论 著

中药麻黄对寻常型银屑病小鼠血清IFN-γ、IL-17的影响

李　艳[1]，杨文信[1]，胡荣毅[2]，练　娜[1]，杨春艳[1]
1.西南医科大学附属中医医院 皮肤科（泸州 646000）；2.武汉市第一医院 皮肤科（武汉 430022）

【摘　要】**目的**　探讨中药麻黄对寻常型银屑病小鼠血清干扰素-γ（IFN-γ）、白细胞介素-17（IL-17）的影响。**方法**　采用咪喹莫特诱导造银屑病小鼠模型，实验分为正常对照组、模型组、甲氨蝶呤（1 mg/kg）组、中药麻黄（29.25 mg/kg）组，给药并观察记录各组小鼠的一般情况变化，连续6 d。给药结束后，PASI评分法评估皮损变化，处死小鼠，HE染色观察小鼠皮损组织的病理学变化并进行病理学组织积分和炎症细胞浸润评分；ELISA检测血清IFN-γ、IL-17水平。**结果**　与正常对照组比较，模型组小鼠PASI评分、Baker评分及炎症细胞浸润数评分明显升高（$P<0.05$）。与模型组比较，中药麻黄组小鼠PASI评分、Baker评分及炎症细胞浸润数评分明显降低（$P<0.05$）。与模型组比较，中药麻黄组血清IFN-γ、IL-17水平明显降低（$P<0.05$）。**结论**　中药麻黄可明显降低寻常型银屑病小鼠血清IFN-γ、IL-17水平，发挥对寻常型银屑病小鼠的治疗作用。

【关键词】小鼠　银屑病　麻黄　干扰素-γ　白细胞介素-17
【中图分类号】R285.5　文献标志码 A　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2021.05.023

Effects of ephedra on serum interferon-γ and interleukin-17 in mice with psoriasis vulgaris

LI Yan[1], YANG Wen-xin[1], HU Rong-yi[2], LIAN Na[1], YANG Chun-yan[1]
1.*Department of Dermatological, the Affiliated T.C.M Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*; 2.*Department of Dermatological, the first Hospital of Wuhan, WuHan 430022, China*

【**Abstract**】**Objective**　To investigate the effects of the Chinese medicine ephedra on serum interferon-γ (IFN-γ) and interleukin-17 (IL-17) in mice with psoriasis vulgaris. **Methods**　A mouse model of psoriasis was established using imiquimod. Mice were randomly divided into 4 groups: normal control group, model group, methotrexate group (1 mg/kg), and ephedra group (29.25 mg/kg). Drugs were given for continuous 6 days, and meanwhile, the mice were observed for general condition. The Psoriasis Area and Severity Index (PASI) was used to assess skin lesion changes. HE staining was performed to observe and score the pathological changes of skin lesion tissues as well as evaluate inflammatory cell infiltration score. Serum IFN-γ and IL-17 levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results**　Compared with the control group, the model group had significantly increased PASI score, Baker score, and inflammatory cell infiltration score ($P<0.05$). Compared with the model group, the ephedra group showed significantly decreased PASI score, Baker score, and inflammatory cell infiltration score ($P<0.05$) and significantly reduced serum levels of IFN-γ and IL-17 ($P<0.05$). **Conclusion**　Ephedra can significantly reduce serum IFN-γ and IL-17 levels and play a therapeutic role in mice with psoriasis vulgaris.

【**Key words**】Mouse　Psoriasis　Ephedra　Interferon-γ　Interleukin-17

基金项目：国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项课题（2018YFC1705301）；四川省中医药管理局项目（2020LC0225，2020JC0143）；西南医科大学-西南医科大学附属中医医院联合项目（2018XYLH-027）

第一作者简介：李　艳，硕士，主治医师。
通信作者：杨春艳，硕士，副主任医师。E-mail：472259371@126.com

银屑病是一种常见的慢性炎症性皮肤病，在中国银屑病发病约占0.5 %，其主要特征为白色鳞片覆盖的红斑斑块、皮损和剧烈瘙痒[1-2]。目前，关于银屑病的发病机制尚不清楚。研究表明T细胞介导银屑病的发生发展，皮损中含有数量增加的炎性细胞浸润将诱导炎症反应[3]，其分泌的细胞因子如IL-17、IL-22等，参与了银屑病的免疫发病过程，在银屑病的致病过程中发挥了关键作用[4]。T细胞新的亚群Th17细胞能够分泌产生多种细胞因子包括IL-17、L-6、IL-21、IL-22和TNF等，这些细胞因子有调节和决定免疫应答的作用，在免疫和炎症的多个环节发挥作用。随着外界环境的变化刺激，由树突状细胞分泌的IL-23分子能促进Th17细胞增殖、活化，并产生IL-22，IL-17及其他多种细胞因子[5]，因此成为银屑病样炎性损伤的诱发因素。

关于银屑病的治疗，皮损较轻或稳定期的银屑病患者主要以外用皮质类固醇激素类、维A酸类、维生素D3衍生物类等药物为主，严重患者主要以口服甲氨蝶呤（MTX）、环孢素A、阿维A、生物制剂及类固醇等药物。但长期使用外用药物容易引起皮肤屏障功能破坏、皮肤逐渐萎缩、毛发增多、毛细血管扩张、诱发痤疮、皮肤感觉异常等不良反应；而口服药物均存在明显的骨髓抑制、肝功能异常和代谢紊乱等严重副作用，限制了其在临床上的应用[6]。因此，迫切需要探索新的药物。临床研究发现[7-8]，在中医辩证的基础上联合运用中药麻黄治疗本病，可“宣通玄府、辛凉宣泄”，对控制病情发展及改善预后具有重要作用[7-8]。现代医学表明，中药麻黄具有抗炎、抗过敏等作用[9]，但关于其治疗银屑病的具体作用机制还尚未清晰。因此，本试验观察麻黄对银屑病小鼠血清干扰素-γ（interferon-γ，IFN-γ）、白细胞介素-17（interleukin-17，IL-17）的影响，以期为麻黄治疗银屑病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

7～8周龄SPF级雄性BALB/c小鼠60只，体质量20～25 g，购自成都达硕实验动物有限公司，使用许可证号：SYXK（川）2014-189，室温下给予标准饲料、自由饮水、适应性饲养1 w后用于试验。所有动物按照3R原则给予人道主义关怀。（西南医科大学动物伦理号：2021002333-040）。

1.2 药物与试剂

甲氨蝶呤片，批号：H31020644，购自上海信谊药业有限公司；中药麻黄由西南医科大学附属中医医院中药房提供，中药麻黄制备：麻黄180 g，将药材粉碎后置于圆底烧瓶中，加入10倍量的水，浸泡8 h后煮沸，中药麻黄提取5 h，同时安装挥发油提取器，将药液过滤去渣，滤液浓缩至生药含量为1.5 g/mL，将挥发油用乙醚提取后添加聚山梨酯80和少量滤液，搅拌至乙醚挥发后再与其余药液混合。使用ELISA试剂盒（上海茁彩）检测血清IFN-γ（货号：ZC-37905）、IL-17（货号：ZC-37932）水平。

1.3 动物造模、分组及处理

1.3.1 动物造模、分组 将60只小鼠随机分为正常对照组、模型组、甲氨蝶呤组、中药麻黄组，每组15只。小鼠于背部相同部位剃毛，大小约2 cm × 3 cm。正常对照组：每日62.5 mg白凡士林涂沫背部皮肤，30 min后局部皮内注射100 μL生理盐水；模型组：每日以62.5 mg咪喹莫特乳膏涂沫背部皮肤，30 min后局部皮内注射100 μL生理盐水；甲氨蝶呤组：每日以62.5 mg咪喹莫特乳膏涂沫背部皮肤，30 min后给予甲氨蝶呤1 mg/kg灌胃；中药麻黄组：每日以62.5 mg咪喹莫特乳膏涂沫背部皮肤，30 min后给予中药麻黄29.25 mg/kg灌胃，连续6 d。甲氨蝶呤按药品说明书成人日用量（每天2.5～5 mg）为基础换算动物临床等效剂量为1 mg/kg，加蒸馏水按剂量研磨配制后备用。麻黄根据《备急千金要方》和《中华人民共和国药典》2020年版说明（麻黄用量2～10 g），以临床成人日用量10 g为基础换算动物临床等效剂量为29.25 mg/kg。麻黄由西南医科大学附属中医医院中药房提供，制备浓缩至生药含量为1. 5 g / mL，使用时以蒸馏水配制成所需浓度[10]。

正常对照组小鼠皮肤无鳞屑、红斑等改变。其余各组小鼠皮肤出现红斑、鳞屑、结痂等改变，均造模成功。

1.3.2 样本采集 腹主动脉取血4 mL，3 000 r/min低温离心15 min，分离血清，-80 ℃冰箱保存；切取小鼠背部皮损处皮肤，预冷生理盐水迅速冲净，于4 %多聚甲醛固定。

1.4 指标检测及方法

1.4.1 一般情况 观察小鼠的一般情况，主要包括皮肤状态、精神、饮食、死亡情况等。

1.4.2 PASI对背部皮损进行评估 肉眼观察小鼠背部形态，采用银屑病皮损面积和严重程度指数（PASI）[11]对皮损进行评估。即从皮损面积和皮损严重程度两方面进行综合评分。皮损严重程度度评分由三

个临床体征决定（红斑、浸润和鳞屑），对三种体征的严重程度指数进行独立评估，评分范围为0到4分：0表示无；1表示轻度；2表示中度；3表示严重；4表示非常严重。累积评分（红斑＋鳞屑＋浸润）显示炎症的严重程度。

1.4.3 皮损组织病理学检测　将固定的背部皮损组织石蜡包埋24 h，组织切片（3 μm）依次切割，脱脂，苏木精-伊红（H&E）染色，通过光学显微镜观察病理变化。并采集图像，随机选取5个视野，对图像进行Baker法评分[12]和炎症细胞浸润数评分。Baker法评分为：①角质层：Munro脓肿2分，角化不全1分，角化过度0.5分；②表皮层：表皮突伸展呈棒状0.5、1.0、1.5（轻-中-重），棘层肥厚1分，颗粒层消失0.5分；③真皮层：炎细胞浸润0.5、1.0、1.5（轻-中-重），乳突上伸杵状变1分，毛细血管扩张0.5分。

1.4.4 血清中IFN-γ、IL-17的表达　使用ELISA试剂盒（上海茁彩）检测血清IFN-γ、IL-17水平，试验步骤严格按试剂说明书进行。

1.5 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件，计量资料采用$\bar{x} \pm s$表示，多个样本均数比较采用单因素方差，两两比较采用LSD法，$P < 0.05$有统计学意义。

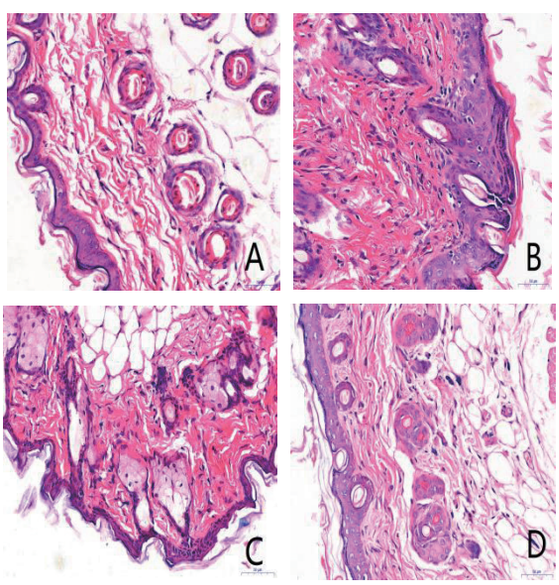
2 结果

2.1 一般情况

正常对照组小鼠皮肤无鳞屑、红斑等改变。造模小鼠在咪喹莫特涂抹1 d后皮肤出现少许点状红斑，2～3 d后皮肤出现细微鳞屑、轻度褶皱，第6 d皮肤红斑变为大面积深红色，布满层状鳞屑、易脱落，皮肤高度增厚，隆起明显。

2.2 组织病理学观察

正常对照组皮肤组织表皮结构完整清晰，角化层明显，复层扁平上皮层较薄，细胞排列较为整齐紧密；真皮内胶原纤维交错排列，胞质红染，呈嗜酸性，毛囊与腺体形态正常，脂肪组织清晰可见；皮下肌层肌纤维排列整齐，体积大小均一，细胞核形态正常，多分布于四周。模型组角质层角化过度，颗粒层明显变厚，棘层肥厚，皮突明显延长及有起伏，真皮层内可见部分以中性粒细胞为主的炎细胞浸润，其他无明显病变。甲氨蝶呤组角质层角化过度，颗粒层明显变薄，皮突稍有延长及有起伏，真皮层内可见少量以中性粒细胞为主的炎细胞浸润，其他无明显病变。麻黄组角质层角化过度，真皮层内可见少量以中性粒细胞为主的炎细胞浸润，其他无明显病变（图1）。

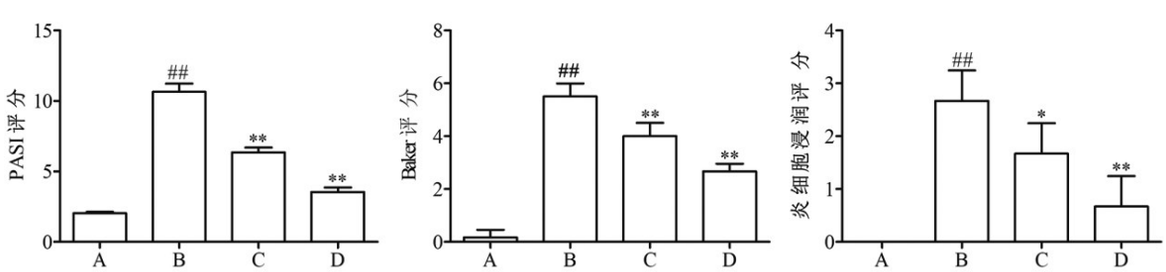


注：A.正常对照组；B.模型组；C.甲氨蝶呤组；D.中药麻黄组

图1 各组小鼠皮损组织病理变化（HE染色，×400）

2.3 中药麻黄对银屑病小鼠PASI评分及组织病理学评分的影响

结果如图2所示，与正常对照组比较，模型组小鼠PASI评分、Baker评分及炎症细胞浸润数评分明显升高（$P < 0.01$）。与模型组比较，中药麻黄组小鼠PASI评分、Baker评分及炎症细胞浸润数评分明显降低（$P < 0.01$）。与甲氨蝶呤组比较，中药麻黄组小鼠PASI评分、Baker评分及炎症细胞浸润数评分明显降低（$P < 0.01$）。



注：A.正常对照组；B.模型组；C.甲氨蝶呤组；D.中药麻黄组；与正常对照组比较，$^{\#\#}P < 0.01$；与模型组比较，$^{*}P < 0.01$；$^{**}P < 0.05$

图2 中药麻黄对银屑病小鼠PASI评分及组织病理学评分的影响

2.4 血清中IFN-γ、IL-17的表达

结果显示模型组小鼠血清IFN-γ、IL-17水平较空白组均明显升高（$P<0.05$），中药麻黄治疗较模型组可明显降低IFN-γ、IL-17水平（$P<0.05$），见表1。

表1 各组小鼠血清IFN-γ、IL-17水平（pg/mL）

组别	IFN-γ	IL-17
空白组	100.11 ± 2.77	9.27 ± 0.14
模型组	116.16 ± 3.16[a]	10.27 ± 0.32[a]
甲氨蝶呤组	110.17 ± 4 .57	9.85 ± 0.36
中药麻黄组	105.36 ± 2.83[b]	9.68 ± 0.21[b]
F	12.089	7.128
P	0.002	0.012

注：模型组与空白组相比，[a]$P<0.05$；其余组与模型组相比，[b]$P<0.05$

3 讨论

银屑病是一种临床常见的炎症性皮肤病。严重银屑病病变可累及全身包括头皮、指甲、粘膜、关节等部位。免疫系统和角质形成细胞之间的相互作用被认为是银屑病主要的发病机制[13]。

银屑病在我国古代医籍中有“干癣”、“松皮癣”、“白疕”之称。中医认为本病因素体营血亏虚，耗伤气血，血虚生风化燥，肌肤失养而成。初或者患者素体内有蕴热，加之外感风寒、风热之邪，阻于肌肤，蕴结不散而发，或因性情急躁，心火内生，或外邪入里化热，或嗜食辛辣肥甘及荤腥发物，伤及脾胃，郁而化热，内外之邪相合，蕴于血分，血热生风而发为本病[14]。“从血论治”的思想体系中，赵炳南、朱仁康、金起凤认为，血热是促使银屑病发生的内在因素，强调“血分有热”是发病的主因，且“血热”的病机贯穿于银屑病病程的始终[15]。《医宗金鉴》曰“固有风邪客皮肤，亦有血燥难外荣”；再如《外科大成》曰“风毒克于肌肤，血燥不能荣养”。故银屑病祖国医学多以血热、血癖、血燥为辨证分型，因此对于寻常型银屑病的中医治疗上主要采用了清热凉血、清热解毒、养血润燥、活血化瘀的药物。然而我们在临床中发现，患者发病多因受凉感冒而诱发，在进行期时，患者皮疹色鲜红而面积不断扩大，鳞屑厚而多，舌红苔黄，脉数，血热之症明显，患者同时具有咽痛，恶寒无汗，受凉病重，临床上总结患者的发病特点及治疗经验，在传统辩证的基础上加用麻黄使邪有出路，正如古籍《本草正》提出“麻黄以轻扬之味，而兼辛温之性，故善达肌表，走经络，大能表散风邪……”，麻黄利用药物辛散宣透疏通利的特性，开通腠理，宣畅气机，透发血分热邪，通畅血脉，从而达到血凉，热透的目的。药理发现中药麻黄可通过抑制CD4+ T淋巴细胞对自身抗原的识别和应答，使对已过激应答的免疫系统得到有效控制，具有抗炎、抗过敏的作用，可用于治疗银屑病[16]。

咪喹莫特（ImQ）是一种Toll样受体（TLR7/8）激动剂，应用于小鼠皮肤可诱导红斑、鳞屑、棘皮病、角化不全和炎症，ImQ诱导的银屑病样小鼠模型和细胞模型已被广泛用于模拟炎症型银屑病，这些模型有利于探索银屑病基础药物治疗的机制[17]。本研究中，模型组小鼠角质层过度角化，颗粒层明显变厚，皮突明显延长及有起伏，棘层肥厚，真皮层可见炎细胞浸润，而麻黄的使用可改善角质层角化过度，减轻真皮层内炎细胞浸润。说明中药麻黄可明显改善小鼠皮损组织病理变化。

研究发现由T细胞介导的免疫机制在银屑病的发生发展中具有重要作用[18]，其中Th17轴具有其标志性细胞因子IL-17，已成为慢性疾病过程的关键驱动因素，并已成为药物开发的重点，中和IL-17或阻断其受体IL-17RA的生物制剂，显示出银屑病的临床缓解[19]。在ImQ小鼠模型中IL-17信号传导在银屑病皮炎和中性粒细胞浸润的启动中起关键作用[20]。本研究显示中药麻黄可减轻寻常型银屑病小鼠皮损组织病理损伤；通过中药麻黄治疗，IFN-γ、IL-17含量较模型组均明显降低（$P<0.05$），表明中药麻黄对IMQ诱导小鼠表现出免疫调节和抑制作用，这可能是其治疗银屑病的作用机制。

4 结论

中药麻黄可改善咪喹莫特诱导的寻常型银屑病小鼠皮损组织病理及炎性因子变化，发挥对寻常型银屑病小鼠的治疗作用。

参 考 文 献

[1] Yan KX, Zhang YJ, Han L, *et al*. Safety and efficacy of methotrexate for Chinese adults with psoriasis with and without psoriatic arthritis[J]. JAMA Dermatol, 2019, 155(3): 327-334.

[2] 郝运宏, 李新新, 翟鑫鼎, 等. 二联药物方案辅助窄谱中波紫外线治疗寻常型银屑病疗效研究[J]. 陕西医学杂志, 2019, 48(9): 1212-1215.

[3] Hawkes JE, Chan TC, Krueger JG. Psoriasis pathogene-

sis and the development of novel targeted immune therapies[J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 140(3): 645-653.
[4] 宋建坤, 蒯仂, 罗楹, 等. 银屑病合并代谢紊乱的相关机制研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(14): 2753-2758.
[5] Blauvelt A. T-helper 17 cells in psoriatic plaques and additional genetic links between IL-23 and psoriasis[J]. J Invest Dermatol, 2008, 128(5): 1064-1067.
[6] 张姗, 刘红霞, 欧韵. 银屑病病因病机研究进展[J]. 皮肤病与性病, 2017, 39(1): 27-30.
[7] 胡丹, 杨雨晴, 陈杰, 等. 以调和营卫、宣通玄府法治疗寻常型银屑病[J]. 江西中医药, 2018, 49(12): 22-23.
[8] 李艳, 杨春艳, 张剑. 传统辨证联合麻黄治疗银屑病(血热证)临床疗效分析[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2019, 3(9): 75-76.
[9] 杨昕宇, 肖长芳, 张凯熠, 等. 麻黄临床应用与药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(12): 2874-2877.
[10] 朱周, 顾丽群, 任祺, 等. 中药银屑病一号方治疗血热型银屑病的疗效观察[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(1): 41-45.
[11] Shi Q, He Q, Chen WM, *et al*. Ginsenoside Rg1 abolish imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis in BALB/c mice via downregulating NF-κ B signaling pathway[J]. J Food Biochem, 2019, 43(11): e13032.
[12] Yu JH, Xiao ZC, Zhao RZ, *et al*. Paeoniflorin suppressed IL-22 via p38 MAPK pathway and exerts anti-psoriatic effect[J]. Life Sci, 2017, 180: 17-22.
[13] 吴玥, 王宏林. 银屑病的免疫学机制与治疗靶点[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(11): 1281-1288.
[14] 李曰庆, 何清湖. 中医外科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
[15] 朱鹏, 周文丽, 杜雪洋, 等. 决银颗粒治疗寻常型银屑病血热证的临床研究[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(4): 449-453.
[16] 黄玲, 王艳宁, 吴曙粤. 中药麻黄药理作用研究进展[J]. 中外医疗, 2018, 37(7): 195-198.
[17] Shirsath N, Wagner K, Tangermann S, *et al*. 8-Methoxypsoralen plus ultraviolet a reduces the psoriatic response to imiquimod in a murine model[J]. Acta Derm Venereol, 2018, 98(6): 576-584.
[18] 王娟,鲍海平. 寻常型银屑病皮损中IL-17和TNF-α的表达[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2018, 34(06): 48-50.
[19] Silfvast-Kaiser A, Paek SY, Menter A. Anti-IL17 therapies for psoriasis[J]. Expert Opin Biol Ther, 2019, 19(1): 45-54.
[20] Moos S, Mohebiany AN, Waisman A, *et al*. Imiquimod-Induced psoriasis in mice depends on the IL-17 signaling of keratinocytes[J]. J Invest Dermatol, 2019, 139(5): 1110-1117.

(2021-06-04 收稿)



专　家　简　介

杨春艳,副主任中医师。西南医科大学四川省中医药管理局学术和技术带头人后备人选,全国名老中医学术经验继承人,现任西南医科大学附属中医医院皮肤科副主任,中医外科教研室副主任,中华中医药学会外治分会委员、四川省女医师协会皮肤病专委会副主任委员、四川省中医药学会中医外科皮肤科专业委员会委员、四川省医学会医学美学与美容专业委员会青年委员、四川省老年医学会皮肤病专业委员会委员。主要擅长于中西医结合治疗损容性皮肤疾病,发表论文10余篇,参编专著3部,教材1部,主研厅局级课题3项,参研国家级各级课题6项。