

· 论 著 ·

仙蓿化斑胶囊抗变态反应的作用机制及其对皮肤过敏反应、肥大细胞脱颗粒释放的抑制功效

李芊绵, 任伟超, 刘志罡, 田明, 陈浩, 国紫薇, 李芳

黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 针对仙蓿化斑胶囊抗变态反应的作用机制及其对皮肤过敏反应(PCA)、肥大细胞脱颗粒释放的抑制功效进行研究。**方法** 选择 130 只大鼠作为研究的对象,取 10 只用于制备抗卵蛋白血清,其余 120 只随机均分为实验一组(抗卵蛋白血清皮内注射,PCA 实验)、二组(抗卵蛋白血清皮下注射,颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒实验)、三组(抗卵蛋白血清腹腔注射,肥大细胞释放组胺实验),各组均含对照组、高剂量观察组、低剂量观察组、阳性药物组四个亚组,每组 10 只大鼠。采用灌胃方式,对照组给予生理盐水,高、低剂量观察组分别给予仙蓿化斑胶囊 1.45 g/kg、0.70 g/kg,阳性药物组给予息斯敏 0.0009 g/kg。比较分析各实验中,大鼠的 PCA、肥大细胞释放组胺、骨膜肥大细胞脱颗粒等指标在不同处理下(高、低剂量仙蓿化斑胶囊,息斯敏,生理盐水)的差异。**结果** 在注射同一浓度血清时,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的皮斑直径均小于对照组大鼠(P 均 < 0.05);但三个给药组之间皮斑直径无差异($P > 0.05$)。与对照组比较,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的骨膜肥大细胞脱颗粒比例均下降(P 均 < 0.01);且按低剂量观察组、阳性药物组和高剂量观察组之序递降。与对照组比较,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的肥大细胞释放组胺 OD 值均下降(P 均 < 0.01);且按低剂量观察组、阳性药物组和高剂量观察组之序递降。**结论** 仙蓿化斑胶囊可缩小大鼠 PCA 的皮斑直径,抑制肥大细胞脱颗粒及组胺释放,具有抗变态反应的作用。

关键词: 仙蓿化斑胶囊; 抗变态反应; 皮肤过敏反应; 肥大细胞脱颗粒; 组胺释放

中图分类号: R 285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)08-1039-04

Mechanism of anti-allergy of Xianjihuan capsule and its inhibitory effect on PCA and mast cells degranulation release

LI Qian-mian, REN Wei-chao, LIU Zhi-gang, TIAN Ming, CHEN Hao, GUO Zi-wei, LI Fang

Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150040, China

Corresponding author: TIAN Ming, E-mail: 18646115365@163.com

Abstract: Objective To research the mechanism of anti-allergy of Xianjihuan capsule and its inhibitory effect on passive cutaneous anaphylaxis (PCA) and mast cells degranulation release. **Methods** A total of 130 rats were selected as research objects. Ten rats in them were used to prepare the anti-ovalbumin serum, and the remaining 120 rats were randomly divided into three groups ($n = 40$ each): experiment group A (intradermal injection of anti ovalbumin serum for PCA test), experiment group B (subcutaneous injection of anti-ovalbumin serum for mast cells degranulation test of cranial periosteum) and experiment group C (intraperitoneal injection of anti-ovalbumin serum for histamine release test of mast cells), and each experiment group was re-divided into four sub-groups ($n = 10$ each): control group, high-dose group, low-dose group and positive drug control group. By intragastric administration, normal saline was given in control group; 1.45 g/kg and 0.70 g/kg of Xianjihuan capsule were given in high-dose group and low-dose group respectively; 0.0009 g/kg of astemizol was given in positive drug control group. The indexes including PCA of rats, histamine release of mast cells, mast cells degranulation of cranial periosteum in different treatments (high-dose and low-dose of Xianjihuan capsule, astemizol and normal saline) were analyzed and compared. **Results** At injecting the same concentration of serum, the diameters of skin spots in high-dose group, low-dose group and positive drug control group were all significantly smaller than that in control group (all $P < 0.05$), while there was no significant difference in three medication groups ($P > 0.05$). Compared with

control group, the proportions of mast cells degranulation of cranial periosteum in high-dose group, low-dose group and positive drug control group decreased significantly (all $P < 0.01$) and went down progressively in the order of low-dose group, positive drug control group and high-dose group. Compared with control group, the OD values of mast cells histamine release in high-dose group, low-dose group and positive drug control group decreased significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and went down progressively in the order of low-dose group, positive drug control group and high-dose group. **Conclusion** Xianjihuan capsules can reduce the skin spot diameter of rats PCA, inhibit degranulation and histamine release of mast cells, and therefore play a role of anti-allergy reaction.

Key words: Xianjihuan capsule; Anti-allergy; Passive cutaneous anaphylaxis; Mast cell degranulation; Histamine release

在临床治疗中,过敏性疾病较为常见,过敏性疾病是全身性的一种疾病,是患者的小动脉和毛细血管通透性等受到影响,造成患者的免疫力异常^[1-2]。在过敏性疾病,例如过敏性紫癜的治疗中,中医药起着重要的作用^[3]。仙蓣化斑胶囊是中药制剂,其成分主要为水牛角、大青叶、白芍、黄芪、三七、白术、生地、小蓣等,仙蓣化斑胶囊具有活血化瘀等功效,对过敏性疾病等治疗有重要的作用^[4]。本研究采用动物实验对仙蓣化斑胶囊抗变态反应的作用机制及其对皮肤过敏反应(PCA)、肥大细胞脱颗粒释放的抑制功效进行探讨。

1 材料与方法

1.1 动物、实验试剂和器械 选择 130 只大鼠作为研究对象,体重 180 ~ 250 (215.4 ± 4.3) g; 雌性 65 只,雄性 65 只。将其中 120 只随机均分为高剂量观察组、低剂量观察组、对照组、阳性药物组。对照组给予生理盐水,观察组给予仙蓣化斑胶囊(高、低剂量 2 组),阳性药物组给予息斯敏,根据实验一、二、三再分亚组(详见后述)。实验试剂和器械:仙蓣化斑胶囊(黑龙江中医药大学,批号:2002090,规格:0.45 g/粒)、息斯敏(西安杨森制药有限公司,批号:030611457,规格:3 mg/片)、百白破疫苗(湖北生物制品有限公司)、伊文思蓝(Fluka 进口分装)蒸馏水、乳钵、离心机、显微镜、荧光分光光度计。

1.2 方法 (1) 制备抗卵蛋白血清:取大鼠 10 只,5% 新鲜鸡蛋清生理盐水溶液 0.5 ml,对其实施肌肉注射,同时进行腹腔百白破疫苗的注射,2 周后采集血样,离心处理,将血清混合放入冰箱备用。(2) 实验一(PCA 实验):取大鼠 40 只,分为四组,高剂量观察组(给予仙蓣化斑胶囊 1.45 g/kg)、低剂量组观察组(给予仙蓣化斑胶囊 0.70 g/kg)、阳性药物组(给予息斯敏 0.0009 g/kg)、对照组(给予生理盐水,容积同高低剂量观察组),各 10 只。对大鼠实施连续灌胃给药,每天 1 次,为期 1 周。1 周后在大鼠背中

清用生理盐水按照 1:5、1:10 的比例进行稀释,1:5 血清皮内注射在大鼠左侧两点,1:10 血清皮内注射在右侧两点,使用剂量均为 0.1 ml。注射 48 h 之后,抗原攻击,采用 0.5 ml 的 0.5% 伊文思蓝、0.5 ml 的 5% 蛋清生理盐水溶液静脉注射,完成注射 30 min 之后,断椎处死,并将其背部皮肤剪下,进行斑点皮肤直径差异的测量。(3) 实验二(肥大细胞脱颗粒实验):取大鼠 40 只,按实验一同样方法分组,同样药物、剂量分别灌胃 1 周。对每组大鼠实施头部皮下注射 1:20 稀释的抗卵蛋白血清 0.1 ml,48 h 之后进行静脉注射伊文思蓝 0.5 ml,5% 的蛋清生理盐水溶液 0.5 ml,30 min 之后将其处死,将大鼠的头部切开,将颅骨剥下并置于 95% 的乙醇中 1 h,再放进无水甲醇中过夜。接着进行 30 min 的 0.18% 中性红酒精溶液中染色,清水冲洗、骨膜分离、处理、观察,对肥大细胞中的细胞脱颗粒个数进行观察。(4) 实验三(肥大细胞释放组胺实验):另取 40 只大鼠,按实验一同样方法分组,同样药物、剂量分别灌胃 1 周。在最后 1 次给药后 30 min 之后,对其进行腹腔注射 1:5 稀释的抗卵蛋白血清 3 ml,5 min 之后对其进行 5% 的蛋清生理盐水溶液 1 ml 的静脉注射,立即腹部注射 5 ml 的 Hank 溶液,5 min 之后处死,并收集大鼠的腹腔液,放置于冰浴中,然后进行离心,取上清液,并使用分光光度计进行肥大细胞释放组胺 OD 值的测定。

1.3 观察指标 对三个实验中不同处理(高、低剂量仙蓣化斑胶囊,息斯敏,生理盐水)下大鼠的 PCA、肥大细胞释放组胺、骨膜肥大细胞脱颗粒等指标进行观察比较。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS 18.0 对相关数据进行处理分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用多变量方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验。检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 四组大鼠的 PCA 实验情况对比 各组大鼠注射 1:10 血清时,其皮斑直径均小于各自注射 1:5 血

清时(P 均 <0.05)。在注射同一浓度血清时,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的皮斑直径均小于对照组大鼠(P 均 <0.05);但三个给药组之间皮斑直径无差异(P 均 >0.05)。见表 1。

2.2 四组大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒情况比较
与对照组比较,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的骨膜肥大细胞脱颗粒比例均下降(P 均 <0.01);且按低剂量观察组、阳性药物组和高剂量观察组之序递降。见表 2。

2.3 四组大鼠肥大细胞释放组胺 OD 值比较
与对照组比较,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的肥大细胞释放组胺 OD 值均下降(P 均 <0.01);且按低剂量观察组、阳性药物组和高剂量观察组之序递降。见表 3。

表 1 各组大鼠的 PCA 实验情况对比 ($n=10$)

组别	药物剂量	皮斑直径(cm, $\bar{x} \pm s$)	
		注射 1:5 血清	注射 1:10 血清
高剂量观察组	仙蓟化斑胶囊 1.45 g/kg	1.22 ± 0.23 ^{①②}	0.71 ± 0.12 ^①
低剂量观察组	仙蓟化斑胶囊 0.70 g/kg	1.31 ± 0.23 ^{①②}	0.74 ± 0.27 ^①
阳性药物组	息斯敏 0.0009 g/kg	1.25 ± 0.24 ^{①②}	0.78 ± 0.22 ^①
对照组	等容积生理盐水	1.55 ± 0.22	1.07 ± 0.15
P 值		<0.05	<0.05

注:与对照组比较,^① $P<0.05$;与注射 1:10 血清比较,^② $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠颅骨骨膜肥大细胞脱颗粒对比 ($n=10$)

组别	药物剂量	骨膜肥大细胞脱颗粒
		(%, $\bar{x} \pm s$)
高剂量观察组	仙蓟化斑胶囊 1.45 g/kg	38.6 ± 5.4 ^{①②}
低剂量观察组	仙蓟化斑胶囊 0.70 g/kg	53.4 ± 4.3 ^①
阳性药物组	息斯敏 0.0009 g/kg	45.4 ± 5.7 ^{①②}
对照组	等容积生理盐水	75.4 ± 5.6
P 值		<0.01

注:与对照组比较,^① $P<0.01$;与低剂量组比较,^② $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠肥大细胞释放组胺 OD 值对比 ($n=10$)

组别	药物剂量	肥大细胞释放组胺 OD 值
		($\bar{x} \pm s$)
高剂量观察组	仙蓟化斑胶囊 1.45 g/kg	325.3 ± 12.7 ^{①②}
低剂量观察组	仙蓟化斑胶囊 0.70 g/kg	346.5 ± 34.7 ^①
阳性药物组	息斯敏 0.0009 g/kg	334.1 ± 47.4 ^{①②}
对照组	等容积生理盐水	426.0 ± 25.2
P 值		<0.01

注:与对照组比较,^① $P<0.01$;与低剂量组比较,^② $P<0.05$ 。

3 讨论

过敏性紫癜是患者的免疫功能异常所致,对过敏性疾病的治疗,传统的西药治疗虽然有一定疗效,但是整体效果欠理想,且抑制免疫功能的药物往往毒副作用较大^[5-7]。为此在临床治疗中,许多研究者从医学、中药学的角度对患者实施治疗^[8-11]。

实验研究显示,在过敏性疾病的治疗中,中医药

仙蓟化斑胶囊的抗变态反应作用显著,且产生的毒副作用较小^[12]。仙蓟化斑胶囊是由水牛角、白芍、白术、三七、黄芪、生地、小蓟等 11 种中药组成,用于治疗过敏性紫癜,可以起到活血化瘀、实肌固表的作用。在临床治疗中, I 型过敏反应与肥大细胞颗粒的脱出、组胺的释放等有关,仙蓟化斑胶囊作为一种中成药,可以有效改善患者肥大细胞释放的组胺值、肥大细胞的脱颗粒比例,其抑制 I 型过敏反应作用较强^[12-13]。

本研究对仙蓟化斑胶囊抗变态反应的作用机制及其对 PCA、肥大细胞脱颗粒释放的抑制功效进行了分析研究,结果显示,在注射同一浓度血清时,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的皮斑直径均小于对照组大鼠;但三个给药组之间皮斑直径无差异。与对照组比较,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的骨膜肥大细胞脱颗粒比例均下降;且按低剂量观察组、阳性药物组和高剂量观察组之序递降。与对照组比较,高剂量、低剂量观察组和阳性药物组大鼠的肥大细胞释放组胺 OD 值均下降;且按低剂量观察组、阳性药物组和高剂量观察组之序递降。综合本研究结果可以得出,仙蓟化斑胶囊在过敏性紫癜的治疗中,可显著改善实验动物的症状,可能是通过有效抑制肥大细胞脱颗粒及组胺的释放而发挥作用。其作用与药物剂量未显示明显相关性。

仙蓟化斑胶囊中,白芍、黄芪、白术等具有活血化瘀等功效;水牛角为君药,着重凉血止血、清热解毒;生地为辅药,具有滋阴养血的功效;三七具有凉血消瘀的作用;黄芪、白术具有益气固表的功效等。11 种中药成分,共奏凉血消瘀之效^[14]。

综上所述,本研究结果提示,仙蓟化斑胶囊用于治疗大鼠过敏性疾病,在改善皮肤症状,抑制过敏反应和肥大细胞脱颗粒、组胺释放等方面有明显作用。该药的临床推广,有待进一步临床观察与研究。

参考文献

- [1] 何胜尧,吴仙娜,蔡新民,等. 自拟消癍冲剂辅助治疗过敏性紫癜[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(16):182-184.
- [2] 李志鸿. 凉血化斑汤治疗过敏性紫癜(血热证)的临床观察[J]. 中医药信息,2011,28(4):108-109.
- [3] 郭皓,苏云明,张也,等. 仙蓟化斑胶囊对肥大细胞脱颗粒及组胺释放影响的研究[J]. 天津中医药,2013,30(6):353-355.
- [4] 师小萌,李领娥,边莉,等. 过敏性紫癜的中医病因病机与治疗[J]. 世界中医药,2012,7(6):577-579.
- [5] 唐雪梅. 过敏性紫癜病因及免疫发病机制[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(21):1634-1636.

- 613.
- [3] 田秀芬,李瑞成.鼻(鼻型)NK/T 细胞淋巴瘤的诊断方法探讨[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2011,25(2):92-93.
- [4] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].北京:科学出版社,2007:224-225.
- [5] Kim JW, An JH. Extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type, of the orbit mimicking recurrent orbital cellulitis[J]. J Craniofac Surg, 2014, 25(2):509-511.
- [6] 陈波,李晔雄,刘清峰,等.早期结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤疗后远期复发因素分析[J].中华放射肿瘤学杂志,2013,22(3):175-179.
- [7] 张娜,房居高,王成硕,等.鼻 NK/T 细胞淋巴瘤临床特征分析[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2012,19(11):579-582.
- [8] 雷霞,王文生,成琼辉,等.鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤 1 例[J].临床皮肤科杂志,2013,42(12):749-750.
- [9] 李艳嫦,刘冬先.结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤[J].临床皮肤科杂志,2013,42(10):598-601.
- [10] 陈道光,杨瑜,陈刚,等.107 例鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤临床特点和预后分析[J].肿瘤防治研究,2013,40(9):873-876.
- [11] 戴琼,陶泽璋,石文丹,等.早期鼻型 NK/T 淋巴瘤放疗化疗和单纯放疗效果的 Meta 分析[J].临床误诊误治,2013,26(2):65-68.
- [12] 李冠勇,刘翠杰,陈明玉,等.皮肤结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤 1 例[J].临床皮肤科杂志,2012,41(10):611-612.
- [13] 赵志国,丁克云,金城,等.皮肤结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤 1 例[J].临床皮肤科杂志,2010,39(6):368-369.
- [14] Kanesvaran R, Tao M, Huat IT, et al. Malignant arrhythmia: a case report of nasal NK/T-cell lymphoma with cardiac involvement[J]. Acta Oncol, 2009, 48(4):637-639.
- [15] 杜超,翁巍,孙致信,等.硼替佐米和来那度胺对 NK/T 淋巴瘤细胞作用的实验研究[J].中华全科医学,2016,14(3):377-380.
- [16] 罗杨坤,谭燕,郎锦义,等.结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤的临床治疗与预后分析[J].西部医学,2010,22(1):123-125.
- [17] 敬小梅,李力,张智慧,等.49 例外周 T 细胞淋巴瘤-非特指型临床特征与生存分析[J].西部医学,2013,25(1):82-84.
- [18] 程慧娟,赵玉林.鼻型结外 NK/T 细胞淋巴瘤诊治进展[J].国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2014,38(3):163-165.
- [19] Yong W, Zheng W, Zhu J, et al. L-asparaginase in the treatment of refractory and relapsed extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type[J]. Ann Hematol, 2009, 88(7):647-652.
- [20] 李鑫,于丰,王景文,等.鼻结外 NK/T 细胞淋巴瘤患者鼻部细菌感染的病原学特点及相关指标的研究[J].临床和实验医学杂志,2013,12(1):15-17.
- [21] 徐淑芬,白海,王存邦,等.不同治疗方案对鼻、鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤疗效分析[J].现代肿瘤医学,2012,20(2):374-376.

收稿日期:2016-03-11 修回日期:2016-04-02 编辑:王国品

(上接第 1041 页)

- [6] 刘清清,韩宁林,李忠志,等.祛风通络、清热凉血法治疗单纯型过敏性紫癜临床观察[J].安徽中医药大学学报,2015,34(2):12-14.
- [7] 邓娟,任勤.小儿过敏性紫癜治愈[J].吉林中医药,2012,32(1):96.
- [8] 陈朋,肖风丽.过敏性紫癜病因及发病机制研究进展[J].实用皮肤病学杂志,2011,4(2):93-95.
- [9] 吕恒军.清热消癥汤治疗过敏性紫癜 24 例临床观察[J].长春中医药大学学报,2012,28(3):479-480.
- [10] 张少卿.过敏性紫癜的随机、双盲、多中心临床研究及络络伤的免疫失衡机制探讨[D].长春:辽宁中医药大学,2015.
- [11] Yang Y, Wang C, Li X, et al. Chinese herbal medicine for Henoch-Schönlein purpura in children without renal damage: a systematic review of randomized controlled trials[J]. Complement Ther Med, 2015, 23(5):741-750.
- [12] 苏慧,刘松涛,张森,等.仙藜化斑胶囊对豚鼠血清 IgG、IgM 影响的研究[J].中国药师,2014,17(8):1257-1258,1291.
- [13] 路金英,王耀光.化斑汤治疗过敏性紫癜验案三则[J].吉林中医药,2010,30(12):1079.
- [14] 李作艳,王予川.过敏性紫癜研究进展[J].中国医药,2015,10(5):764-768.

收稿日期:2016-02-15 修回日期:2016-03-01 编辑:王国品