



加味过敏煎对荨麻疹抗过敏药效作用的研究*

刘真真,钟海森,陶鑫,卢佩婷,蒙春伶,覃骊兰[△]

广西中医药大学,广西 南宁 530001

[摘要] 目的:探讨加味过敏煎对荨麻疹小鼠血清组胺含量及组胺所致血管通透性的影响。方法:采用低分子右旋糖酐诱导的小鼠皮肤瘙痒模型,观察小鼠皮肤瘙痒情况,酶联免疫吸附法(ELISA)检测小鼠血清中组胺水平;采用伊文思兰染色法,观察加味过敏煎对组织胺引起的毛细血管通透性增加的影响。结果:与模型组相比,加味过敏煎高剂量组小鼠抓挠潜伏期明显延长,抓挠次数显著减少($P < 0.05$),加味过敏煎各剂量组均显著缩短了小鼠的抓挠持续时间($P < 0.05$)。ELISA结果显示,加味过敏煎高剂量组能明显减少小鼠血清组胺含量($P < 0.05$)。加味过敏煎各剂量组均能减少腹腔内渗出的伊文思兰染料量,降低OD值($P < 0.05$)。结论:加味过敏煎能改善荨麻疹小鼠皮肤瘙痒情况,减少体内组胺含量,降低毛细血管通透性,且高剂量效果最好。

[关键词] 荨麻疹;加味过敏煎;组胺;抗过敏;动物实验

[中图分类号] R758.24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2022)06-0021-04

Study on Antiallergic Effects of Modified Guomin Decoction on Urticaria

LIU Zhenzhen, ZHONG Haisen, TAO Xin, LU Peiting, MENG Chunling, QIN Lilan[△]

Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China

综上所述,小鼠阴道接种白色念珠菌主要病变为阴道黏膜下充血和炎细胞浸润,以嗜酸性粒细胞为主,灌服屏风四妙汤煎剂可以有效缓解白色念珠菌感染小鼠阴道内黏膜充血和炎症细胞浸润。

参考文献

- [1] RODRIGUEZ-CERDEIRA C, GREGORIO M C, MOLARES-VILA A, et al. Biofilms and vulvovaginal candidiasis [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2019, 174(2):110-125.
- [2] 付贞. 中西医结合治疗 57 例妊娠期外阴阴道念珠菌病的临床效果观察[J]. 中国现代药物应用, 2019, 13(17):102-103.
- [3] 郑瑛瑛, 温梅梅. 克霉唑阴道片阴道给药治疗复发性外阴阴道念珠菌病的可行性[J]. 中外医学研究, 2019, 17(26):131-132.
- [4] NAEIMI B, MIRHENDI H, KHAMISIPOUR G, et al. Candida africana in recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC) patients: frequency and phenotypic and genotypic characteristics [J]. J Med Microbiol, 2018, 67(11):1601-1607.
- [5] VLADAREANU R, MIHU D, MITRAN M, et al. New evidence on oral L. plantarum P17630 product in women with history of recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC): a randomized double-blind placebo-controlled study[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018;22(1):262-267.
- [6] 晏亮, 邓淑文, 潘炜华, 等. 我国外阴阴道念珠菌病致病菌菌种分布及体外药敏研究现状[J]. 中国真菌学杂志, 2018, 13(1):50-56.
- [7] 魏林. 中西医结合治疗复发性外阴阴道假丝念珠菌病 60

例临床观察[J]. 医药前沿, 2018, 8(9):250-251.

- [8] 戴玮, 王继永. 基于玉屏风散相关专利分析的经典名方中药复方制剂知识产权保护策略思考[J]. 中国现代中药, 2019, 21(7):975-978, 982.
- [9] 金杰, 金晨曦, 耿玉杰, 等. 四妙丸在疑难脑病治疗中的运用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(9):1322-1323.
- [10] 刘道凡, 伍启康. 日舒安洗液联合克霉唑治疗小鼠外阴阴道念珠菌病的疗效观察[J]. 中国真菌学杂志, 2019, 14(1):36-40.
- [11] 陆珍, 田芳, 王玉柱, 等. 采用优化家兔阴道刺激模型评价乙酸阴道热敏凝胶剂的阴道免疫炎症毒性研究[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(11):1372-1377.
- [12] 黄云芳, 付会玲, 张云, 等. 腹腔注射黄芪注射液的糖尿病小鼠肾脏组织病理变化观察[J]. 山东医药, 2018, 58(31):35-39.
- [13] 雷岩, 邓淑文, 陈晓菲, 等. 289 株 VVC 致病菌的菌种分布和对 9 种抗真菌药物敏感性[J]. 菌物学报, 2019, 38(8):1306-1313.
- [14] BERTRAM K M, BOTTING R A, BAHARLOU H, et al. Identification of HIV transmitting CD11c⁺ human epidermal dendritic cells[J]. Nature Comm, 2019, 10(1):28-30.
- [15] 汪平. 桂芍四妙汤联合苦参凝胶治疗霉菌性阴道炎疗效观察[J]. 中医学报, 2018, 33(9):197-200.

收稿日期:2021-08-10

*基金项目:山东省中医药科技发展计划(2011-138)。

作者简介:宋桂红(1977—),女,硕士学位,副教授。研究方向:妇科内分泌、生殖疾病的诊治。

Abstract Objective: To discuss the influence of modified *Guomin* decoction (MGD) on the contents of serum histamine and histamine-induced vascular hyperpermeability in mice with urticaria. Methods: The mouse skin itching models induced by low molecular dextran were used to observe the skin pruritus of mice, ELISA was adopted to detect the levels of histamine in the serum of the mice; Evans blue staining was used to observe the effects of MGD on histamine-induced vascular hyperpermeability. Results: Compared with the model group, scratch latency prolonged notably, and scratch times reduced significantly in high dose group of MGD ($P<0.05$), all dose groups of MGD apparently shortened the scratching duration of mice ($P<0.05$). ELISA results showed that high dose group of MGD could notably lower the contents of serum histamine in mice ($P<0.05$). Different doses groups of MGD could reduce the amount of Evans blue dye exuded from abdominal cavity, lower OD values ($P<0.05$). Conclusion: MGD could improve skin itching conditions in mice with urticaria, lower the contents of histamine, reduce capillary permeability, and high dose show the best effects.

Keywords urticaria; modified *Guomin* decoction; histamine; anti-allergy; zooperly

荨麻疹,中医称之为瘾疹或者赤白游风,表现为大小不等的风团伴瘙痒,是临床常见的皮肤过敏反应。多种因素都可诱发荨麻疹,该病的多诱因和反复性对患者的日常生活造成严重困扰^[1-2]。荨麻疹的中医病机为“外感淫风之邪,内有营血之虚”,风邪是该病发病的关键因素^[3-5]。过敏煎是祝谌予老先生的经验方,治疗各类过敏性疾病都可以此方为基础,结合辨证用药,均能收到很好的疗效^[6-7]。我们从“治风、理血、养肝”立法,以“清热平肝,滋阴祛风,养血柔肝”为治则,在过敏煎基础上加用僵蚕、蝉蜕、地龙、当归、白鲜皮组成加味过敏煎,用于治疗荨麻疹,屡获奇效。本实验通过观察加味过敏煎对小鼠血清组胺含量及组胺所致血管通透性的影响,以期明确加味过敏煎对荨麻疹的抗过敏药效作用,为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康SPF级昆明小鼠96只,雌雄各半,体质量18~20g,购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物许可证编号:SCXK(湘)2019-0004。饲养条件:动物饲养环境符合SPF实验动物级环境设施标准,实验室按昼夜节律采光,通风良好,室温保持在20℃~25℃左右,定期消毒。

1.2 实验药物 加味过敏煎,由广西中医药大学第一附属医院仁爱分院药房提供,经广西中医药大学中药鉴定教研室鉴定为正品。药物组成:乌梅10g,五味子10g,银柴胡10g,防风10g,蝉蜕10g,地龙15g,甘草6g,僵蚕10g,当归10g,白鲜皮30g。根据药物的量效关系设立低、中、高剂量组(分别含生药量9.18、18.35、36.7g/kg)。委托广西中医药大学药学院中药药效筛选实验室煎制,整个实验过程均使用同一批制剂。氯雷他定片(广东逸舒制药股份有限公司,国药准字H20052214,规格:10mg/片),使用时加蒸馏水配

制成0.076mg/mL,置4℃冰箱中冷藏备用。

1.3 试剂与仪器 低分子葡聚糖(源叶生物,批号:S14110),0.5%伊文思蓝溶液(Solarbio,批号G1810),磷酸组胺(Solarbio,批号:527A021),小鼠组胺(HIS)酶联免疫检测试剂盒(南京建成生物研究所,H171-1-2),丙酮(分析纯)。TGL-16型高速冷冻离心机,E1x800型全自动酶标仪,计时器、计数器。

1.4 实验方法

1.4.1 低分子右旋糖酐溶液诱导的小鼠皮肤瘙痒实验

1.4.1.1 动物分组 48只昆明小鼠,雌雄各半,按照随机数字表法分为空白对照组,模型组,氯雷他定组,加味过敏煎高、中、低剂量组6组,每组8只,因操作原因导致加味过敏煎低剂量组1只小鼠死亡。

1.4.1.2 给药及造模 适应性喂养3天后开始给药。空白对照组和模型组以生理盐水20mL/kg灌胃;氯雷他定组,加味过敏煎高、中、低剂量组按20mL/kg每天灌胃。以上各组小鼠连续灌胃7天,每天1次。末次给药1h后,除空白组外,其余各组小鼠尾静脉注射0.0125%低分子右旋糖酐溶液诱导的小鼠皮肤瘙痒实验,空白组用生理盐水代替。瘙痒实验成功表现:小鼠全身瘙痒反应,以前爪搔抓头部、后爪挠躯干、嘴咬全身各部位为瘙痒指征。

1.4.1.3 指标观测 1)记录小鼠在注射低分子右旋糖酐溶液后30min内的抓痒潜伏期、抓挠次数及每次抓挠持续时间,并按下列公式计算抑制率(%)^[8-9]。2)观察完毕后,小鼠眼眶取血,4℃、3000r/min离心10min,小心吸取上层血清,采用ELISA法检测血清中组胺含量。

抑制率(%)=100%-(用组平均值/模型组平均值)×100%

1.4.2 组胺致小鼠毛细血管通透性增加实验

1.4.2.1 动物分组 同“1.4.1.1”项下小鼠分组。

1.4.2.2 给药及造模 各组小鼠给药方法同

“1.4.1.2”项下小鼠给药方法。末次给药1h后,各组小鼠尾静脉注射0.5%伊文思蓝溶液,同时在除空白对照组外的其余各组小鼠的腹部脱毛处皮内注射0.1%磷酸组胺,0.1 mL/只,形成一小皮丘,空白对照组用生理盐水代替磷酸组胺。

1.4.2.3 观测指标 血管通透性值平均抑制率:30 min后脱颈处死小鼠,剖开腹部,用直径8 mm的打孔器取下小鼠腹部蓝染皮肤,剪碎后放入1.5 mL的丙酮-生理盐水(7:3)溶液中,室温浸泡24 h,充分混匀后,以2500 r/min离心15 min,取上清液于620 nm处测定蓝斑光密度值(OD),并按下列公式计算抑制率^[10-11]。

血管通透性平均抑制率(%)=(对照组OD值均值-给药组OD值均值)/对照组蓝斑OD均值×100%

1.5 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据间的比较采用方差分析或t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠皮肤瘙痒实验

2.1.1 小鼠血清组胺含量 与空白对照组比较,模型组血清组胺水平明显提高($P < 0.05$)。给药干预后,与模型组相比,加味过敏煎各剂量组和氯雷他定组的血清组胺水平有不同程度的下降,其中加味过敏煎高剂量组、氯雷他定组下降明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.1.2 小鼠抓挠潜伏期 与空白对照组相比,模型组的抓挠潜伏期有缩短趋势,但差异无统计学

意义($P > 0.05$)。与模型组相比,加味过敏煎高剂量组可明显延长小鼠抓挠潜伏期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.1.3 小鼠抓挠次数 与空白对照组相比,模型组的抓挠次数明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组相比,加味过敏煎高剂量组、氯雷他定组小鼠的抓挠次数显著减少($P < 0.01$)。加味过敏煎中、低剂量组抓挠次数有降低趋势,但差异不明显($P > 0.05$)。见表2。

2.1.4 小鼠抓挠持续时间 与空白对照组相比,模型组的抓挠持续时间明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组相比,加味过敏煎各组及氯雷他定组均显著缩短了小鼠的抓挠持续时间,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表2。

2.2 血管通透性实验 模型组OD值与空白对照组比较明显增高($P < 0.05$)。与模型组相比,加味过敏煎各剂量组、氯雷他定组OD值降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中,氯雷他定组与加味过敏煎高剂量组抑制效果更明显。见表3。

表1 各组小鼠组胺水平比较($\bar{x} \pm s$) ng/mL

组别	鼠数	组胺含量
空白对照组	8	68.44 ± 17.18*
模型组	8	101.26 ± 29
氯雷他定组	8	68.25 ± 26.93*
加味过敏煎高剂量组	8	73.24 ± 21.2*
加味过敏煎中剂量组	8	78.25 ± 22.81
加味过敏煎低剂量组	7	75.62 ± 31.86

注:与模型组比较,**表示 $P < 0.01$,*表示 $P < 0.05$

表2 各组小鼠皮肤瘙痒实验指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	抓挠潜伏期(min)	抓挠次数(次)	抓挠持续时间(s)
空白对照组	8	4 ± 2.27	9 ± 8.64*	33.63 ± 38.34*
模型组	8	2.63 ± 1.19	21.75 ± 13.58	79.5 ± 35.32
氯雷他定组	8	2.38 ± 1.41	8.38 ± 2.93**	35.5 ± 8.50**
加味过敏煎高剂量组	8	9.63 ± 3.82*	9.13 ± 4.673**	25.50 ± 14.53**
加味过敏煎中剂量组	8	4.75 ± 1.72	12.63 ± 7.95	33.88 ± 18.60**
加味过敏煎低剂量组	7	2.43 ± 3.40	10.86 ± 2.48	34.14 ± 13.52**

注:与模型组比较,**表示 $P < 0.01$,*表示 $P < 0.05$

表3 各组小鼠OD值及血管通透性平均抑制率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	OD(×10 ⁻³)	血管通透性平均抑制率(%)
空白对照组	8	466.67 ± 33.71*	16.1
模型组	8	556.25 ± 90.23	-
氯雷他定组	8	447.5 ± 45.21**	20.9
加味过敏煎高剂量组	8	423.75 ± 38.93**	23.8
加味过敏煎中剂量组	8	450.83 ± 46.08*	18.95
加味过敏煎低剂量组	7	452.08 ± 66.21*	18.73

注:与模型组相比,**表示 $P < 0.01$,*表示 $P < 0.05$;-表示无数值

3 讨论

组胺是自体活性物质之一,人体内的组胺是以无活性结合物的形式存在于肥大的细胞(mast cell, MC)颗粒中,在皮肤、支气管黏膜、肠黏膜和神经系统中含量较多。机体发生过敏反应的一个重要原因是MC的活化和脱颗粒,当MC被激活时,细胞内部进行一系列磷酸化反应和炎症因子合成,胞内钙离子浓度升高,导致MC脱颗粒化并释放出组胺,组胺的大量合成和释放会打破Th1/Th2的细胞平衡,促进Th2型细胞因子的合成和分泌,抑制Th1型细胞因子的产生^[12-13]。组胺可与细胞膜上的H1受体结合,参与调控细胞定向迁移、血管扩张等炎症反应过程,同时也参与介导I型超敏反应;与H4受体结合,可正反馈调节MC的激活和脱颗粒过程,使更多的组胺和炎症因子被合成、释放,级联放大变态反应过程,目前第二代非镇静抗组胺药是治疗荨麻疹的首选药^[14-15]。

研究表明,过敏煎对大小鼠被动皮肤过敏反应、2,4-二硝基氯苯所致的皮肤迟发型超敏反应有明显的抑制作用。过敏煎抗过敏作用的药效学研究结果也表明,该方能改善小鼠全身瘙痒反应和降低毛细血管通透性^[16-19]。龙声志^[20]在过敏煎原方基础上加入蝉蜕和白鲜皮各10g,组成加味过敏煎,可下调荨麻疹小鼠皮肤组织蛋白酶激活受体2 mRNA的表达,降低血清组胺浓度,并且抑制肥大细胞脱颗粒,发挥对荨麻疹的防治作用。

本研究结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠的皮肤瘙痒情况加重,抓挠次数和持续时间明显增加,给予加味过敏煎干预后小鼠的发作潜伏期明显延长,抓挠次数和持续时间显著减少,皮肤瘙痒得到改善。ELISA检测结果显示,与空白组相比,模型组小鼠体内组胺含量明显增加,经加味过敏煎治疗后小鼠体内组胺含量有所减少。

组胺所致血管通透性实验结果显示,模型组的OD值明显高于空白组,说明模型组小鼠血管通透性增高,腹腔内渗出的伊文思蓝染料量明显增加。与模型组相比,加味过敏煎各剂量组的OD值降低,提示对组胺所致的小鼠毛细血管通透性增高具有明显的抑制作用。

综合以上情况,推测加味过敏煎可能是通过减少小鼠体内组胺含量,降低血管通透性,发挥抗过敏作用,改善荨麻疹皮肤瘙痒症状。当前,我们只是初步研究了加味过敏煎的抗过敏药效,并未对其作用机制做深入探讨,下一步我们将就加味过敏煎对组胺的生成、释放过程进行研究,以明确加味过敏煎治疗荨麻疹的作用靶点和机制。

参考文献

- [1] RADONJIC-HOESLI S, HOFMEIER K S, Micaletto S, et al. Urticaria and angioedema: an update on classification and pathogenesis [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2018, 54(1): 88-101.
- [2] 袁睿. 慢性荨麻疹的发病机制及治疗进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(32): 40-41.
- [3] 宋晓娟, 白彦萍. 白彦萍教授从风论治荨麻疹经验谈 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(5): 626-627.
- [4] 戴明, 贾春华. “瘾疹”病因病机与治法的隐喻分析 [J]. 中医杂志, 2018, 59(23): 1989-1992.
- [5] 李墨灵, 张哈, 夏庆梅. 桂枝汤加减在损容性疾病治疗中的应用 [J]. 西部中医药, 2017, 30(10): 131-133.
- [6] 覃骊兰, 蓝毓莹, 马淑然. 过敏煎的现代研究进展 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(11): 2394-2397.
- [7] 陶甜甜, 张云璧, 李建红, 等. 过敏煎实验与临床应用研究综述 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(1): 242-244.
- [8] 郭静. 当归饮子加减方对慢性荨麻疹抗过敏作用及机理研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [9] 何飞, 李冬梅, 苏启表, 等. 拟黑多刺蚁活性组分治疗小鼠皮肤瘙痒的实验研究 [J]. 中药材, 2018, 41(5): 1200-1203.
- [10] 武志强, 何敏, 阙昌田, 等. 桂枝不同萃取部位抗过敏作用的研究 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 74-77.
- [11] 赵夏, 马晓晨. 白鲜皮提取物抗过敏反应研究 [J]. 中医学报, 2019, 34(3): 568-571.
- [12] THANGAM E B, JEMIMA E A, SINGH H, et al. The role of histamine and histamine receptors in mast cell-mediated allergy and inflammation: the hunt for new therapeutic targets [J]. Allergy, 2018, 73(7): 1393-1414.
- [13] CHURCH M K, KOLKHIR P, METZ M, et al. The role and relevance of mast cells in urticaria [J]. Immuno Rev, 2018, 282(1): 232-247.
- [14] 陈玉迪, 耿鹏, 涂平, 等. 抗组胺药物在变态反应性疾病中的应用 [J]. 临床药物治疗杂志, 2019, 17(1): 23-26.
- [15] 中华医学会皮肤性病学分会荨麻疹研究中心. 中国荨麻疹诊疗指南(2018版) [J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(1): 1-5.
- [16] 郭晓明, 王志杰, 刘子琦, 等. 过敏煎联合咪唑斯汀对亚急性湿疹模型小鼠的影响 [J]. 西部中医药, 2019, 32(3): 5-8.
- [17] 董凤龙, 梁娟, 郭玉成. 过敏煎对大鼠被动皮肤过敏反应(PCA)的影响 [J]. 承德医学院学报, 2008, 25(1): 98-99.
- [18] 刘岩松, 孙东健, 郭玉成. 过敏煎对DNFB所致皮肤迟发型超敏反应的影响 [J]. 承德医学院学报, 2010, 27(1): 99-100.
- [19] 郭玉成, 赵玉堂, 李秀芬. 过敏煎抗过敏作用的药效学研究 [J]. 承德医学院学报, 2008, 25(4): 387-389.
- [20] 龙声志, 文昌晖, 朱海燕, 等. 加味过敏煎对荨麻疹小鼠皮肤肥大细胞脱颗粒的影响 [J]. 中医杂志, 2019, 60(4): 322-326.

收稿日期: 2021-09-10

*基金项目: 国家自然科学基金(81560755); 广西研究生教育创新计划资助项目(YCSZ20190026); 广西中医药药效研究重点实验室资助项目(19-050-39)。

作者简介: 刘真真(1994—), 女, 硕士研究生。研究方向: 临床中药学。

△通讯作者: 覃骊兰(1980—), 女, 硕士研究生导师, 教授。研究方向: 临床中药学。