

滨蒿内酯治疗变应性鼻炎的实验研究^{*}

熊 瑛¹, 章诗富², 成丽兰², 姜翠菊²

(1. 铜川市人民医院耳鼻喉科, 陕西 铜川 727000; 2. 广东医学院附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 广东 湛江 524023)

[摘要] 目的: 探讨不同剂量滨蒿内酯(Scoparone, Sco)对变应性鼻炎(AR)大鼠模型的治疗效果。方法: 40只雄性SD大鼠, 随机分为正常对照组(NC组)、变应性鼻炎组(AR组)、滨蒿内酯10 ml/kg组(Sco A组)、滨蒿内酯20 ml/kg组(Sco B组)和地塞米松组(Dex组), 以卵清蛋白致敏和激发方法建立大鼠变应性鼻炎动物模型并给予相应治疗, 观察变应性鼻炎大鼠行为学改变, 组织病理学方法观察鼻黏膜改变, 采用ELISA法检测血清IgE水平。结果: ScoA、ScoB组行为学得分明显低于AR组(6.69 ± 0.88), 差异有显著性($P < 0.01$); Dex组和NC组比较差异无显著性($P > 0.05$), ScoA、ScoB组鼻黏膜炎症反应明显轻于AR组; ScoA、ScoB组血清IgE中明显低于AR组, 差异有显著性($P < 0.01$); ScoB组血清IgE水平与Dex组和NC组比较差异无显著性($P > 0.05$), Sco A组血清IgE水平与Sco B、Dex组比较有显著性差异($P < 0.05$)。结论: 滨蒿内酯可抑制大鼠AR的炎症产生, 且高浓度(20 ml/kg)效果更好, 提示滨蒿内酯对AR有治疗作用。

[关键词] 鼻炎, 变应性; 滨蒿内酯; 大鼠, Sprague-Dawley; 免疫球蛋白E

[中图分类号] R765.213 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2011)05-0452-03

An Experimental Study on Scoparone in Treating Allergic Rhinitis

XIONG Ying¹, ZHANG Shifu², CHENG Lilan², JIANG Cuiju²

(1. Department of Ear-Nose-Throat, Tongchuan Hospital, Tongchuan 727000, Shanxi, China; 2. Department of Surgery of Ear-Nose-Throat and Head-Neck, the Affiliated Hospital to Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the therapeutic efficacy of scoparone (Sco) of two different doses on rats with allergic rhinitis (AR). **Methods:** Forty male SD rats were randomly divided into 5 groups: normal control group (group NC), AR group (group AR), 10 ml/kg Sco treated group (group Sco A), 20 ml/kg Sco treated group (group Sco B), dexameth treated group (group Dex). AR model was established by sensitizing SD rats with ovalbumin, and then rats accepted corresponding therapy. Changes of AR rat behaviors were observed. The changes of nasal mucosa were observed with histopathology methods. The levels of serum IgE were determined with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** The behavior scores of rats in group Sco A and group Sco B were significantly lower than those in group AR ($P < 0.01$), and there was no significant difference between groups NC and Dex ($P > 0.05$). Inflammatory reaction in nasal mucosa of rats in groups Sco A and Sco B was lighter than that in group AR. Serum IgE levels of rats in groups ScoA and Sco B were significantly lower than those in group AR ($P < 0.01$) and there was no significant difference among groups Sco B, Dex and NC ($P > 0.05$). However, the serum IgE levels of rats in group Sco A were significantly higher than those in groups Sco B and Dex ($P < 0.05$). **Conclusions:** Scoparone is effective in suppressing inflammatory reaction of rats with AR, and high concentration of it has better effects suggesting that scoparone should have therapeutic effect in treating AR.

[Key words] rhinitis, allergic; scoparone; rats, Sprague-Dawley; immunoglobulin E

^{*}[基金项目]广东省自然科学基金资助课题(031973)。

^{**}通讯作者 E-mail:1289384244@qq.com

变态反应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 简称变应性鼻炎, 它是指特异性个体接触致敏原后由 IgE 介导的介质 (主要是组胺) 释放, 并有多种免疫活性细胞和细胞因子等参与的鼻黏膜慢性炎症反应疾病^[1], 临床尚无有效治疗措施^[2]。滨蒿内酯是从中药茵陈中提取出来的有效成分, 具有抗炎、抗氧化和免疫调节作用。研究证实, 滨蒿内酯对哮喘有一定的治疗作用, AR 是诱发支气管哮喘的危险因素之一, 两种疾病常常相伴随或先后发生, 哮喘患者中 AR 的发病率为 28% ~ 50%^[3], 约 75% 的外源性哮喘患者有季节性或常年性 AR。由于 AR 和支气管哮喘在流行病学、病理生理学和免疫病理学等诸方面的密切联系和治疗原则方面有着共同性, 提示上下呼吸道炎症反应具有高度一致性, 从而提出了“一个气道, 一个疾病” (one airway, one disease) 的概念。2010 年 9 月 ~ 2010 年 10 月通过观察滨蒿内酯对 AR 大鼠模型鼻部症状、鼻黏膜组织形态、血清中 IgE 水平的影响, 探讨其对 AR 的治疗效果。

1 材料与方法

- 1.1 动物和试剂 40 只清洁级 SD 大鼠, 6 ~ 8 周龄, 雄性, 体重 180 ~ 220 g, 购自广东医学院实验动物中心, 于广东医学院附属医院耳鼻喉教研室动物房饲养; 卵清蛋白为 Sigma 公司产品, 大鼠 IgE 检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, 滨蒿内酯购自四川维克奇生物科技有限公司。
- 1.2 动物分组、模型制作及治疗 40 只 SD 大鼠随机分为正常对照组 (NC 组)、变应性鼻炎组 (AR 组)、滨蒿内酯 10 ml/kg 组 (Sco A 组)、滨蒿内酯 20 ml/kg 组 (Sco B 组) 和地塞米松组 (Dex 组)。AR 组、Sco A 组、Sco B 组和 Dex 组用卵清蛋白和氢氧化铝腹腔注射基础致敏 8 次后 (隔天 1 次), 用卵清蛋白滴鼻激发 (每天 1 次) 10 d, Sco A 组、Sco B 组和 Dex 组在激发同时分别应用 168 mg/L 的滨蒿内酯 10 ml/kg、20 ml/kg 和 Dex 1 mg/kg 予以干预, NC 组用氢氧化铝腹腔注射和生理盐水滴鼻。末次激发后 30 min 后, 所有动物用乙醚吸入麻醉, 抽取右心房血, 分离血清, -20 ℃ 保存待测; 并即刻取鼻中隔黏膜, 随机将一部分鼻黏膜放入 10% 的甲醛固定, 另一部分立刻投入液氮中, 保存备用。
- 1.3 行为观察 末次鼻腔激发后, 立刻观察

30 min, 记录大鼠鼻分泌物量、喷嚏及搔鼻次数, 采用叠加量化记分法记分^[4]。鼻痒: 无抓鼻为 0 分, 轻度抓鼻为 1 分, 频繁抓鼻 (1 min 10 ~ 20 次) 为 2 分, 抓鼻不止为 3 分; 喷嚏: 无喷嚏为 0 分, 打喷嚏 1 ~ 3 个为 1 分, 4 ~ 10 个为 2 分, 11 个以上为 3 分; 清涕: 无鼻涕为 0 分, 流至前鼻孔为 1 分, 超出前鼻孔为 2 分, 涕流满面为 3 分; 总分 > 5 分, 表示造模成功。

1.4 病理学观察 甲醛固定后, 鼻中隔黏膜石蜡包埋, 常规切片行苏木精 - 伊红染色, 光镜下观察组织学改变。

1.5 血清 IgE 检测 采用 ELISA 法, 操作按试剂说明书进行, 所有标本均在同一批内检测。

1.6 统计学方法 使用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理, 各组均数的比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 各组间两两比较采用 *q* 检验进行, *P* < 0.05 表示差异有统计学差异。

2 结果

2.1 行为学改变 AR 组搔鼻、喷嚏及流涕等症状较明显, 得分 > 5 分, 表明造模成功; NC 组偶有搔鼻, 无特殊反应; 两个 Sco 作用组及 Dex 作用组过敏症状较轻。AR 组症状评分明显高于 NC 组、两个 Sco 组和 Dex 组 (*P* < 0.01); ScoB 组和 Dex 组比 Sco A 组症状轻 (*P* > 0.05), Sco B 组与 NC 组、Dex 组评分差异不显著 (*P* > 0.05)。各组行为学计分见表 1。

表 1 各组大鼠行为学计分 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Behavior scores of rats in each group

组别	<i>n</i>	症状评分 (分)
NC 组	8	1.45 ± 0.31 ⁽¹⁾
AR 组	8	6.69 ± 0.88
Sco A 组	8	2.34 ± 0.82 ⁽¹⁾
Sco B 组	8	1.93 ± 0.70 ⁽¹⁾
Dex 组	8	2.06 ± 0.55 ⁽¹⁾

注: ⁽¹⁾ 与 AR 组比较, *P* < 0.01。

2.2 组织病理学改变 大鼠鼻黏膜切片 HE 染色显示, AR 组大鼠鼻黏膜水肿、血管扩张、腺体增生, 固有层内可见大量嗜酸性粒细胞浸润; NC 组大鼠鼻黏膜未见明显的炎症反应; Sco A 组、Sco B 组和 Dex 组炎症反应较轻。见图 1。

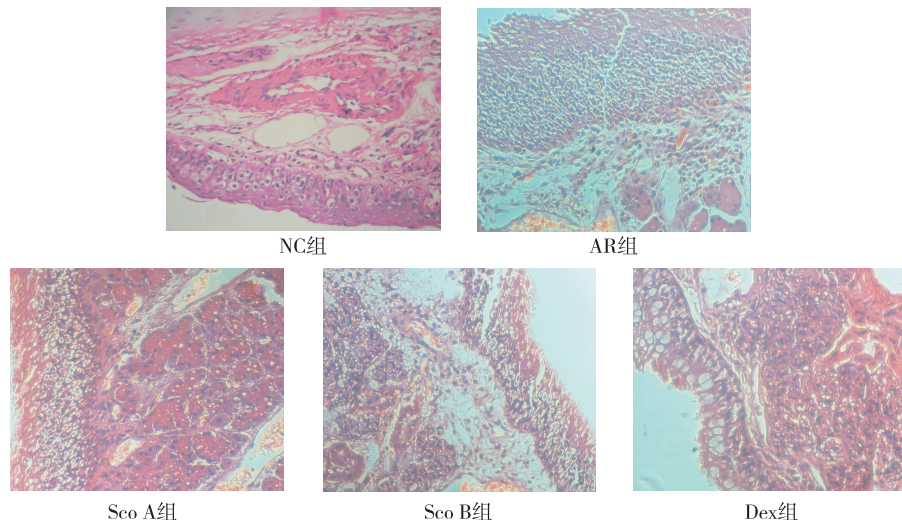


图 1 各组大鼠鼻黏膜组织学改变 (HE, 200 ×)

Fig. 1 Histological changes of nasal mucosa of rats in each group

2.3 血清 IgE 水平 见表 2。AR 组大鼠血清 IgE 水平显著高于 NC 组, $P < 0.01$; Sco A 组、Sco B 组和 Dex 组 IgE 水平均显著低于 AR 组, $P < 0.01$; 且 Sco B 组和 Dex 组比 Sco A 组降低更为显著, $P < 0.05$; Sco B 作用组与 NC 组、Dex 组间差异不明显, $P > 0.05$ 。

表 2 各组大鼠 IgE 水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 IgE levels of rats in each group

组别	n	IgE (ng/L)
NC 组	8	12.40 ± 2.26 ⁽¹⁾
AR 组	8	26.32 ± 3.22 ⁽²⁾
Sco A 组	8	19.43 ± 3.58
Sco B 组	8	14.39 ± 5.13 ⁽¹⁾
Dex 组	8	13.26 ± 2.40 ⁽¹⁾

注: ⁽¹⁾ 与 AR 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与 Sco A 组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

AR 是一类主要由 IgE 介导的 I 型变态反应, 也称 I 型超敏反应。当特异性抗原进入特异性个体后, 机体内产生相应的免疫球蛋白 E (IgE) 抗体 (也称反应素) 并附着于介质细胞 (肥大细胞、嗜碱性粒细胞) 的表面, 机体就处于致敏状态。当相同的抗原再次进入该机体时, 此抗原则与介质细胞表面的 IgE “桥联”, 并激发细胞膜产生一系列生化变化、破裂并脱颗粒。从被排出的颗粒和细胞内释放出生物活性介质, 如组胺、白三烯、缓激肽等, 这些

介质引起毛细血管扩张、血管通透性增加、平滑肌收缩和腺体分泌增多等病理变化, 机体处于发敏状态, 出现相应的临床症状^[1]。如果把 AR 的发病机制比作一个链, 那么 (IgE) 处于整个链中的一环, 血清 IgE 水平能反映变应性疾病的发病程度^[5], 故有效地降低 IgE 水平是治疗 AR 的关键, 凡能抑制 IgE 产生和拮抗它的药物均有防治效果。本研究滨蒿内酯和地塞米松同样对大鼠血清中 IgE 水平有降低作用, 并且 Sco B 组和 Dex 组比 Sco A 组降低更为显著, 结果有统计学差异。滨蒿内酯是茵陈中抗炎和免疫调节的主要有效成分^[6], 研究证明, 滨蒿内酯对 IgE 介导的大鼠腹膜肥大细胞的过敏反应有抑制作用^[7], 在哮喘豚鼠模型中可诱导产生 Th1 型细胞因子 IFN- γ 和减少产生 Th2 型细胞因子 IL-4^[8], 抑制肥大细胞中 IgE 介导的变态反应, 也同时抑制 Th2 型 IL-5^[9]。

本研究中滨蒿内酯处理组, 行为学得分、血清 IgE 水平明显低于 AR 组, 鼻黏膜炎性反应明显轻于 AR 组, 表明滨蒿内酯具有明显抑制或消除变应性鼻炎临床症状, 抑制 IgE 的产生, 使炎性细胞浸润减少、减轻组织反应, 且浓度 20 ml/kg 作用强于 10 ml/kg, 提示滨蒿内酯对 AR 有治疗作用, 其在抑制变应性反应上与激素类药物有类似效果。由于作为中草药的滨蒿内酯可以长期使用, 且无激素类药物的副作用, 因此滨蒿内酯治疗 AR 有很好的应用前景。但这种作用的具体机制及它治疗的最佳浓度还需要更进一步的实验证实。

(下转第 459 页)

3 讨论

在含量测定中,选用甲醇为提取溶剂,采用超声波提取进行了试验,并分别考察了以不同浓度的甲醇和不同超声提取时间的提取效果比较,结果以 60%~80% 甲醇超声提取 20 min 均可将制剂样品中槲皮苷提取完全,故采用 80% 甲醇作为提取溶剂。

试验曾参考相关文献^[9~12]对车前草药材和制剂中车前草的指标成分大车前苷进行了含量测定,结果车前草药材中所含大车前苷均符合中国药典 2010 年版一部规定的 0.10% 的限度,但制剂中几乎检不出大车前苷,因此又对制剂的制备工艺进行了考察,结果发现水煮液中大车前苷含量低,表明水煎煮工艺可能不能将车前草所含的大车前苷煎出或大车前苷在煎煮时发生了变化,使制剂中含量太低,这些将有待进一步研究。

4 参考文献

- [1] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编: 中成药地方标准上升国家标准部分[S]. 2002;58.
- [2] 李勇军, 骆宏丰, 王永林, 等. 头花蓼黄酮类化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2000 (5): 300-302.

- [3] 杨阳, 蔡飞, 杨琦, 等. 头花蓼化学成分的研究(I)[J]. 第二军医大学学报, 2009(8): 937-940.
- [4] 杜旭择. 连翘与车前子的指标成分与检视识别[J]. 国外医学中医中药分册, 2003(1): 45.
- [5] 杨立勇, 王祥培, 吴红梅, 等. HPLC 测定不同产地的头花蓼中槲皮苷的含量[J]. 贵阳中医学院学报, 2009(4): 67-68.
- [6] 吴红梅, 贺祝英, 王祥森, 等. 高效液相色谱法测定头花蓼中没食子酸与槲皮苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2009(1): 18-19.
- [7] 谢宇, 张丽艳, 梁斌, 等. HPLC 法测定头花蓼及制剂热淋清颗粒中槲皮苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2009(8): 984-986.
- [8] 杨蓓蓓, 冯茹, 王维聪, 等. HPLC/DAD/MS 法同时测定苗药头花蓼中 3 种有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2008(11): 1793-1796.
- [9] 颜佩芳, 刘桂英, 赵士敏, 等. 平车前化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2009(1): 19-21.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 64.
- [11] 高明哲, 袁昌鲁, 徐青, 等. 高效液相色谱法测定车前子中车前子苷的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2004(增刊): 34-36.
- [12] 孙虔, 耿放, 程雪梅, 等. 车前草中大车前苷的定性和定量分析[J]. 中国中药杂志, 2010(16): 2095-2098. (2011-06-17 收稿, 2011-08-25 修回)

(上接第 454 页)

4 参考文献

- [1] 黄选兆, 汪吉宝, 孔维佳. 实用耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 218-225.
- [2] Salib RJ, Drake-Lee A, Howarch PH. Allergic rhinitis: past, present and the future[J]. Clin Otolaryngol Allied Sci, 2003(4): 291-303.
- [3] Liu Hong-rui, Liu Chun, Li Zhi, et al. Regulation of the imbalance of interferon-gamma and interleukin-4 of serum and pulmonary tissue homogenate in asthmatic guinea pig with scoparone[J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2005(11): 220-222.
- [4] Sehmi R, Wood LJ, Waston R, et al. Allergu-induced increases in IL-5 receptor alpha-subunit expression on bone marrow-derived CD34⁺ cell from asthmatic subjects[J]. Clin Invest, 1997(120): 2457-2466.
- [5] Coyle A, Wagner C, Bertrand S, et al. Central role of immunoglobulin E in the induction of lung eosinophil infil-

- tration and T helper 2 cell cytokine production: inhibition by a non-anaphylactogenic anti-IgE antibody [J]. J Exp Med, 1996(4): 1303-1310.
- [6] 赵蕴馥, 李智, 李沈昌, 等. 从沈阳产滨蒿中提取滨蒿内酯及回收率考察[J]. 中国医科大学学报, 1997(6): 575-576.
- [7] Choia YH, Yanb GH. Anti-allergic effects of scoparone on mast cell-mediated allergy model[J]. Phytomedicine, 2009(12): 1089-1094.
- [8] Liu HR, Liu C, Li Z et al. Regulation of the imbalance of interferon-gamma and interleukin-4 of serum and pulmonary tissue homogenate in asthmatic guinea pig with scoparone[J]. Chinese Journal of Clinicle Rehabilitation, 2005(11): 220-222.
- [9] 范颖, 李智, 迟天燕, 等. 滨蒿内酯对豚鼠哮喘模型的炎性介质作用[J]. 中国医科大学学报, 2006(2): 132-133.

(2011-08-22 收稿, 2011-08-31 修回)