

· 临床研究 ·

理血方剂对不同证型银屑病患者血清 γ 干扰素、
白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 的影响

张 蕾¹ 刘 欣¹ 王丽华¹ 赵京霞¹ 李 萍¹ 王莒生²

(1. 首都医科大学附属北京中医医院北京市中医研究所药理室、病理生理室, 北京东城区美术馆后街 23 号, 100010; 2. 首都医科大学附属北京中医医院皮肤科)

[摘 要] **目的** 观察理血方剂对不同证型银屑病患者免疫功能的调节作用。**方法** 103 例寻常型银屑病患者辨证分为血热型 47 例, 血燥型 31 例, 血瘀型 25 例, 分别内服凉血解毒方、养血解毒方和活血解毒方。于治疗前及治疗 8 周后采用酶联免疫法和放射免疫法, 测定血清细胞因子 γ 干扰素 (IFN- γ)、白细胞介素 6 (IL-6) 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 并与 31 例健康志愿者进行比较。**结果** 银屑病患者治疗前 IFN- γ 、TNF- α 及 IL-6 水平显著高于健康志愿者 ($P < 0.01$)。经治疗后血热、血燥、血瘀 3 种证型的银屑病患者血清的 IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 含量均有不同程度的降低, 其中血热证和血燥证患者 IFN- γ 含量与治疗前相比显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 血热证与血瘀证患者血清中的 IL-6 水平比治疗前明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 与银屑病病症之间有一定的相关性, 但其表达水平与证型无关。

[关键词] 银屑病; 血热证; 血燥证; 血瘀证; 理血解毒方剂; 肿瘤坏死因子 α 干扰素; 白细胞介素 6

Effect of Blood-treating Prescriptions on Serum IFN- γ , IL-6, and TNF- α of the Psoriasis Patients with Different TCM Syndromes
ZHANG Lei¹, LIU Xin¹, WANG Lihua¹, ZHAO Jingxia¹, LI Ping¹, WANG Jusheng²

(1. Beijing TCM Institute, Capital Medical University, Beijing 100010; 2. Dermatology Department of Beijing TCM Hospital, Capital Medical University)

ABSTRACT **Objective** To observe the regulation effect of blood-treating prescriptions on immune function of psoriasis patients with different TCM syndromes. **Methods** Totally 103 psoriasis vulgaris patients differentiated into 3 syndromes, including blood heat syndrome (47 patients), blood dryness syndrome (31 patients), and blood stasis syndrome (25 patients), were treated with prescription of cooling blood to remove toxins, nourishing blood to remove toxins, and activating blood to remove toxins respectively. Before treatment and 8 weeks after treatment, the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunoassay (RIA) were adopted to determine the serum IFN- γ , IL-6, and TNF- α and compared with those of 31 healthy volunteers. **Results** Levels of IFN- γ , TNF- α and IL-6 of the patients before treatment were higher significantly compared with those of healthy group ($P < 0.01$). After treatment, they were lowered to certain degrees, of which, the level of IFN- γ of blood heat and blood dryness syndromes was significantly lowered ($P < 0.05$ and $P < 0.01$ respectively), and the level of IL-6 of blood heat and blood stasis syndromes was significantly lowered ($P < 0.05$ and $P < 0.01$ respectively). **Conclusion** There exists a certain correlation between the tested cell factors and psoriasis, but their expression is not related with TCM syndromes.

Key Words Psoriasis; Blood heat syndrome; Blood dryness syndrome; Blood stasis syndrome; Formula for blood-treating and removing toxins; Interferon; Tumor necrosis factor α (TNF- α); Interleukin-6 (IL-6)

银屑病是一种临床上常见的慢性炎症性、增生性皮肤病。关于其病因及发病机制有多种观点, 目前免疫学方面多认为, 银屑病是由 Th1 类淋巴细胞引发并维持的炎症性皮肤病, 各种细胞因子在发病过程中扮演了非常重要的角色^[1]。多位医家对于寻常型银屑病均以“从血论治”为着眼点, 重在理“血”, 将寻常型银屑病分为血热证、血燥证、血瘀证 3 个主要证型^[2]。经过临床

研究针对以上 3 个证型形成了以凉血解毒汤、活血解毒汤、养血解毒汤为主的理血解毒方剂。本研究通过观察不同证型银屑病患者治疗前后血清中细胞因子水平的变化及比较各证型间细胞因子的变化差异, 探讨基于“从血论治”理论指导下的理血解毒中药对不同证型银屑病的作用, 阐释中药治疗银屑病的科学内涵。

1 临床资料

1.1 诊断标准

寻常型银屑病诊断符合《临床皮肤病学》^[3]及《中医病证诊断疗效标准》^[4]。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (A3072813); 北京市科技计划资助项目 (Y0905002040191)
通讯作者: 王莒生, hydgwxy@126.com, (010) 52176503
Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1.2 纳入及排除标准

纳入标准:符合寻常型银屑病诊断标准;年龄18~65岁;签署知情同意书。

排除标准:妊娠或哺乳期妇女;关节型、脓疱型、红皮病型银屑病;近2周内服用过类固醇药物和(或)免疫抑制剂类药物、和(或)1周内服用过维甲酸类药物或外用过类固醇制剂;合并有心血管、脑血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病及精神病患者。

1.3 一般资料

103例寻常型银屑病患者(银屑病组)均为2006年6月~2009年5月首都医科大学附属北京中医医院皮肤科门诊及病房患者,其中男性67例,女性36例;年龄18~65岁,平均(40.3±12.1)岁;病程2个月~34年。其中血热型47例,血燥型31例,血瘀型25例。正常对照组31例,来自我院体检健康人员,其中男性21名,女性10名;年龄26~57岁,平均(41.5±9.2)岁。两组受试者年龄、性别无统计学差异($P>0.05$),具有可比性。

2 研究方法

2.1 治疗方法

血热型组内服凉血解毒方(组成:土茯苓15g,槐花15g,紫草10g,草河车10g,生地黄10g,白鲜皮10g,赤芍10g等);血燥型组内服养血解毒方(组成:丹参10g,当归6g,生地黄15g,麦冬10g,玄参9g,鸡血藤10g,土茯苓15g等);血瘀型组内服活血解毒方(组成:白花蛇舌草30g,莪术6g,鬼箭羽9g,红花15g,鸡血藤10g,桃仁6g,丹参10g等)。均每日1剂,水煎,取300ml,分2次早晚口服,连续治疗8周。

2.2 检测指标和方法

银屑病患者于治疗前及治疗8周后采集静脉血,离心后取血清,-80℃保存待测。血清γ干扰素(IFN-γ)水平采用酶联免疫吸附实验(ELISA)测定,白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)采用放射免疫法测定。操作步骤严格按照试剂盒说明进行。

IFN-γ酶联免疫定量检测试剂盒为深圳晶美生物

技术公司产品;采用Multiskan Spectrum全波长酶标仪检测,购自美国Thermo公司;人血清IL-6、TNF-α放射免疫试剂盒为北京福瑞生物工程公司产品,SN-6110型10探头放射免疫γ计数器检测。

2.3 统计学方法

采用SPSS 12.0统计分析软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组计量资料如正态分布且方差齐,证型之间比较采用单因素方差分析,组间比较用两样本 t 检验,同一患者治疗前后比较采用配对 t 检验。

3 结果

3.1 银屑病患者与正常人血清IFN-γ、TNF-α及IL-6含量比较

表1示,银屑病患者治疗前IFN-γ、TNF-α及IL-6水平显著升高,与正常对照组比较有统计学意义($P<0.01$),分别高出正常组30.7%、169.2%和101.5%,说明这3种细胞因子的表达水平均与银屑病有一定的相关性。

表1 银屑病患者与正常人血清IFN-γ、TNF-α及IL-6含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IFN-γ(pg/ml)	IL-6(ng/ml)	TNF-α(ng/ml)
正常对照组	31	8.59±2.59	78.20±43.00	0.65±0.31
银屑病组	103	11.23±4.03*	210.89±135.74*	1.31±0.74*

注:与正常组比较,* $P<0.01$

3.2 不同证型银屑病患者治疗前后IFN-γ、IL-6及TNF-α比较

表2示,血热证、血燥证和血瘀证患者治疗前血清中IFN-γ的含量均明显高于正常对照组的水平($P<0.01$),说明银屑病患者血清中IFN-γ的含量有增高的趋势;经中药治疗后发现,不同证型银屑病患者IFN-γ的水平均比治疗前均有所下调,其中血热证、血燥证在治疗后IFN-γ的水平显著低于治疗前,具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);而血瘀证虽其IFN-γ的水平治疗后的有所下降,但无统计学意义,但其IFN-γ水平下调趋势明显;且血热、血燥、血瘀3种证型治疗后IFN-γ的含量与正常对照组相比均无明显差异($P>$

表2 不同证型银屑病患者治疗前后IFN-γ、IL-6及TNF-α比较($\bar{x} \pm s$)

组别	证型	时间	例数	IFN-γ(pg/ml)	IL-6(ng/ml)	TNF-α(ng/ml)
银屑病组	血热证	治疗前	47	11.50±4.48*	239.06±159.11*	1.28±0.74*
		治疗后	47	9.81±4.72△	166.00±144.10*△△	1.04±0.66*
	血燥证	治疗前	31	10.35±3.38*	182.00±110.89*	1.42±0.73*
		治疗后	31	8.84±3.56△△	140.07±91.13*	1.15±0.55*
	血瘀证	治疗前	25	11.29±4.07*	193.77±107.16*	1.23±0.75*
		治疗后	25	9.41±3.47	134.17±92.15*△	1.13±0.84
正常对照组			31	8.59±2.59	78.20±43.00	0.65±0.31

注:与正常组对照比较,* $P<0.01$;与同证型治疗前相比,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

0.05)。血热、血燥、血瘀 3 种证型在治疗前 IFN- γ 含量并无明显差异 ($P > 0.05$), 说明 IFN- γ 表达水平仅与银屑病病症具有一定相关性, 而与具体证型无关。

患者血清 IL-6 的水平治疗前明显高于正常对照组 ($P < 0.01$); 治疗后血热证患者血清中 IL-6 含量明显降低, 治疗前后有统计学差异 ($P < 0.01$); 血燥证与血瘀证在治疗后也均下降明显 (其中血瘀证 $P < 0.05$), 且治疗后 IL-6 的表达水平仍明显高于正常对照组 ($P < 0.01$), 说明中药对不同证型患者的 IL-6 水平均有下调作用, 但不足以使 IL-6 降低至正常水平。

血热、血燥、血瘀 3 证型患者治疗前血清中 TNF- α 的含量分别高出正常对照组 ($P < 0.01$)。经治疗后患者血清中 TNF- α 的含量均有不同程度的降低, 但与治疗前相比无统计学差异 ($P > 0.05$)。且血热、血燥、血瘀 3 种证型的患者, 外周血中 TNF- α 的含量无统计学差异。

4 讨论

现代医学认为, 银屑病属自身免疫性疾病范畴, 各种炎性细胞因子在银屑病的病程中起到了重要作用。细胞因子是在免疫应答和炎症反应过程中主要由各种免疫细胞产生的, 免疫系统中各个细胞因子是一个动态平衡的网络结构。IFN- γ 主要由活化的 T 细胞和 NK 细胞产生, 它在诱发和维持银屑病炎症浸润中起着关键作用, 不仅是导致角质形成细胞异常增生的主要原因, 同时也对 T 细胞进入皮肤的增殖活化起重要作用。IL-6 是由多种细胞如 T 细胞及树突状细胞等分泌的一类细胞因子。相关研究表明, IL-6 是某些自身免疫疾病中的关键炎症因子, 在银屑病的病程中也有较高的表达, IL-6 作为 Stat3 重要激活因子参与激活 Stat3 信号转导通路, 而 Stat3 是近年来比较明确的银屑病发病关键蛋白, 它是激活角质形成细胞和免疫细胞之间的重要联系, 它们相互依赖共同参与了银屑病的病机病程^[5]。TNF- α 主要由单核巨噬细胞产生, 参与机体炎症和免疫应答的调节, 具有炎症性介质作用, 在银屑病中可协助炎性细胞穿透血管壁, 活化中性粒细胞与血管内皮细胞引起机体强烈的炎症反应, 在银屑病皮损处的免疫、炎症中起重要作用^[8]。从本研究结果看来, IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 均参与银屑病的发病过程, 银屑病患者外周血中的 IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 表达水平显著高于正常对照组, 尤其以 IL-6 的升高最为显著, 而 IL-6 主要由单核巨噬细胞、T 细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞分泌, 这些细胞涉及银屑病病程中免疫异常、血管增生等多个环节, 是多细胞调节的关键因素。

TNF- α 和 IFN- γ 水平的变化反映了银屑病免疫调节的混乱状态。综合 IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 的变化, 说明了银屑病患者免疫细胞功能存在整体异常由此导致了免疫分子表达水平的整体失衡, 这些因素对银屑病病程有重要影响。因此, IL-6 及 IFN- γ 的调节对治疗银屑病有重要的意义。在本研究中 3 个证型患者外周血中 IFN- γ 、IL-6 及 TNF- α 水平在治疗前与正常人相比均有显著性差异, 这与银屑病的炎性特性相一致。而各个证型之间细胞因子水平无统计学差异, 提示本研究选择的细胞因子所涉及的免疫调节环节是银屑病各证型发病及病程维持的共同炎性病理基础, 它们的相互作用造成机体细胞因子的整体紊乱, 而这种免疫状态的混乱与中医辨证分型无关, 所以这 3 种细胞因子表达水平明显升高, 而 3 种证型之间的表达水平无明显差异。

血分蕴热, 由热生毒, 毒损血络为血热证; 热毒灼伤营血, 阴血亏虚, 生风化燥而成血燥证; 或热毒入络, 气血瘀结而转为血瘀证^[9]。这 3 个证型分别对应银屑病的进行期、静止期、消退期^[10]。这与赵炳南、朱仁康和金起凤 3 位老中医对银屑病的主要辨证分型基本一致^[11-14]。对于不同的证型中医分别形成 3 个基本方药即凉血解毒方、养血解毒方、活血解毒方。银屑病发病初期多为血热证, 本课题组既往研究认为, 这一时期的 T 细胞异常活化及其产生的细胞因子可能是中医理论中“热毒”来源, 这一假说把中医学的“热毒”理论与 T 细胞活化和炎症细胞因子联系起来^[15], 针对血中毒热的基本方为土茯苓、槐花、紫草、草河车、生地黄、白鲜皮、赤芍等, 充分体现了“凉血解毒”治则, 通过本研究结果可见, 本方对机体的 IFN- γ 和 IL-6 水平有较强的调节作用, IFN- γ 和 IL-6 水平与治疗前相比显著下降, 说明清热解毒达到了很好的效果, 有助于体内细胞因子趋向正常水平。

随着银屑病病程逐渐发展到静止期和退行期, 这一时期银屑病表现稳定, 中医证型多为血瘀证和血燥证, 临床上以养血润燥及活血化瘀为主, 应用养血解毒方; 活血解毒方相对清热解毒中药所占比例下降, 养血活血中药比例加重; 这两方对血清中细胞因子的调节作用也比血热组下降。通过测定血燥证及血瘀证患者 IFN- γ 、TNF- α 及 IL-6 水平, 发现这几种细胞因子在这两个证型中均明显高于健康志愿者, 提示在血燥证和血瘀证中仍有血分蕴毒, 因此, 这两证在养血活血的同时还需加强清热解毒中药的应用。

($P>0.05$), 从而认为病证结合优化治疗方案治疗 RA 疗效与中西医结合和单纯西药治疗相当, 但在改善疼痛方面优于单纯西药治疗, 并且不良反应较少。

该治疗方案中均以具有免疫抑制和消炎镇痛作用的中药组成, 如青风藤, 辛、苦、温, 能祛风除湿, 通经活络, 兼能行痰; 穿山龙, 苦、微寒, 祛风除湿, 活血通络; 徐长卿, 辛、温, 祛风除湿、镇静止痛; 土贝母味苦, 性平微寒, 散结毒, 消痈肿。以上诸药配伍寒温并用, 辛开、苦泄、温通相须配伍, 共奏祛风除湿, 消肿散结, 通络止痛和免疫抑制作用, 缓解关节肿痛、抑制病情进展。其中湿热证者加以土茯苓、忍冬藤、地榆等清热除湿; 寒湿证加用 (制) 川乌、羌活、(炙) 麻黄等散寒止痛; 肝肾亏虚证则以杜仲、补骨脂、熟地黄等补肾壮骨; 痰瘀证显者又以穿山甲、白芥子、莪术等去痰散瘀; 气血亏虚证则以黄芪、当归、鸡血藤等益气养血通络, 诸药合用, 共奏标本兼治之功。

本项试验发现, 中药组、中西组和西药组治疗 RA 均有较好的临床疗效, 在一定程度上说明根据中医辨证论治、中药药理研究结合西医治疗 RA 的理念而制定的治疗方案, 疗效显著, 无明显毒副作用, 是值得推广的治疗方法。本次研究疗程 9 个月, 基本上观察到了中药治疗 RA 的较长期的疗效, 结果与西药组无统计学差异, 不良反应少, 初步证明了中药治疗 RA 的有

效性和安全性。另外, 一般认为中西组的疗效会优于单纯中药组或西药组, 然而本次试验结果显示 3 组疗效差异无统计学意义, 中西组较其他两组并未表现出明显的优势, 究其原因可能与本次研究疗程较长有关, 脱落病例较多, 样本量不够大, 可能造成数据分析上的偏倚。今后进一步开展多中心、大样本的远期疗效临床研究, 以进一步证实病证结合方案治疗 RA 的优势, 也可以通过动物实验探究其抗炎止痛和免疫抑制的作用机制。

参考文献

- [1] 申洪波, 白云静, 胡荫奇. 类风湿性关节炎中西医结合治疗的思路与方法[J]. 中国骨伤, 2004, 17(8): 503-504.
- [2] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊治指南(草案)[J]. 中华风湿病杂志, 2003, 7(4): 251.
- [3] 蒋明, David Yu, 林孝义, 等. 中华风湿病学[M]. 北京: 华夏出版社, 2004: 764.
- [4] 曹卉娟, 邢建民, 刘建平. 视觉模拟评分法在症状类结局评价测量中的应用[J]. 中医杂志, 2009, 50(7): 600-602.
- [5] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 118-119.
- [6] 申洪波, 白云静, 胡荫奇, 等. 病证结合组方治疗类风湿关节炎活动期临床疗效观察[J]. 中国骨伤, 2006, 19(12): 826-829.

(收稿日期: 2010-03-12; 修回日期: 2010-08-18)

[编辑: 邓媛]

(上接第 1085 页)

参考文献

- [1] 满孝勇, 郑敏. 银屑病发病的遗传与免疫机制[J]. 中华皮肤科杂志, 2006, 39(4): 238-240.
- [2] 陈凯, 孙丽蕴. 银屑病的中医辨证分型机治验[J]. 中国医药学报, 2003, 18(9): 540-542.
- [3] 赵辨. 临床皮肤病学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001: 752-772.
- [4] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 154-155.
- [5] 刘元林, 鲁祖清. 银屑病角朊细胞及外周血单个核细胞 RANTES 的表达[J]. 海军总医院学报, 2004, 17(2): 79-80.
- [6] Arican O, Aral M, Sasmaz S, et al. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity[J]. Mediators Inflamm, 2005, 2005(5): 273-279.
- [7] Goodman WA, Levine AD, Massari JV, et al. IL-6 signaling in psoriasis prevents immune suppression by regulatory T cells[J]. J Immunol, 2009, 183(5): 3170-3176.

- [8] 林燕, 孙虹. 中药对银屑病的细胞因子影响的研究进展[J]. 云南中医学院学报, 2007, 30(3): 68-70.
- [9] 李萍, 王莒生, 赵京霞, 等. 银屑病“血分蕴毒”病机解析[J]. 首都医科大学学报, 2009, 30(4): 413-417.
- [10] 邓丙戌, 姜春燕, 王萍, 等. 银屑病的中医证候分布及演变规律[J]. 中医杂志, 2006, 47(10): 770-772.
- [11] 赵炳南, 张志礼. 简明中医皮肤病学[M]. 北京: 中国展望出版社, 1983: 200-204.
- [12] 北京中医医院. 赵炳南临床经验集[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 211-229.
- [13] 中医研究院广安门医院. 朱仁康临床经验集[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1979: 152-158.
- [14] 金起凤, 周德瑛. 中医皮肤病学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 228-233.
- [15] 刘欣, 李萍, 赵京霞, 等. 凉血解毒方对 Jurkat T 淋巴细胞增生、活化及细胞因子分泌的影响[J]. 首都医科大学学报, 2009, 30(4): 418-422.

(收稿日期: 2010-02-04; 修回日期: 2010-05-22)

[编辑: 叶晨]