

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2021.02.015

固本抗敏方对脾肾阳虚型慢性荨麻疹模型大鼠血清 IgE、IFN- γ 及腹腔液肥大细胞脱颗粒的影响

刘丽娟, 赵瑞芝, 卢传坚✉

广州中医药大学第二附属医院, 广东省广州市番禺区大学城内环西路 55 号, 510006

摘要 目的 探讨固本抗敏方治疗脾肾阳虚型慢性荨麻疹的可能作用机制。方法 36 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、氯雷他定组和固本抗敏方高、低剂量组, 每组 6 只。除正常组外其余各组大鼠采用灌服冰水、冰水游泳、肌肉注射氢化可的松、控制饲料量、腹腔注射含卵白蛋白和氢氧化铝的生理盐水混合液建立脾肾阳虚型慢性荨麻疹大鼠模型。各给药组从实验第 27 天开始灌胃, 固本抗敏方低、高剂量组分别给予固本抗敏方 9.54、19.08 g/(kg·d), 氯雷他定组给予氯雷他定片 0.90 mg/(kg·d), 正常组和模型组按 10 ml/(kg·d) 容积灌服生理盐水, 连续 7 天。检测各组大鼠血清中环磷酸腺苷 (cAMP)、环磷酸鸟苷 (cGMP) 含量, 腹腔液肥大细胞脱颗粒情况, 血清免疫球蛋白 E (IgE)、干扰素 γ (IFN- γ) 含量, 肾脏、脾脏的碱性磷酸酶 (ATP) 活力, 并进行过敏反应评分。结果 与正常组比较, 模型组大鼠血清 IgE、cAMP 含量, cAMP/cGMP 及过敏反应评分显著升高, IFN- γ 、cGMP 含量降低, 腹腔肥大细胞脱颗粒百分率增加, 肾脏和脾脏中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组血清 IgE、cAMP 含量, cAMP/cGMP 及过敏反应评分降低, cGMP 含量升高, 肥大细胞脱颗粒百分率减少, 肾脏和脾脏中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力上升 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 固本抗敏方低、高剂量组在升高 IFN- γ 含量方面优于氯雷他定组 ($P < 0.01$)。结论 固本抗敏方治疗脾肾阳虚型慢性荨麻疹可能通过升高血清 IFN- γ 含量, 降低 IgE 含量, 从而抑制皮肤肥大细胞脱颗粒, 稳定肥大细胞, 同时能提升 ATP 酶活力。

关键词 慢性荨麻疹; 固本抗敏方; 脾肾阳虚型; 肥大细胞; 免疫球蛋白 E; 干扰素 γ ; ATP 酶

慢性荨麻疹是临床上常见的过敏性皮肤病, 因其病情的反复迁移严重影响着患者生活质量。抗组胺药物是目前唯一被批准用于慢性荨麻疹治疗的药物, 但仅 45% ~ 60% 慢性荨麻疹患者敏感^[1]。其属中医学“隐疹”“瘾疹”范畴, 特点是反复发作的风团瘙痒, 风团可以自行消退, 不留痕迹。我们认为, 慢性荨麻疹成因是邪气流连于肌表, 正气不足以驱邪外出致使水湿留滞于皮肤毛窍而发为“风团”, 而此类患者素体脾肾亏虚, 阳气升发无力, 应从脾肾角度论治, 以固肾健脾治本、祛风化湿治标^[2], 故创立了“固本抗敏方”。此方应用于临床多年, 其疗效显著, 复发率低, 无不良反

应^[3], 但作用机制尚不明确。因此, 本研究旨在建立脾肾阳虚型慢性荨麻疹大鼠模型, 观察固本抗敏方对其治疗作用, 并探讨可能作用机制, 为其临床应用和进一步开发提供依据。本研究经广东省中医院实验动物伦理委员会批准 (2017023)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 36 只, 6 ~ 8 周龄, 雌雄各半, 体重 200 ~ 250 g, 购自广东省医学实验动物中心, 实验动物合格证号: 44002100020427, 实验动物使用许可证号: SYXK (粤) 2013-0013。

1.2 实验药物

固本抗敏方由干姜、黄芪、防风、白鲜皮按 2 : 6 : 1 : 1 组成, 饮片均购于广东省中医院药房。将药物放入圆底烧瓶加 10 倍量水浸泡 30 min, 回流提取, 以武火煮沸, 后文火微沸 1 h, 趁热将

基金项目: 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程 (岐黄工程 [国中医药办人教函(2019) 62 号]; 广东省省级科技计划项目 (2017B030314166); 广东省中医药局科研项目 (20203005)

✉ 通讯作者: luchuanjian888@gzhtcm.edu.cn, (020) 81887233 转 31223

药液滤出, 剩余药渣以同法煎煮后滤出药液, 合并两次药液并浓缩至 0.954 g/ml, 备用。氯雷他定片, 批号: LJS08307, 拜耳医药(上海)有限公司, 使用时加纯水配制成 0.090 mg/ml, 置 4℃ 冰箱中冷藏备用。

1.3 主要试剂及仪器

氢化可的松(天津生物化学制药有限公司, 批号: 011812013); 卵白蛋白(Sigma-aldrich 公司, 批号: SLBQ9036V); 氢氧化铝(天津福晨化学试剂厂, 批号: 20180502); 中性红乙醇染色液(上海源叶生物科技有限公司, 批号: L31J10G94294); 环磷酸腺苷(cAMP, 批号: 20190624)、环磷酸鸟苷(cGMP, 批号: 20190626)、超微量碱性磷酸酶(ATP)酶测试盒(批号: 20190621), 南京建成生物工程研究所; 大鼠免疫球蛋白 E(IgE) ELISA 试剂盒(批号: J08018982)、大鼠干扰素 γ (IFN- γ) Elisa 试剂盒(批号: G21018983), 武汉华美生物工程有限公司; Pierce™ BCA Protein Assay 试剂盒(Thermo 公司, 批号: TJ268882); 台氏液(Leagene 公司, 批号: 0719A19)。

BSA224S 型电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司); BX53 型电子显微镜(日本 Olympus 公司); 5430R 型低温离心机(美国 Eppendorf 公司); M1000pro 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司)。

1.4 动物分组、造模及干预方法

36 只 SD 大鼠按体重采用随机数字表法分为正常组 6 只、造模组 30 只, 雌雄各半。造模组综合文献[4-6]方法制备脾肾阳虚证模型: 每日上午按 1 ml/100 g 的剂量灌服冰水及冰水游泳 10 min, 下午按 12.5 mg/kg 剂量于左、右臀部隔日交替肌肉注射氢化可的松, 附加控制饲料量 50 g/(kg·d), 连续 21 天。第 22 天, 将造模成功大鼠根据体重随机数字表法分为模型组、氯雷他定组和固本抗敏方高、低剂量组, 每组 6 只。各组大鼠腹腔注射含 1 mg 卵白蛋白和 10 mg 氢氧化铝生理盐水混合液 1 ml 进行免疫, 于第 31 天重复 1 次, 共致敏 2 次[7], 正常组不做处理。各给药组从实验第 27 天开始灌胃, 固本抗敏方低、高剂量组分别给予固本抗敏方 9.54、19.08 g/(kg·d) 灌胃, 其中低剂量为人临床等效剂量; 氯雷他定给予氯雷他定片 0.90 mg/(kg·d) 灌胃, 正常组和模型组按 10 ml/(kg·d) 灌服生理盐水, 连续 7 天, 末次给药 30 min 后处死动物采集标本。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 大鼠一般情况 每天观察大鼠的毛发光泽度、大小便状况、活动状况和精神状态, 测定体重及肛温, ELISA 法测定血清中 cAMP 和 cGMP 含量; 末次给药后对 30 min 内大鼠瘙痒程度、抓痕面积、红肿、红斑面积进行评分[8], 按症状分为无、轻度、中度、重度 4 级, 分别计 0、1、2、3 分, 每个症状累计相加得总评分。

1.5.2 血清 IgE 和 IFN- γ 浓度 大鼠眼眶采血, 制备血清。按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 用酶标仪检测血清 IgE 和 IFN- γ 的吸光度, 根据标准曲线方程计算血清 IgE、IFN- γ 浓度。

1.5.3 腹腔液肥大细胞脱颗粒检测 收集腹腔液, 于 4℃、1000 g 离心 10 min, 弃上清得肥大细胞沉淀物, 台氏液混悬, 中性红染色, 取 1 滴染色肥大细胞悬液于载玻片上, 光学显微镜下计数 100 个肥大细胞, 并记录脱颗粒的肥大细胞数目, 最后计算脱颗粒百分率和抑制率。肥大细胞脱颗粒率(%) = 脱颗粒细胞数/肥大细胞总数 $\times$ 100%; 肥大细胞脱颗粒抑制率(%) = (1 - 给药组的脱颗粒率/模型组的脱颗粒率) $\times$ 100%。正常肥大细胞圆形, 边缘光滑, 核不着色, 细胞内有均匀分布的石榴红色颗粒; 若肥大细胞变形, 边缘不整齐, 或核着色, 则判断为脱颗粒[9]。

1.5.4 肾脏和脾脏中 ATP 酶活力检测 采集肾脏、脾脏, 生理盐水漂洗, 滤纸擦干, -80℃ 保存待测。取 0.1 g 肾脏或脾脏, 加入预冷 10 倍量的生理盐水, 匀浆, 12000 g、4℃ 离心 10 min, 取上清液, 严格按照各试剂盒说明书用酶标仪分别测定大鼠肾脏和脾脏中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力, 用 BCA 法测定。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件, 计量数据符合正态分布以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较若方差齐性选择 LSD, 方差不齐则使用 Dunnett's T^3 , $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

正常组大鼠毛色光亮, 行动敏捷, 大小便正常。模型组大鼠毛发枯槁无光泽、疏松易脱落, 蜷缩弓背, 喜扎堆, 少动, 精神萎靡, 腹部潮湿, 便溏、有恶臭, 体重增长缓慢, 肛温显著下降, 当卵清蛋白 2 次致敏后, 大鼠出现抓耳挠腮, 抓咬全

身,皮肤有红斑、抓痕,撕咬挤蹭,舔舐足底,搔抓皮损处。固本抗敏方高、低剂量组和氯雷他定组大鼠表现较轻,搔抓现象及皮损均有所改善。图 1 示,与正常组比较,模型组 cAMP 含量、cAMP/cGMP 及过敏反应评分显著升高, cGMP 含量降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较,各给药组 cAMP 含量、cAMP/cGMP 及过敏反应评分显著降低, cGMP 含量升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 3 个药物组各指标组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠血清 IgE 和 IFN- γ 含量比较

表 1 示,与正常组比较,模型组大鼠血清 IgE 含量升高、IFN- γ 含量减少 ($P < 0.05$)。与模型组比较,固本抗敏方高、低剂量组大鼠血清 IgE 含量降低、IFN- γ 含量增加 ($P < 0.01$); 氯雷他定组大鼠血清 IgE 含量减少 ($P < 0.01$), IFN- γ 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与氯雷他定组比较,固本抗敏方高、低剂量组大鼠血清 IFN- γ 含量升高 ($P < 0.01$), IgE 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。固本抗敏方低、高剂量组组间比较, IgE 和

IFN- γ 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠血清 IgE 和 IFN- γ 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IgE/ng · ml ⁻¹	IFN- γ /pg · ml ⁻¹
正常组	6	17.34 ± 8.35	0.49 ± 0.06
模型组	6	30.37 ± 4.87 ^{a)}	0.08 ± 0.03 ^{a)}
固本抗敏方低剂量组	6	10.86 ± 1.88 ^{b)}	0.37 ± 0.07 ^{b)}
固本抗敏方高剂量组	6	17.85 ± 5.34 ^{b)}	0.40 ± 0.06 ^{b)}
氯雷他定组	6	13.32 ± 2.45 ^{b)}	0.15 ± 0.06

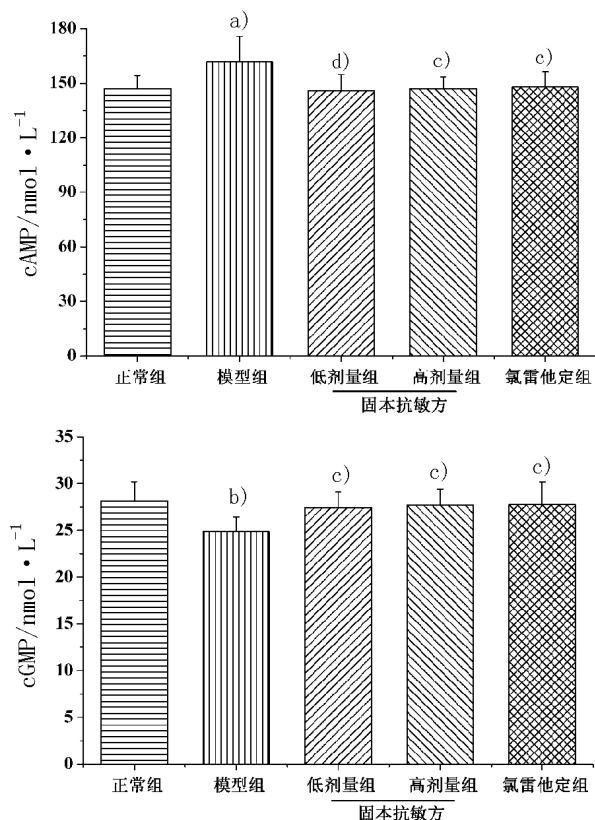
注: IgE, 免疫球蛋白 E; IFN- γ , 干扰素 γ 。

a) 与正常组比较, $P < 0.05$; b) 与模型组比较, $P < 0.01$;

c) 与氯雷他定组比较, $P < 0.01$ 。

2.3 各组大鼠腹腔液肥大细胞脱颗粒百分率及抑制率比较

表 2 示,与正常组比较,模型组大鼠腹腔肥大细胞脱颗粒百分率增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较,固本抗敏方高、低剂量组和氯雷他定组大鼠肥大细胞脱颗粒百分率降低 ($P < 0.01$); 氯雷他定组和固本抗敏方高、低剂量组组间两两比较,肥大细胞脱颗粒百分比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。肥大细胞颗粒抑制率固本抗敏方高剂量组 > 氯雷他定组 > 固本抗敏方低剂量组。



注: cAMP, 环磷酸腺苷; cGMP, 环磷酸鸟苷。

a) 与正常组比较, $P < 0.05$; b) 与正常组比较, $P < 0.01$; c) 与模型组比较, $P < 0.05$; d) 与模型组比较, $P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠血清中 cAMP、cGMP 含量, cAMP/cGMP 及过敏反应评分比较 ($n = 6$)

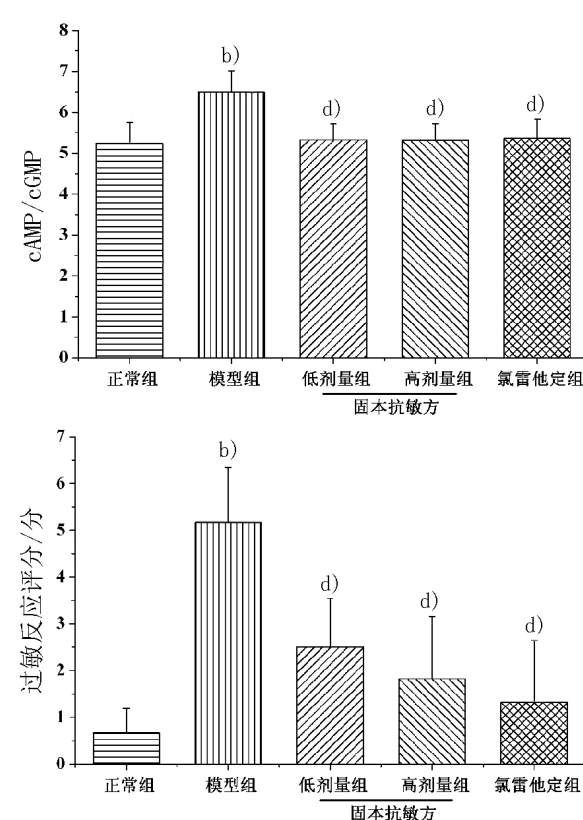


表 2 各组大鼠肥大细胞脱颗粒百分率及抑制率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	肥大细胞脱颗粒百分率	肥大细胞脱颗粒抑制率
正常组	6	29.00 $\pm$ 7.11	—
模型组	6	62.33 $\pm$ 5.72 ^{a)}	—
固本抗敏方低剂量组	6	40.50 $\pm$ 6.25 ^{b)}	35.03
固本抗敏方高剂量组	6	35.67 $\pm$ 6.41 ^{b)}	42.78
氯雷他定组	6	38.33 $\pm$ 5.65 ^{b)}	38.50

注: a) 与正常组比较, $P < 0.01$; b) 与模型组比较, $P < 0.01$; — 无此数据。

2.4 各组大鼠肾脏和脾脏中 ATP 酶活力比较

表 3、表 4 示, 与正常组比较, 模型组大鼠肾脏和脾脏中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 固本抗敏方高、低剂量组和氯雷他定组大鼠肾脏和脾脏 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力显著升高 ($P < 0.01$)。而固本抗敏方高、低剂量组和氯雷他定组组间两两比较, 大鼠肾脏和脾脏 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠肾脏中 ATP 酶活力比较 (U/mgprot , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶	总 ATP 酶
正常组	6	0.58 $\pm$ 0.04	0.59 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.05
模型组	6	0.28 $\pm$ 0.03 ^{a)}	0.24 $\pm$ 0.05 ^{a)}	0.22 $\pm$ 0.04 ^{a)}
固本抗敏方低剂量组	6	0.50 $\pm$ 0.05 ^{b)}	0.45 $\pm$ 0.04 ^{b)}	0.39 $\pm$ 0.03 ^{b)}
固本抗敏方高剂量组	6	0.66 $\pm$ 0.09 ^{b)}	0.48 $\pm$ 0.04 ^{b)}	0.37 $\pm$ 0.02 ^{b)}
氯雷他定组	6	0.60 $\pm$ 0.07 ^{b)}	0.53 $\pm$ 0.07 ^{b)}	0.46 $\pm$ 0.07 ^{b)}

注: a) 与正常组比较, $P < 0.01$; b) 与模型组比较, $P < 0.01$ 。

表 4 各组大鼠脾脏中 ATP 酶活力比较 (U/mgprot , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶	总 ATP 酶
正常组	6	1.63 $\pm$ 0.14	1.64 $\pm$ 0.10	1.39 $\pm$ 0.09
模型组	6	1.20 $\pm$ 0.05 ^{a)}	1.26 $\pm$ 0.06 ^{a)}	0.86 $\pm$ 0.06 ^{a)}
固本抗敏方低剂量组	6	1.83 $\pm$ 0.06 ^{b)}	1.95 $\pm$ 0.11 ^{b)}	1.48 $\pm$ 0.14 ^{b)}
固本抗敏方高剂量组	6	1.83 $\pm$ 0.18 ^{b)}	1.74 $\pm$ 0.11 ^{b)}	1.60 $\pm$ 0.22 ^{b)}
氯雷他定组	6	1.85 $\pm$ 0.11 ^{b)}	1.72 $\pm$ 0.12 ^{b)}	1.39 $\pm$ 0.08 ^{b)}

注: a) 与正常组比较, $P < 0.01$; b) 与模型组比较, $P < 0.01$ 。

3 讨论

慢性荨麻疹病因复杂, 容易复发, 以中医为主导的治疗具有优势^[9]。我们认为, 慢性荨麻疹患者素体虚寒, 故固本抗敏方中干姜温中助阳散寒, 燥湿利水消肿为君药; 黄芪、白鲜皮为臣药, 黄芪可助干姜充盈肌表阳气, 解决阳气生化不足、白鲜皮善于清热解毒, 除湿止痒, 解决慢性荨麻疹瘙痒明显之症, 又可缓解风团发作时郁而不散所生之标

热; 防风为使药, 祛风解表胜湿, 善于走表, 能引诸药于肌表。四药合用, 寒热结合, 标本兼顾。

本研究采用冰水游泳, 风寒之邪经皮毛而入, 致肺阳虚; 控制食量致气虚; 灌服冰水则内伤脾胃, 致脾阳不振; 注射氢化可的松致肾阳虚, 可成功复制脾肾阳虚型大鼠模型。再通过腹腔注射卵清白蛋白和氢氧化铝的混悬液, 诱导脾肾阳虚型慢性荨麻疹的病证结合动物模型。结果显示, 模型组大鼠过敏反应评分较正常组显著升高, 同时腹腔液肥大细胞脱颗粒百分率、血清中 IgE 水平亦升高, 提示脾肾阳虚型慢性荨麻疹模型建立成功。本文在此动物模型上以慢性荨麻疹诊疗指南^[10]推荐的一线药物氯雷他定为阳性对照进行实验, 结果发现固本抗敏方高、低剂量组均可改善过敏反应评分, 且与氯雷他定组比较无显著差异, 提示固本抗敏方抗过敏效果显著, 具有良好的应用前景。另外, 固本抗敏方临床等效剂量与 2 倍剂量药效无显著差异, 表明临床给药按常规剂量服用即可。

目前, 慢性荨麻疹的发病机制仍不完全明确, 但主要认为是 IgE 介导的 I 型超敏反应, 该反应可激活肥大细胞, 促使其脱颗粒, 释放组胺、白三烯、5-羟色胺、前列腺素以及其他许多引起微血管扩张的介质, 增加血管通透性, 引起组织肿胀, 诱导慢性荨麻疹发生^[11-13]。因此, 抑制肥大细胞脱颗粒和炎症介质的释放等对慢性荨麻疹的治疗具有积极的意义。本研究结果表明, 固本抗敏方可显著降低血清 IgE 含量, 升高 IFN- γ 含量, 抑制自身过敏反应的发生, 从而减少肥大细胞脱颗粒, 从而减轻慢性荨麻疹大鼠的过敏症状, 而氯雷他定未升高血清 IFN- γ 含量, 提示 IFN- γ 可能是该方防复发的作用靶点。

脾肾阳虚为临床常见证候, 多见畏冷肢凉, 精神不振、乏力, 不思饮食, 喜静萎靡等症状, 与现代医学中因基础代谢率低和能量代谢水平低下导致的机体供能不足表现类似, 而 ATP 酶是能量代谢的关键蛋白酶^[14-15]。当 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性下降, 大量的 Na^+ 进入细胞膜内, 由于渗透压的关系, 必然致大量水分进入细胞膜内, 引起细胞的肿胀, 进而破坏细胞, 使得主动转运能量供给不足, 体内代谢转运受阻^[16]。当 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性被抑制, Ca^{2+} 内流增加引起细胞内钙负荷超载, 致线粒体功能受损, 线粒体功能下降, 能量合成障碍, 物质代谢及转运受阻^[17]。同样, 当总 ATP 酶活性降低, ATP 水解作用受限, 致主动转运能量供应不足, 外

排型转运蛋白功能受阻, 异源性物质进入机体, 致机体受损^[8]。本研究结果显示, 模型组大鼠肾脏和脾脏中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶和总 ATP 酶活力显著下降, 与文献报道体虚动物 ATP 酶活性下降^[9]相符。当给予固本抗敏方后, 大鼠脾脏、肾脏各 ATP 酶活力显著升高, 提示该方能增加脾肾阳虚型慢性荨麻疹大鼠脾脏和肾脏组织中 ATP 生成, 提高物质跨膜转运能量, 改善脾肾阳虚症状, 从而达到固肾健脾的作用。

综上所述, 固本抗敏方可能通过升高血清 IFN- γ 含量, 降低 IgE 含量, 从而抑制皮肤肥大细胞脱颗粒, 稳定肥大细胞, 同时能提升 ATP 酶活力, 达到治疗脾肾阳虚型慢性荨麻疹的目的。

参考文献

- [1] 张倩雯, 梁碧华, 李润祥, 等. 慢性自发性荨麻疹发病机制及其治疗的研究进展 [J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2015, 22(4): 332-335.
- [2] 卢传坚, 郭洁. 基于发病特点探讨慢性荨麻疹的治疗法则 [J]. 中医杂志, 2017, 58(15): 1296-1298.
- [3] 沈萃萃. 固本抗敏方治疗慢性自发性荨麻疹的临床疗效观察及机制初探 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [4] 刘爱民, 张琳琳, 张步鑫. 基于肥大细胞活化探讨温阳固卫方治疗慢性荨麻疹的机制 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2017, 31(8): 902-904.
- [5] 赵亚, 滕培颖, 朱惠华, 等. 脾肾阳虚大鼠脾中 I 相和 II 相药物代谢酶活性变化的研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(2): 218-221.
- [6] 潘新, 胡昌江, 耿媛媛, 等. 脾肾阳虚泄泻大鼠模型造模方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(23): 4658-4663.
- [7] 李忻红, 王惠国, 关洪全. 消敏颗粒治疗慢性荨麻疹作用机制的实验研究 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2007, 6(3): 141-143.
- [8] 张美恒, 曾进浩, 徐风, 等. 基于 IL-23/IL-17 炎症轴探讨玉屏风颗粒治疗 CU 大鼠的效应机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(9): 36-42.
- [9] 裴悦, 平瑞月, 杨贤平, 等. 国医大师禤国维运用过敏煎治疗荨麻疹经验 [J]. 四川中医, 2019, 37(4): 7-8.
- [10] 刘丽娟, 李邻峰. 中外荨麻疹诊疗指南比较分析 [J]. 皮肤科学通报, 2019, 36(6): 642-646.
- [11] KOLKHIR P, CHURCH MK, ALTRICHTER S, et al. Eosinopenia, in chronic spontaneous urticaria, is associated with high disease activity, autoimmunity, and poor response to treatment [J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2020, 8(1): 318-325.
- [12] OLES-KRYKOWSKA A, BADURA-BRZOZA K, BRZOZA Z. Does angioedema influence the quality of life in patients with chronic spontaneous urticaria? [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2019, 122(5): 539-541.
- [13] CHE D, HOU Y, ZENG Y, et al. Dehydroandrographolide inhibits IgE-mediated anaphylactic reactions via calcium signaling pathway [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 366: 46-53. doi: 10.1016/j.taap.2019.01.019.
- [14] WANG S, CHI Q, HU X, et al. Hydrogen sulfide-induced oxidative stress leads to excessive mitochondrial fission to activate apoptosis in broiler myocardia [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 183: 109578. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109578.
- [15] ZHOU B, LI T, YANG M, et al. Characterization of the hot and cold medicinal properties of traditional Chinese herbs by spontaneous photon emission ratio of mice [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 243: 112108. doi: 10.1016/j.jep.2019.112108.
- [16] 樊凯芳, 唐迎雪, 曹淑霞. 三化汤对脑缺血-再灌注老龄大鼠胃肠组织 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性及 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性的影响 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1367-1368.
- [17] 谢航, 朱明军, 李彬, 等. 中医药改善心肌线粒体能量代谢的研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(2): 174-176.
- [18] DEWANJEE S, DUA TK, BHATTACHARJEE N, et al. Natural products as alternative choices for P-glycoprotein (P-gp) inhibition [J]. Molecules, 2017, 22(6): 871.
- [19] 周灿平, 王伽伯, 张学儒, 等. 基于动物温度趋向行为学评价的黄连及其炮制品寒热药性差异研究 [J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2009, 39(7): 669-676.

Effect of *Guben Kangmin Recipe* (固本抗敏方) on Serum IgE, IFN- γ , and Mast Cell Degranulation in Peritoneal Fluid of Chronic Urticaria Rats Models with Spleen-Kidney Yang Deficiency

LIU Lijuan, ZHAO Ruizhi, LU Chuanjian

The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, 510006

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Guben Kangmin Recipe* (固本抗敏方) in treating chronic urticaria with spleen-kidney yang deficiency. **Methods** Thirty-six SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, a loratadine group, a *Guben Kangmin Recipe* high dose group and a low dose group,

with six rats in each group. The spleen-kidney yang deficiency model was constructed in rats of all groups except for normal group, through ice-water irrigation, ice-water swimming, intramuscular injection of hydrocortisone, control of amount per feeding, and intraperitoneal injection of saline solution containing ovalbumin and aluminum hydroxide. Intra-gastric administration of drugs started from day 27 and continued for seven days; the daily dosage of *Guben Kangmin Recipe* in low and high dose group was 9.54 g/ (kg · d) and 19.08 g/ (kg · d) respectively; the dosage of loratadine tablets was 0.90 mg/ (kg · d); the dosage of normal saline by gavage was 10 ml/ (kg · d) in normal group and model group. The serum cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate (cGMP), mast cell degranulation in the peritoneal fluid, expression of serum immunoglobulin E (IgE) and interferon γ (IFN- γ), kidney and spleen alkaline phosphatase (ATP) activity, and allergic reaction score were detected. **Results**

Compared to normal group, the model group significantly increased the serum IgE level, the expression of cAMP and cAMP/cGMP, and the allergic reaction score; decreased the IFN- γ level and the expression of cGMP; increased the percentage of peritoneal mast cells degranulation; and downgraded the expression levels of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ and T-ATPase in the kidney and spleen ($P < 0.05$; $P < 0.01$). Compared to model group, there were significantly lower serum IgE level, expression level of cAMP and cAMP/cGMP, allergic reaction score, and percentage of peritoneal mast cells degranulation, as well as higher expression of cGMP, and expression levels of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ and T-ATPase in the kidney and spleen ($P < 0.05$; $P < 0.01$). The result in IFN- γ level favored high and low dose of *Guben Kangmin Recipe* high than loratadine ($P < 0.01$). **Conclusion** In the treatment of chronic urticaria with spleen-kidney yang deficiency, *Guben Kangmin Recipe* may increase serum IFN- γ level and reduce IgE level, thereby inhibiting skin mast cell degranulation, stabilizing mast cells, and increasing ATPase activity.

Keywords chronic urticaria; *Guben Kangmin Recipe* (固本抗敏方); spleen-kidney yang deficiency; mast cells; immunoglobulin E; interferon γ ; ATPase

(收稿日期: 2020-01-19; 修回日期: 2020-04-23)

编辑: 邓 媛