

## 银屑病(血热证)豚鼠复合模型的建立及评价研究

泰 刚, 李 洋, 杨志敏, 赵思俊, 王婷婷, 张 燕, 张 弥, 王思武

山西省食品药品检验所, 山西 太原 030031

**摘 要:** 目的 基于中医血热证的病因, 复合银屑病症状, 建立银屑病病证结合的豚鼠复合模型。方法 采用多因素复合造模法, ig给予豚鼠复方热药造成血热证模型, 豚鼠耳部皮肤涂抹5%盐酸普萘洛尔乳剂造成银屑病模型, 从体征、血流变、肛温及耳部皮肤病理变化对模型进行评价, 并采用消银片(2.1 g/kg)对其进行反证。结果 与对照组比较, 模型组豚鼠出现典型的血热证银屑病症状, 肛温明显升高( $P < 0.05, 0.01$ ), 全血黏度低切(LS)、中切(MS)、高切(HS)值均显著升高( $P < 0.01$ ), 耳组织质量和厚度均显著增加( $P < 0.05, 0.01$ ); Baker评分及炎细胞浸润数显著升高( $P < 0.01$ ); 肉眼观察, 模型组豚鼠耳部潮红, 皮肤表面形成结痂, 出现白色银屑, 触之耳组织表面粗糙、质地变硬、厚度增加; 镜检结果显示, 模型组豚鼠皮肤角化过度形成较厚的结痂, 颗粒层不完整, 棘层显著增厚, 表皮突下延, 乳突伸长呈杵状, 新生毛细血管不同程度增多且血管充血, 伴有不同程度水肿及炎细胞浸润。与模型组比较, 消银片组右耳厚度及质量, 耳组织平均厚度及平均质量均显著下降( $P < 0.05$ ); Baker评分及炎细胞浸润数均显著降低( $P < 0.05$ )。结论 豚鼠血热证银屑病模型既有银屑病的病理特征, 又具有中医血热证的证候表现, 是适用于中药的疗效评价和作用机制研究的实验动物模型。

**关键词:** 豚鼠; 复合模型; 血热证; 银屑病; 全血黏度; 炎症; 中医

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)11-2176-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.11.005

## Establishment and evaluation of a compound model of psoriasis (blood heat syndrome) in guinea pigs

TAI Gang, LI Yang, YANG Zhimin, ZHAO Sijun, WANG Tingting, ZHANG Hong, ZHANG Mi, WANG Siwu  
Shanxi Food and Drug Inspection Institute, Taiyuan 030031, China

**Abstract:** **Objective** Based on the etiology of the blood-heat syndrome of traditional Chinese medicine in psoriasis and the combination of the symptoms of psoriasis, the guinea pig composite model of psoriasis syndrome was established. **Methods** The method of multi-factor compound molding was adopted, Model of blood-heat Syndrome induced by ig of compound hot medicine in Guinea Pigs, Ears' backs of guinea pigs were treated topically with 5% propranolol emulsion to create a psoriasis model, The model was evaluated by physical signs, blood rheology, anal temperature and pathological changes of ear skin. Xiaoyin tablets (2.1 g / kg) were used to prove it. **Results** Compared with control group, guinea pigs in model group had typical symptoms of psoriasis of blood heat syndrome, anal temperature was significantly increased ( $P < 0.05, 0.01$ ), whole blood viscosity low cut (LS), middle cut (MS), high cut (HS) values were significantly increased ( $P < 0.01$ ), ear tissue mass and thickness were significantly increased ( $P < 0.05, 0.01$ ); Baker score and inflammatory cell infiltration number were significantly increased ( $P < 0.01$ ). Naked eye observation showed that the ears of guinea pigs in the model group were flushed, scabs were formed on the surface of the skin, and white silver filings appeared on the surface of the skin. The surface of ear tissue was rough, the texture became hard and the thickness increased. The results of microscopic examination showed that in the model group, the skin hyperkeratosis formed thick scab, the granular layer was incomplete, the spinous layer was significantly thickened, the epidermal process was extended downward, the mastoid process was elongated like a pestle, the number of new capillaries increased in varying degrees and the blood vessels were congested, accompanied by edema and inflammatory cell infiltration in different degrees. Compared with the model group, the thickness and weight of right ear, average thickness and average mass of ear tissue in Xiaoyin tablet group were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), Baker score and inflammatory cell infiltration number were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The Guinea pig model of

收稿日期: 2020-02-03

基金项目: 山西省科技厅实验动物专项基金项目(2015K07)

第一作者: 泰 刚, 研究方向为毒理学。E-mail: taigangyx@126.com

psoriasis with blood-heat syndrome has not only the pathological features of psoriasis, but also the syndrome manifestations of blood-heat syndrome. An experimental animal model for the efficacy evaluation and mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of psoriasis.

**Key words:** guinea pig; compound model; blood-heat syndrome; psoriasis; whole blood viscosity; inflammation; traditional Chinese medicine

银屑病是一种临床常见的红斑鳞屑性、慢性炎性、增殖性皮肤病,中医学称之为“白疔、松皮癣”<sup>[1-2]</sup>,发病率较高、反复发作、易诊难治。现有的人类疾病模型多是基于改善银屑病的某一症状,并不能全面、整体地模拟临床疾病,因此基于这类模型研究开发的药物在临床使用中具有局限性。中医药治疗银屑病主要是以清热凉血、清热解毒、活血化瘀为原则<sup>[3-4]</sup>。中医药治疗的这种注重整体性的特点就要求科研人员在进行评价时,不能采用简单的模型、单一的评价指标,更多地应从整体调节改善方面设计评价思路,形成体系,以突显中药在银屑病治疗中的优势。

本研究旨在基于银屑病的中医病因血热,复合银屑病动物模型,建立银屑病病症结合的豚鼠模型,并采用市售的消银片进行反证,为评价治疗银屑病的中药提供更合理的实验动物模型。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

普通级 Hartley 豚鼠,40只,雌雄各半,体质量300~350 g,购自北京市昌扬西山养殖场,实验动物生产许可证号 SCXK(京)-2016-0007。饲养于山西省食品药品检验所,实验动物使用许可证号 SYXK(晋)2014-0001。饲料及饮水:全价配合饲料购自于江苏省协同医药生物工程有限责任公司,且经 $\text{Co}^{60}$ 辐照灭菌,生产许可证号苏饲证(2014)01008,给予生活饮用水自由饮用。饲养环境:置普通级动物室饲养,维持室温在19~22℃,相对湿度45%~65%,12 h光照与黑暗交替进行,每2天更换1次垫料。

### 1.2 药物与试剂

附子(河北顺全隆药业有限公司,批号20150901)、干姜(河北百合中药饮片有限公司,批号816101361)、肉桂(河北百合中药饮片有限公司,批号816011361),经山西省食品药品检验所连云岚主任药师鉴定,分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根加工品、姜科植物姜 *Zingiber officinal* Rosc. 的干燥根茎、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮。复方热药煎剂:附子、干姜、肉桂以1:1:1质量比例取药,加煎

药量6倍体积的水浸泡10 min后煎煮,水开后煎药30 min;同法重复1次,然后将2次煎煮的药液合并,加热浓缩成150%浓度,即生药1.5 g/mL。

消银片(黑龙江福和星华制药有限公司,批号151130,规格0.3 g/片);盐酸普萘洛尔片(天津力生制药股份有限公司,批号1511005,10 mg/片);5%盐酸普萘洛尔乳剂基质;甘油5 mL,聚山梨酯80 2 mL,加蒸馏水至100 mL即可。将盐酸普萘洛尔片研成粉末并称取1.00 g,加乳剂基质至10 mL充分溶解后待用。

### 1.3 主要仪器

SE202F 电子天平(奥豪斯仪器有限公司);IP67 电子数显卡尺(德国 ASIMETO);全自动包埋机、轮转式切片机、DM6000B 生物显微镜(德国 LEICA 公司);Excelsior 全自动脱水机(赛默飞世尔科技公司);LBY-N6K 血流变仪(北京普利生仪器有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 血热证豚鼠模型的建立

参照文献方法加以改进<sup>[5-7]</sup>,取健康豚鼠40只,雌雄各半,分为对照组10只,血热证模型组30只。血热证模型组以10 mL/kg的剂量ig给予复方热药煎剂,1次/d,连续ig给药4周,对照组给予生理盐水,每周测1次肛温。

### 2.2 血热证豚鼠耳部银屑病模型的建立<sup>[8]</sup>及应用

取血热证造模前后肛温升高不低于0.5℃<sup>[9]</sup>的豚鼠24只,分为模型组和消银片组,每组12只。对照组豚鼠双耳涂抹生理盐水,模型组及消银片组构建银屑病样模型<sup>[10]</sup>,豚鼠双耳均涂抹5%盐酸普萘洛尔乳剂0.1 mL/耳,厚度约1.0 mm(1 mL=1 cm<sup>3</sup>),10 mg/只,每日2次,连续3周。自耳部涂药之日起,对照组和模型组ig给予生理盐水,消银片组ig给予2.1 g/kg的消银片溶液(相当于临床用量的20倍,经预试验证明效果显著),给药体积均为10 mL/kg,肉眼观察豚鼠耳组织临床变化。

### 2.3 模型评价

**2.3.1 血液流变学检测** 造模结束后进行血液流变学检测,豚鼠经10%水合氯醛麻醉,仰卧固定,用肝素钠真空采血管腹腔下腔静脉取血2.5 mL,轻轻

摇匀后,用LBY-N6K血流变仪测定全血黏度的低切(LS)、中切(MS)、高切(HS)值,切变率为10、60、150 s<sup>-1</sup>,所需血量1 mL。

**2.3.2 耳组织的厚度和质量检测** 取豚鼠左右耳,应用电子天平测定耳组织的质量,电子数显卡尺测定耳组织的厚度。

**2.3.3 HE染色** 取豚鼠耳置10%中性福尔马林液中固定,石蜡包埋,切片,常规HE染色,在10(目镜)×20(物镜)视野下,随机选取5个视野采集图像,按照Baker法<sup>[11]</sup>对耳组织进行积分评估和炎细胞计数,评分标准见表1。

## 2.4 统计方法

采用SPSS 19.0统计分析软件进行统计分析,

表1 耳组织病变Baker评分标准

Table 1 Criteria for Baker score of ear lesions

| 区域  | 病变                | 计分          |
|-----|-------------------|-------------|
| 角质层 | Munro 小脓疡         | 2.0         |
|     | 过度角化              | 0.5         |
|     | 角化不全              | 1.0         |
| 表皮层 | 颗粒层变薄或消失          | 1.0         |
|     | 棘层肥厚              | 1.0         |
|     | 皮突延长、起伏(轻、中、重度)   | 0.5/1.0/2.0 |
| 真皮层 | 单核及多核细胞浸润(轻、中、重度) | 0.5/1.0/2.0 |
|     | 乳突上顶              | 0.5         |
|     | 毛细血管扩张            | 0.5         |

各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用Dunnett检验,比较对照组与模型组之间的差异,统计检验均采用双侧检验。

## 3 结果

### 3.1 血热证豚鼠模型评价

**3.1.1 对肛温的影响** 模型组豚鼠给予复方热药后,随着给药时间的延长,表现出精神萎靡或躁动,口渴喜饮且饮水量有所增加,摄食出现不同程度减少,肛温随给药时间的延长逐渐升高,在给药3、4周时,与对照组比较差异显著( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。结果见表2。

**3.1.2 对血流变的影响** 模型组豚鼠全血黏度LS、MS、HS切值均显著高于对照组( $P < 0.01$ );消银片组LS、MS值与对照组比较均显著升高( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。结果见表3。

### 3.2 血热证豚鼠耳部银屑病样改变模型评价

**3.2.1 对耳组织厚度和质量影响** 模型组和消银片组与对照组比较,豚鼠耳组织厚度和质量均增加,左、右耳厚度和耳平均厚度差异均显著( $P < 0.05$ 、 $0.01$ );左、右耳质量及平均质量差异均显著( $P < 0.05$ 、 $0.01$ );消银片组与模型组比较,右耳厚度及质量,耳组织平均厚度及平均质量均显著下降( $P < 0.05$ )。结果见表4。

**3.2.2 对耳组织病理学的影响** 模型组和消银片组Baker评分及炎细胞浸润数显著高于对照组,差

表2 给予复方热药4周后豚鼠肛温检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Test results of anal temperature of guinea pigs after four weeks of compound hot medicine ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | n/只 | 体温/°C      |            |             |              |
|-------|-----|------------|------------|-------------|--------------|
|       |     | 第1周        | 第2周        | 第3周         | 第4周          |
| 对照    | 10  | 38.44±0.12 | 38.46±0.14 | 38.50±0.19  | 38.43±0.19   |
| 血热证模型 | 30  | 38.43±0.15 | 38.59±0.19 | 38.84±0.37* | 39.16±0.43** |

与对照组比较:\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

表3 豚鼠全血黏度的检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Results of whole blood viscosity in guinea

pigs ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | n/<br>只 | 血液黏度值/(mPa·s) |             |             |
|-----|------------------------------|---------|---------------|-------------|-------------|
|     |                              |         | LS            | MS          | HS          |
| 对照  | —                            | 10      | 11.05±0.75    | 4.87±0.81   | 4.05±0.84   |
| 模型  | —                            | 12      | 14.37±1.72**  | 6.67±1.04** | 5.40±0.69** |
| 银消片 | 2.1                          | 12      | 12.64±0.91**  | 5.36±0.47*  | 5.00±0.86   |

与对照组比较:\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group

异极显著( $P < 0.01$ );消银片组与模型组比较,Baker评分及炎细胞浸润数明显降低,差异显著( $P < 0.05$ )。见表5。

肉眼观察结果显示,模型组、消银片组与对照组比较,模型组豚鼠耳部潮红,皮肤表面形成结痂,出现白色银屑,触之耳组织表面粗糙、质地变硬、厚度增加。镜检结果显示,对照组豚鼠耳部皮肤可见菲薄的角质层、颗粒层、棘细胞层、肌层及软骨,并可见毛囊及皮脂腺等结构,各层形态正常,结构清楚;模型组和消银片组皮肤角化过度形成较厚的结痂,颗粒层不完整,棘层显著增厚,表皮突下延,乳

表4 豚鼠耳组织厚度及质量检测结果( $\bar{x}\pm s$ )Table 4 Test results of ear tissue thickness and weight in guinea pigs ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别  | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | n/<br>只 | 厚度/mm       |             |             | 质量/g        |             |             |
|-----|------------------------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|     |                              |         | 左耳          | 右耳          | 平均厚度        | 左耳          | 右耳          | 平均质量        |
| 对照  | —                            | 10      | 1.16±0.09   | 1.18±0.10   | 1.17±0.10   | 0.39±0.05   | 0.38±0.04   | 0.39±0.05   |
| 模型  | —                            | 12      | 1.42±0.29*  | 1.39±0.23*  | 1.40±0.26** | 0.52±0.08** | 0.50±0.08** | 0.51±0.08** |
| 消银片 | 2.1                          | 12      | 1.32±0.11** | 1.27±0.14** | 1.29±0.12** | 0.47±0.09*  | 0.46±0.08** | 0.46±0.08** |

与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较: # $P<0.05$ \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs control group; # $P<0.05$  vs model group表5 豚鼠耳组织 Baker评分及炎细胞浸润数检测结果( $\bar{x}\pm s$ )Table 5 Result of Baker score of guinea pig ear tissue and number of inflammatory cell infiltration ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别  | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | n/只 | Baker评分      | 炎细胞浸润数       |
|-----|--------------------------|-----|--------------|--------------|
| 对照  | —                        | 10  | 0.85±0.63    | 16.5±7.00    |
| 模型  | —                        | 12  | 4.75±1.80**  | 65.3±16.69** |
| 消银片 | 2.1                      | 12  | 3.20±1.38**# | 48.9±17.80** |

与对照组比较: \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较: # $P<0.05$ \*\* $P<0.01$  vs control group; # $P<0.05$  vs model group

突伸长呈杵状,新生毛细血管不同程度增多且血管充血,伴有不同程度水肿及炎细胞浸润。见图1。

#### 4 讨论

在自然人群的银屑病患病率为1%~3%,临床以寻常型银屑病最为常见,其发病率约占银屑病的95%以上<sup>[12]</sup>,初期为红色丘疹或斑丘疹,以后逐渐扩大或融合成片,鲜红或深红色,高出皮肤,底部浸润明显,边缘清楚,周围有炎症红晕,表面覆盖多层

灰白色或银白色鳞屑<sup>[13-14]</sup>。银屑病的基本病理特点是表皮细胞角化不全、角质形成细胞增殖过快和炎症反应等<sup>[15]</sup>。旧皮损扩大,新皮损出现,鳞屑数量多、鳞屑厚呈银白色,浸润肥厚经久不退,瘙痒等是共同的临床症状。

中医认为<sup>[15-19]</sup>银屑病的主要病因是血热,血热又可以由很多的因素形成:可以由七志过极导致气机内乱,气机壅滞又可久郁化热化火,以致火热亢盛,热毒伏于营血;或因嗜食辛辣厚味,肥甘油腻,腥膻动风之物,导致脾胃失和,不能运化气机,久而郁热化火复感风热毒邪而发病;或因外感风热,风寒之邪,失治误治,表邪入里化热或素体热盛,表邪郁扼卫阳,久之郁而化热。寻常型银屑病证候类型中出现频率最多的是血热证、血燥证和血虚风燥证。现代研究表明<sup>[20-23]</sup>,银屑病是与遗传环境因素、感染性因素、精神因素和T淋巴细胞介导的自身免疫性疾病。

病症结合动物模型既有西医疾病的特点,又有

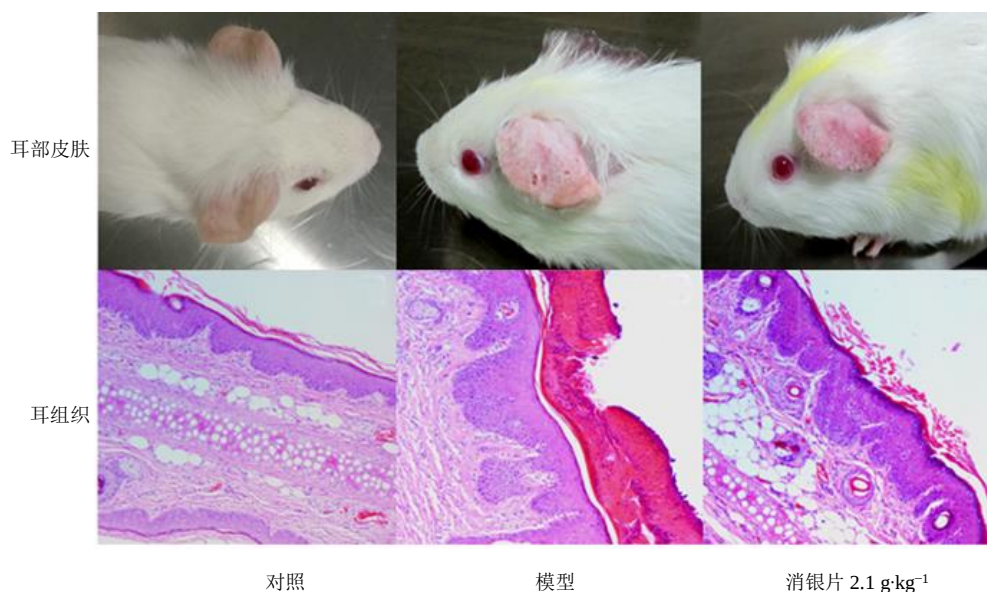


图1 豚鼠耳部银屑病临床观察及镜检(HE, ×100)结果

Fig. 1 Clinical observation and microscopic examination (HE, ×100) results of psoriasis in guinea pig ears

中医证候的特征,其基本思路是采取中医病因结合西医病理因素造模,力求动物在生物表征上模拟人的表现,对于探讨疾病病理生理变化与中医证候特征之间的关系,显示出极大的优势<sup>[24]</sup>。本研究利用复方热药复致豚鼠血热证模型,采用盐酸普萘洛尔乳剂阻断角朊细胞 $\beta$ -肾上腺能受体的药理特点,出现类似银屑病临床热证的病症特点<sup>[25]</sup>,从体温升高、血液黏度变化、组织病理改变等方面综合评价,成功复制了豚鼠银屑病病证模型,并利用消银片对模型进行了验证,为治疗寻常型银屑病的药物评价和作用机制研究提供了新的实验方法。

### 参考文献

- [1] 黄欣. 银屑病的现代中医认识及治疗方向 [J]. 中国民间疗法, 2012, 20(1): 62-63.
- [2] 于振兰, 杨京慧, 杨洪军. 中医药治疗银屑病的作用机制研究近况 [J]. 山东中医杂志, 2009, 28(5): 359-362.
- [3] 赵淮波, 吴闽枫, 徐蓉, 等. 中医药治疗银屑病的学术观点和机制研究 [J]. 世界临床药物, 2017, 38(3): 145-148.
- [4] 荆夏敏, 吴刚, 荆宁. 银屑病的中医药疗法优势探讨 [J]. 中国医学创新, 2010, 7(28): 157-158.
- [5] 李莉, 王晓东, 张婷婷, 等. 恶露不尽血热证型动物模型的建立和机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 180-183.
- [6] 周小军, 安辉, 田道法, 等. 寒、热证豚鼠变应性鼻炎细胞功能及形态学观察 [J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(3): 209-212.
- [7] 梁月华, 李薪萍, 任红. 寒证热证时中枢、内脏、尿内儿茶酚胺及5-羟色胺的变化 [J]. 中医杂志, 1991, 32(12): 742-744.
- [8] 王乖娟, 刘卫兵, 荆鲁华, 等. 银屑宁胶囊对心得安致豚鼠银屑病样皮损NO和MDA水平的影响 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2005, 4(3): 166-168.
- [9] 段红福, 荣春蕾, 张文峰, 等. 复合因素造模法建立血热出血大鼠模型及初步评价 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1): 259-263.
- [10] 黄畋, 孙淑芝. 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(2): 96-97.
- [11] Baker B S, 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(2): 105-110.
- [12] 梁小芳, 杨名, 刘贞富, 等. 寻常型银屑病合并大疱性类天疱疮1例 [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2016, 45(5): 574-576.
- [13] 曲彤. 阿维A胶囊联合复方甘草酸苷片治疗寻常型银屑病40例疗效观察 [J]. 山西职工医学院学报, 2012, 22(3): 43-44.
- [14] 钟信刚. 雷公藤多苷片联合维胺酯胶囊治疗寻常型银屑病的效果 [J]. 中国当代医药, 2015, 22(11): 142-143, 146.
- [15] 张红, 陈军. 白疙消软膏对小鼠尾部鳞片表皮颗粒层形成的影响 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(8): 1023-1025.
- [16] 何玲, 吴淞. 牛黄冲剂治疗寻常型银屑病59例临床观察 [J]. 中医杂志, 2002, 43(2): 123-124.
- [17] 卢晓. 辨证治疗寻常型银屑病60例 [J]. 陕西中医, 2004, 25(9): 812-813.
- [18] 宋坪, 李博鉴. 从血论治诸法合用朱仁康研究员治疗银屑病经验(一) [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2004, 3(1): 1-2.
- [19] 北京中医医院. 赵炳南临床经验集 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 345.
- [20] 黄乾元, 徐玲玲, 李斌. 中医药治疗银屑病的研究进展 [J]. 内蒙古中医药, 2013, 32(14): 106-107.
- [21] 郭姗姗, 郭菲, 刘红霞. 银屑病模型与脾虚证银屑病病证结合模型相关指标的差异 [J]. 新疆医科大学学报, 2012, 35(4): 416-419.
- [22] 于腾, 邱莹, 孙扬. 鸦胆子油乳液作用豚鼠耳部银屑病样病理改变实验研究 [J]. 济宁医学院学报, 2009, 32(1): 35-36.
- [23] Krueger J G. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents [J]. J Am Acad Dermatol, 2002, 46(1): 1-26.
- [24] 周萌, 王建辉. 中医药对银屑病动物模型的实验研究进展 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2007, 17(4): 262-264.
- [25] 王玉芝. 银屑病湿热证动物模型的构建 [J]. 山东中医杂志, 2013, 32(7): 489-490.