

桂枝加葛根汤抗 I 型变态反应的研究

赵玉堂*

(河北省承德市承德医学院中医系, 河北 承德 067000)

[摘要] 目的:研究桂枝加葛根汤(GGT)抗皮肤 I 型变态反应的作用机制。方法:建立 I 型超敏反应实验动物模型。将实验小鼠随机分 6 组,即空白对照组、扑尔敏组、强的松组及 GGT 低、中、高剂量组,分别给予 GGT 0.50,1.00,1.50 g·kg⁻¹ 进行动物实验。结果:GGT 3 个剂量组能显著地抑制各个稀释度抗血清引起的大鼠背部皮肤蓝色反应斑的直径($P < 0.01$),其中高、中剂量组疗效与扑尔敏相当。GGT 3 个剂量组可抑制组胺及 5-羟色胺致小鼠毛细血管通透性增加,对组胺所致小鼠足跖肿胀具有抑制作用($P < 0.01$),其中高、中剂量组与扑尔敏组的作用无显著差异。结论:GGT 可能通过对抗过敏炎症介质的途径发挥抗皮肤 I 型超敏反应的作用。

[关键词] 桂枝加葛根汤; I 型变态反应; 动物模型; 抗过敏

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0194-03

Experimental Studies on the Anti-type-I Hypersensitivity of Guizhi Jia Gegen Tang

ZHAO Yu-tang*

(Department of Traditional Chinese Medicine, Chengde Hospital, Chengde 450052, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects and pharmacological mechanism of anti-type-I hypersensitivity of Guizhi Jia Gegen Tang (GGT). **Method:** Mice were randomized into six groups, the control, chlorpheniramine, dehydrocortisone and low, moderate, high dosage of GGT. Using the type-I hypersensitivity animal model, the effects of six groups on the passive cutaneous hypersensitivity and capillary permeability were compared. **Result:** Administration of GGT attenuated significantly the diameter of blue plaque induced by the anti-serum with different dilution ($P < 0.01$), of which both the moderate and high dosage of GGT have similar potency of chlorpheniramine. The increase of capillary permeability induced by 5-hydroxytryptamine or histamine and the voix pedis swell evoked by histamine were counteracted by all the three dosages of GGT ($P < 0.01$) alike chlorpheniramine. **Conclusion:** The antagonism against the mediators of inflammation may contributed to the anti-type-I hypersensitivity of GGT.

[Key words] Guizhi Jia Gegen Tang; type-I hypersensitivity; animal model; antianaphylaxis

桂枝加葛根汤出自汉代张仲景的《伤寒论》,临床常用于过敏性疾病^[1],前期的研究证明其有很好的止痒作用^[2],笔者进一步对桂枝加葛根汤抗 I 型变态反应进行了研究。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,体质量(21±2)g,雌雄各半,由北京维通利华实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2006-0008。

1.2 试剂与药物

1.2.1 试剂 磷酸组胺(上海生物试剂厂,批号 031035);伊文思蓝(上海化学试剂采购供应站,批号 991107);0.9%氯化钠(石家庄四药股份有限公司,批号 040731107);丙酮(天津市凯通化学试剂有限公司,批号 20081023)。

1.2.2 药物 桂枝加葛根汤(GGT)桂枝 45g,白芍 45g,生姜 45g,大枣 12 枚,甘草 30g,葛根 60g。均购自承德医药公司,以仲景法煎煮(诸药加水 2 000 mL,一次煎取 600 mL),浓缩至 50% 浓度。强的松片(仙居制药有限公司,批号 040256),扑尔敏(商丘市哈森药业有限公司,批号 201034781)。

[收稿日期] 2011-11-01

[通讯作者] *赵玉堂,讲师,从事经方实验的研究, Tel: 15076372458, E-mail: zyxzyt1970@yahoo.com.cn

1.3 仪器 721 型分光光度计(上海光学仪器五厂);C4-12 型离心机(北京医用离心机厂)。

2 方法

2.1 分组、给药方法 小鼠随机分为 6 组:正常组(生理盐水组),扑尔敏 $0.004 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组,强的松 $0.005 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;GGT $0.50, 1.00, 1.50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。各组 ig 给药, qd, 连续 7 d。

2.2 组胺致小鼠毛细血管通透性增加造模方法 末次药后 1 h, 每只小鼠尾静脉注射 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 立即于小鼠腹部正中 sc 0.1% 磷酸组胺 $0.1 \text{ mL}/\text{只}$, 形成一小皮丘。30 min 后将小鼠颈椎脱位处死, 剖开腹部, 取腹部蓝染皮肤用手术剪剪碎, 置试管内, 加入 4 mL 丙酮-生理盐水(7:3)混合液, 振摇。浸泡 24 h 后, $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液于 721 型分光光度计 610 nm 处比色, 记录吸光度(A)。

2.3 桂枝加葛根汤对 5-羟色胺致小鼠毛细血管通透性增加的影响 分组、给药及试验方法同 2.1, 以 0.2% 5-羟色胺肌酐硫酸盐代替 0.1% 磷酸组胺。

2.4 对组胺所致小鼠足跖肿胀的影响 分组、给药方法同 2.1, 连续用药 4 d。第 4 天末次药后 1 h, 每只小鼠右后足跖 sc 0.05% 磷酸组胺生理盐水溶液 $10 \mu\text{L}$ 。分别于注射前及后 15, 30, 60, 120 min 测定小鼠右后足跖厚度, 以注射前后的厚度差值表示肿胀度。

2.5 对大鼠被动皮肤过敏反应的影响

2.5.1 抗卵蛋白血清的制备 取 SD 大鼠 5 只, 将 5% 新鲜鸡蛋清生理盐水溶液 0.5 mL 每只皮下于后腿内侧, 同时 ip $5\% \text{ Al}(\text{OH})_3$ 凝胶 0.1 mL , 第 14 天颈动脉采血, 以 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min 分离血清, 把血清混合后保存于冰箱 ($-4 \text{ }^\circ\text{C}$) 备用。

2.5.2 方法 分组、给药方法同 2.1。第 7 天末次药后 1 h 用乙醚浅麻醉大鼠, 在其背中线两侧、距脊柱 1.5 cm 处剪光被毛, 每侧剪 3 点, 每点间隔 1.5 cm 。取上述 IgE 的抗血清, 用生理盐水稀释成 1:30, 1:40, 1:50 3 种不同稀释度, 按不同浓度抗血清次序, 皮内注射于剪毛的各点, 每点 0.1 mL 。第 8 天进行抗原攻击: 尾静脉注射 0.5% 伊文思蓝溶液 1 mL , 内含卵白蛋白 1 mg 。经 20 min 后, 断颈处死大鼠, 剪下背部皮肤, 检查注射各点的蓝色反应斑直径。

2.6 统计方法 采用 SPSS 15.0 统计软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 桂枝加葛根汤对大鼠被动皮肤过敏反应的影响 与对照组相比, GGT 3 个剂量组能显著抑制各个稀释度抗血清引起的大鼠背部皮肤蓝色反应斑的直径 ($P < 0.01$), 其中高、中剂量组疗效与扑尔敏相当。见表 1。

表 1 GGT 对大鼠被动皮肤过敏反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	皮斑直径/mm		
		1:30	1:40	1:50
对照	-	18.5 ± 2.7	14.6 ± 2.3	10.2 ± 1.7
扑尔敏	0.004	$12.6 \pm 2.1^{1)}$	$10.5 \pm 1.9^{1)}$	$8.1 \pm 1.5^{1)}$
强的松	0.005	$7.6 \pm 1.7^{1)}$	$5.1 \pm 1.6^{1)}$	$3.3 \pm 1.2^{1)}$
GGT	0.5	$14.7 \pm 2.4^{1)}$	$13.1 \pm 2.2^{1)}$	$9.1 \pm 1.1^{1)}$
	1.0	$12.3 \pm 2.4^{1)}$	$11.3 \pm 1.8^{1)}$	$8.9 \pm 1.2^{1)}$
	1.5	$11.8 \pm 2.1^{1)}$	$9.7 \pm 2.0^{1)}$	$7.6 \pm 1.1^{1)}$

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 桂枝加葛根汤对组胺致小鼠毛细血管通透性增加的影响 与对照组比, GGT 3 个剂量组均能降低 A 值, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 与扑尔敏组相比, GGT 高、中剂量组降低 A 值疗效相当。见表 2。

表 2 GGT 对组胺致小鼠毛细血管通透性增加的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	A	抑制率/%
对照	-	8.52 ± 0.74	0
扑尔敏	0.004	$4.36 \pm 0.41^{1)}$	48.82
强的松	0.005	$2.97 \pm 0.32^{1)}$	65.14
GGT	0.5	$6.05 \pm 0.53^{1)}$	28.99
	1.0	$4.61 \pm 0.42^{1)}$	45.89
	1.5	$4.19 \pm 0.36^{1)}$	50.82

3.3 对 5-羟色胺致小鼠毛细血管通透性增加的影响 结果见表 3。与对照组比, GGT 3 个剂量组均能降低 A, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 与扑尔敏组相比, GGT 高、中剂量组降低 A 疗效相当。

表 3 GGT 对 5-羟色胺致小鼠毛细血管通透性增加的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	A	抑制率/%
对照	-	5.94 ± 0.52	0
扑尔敏	0.004	$2.95 \pm 0.31^{1)}$	50.33
强的松	0.005	$1.07 \pm 0.12^{1)}$	81.98
GGT	0.5	$4.16 \pm 0.47^{1)}$	29.96
	1.0	$3.17 \pm 0.35^{1)}$	46.63
	1.5	$2.91 \pm 0.24^{1)}$	51.01

3.4 对组胺所致小鼠足跖肿胀的影响 结果见表 4。与对照组相比,GGT 3 个剂量组在各观察时点均能降低组胺所致小鼠足跖肿胀程度,差异有显著性 ($P < 0.01$);GGT 高、中剂量组在各时间降低组胺所致小鼠足跖肿胀程度与扑尔敏组疗效相当。

4 讨论

I 型变态反应是由特异性 IgE 介导的,肥大细

胞、嗜碱粒细胞和嗜酸粒细胞等效应细胞以释放生物活性介质的方式参与发生,组胺和 5-羟色胺作为细胞颗粒内预先储备的介质被释放出来后具有多种生物活性,如使小静脉和毛细血管扩张,通透性增高,促进黏膜、腺体分泌等。组胺作用于靶细胞表面的 H_1, H_2 受体而产生炎症效应,主要表现为扩张小血管,增加微血管通透性,引起皮肤疼痛或痒感^[3-5]。

表 4 GGT 对组胺所致小鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

mm

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	足肿胀度			
		15 min	30 min	60 min	120 min
对照	-	6.45 ± 0.52	5.31 ± 0.46	3.15 ± 0.30	3.34 ± 0.29
扑尔敏	0.004	3.77 ± 0.42 ¹⁾	2.37 ± 0.30 ¹⁾	1.35 ± 0.27 ¹⁾	1.15 ± 0.45 ¹⁾
强的松	0.005	2.63 ± 0.34 ¹⁾	1.30 ± 0.27 ¹⁾	0.31 ± 0.22 ¹⁾	0.25 ± 0.11 ¹⁾
GGT	0.5	5.21 ± 0.45 ¹⁾	3.37 ± 0.35 ¹⁾	2.22 ± 0.21 ¹⁾	2.05 ± 0.22 ¹⁾
	1.0	3.81 ± 0.36 ¹⁾	2.55 ± 0.31 ¹⁾	1.41 ± 0.27 ¹⁾	1.21 ± 0.20 ¹⁾
	1.5	3.45 ± 0.23 ¹⁾	2.31 ± 0.21 ¹⁾	1.22 ± 0.13 ¹⁾	1.12 ± 0.12 ¹⁾

过敏性疾病在中医学里面多辨证为表证,病因多与风邪有关,《内经》“其在表者汗而发之”,故多用发汗的方法治疗。桂枝加葛根汤以辛温之桂枝伍酸寒之白芍能解肌祛风,调和营卫,解除表邪且恢复营卫,生姜助桂枝以解表,大枣助白芍以和营,生姜、大枣合用能补脾胃之气。甘草性温味甘,调和诸药,且与味辛的桂枝配伍辛甘助阳,与味酸的白芍配伍酸甘化阴,故有调和阴阳作用。葛根性凉,味辛甘即能助桂枝以解表,又有生津透疹的作用。故本方有解肌祛风,调和营卫,益阴和阳,透疹的作用。

本实验结果表明,桂枝加葛根汤 3 个剂量能显著地抑制各个稀释度抗血清引起的大鼠背部皮肤蓝色反应斑的直径,高、中剂量与扑尔敏疗效相当。表明桂枝加葛根汤对 I 型变态反应模型具有良好的抗过敏作用。桂枝加葛根汤可抑制组胺及 5-羟色胺致小鼠毛细血管通透性增加,对组胺所致小鼠足跖肿胀具有抑制作用;其高剂量组和中剂量(临床剂量)组疗效与扑尔敏疗效相当,提示桂枝加葛根汤

可通过对抗过敏性炎症介质的途径起到抗皮肤 I 型超敏反应的作用。本研究结果为临床应用桂枝加葛根汤治疗过敏性疾病提供了科学的依据。

[参考文献]

[1] 刘卫中,吕波. 桂枝加葛根汤治疗药物性皮炎 30 例 [J]. 河南中医, 2007, 27(10): 13.

[2] 张笑天,孟凡荣,赵玉堂. 桂枝加葛根汤止痒作用的实验研究 [J]. 承德医学院学报, 2008, 25(4): 445.

[3] 李冀,杨伟鹏,肖洪彬,等. 清热凉血法(犀角地黄汤加味)治疗过敏性紫癜的抗过敏、抗变态反应实验研究 [J]. 中医药学报, 2004, 3(32): 3, 9.

[4] 陈永忠,范淑玲,欧琦. 抗敏汤配合腧穴自血疗法治疗慢性荨麻疹 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 254.

[5] 张云璧,瞿幸,任映,等. 犀角(水牛角)地黄汤对急性皮炎及变态反应性皮炎动物模型作用的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(3): 61.

[责任编辑 聂淑琴]