

本文引用:沈 慧,刘 文,姚小磊,杨志波.竹黄颗粒介导 IL-22/miR-330 调控角质形成细胞增殖的机制研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(7):708-714.

竹黄颗粒介导 IL-22/miR-330 调控角质形成细胞增殖的机制研究

沈 慧^{1,2},刘 文¹,姚小磊²,杨志波^{1*}

(1.湖南中医药大学第二附属医院,湖南 长沙 410005;2.广西中医药大学附属瑞康医院,广西 南宁 530011)

[摘要] 目的 研究竹黄颗粒干预 IL-22/miR-330 调控角质形成细胞增殖的分子机制。方法 IL-22 处理 HaCaT 和 HKCs 细胞,应用 QPCR 技术检测细胞中 miR-330 的表达变化;之后慢病毒感染 HaCaT 和 HKCs 细胞,实现 miR-330 的过表达和干扰,通过 CCK8 和 BrdU 技术检测细胞增殖情况;采用 CCK8、Western blot、QPCR、ELISA 实验分别检测不同浓度竹黄颗粒处理 HaCaT、HKCs 后细胞增殖能力,IL-22 蛋白表达水平,miR-330 表达水平及细胞分泌 IL-22 含量的变化。**结果** IL-22 处理后的 HaCaT 和 HKCs 细胞中 miR-330 的表达水平显著下调($P<0.01$),而细胞增殖能力显著提升($P<0.01$);过表达 miR-330 后 HaCaT 和 HKCs 细胞增殖能力显著下降($P<0.05$),干扰 miR-330 后 HaCaT 和 HKCs 细胞增殖能力显著上升($P<0.05$);竹黄颗粒处理 HaCaT、HKCs 后,细胞增殖能力下降($P<0.01$),IL-22 蛋白表达水平显著下降($P<0.01$),miR-330 表达水平显著上升($P<0.01$),细胞分泌 IL-22 含量显著下降($P<0.01$)。**结论** 竹黄颗粒可以通过抑制 IL-22 的表达,促进 miR-330 的表达,从而抑制角质形成细胞增殖。

[关键词] 银屑病;竹黄颗粒;IL-22;miR-330;角质形成细胞

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.07.004

Mechanism of Zhuhuang Granule Intervenes IL-22/miR-330 in Regulating Keratinocyte Proliferation

SHEN Hui^{1,2}, LIU Wen¹, YAO Xiaolei², YANG Zhibo^{1*}

(1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 2. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530011, China)

[Abstract] **Objective** To study the molecular mechanism of IL-22/miR-330 intervened by Zhuhuang granule in regulating the proliferation of keratinocytes. **Methods** The expression of miR-330 in HaCaT and HKCs cells after IL-22 intervention was detected by QPCR technique. Overexpression and interference of miR-330 in HaCaT and HKCs cells were achieved by lentivirus infection, their cell proliferation was detected by CCK8 and BrdU. The cell proliferation ability, the expression of IL-22 protein, the expression level of miR-330 and the secretion of IL-22 in HaCaT and HKCs were determined by CCK8, Western blot, QPCR and ELISA, respectively. **Results** The expression of miR-330 in HaCaT and HKCs cells significantly decreased after treatment with IL-22 ($P<0.01$), and the cell proliferation ability of HaCaT and HKCs cells was significantly improved ($P<0.01$). The cell proliferation ability of HaCaT and HKCs cells significantly decreased after miR-330 overexpression ($P<0.05$). After interference of miR-330 expression, cell proliferation ability of HaCaT and HKCs had a significant increase ($P<0.05$). Cell proliferation ability of HaCaT and HKCs treated by different concentrations of Zhuhuang granule decreased ($P<0.01$). The expression of IL-22 protein decreased significantly ($P<0.01$), the expression level of miR-330 increased significantly ($P<0.01$), and the content of IL-22 decreased significantly ($P<0.01$). **Conclusion** Zhuhuang granule could inhibit the expression of IL-22, promote the expression of miR-330 and inhibit the proliferation of keratinocytes.

[Keywords] psoriasis; Zhuhuang granule; IL-22; miR-330; keratinocytes

[收稿日期] 2017-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金面上资助项目(81573985)。

[作者简介] 沈 慧,女,博士,主治医师,主要从事中西医结合防治银屑病的研究。

[通讯作者] * 杨志波,男,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:dr.yang888@126.com。

最早关于“银屑病”的记载可见于隋代巢元方所著《诸病源候论》一书^[1],明代儒医李梴在《医学入门》中首度提出癣病的发生,是由于患者素有“血分热燥”的内在病因,以至“风毒”之邪容易入侵“客于皮肤”,内外相合而致病的特点^[2]。明清医籍中,对于本病病因病机的分析,诸位医家依然秉持着:内外因相互结合导致银屑病发生的观点,内因主要责之患者血分病变。

白细胞介素 22(IL-22)与银屑病存在重要的关系,可以诱导角质形成细胞释放出一系列的细胞因子,如 IL-8、IL-23、IL-6、IL-21 等,炎症因子的释放可加剧炎症反应,进一步促进表皮层增殖以及棘层增厚^[3]。多项研究结果表明银屑病患者的外周血血清中 IL-22 的表达水平与银屑病皮损区面积和病情严重程度指数呈现正相关^[4-8]。Ma 等^[9]借助自体免疫性银屑病模型进行研究,结果发现抗 IL-22 的抗体可以抑制角化细胞和上皮细胞分泌炎症介质。由此可见在银屑病的发生发展过程中,存在炎症因子的不断释放及炎症反应的持续发生,而在这一过程中 IL-22 起着关键的促进作用,且其作用的靶点细胞是角质形成细胞。miRNA 是近年来科学家发现的具有生物学调控功能的一种非编码小分子 RNA。与银屑病相关的 miRNAs 分子中,有一些是重要的生长发育调控因子,受到广泛的关注和研究,如 miR-203、miR-21、miR-146a 和 miR-125b 等^[10]。杨志波等^[11]应用 miRNA 及基因芯片技术并结合生物信息学预测技术,成功构建了银屑病相关 miRNA 与靶基因及基因功能调控网络,证明特异性表达的 miRNA 可以通过靶向结合而调节其靶基因的表达变化,并通过靶基因的功能进一步调控银屑病的发生及发展过程。之后进一步补充和完善了前期构建的银屑病差异表达 miRNA 与靶基因及基因功能调控网络,预测了一批前期未研究过的 miRNAs 分子,miR-330 就是预测的结果之一推测 miR-330 可能在银屑病发病机制中发挥重要功能。竹黄颗粒在临床治疗银屑病中表现出较好的疗效,且提取物可以抑制角质形成细胞的增殖。竹黄颗粒剂可以通过调节人体外周血中 IL-6、TNF- α 的表达水平来治疗银屑病^[12];还可以显著降低血浆和银屑病皮损组织中 β -内啡肽的含量,进而抑制炎症因子的产生^[13]。已证实竹黄颗粒对银屑病患者皮损组织中多个 miRNAs 分子具有显著调节作用,如 miR-192、miR-3175、miR-194、miR-18a、miR-21、miR-629、miR-25、miR-199a-5p、miR-100、miR-99a、miR-125b、miR-409-3p、miR-99b 等^[14]。

本研究将进一步验证竹黄颗粒与 IL-22、miR-

330 之间的调控关系,以期为银屑病的治疗提供新的靶点及科学思路。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

人角质形成细胞 HaCaT (HaCaT immortalized human epidermal cells)和 HKCs (human keratinocytes)细胞株均购自长沙赢润生物技术有限公司。

1.2 主要试剂

二甲基亚砜购自 Sigma 公司;胎牛血清购自杭州四季青生物科技公司;RPMI 1640 培养液购自 Hyclon 公司;LV-miR-330 慢病毒、LV-miR-NC 慢病毒、LV-anti-miR-330 慢病毒、LV-anti-NC 慢病毒购自 YRBIO 公司,GAPDH 一抗、IL-22 一抗购自 Abcam 公司;CCK8 试剂盒购自 Sigma 公司。

竹黄颗粒剂由湖南中医药大学第二附属医院制剂室生产,批号:20020921,规格:10 g/包,每包相当于生药含量 6.25 g。主要成分为:淡竹叶、生石膏、黄芩、黄连、黄柏、栀子、漏芦、水牛角、生地黄、柴胡、白芍、当归、党参、麦冬、三七等。

1.3 细胞处理方法

1.3.1 细胞传代培养 人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 分别在 T25 培养瓶中传代培养,细胞培养箱参数设定为 37 °C、5% CO₂、饱和湿度。用显微镜观察细胞的生长状态,贴壁细胞生长达 80% 融合度时,按细胞数目 1:3 的比例进行后续传代培养。

1.3.2 IL-22 处理细胞 将 IL-22 分别溶解于无菌水中,制备成 10 mg/mL 的储液,用 0.2 μ m 的细菌过滤器在无菌环境下过滤除菌,于 -20 °C 冻存。实验中根据每组细胞中具体的体积添加 IL-22 储液使培养基终浓度为 100 ng/mL,对照组加相同体积的无菌水。

1.3.3 慢病毒感染细胞 将 HaCaT 和 HKCs 细胞分别接种 T25 细胞瓶或 96 孔板中,于 37 °C CO₂ 培养箱中培养过夜,按 LV-miR-330、LV-miR-NC、LV-anti-miR-330、LV-anti-NC 分组分别在各组细胞中以 1 \times 10⁷ TU 滴度添加慢病毒(按体积比 1:100 添加)。

1.3.4 竹黄颗粒处理细胞 竹黄颗粒溶解在 RPMI1640 培养液中,调节 pH 值至 7.0,用 0.2 μ m 细菌过滤器过滤,制备成 1 g/mL 的储液,于 4 °C 保存。实验中根据每组细胞中具体的体积添加终浓度为 10、20、40 mg/mL 的竹黄颗粒溶液,对照组细胞中加相同体积的 RPMI 1640 培养液,继续培养;根据后续实验的需求,在不同时间点收集各组细胞进行相关检测。

1.4 检测实验

1.4.1 QPCR(real-time quantitative PCR)实验 经药物或其它因子处理后 48 h 用胰酶消化收集细胞, PBS 漂洗 2 遍; 分别提取各组细胞中的总 RNA, 经逆转录获得相应的 cDNA, 最后制备 QPCR 反应体系上机检测。反应程序设定为: 95.0 °C 2 min; 95.0 °C 15 s; 61.0 °C 30 s; 72.0 °C 20 s; 然后读取数值; 运行 40 个循环; 95.0 °C 10 s; 熔融曲线 60.0 °C 至 95.0 °C; 扩增 0.5 °C 5 s; 最后读取数值。根据 Ct 值, 计算各基因相对表达量。

1.4.2 CCK8(cell counting kit-8)实验 CCK8 实验主要用于检测细胞的增殖活力。将待测细胞接种于 96 孔细胞培养板中, 24 h 后向细胞培养版中添加药物或因子, 继续培养, 实验分组平行设置 24 h、48 h 和 72 h 三个时间点, 到相应时间点向每孔细胞中加入 10 μL CCK 溶液, 混匀后在 37 °C 恒温培养箱中孵育 4 h 后, 用多功能酶标仪检测各组样品在 490 nm 处的吸光值。

1.4.3 BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine)实验 BrdU 实验主要用于检测细胞的增殖。将待测细胞接种于 96 孔细胞培养板中, 24 h 后向细胞培养板中添加药物或因子, 继续培养, 实验分组平行设置 24 h、48 h 和 72 h 三个时间点, 到相应时间点向每孔细胞中加入 20 μL BrdU 标记液, 继续培养 6 h, 再分别加入 Fix Denat 使 DNA 变性, 然后加 100 μL HRP 标记的抗 BrdU 抗体, 洗涤 3 次后加入 100 μL TMB 底物液显色, 静置 20 min 后加 H₂SO₄ 终止反应并振荡 1 min, 最后用多功能酶标仪检测各组样品在 450 nm 处的吸光值。

1.4.4 Western blot 实验 将待测细胞接种于 T25 细胞培养瓶中, 24 h 后添加药物或因子, 继续培养至 48 h, 收集各组细胞并提取总蛋白进行定量分析, 制备蛋白电泳样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 依次进行转膜-封闭-洗膜-杂交-抗-洗膜-杂交二抗-洗膜-显影定影。选用 GAPDH (甘油醛-3-磷酸脱氢酶) 作为内参分析目的蛋白的相对表达水平。

1.4.5 ELISA 实验 细胞处理及时间点与 Western blot 实验一致, 48 h 后收集细胞上清, 2 000 r/min 离心 5 min 除去细胞碎片, 取上清用 IL-22 ELISA 检测试剂盒测定 IL-22 蛋白含量。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计学软件对实验结果进行统计学分析。计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”来表示, 然后用 Levene 法进行方差齐性检验。两个独立样本均数比较呈现正态分布的采用 *t* 检验数据, 非正态分布的则采用非参数 Mann-Whitney 检验数据; 多个独立样本均数的比较呈现正态分布的采用方差分析, 非正态分

布的则采用秩和检验; $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-22 模拟的炎症微环境下 miR-330 表达水平检测

应用 IL-22 模拟银屑病炎症微环境后, HaCaT 和 HKCs 细胞体外培养状态良好, 细胞贴壁状态正常, 分布均匀 (见图 1)。QPCR 检测结果如图 2 所示, 在 HaCaT 细胞中, 添加 IL-22 组相对于正常组细胞, miR-330 的表达水平下调约 50%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 在 HKCs 细胞中, 添加 IL-22 组相对于正常组细胞, miR-330 的表达水平下调约 70%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。说明在炎症微环境下角质形成细胞中 miR-330 的表达水平被显著抑制。

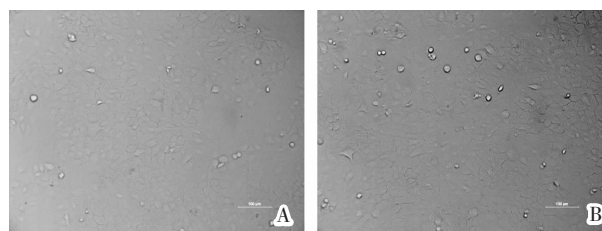
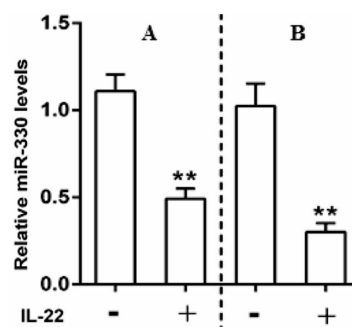


图 1 显微镜下 HaCaT(A) 和 HKCs(B) 细胞培养形态图 (×200)

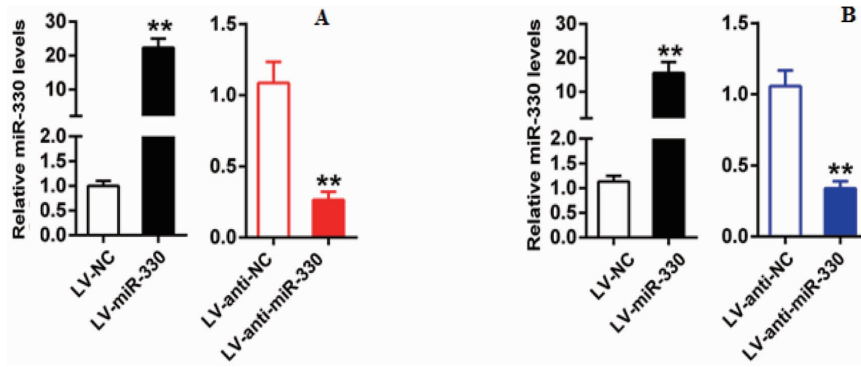


注: A: HaCaT 细胞; B: HKCs 细胞; ** 表示与阴性对照组比较 $P < 0.01$; $n = 5$ 。

图 2 IL-22 模拟的炎症微环境下 miR-330 表达水平检测结果

2.2 miR-330 过表达及干扰慢病毒感染鉴定结果

将 LV-miR-330、LV-miR-NC、LV-anti-miR-330、LV-anti-NC 4 种慢病毒按“1.3.3”中描述的步骤分别感染 HaCaT 和 HKCs 细胞。QPCR 结果如图 3 所示, LV-miR-330 组相对于 LV-NC 组, HaCaT 和 HKCs 细胞中 miR-330 的表达水平分别上调约 22 倍和 16 倍, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); LV-ant-miR-330 组相对于 LV-ant-NC 组, HaCaT 和 HKCs 细胞中 miR-330 的表达水平分别下调约 75% 和 65%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。4 种慢病毒的感染结果均符合预期, 可以满足后续实验要求。



注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;**表示与阴性对照组比较 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 3 miR-330 过表达及干扰慢病毒感染鉴定结果

2.3 IL-22 模拟的炎症微环境下 miR-330 对角质形成细胞增殖的影响

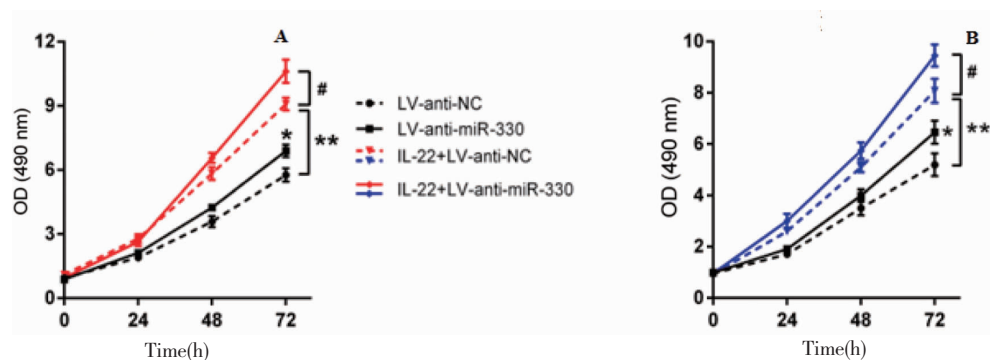
2.3.1 CCK8 实验检测 IL-22 及过表达/干扰 miR-330 对细胞增殖的影响 CCK8 实验检测结果如图 4 和图 5 所示。在不加 IL-22 的细胞中, LV-miR-330 组相对于 LV-NC 组, HaCaT 和 HKCs 细胞的增殖能力均被抑制, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$); 在添加 IL-22 的细胞中, LV-miR-330 组相对于 LV-NC 组, HaCaT 和 HKCs 细胞的增殖能力同样被抑制, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。说明过表达 miR-330 可以抑制人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖能力。

加 IL-22 组细胞相对于不加 IL-22 组细胞, 增殖能力显著提高 ($P<0.01$); 在不加 IL-22 的细胞中, LV-ant-miR-330 组相对于 LV-ant-NC 组, HaCaT 和 HKCs 细胞的增殖能力均有所提高, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$); 在添加 IL-22 的细胞中, LV-ant-miR-330 组相对于 LV-ant-NC 组, HaCaT 和 HKCs 细胞的增殖能力同样有所提高, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。说明干扰 miR-330 可以促进人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖; IL-22 可以促进人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖。



注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;*表示 IL-22+LV-NC 组与 IL-22+LV-miR-330 组组间比较 $P<0.05$; **LV-NC 组与 LV-miR-330 组组间比较表示 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 4 IL-22 及过表达 miR-330 对细胞增殖的影响

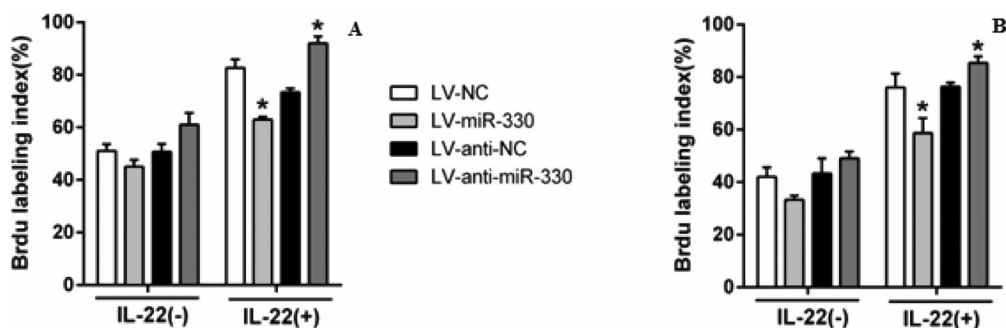


注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;*表示 LV-anti-NC 组与 LV-anti-miR-330 组组间比较 $P<0.05$; #表示 IL-22+LV-anti-NC 组与 IL-22+LV-anti-miR-330 组组间比较 $P<0.05$; **表示 LV-anti-NC 组与 IL-22+LV-anti-NC 组组间比较 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 5 IL-22 及干扰 miR-330 对细胞增殖的影响

2.3.2 BrdU 实验检测 IL-22 及 miR-330 对细胞增殖的影响 BrdU 实验检测结果如图 6 所示,加 IL-22 组细胞相对于不加 IL-22 组细胞,增殖能力显著提高($P<0.01$);LV-ant-miR-330 组相对于 LV-ant-NC 组,HaCaT 和 HKCs 细胞的增殖能力有所提高,差异具有统计学意义 ($P<0.05$);LV-miR-330 组相

对于 LV-NC 组,HaCaT 和 HKCs 细胞的增殖均被抑制,差异具有统计学意义($P<0.05$)。说明 miR-330 是人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖抑制因子;IL-22 是人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖促进因子。



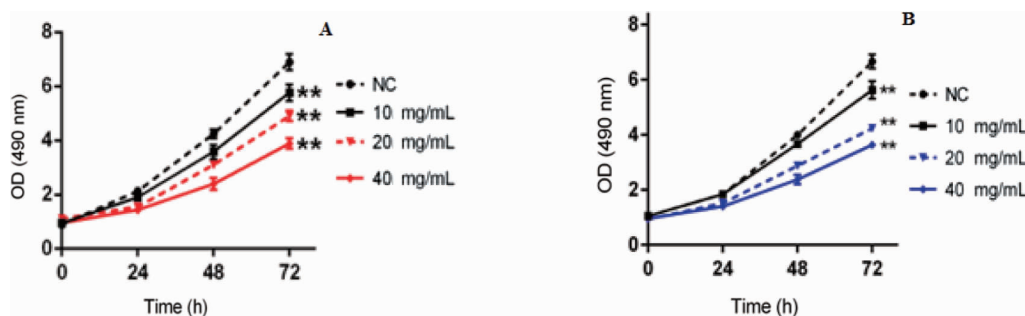
注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;*表示相对于 LV-NC 组组间比较 $P<0.05$; $n=5$ 。

图 6 BrdU 实验检测 IL-22 及 miR-330 对细胞增殖的影响

2.4 竹黄颗粒对角质形成细胞中 IL-22/miR-330 的表达变化的影响

2.4.1 竹黄颗粒对角质形成细胞增殖的影响 CCK8 检测结果如图 7 所示,加竹黄颗粒组相对

于不加药组,细胞的增殖被显著抑制($P<0.01$),且随着药物浓度的递增,增殖抑制越明显。说明竹黄颗粒可以抑制人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖。



注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;**表示不同浓度竹黄颗粒组与不加药组比较 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 7 竹黄颗粒对角质形成细胞增殖的影响

2.4.2 竹黄颗粒对角质形成细胞 IL-22 蛋白表达水平的影响 Western blot 实验检测细胞中 IL-22 的蛋白表达变化,结果如图 8 所示,加竹黄颗粒组相对于不加药组,细胞中的 IL-22 蛋白表达水平显著下降($P<0.01$),且随着药物浓度的递增,下降趋势越明显。说明竹黄颗粒可以抑制人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 中 IL-22 蛋白的表达水平。

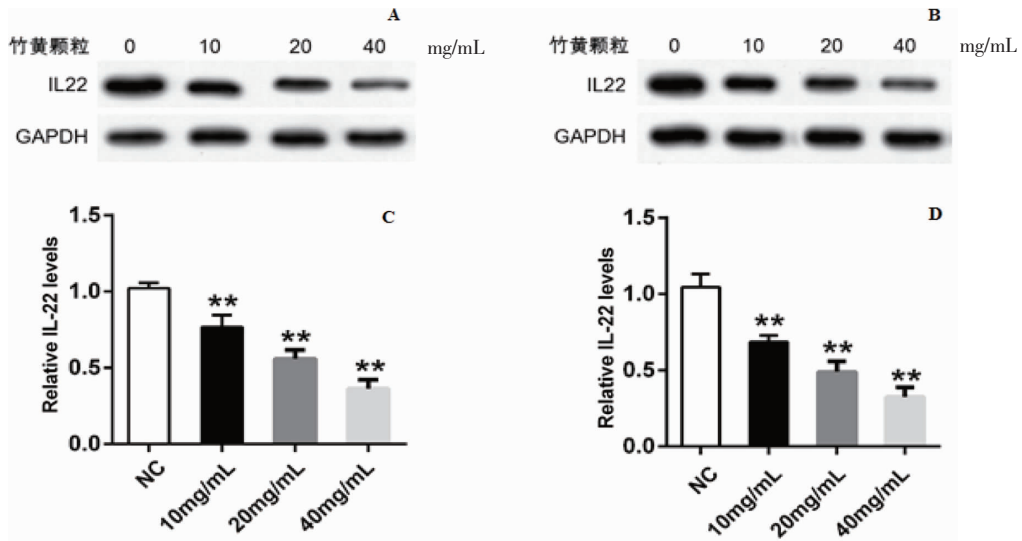
2.4.3 竹黄颗粒对角质形成细胞 IL-22 分泌水平的影响 ELISA 实验检测上清中炎症因子 IL-22 的含量,结果如图 9 所示,加竹黄颗粒组相对于不加药组,细胞上清中的 IL-22 的含量显著下降($P<0.01$),且随着药物浓度的递增,下降趋势越明显。说明竹黄颗粒可以抑制人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 分泌 IL-22。

2.4.4 竹黄颗粒对 miR-330 表达水平的影响 QPCR 实验检测细胞中 miR-330 的表达变化,结果如图 10 所示,加竹黄颗粒组相对于不加药组,细胞中的 miR-330 表达水平显著上升($P<0.01$),且随着药物浓度的递增,上升趋势越明显。说明竹黄颗粒可以上调人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的 miR-330 的表达水平。

3 讨论

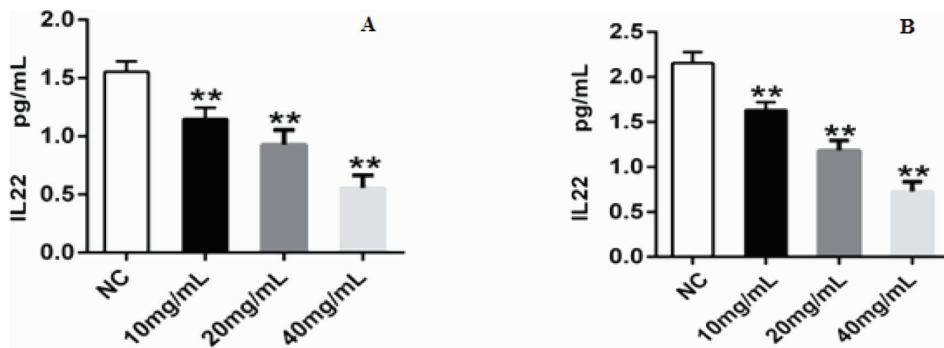
3.1 IL-22/miR-330 与银屑病

本实验应用重组慢病毒技术在 HaCaT 和 HKCs 细胞中分别过表达和干扰 miR-330 的表达,结果显示过表达 miR-330 可以抑制人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖;干扰 miR-330 可以促进



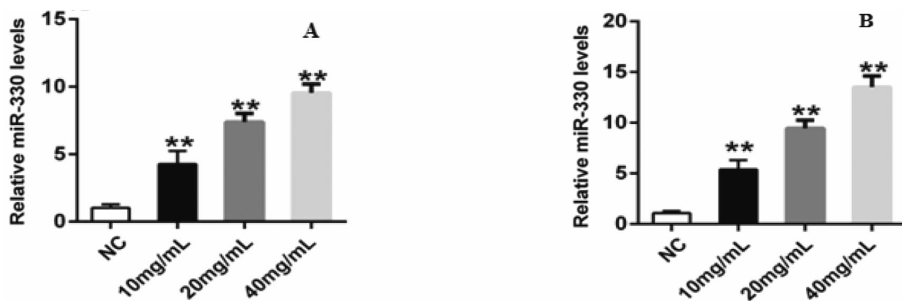
注:A:HaCaT 细胞 Western blot 结果;B:HKCs 细胞 Western blot 结果;C:HaCaT 细胞 Western blot 灰度分析结果;D:HKCs 细胞 Western blot 灰度分析结果;**表示不同浓度竹黄颗粒组与不加药组比较 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 8 竹黄颗粒对角质形成细胞 IL-22 蛋白表达水平的影响



注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;**表示不同浓度竹黄颗粒组与不加药组比较 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 9 竹黄颗粒对 IL-22 分泌水平的影响



注:A:HaCaT 细胞;B:HKCs 细胞;**表示不同浓度竹黄颗粒组与不加药组比较 $P<0.01$; $n=5$ 。

图 10 竹黄颗粒对 miR-330 表达水平的影响

人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖。上述研究结果均证实了 miR-330 可以抑制病变细胞的异常增殖,在银屑病的检测与治疗中可以作为重要研发靶标。

机体内有促炎系统和抗炎系统,其反应程度及

持续时间决定组织损伤修复的结局,两者保持平衡状态,但是如果炎症反应没有得到有效控制,进一步大规模发展则很可能加重组织损伤。当前认为炎症、表皮细胞过度增殖和免疫学异常是银屑病发病机制的三个中心环节。炎症可能既是其发病的诱因,又是

病情的主要症状,相互促进、相辅相成,这可能也是其病情难以根治的原因之一。本实验中,IL-22可以显著促进人角质形成细胞 HaCaT 和 HKCs 的增殖。炎症因子刺激下,人角质形成细胞表现出活跃的增殖能力,若在正常机体中,很可能有其它相应的调控基因进行干预,阻止角质细胞的异常增殖;而在银屑病患者体内,这种起关键作用的调控因子可能严重缺乏或活性丧失,导致角质细胞异常增殖,角质细胞的过量增殖会加重皮损,而皮损在缺乏控制的情况下会进一步促进炎症反应及分泌炎症因子。通过重组慢病毒技术进一步研究发现干扰 miR-330 的表达可以加强 IL-22 对角质形成细胞的增殖促进作用;过表达 miR-330 后可以减弱 IL-22 对角质形成细胞的增殖促进。这提示 IL-22 对角质形成细胞的调控很可能通过 miR-330 而实现,至于 miR-330 是否通过下游靶基因继续发挥调控作用则需要进一步研究。

3.2 竹黄颗粒对 IL-22/miR-330 的调控

银屑病中医辨证以血热型最为多见,一般认为本病多因素七情内伤或因体血热,郁久化火,火热亢盛,气郁不舒。热毒入里,伏于营血,导致血热毒盛;病程日久,则生风化燥,风燥日久,则耗伤气阴。本院欧阳恒教授主张“血热毒滞”是诱发寻常型银屑病的基本病机,并提出了“血热阴耗证”,在治疗方案中把益气养阴和清热解毒的理念融为一体,创立了竹黄颗粒。竹黄颗粒由淡竹叶、黄芩、黄柏、生石膏、栀子、黄连、水牛角、漏芦、柴胡、生地黄、白芍、党参、麦冬、当归、三七等药物组成,具有凉血活血、清热解毒、益气养阴之功效。本方切中寻常型银屑病的基本病机,以清热凉血解毒药物为主,辅以益气养阴,以防一味祛邪,耗伤正气,临床疗效甚佳。

综上,IL-22 可以抑制 miR-330 的表达,促进角质形成细胞增殖;竹黄颗粒可以抑制 IL-22 的表达,促进 miR-330 的表达,抑制角质形成细胞增殖。

参考文献:

[1] 隋·巢元方.诸病源候论[M].北京:人民卫生出版社,1982.

- [2] 明·李 梴.医学入门[M].宏道刻本,1894(清光绪二十年甲午):卷五,外科.
- [3] Huang LG, Jin X, Wu X, et al. Increased Levels of Cytokines Interleukin-17 (IL-17) and IL-22 in Deep Vein Thrombosis[J]. Journal of Computational & Theoretical Nanoscience, 2016, 13(5): 2763-2766.
- [4] Lo YH, Torii K, Sai to C, et al. Serum IL-22 correlates with psoriatic severity and serum IL-6 correlates with susceptibility to phototherapy [J]. Journal of Dermatological Science, 2010, 58(3): 225-227.
- [5] Mishra S, Kancharla H, Dogra S, et al. Comparison of the four validated psoriatic arthritis screening tools in diagnosing psoriatic arthritis in patients with psoriasis [COMPAQ Study][J]. Br J Dermatol, 2016.
- [6] Chen C, Zhao Z, Liu Y, et al. microRNA-99a is downregulated and promotes proliferation, migration and invasion in non-small cell lung cancer A549 and H1299 cells.[J]. Oncology Letters, 2015,9(3):1128-1134.
- [7] Michalak-Stoma A, Bartosinska J, Kowal M, et al. Serum levels of selected Th17 and Th22 cytokines in psoriatic patients [J]. Disease Markers, 2013, 35(6): 625-631.
- [8] Shiniauchi T, Hirakawa S, Suzuki T, et al. Serum interleukin-22 and vascular endothelial growth factor serve as sensitive biomarkers but not as predictors of the therapeutic response to biologics in patients with psoriasis[J]. J Dermatol, 2013, 40(10): 805-812.
- [9] Ma HL, Liang S, Li J, et al. IL-22 is required for Th17 cell-mediated pathology in a mouse model of psoriasis-like skin inflammation [J]. Journal of Clinical Investigation, 2008,118(2): 597-607.
- [10] Swindell WR, Stuart PE, Starkar MK, et al. Cellular dissection of psoriasis for transcriptome analyses and the post-GWAS era [J]. BMC Med Genomics, 2014,7:27.
- [11] 杨志波,唐雪勇.银屑病差异表达 microRNA 与靶基因及基因功能调控网络的研究[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2012,11(2):69-73.
- [12] 杨志波,向亚萍,欧阳恒.银屑病患者口服竹黄颗粒剂前后血清白介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平的比较[J].中华皮肤科杂志,2000,33(6):423-423.
- [13] 杨志波,欧阳恒,谭 诚,等.竹黄颗粒剂对角质形成细胞增殖影响的实验研究[J].中国皮肤性病学杂志,2000,14(5):309-310.
- [14] 唐雪勇.银屑病皮损组织中 miRNA 的差异表达分析及竹黄颗粒剂对其的干预作用[D].长沙:湖南中医药大学,2012.

(本文编辑 苏 维)