

消风散颗粒抗过敏作用及其机制研究

郑咏秋, 戴敏, 陈光亮, 芮正祥, 魏伟

(安徽中医学院, 安徽合肥 230032)

摘要: 为了观察消风散颗粒抗过敏作用和作用特点, 并探讨其机制, 分别观察了消风散颗粒对小鼠迟发型变态反应(DTH)胸腺、脾脏, 豚鼠过敏性皮炎皮损组织病理学变化, 血浆中白细胞介素2(IL-2)含量以及小鼠全身性瘙痒的影响。结果表明消风散颗粒可抑制DTH小鼠耳肿及脾指数、胸腺指数增高; 对豚鼠过敏性皮炎皮损组织有明显治疗作用, 并降低异常增高的血清IL-2活性; 可抑制右旋糖酐诱导的小鼠全身性皮肤瘙痒。

关键词: 消风散颗粒; 抗过敏作用; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)06-0026-03

Study of the Anti-allergy and Mechanism Tey Xiao Fengsan Granules

ZHENG Yong-qiu, DAI Min, CHEN Guang-liang, RUI Zheng-xiang, WEI Wei

(An Hui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei, 230032, China)

Abstract: To investigate the effects and mechanisms of Xiao Fengsan Granules (XFG) on allergic diseases, mice delayed-type hypersensitivity(DTH), mice dextran induced systemic pruritus, and guinea pig allergic dermatitis caused by DNFB were used. Meanwhile, the indexes of thymus and spleen in DTH mice and IL-2 activity in serum of allergic guinea pig were determined. We also observed the pathological changes in allergic dermatitis. Results indicated XFG could inhibit the mice DTH ear edema and the increase of the thymus and spleen indexes of DTH mice. In allergic dermatitis guinea pig, XFG could inhibit the dermal pathological changes and decreased the content of serum IL-2. XFG also could inhibit dextran induced systemic pruritus in mice.

Key words: Xiao Fengsan Granules; antiallergy; mechanism

消风散颗粒源于《外科正宗》所载经方消风散, 由当归、防风、苍术等多味中药组成, 具有疏风养血、清热除湿的功效, 临床主治风疹、湿疹。结合现代医学之抑菌、抗炎、抗过敏治疗湿疹的指导思想, 本文在已有实验证实该药抗炎作用的基础上, 进一步观察消风散颗粒对各种过敏性动物模型包括特异型炎症及皮肤瘙痒的治疗作用, 明确治疗特点, 探讨其抗变态反应的机理。

1 材料

1.1 药物 消风散原处方为每剂当归、生地、防风、蝉蜕、知母、苦参、荆芥、苍术、牛蒡子、胡麻、石膏各一钱(3g), 甘草、木通各五分(1.5g)。

取以上各味药材按原方配比粉碎成40目粉, 以正交设计法确定其最佳提取工艺为用50%乙醇回流提取2次, 每次2h, 第1次以50%乙醇5倍量提取, 第2次以50%乙醇4倍量提取, 合并两次提取

液, 加3%β-环糊精, 回流加热两小时, 减压回收乙醇, 浓缩成稠膏状, 50℃真空干燥成干浸膏, 粉碎成细粉, 加适量淀粉混合, 用乙醇适量制成颗粒, 干燥, 产物为棕色颗粒状, 气香, 味稍苦, 每克相当于生药2.625g。临床日服生药量31.5g, 即颗粒量12g。实验前, 颗粒以蒸馏水配成所需浓度, 剂量以颗粒量计算。

湿毒清胶囊, 广西玉林制药厂出品, 批号000107, 每粒胶囊含药粉0.5g, 具有养血润燥、化湿解毒、祛风止痒功能, 用于皮肤瘙痒症属湿蕴皮肤证者。临床服用, 每日3次, 每次1.5~2g。试验剂量以胶囊内含药粉剂量计算。

1.2 试剂 白细胞介素-2放免试剂盒(IL-2 RIA Kit), 购自解放军总医院科技开发中心放免所。2,4-二硝基氟苯(DNFB), 上海金山县兴塔化工厂产品。右旋糖酐, (mv=20,000), 安徽朝阳制药厂产品。

1.3 动物 昆明种小鼠, 豚鼠, 雌雄兼用, 体重494

±41.5g。均购自安徽医科大学实验动物中心。

1.4 仪器 GC-911 型 γ 放射免疫计数器(中国科学技术大学科技实业总公司)。FJ-2115 型液体闪烁计数器(国营二六二厂)。LDR4-8.4 低速冷冻离心机(北京医用离心机厂)。

2 方法与结果

2.1 消风散颗粒对二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响^[1] 小鼠 40 只,随机分为 5 组:消风散颗粒高剂量组($4.8g \cdot Kg^{-1}$)、中剂量组($2.4g \cdot Kg^{-1}$)、低剂量组($1.2g \cdot Kg^{-1}$)、湿毒清组($1g \cdot Kg^{-1}$)、模型对照组,每组 8 只。每日灌胃一次,模

型对照组给予等量蒸馏水。5 天后, DNFB 以丙酮和中性麻油(1:1)调配成相应浓度溶液备用,将每鼠腹部去毛,去毛范围约为 $3 \times 3cm^2$ 大小,并将 1% DNFB25 μ l 均匀涂于去毛部位致敏,次日同法强化一次。继续给药 4 天后,再以 0.2% DNFB 溶液 10 μ l 均涂于右耳。涂耳后 12h 给药一次。DNFB 涂耳 24h 后全部小鼠脱颈椎处死,以直径 8mm 打孔器摘取左右耳片称重,以左右耳片重量之差表示 DTH 反应强度,同时取脾脏及胸腺称重,以每 10g 体重之脾重和胸腺重表示脾指数和胸腺指数。结果见表 1。

表 1 消风散颗粒对 DTH 小鼠免疫功能的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	耳肿胀度(mg)	脾指数($mg \cdot 10g^{-1}$)	胸腺指数($mg \cdot 10g^{-1}$)
模型对照组	—	4.3 ± 0.98	49.5 ± 8.31	23.46 ± 3.49
湿毒清组	1.0	1.61 ± 0.97*	37.56 ± 4.82**	21.46 ± 2.54
消风散颗粒	4.8	1.55 ± 0.82**	37.37 ± 5.04**	19.03 ± 3.70*
	2.4	2.61 ± 1.00**	37.72 ± 5.87**	20.36 ± 3.78
	1.2	3.25 ± 1.17*	42.68 ± 10.46	21.89 ± 3.32

注:与模型对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 消风散颗粒对致敏激发皮炎豚鼠血清 IL-2 活性的影响及对皮损组织病理的影响^[1]

2.2.1 标本采集 于受试前 24h 将豚鼠背部两侧去毛,去毛区范围每侧约 $3 \times 3cm^2$,受试 d1 于每鼠左侧脱毛区涂以 1% 2,4-二硝基氟苯($0.1ml \cdot kg^{-1}$),d7 及 d14 以同样方法重复一次,末次致敏 14d 后,在豚鼠右侧脱毛区涂以 0.1% 的 2,4-二硝基氟苯($0.1mg \cdot kg^{-1}$),观察 24h 内右侧脱毛区皮损情况。另取 7 只豚鼠作为正常对照组,同样于背部两侧去毛,涂以等量蒸馏水。取右侧脱毛区出现肉眼可见红肿的豚鼠 35 只,同上均分为 5 组,每组 7 只,另设正常对照组。

表 2 消风散颗粒对致敏激发皮炎豚鼠血清 IL-2 活性的影响及对病变皮肤红肿的作用($\bar{x} \pm S, n=7$)

组别	剂量($g \cdot kg^{-1}$)	血清 IL-2 活性(ng/ml)	病变皮肤红斑水肿平均分
正常对照组	—	5.45 ± 0.37	0
模型组	—	8.97 ± 0.57 ^{▲▲}	6.93 ± 0.43 ^{▲▲}
消风散颗粒	2.4	5.52 ± 0.31**	2.28 ± 0.26**
消风散颗粒	1.2	6.47 ± 0.56** ^{△△}	3.11 ± 0.37** ^{△△}
消风散颗粒	0.6	6.94 ± 0.51** ^{△△}	4.43 ± 0.39** ^{△△}
湿毒清组	0.5	5.51 ± 0.38**	1.98 ± 0.44**

注:与正常对照组比较[▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$;与湿毒清组比较[△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ 。

2.2.4 病理组织学检查 皮肤(包括皮下组织)标本用 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色,光镜观察。

2.2.5 消风散颗粒对致敏激发皮炎豚鼠皮损组织

以上各组每日灌胃一次,模型对照组及正常对照组豚鼠给予同体积蒸馏水。连续给药 4d 后,各鼠进行红斑水肿评分;腹主动脉取血,进行血清 IL-2 含量检测;并剪取右侧去毛区皮肤(包括皮下组织)送病理学检查。

2.2.2 红斑水肿评分,参照皮肤过敏反应程度(红斑、水肿)评分标准^[2],结果见表 2。

2.2.3 血清 IL-2 含量测定^[3] 按试剂盒说明书,在 γ 计数器上测各管沉淀放射性计数值(cpm),结果见表 2。

病理观察结果 造模组(即激发皮炎组)表皮可见细胞间水肿及棘层细胞增生,真皮毛细血管扩张及间质水肿,并且有散在淋巴细胞为主的炎细胞浸润,真皮层尚有胶原纤维增生现象。上述病变符合亚急性

过敏性皮炎的形态改变。消风散颗粒三个剂量组及阳性对照组则上述病变减轻,其中消风散高剂量组($2.4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)病变基本消失。

2.3 消风散颗粒对药物所致小鼠全身性皮肤瘙痒的作用^[4] 小鼠 50 只,随机分为 5 组:消风散颗粒高剂量组($4.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中剂量组($2.4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、低剂量组($1.2\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、湿毒清组($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、模型组,每组 10 只。以上各组每日灌胃一次,模型组给予同体积蒸馏水,连续给药 5d,于末次给药 30min 后尾静脉注射右旋糖酐 $1.25\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,以小鼠前爪搔抓头部,后爪搔抓躯干,嘴咬全身各部位作为瘙痒指征,记录 30min 内瘙痒发作的总次数及持续总时间,结果见表 3。

表 3 消风散对于右旋糖酐所致小鼠皮肤瘙痒的影响

组别	剂量 ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	皮肤瘙痒发作情况	
		次数	持续时间(S)
模型组		15.5 ± 4.0	125.1 ± 26.8
消风散颗粒	4.8	$11.3\pm 2.2^*$	$90.9\pm 15.6^{**}$
	2.4	13.6 ± 2.8	101.3 ± 18.7
	1.2	15.3 ± 4.2	119.2 ± 20.4
湿毒清组	1	13.1 ± 3.7	$99.6\pm 12.3^*$

3 讨论

消风散颗粒由当归、防风、苍术等多味中药组成,具有疏风养血、清热除湿的功效,临床用于治疗各型湿疹特别是慢性、泛发性湿疹。湿疹(eczema),西医认为属变态反应性皮肤病,是由多种内外因素引起的浅层真皮及表皮炎^[5]。近年有实验表明,湿疹可能是由血清免疫复合物作为抗原刺激致敏淋巴细胞产生的 IV 型变态反应^[6]。

DTH(迟发型变态反应)在致敏机体接触致敏源后约 24h 以上才出现病变,其组织损伤机制是迟发型超敏反应 T 细胞与抗原结合而活化,释放出多种淋巴因子,导致反应局部组织发生以单核细胞浸润为主的炎症反应。DTH 小鼠胸腺指数和脾指数可以

从不同侧面反映机体免疫功能^[7]。本实验证明消风散颗粒对该免疫性炎症模型有明显抑制作用。

白细胞介素 2 由 T_H 细胞产生,为 T_S 和 T_C (杀伤)细胞分化增殖所必需的调控因子,并对 T_C 细胞杀伤效应有增加作用。本实验表明,消风散颗粒对 DNFB 致敏激发皮炎豚鼠异常增高的血清 IL-2 水平有显著抑制作用($P < 0.01$),提示其抑制免疫的机理可能与降低血清 IL-2 活性有关,同时病理学检验结果提示消风散颗粒对炎症早、中、晚三期均可有效抑制,其抑制作用与剂量密切相关。

外源性右旋糖酐诱导释放内源性组胺致小鼠全身性瘙痒模型结果显示,消风散颗粒在高剂量($4.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)时,亦可有效抑制该模型小鼠全身性瘙痒($P < 0.01$)。综合本实验结果,消风散颗粒具有抑制 DTH 抗过敏及止痒作用,其机理可能与降低血清 IL-2 活性有关,此为该药的临床应用提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第二版. 北京:人民卫生出版社,1991. 713-723.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南(药理学、药理学、毒理学)[M]. 1994, 210-212.
- [3] 吴福国,朱立平,王汛,等. 雷公藤总甙对人 T 淋巴细胞的影响[J]. 济宁医学院学报,1995, 18(4): 11-13.
- [4] 张京焱,韩兆丰,朱丹,等. 麻黄连翘赤小豆汤及其加减方止痒作用的实验研究[J]. 辽宁中医杂志,1996, 23(1): 44-45.
- [5] 赵辩. 临床皮肤病学[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1993. 512.
- [6] 王明轩,李前进,刘景田,等. 34 例湿疹红细胞免疫功能及调节因子的检测[J]. 中国皮肤性病杂志,1996, 10(5): 279-280.
- [7] 沈玉先,魏伟,张安平,等. 富硒酵母对不同状态下的 DTH 的影响[J]. 微量元素与健康研究,1998, 15(4): 7-8.