

# 测试报告

## ——倍她素™ ( $\beta$ -1,3/1,6 葡聚糖 ) 抗炎和抗过敏 作用研究

样品名称 :  $\beta$ -1,3/1,6 葡聚糖 ( 溶液 )

样品规格 : 100 ml

样品浓度 : 0.4% , 1%

批号/生产日期 : 2016/04/02

限用日期 : 2018/04/02

委托单位名称 : 宁波格鲁康生物科技有限公司

委托单位地址 : 浙江省象山县城东工业园映玉路 32 号

中国医学科学院基础医学研究所

2017 年 1 月 9 日

## 声 明

1. 本报告无公章无效。
2. 本报告涂改无效。
3. 复制报告未重新加盖本机构公章无效。
4. 测试结果仅对来样及方法负责，数据和结果必须真实使用，不得用于虚假夸大宣传或其他不当用途。

## PART I

### 一、测试目的

检测倍她素™ ( $\beta$ -1,3/1,6 葡聚糖) 和对照药氢化可的松琥珀酸钠的抗炎和抗过敏作用。

### 二、测试样品

倍她素™ ( $\beta$ -1,3/1,6 葡聚糖), 1%溶液, 实验时直接用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基稀释为所需浓度。阳性对照药为氢化可的松琥珀酸钠。

### 三、实验材料

1. **细胞:** 人角质形成细胞系 HaCaT 细胞, 中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心; 大鼠嗜碱性细胞白血病细胞 RBL-2H3 细胞, 中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。
2. **试剂:** DMEM 高糖培养基和 0.25 胰酶 (中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心); 胎牛血清 (Gibco 公司); 注射用氢化可的松琥珀酸钠 (天津生物化学制药有限公司); 月桂基硫酸钠、Compound48/80 (C48/80) 和 4-硝基苯-N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷 (Sigma 公司); 组胺 ELISA 试剂盒 (Elabscience 公司); IL-1 $\alpha$  ELISA 试剂盒 (上海依科赛生物制品有限公司); 中性红 (国药集团化学试剂公司); CCK-8 (日本东仁化学科技有限公司)。

### 四、实验方法

#### 1. 倍她素™ 抗炎实验

##### 1.1 HaCaT 细胞活力的检测

采用 CCK-8 法。应用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基, 在 5%CO<sub>2</sub>, 37℃ 细胞培养箱中对 HaCaT 细胞进行传代培养。收集正处于对数生长期的 HaCaT 细胞, 以  $1.5 \times 10^3$  个/孔接种至 96 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃ 培养 24h 后, 以不同浓度

的月桂基硫酸钠、倍她素™和氢化可的松琥珀酸钠处理,同时设不加药的正常对照,并设未加细胞的培养基孔作为调零孔(每一组均设4个复孔)。培养22h后,每孔加入CCK-8试剂20μL,继续孵育1h后,用酶标仪在450nm处检测每个测定孔的吸光度A值(以调零孔调零)。

## 1.2 HaCaT 细胞释放 IL-1α 水平的检测

收集正处于对数生长期的 RBL-2H3 细胞,以  $8 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养 24h 后,以 0.025%、0.05%、0.1%的倍她素™和 0.025%、0.05%、0.1%的氢化可的松琥珀酸钠处理,同时加入月桂基硫酸钠(50μg/mL)对细胞进行刺激。另外,实验设未加月桂基硫酸钠和药物的正常对照组,以及只加入月桂基硫酸钠的刺激组(每一组均设3个复孔)。30min 后,以 5000 r/min 离心 5min,收集细胞培养上清检测 IL-1α 水平。采用 ELISA 方法检测 IL-1α 水平,具体按照试剂盒操作说明书进行。

## 2. 倍她素™抗过敏实验

### 2.1 RBL-2H3 细胞活力的检测

采用 CCK-8 法。应用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基,在 5%CO<sub>2</sub>, 37℃细胞培养箱中对 RBL-2H3 细胞进行传代培养。收集正处于对数生长期的 RBL-2H3 细胞,以  $1.5 \times 10^4$  个/孔接种至 96 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养 24h 后,以 0.025%、0.05%、0.1%的倍她素™和 0.025%、0.05%、0.1%的氢化可的松琥珀酸钠处理,同时设不加药的正常对照,并设未加细胞的培养基孔作为调零孔(每一组均设6个复孔)。培养 22h 后,每孔加入 CCK-8 试剂 20μL,继续孵育 1h 后,用酶标仪在 450nm 处检测每个测定孔的吸光度 A 值(以调零孔调零)。

### 2.2 RBL-2H3 细胞脱颗粒的检测

采用中性红染色法。收集正处于对数生长期的 RBL-2H3 细胞,以  $8 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养 24h 后,以 0.025%、0.05%、0.1%的倍她素™和 0.025%、0.05%、0.1%的氢化可的松琥珀酸钠处理,同时加入 C48/80 (20mg/L) 对细胞进行刺激。另外,实验设未加 C48/80 和药物的正常对照组,



以及只加入 C48/80 的刺激组（每一组均设 4 个复孔）。30min 后，以 5000 r/min 离心 5min，收集细胞培养上清检测组胺和  $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放。剩下 24 孔板的细胞，用 PBS 清洗 2 遍后，每孔加入 300  $\mu$ L 的 0.5% 中性红染液，染色 3min。弃去染液，用 PBS 清洗 3 遍，镜下观察并拍照。

## 2.3 组胺释放检测

组胺含量的测定按照 ELISA 试剂盒操作说明书进行。

## 2.4 $\beta$ -氨基己糖苷酶释放检测

采用底物显色法。96 孔酶标板每孔加入 50  $\mu$ L 底物（4-硝基苯-N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷，1mmol/L），然后吸取待测细胞上清 50  $\mu$ L 于酶标板（设双复孔），同时设只加入底物的孔作为本底孔。37℃ 孵育 1.5h。加入 200  $\mu$ L 的 0.1 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  缓冲液终止反应，用酶标仪在 450nm 处检测每个测定孔的吸光度 A 值（以本底孔调零）。

## 3. 统计分析

实验数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，经 SPSS 统计软件分析。采用单因素方差分析比较组间显著性差异。

## 五、实验结果

### 1. 倍她素™ 抗炎实验

本研究采用月桂基硫酸钠刺激 HaCaT 细胞，建立体外炎症模型，检测倍她素™ 在无细胞毒性作用的浓度下对月桂基硫酸钠诱导的 IL-1 $\alpha$  释放的影响。

#### 1.1 月桂基硫酸钠对 HaCaT 细胞活力的影响

首先摸索刺激剂月桂基硫酸钠的合适浓度。如图 1 所示，在 3.9063  $\mu$ g/mL~62.5  $\mu$ g/mL 的浓度下，月桂基硫酸钠对 HaCaT 细胞的增殖与存活没有影响。而 125  $\mu$ g/mL~1000  $\mu$ g/mL 月桂基硫酸钠作用 24h 后，能够明显

抑制 HaCaT 细胞的增殖和活力 ( $P < 0.01$ )。因此, 在后续实验中, 将采用无细胞毒性作用的  $50 \mu\text{g/mL}$  浓度刺激 HaCaT 细胞。

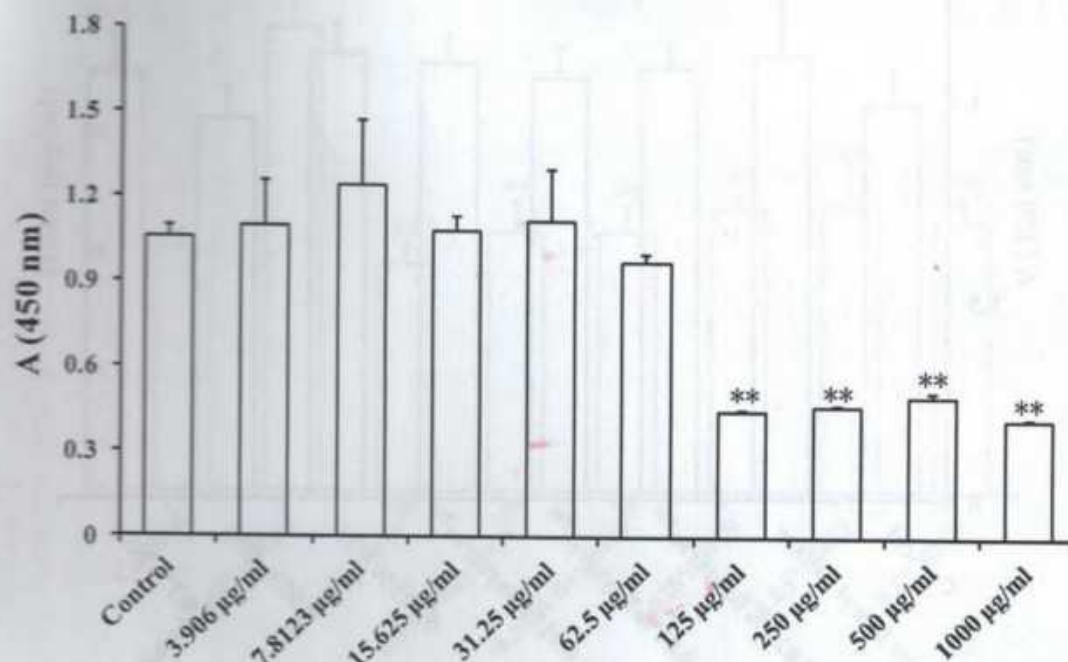


图 1 月桂基硫酸钠对 HaCaT 细胞活力的影响。

Control: 正常对照组; \*\* $P < 0.01$  vs. control group,  $n=4$ 。

## 1.2 倍她素™对 HaCaT 细胞活力的影响

如图 2 所示, 0.025%、0.05%、0.1%倍她素™和 0.025%、0.05%、0.1%氢化可的松琥珀酸钠作用 RBL-2H3 细胞 24h 后, 与正常对照组相比无显著性差异, 提示各浓度的倍她素™和氢化可的松琥珀酸钠对 RBL-2H3 细胞无明显毒性。

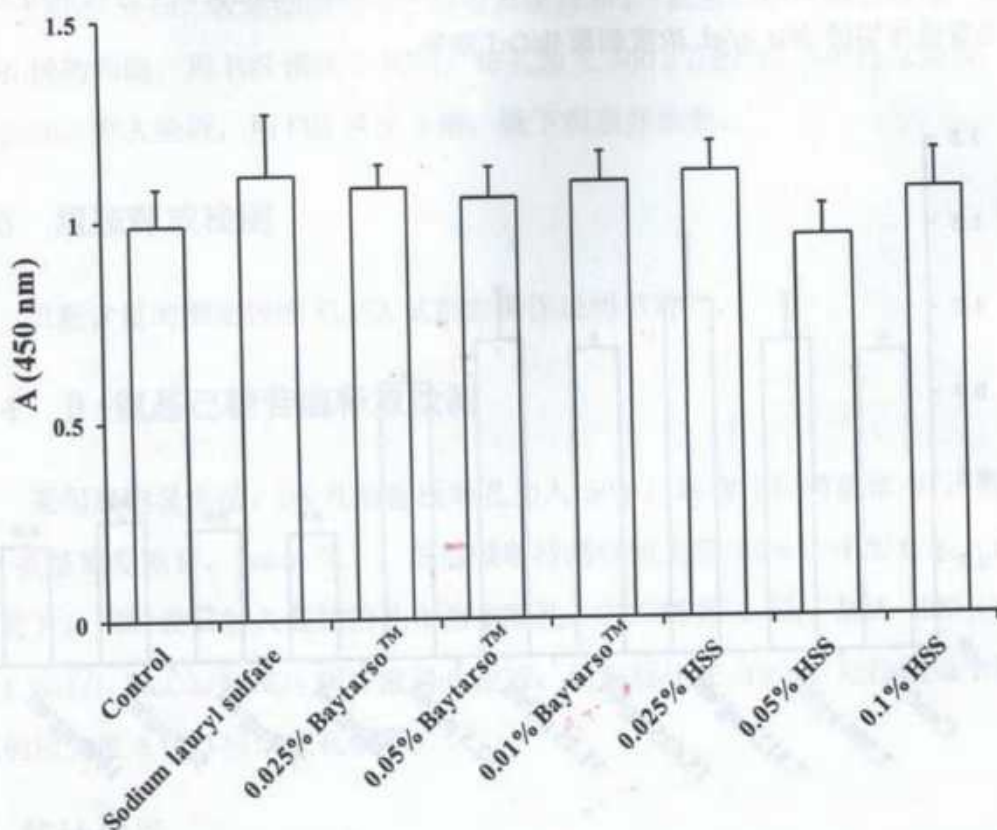


图2 倍她素™对HaCaT细胞活力的影响。

Control: 正常对照组; Sodium lauryl sulfate, 月桂基硫酸钠, 采用  $50\mu\text{g/mL}$ ;  
 Baytarso™: 倍她素™; HSS: hydrocortisone sodium succinate, 氢化可的松琥珀酸钠;  $n=4$ 。

### 1.3 倍她素™对HaCaT细胞释放IL-1 $\alpha$ 的影响

如图3所示, 与正常对照组细胞相比, 月桂基硫酸钠刺激组细胞的IL-1 $\alpha$ 水平明显增高 ( $P<0.01$ )。同时给予0.025%、0.05%、0.1%倍她素™或0.025%、0.05%、0.1%氢化可的松琥珀酸钠可明显降低月桂基硫酸钠诱导的IL-1 $\alpha$ 释放 ( $P<0.01$ )。



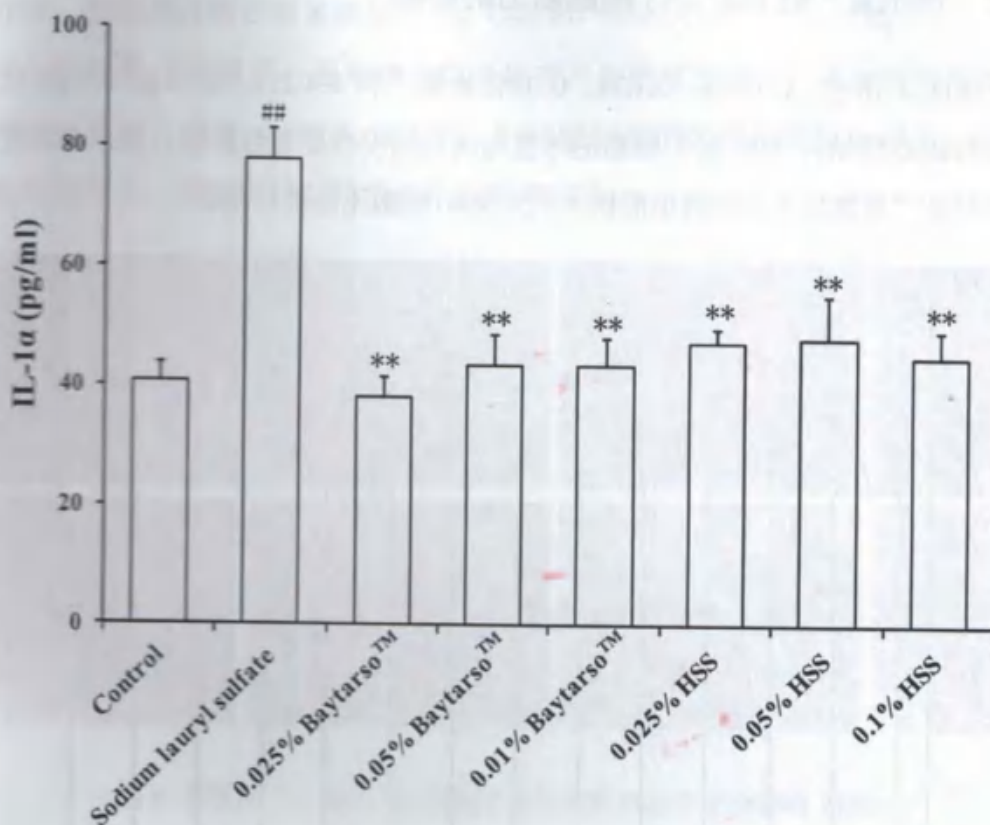


图3 倍她素™对月桂基硫酸钠诱导的HaCaT细胞释放IL-1α的影响。

Control: 正常对照组; Sodium lauryl sulfate, 月桂基硫酸钠, 采用50μg/mL;  
 Baytarso™: 倍她素™; HSS: hydrocortisone sodium succinate, 氢化可的松琥珀酸钠;  
 ## $P < 0.01$  vs. control group; \*\* $P < 0.01$  vs. sodium lauryl sulfate group;  
 n=3。

## 2. 倍她素™抗过敏实验结果

肥大细胞脱颗粒是速发型变态反应(I型超敏反应)和炎症等病理反应的基础。RBL-2H3细胞是大鼠嗜碱性白血病细胞株,具有肥大细胞的许多生物学特性,其表面表达的多种受体和粘附分子与体内成熟的肥大细胞十分相似,活化后可以发生脱颗粒反应,释放出组胺、β-氨基己糖苷酶等活性物质,是评价过敏反应/类过敏反应的良好模型。本研究中使用C48/80作为刺激剂刺激RBL-2H3细胞,建立体外致敏模型,检测倍她素™在无细胞毒性作用的浓度下对细胞脱颗粒以及释放组胺和β-氨基己糖苷酶的影响。



## 2.1 倍她素™对 RBL-2H3 细胞活力的影响

如图 4 所示, 0.025%、0.05%、0.1%倍她素™和 0.025%、0.05%、0.1%氢化可的松琥珀酸钠对 RBL-2H3 细胞的增殖与活力均没有显著性影响, 提示各浓度的倍她素™和氢化可的松琥珀酸钠对 RBL-2H3 细胞无毒性作用。

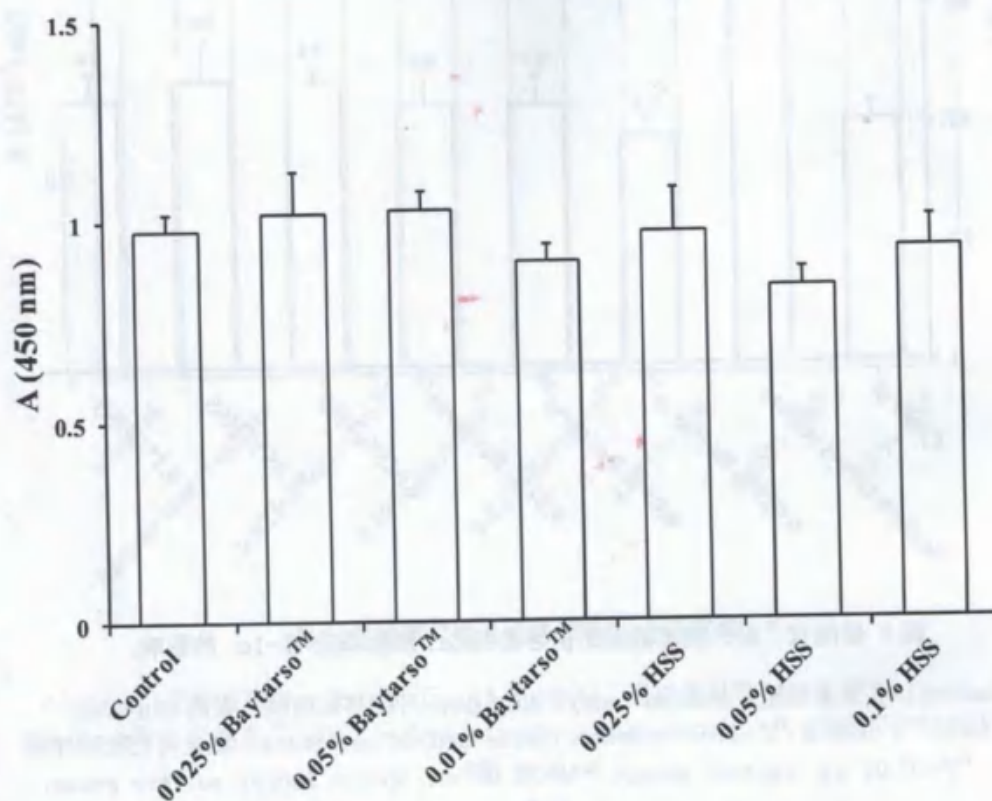


图 4 倍她素™对 RBL-2H3 细胞活力的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; HSS: Hydrocortisone sodium succinate, 氢化可的松琥珀酸钠; n=6。

## 2.2 倍她素™对 RBL-2H3 细胞活化脱颗粒形态学上的影响

RBL-2H3 作为嗜碱性粒细胞, 胞体较大, 胞质中充满粗大的嗜碱性颗粒, 有异染性, 因此可以通过染色的方法从细胞形态学上观察其脱颗粒情况。如图 5 所示, 中性红染色后, 正常对照组细胞生长良好, 呈梭形或多形性, 边缘光滑, 有完整的细胞膜, 细胞内有分布均匀、大小一致、染色均匀的红色颗粒。

C48/80 刺激后的细胞出现脱颗粒的表现：细胞变圆、肿胀，细胞膜破裂，颗粒外排，细胞膜外散在较多红染颗粒。C48/80 刺激的同时给予 0.025%、0.05%、0.1%倍她素™处理后，圆形细胞数目均有不同程度的减少，且脱颗粒程度亦不同程度减轻。给予 0.025%、0.05%、0.1%氢化可的松琥珀酸钠处理后，正常梭形细胞增多，细胞膜外颗粒数目不同程度减少。

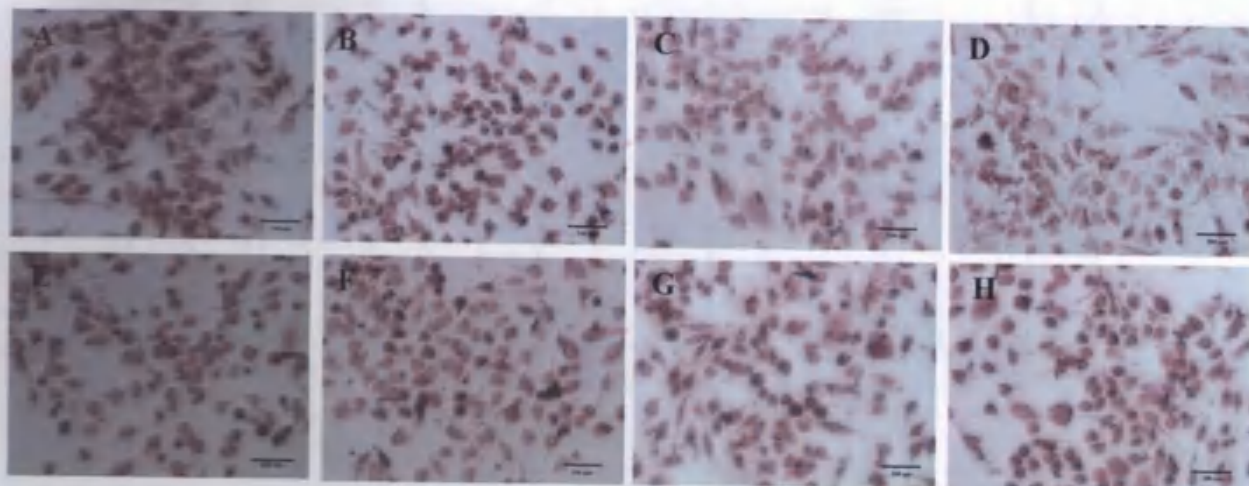


图5 倍她素™对 RBL-2H3 细胞活化脱颗粒形态学上的影响 (200×)

A. 正常对照; B. C48/80; C. 0.025% 倍她素™; D. 0.05% 倍她素™; E. 0.01% 倍她素™; F. 0.025% 氢化可的松琥珀酸钠; G. 0.05% 氢化可的松琥珀酸钠; H. 0.01% 氢化可的松琥珀酸钠; n=4.

### 2.3 倍她素™对 RBL-2H3 细胞释放组胺的影响

测定肥大细胞释放的生物活性物质（如组胺、 $\beta$ -氨基己糖苷酶等）是检测过敏/类过敏反应及评价药物抗过敏作用的常见方法。如图6所示，与正常对照组细胞相比，C48/80 刺激组细胞的组胺释放明显增加 ( $P<0.01$ )。C48/80 刺激的同时给予 0.025%、0.05%、0.1%倍她素™或 0.1%氢化可的松琥珀酸钠后，组胺释放水平均有显著性的降低 ( $P<0.01$ )。

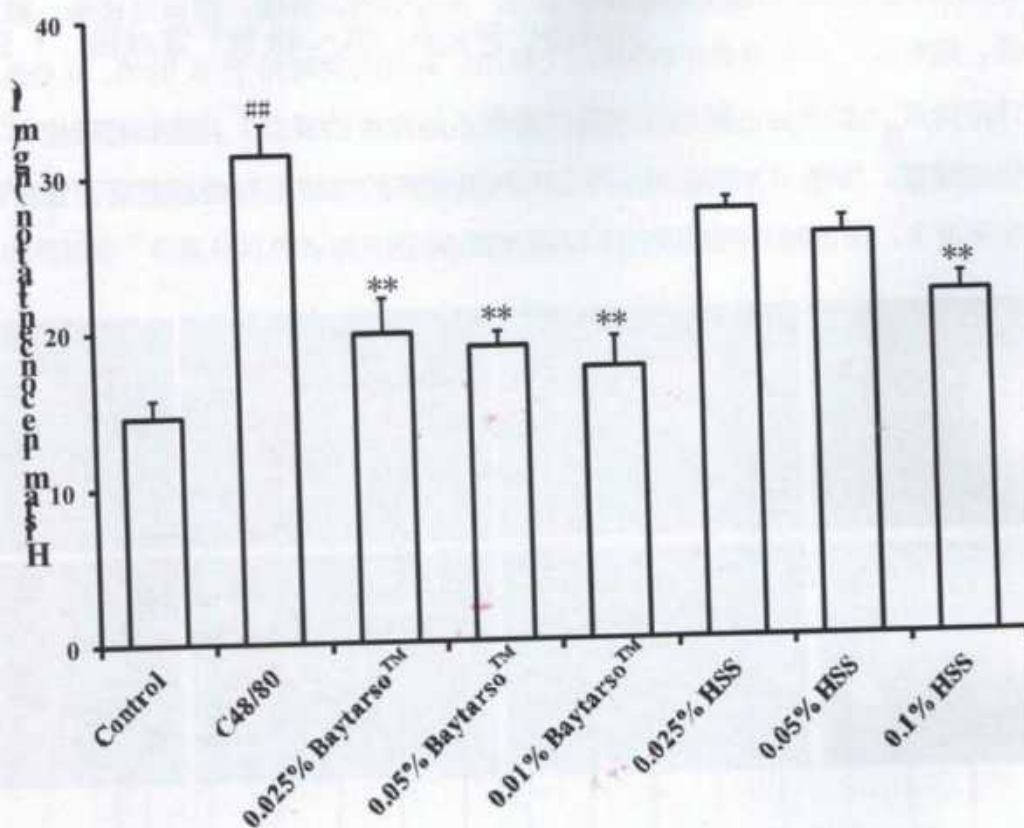


图6 倍她素™对C48/80诱导的RBL-2H3细胞释放组胺的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; HSS: hydrocortisone sodium succinate, 氢化可的松琥珀酸钠; ## $P < 0.01$  vs. control group; \*\* $P < 0.01$  vs. C48/80 group;  $n=4$ 。

#### 2.4 倍她素™对RBL-2H3细胞释放β-氨基己糖苷酶的影响

如图7所示,与正常对照组细胞相比,C48/80刺激组细胞的β-氨基己糖苷酶的释放明显增加( $P < 0.01$ )。C48/80刺激同时给予0.1%倍她素™或0.1%氢化可的松琥珀酸钠后,可明显降低β-氨基己糖苷酶的释放水平( $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ )。



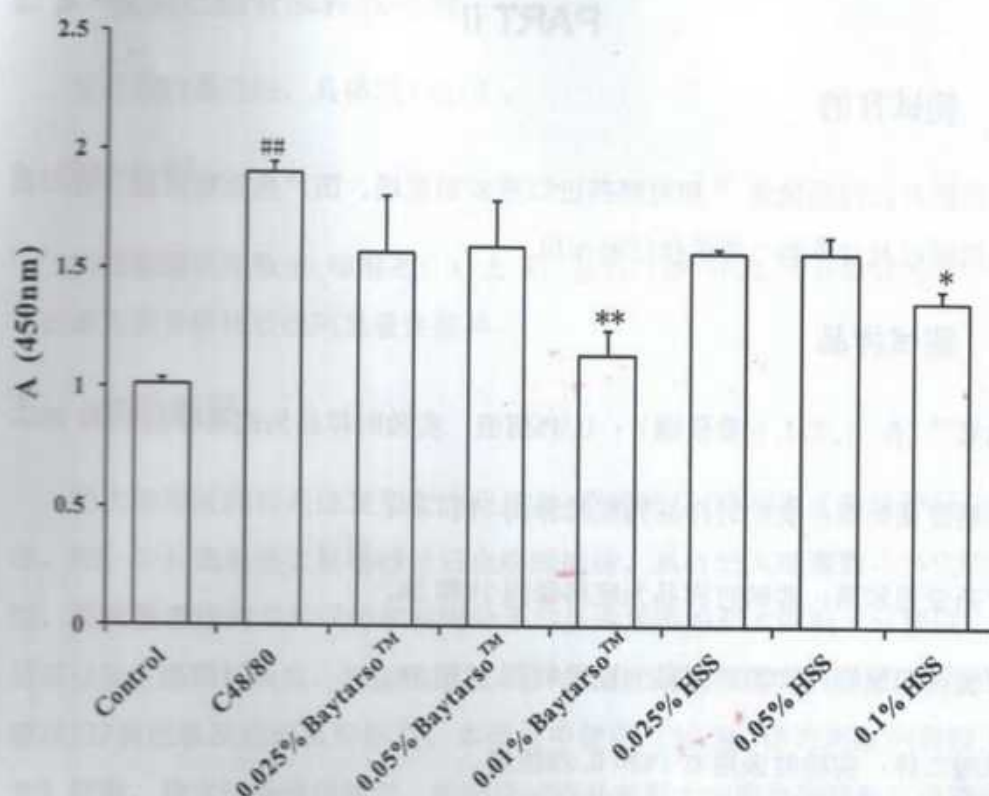


图7 倍她素™对C48/80诱导的RBL-2H3细胞释放β-氨基己糖苷酶的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; HSS: hydrocortisone sodium succinate, 氢化可的松琥珀酸钠; ## $P < 0.01$  vs. control group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. C48/80 group;  $n=4$ 。

## 六、 结论

在本实验条件下, 0.025%、0.05%、0.1%倍她素™对月桂基硫酸钠诱导的HaCaT细胞炎症模型中IL-1 $\alpha$ 释放有显著抑制作用, 0.025%、0.05%、0.1%倍她素™对C48/80致敏RBL-2H3细胞脱颗粒以及组胺释放有明显抑制作用, 0.1%倍她素™对β-氨基己糖苷酶释放有明显抑制作用, 且上述作用不是通过细胞毒作用实现的。提示, 倍她素™可能对皮肤炎症和过敏有明显改善作用; 且通过和氢化可的松琥珀酸钠对照试验, 提示其疗效与氢化可的松琥珀酸钠相仿。

## PART II

### 一、测试目的

检测并比较倍她素™ 和对照药进口燕麦葡聚糖、国产燕麦葡聚糖、进口真菌葡聚糖以及甘草酸二钾的抗过敏作用。

### 二、测试样品

倍她素™ ( $\beta$ -1, 3/1, 6 葡聚糖): 0.4%溶液, 实验时样品为底稀释到 1%和 3%。

进口燕麦葡聚糖: 实验时样品为底稀释到 1%和 3%。

国产燕麦葡聚糖: 实验时样品为底稀释到 1%和 3%。

进口真菌葡聚糖: 实验时样品为底稀释到 1%和 3%。

甘草酸二钾: 实验时采用 0.1%和 0.2%浓度。

### 三、实验材料

大鼠嗜碱性细胞白血病细胞 RBL-2H3 细胞及相关试剂同 PART I。

### 四、实验方法

#### 1. 组胺释放检测

收集正处于对数生长期的 RBL-2H3 细胞, 以  $8 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养 24h 后, 以 C48/80 (20 mg/L) 对细胞进行刺激, 同时加入倍她素™ (1%、3%、10%) 或进口燕麦葡聚糖 (1%、3%) 或国产燕麦葡聚糖 (1%、3%) 或进口真菌葡聚糖 (1%、3%) 或的甘草酸二钾 (0.1%、0.2%) 处理。另外, 实验设未加 C48/80 和药物的正常对照组, 以及只加入 C48/80 的刺激组 (每一组均设 4 个复孔)。30min 后, 以 5000 r/min 离心 5min, 收集细胞培养上清检测组胺和 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放。组胺含量的测定按照 ELISA 试剂盒操作说明书进行。

## 2. $\beta$ -氨基己糖苷酶释放检测

采用底物显色法, 具体同 PART I。

## 3. 统计分析

实验数据用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 经 SPSS 统计软件分析。采用单因素方差分析比较组间显著性差异。

## 五、实验结果

肥大细胞脱颗粒是速发型变态反应(I 型超敏反应)和炎症等病理反应的基础。RBL-2H3 细胞是大鼠嗜碱性白血病细胞株, 具有肥大细胞的许多生物学特性, 其表面表达的多种受体和粘附分子与体内成熟的肥大细胞十分相似, 活化后可以发生脱颗粒反应, 释放出组胺、 $\beta$ -氨基己糖苷酶等活性物质, 是评价过敏反应/类过敏反应的良好模型。本研究中使用 C48/80 作为刺激剂刺激 RBL-2H3 细胞, 建立体外致敏模型, 检测受试样品对肥大细胞脱颗粒释放组胺和 $\beta$ -氨基己糖苷酶的影响。

### 1. 各受试样品对 RBL-2H3 细胞释放组胺的影响

测定肥大细胞释放的生物活性物质(如组胺、 $\beta$ -氨基己糖苷酶等)是检测过敏/类过敏反应及评价药物抗过敏作用的常见方法。如图 8 所示, 与正常对照组细胞相比, C48/80 刺激组细胞的组胺释放明显增加。C48/80 刺激的同时给予 1%、3%、10% 倍她素<sup>™</sup>或 1%、3% 进口燕麦葡聚糖或 3% 国产燕麦葡聚糖或 1%、3% 进口真菌葡聚糖或 0.1%、0.2% 甘草酸二钾后, 组胺释放水平有不同程度的降低( $P<0.05$  和  $P<0.01$ )。



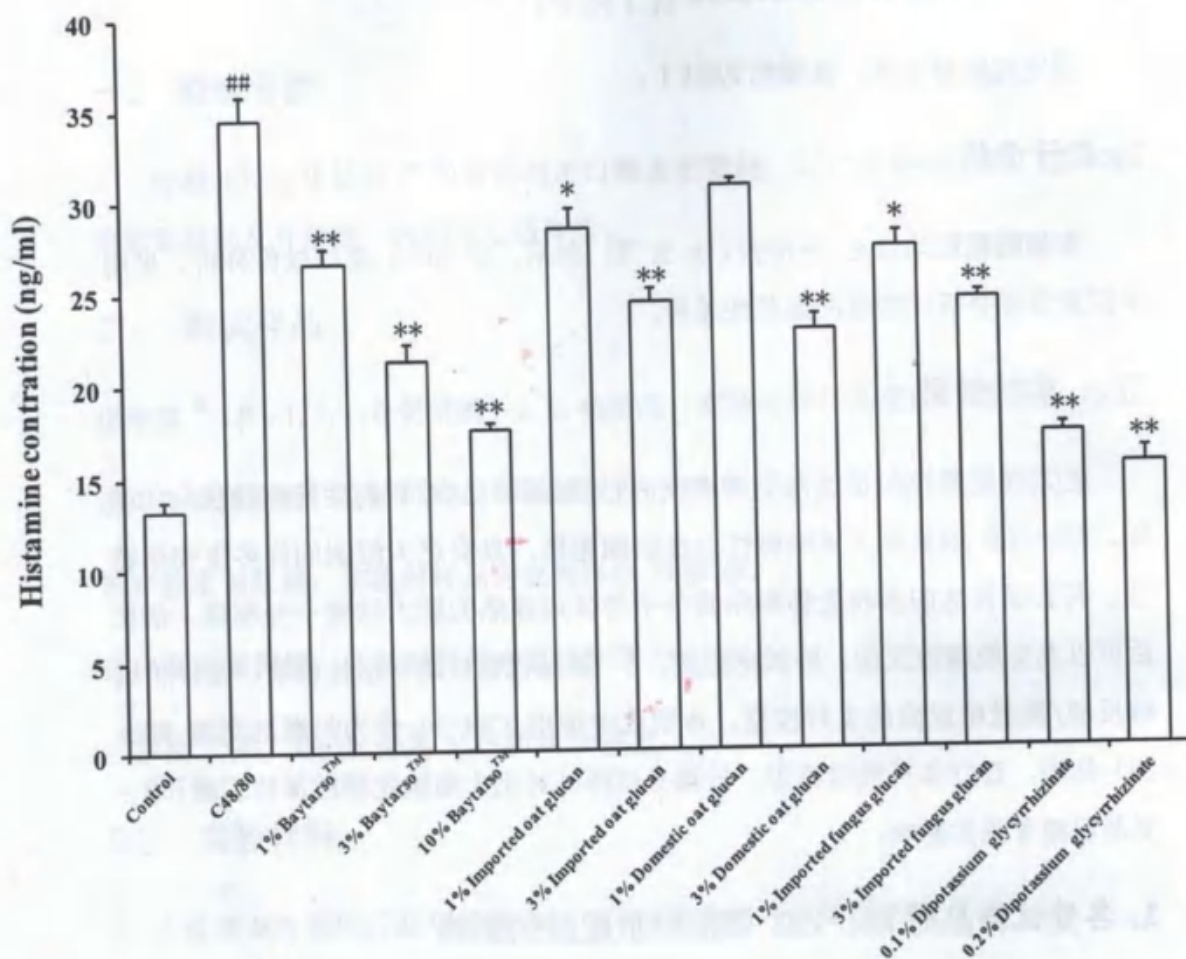


图 8 样品对 C48/80 诱导的 RBL-2H3 细胞释放组胺的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; Imported oat glucan: 进口燕麦葡聚糖; Domestic oat glucan: 国产葡聚糖; Dipotassium glycyrrhizinate: 进口真菌葡聚糖; Dipotassium glycyrrhizinate: 甘草酸二钾; ## $P < 0.01$  vs. control group; \*\* $P < 0.01$  vs. C48/80 group;  $n=4$ 。

## 2. 受试样品对 RBL-2H3 细胞释放 $\beta$ -氨基己糖苷酶的影响

如图 9 所示, 与正常对照组细胞相比, C48/80 刺激组细胞的 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放明显增加 ( $P < 0.01$ )。C48/80 刺激同时给予 10% 的倍她素™, 3% 国产燕麦葡聚糖, 以及 0.1%、0.2% 的甘草酸二钾后, 可明显降低 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放水平 ( $P < 0.01$ )。

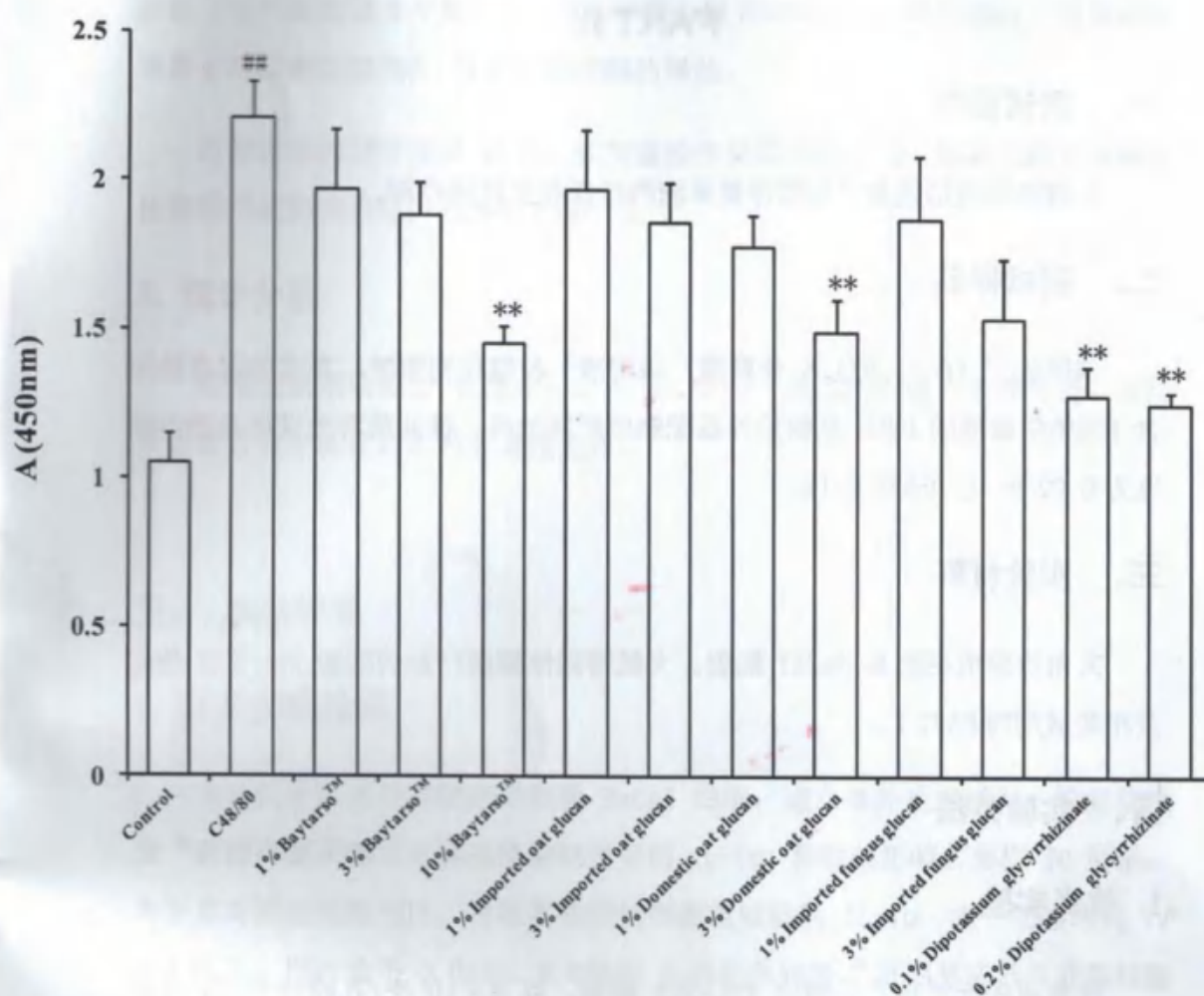


图9 样品对 C48/80 诱导的 RBL-2H3 细胞释放 $\beta$ -氨基己糖苷酶的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; Imported oat glucan: 进口燕麦葡聚糖; Domestic oat glucan: 国产葡聚糖; Dipotassium glycyrrhizinate: 进口真菌葡聚糖; Dipotassium glycyrrhizinate: 甘草酸二钾; ## $P < 0.01$  vs. control group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. C48/80 group; n=4。

## 六、 结论

在本实验条件下, 1%、3%、10% 倍她素™对 C48/80 致敏 RBL-2H3 细胞释放组胺有明显抑制作用, 10%倍她素™对 $\beta$ -氨基己糖苷酶释有抑制作用。提示, 倍她素™可能对皮肤过敏有改善作用; 且通过和甘草酸二钾的对照试验, 提示其疗效与甘草酸二钾相仿。

## PART III

### 一、测试目的

检测并比较倍她素™与酵母葡聚糖的抗炎和抗过敏作用。

### 二、测试样品

倍她素™ ( $\beta$ -1,3/1,6 葡聚糖, 1%溶液) 和酵母葡聚糖, 在实验时直接用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基配制成所需浓度, 使此两种受试样品的终浓度为 0.025%、0.05%和 0.1%。

### 三、实验材料

人角质形成细胞系 HaCaT 细胞、大鼠嗜碱性细胞白血病细胞 RBL-2H3 细胞及相关试剂同 PART I。

### 四、实验方法

#### 1. 抗炎实验

收集正处于对数生长期的 RBL-2H3 细胞, 以  $8 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养 24h 后, 以 0.025%、0.05%和 0.1%的倍她素™和 0.025%、0.05%和 0.1%的酵母葡聚糖处理, 同时加入月桂基硫酸钠 (50μg/mL) 对细胞进行刺激。另外, 实验设未加月桂基硫酸钠和药物的正常对照组, 以及只加入月桂基硫酸钠的刺激组 (每一组均设 3 个复孔)。30min 后, 以 5000 r/min 离心 5min, 收集细胞培养上清检测 IL-1α 水平。采用 ELISA 方法检测 IL-1α 水平, 具体按照试剂盒操作说明书进行。

#### 2. 抗过敏实验

收集正处于对数生长期的 RBL-2H3 细胞, 以  $8 \times 10^4$  个/孔接种于 24 孔板中。5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养 24h 后, 以 C48/80 (20mg/L) 对细胞进行刺激, 同时加入 0.025%、0.05%和 0.1%的倍她素™和 0.025%、0.05%和 0.1%的酵母葡聚糖处理。另外, 实验设未加 C48/80 和药物的正常对照组, 以及只加入 C48/80 的刺



激组（每一组均设4个复孔）。30min后，以5000 r/min离心5min，收集细胞培养上清检测组胺和 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放。

组胺含量的测定按照ELISA试剂盒操作说明书进行， $\beta$ -氨基己糖苷酶释放检测采用底物显色法，具体同PART I。

### 3. 统计分析

实验数据用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示，经SPSS统计软件分析。采用单因素方差分析比较组间显著性差异。

## 五、实验结果

### 1. 抗炎实验结果

本研究采用月桂基硫酸钠刺激HaCaT细胞，建立体外炎症模型，检测倍她素<sup>™</sup>和酵母葡聚糖对月桂基硫酸钠诱导的IL-1 $\alpha$ 释放的影响。如图10所示，与正常对照组细胞相比，月桂基硫酸钠刺激组细胞的IL-1 $\alpha$ 水平明显增高( $P < 0.01$ )。同时给予0.025%、0.05%和0.1%的倍她素<sup>™</sup>可明显降低月桂基硫酸钠诱导的IL-1 $\alpha$ 释放，而相同浓度的酵母葡聚糖对IL-1 $\alpha$ 的释放无影响。

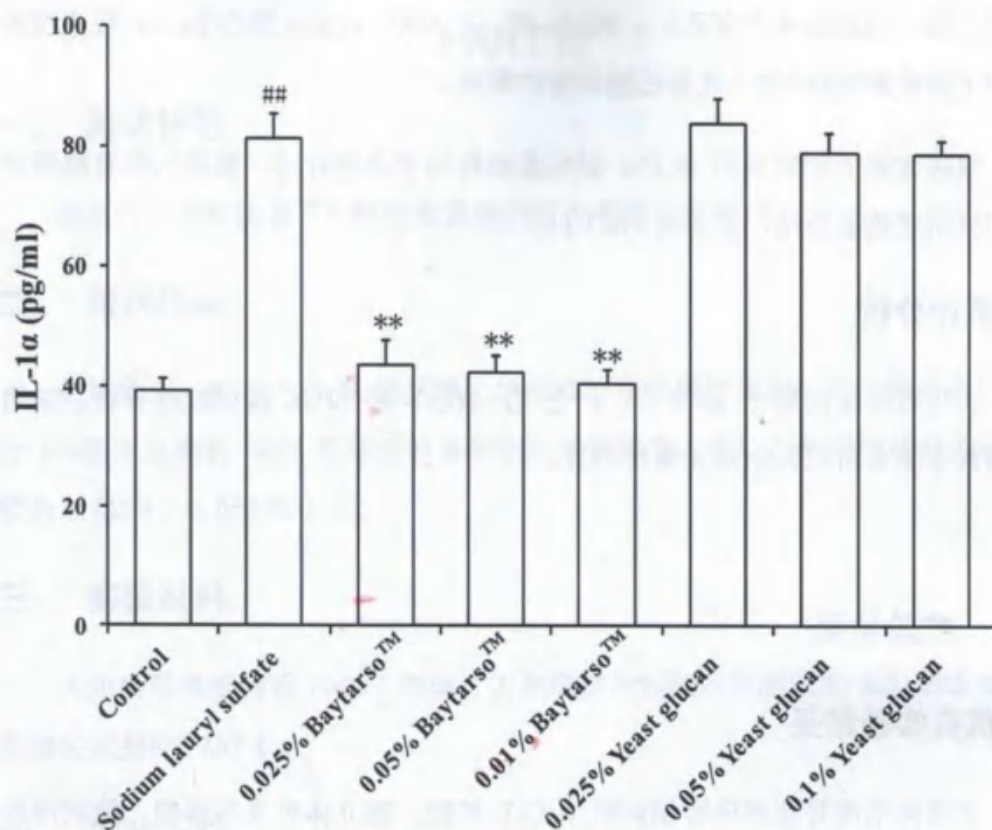


图 10 倍她素™和酵母葡聚糖对月桂基硫酸钠诱导的 HaCaT 细胞释放 IL-1α 的影响。

Control: 正常对照组; Sodium lauryl sulfate: 月桂基硫酸钠, 采用 50μg/mL;  
 Baytarso™: 倍她素™; Yeast glucan: 酵母葡聚糖; ## $P < 0.01$  vs. control group;  
 \*\* $P < 0.01$  vs. sodium lauryl sulfate group; n=3.

## 2. 抗过敏实验结果

### 2.1 倍她素™和酵母葡聚糖对 RBL-2H3 细胞释放组胺的影响

测定肥大细胞释放的生物活性物质（如组胺、β-氨基己糖苷酶等）是检测过敏/类过敏反应及评价药物抗过敏作用的常见方法。如图 11 所示，与正常对照组细胞相比，C48/80 刺激组细胞的组胺释放明显增加（ $P < 0.01$ ）。C48/80 刺激的同时给予 0.025%、0.05%和 0.1%的倍她素™可显著降低组胺释放水平（ $P < 0.01$ ），而相同浓度的酵母葡聚糖对 IL-1α 的释放无影响。

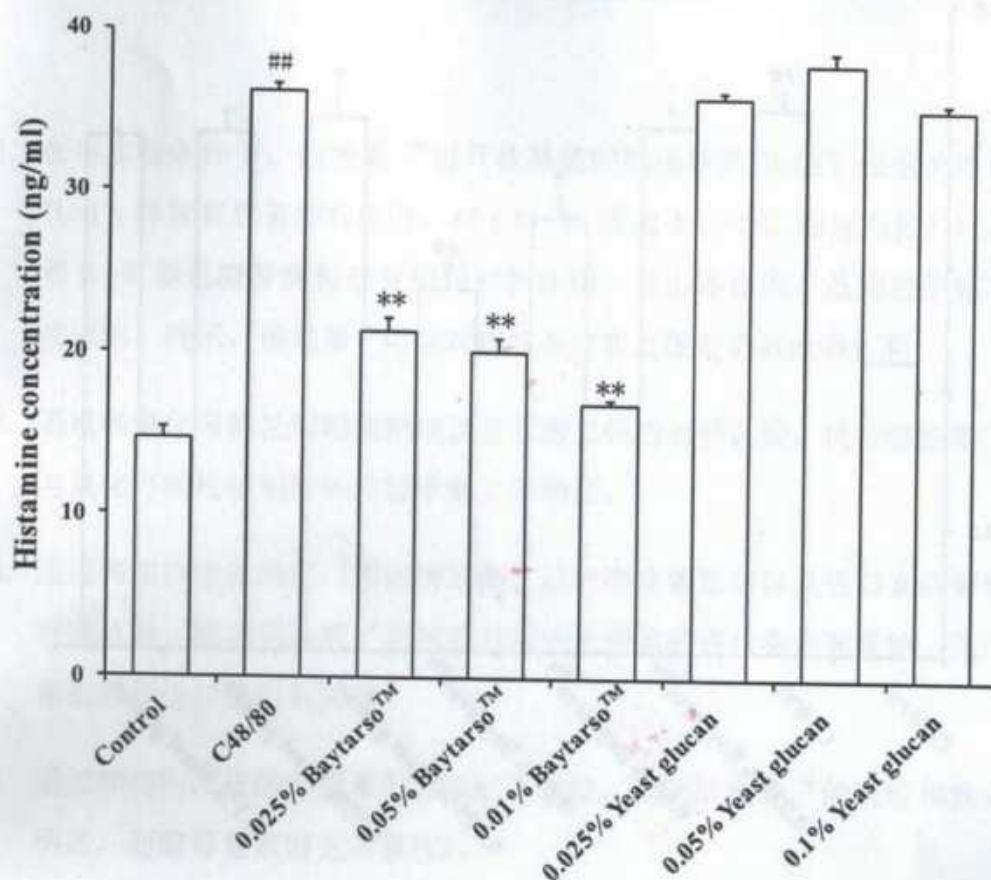


图 11 倍她素™和酵母葡聚糖对 C48/80 诱导的 RBL-2H3 细胞释放组胺的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; Yeast glucan: 酵母葡聚糖; ## $P<0.01$  vs. control group; \*\* $P<0.01$  vs. C48/80 group;  $n=4$ 。

## 2.2 倍她素™和酵母葡聚糖对 RBL-2H3 细胞释放 $\beta$ -氨基己糖苷酶的影响

如图 12 所示, 与正常对照组细胞相比, C48/80 刺激组细胞的 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放明显增加 ( $P<0.01$ )。C48/80 刺激同时给予 0.05%和 0.1%的倍她素™可明显降低 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放水平 ( $P<0.05$  和  $P<0.01$ ), 而相同浓度的酵母葡聚糖对 $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放无影响。



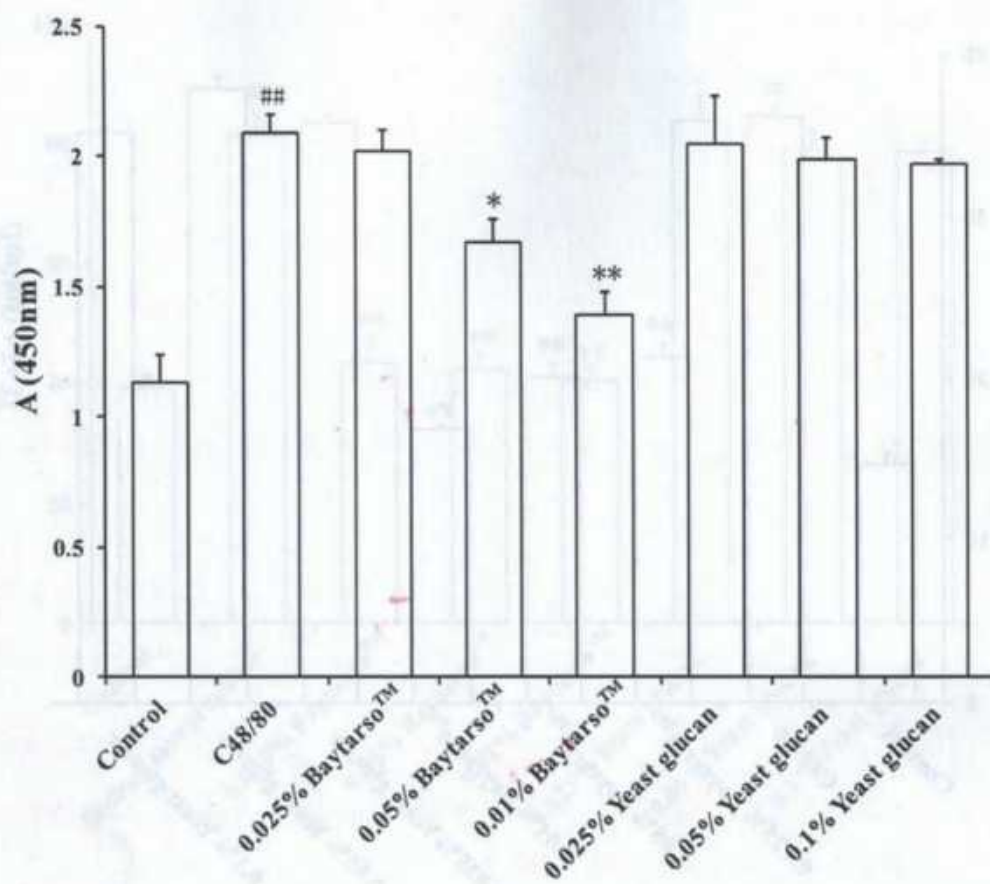


图 12 倍她素™和酵母葡聚糖对 C48/80 诱导的 RBL-2H3 细胞释放β-氨基己糖苷酶的影响。

Control: 正常对照组; Baytarso™: 倍她素™; Yeast glucan: 酵母葡聚糖; ## $P<0.01$  vs. control group; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs. C48/80 group;  $n=4$ 。

## 六、 结论

在本实验条件下, 0.025%、0.05%和 0.1% 倍她素™对月桂基硫酸钠诱导的 HaCaT 细胞炎性模型中 IL-1α 释放以及 C48/80 致敏 RBL-2H3 细胞释放组胺有明显抑制作用, 0.05%和 0.1% 倍她素™对β-氨基己糖苷酶释有抑制作用。而相同浓度的酵母葡聚糖对上述实验指标均无影响。

## PART IV 实验小结

1. 在本实验条件下, 倍她素™对月桂基硫酸钠诱导的 HaCaT 细胞炎性模型中 IL-1 $\alpha$  释放有显著抑制作用, 对 C48/80 致敏 RBL-2H3 细胞脱颗粒以及组胺和  $\beta$ -氨基己糖苷酶释放有明显抑制作用, 且上述作用不是通过细胞毒作用实现的。提示, 倍她素™可能对皮肤炎症和过敏有明显改善作用。
2. 通过和氢化可的松琥珀酸钠以及甘草酸二钾的对照试验, 提示倍她素™疗效与氢化可的松琥珀酸钠和甘草酸二钾相仿。
3. 通过和相同浓度的进口燕麦葡聚糖、国产燕麦葡聚糖以及进口真菌葡聚糖的对照试验, 提示倍她素™的抗敏作用优于同组的进口燕麦葡聚糖、国产燕麦葡聚糖和进口真菌葡聚糖。
4. 通过和相同浓度的酵母葡聚糖的对照试验, 提示倍她素™的抗敏和抗炎作用明显, 而酵母葡聚糖无明显作用。

报告人: 朱蕾, 叶真英

单位: 中国医学科学院基础医学研究所

2017年1月9日