

细辛挥发油对过敏性鼻炎豚鼠鼻黏膜和组胺影响的初步研究

梁少瑜, 谭晓梅^{*}, 曾永长, 高婕, 王维赋, 胡元利
(南方医科大学中医药学院广东省中药制剂重点实验室, 广州 510515)

[摘要] 目的: 探讨细辛挥发油对过敏性鼻炎(AR)豚鼠行为学指标、鼻黏膜病理形态和血液组胺含量的影响。方法: 将 FMMU 豚鼠 40 只按体重随机分为生理盐水对照组、AR 模型组、辛芩颗粒组、细辛挥发油组, 每组 10 只。采用鸡卵清蛋白全身致敏与局部攻击方法制作 AR 豚鼠模型, 对照组和模型组给予生理盐水, 辛芩颗粒组给予辛芩颗粒 4.65g·kg⁻¹, 细辛挥发油组给予细辛挥发油按生药量计 0.45 g·kg⁻¹, 观察豚鼠行为学指标和鼻黏膜病理形态的变化, 测定血液组胺含量。结果: 细辛挥发油组鼻痒、喷嚏、清涕等行为学指标及鼻黏膜炎症程度均有明显改善, 血液组胺含量明显降低。结论: 细辛挥发油能有效缓解过敏性鼻炎的局部症状, 降低血液组胺含量, 改善鼻黏膜炎症的局部浸润, 达到治疗过敏性鼻炎的目的。

[关键词] 细辛; 挥发油; 过敏性鼻炎; 黏膜; 组胺

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)02-0149-03

Preliminary Study on Effects of Xixin Oil on Blood Histamine and Pathomorphological Change in Nasal Mucosa in Guinea Pigs with Allergic Rhinitis

LIANG Shao-yu, TAN Xiao-mei^{*}, ZENG Yong-chang, GAO Jie, WANG Wei-fu, HU Yuan-li
(School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University,
Guangdong Key Lab of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Xixin oil on blood histamine content and pathomorphological change in nasal mucosa of guinea pigs with allergic rhinitis (AR). **Method:** Forty FMMU guinea pigs were randomly divided into control group, AR model group, Xinqin granule group and Xixin oil group, with 10 cases in each group. Generally sensitized guinea pigs were received repeated local sensitization in nasal cavity with ovalbumin. Guinea pigs in control group and model group were given normal saline, while guinea pigs in Xinqin granule group were given 4.65 g·kg⁻¹ Xinqin granule and 0.45 g·kg⁻¹ volatile oil for Xixin oil group. Pathomorphological changes in nasal mucosa were observed and blood histamine was determined for each group. **Result:** Xixin oil could significantly reduce the amount of nasal secretions, sneezing and the degree of nasal scratching of AR guinea pigs. The degree of nasal mucosal inflammation in Xixin oil group was improved and the content of histamine was decreased obviously. **Conclusion:** Xixin oil can alleviate local symptoms and improve the degree of inflammation after local invasion in nasal mucosal of guinea pigs with AR. The possible mechanism might be related with inhibition of histamine release, which play an important role in the treatment of allergic rhinitis.

[Key words] Xixin; volatile oil; allergic rhinitis; nasal mucosa; histamine

[收稿日期] 20100815(001)

[第一作者] 梁少瑜, 在读博士研究生, 主要从事中药新制剂及中药配伍的研究, E-mail: lsy1199@126.com

[通讯作者] ^{*} 谭晓梅, Tel: 020-61648265, E-mail: txm@fimmu.com

细辛为马兜铃科细辛属植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmdt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 汉城细辛 *A. sieboldii* Miq. var. *seoulcnse* Nakai 或华细辛 *A. sieboldii* Miq. 的根及根茎, 其味辛, 性温, 小毒, 归肺、肾、心经, 功能“散寒祛

风,止痛,温肺化饮,通窍”,主治“风寒表证,头痛,牙痛,风湿痹痛,痰饮咳喘,鼻塞,鼻渊,口疮”^[1]。现代研究表明,细辛挥发油中的甲基丁香酚、优藏茴香酮、细辛醚、榄香素、龙脑等,有抗菌消炎、解热镇痛、催眠镇静、局部麻醉、抗组胺及抗变态反应等作用^[2-4]。本研究选用鸡卵清蛋白建立过敏性鼻炎豚鼠模型,探讨细辛挥发油治疗过敏性鼻炎前后血液组胺及鼻黏膜形态学的变化。

1 材料

1.1 动物 FMMU 豚鼠 40 只,雌雄各半,体重为 180 ~220 g,SPF 级,由南方医科大学实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(粤)2006-0015。

1.2 试药 细辛(广东保健堂连锁大药房有限公司,批号 20091027);辛芩颗粒,吉林省力胜制药有限公司,批号 091017;鸡卵清蛋白,美国 Sigma 公司,批号 55871;邻苯二甲醛,上海化学试剂采购供应五联化工厂,批号 20091015;组胺二磷酸盐,Amresco 公司,批号 A0165;其他试剂均为化学纯。

1.3 仪器 匀浆机(上海科哲生化科技有限公司),LG10-2.4 高速离心机(北京医用离心机厂),电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),电子微量天平(SARTORIUS AG),显微镜(Olympus BX51),SHIMADZU RF-5301 荧光分光光度计,摄像机(Nikon ECLIPSS 80i)。

2 方法

2.1 细辛挥发油的制备与配制 按 2010 年版《中国药典》(一部)附录 XD“挥发油测定法”中甲法,进行蒸馏提取,出油率为 2.2%。将所得油状物与聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温-80)和蒸馏水按一定比例配制成含生药量为 0.2 g·mL⁻¹。

2.2 造模方法^[5] 每只豚鼠以卵清蛋白 0.3 mg 作抗原,氢氧化铝粉末 30 mg 作为佐剂,加生理盐水 1 mL 制成混悬液,ip,隔日 1 次,共 7 次,为基础致敏。再以 2 g·L⁻¹ 卵清蛋白生理盐水溶液滴鼻,每侧 10 μL,连续 7 d。造模成功后,隔日给予卵清蛋白 2 g·L⁻¹ 滴鼻以维持对鼻黏膜的刺激。ig 给药 10 d,给药期隔天观察 1 次鼻部滴卵清蛋白生理盐水后 30 min 内搔鼻鼻痒、鼻涕程度和喷嚏次数。

2.3 症状分级标准^[6] 每次攻击后均观察 30 min,观察项目包括鼻痒、鼻涕程度和喷嚏次数等,记录豚鼠行为学得分,评分标准见表 1,总分超过 5 分为动物模型成功。

表 1 豚鼠 AR 症状分级标准

症状	轻度	中度	重度
鼻痒	轻度抓鼻	频繁抓鼻	抓鼻不止
鼻涕	可见鼻涕少量	涕过中线	涕流满面
喷嚏	1 ~3 次/30 min	4 ~10 次/30 min	10 次以上/30 min
评分	1 分	2 分	3 分

2.4 分组与给药 豚鼠 40 只,按体重随机分成正常对照组、AR 模型组、辛芩颗粒组(阳性对照)、细辛挥发油组,每组 10 只。除空白对照组外,机体敏感,模型成功的豚鼠纳入治疗,分组给药,对照组和模型组给予生理盐水,细辛挥发油组按生药量计为 0.45 g·kg⁻¹,辛芩颗粒组给予辛芩颗粒 4.65 g·kg⁻¹,ig 给药 10 d(细辛按人临床用药剂量 6 g·d⁻¹ 换算、辛芩颗粒按人临床用药剂量 60 g·d⁻¹ 换算)。

2.5 疗效评定标准^[6] 参考 1997 年在海口修订 AR 诊断标准和疗效评定标准,治疗后症状累计积分减少 2 或 3 分为显效,减少 1 分为有效。

2.6 取材 将豚鼠用 20% 乌拉坦 ip 麻醉,仰卧位固定,剪开胸腔,心脏采血,参考向军俭[7]的方法提取全血中的组胺,荧光测定。取整个上颌,剥离皮肤,10% 甲醛固定。

2.7 鼻黏膜组织病理切片 上颌 10% 甲醛固定后,2% 盐酸甲醛脱钙,切取鼻黏膜中段,逐级乙醇脱水,二甲苯透明,浸蜡,石蜡包埋,常规制片,HE 染色,光学显微镜观察。

2.8 统计学处理 实验数据经 SPSS14.0 软件处理,进行 One-Way ANOVA 分析,以 珠±s 表示,P < 0.05 为有统计学差异。

3 结果

3.1 行为学指标 观察豚鼠给药前后行为学积分情况。造模后,除空白对照组外各组豚鼠过敏性鼻炎症状加重(P < 0.05)。药物治疗后给药组症状较模型组有所减轻,与模型组比较差异具有统计学意义(P < 0.05)。结果见表 2。

表 2 各组豚鼠给药前后症状积分比较(珠±s) 分

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	给药前	给药后
正常对照	-	7	2.29 ±0.49	2.43 ±0.54
模型	-	6	5.50 ±0.55 ¹⁾	5.00 ±0.63 ¹⁾
辛芩颗粒	4.65	6	5.33 ±0.52 ¹⁾	2.83 ±0.75 ²⁾
细辛挥发油	0.45	8	5.38 ±0.52 ¹⁾	2.00 ±0.93 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ P < 0.05;与模型组比较²⁾ P < 0.05。

3.2 鼻黏膜组织病理形态学的变化 正常对照组鼻黏膜无炎症反应,模型组可见鼻黏膜水肿、充血,重度炎细胞浸润,黏膜上皮坏死、脱落,细辛挥发油组鼻黏膜有少量炎细胞浸润,黏膜上皮少量脱落,辛芩颗粒组鼻黏膜轻度水肿,轻度炎细胞浸润。各治疗组在鼻黏膜上皮坏死、水肿、充血程度均较模型组轻,炎症细胞浸润方面有明显改善(图1)。

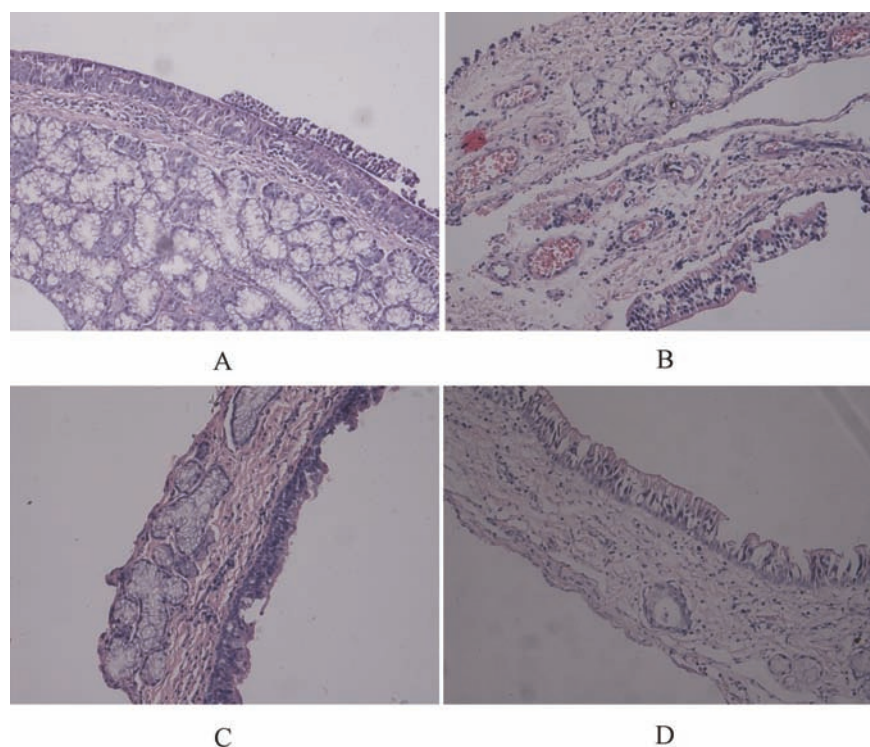


图1 ig 给药10 d豚鼠鼻黏膜组织形态(HE染色, $\times 200$)

A. 正常对照组; B. 模型组; C. 细辛挥发油生药 $0.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;

D. 辛芩颗粒 $4.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

3.3 AR大鼠血浆液组胺含量测定结果 模型组组胺含量(4.90 ± 0.19) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 明显升高,与正常对照组(2.38 ± 0.40) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 比较差异具有显著的统计学意义($P < 0.01$);辛芩颗粒 $4.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、细辛挥发油 $0.45 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组血浆组胺含量分别为(4.28 ± 0.15) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, (3.83 ± 0.39) $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,与模型组相比具有统计学差异($P < 0.05$)。

4 讨论

一般认为细辛有小毒,现代毒理研究表明,细辛挥发油中黄樟醚的毒性较大,具有麻痹动物呼吸中枢的作用,也是致癌物质。为客观评价其毒性,指导临床安全合理用药,作者在进行细辛挥发油抗过敏性鼻炎作用研究之前,对其进行了急性毒性实验研究。由于受受试药物浓度和给药量的限制,在给药剂量高达 $111.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 生药量时仍无法求出 LD_{50} 。结果说明细辛挥发油在临床用药方面是安全的。而一般认为马兜铃科植物中所含的有毒成分马兜铃酸虽有强烈的肝、肾毒性,其并不存在于挥发油中^[8]。

过敏性鼻炎以反复发作性喷嚏、清水样鼻涕、鼻塞、鼻痒为四大主症的类型变态反应疾病。组胺是参与过敏性鼻炎发病机制的一种重要的炎性介质,作用于 H-1 受体引起血管扩张、渗透性增高、腺体分泌增多及神经反射等反应。因此检测过敏性鼻炎豚鼠模型治疗前后血液中组胺含量变化对进一步揭示本病的病理生理学及药物作用机制具有重要价值。

细辛挥发油具有抗炎作用,其机制为抑制炎症介质的释放,显著降低炎症组织及其渗出液中组胺含量,对抗组胺或 PGE 引起的毛细血管通透性增加;抑制白细胞游走;增强肾上腺皮质功能,有促肾上腺皮质激素样作用。细辛挥发油在治疗过敏性鼻炎过程还发挥免疫抑制作用。其作用机制可能与其调节 T 淋巴细胞亚群分布,降低 Th/Ts 细胞比值;降低 T 细胞 ANAE 百分率;抑制 β 内啡肽产生;抑制干扰素产生等有关^[4,9]。

本试验证实细辛挥发油能明显降低过敏性鼻炎豚鼠血液中组胺的含量,改善鼻黏膜炎症的局部浸润。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 634.
- [2] 王龙妹, 傅惠娣, 周志兰. 枸杞子、白术、细辛、苍耳子对白细胞介素-2 受体表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2000, 3(9): 171.
- [3] 谢伟, 陆满文. 毛细辛挥发油的中枢抑制、解热镇痛和抗炎作用[J]. 中国药理学通报, 1993, 9(5): 389.
- [4] 王龙妹, 傅惠娣, 周志兰. 细辛、苍耳子对小鼠干扰素诱生的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 1999, 8: 23.
- [5] 刘建文. 药理实验方法学——新技术与新方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 163.
- [6] 中华医学会耳鼻咽喉科学分会. 变应性鼻炎诊断标准与疗效评定标准[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1998, 33(3): 134.
- [7] 向军俭, 陈华粹. 组胺的荧光测定法的研究[J]. 中国医学科学院学报, 1981, 3(3): 183.
- [8] 杨厚玲, 邱琴, 陈婷婷, 等. 不同方法提取的北细辛挥发油的气质联用成分分析[J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(13): 1031.
- [9] 章育正, 余上才, 赵慧娟, 等. 苍耳子和细辛的免疫抑制作用[J]. 上海免疫学杂志, 1993, 6(13): 334.

[责任编辑 聂淑琴]