核内;survivin 蛋白阳性反应均定位在细胞浆及细胞核内。阳性细胞计数以在 40×10 倍显微镜下,每一切片取 5 个不同视野,计数平均每一高倍视野中的阳性细胞数列入分析^[2]。

5 统计学分析 用 SPSS 11.5 统计软件进行统计。采用配对 *t* 检验比较治疗前与正常组、治疗前后 3 种蛋白的表达以及治疗前后 PASI 评分情况。

结 果

1 正常人及患者治疗前后寻常型银屑病皮损中的 3 种蛋白的表达比较(表 1,图 1) 患者治疗前皮损中 Bcl-2 明显低于正常组($t = 27.72, P < 0.01$),Caspase-3($t = 42.93, P < 0.01$)及 survivin($t = 73.98, P < 0.01$)的表达明显高于正常组织。与治疗前比较,治疗后 Bcl-2 表达上调($t = 13.42, P < 0.01$),Caspase-3 表达下调($t = 17.47, P < 0.01$),survivin 表达下调($t = 21.89, P < 0.01$)。

表 1 正常人及患者治疗前后寻常型银屑病皮损中的 3 种蛋白的表达比较 (每高倍视野阳性细胞数; $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	Bcl-2	Caspase-3	survivin
正常	20	—	12.65 ± 2.83	8.55 ± 2.16	7.06 ± 1.96
治疗	30	治疗前	7.50 ± 2.01*	21.73 ± 3.70*	23.90 ± 2.82*
		治疗后	13.63 ± 2.14 ^Δ	11.70 ± 2.44 ^Δ	12.46 ± 1.80 ^Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与本组治疗前比较,^Δ $P < 0.01$

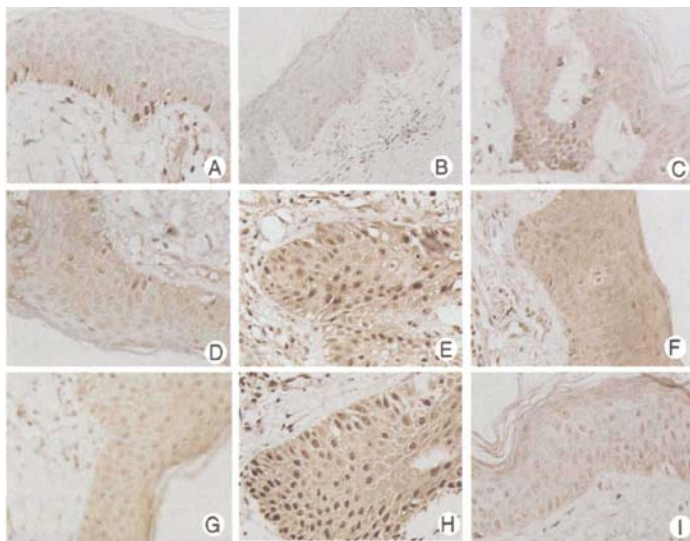
2 治疗组治疗前后 PASI 评分比较 治疗前 PASI 评分为(14.24 ± 3.42),治疗后明显下降(3.52 ± 1.07, $t = 21.34, P < 0.01$),临床疗效显著。

3 随访 治疗结束后随访 0.5 年,4 例有少数皮疹复发,经上述方法治疗后明显好转,2 例患者失去联系。

讨 论

Bcl-2 可阻止细胞凋亡的发生,延长细胞生存,因此称它为细胞长寿基因;Caspase-3 是 Caspase 家族中的重要凋亡执行者之一,抑制 Caspase-3 的活性或拮抗其功能可抑制细胞凋亡;survivin 在抑制细胞凋亡的同时,有促进细胞有丝分裂的作用。

中医学认为,血热是银屑病的根本病机,因此无论病情处于哪一期,清热凉血法贯穿银屑病治疗的各个阶段。中药银屑病方重在凉血活血、清热解毒。进展期加清热解毒药如大青叶、板蓝根、丹皮,治在凉血解毒、解表祛邪;静止期斑块较厚者,加活血行气之药如三棱、莪术、黄芪,重在活血解毒、扶正祛邪。方中土茯苓清热利湿解毒,金银花、连翘、黄芩、大青叶、板蓝根助土茯苓清热解毒,丹皮、生地、玄参清热凉血,当归、红花养血活血。现代药理研究提示,土茯苓提取物对表皮过度增长有明显抑制作用^[3]。低分子量地黄多糖可影响肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡^[4]。黄芩试作



注: A 为正常组织 Bcl-2 阳性表达; B 为患者治疗前 Bcl-2 低表达; C 为患者治疗后 Bcl-2 表达上调; D 为正常组织 Caspase-3 低表达; E 为患者治疗前 Caspase-3 高表达; F 为患者治疗后 Caspase-3 表达下调; G 为正常组织 survivin 低表达; H 为患者治疗前 survivin 高表达; I 为患者治疗后 survivin 表达下调

图 1 正常人及银屑病患者治疗前后局部皮损中的 3 种蛋白表达(免疫组化染色, $\times 400$)

用于肝癌细胞后,使细胞凋亡增加^[5]。当归可通过上调 Bcl-2 抑制梗塞区心肌细胞凋亡^[6]。还具有促进角质形成细胞凋亡的作用,达到治疗银屑病的作用^[7]。红花提取液通过上调 Bcl-2 蛋白表达来抑制肺缺血再灌注损伤细胞凋亡,保护缺血肺组织^[8]。

NB-UVB 是临床治疗银屑病的一种常用方法,文献资料研究表明 NB-UVB 照射可影响角质形成细胞的增殖和分化^[9]。文献研究提示,中药联合 NB-UVB 治疗银屑病与单用 NB-UVB 治疗比较,前者有效率明显高于后者^[1]。

本研究结果显示,与正常组织相比,寻常型银屑病皮损中 Bcl-2 低表达, Caspase-3、survivin 高表达;治疗后 Bcl-2 的表达上调, Caspase-3、survivin 的表达下调,并且治疗后 PASI 评分明显下降,临床效果显著。治疗后由于 Bcl-2 的上调,延长了角质形成细胞的生存期,同时 Caspase-3 表达下调,抑制了角质形成细胞的凋亡,从而使其表皮通过时间延长。survivin 表达下调,抑制角质形成细胞的过度增殖,而达到治疗效果。并且治疗后 3 种蛋白均有向正常组织表达特征转化的趋势,使寻常型银屑病的角质形成细胞凋亡和增殖趋于平衡。由此推测 Bcl-2、Caspase-3、survivin 在寻常型银屑病表皮增生的过程中可能起重要作用,中药银屑病方联合 NB-UVB 可能通过调节 Bcl-2、Caspase-3、survivin 的表达来调节寻常型银屑病角质形成细胞的调

亡而达到治疗效果,其机制还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 李金辉,邓德选,满鹏,等. 克银 3 号汤联合窄谱 UVB 治疗寻常型银屑病的临床研究[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2008, 24(1): 75-76.
Li JH, Deng DX, Man P, et al. The clinical study on treatment of psoriasis vulgaris by Keyin Soup 3 and NB-UVB[J]. China J Leprosy Skin Dis, 2008, 24(1): 75-76.
- [2] 周利平,杨木兰,江涛,等. 银屑病患者 Fas 及 Bcl-2 的表达及中药的作用[J]. 中华皮肤科杂志[J]. 2002, 35(2): 146-147.
Zhou LP, Yang ML, Jiang T, et al. Expression of Fas and Bcl-2 in psoriasis and the role of Chinese medicine[J]. Chin J Dermatol, 2002, 35(2): 146-147.
- [3] 陈国权,刘道清,王旭良. 复方土茯苓汤联合阿维 A 治疗寻常性银屑病临床观察[J]. 新疆中医药, 2006, 24(1): 25.
Chen GQ, Liu DQ, Wang XL. Clinical observation on psoriasis with compound glabrous greenbrier rhizome Decoction and acitretin[J]. Xinjiang J Tradit Chin Med, 2006, 24(1): 25.
- [4] 魏小龙,茹祥斌. 低分子质量地黄多糖体外对 Lewis 肺癌细胞 p53 基因表达的影响[J]. 中国药理学通报, Jun 1998, 14(3): 245-248.

- Wei XL, Ru XB. Effects of low-molecular-weight rehmannia glutinosa polysaccharides on p53 gene expression in Lewis lung cancer cells *in vitro* [J]. Chin Pharmacol Bull 1998, 14(3):245-248.
- [5] 郭昱, 郭霞, 姚金峰, 等. 黄芩甙对肝癌细胞 BEL-7402 形态学的影响 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2008, 17(2):174-179.
- Guo Y, Guo X, Yao JF, et al. Effect of baicalin on ultrastructure of HCC cell line BEL-7402 [J]. Chin J Histochem Cytochem, 2008, 17(2):174-179.
- [6] 上官海娟, 徐江, 官洪山, 等. 当归对心肌梗死后心肌细胞凋亡和心室重构的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(1):39-44.
- Shangguan HJ, Xu J, Guan HS, et al. Effects of *Radix Angelicae Sinensis* on myocardial apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction [J]. Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care, 2008, 15(1):39-44.
- [7] 景海霞, 盛晚香. 当归多糖对豚鼠银屑病皮损中角质形成细胞凋亡的影响 [J]. 武汉大学学报 (医学版), 2006, 27(3):377-380.
- Jing HX, Sheng WX. Influence of angelica polysaccharide on apoptosis in keratinocytes of psoriasis-like lesions of guinea pigs [J]. Med J Wuhan Univ (Med Sci), 2006, 27(3):377-380.
- [8] 戴雍月, 徐正祚, 王万铁, 等. 红花注射液对肺缺血再灌注损伤时细胞凋亡及 Bcl-2 和 Bax 基因的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(6):415-419.
- Dai YY, Xu ZX, Wang WT, et al. Effects of Safflower Injection on pneumocyte apoptosis and Bcl-2 and Bax expression in rabbits with lung ischemia-reperfusion injury [J]. Chin J Arteriosclerosis, 2007, 15(6):415-419.
- [9] Sitailo LA, Tibudan SS, Denning MF. Activation of Caspase-9 is required for UV-induced apoptosis of human keratinocytes. J Biol Chem, 2002, 277(22):19346-19352.

(收稿:2009-11-09 修回:2010-03-22)

2010 中国医师协会中西医结合医师大会第一轮通知

2010 中国医师协会中西医结合医师大会定于 2010 年 11 月 5—7 日在上海国际会议中心、上海世博会议大酒店举行。会议由中国医师协会中西医结合医师分会主办, 复旦大学附属中山医院、中国中西医结合杂志社、《中华脑血管病杂志(电子版)》编辑部承办, 中国中医科学院西苑医院、第二军医大学长征医院、复旦大学附属华山医院、复旦大学附属肿瘤医院、第二军医大学长海医院、上海中医药大学、北京聚业医药科技发展中心等多家机构协办。现将有关事项通知如下:

1 大会主题 团结奋进, 再创辉煌

2 大会安排 (1)开幕式和大会学术报告:开幕式和大会学术报告将在上海国际会议中心举行,届时将成立相关专业专家委员会并邀请知名科学家就中西医结合的焦点问题作大会报告。(2)学术交流:以提高学术交流的质量和实效为核心,围绕中西医结合的学科前沿与学科交叉、科技研究与成果、行业自律与医师维权等问题进行交流研讨。分设 4 个分会场。(3)成立相关专业专家委员会:中国医师协会中西医结合医师分会将成立中西医结合心血管病学专家委员会、中西医结合神经病学专家委员会、中西医结合肿瘤病学专家委员会。专家委员会候选人通过中国医师协会中西医结合医师分会网 (<http://www.cmda-dsim.cn>) 下载专家委员会委员候选人申请表。采用个人申请、单位推荐并由中国医师协会中西医结合医师分会组织专家审定批准。

3 会议语言:中文、英文、日文

4 注册 邮寄注册:通过邮局汇款进行注册;网站注册:通过大会网站按步骤注册;现场注册:参会时现场注册。注册费用:人民币 1 000 元/人。

2010 年 8 月 31 日之前注册并交费的医生可享受如下优惠:三人同时注册交费可减免一人注册费(人民币 3 000 元/4 人);单人注册并交费可减免 150 元注册费(人民币 850 元/人;研究生凭有效研究生证件注册费人民币 600 元/人;注册交费时均请注明 2010 年中西医结合会议注册)。汇款帐号:083507120100304037855 (开户行:光大银行复兴路支行), 汇款地址:北京市海淀区翠微路 2 号院印刷科贸中心 2 层 K202 室;北京聚业医药科技发展中心(邮编:100036)。联系电话:(010)51655678 转 806/802/801;传真:(010)51655678 转 807;中国医师协会中西医结合医师分会网站 <http://www.cmda-dsim.cn>;联系人:安静, 贾春艳, 朱鑫明。

5 征文范围与论文摘要格式 中西医结合、中医、西医临床或基础研究;未来中西医结合医学展望;医师维权与自律的策略与展望。请将论文摘要及作者简介(字数 500 字以内,不需要全文)与一张两寸彩色照片,在 2010 年 7 月 30 日以前通过电子邮件 WORD 文档发送至 dingfangcai@163.com。联系人:蔡定芳, 13701645937。