

芩珠凉血合剂对湿疹患者外周血 GR α 受体的影响^{*}

李 苏, 陈 洁, 李 斌, 李福伦, 缪 晓[△]

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

摘要: 目的 观察芩珠凉血合剂对湿疹患者外周血 GR α 受体的影响。方法 60 例湿疹患者随机分为 2 组。治疗组 32 例, 予芩珠凉血合剂; 对照组 28 例, 予咪唑斯汀缓释片(皿治林), 均口服治疗 4 周。检测患者治疗前后外周血 GR α 受体的含量, 并与 20 例健康的正常人作对照, 正常组 20 例均来自岳阳医院体检中心体检人群。结果 2 组湿疹患者外周血 GR α 受体与正常组作比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 芩珠凉血合剂组治疗前后外周血 GR α 受体含量比较有显著差异($P<0.05$); 皿治林组治疗前后外周血 GR α 受体含量比较无显著差异($P>0.05$)。结论 芩珠凉血合剂可以上调湿疹患者外周血 GR α 含量, 皿治林对湿疹患者外周血 GR α 含量无明显改变。

关键词: 芩珠凉血合剂; 皿治林; 外周血 GR α 受体

中图分类号: R285.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)01-0017-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.01.005

湿疹是一种变态反应性炎性皮肤病, 其临床特点多表现为自觉剧烈瘙痒、皮损多形性、对称分布、有渗出倾向、慢性病程、且反复发作, 严重影响患者的生活质量。目前, 临床上对于湿疹的治疗, 常短期采用口服激素或者长期外用激素治疗。然而, 许多患者初用激素制剂疗效较好, 继续使用数日后其疗效却明显下降, 甚至一部分患者初用激素制剂即疗效不佳, 这是激素的快速减敏或耐受(Tachyphylaxis)现象。本研究拟通过系统性观察芩珠凉血合剂对外周血糖皮质激素受体 GR α 的影响, 探讨其可能作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

全部病例来自上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院皮肤科 2014 年 1 月至 2015 年 1 月门诊及病房湿疹患者 60 例, 另取 20 例正常人作为正常组(均来自岳阳医院体检中心体检人群)。应用 DPS 随机数字表, 按就诊顺序将 60 例病人随机分为治疗组 32 例和对照组 28 例。最后完成研究的患者共 55 例(治疗组 30 例和对照组 25 例)。脱失病

例 5 例, 治疗组 2 例, 对照组 3 例, 脱失率为 8.33%。治疗组 30 例(男性患者 16 例, 女性患者 14 例), 年龄 23~65 岁, 平均(51.59 $\pm$ 12.46)岁, 平均病程 1.31 月。对照组 25 例(男性患者 15, 女性患者 10 例), 年龄 16~65 岁, 平均(49.79 $\pm$ 13.36)岁, 平均病程 1.67 月。2 组年龄、性别、病程及病情严重程度比较, 无显著性差异($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 取样

分别取患者服药前后外周静脉血 5 mL, 离心 2 000 r/min, 取血清 2 mL, 置于无菌 EP 管中-80 $^{\circ}$ C 低温冰箱保存。ELISA 方法定量比较芩珠凉血合剂作用于患者 1 个月前后, 患者外周血中 GR α 的含量, 并与 20 例正常人作比较。

1.3 实验试剂和仪器

1.3.1 实验试剂

人糖皮质激素受体(GR-a)ELISA 试剂盒。

1.3.2 实验仪器

酶标仪型号: DENLEY DRAGON Wellscan MK3

1.3.3 检测方法

①采用 ELISA 法检测患者外周血中 GR α 表达

^{*} 基金项目: 上海市卫生局课题(20134203); 上海市高级中西医结合人才培养项目(ZYSN XD012-RC-ZXY010)

收稿日期: 2015-12-07

作者简介: 李苏(1987-), 女, 山东济南人, 住院医师, 研究方向: 中西医结合治疗皮肤病。

[△]通信作者: 缪晓, E-mail: lieast@263.net

水平;

②分别在 96 孔板(复孔)中分别加入 100 μL 标准品和血清样品,充分混匀后在室温 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置 120 min;

③洗涤液充分洗涤每个检测孔 3~5 次,放置干燥;

④每个检测孔中加入 100 μL 第一抗体工作液。并将反应板充分混匀后放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 室温下 60 min;

⑤重复洗涤步骤;

⑥每反应孔中加入 100 μL 酶标抗体工作液,室温 37 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min;

⑦再次洗涤反应板;

⑧每反应孔中加入 100 μL 底物工作液,室温 37 $^{\circ}\text{C}$,避光放置 15 min;

⑨每反应孔中加入 100 μL 终止液终止反应;

⑩酶标仪下读取反应体系在 450 nm 处的吸光值(30 min 内完成);

1.3.4 结果计算与判断

①数值矫正:所有反应孔的吸光 OD 值都与空白对照反应孔的 OD 值进行矫正后再进行计算;

②标准曲线:以标准品 0,3.12,6.25,12.5,25,50,100,200 ng/mL 为横坐标,450 nm OD 吸光值为纵坐标,作标准反应曲线;

③终值读取:根据每一样品在标准反应曲线图上所读取的 450 nm 反应吸光 OD 值与相应的稀释倍数乘积,计算相应标本的 GR α 浓度;

1.4 统计方法

数据分析采用 SPSS18.0 统计分析软件。计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,统计采用单因素方差分析,按 $\alpha=0.05$ 标准进行检验,用 Levene 法进行方差齐性检验,组间两两比较采用 Levene 法进行方差齐性检验。

2 结果

2.1 湿疹患者与正常人外周血 GR α 受体相比较

湿疹患者组与正常对照组相比较有显著性差异($P<0.05$),表明湿疹患者外周血中 GR α 受体含量低于正常人外周血中 GR α 受体的含量。见表 1。

表 1 湿疹患者与正常人外周血 GR α 受体相比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	GR α 受体含量/(mg/mL)
湿疹患者组	55	24.54 $\pm$ 10.49
正常对照组	20	30.36 $\pm$ 11.67

2.2 2 组患者外周血 GR α 受体相比较

2 组湿疹患者治疗前外周血 GR α 受体比较无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。芩珠凉血组在治疗前后外周血 GR α 含量比较有显著差异($P<0.01$),血治林组在治疗前后外周血 GR α 含量比较无显著差异($P>0.05$)。说明芩珠凉血合剂可以上调湿疹患者外周血 GR α 含量,血治林对湿疹患者外周血 GR α 含量无明显改变。见表 2。

表 2 2 组患者外周血 GR α 受体相比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	GR α 受体含量前/(mg/mL)	GR α 受体含量后/(mg/mL)	GR α 受体含量前后差值/(mg/mL)
中药组	30	23.97 $\pm$ 10.49	33.19 $\pm$ 11.38	9.22 $\pm$ 5.82
西药组	25	25.24 $\pm$ 10.27	30.43 $\pm$ 10.14	5.19 $\pm$ 3.56

3 讨论

湿疹是一种常见的慢性复发性皮肤病,由多种内外因素引起的表皮及真皮浅层的变态反应性炎症性皮肤病。以自觉剧烈瘙痒,皮损多形性,对称分布,有渗出倾向,慢性病程,反复发作为特点。古代医书中记载的“奶癣”、“旋耳疮”、“浸淫疮”等皆属此病范畴。湿疹致病原因比较复杂,涉及内因的免疫因素和外因的致敏因素等多种原因,临床治疗十分困难。而且,现在临床常用药物如糖皮质激素(GC),存在一定的短期疗效,但是长期使用存在的一定的药物副反应和耐药问题。

随着研究的不断深入,人们逐渐认识到糖皮质激素作用主要通过其受体糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor,GR)来实现的。GC 的功效来自于 GR 在多条信号通路的多效性,其效应遍及所有靶组织。GR 属于核受体家族,广泛分布于几乎所有细胞上^[1]。GR 与 GC 结合后,使得分子伴侣(如热休克蛋白等)从受体复合物上解离。GC/GR 信号传导通路在控制淋巴细胞及上皮细胞的生长上发挥重要作用,甚至在某些组织中 GR 可发挥肿瘤抑制因子的作用^[2]。虽然绝大多数的组织均表达 GR,但糖皮质激素的作用具有非常明确的组织特异性^[3],而 GC 的这种组织特异性是通过 GR 来实现的。GR 分为 GR α 和 GR β 两种亚型。GR α 是 GR 的主要形式,其与皮质醇、DNA 及其它转录因子结合调节靶基因的

转录活性;存在于胞浆中的 GR α 是 GC 的配体结合蛋白,表达于绝大部分的细胞系和所有的核细胞中。当没有 GC 存在时,GR α 以受体复合物的形式存在于包浆之中。当 GR 与 GC 结合之后,复合体中的热休克蛋白 90 (Heat shock protein 90,hsp 90)的结构发生改变,GR α -GC 复合物与 HSP90 等蛋白成分分离进入细胞核,在细胞核内与激素应答基因启动区的糖皮质激素反应元件(Glucocorticoid responsive element,GRE)结合,调节靶基因的转录活性,从而发挥生理及药理作用^[4-5]。GR β 定位于胞核,GR β 可以与 DNA 结合,但不能与配体结合,且不能激活转录,所以只是作为一个负向调节蛋白限制 GR α 的作用。细胞中 GR α 和 GR β 的相对水平决定了细胞对 GC 的敏感程度,如果 GR β 所占的比例较高,会导致细胞的 GC 抵抗,这也就解释了临床上部分患者出现的 GC 抵抗现象^[6]。

研究表明,GR α 的表达水平和它与 GC 的亲合力与 GC 的疗效相关,也就是说,GR α 的表达水平或与 GC 的亲合力下降可能影响到患者对 GC 治疗的敏感性或抵抗 (Resistance or sensitivity to glucocorticoid treatment)^[7-9]。杨玲等^[10]研究发现慢性湿疹皮损中糖皮质激素受体- α 表达下调。并且,中草药在哮喘、重症胰腺炎、甲亢、肾病综合征等疾病中,对糖皮质激素受体均有调节作用。研究结果显示^[11],不同中药在与激素联合治疗疾病时,其疗效较单独应用激素治疗有一定的提高,并可降低复发率,显示中药在激素依赖性疾病的治疗中具有很大的应用价值和治疗意义。而提高体内 GR 水平、增强机体对 GC 的敏感性是不同中药单体/复方共同的作用机制。

芩珠凉血合剂是我院自制制剂,药物组成为黄芩、珍珠母、牡丹皮、紫草、防风、生牡蛎、磁石等。全方重用黄芩、珍珠母为君,黄芩凉血苦寒,归肺、胃经,善清中上焦之湿热,“热清则痒自安”。珍珠母重镇咸寒,入心经,“阳潜则痒自宁”,其效力速。如此两君标本兼顾,共取清热凉血潜阳之效。紫草活血凉血,助黄芩增强凉血之功,且凉血不留瘀;磁石、牡蛎咸寒入肾,益阴潜阳,助珍珠母安神止痒,固守药力,共为臣药。薏苡仁利水渗湿,防风、徐长卿发表散风,外可御敌于表,内可除经络流湿,又防君药

守而不攻之短,以此共为全方佐药。甘草为使,一可缓苦寒、重镇之品防其伤胃,二可调诸药^[12]。合而用之,共奏凉血解毒、重镇潜阳之效。本课题通过对 55 例亚急性湿疹患者治疗前后外周血 GR α 的统计分析发现:芩珠凉血合剂可以上调湿疹患者外周血中 GR α 的含量,这可能与该药的多成分、多靶点作用机制有关,当然也可能是某个中药有效成分的靶向作用,但具体是哪些中药的有效成分发挥作用、通过何种途径发挥作用,目前还没有明确的答案,需要进一步的实验研究。

皿治林是一个长效、强效、特异选择性的组胺 H1 受体阻滞剂,为苯丙咪唑类衍生物^[13-14]。药理作用机制为生物活性拮抗作用,除可选择性地竞争抑制组胺 H1 受体及抑制肥大细胞释放组胺外,还有抗炎作用^[15]。此类药物不通过血脑屏障,副作用相对较小。有研究表明,皿治林可能是通过对花生四烯酸代谢的 5-脂氧合酶途径的抑制作用而产生抗炎作用,从而使皿治林具有双重抗过敏机制,可镇静催眠与抗胆碱能,是迄今为止唯一国际认可的具有双重作用的抗过敏药物^[16]。因此,本课题研究在临床常见的第二代 H1 受体拮抗剂,如氯雷他定、咪唑斯汀、西替利嗪等药物中,选择疗效较好且副作用较小的皿治林作为西药阳性对照物。但该药的作用机制是阻断 H1 受体发挥作用,不能在细胞核内与激素应答基因启动区的 GRE 结合发挥生理及药理作用,因此,皿治林组不能上调湿疹患者外周血 GR α 的含量。

参考文献:

- [1] Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(16): 1711–1723.
- [2] Yemelyanov A, Czwonog J, Chebotaev D, et al. Tumor suppressor activity of glucocorticoid receptor in the prostate [J]. *Oncogene*, 2007, 26(13): 1885–1896.
- [3] Blumberg H, Dinh H, Dean C Jr, et al. IL-1RL2 and its ligands contribute to the cytokine network in psoriasis [J]. *J Immunol*, 2010, 185(7): 4354–4362.
- [4] Pace TW, Hu F, Miller AH. Cytokine—effects on glucocorticoid receptor function: relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression [J]. *Brain Behav Immun*, 2007, 21(1): 9–19.

- [5] Duma D, Jewell CM, Cidlowski JA. Multiple glucocorticoid receptor isoforms and mechanisms of post-translational modification[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2006, 102(1-5): 11-21.
- [6] Schaaf MJ, Cidlowski JA. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and resistance [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2003, 83(1-5): 37-48.
- [7] Cho YJ, Lee KE. Decreased glucocorticoid binding affinity to glucocorticoid receptor is important in the poor response to steroid therapy of older-aged patients with severe bronchial asthma [J]. Allergy Asthma Proc, 2003, 24(5): 353-358.
- [8] Pujols L, Xaubet A, Ramirez J, et al. Expression of glucocorticoid receptors alpha and beta in steroid sensitive and steroid insensitive interstitial lung diseases [J]. Thorax, 2004, 59(8): 687-693.
- [9] Raddatz D, Middel P, Bockemuhl M. Glucocorticoid receptor expression in inflammatory bowel disease: evidence for a mucosal down-regulation in steroid-unresponsive ulcerative colitis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2004, 19(1): 47-61.
- [10] 杨玲, 何威, 黎智, 等. 慢性湿疹皮损中糖皮质激素受体- α 表达下调[J]. 中国麻风皮肤病杂志. 2008, 24(2): 145-146.
- [11] 程彬彬. 中药对糖皮质激素受体的调节研究概况 [J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(7): 89-92.
- [12] 范斌, 李斌, 金若敏, 等. 芩珠凉血合剂抗炎止痒作用的实验研究 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2008, 7(2): 73-75.
- [13] 张玉环, 钟珊珊, 张玉琬, 等. 心理社会因素与慢性湿疹的临床研究 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2008, 7(1): 5-9.
- [14] 柳朋生. 神经系统、免疫与皮肤的关系[J]. 国外医学(皮肤性病学分册), 1990(1): 36-38.
- [15] 于群策, 叶子. 清热凉血汤对寻常性银屑病患者 Th1/Th2 型细胞因子的影响 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2008, 7(3): 155-157.
- [16] 刘玲玲, 朱学骏, 姜薇, 等. 咪唑斯汀治疗慢性荨麻疹的随机双盲研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2003, 36(6): 306-309.
- (编辑: 杨阳)

Effect of Qinzhu Liangxue Mixture on Eczema in Peripheral Blood of Patients with GR Receptor Alpha

LI Su, CHEN Jie, LI Bin, LI Fulun, MIAO Xiao

(Yueyang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200437, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the effect of Qinzhu Liangxue mixture on eczema in peripheral blood of patients with GR receptor alpha. **Methods** A total of 60 cases of eczema were randomly divided into group A (32 cases) and group B (28 cases). The patients in group A were treated with Qinzhu Liangxue decoction continuously for 4 weeks. Subjects in group B were treated with Mizolastine Sustained-release Tablets, twice a day continuously for 4 weeks. The content of GR receptor in the peripheral blood of the patients before and after treatment was detected, and compared with 20 healthy controls, which from the physical examination center of the Yueyang Hospital physical center. **Results** Two groups of eczema patients with peripheral blood GR receptor alpha, differences have significance ($P < 0.05$), compared with normal group, either Qinzhu Liangxue decoction in the treatment group ($P < 0.05$), however there is no significant difference between mizolastine group before and after treatment of peripheral blood GR alpha receptor content ($P > 0.05$). **Conclusion** Qinzhu Liangxue decoction can upregulation of eczema patients peripheral blood GR alpha content, the content of mizolastine in peripheral blood of patients with eczema and GR alpha no obvious change.

KEY WORDS: Qinzhu Liangxue decoction; Mizolastine sustained-release tablets; peripheral blood GR alpha content