

IL-1 $\beta$ , IL-8 在使用复方苦参洗剂治疗小鼠瘙痒症中的表达孙洁慧<sup>1</sup>, 赵景文<sup>1</sup>, 左进<sup>2</sup>

1 甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730030; 2 甘肃省中医院

**[摘要]** 目的: 观察复方苦参洗剂对细胞因子白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和白介素-8(IL-8)引起皮肤瘙痒的治疗作用, 初步探讨复方苦参洗剂治疗皮肤瘙痒的作用机理。方法: 采用磷酸组胺建立小鼠瘙痒模型, 用即用型 SABC 法免疫组化染色后对各皮损部位的切片进行 IL-1 $\beta$ 、IL-8 含量检测。结果: 与空白组和基质组相比, 复方苦参洗剂高、中、低各剂量组 IL-1 $\beta$ 、IL-8 灰度值均降低, 其差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与炉甘石洗剂组相比, 复方苦参洗剂高、中剂量组 IL-1 $\beta$ 、IL-8 灰度值降低, 其差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 复方苦参洗剂可明显抑制瘙痒模型小鼠皮肤组织中 IL-1 $\beta$  和 IL-8 的含量, 其改变程度与用药剂量有密切关系。

**[关键词]** 白介素-1 $\beta$ ; 白介素-8; 瘙痒; 复方苦参洗剂

**[中图分类号]** R758.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-6852(2012)10-0018-02

Expression of IL-1 $\beta$  and IL-8 During the Course of Applying Compound Kuh-seng Lotion to Mice with PruritusSUN Jie-hui<sup>1</sup>, ZHAO Jing-wen<sup>1</sup>, ZUO Jin<sup>2</sup>

1 Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China;

2 Gansu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine

**Abstract** Objective: To observe the function of compound kuh-seng lotion on cytokine (interleukin-1 $\beta$  and interleukin-8) which induced pruritus and initially explore the mechanism of compound kuh-seng lotion in treating pruritus. Method: Pruritic mice model was established with histamine phosphate. Contents of IL-1 $\beta$  and IL-8 in slices were detected with SABC method. Result: Compared with blank group and stroma group, grey levels of IL-1 $\beta$  and IL-8 lowered in high, middle and low dose groups of compound kuh-seng lotion, the differences suggested statistical meaning ( $P < 0.05$ ); compared with calamine lotion, grey levels of IL-1 $\beta$  and IL-8 decreased in high and middle groups of compound kuh-seng lotion, the differences demonstrated statistical meaning ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Compound kuh-seng lotion can obviously inhibit the contents of IL-1 $\beta$  and IL-8 in skin tissue of pruritic mice, the degree is closely associated with the dose.

**Keywords** interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-8; pruritus; compound kuh-seng lotion

复方苦参洗剂是甘肃省中医院院内制剂, 主要用于治疗肛周瘙痒。其特点是药物直接作用于病变部位, 可最大限度地发挥药物的有效作用。尽管复方苦参洗剂在临床上的疗效已经得到确认, 然而关于这种洗剂的作用机理尚不完全清楚, 因此加深对复方苦参洗剂的研究是十分必要的。白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )是内皮细胞活化因子, 是一种主要起免疫调节作用的激素样肽类物质, 即炎症前期细胞因子<sup>[1]</sup>, 主要由活化的单核-吞噬细胞产生, 而血清中或皮损局部产生的白介素-8(IL-8), 则在表皮内形成皮损处的炎症浸润等过程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>, 本文将选择这两种细胞因子来鉴定复方苦参洗剂的药理作用。

## 1 材料与方

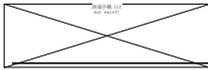
**1.1 药物和试剂** 复方苦参洗剂: 甘肃省中医院药剂科制备。炉甘石洗剂: 上海佳运黄浦制药有限公司生产, 批号: 110227。磷酸组胺: 上海中泰化学试剂有限公司生产, 批号: 20101026。脱毛膏: 佛山

从容化妆品厂生产, 批号: 20140426。生理盐水: 甘肃扶正药业科技股份有限公司生产, 批号: 2011041903。即用型 SABC 免疫组化试剂盒羊抗兔 IgG, 武汉 Boster 公司生产, 产品编号: SA1022。IL-1 $\beta$  抗体(bs-0812R, 0.2 mL, 北京博奥森公司生产), IL-8 抗体(NYR-HILB, 500  $\mu$ g, 北京博奥森公司生产) DAB 显色试剂盒(产品编号: AR1022, 武汉 Boster 公司生产), PBS 缓冲液(免疫组化 武汉博士得生物工程有限公司生产), 4%多聚甲醛, 甘肃中医学院实验室配制。

**1.2 实验动物** SPF 级昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半, 体质量(22 $\pm$ 5)g, 由甘肃中医学院中心实验室 SPF 动物实验室提供。许可证号: 6200025031。

**1.3 实验方法**

**1.3.1 动物分组** 将 60 只小鼠按完全随机法分成 6 组: 空白组、生理盐水组(基质组)、炉甘石洗剂组、苦参洗剂高剂量组、苦参洗剂中剂量组、苦参洗剂低剂量组, 每组雌雄各半。



1.3.2 动物模型制备和给药方法 将分好组的小鼠置于合适的环境(室温 23~25℃,相对湿度 50%~70%)中,于给药前 24 小时每只小鼠头颈后部脱毛,皮下注射磷酸组胺 100  $\mu\text{L}/\text{rat}$ ,各组小鼠均正常喂养。造模成功后,各组小鼠于给药前 24 小时开始分别按动物体表面积换算法计算剂量擦涂的相应药物,苦参洗剂高剂量组 0.936 g/mL,中剂量组 0.468 g/mL,低剂量组 0.234 g/mL,炉甘石洗剂组 0.5 mL/cm<sup>2</sup>,2 次/d,连续 15 天。生理盐水组涂擦等量生理盐水,2 次/d,连续 15 天<sup>[3]</sup>。

1.3.3 标本取材及实验方法 造模连续给药后第 15 天取背部皮损组织,使用 4%多聚甲醛溶液浸泡固定,常规脱水、透明、石蜡包埋,制作组织芯片。SABC 法测定皮损中 IL-1 $\beta$ 、IL-8 水平。

1.4 皮肤组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-8 水平测定 首先进行免疫组化染色,本实验采用即用型免疫组化染色(SABC)法染色。应用 BI-2000 免疫组化图像分析系统分析,随机抽取生理盐水组、炉甘石洗剂组、苦参洗剂高剂量组、中剂量组、低剂量组颈背部皮损切片各 4 张,用 Image-Pro Plus6.0(Media Cybernetics) 图像分析软件对各切片的 IL-1 $\beta$ 、IL-8 含量进行检测分析,结果以平均灰度值表示,其灰度值的大小与 IL-1 $\beta$ 、IL-8 的阳性表达成反比。

1.5 统计学方法 运用 SPSS 16.0 进行统计分析。计量资料( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

皮肤组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-8 水平测定结果见表 1。

表 1 各组小鼠皮肤组织中 IL-1 $\beta$  和 IL-8 的表达

组别	IL-1 $\beta$ 灰度值	IL-8 灰度值
空白组	46.231 $\pm$ 1.038	35.496 $\pm$ 0.697
基质组	40.288 $\pm$ 0.698	30.967 $\pm$ 0.629
炉甘石组	24.800 $\pm$ 1.058*	25.831 $\pm$ 0.539*
苦参低剂量组	31.189 $\pm$ 1.292*	26.052 $\pm$ 1.377*
苦参中剂量组	20.898 $\pm$ 0.934* $\Delta$	17.710 $\pm$ 0.692* $\Delta$
苦参高剂量组	15.639 $\pm$ 0.695** $\Delta$	12.712 $\pm$ 0.783** $\Delta$

注:与对照组相比,\*\*表示  $P < 0.01$ ,\*表示  $P < 0.05$ , $\Delta$ 表示与炉甘石相比  $P < 0.05$ 。

由表 1 可见,与空白组和基质组相比,复方苦参洗剂均有较好的抑制瘙痒细胞因子的作用且抑制作用与剂量有密切关系。与炉甘石洗剂组相比,使用复方苦参洗剂的高剂量组与中剂量能更好地抑制瘙痒细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-8。

## 3 讨论

瘙痒是皮肤科最常见症状之一,见于皮肤病、胆道疾病、甲状腺疾病、肾脏疾病、恶性肿瘤以及

艾滋病等多种临床常见疾病<sup>[4-5]</sup>。肛周瘙痒症是发生于肛管及肛门周围皮肤以及会阴部原因不明的、没有明显原发性损害的顽固性瘙痒<sup>[6-10]</sup>,引起肛周瘙痒症的原因复杂,在肛肠科中常被作为一种独立的疾病治疗。甘肃省中医院肛肠科结合多年的临床实践经验研制成的复方苦参洗剂是一种中药洗剂,其临床治疗肛周瘙痒症疗效确切,功效十分显著,已得到广大患者认可,取得了很好的经济效益和社会效益。但目前关于这种药物疗效的判定仅是依据临床经验做出的,尚无对其作用机理的系统研究。为此,本实验针对其作用机理进行了实验研究,通过使用磷酸组胺对小鼠建立瘙痒模型,这是目前应用最多的瘙痒动物模型建模方法<sup>[11-12]</sup>,然后通过免疫组化 SABC 法,测定了瘙痒皮损部位的 IL-1 $\beta$  和 IL-8 的表达,结果表明复方苦参洗剂在影响 IL-1 $\beta$  和 IL-8 表达方面比传统药物炉甘石更好,这为复方苦参洗剂用于瘙痒症的治疗提供了药理依据。

当然,有关与肛周瘙痒症最为相关的细胞因子的确定,还需要更为全面和细致的实验研究。

## 参考文献

- [1] Bazan JF, Timans JC, Kastelein RA, et al. A newly defined Interleukin-1[J]. Nature, 1996, 379 (6566): 591.
- [2] Takaoka A, Arai I, Sugimoto M, et al. Involvement of IL-31 on scratching behavior in NC/Nga mice with atopic-like dermatitis[J]. Exp Dermatol, 2006, 15 (3): 161-167.
- [3] 陈月葵,王晖,梁庆,等. 复合物致小鼠瘙痒模型的建立[J]. 中国药理学通报, 2009, 25 (1): 133-135.
- [4] 张玉琴,李树君,贾育蓉,等. 肤痒舒擦剂治疗瘙痒性皮肤病 356 例[J]. 甘肃中医, 2011, 24 (8): 79-80.
- [5] 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.
- [6] 张小元,李立. 肛门瘙痒症的辨证论治体会[J]. 甘肃中医, 1998, 11 (6): 15.
- [7] 赵黎明. 局部注射联合中药熏洗治疗肛门瘙痒症 50 例[J]. 河北中医, 2012, 34 (1): 41-42.
- [8] 吴健,周文举. 自拟“肛痒汤”洗浴治疗肛门瘙痒 55 例临床观察[J]. 甘肃中医, 2008, 21 (7): 43.
- [9] 何迅,艾儒棣,王尚兰. 养血止痒胶囊药效学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15 (5): 306-309.
- [10] 高明霞,李康生,董菁,等. 脑不对称 Ba1b/c 小鼠血浆 IL-1 $\beta$ , IL-6 及皮质酮水平变化[J]. 中国免疫学杂志, 2000, 16 (11): 19-21.
- [11] 郑敏,孙国均. 银屑病患者体外 T 淋巴细胞对白介素-8 的化学趋化功能[J]. 中华皮肤科杂志, 1998, 31 (2): 87-89.
- [12] 喻桃,张玉环. 特异性皮炎细胞因子研究进展[J]. 中国热带医学, 2006, 6 (8): 1487-1489.

收稿日期:2012-04-10

作者简介:孙洁慧(1986—),女,硕士研究生。研究方向:肛肠疾病的中医诊治。