

## · 论 著 ·

## 花椒挥发油对豚鼠耳部银屑病样病理改变的疗效

何洋<sup>1</sup>, 庞建新<sup>1</sup>, 谢果<sup>2</sup>, 黄增芳<sup>2</sup>

**摘要:**目的 探讨花椒挥发油外用对豚鼠耳部银屑病样病理改变的治疗作用。方法 5%盐酸普萘洛尔(心得安)软膏外涂豚鼠耳部外侧皮肤,建立银屑病样模型,然后分别以哈西奈德乳膏和花椒挥发油 DMSO 溶液进行治疗,光镜下观察耳部皮肤病理变化。结果 造模后的组织病理可见角化过度、棘层肥厚、真皮毛细血管扩张充血、水肿,有较明显的炎症细胞浸润。外涂哈西奈德乳膏、20%及 5%花椒挥发油 DMSO 溶液、治疗后,造模处皮损组织病理明显改善,高、低剂量治疗组与造模组比较,Baker 评分及炎症细胞浸润数出现下降( $F_{3,6}=239.711, 630.330; F_{3,7}=81.098, 174.545; P<0.05$ )。高剂量治疗组与低剂量治疗组相比,Baker 评分及炎症细胞浸润数存在显著差异( $F_{6,7}=84.902, 216.907; P<0.05$ )。花椒挥发油 DMSO 溶液外涂未见局部刺激、过敏症状,各组豚鼠主要脏器未发现组织病理学改变。结论 花椒挥发油 DMSO 溶液外涂可改善心得安诱发的豚鼠耳部银屑病样皮损的病理变化,治疗作用与浓度高低成正相关。

**关键词:**花椒挥发油;银屑病;动物替代试验

中图分类号:R758.63 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2012)5-545-03

Therapeutic effects of solution with essential oil Zanthoxylum Bungeanum Maxim on psoriasis-like pathological changes of Guinea pig. HE Yang<sup>1</sup>, PANG Jian-xin<sup>1</sup>, XIE Guo<sup>2</sup>, et al. (1.Southern Medical University, Guangzhou Guangdong 510515 China; 2.University of Electronic Science and Technology of China Zhongshan Institute, Zhongshan Guangdong 528400 China)

**Abstract** Objective To observe the therapeutic effects of solution with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim on psoriasis-like pathological changes of Guinea Pig. Methods 5% propranolol ointment was applied on Guinea pigs' ears to produce psoriasis-like pathological changes, then solution with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim concentration of 20% and 5% were applied on the affected ears. The pathological manifestations were investigated under light microscope. Results There were hyperkeratosis, acanthosis, telangiectasis and inflammatory cell infiltration in the Guinea pig psoriasis-like models. After being treated with Halcinonide Cream, solution with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim concentration of 20% and 5%, the pathological manifestations were remarkably improved. A significant difference ( $F_{3,6}=239.711, 630.330; F_{3,7}=81.098, 174.545; F_{6,7}=84.902, 216.907; P<0.05$ ) of the improvement of Baker score and Infiltration of inflammatory cells count were observed between Guinea pig psoriasis-like models treated with high and low concentrations of solution with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim and between models and control animals. Toxic effects on ear sites due to local application of solution with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim were not observed. Conclusion Solution with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim might have an inhibitive effect on psoriasis-like pathological changes of Guinea pigs' ears induced by 5% propranolol ointment. The therapeutic effect is positively correlated with the concentration into.

**Key words:** Essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim; Psoriasis; Animal testing alternatives

银屑病俗称牛皮癣,是一种常见的慢性皮肤病,其主要特征为角质细胞(KC)过度增殖和分化异常致使表皮层角化过度或角化不全,T细胞浸润并引发持续性炎症反应。病因尚未完全明了,多数学者认为其属于T细胞介导的自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。花椒挥发油是芸香科植物花椒的干燥成熟果实,其的化学成分主要有生物碱、酰胺、木脂素、香豆素、挥发油和脂肪酸等<sup>[2]</sup>,对心血管系统、消化系统、免疫机能、凝血功能、镇痛、镇静、抗炎、抑菌杀虫、抗肿瘤等均具有较强的药理活性<sup>[3]</sup>。目前国内对花椒挥发油抗肿瘤药理活性的研究

不断深入。新的研究显示,花椒挥发油可有效抑制细胞的有丝分裂,使细胞增殖受到抑制<sup>[4]</sup>。理论上花椒挥发油存在改善、治疗银屑病病理的可能性,本实验以5%心得安软膏外涂构建豚鼠银屑病样病理模型,观察花椒挥发油外用的疗效,为花椒挥发油治疗银屑病提供最初的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试验动物 6~8周龄哈脱莱(Hartley)普通级健康成年豚鼠56只,雌雄不限,体重300~350g,由广

作者单位:1.南方医科大学 广东 广州 510515; 2.电子科技大学中山学院 广东 中山 528400

作者简介:何洋(1982~),男,助理研究员,主要从事药理学研究。

东省医学实验动物中心提供。

1.1.2 药品与试剂 哈西奈德乳膏(10mg/10g,广东顺峰药业有限公司生产,产品批号 201111101) 5%心得安软膏(本实验室配制) 花椒挥发油(无水乙醇微波辅助萃取,本实验室提取) 40%二甲基亚砷(DMSO)溶液 5%和 20%花椒挥发油二甲基亚砷(DMSO)溶液(简称花椒挥发油溶液,本实验室配制)

1.2 方法

1.2.1 造模型方法及造模型后处理 5%心得安软膏均匀涂抹豚鼠耳部外侧 3 次/日,连续 3 周,建立银屑病样模型<sup>[5]</sup>。造模后按各组给药要求,分别外涂阳性对照药物及不同浓度花椒挥发油溶液 3 次/日,连续 2 周。给药完成后以颈椎脱位法处死动物,取耳部标本及内脏标本,10%甲醛溶液固定,冲洗,脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色,封片,光镜观察皮肤病理变化。

1.2.2 实验动物分组 实验动物随机分为 7 组,每组 8 只:组 1 正常对照组,正常饲养 5 周;组 2 造模组,造模成功后切取耳廓标本及脏器标本;组 3 造模后观察组,造模成功后不作任何处理,饲养 2 周;组 4 溶剂对照组,造模成功后耳廓外侧涂 40%DMSO 溶液 3 次/日×2 周;组 5 阳性药物对照组,造模成功后耳廓外侧涂哈西奈德乳膏 3 次/日×2 周;组 6 高剂量治疗组,造模成功后耳廓外侧涂 20%花椒挥发油 DMSO 溶液 3 次/日×2 周;组 7 低剂量治疗组,造模成功后耳廓外侧涂 5%花椒挥发油 DMSO 溶液 3 次/日×2 周。

1.2.3 实验疗效评估 每只豚鼠两侧耳部各制作切片 3 张,光学显微镜 10×20 视野下随机选取 5 个视野,利用计算机图像分析软件,对选取视野进行图像分析,参照 Baker 法<sup>[6]</sup>进行组织学积分评估,并对炎症细胞进行计数。

1.3 统计学分析 用 SPSS18.0 统计软件,全部数据以均值±标准差(±s)表示,组间均数比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P<0.05$  为统计学有显著差异。

2 结果

2.1 皮肤 HE 染色结果 组 1(正常对照组)镜下见皮肤结构完整,表皮层未见角化过度、角化不全、颗粒层缺乏、棘层肥厚;真皮层未见结缔组织血管扩张充血或水肿,真皮内散在炎性细胞浸润(图 1)。组 2(造模组)镜下可见表皮层广泛角化过度,棘层明显增厚,皮突延长并成波浪状起伏,其中 3 例可见 Munro 小脓肿,真皮层内血管扩张充血、水肿、轻度至中度炎性细

胞浸润(图 2)。较组 1 和组 2 的组织学评分及炎症细胞浸润数差异有统计学意义( $F_1=733.171$   $F_2=1012.080$ ;  $P$  均  $<0.05$ ) 提示造模成功,见表 1。

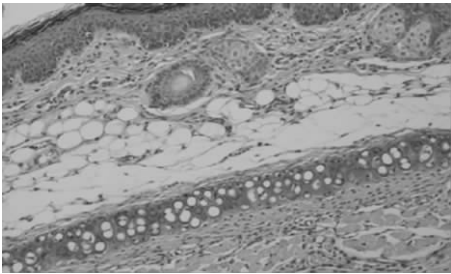


图 1 正常对照组豚鼠耳部皮肤(HE 染色 × 200)  
Fig 1 Guinea pigs' ear skin of Normal control group (HE stain, × 200)

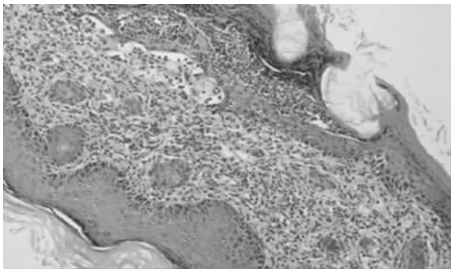


图 2 造模组豚鼠耳部皮肤病理改变(HE 染色 × 200)  
Fig 2 Guinea pigs' ear skin of Psoriasis-like model group(HE stain × 200)

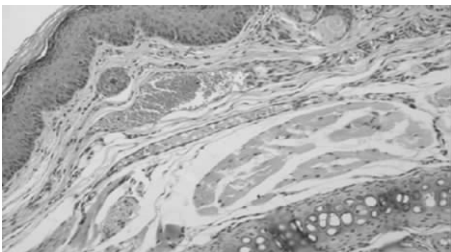


图 3 花椒挥发油治疗后豚鼠耳部皮肤病理改变(HE 染色 × 200)  
Fig 3 Guinea pigs' ear skin of treated with essential oil of Zanthoxylum Bungeanum Maxim group(HE stain × 200)

表 1 豚鼠耳部皮肤组织 Baker 评分及炎症细胞浸润计数(±s)  
Table 1 The Baker scores and Infiltration of inflammatory cells counts of the Guinea pigs' ears

组别	样本数	Baker 评分	炎症细胞计数
Group	No. of Samples	Baker scores	Inflammatory cells counts
1	20	0.75± 0.44*	22.15± 2.81
2	20	6.48± 0.83	90.45± 9.18
3	20	6.35± 0.75 <sup>△</sup>	88.65± 7.60
4	20	6.10± 0.68 <sup>△</sup>	85.85± 8.05
5	20	2.45± 0.71*	36.35± 3.87
6	20	3.13± 0.56* <sup>#</sup>	40.25± 4.06
7	20	4.60± 0.45*	61.65± 5.07

\* $P<0.05$  vs group2 group3 and group4 # $P<0.05$  vs group7 ; $△P>0.05$ , vs group2.

组 3(造模后观察组)、组 4(溶剂对照组)镜下所见与组 2 类似,较组 2 和组 3、组 4 的组织学评分及炎症细胞浸润数差异无统计学意义( $F_{2,3}=0.250$   $P=0.456$ ;  $F_{2,4}=2.425$   $P=2.840$   $P>0.05$ ,见表 1),提示该病理改变在不接受 5%心得安软膏刺激的情况下可以维持 2w 不改变,花椒挥发油溶液基质(40%DMSO 溶液)无治疗作用。组 5(阳性药物对照组)、组 6(高剂量治疗组)、组 7(低剂量治疗组)镜下可见皮肤结构完整,表皮层角化过度程度减轻,棘层增厚程度减轻,未见 Munro 小脓肿,真皮层内血管扩张充血、水肿程度减轻,炎症细胞浸润明显减少(图 3)。用药组的组织学评分及炎症细胞浸润数与组 3、组 4 比较差异有统计学意义( $F_{3,5}=288.990$   $P=751.508$   $F_{3,6}=239.711$   $P=630.300$ ;  $F_{3,7}=81.098$   $P=174.545$   $P<0.05$   $F_{4,5}=277.400$   $P=614.544$ ;  $F_{4,6}=228.209$   $P=511.660$   $F_{4,7}=67.857$   $P=129.453$   $P$  均  $<0.05$  见表 1),提示花椒挥发油溶液对豚鼠耳部的银屑病样病理改变和炎症现象具有抑制作用。另外,组 6 与组 7 的组织学评分及炎症细胞浸润数有显著性差异( $F_{6,7}=84.902$   $P=216.907$   $P$  均  $<0.05$ ,见表 1),提示 20%的花椒挥发油溶液较 5%的花椒挥发油溶液的治疗作用更为明显。

2.2 脏器组织 HE 染色结果 各组豚鼠心、肝、肺、肾等主要脏器均未见组织病理学改变。

### 3 讨论

银屑病中医古称之为“白疔”,接近二十年来中医各医家的经验分型,将银屑病分为:血热、血虚、血燥、血瘀、毒热、脓毒、寒湿七型<sup>[7]</sup>。花椒药用历史悠久,《本草纲目》记载其味辛,性温,归脾、胃、肾经,主治风邪气,出寒痹,入肺散寒,入脾除湿,水肿泻痢。现代药理研究表明花椒挥发油对调节免疫机能、抗炎和抗肿瘤有较强的作用,有利于银屑病的治疗。

在实验中,观察不同浓度花椒挥发油溶液外用治疗心得安所致豚鼠耳部银屑病样病理改变的疗效。花椒挥发油溶液外涂给药治疗后,豚鼠耳部皮损表皮角化过度及真皮血管扩张显著改善,炎症细胞浸润数量明显减少,其病理 Baker 评分和炎症细胞计数明显下降,提示花椒挥发油溶液外用具有一定的抑制细胞过度增殖和抗炎活性。花椒挥发油溶液外用 2 周后即有明显疗效,其疗效在一定浓度范围与浓度呈正比。

心得安致豚鼠耳部皮肤病理改变表现为角化过度、角化不全、棘层增厚、皮突延长、炎症细胞浸润增

强。这些特征是由心得安阻断角朊细胞和多形白细胞的  $\beta$ -肾上腺能受体导致细胞内 cAMP 水平下降所致,较好的模拟了人类银屑病的主要病理特点。但是这仅是药物局部刺激所致,未能反应银屑病所致的整体病理变化。要想更好的模拟银屑病的病理生理变化可配合采用异体移植动物模型或转基因动物模型<sup>[8]</sup>。本实验只是一个初步尝试,有待进行更多更系统的研究。

### 参考文献:

- [1] Lew W, Bowcock AM, Krueger JG. Psoriasis vulgaris: cutaneous lymphoid tissue supports T-cell activation and "Type 1" inflammatory gene expression[J]. Trends Immunol 2004, 25: 295-305.
- [2] Liu SL, Wei LX, Wang D, et al. Studies on the Chemical Constituents from the Peel of Zanthoxylum Schinifolium Sieb Et Zucc. [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1991, 26(11): 836-840. (In Chinese)  
(刘锁兰, 魏璐雪, 王动, 等. 花椒化学成分的研究[J]. 药学报, 1991, 26(11): 836-840.)
- [3] Mei QX, Bi HX. Contemporary Pharmacology of Traditional Chinese Drug [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 1998, 3. (In Chinese)  
(梅全喜, 毕焕新. 现代中药药理手册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1998, 3.)
- [4] Yuan TN, Wang YL, Wang JZ, et al. Primary Study of the Anti-tumor Effect and its Mechanism of Zanthoxylum in vivo and in vitro [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2008, 19(12): 2915-2916. (In Chinese)  
(袁太宁, 王艳林, 汪肇植, 等. 花椒体内抗肿瘤作用及其机制的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(12): 2915-2916.)
- [5] Huang T, Zhang SI, Sun L. Psoriasis-like Pathological Changes of the Guinea pig's ears Caused by propranolol [J]. Chinese Journal of Dermatology, 1991, 24: 96-97. (In Chinese)  
(黄敏, 张淑芝, 孙令. 心得安涂药造成豚鼠耳部银屑病样病理变化[J]. 中华皮肤科杂志, 1991, 24: 96-97.)
- [6] Baker BS, Brent L, Valdimarsson H, et al. Is epidermal cell proliferation in psoriatic skin grafts on nude mice driven by T-cell derived cytokines[J]. Br J Dermatol, 1992, 126: 105-110.
- [7] Wang YH, Wang Y, Zhang MN. Review of treatment of psoriasis by Traditional Chinese medicine [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2007, 35(3): 47-49. (In Chinese)  
(王远红, 汪洋, 张敏娜. 中医药治疗银屑病分型治疗综述[J]. 中医药学报, 2007, 35(3): 47-49.)
- [8] Gilhar A, David M, Jullmann Y, et al. Dependence of psoriatic pathology in human psoriatic skin grafted to SCID mice [J]. J Invest Dermatol, 1998, 110: 459-460.

收稿日期 2012-03-12 编辑 符式刚