

复方芩柏颗粒对大鼠放射性皮炎创面的影响

欧玉兰 许玉春

(南华大学附属第一医院肿瘤科, 湖南省衡阳市船山路69号, 421001)

[摘要] **目的** 探讨复方芩柏颗粒治疗大鼠放射性皮炎的机制。**方法** 建立大鼠Ⅱ度放射性皮炎模型, 随机分为3组, 分别给予复方芩柏颗粒喷雾伤口(实验组)、地塞米松软膏外涂(传统组)及生理盐水喷雾处理(对照组)。通过免疫组化染色及图像分析, 测定各组伤后2、6、10、18、24d的创面肉芽组织、创面愈合率及创面组织中碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达。**结果** 实验组肉芽组织平均数及创面愈合率在伤后6、10、18、24d各时间点均较对照组及传统组高, 差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); bFGF的表达在6、10、18d时亦高于对照组及传统组($P < 0.05$)。**结论** 复方芩柏颗粒对大鼠Ⅱ度放射性皮炎有一定治疗作用, 其机制之一可能与促进创面组织的bFGF表达有关。

[关键词] 复方芩柏颗粒; 放射性皮炎; 创面愈合; 碱性成纤维细胞生长因子

Effect of Compound Qinbai Granule for Wound Healing of Radioactive Dermatitis in Rats

OU Yulan, XU Yuchun

(The First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001)

ABSTRACT **Objective** To study the mechanism of the Compound Qinbai Granule (Granules composed of *Scutellaria root* and *Phellodendron bark*) in the treatment of radioactive dermatitis in rats. **Methods** The rat models of radioactive dermatitis were established and randomized into three groups: Compound Qinbai Granule group (experimental group), dexamethasone ointment group (traditional group), and normal saline group (control group). The wound was treated with Compound Qinbai Granule spray, dexamethasone ointment external application, and normal saline spray respectively. By immunohistochemical staining and image analysis, the growth of granulation tissue in the wound area, wound healing rate, and the expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) in the wound tissues were determined on the second, sixth, tenth, eighteenth, and twenty-fourth day after injury. **Results** The average number of granulation tissue and wound healing rate in the experimental group on the sixth, tenth, eighteenth, and twenty-fourth day were all higher than those in the traditional group and control group with a significant difference ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The expression of bFGF in the experimental group on the sixth, tenth, eighteenth day was also higher than that in the control group and traditional group ($P < 0.05$). **Conclusion** Compound Qinbai Granule is effective for the radioactive dermatitis of rats, its mechanism may be related with the promotion of the bFGF expression in the wound area.

Key Words Compound Qinbai Granule (Granules composed of *Scutellaria root* and *Phellodendron bark*); Radioactive dermatitis; Wound healing; basic fibroblast growth factor (bFGF)

在肿瘤放射治疗中, 放射性皮炎是最常见的不良反应之一, 严重影响治疗的顺利进行, 从而导致肿瘤控制率和治愈率降低。复方芩柏颗粒剂具有抗菌消炎、促进肉芽生长、加速创面上皮化、全面调控创面愈合过程的作用^[1-3]。本研究采用免疫组化方法并利用图像分析技术检测了碱性成纤维细胞因子(bFGF)在大鼠Ⅱ度放射性皮炎组织中的表达, 并结合创面肉芽组织数、伤口愈合率, 旨在从分子和组织水平了解复方芩柏颗粒剂治疗放射性皮炎的机制。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级SD大鼠90只, 雄性, 体重(220 ± 20)g, 由南华大学医学院动物中心提供, 动物使用许可证号:

SYXK(湘2004-2009)。

1.2 实验药物

复方芩柏颗粒剂由黄芩、黄柏、延胡索、当归尾等中药组成, 湖南中医药大学第二附属医院研制, 委托湖南德康制药股份有限公司加工成颗粒, 批准文号:(湘)卫药剂(99)06第60号; 制剂批号: 990120。地塞米松软膏由本院自制, 制剂批号: 湘药制字H20060303。

1.3 主要仪器和试剂

VarianSL21800加速器, Q550CW图像信号采集与分析系统(北京微信斯达科技发展有限公司); 大鼠用bFGF免疫组化检测试剂盒, 购自武汉博士德生物工程有限公司, 批号: 20060701。

2 方法

2.1 大鼠10%Ⅱ度放射性皮炎模型制备

参照文献[4]方法: 采用6MeV电子线, 吸收剂量率400cGy/min, 照射距离100cm, 吸收剂量40Gy, 一次照

射。使大鼠裸露背部形成10%Ⅱ度放射性皮炎。

2.2 动物分组与给药方法

90只大鼠照射后,按随机数字表法分为3组:实验组给予复方芩柏颗粒60mg溶于5ml生理盐水喷雾伤口,每日3次;传统组给予地塞米松软膏外涂,每日3次;对照组给予5ml生理盐水喷雾伤口,每日3次。每组均为30只。

2.3 标本取材和创口面积测量

辐射伤后2、6、10、18、24d各组分别处死6只大鼠。首先将创面描记在半透明纸上,用图像分析仪测定面积,然后取辐射伤口中央1cm×1cm组织以20%甲醛固定保存。

2.4 观察指标及方法

2.4.1 肉芽组织 HE染色,选取5个视野,在高倍镜下(×400)计算毛细血管增生情况,取5个视野观察值的均数作为各例的观察值^[4]。

2.4.2 创面愈合速度测定 通过创面愈合率衡量,创面愈合率(%)=(开始照射面面积-未愈合创面面积)/开始照射面面积。

2.4.3 免疫组化及图像分析 bFGF以细胞黄染为阳性。从每张免疫组化染色切片中随机选取5个视野,输入Q550CW图像信号采集与分析系统测量阳性细胞的平均灰度值,以此反映伤口局部组织bFGF的表达量。阳性细胞的平均灰度值与bFGF的表达量成反比。

2.5 统计学方法

运用SPSS 13.0统计软件进行统计学分析。计量

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组之间的比较采用单向方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠不同时间点肉芽组织平均数比较

表1示,在伤后第6~24d不同时间点,伤口肉芽组织数量实验组显著多于对照组及传统组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且在伤后第10d增生达到高峰。传统组只在6~18d较对照组高($P < 0.05$),但明显低于实验组。

3.2 各组大鼠不同时间点创面愈合率比较

表2示,实验组在6~24d不同时间点创面愈合率高于对照组及传统组,两组间差异具有统计学意义($P < 0.05$),且在10d时伤口愈合率最高;传统组较对照组在6~18d时间点的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3.3 各组大鼠不同时间点创面bFGF表达比较

实验组bFGF的总体灰度值(123.41 ± 9.27)低于对照组(131.71 ± 9.46)及传统组(127.78 ± 10.46),即bFGF总体表达量高于对照组及传统组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。表3示,实验组和传统组在6、10、18d时间点bFGF表达均高于对照组($P < 0.05$),并且实验组bFGF表达亦明显高于传统组($P < 0.05$),bFGF蛋白阳性表达的高峰较对照组及传统组提前出现。

4 讨论

创伤愈合的组织修复过程是由炎症细胞反应、修复细胞反应、细胞外基质反应和细胞因子(生长因子)作用等基本环节(要素)相互网络联动而实现的,并受全

表1 各组大鼠不同时间点肉芽组织平均数比较(根, $\bar{x} \pm s$)

组别	视野数	2d	6d	10d	18d	24d
实验组	5	2.09±0.45	12.20±1.65**△	18.41±1.36**△	12.74±1.17**△	4.70±2.13**△
对照组	5	1.61±0.28	8.39±1.05	11.08±1.31	10.70±1.21	2.79±0.35
传统组	5	1.90±0.42	10.20±1.15*	14.50±1.17*	11.12±1.29*	2.90±0.26

注:与对照组同时间点比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与传统组同时间点比较,△ $P < 0.01$

表2 各组大鼠不同时间点伤口愈合率比较(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	2d	6d	10d	18d	24d
实验组	6	25.63±4.89	36.23±1.61*△	79.32±4.12*△	63.16±4.38*△	41.12±3.82*△
对照组	6	24.30±5.36	27.30±3.23	52.15±2.84	41.18±4.27	36.62±2.55
传统组	6	24.82±3.96	30.04±1.88*	63.16±3.14*	52.14±2.35*	33.26±3.33

注:与对照组同时间点比较,* $P < 0.05$;与传统组同时间点比较,△ $P < 0.05$

表3 各组大鼠不同时间点bFGF表达结果(灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	2d	6d	10d	18d	24d
实验组	6	138.33±0.97	124.02±1.56*△	112.18±2.38*△	111.19±8.74*△	116.32±2.24
对照组	6	139.14±2.15	137.25±3.12	132.01±2.73	120.17±2.23	101.96±1.57
传统组	6	138.11±1.16	130.20±2.21	123.31±1.74	116.39±4.36	117.18±1.19

注:与对照组同时间点比较,* $P < 0.05$;与传统组同时间点比较,△ $P < 0.05$

身和局部因素的影响, bFGF 是一种具有广泛生物学功能的细胞因子, 可刺激血管内皮细胞形成新生毛细血管, 刺激成纤维细胞的分裂增殖, 并形成创面处的新生肉芽组织^[5]。在皮肤的辐射损伤中内源性 bFGF 的合成细胞主要是巨噬细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞等。能促使这三种细胞修复和增殖的方法均能提高辐射损伤中内源性 bFGF 的合成和分泌^[6]。复方芩柏颗粒剂主要成分是黄芩和黄柏, 其主要活性成分是黄芩苷和小檗碱。黄柏及黄芩提取物不仅可以促进小鼠免疫器官脾脏增殖, 可显著提高吞噬细胞的吞噬功能, 提高非特异性免疫力的作用^[7]; 黄芩提出物还具有促进成辐射损伤纤维细胞恢复, 增强增殖活性的作用^[8]; 而且黄芩对血管紧张素 II 受体有拮抗作用, 血管紧张素 II 受体拮抗剂则有明显增强促进成纤维细胞胶原的合成^[9]。黄芩苷和小檗碱对缺氧/复氧时微血管内皮细胞良好的保护作用^[10]促进血管内皮细胞功能恢复。此外, 现代医学认为, 自由基在放射损伤的发生中占有十分重要的地位^[11]。黄芩和黄柏均具有抗氧化、抑制过氧化脂质的生成、清除超氧自由基的作用^[12], 可预防氧自由基引起的成纤维细胞的损伤^[13]。

本研究结果显示, 在伤后6~24d, 实验组肉芽组织平均数及愈合率均高于对照组及传统组, 第24d 传统组与对照组比较差异不大, 可能与地塞米松没有抗菌作用有关, 提示复方芩柏颗粒促进了 II 度放射性皮炎肉芽生长及创面的愈合, 且作用强度及持续时间明显优于地塞米松。并且实验组 bFGF 蛋白阳性表达的高峰较对照组及传统组提前出现, 且总量上明显高于对照组及传统组, 提示复方芩柏颗粒对伤口组织 bFGF 的合成和分泌有促进作用。bFGF 在24d 时的表达量, 实验组低于对照组, 两组比较无统计学意义, 可能与创面基本愈合, 正常组织中, bFGF 很弱表达有关。由此可见, 复方芩柏颗粒能针对电离辐射致皮肤损伤的原因进行治疗, 从而有效促进伤口愈合。

致谢:感谢姚女兆博士对本研究实验部分给予的协助和指导。

参考文献

- [1]何永恒, 李帅军. 复方芩柏颗粒剂促进创面愈合的研究[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2002, 8(2): 84-87.
- [2]谢力子, 何永恒, 李胜龙. 复方芩柏颗粒剂的药效学实验研究[J]. 湖南中医杂志, 1995, 11(5): 45-47.
- [3]饶建荣. 肛瘘术后应用复方芩柏颗粒剂坐浴的疗效观察与护理[J]. 中医药导报, 2007, 13(9): 65-66.
- [4]卢金利, 刘小平, 杨芳, 等. 芦荟凝胶对大鼠 II 度放射性皮炎发生中 ICM-1 和 EGF 的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(22): 3377-3380.
- [5]邓萍萍, 李冬, 黄芳, 等. EGF 和 bFGF 在创伤修复中的作用和临床应用[J]. 中国康复, 2008, 23(4): 278-279.
- [6]屈纪富, 程天民, 许霖水, 等. 全身放射损伤对皮肤伤口成纤维细胞增殖的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2002, 22(3): 152-155.
- [7]潘学田. 中国药品实用手册[M]. 北京: 石油工业出版社, 2001: 48.
- [8]明亚玲, 骆丹, 徐晶, 等. 茶多酚单体和黄芩苷对紫外线辐射皮肤成纤维细胞的影响[J]. 中国美容医学, 2005, 10(5): 541-542.
- [9]刘宏伟, 程飏, 余文林, 等. 血管紧张素 II 受体在增生性瘢痕成纤维细胞胶原合成中的作用[J]. 解放军医学杂志, 2006, 31(4): 319-321.
- [10]袁拯忠, 朱陵群, 庞鹤, 等. 黄连解毒汤有效成分对缺氧/复氧时脑微血管内皮细胞的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(3): 249-252.
- [11]Simic MG, Bergtold DS, Karam LR. Generation of oxy radicals in biosystems[J]. Mutat Res, 1989, 214(1): 3-12.
- [12]张曦, 李宏, 侯茂君, 等. 黄芩及其有效成分的药理学研究新进展[J]. 天津医药, 2000, 12(4): 8-11.
- [13]Gao D, Tawa R, Masaki H, et al. Protective effects of baicalein against cell damage by reactive oxygen species[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1998, 46(9): 1383-1387.

(收稿日期: 2009-04-29; 修回日期: 2009-08-04)

[编辑: 邓媛]

首次全国中医药防治甲型 H₁N₁ 流感暨治未病论坛征文通知

为了交流探讨中医药在防治甲型 H₁N₁ 流感(甲感)和治未病等方面的经验, 定于2010年6月上旬在深圳市召开本次会议, 欢迎各级中医药人员、乡村医生、民间中医参会。1. **征稿内容:** 中医药在防治甲感方面的经验(包括辨证论治和验方等经验介绍)、开展治未病的理论探讨、实践方法及各种保健方法等经验。每篇2000字左右, 须打印, 附200字左右的作者简介, 加盖单位公章。入选论文将安排在有关杂志上发表。2. **会议内容:** 颁发“中医药防治甲感”、“中医药治未病研究”等方面的学术研究贡献奖证书(带匾牌); 颁发优秀论文证书; 由中华中医药学会颁发继续教育学分证书。组织会议代表去香港、澳门、珠海参观考察。3. **会议费用:** 会务费(含资料费纪念品费) 850元, 论文发表费350元, 食宿统一安排, 费用自理。4. **报名方式:** 请将论文(无论文也可报名参加), 本人2寸彩照4张, 作者简介、报名费150元一起在2010年5月15日前邮寄至北京市100036-98信箱深圳会务组叶续宗收, 邮编100036, 电话010-63772051、87013859、13391695320 (请提前30天在当地公安局办好护照, 参加港澳珠海考察5天费用为2700元, 会议补助900元, 实交1800元)。E-mail: 100036-98@163.com。详情请登录中国医疗卫生信息网 www.ylw.sxx.com 通知公告栏。