

复方环磷腺苷乳膏治疗银屑病的药效学研究

盛国荣 (江苏省南通市皮肤病性病防治所, 江苏 南通 226006)

摘要:目的 研究复方环磷腺苷乳膏对银屑病动物模型的治疗作用。方法 采用小鼠阴道上皮病理模型、小鼠尾鳞片上皮病理模型和豚鼠耳部皮肤银屑病样皮损模型,观察复方环磷腺苷乳膏对上皮细胞分裂及表皮细胞分化的影响。结果 复方环磷腺苷乳膏能明显抑制阴道上皮细胞有丝分裂,对小鼠尾鳞片表皮颗粒层形成有显著促进作用,使豚鼠银屑病样模型耳部皮肤厚度显著减少。结论 复方环磷腺苷乳膏为治疗银屑病的有效药物。

关键词:复方环磷腺苷乳膏;银屑病;动物模型;治疗作用

中图分类号: R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)05-0449-03

Pharmacodynamic Study of the Ointment of Cyclic Adenosine Phosphate Compound (OCAPC) on Treating Psoriasis

SHENG Guo-rong (Nantong dermatosis institution, Nantong 226006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the therapeutic actions of the Ointment of Cyclic Adenosine Phosphate Compound (OCAPC) on animal models of psoriasis. **METHODS** The effects of OCAPC on the epithelial mitosis and epidemic cells' differentiation were detected by using the samples of the mice' vaginal epithelium and scales' epidemias at the tails of mice and the epithelium of the guinea pig's ears with psoriasis. **RESULTS** OCAPC showed remarkable inhibitive actions on mice' vaginal epithelial cell mitosis and promoted the formation of epidermal granular layer in the scales at the mice' tails and decrease the thickness of epidemias on the guinea pig's ears with psoriasis. **CONCLUSION** These results show OCAPC is an effective drug for treatment of psoriasis.

KEY WORDS: the Ointment of Cyclic Adenosine Phosphate Compound (OCAPC); psoriasis; animal model; the therapeutic action

银屑病具有病程长、慢性顽固、病情反复、迁延难愈的特点,其发病机制较复杂,主要与感染、内分泌、代谢障碍、免疫异常、多基因遗传和精神等因素有关。笔者根据银屑病的基本病理特征以及近年来对银屑病病因学研究的理论和实验依据^[1],以环磷腺苷、维A酸和尿素为主要配方,研制了复方环磷腺苷乳膏,临床上主要用于治疗寻常型银屑病。为了进一步证实其疗效及作用机制,笔者利用银屑病病理模型和银屑病样皮损模型对该制剂进行了药效学研究,以其为临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物 体重20~30 g的ICR小鼠64只,阴道上皮病理模型用雌性小鼠,鼠尾鳞片模型雌雄各半;体重300~450 g白色豚鼠30只,雌雄各半;以上动物均由南通大学实验动物中心提供,合格证号:SKX(苏)2002-005。

1.2 药物与仪器 复方环磷腺苷乳膏(处方:环磷腺苷0.5 g,维A酸1.0 g,尿素200 g,二甲亚砷50 mL,月桂氮革酮30 mL, O/W乳膏基质适量,共制成1 000 g。本所制剂室提供,批号060316);0.1%维A酸乳膏(重庆华邦制药股份有限公

司生产,批号20060909);己烯雌酚(上海信谊康捷有限公司生产,批号050101);秋水仙碱(昆明国家高新技术开发区金鼎科技园生产,批号050715)。普萘洛尔(东北制药总厂生产,批号040315);CH21-B1M型欧林巴斯生物显微镜(日本产)。

1.3 方法

1.3.1 复方环磷腺苷乳膏对雌激素期小鼠阴道上皮细胞有丝分裂的影响^[2-3]

给雌性小鼠腹腔注射己烯雌酚,连续3 d,每次0.2 mg,1次·d⁻¹,使小鼠阴道上皮处于雌激素期。第4天将小鼠分为4组进行实验,每组8只,第1组为空白对照组,第2组为阳性对照(维A酸乳膏)组,第3组为复方环磷腺苷乳膏低剂量组,第4组为复方环磷腺苷乳膏高剂量组。于每日晨8:00开始给药,以左手背位固定小鼠,右手取预先吸有药物的钝性管,小心插入阴道2~3 mm,分别灌注药物。复方环磷腺苷乳膏低剂量组每日给药1次(0.05 g·只⁻¹·d⁻¹),阳性对照组与复方环磷腺苷乳膏高剂量组每日给药2次(0.1 g·只⁻¹·d⁻¹)。为了避免昼夜节律对细胞有丝分裂的影响,每

基金项目:南通市社会发展科技计划项目(S2006029)

作者简介:盛国荣,男,副主任药师

Tel: 13615202386

E-mail: sg85682366@126.com

组实验时间均加以统一,连续 3 d,于末次给药当天上午 9:00 给每只小鼠腹腔注射秋水仙碱 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,使细胞有丝分裂周期停滞于有丝分裂中期,便于计数。6 h 后断颈杀死小鼠,切取阴道组织,用 10% 福尔马林溶液固定,石蜡包埋,HE 染色。在光镜下,计数 300 个基底细胞中的有丝分裂数,折算出每 100 个基底细胞中的有丝分裂数,称为有丝分裂指数,比较各组小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂指数。

1.3.2 复方环磷腺苷乳膏对小鼠尾部鳞片表皮角化过程的影响^[2,3]

将小鼠同前分为 4 组,每组 8 只。复方环磷腺苷乳膏低剂量组涂抹小鼠尾部 1 次 ($0.1\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),复方环磷腺苷乳膏高剂量组与阳性对照组每日涂抹小鼠尾部 2 次 ($0.2\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。连续用药 14 d 后处死小鼠,取距尾根约 1.8 cm 处的背部表皮,进行常规组织切片,HE 染色。光镜下观察,凡两个毛囊口之间的鳞片表皮有连续成行的颗粒细胞层者,称为有颗粒层形成的鳞片。计数每 100 个鳞片中有颗粒层的鳞片数,比较各组数据。

1.3.3 复方环磷腺苷乳膏对普萘洛尔所致豚鼠耳部皮肤银屑病皮损模型的影响^[4]

盐酸普萘洛尔 5 g 溶于 50% 的乙醇液中,加入 Azone 丙二醇 5 mL 作为复合促进剂,加入 PVPK₃₀ 5 g 为成膜材料,再加入 50% 的乙醇液使成 100 mL,制备普萘洛尔搽剂。取 30 只豚鼠,雌雄各半,分为 5 组,即正常对照组、模型组、阳性对照组、复方环磷腺苷乳膏低剂量组和复方环磷腺苷乳膏高剂量组,除正常对照组外,其余各组用玻棒涂普萘洛尔搽剂于左侧耳廓 ($0.3\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$), $2\text{次}\cdot\text{d}^{-1}$,连续 2 周以造成耳部皮肤银屑病皮损模型。此后开始用药,正常对照组和模型组不用药,复方环磷腺苷乳膏低剂量组每日给药 1 次 ($0.2\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),阳性对照组和复方环磷腺苷乳膏高剂量组每日给药 2 次 ($0.4\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),用药 2 周后,取豚鼠左侧耳廓皮肤,用 10% 甲醛液固定,石蜡包埋,HE 染色,观察耳廓皮肤角质层、颗粒层、棘细胞层、基底细胞层等变化,同时在光镜下 ($\times 400$) 用测微尺测表皮厚度,然后换算成实际厚度 (mm),进行各组间差异性比较。

1.3.4 统计学分析 各组资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 各组小鼠阴道上皮细胞有丝分裂情况

在光镜下观察,注射过己烯雌酚的小鼠阴道上皮呈多层上皮,出现角化,证明属于雌激素周期的阴道上皮。与空白对照组相比,复方环磷腺苷乳膏低剂量组和阳性对照组对小鼠阴道上皮基底细胞有丝分裂均具有显著的抑制作用 (有丝分裂指数, $P<0.05$),两组间无显著性差异 ($P>0.05$);复方环磷腺苷乳膏高剂量组对小鼠阴道上皮基底细胞有丝分裂具有非常显著的抑制作用, (有丝分裂指数, $P<0.01$),与阳性对照组相比,两组间有显著性差异 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 各组小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成情况

各治疗组对鼠尾鳞片表皮颗粒层形成有明显的促进作

表 1 复方环磷腺苷乳膏对雌性周期小鼠阴道上皮细胞分裂指数的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Influence of OCAPC on Vaginal epithelial cell divisional index of female mice ($\bar{x}\pm s$)

组 别	动物数	有丝分裂指数
空白对照组	8	20.32 $\pm$ 2.45
阳性对照组 ($0.1\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	8	16.81 $\pm$ 2.09 ¹⁾
复方环磷腺苷乳膏低剂量组 ($0.05\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	8	17.35 $\pm$ 2.56 ¹⁾
复方环磷腺苷乳膏高剂量组 ($0.1\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	8	12.07 $\pm$ 3.25 ²⁾³⁾

注:与空白对照组相比,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与阳性对照组相比,³⁾ $P<0.05$

Note: Compared with bank control group,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$; compared with positive control group,³⁾ $P<0.05$

用,有颗粒层的鳞片数显著增多,与空白对照组相比 (均为 $P<0.01$),颗粒层数量由空白对照组的 1~2 层增至 3~5 层,其中以复方环磷腺苷乳膏高剂量组作用最明显,与阳性对照组相比,两组间有显著性差异 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 复方环磷腺苷乳膏对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Influence of OCAPC on fomatation of scales' granular layer of epide m is of mice' tails ($\bar{x}\pm s$)

组 别	动物数	有颗粒层的鳞片数
空白对照组	8	5.67 $\pm$ 0.89
阳性对照组 ($0.2\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	8	14.56 $\pm$ 4.22 ¹⁾
复方环磷腺苷乳膏低剂量组 ($0.1\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	8	12.61 $\pm$ 3.18 ¹⁾
复方环磷腺苷乳膏高剂量组 ($0.2\text{ g}\cdot\text{只}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	8	20.54 $\pm$ 4.13 ¹⁾²⁾

注:与空白对照组相比,¹⁾ $P<0.01$;与阳性对照组相比,²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with bank control group,¹⁾ $P<0.01$; compared with positive control group,²⁾ $P<0.05$

2.3 各组豚鼠耳部皮肤银屑病皮损的改变

在光镜下观察,正常豚鼠耳部皮肤能见到完整的角质层,颗粒层为线状,两侧有黑色颗粒,棘细胞层为多角形细胞,基底层是单层柱状细胞,有丝分裂相较少;模型组角质层角化不全或过度,棘层增厚,基底层有丝分裂相减少,部分基底细胞质中有较多黑褐色颗粒细胞,固有层个别部位充血;复方环磷腺苷乳膏低、高剂量组和阳性对照组的角质层均较完整,颗粒层由较多褐色颗粒组成,棘细胞层变薄,基底层细胞分裂相减少,未见明显的褐色颗粒。模型组豚鼠耳部表皮厚度较正常对照组明显增加 ($P<0.01$),复方环磷腺苷乳膏低、高剂量组和阳性对照组豚鼠耳部皮肤厚度与模型组相比显著减少 (均为 $P<0.01$),其中复方环磷腺苷乳膏高剂量组豚鼠耳部皮肤厚度接近正常对照组,复方环磷腺苷乳膏高剂量组豚鼠耳部皮肤厚度和阳性对照组相比,有显著差异 ($P<$

0.05)。见表3。

表3 复方环磷腺苷乳膏对豚鼠耳部表皮厚度的影响 ($\bar{x} \pm s$, mm)

Tab 3 Influence of OCAPC on epidermis thickness of mice ears ($\bar{x} \pm s$, mm)

组别	动物数	表皮厚度
正常对照组	6	60.226 ± 0.056
模型对照组	6	0.394 ± 0.049 ¹⁾
阳性对照组 (0.4 g·只 ⁻¹ ·d ⁻¹)	6	0.283 ± 0.053 ²⁾
复方环磷腺苷乳膏低剂量组 (0.2 g·只 ⁻¹ ·d ⁻¹)	6	0.294 ± 0.046 ²⁾
复方环磷腺苷乳膏高剂量组 (0.4 g·只 ⁻¹ ·d ⁻¹)	6	0.229 ± 0.037 ²⁾³⁾

注:与空白对照组相比,¹⁾ $P < 0.01$;与模型对照组相比,²⁾ $P < 0.01$;与阳性对照组相比,³⁾ $P < 0.05$

Note: Compared with blank control group,¹⁾ $P < 0.01$; compared with model control group,²⁾ $P < 0.01$; compared with positive control group,³⁾ $P < 0.05$

3 讨论

银屑病是一种常见的顽固而易复发的慢性红斑鳞屑性皮肤病,其病因目前尚不清楚,银屑病的基本病理特点是表皮细胞增殖过快和角化不全,如能抑制表皮细胞的增生或角化不全(促进颗粒层形成)者,即可能具有治疗银屑病的药理作用^[4]。

目前治疗银屑病的外用药物,主要包括糖皮质激素类、维A酸类等,但强效糖皮质激素外用可引起诸多不良反应,如抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴,吸收后导致寻常型银屑病转变为红皮病型银屑病,甚至脓疱型银屑病。维A酸类制剂口服与外用可有效治疗各型银屑病,但外用维A酸的药动学明显优于系统用维A酸,它们定向作用于分子靶位,较系统用药毒性大为减轻。在表皮中有维A酸- γ (RAR γ)受体,故外用表皮中多,给药后表皮呈陡梯状,且易溶于皮脂,经皮渗入少,真皮中进入少,全身系统中扩散少^[4]。

有人通过动物实验发现,增高内源性的环磷腺苷或加入外源性的环磷腺苷的衍生物,均有抑制表皮细胞分裂和增殖作用,反之表皮细胞的增殖与分裂则是由于环磷腺苷缺乏的原因,此外,环磷腺苷有激活磷酸化酶的作用,因而也影响糖原的代谢,如表皮内环磷腺苷的含量低下,可使表皮内糖原增多,从而引起表皮细胞有丝分裂增加,转换率加快;人体研究也发现,测定银屑病患者的内源性环磷腺苷,发现皮损处的环磷腺苷较之未累及皮肤处和正常对照者皮肤中的为低,认为表皮的增殖和分裂是由于环磷鸟苷/环磷腺苷的比率增高所引起,推测银屑病表皮增殖的机制之一是与环磷鸟苷/环磷腺苷的比率失衡有关^[5]。基于此,笔者在外用维A酸制剂治疗银屑病的基础上,加入外源性的环磷腺苷以纠正表皮中环磷鸟苷/环磷腺苷的比率失衡,同时利用尿素具有抗菌

作用,使细菌和真菌生长受阻,且其可止痒和使角质蛋白溶解变性,增进角质层水合作用,显著增加皮肤角质层的含水量并提高角质层的水份保持能力,使皮肤柔软防止皲裂,以进一步提高治疗银屑病疗效。

雌激素周期的小鼠阴道上皮细胞增殖活跃,上皮细胞转换加快,本实验利用它作为病理模型,评价药物抑制细胞有丝分裂的作用。正常情况下,小鼠尾部鳞片的表皮角质层角朊细胞保留有细胞核,而颗粒层颗粒细胞缺失,仅在毛囊处有少量的颗粒细胞,表皮较薄,其天然的角化形式与人类银屑病表皮相似,本实验利用它作为病理模型,可模拟银屑病角化不全的特点,评价药物促进颗粒层形成的作用。本实验利用以上两种模型对复方环磷腺苷乳膏治疗银屑病的药效学进行了评价,结果发现,复方环磷腺苷乳膏局部外用,能非常显著地抑制小鼠阴道上皮细胞的有丝分裂。该药局部外涂时,药中所含有效成分进入银屑病的皮损部,抑制表皮增生过快,使皮损趋于消退。实验还表明,外涂该药物能显著增加小鼠尾部鳞片表皮的颗粒层,证明该药能改变表皮的角化形成,从不全角化转为有颗粒层形成的完全角化,通过纠正角化不全而起到治疗银屑病的作用。本实验还用普萘洛尔在豚鼠耳部皮肤制备了银屑病样皮损模型,结果表明,复方环磷腺苷乳膏可显著抑制普萘洛尔所致的豚鼠耳部表皮异常角化与增殖。

本实验研究发现,复方环磷腺苷乳膏能抑制雌激素期小鼠阴道上皮细胞有丝分裂,促进小鼠尾部鳞片表皮角化及颗粒层形成,抑制普萘洛尔所致的豚鼠耳部表皮异常角化与增殖,表明复方环磷腺苷乳膏对上述三种银屑病动物模型具有良好的治疗作用,为复方环磷腺苷乳膏治疗银屑病提供了药效学依据。

REFERENCES

[1] LI W Y, QIAO S F, MAO S H. Therapeutic progress of psoriasis [J]. China J Lep Skin Dis(中国麻风皮肤病杂志), 2004, 20(4): 370-372.

[2] GAO H, WANG Q, LI R Q, et al. Experimental study of TNF- α on mouse model of psoriasis[J]. Clin Exp Study(临床与实验研究), 2005, 27(3): 6-7.

[3] MA S J, YANG S H, SONG C E, et al. Pharmacodynamic Study of Xiaoyin Ointment on treating psoriasis[J]. China J Lep Skin Dis(中国麻风皮肤病杂志), 2004, 20(6): 531-532.

[4] WANG X J, WANG W M, LI J C, et al. Experimental study of Xiaoyinlin ointment of treating psoriasis model[J]. Chin J Tradit Med Sci Technol(中国中医药科技), 2005, 12(2): 83-85.

[5] JIANG Z Y, ZHAO D M. Papulosquamous Dermatitis [M]// Zhao B. Clinical Dermatology(临床皮肤病学), third ed. Nanjing: Jiangsu Scientific Press, 2001: 761-762.

收稿日期: 2007-10-31