

绿原酸致 RBL-2H3 细胞脱颗粒反应及机制研究

申 茜¹, 李 珍¹, 王 玉¹, 郭梦情², 庄朋伟², 张艳军^{3,4}, 郭 虹^{1*}

1. 天津中医药大学 中医药研究院, 组分中药国家重点实验室, 天津 301617

2. 天津中医药大学 中药学院, 现代中医药海河实验室, 组分中药国家重点实验室, 天津 301617

3. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

4. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300193

摘 要: 目的 研究绿原酸对大鼠嗜碱性白血细胞 RBL-2H3 脱颗粒作用及可能机制。方法 将不同质量浓度 (3.125、6.250、12.500、25.000、50.000、100.000、200.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的绿原酸作用于 RBL-2H3 细胞, 通过实时细胞分析 (RTCA) 系统检测绿原酸干预后引起的细胞指数 (CI) 值变化, 以评价 RBL-2H3 细胞脱颗粒情况; 利用甲苯胺蓝染色观察细胞形态变化; 化学荧光法测定组胺释放率; 底物显色法测定 β -氨基己糖苷酶释放率、类胰蛋白酶释放量; 网络药理学预测绿原酸诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒的潜在机制, 并应用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 对预测通路的主要靶点细胞外调节蛋白激酶 (ERK1)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) mRNA 水平进行检测。结果 绿原酸质量浓度 $\geq 6.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 可使 RBL-2H3 细胞的 CI 值在给药 20 min 后呈现先快速上升后下降的趋势; 绿原酸质量浓度 $\geq 12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, RBL-2H3 细胞逐渐变圆甚至呈现多边形; 与对照组比较, β -氨基己糖苷酶、组胺和类胰蛋白酶的释放量显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。网络药理学预测发现, 绿原酸致细胞脱颗粒作用可能与 MAPK、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 等信号通路相关; qRT-PCR 结果证实, 与对照组比较, 绿原酸可显著增加 ERK1、p38 MAPK mRNA 表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 但对 JNK mRNA 表达影响不显著。结论 绿原酸可通过激活 ERK1、p38 MAPK 通路诱导 RBL-2H3 细胞发生脱颗粒, 具有潜在的诱发类过敏反应作用。

关键词: 绿原酸; RBL-2H3 细胞; 脱颗粒; 类过敏反应; β -氨基己糖苷酶; 组胺; 类胰蛋白酶; 细胞外调节蛋白激酶 (ERK1); p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 02-0305-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.02.010

Degranulation response and mechanism of chlorogenic acid on RBL-2H3 cells

SHEN Qian¹, LI Zhen¹, WANG Yu¹, GUO Mengqing², ZHUANG Pengwei², ZHANG Yanjun^{3,4}, GUO Hong¹

1. State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Institute of Chinese Medicine, Tianjin University of Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. State Key Laboratory of Component Chinese Medicine, Haihe Laboratory of Modern Chinese Medicine, Chinese Materia Medica College, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

3. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

4. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To explore the degranulation response and mechanism of chlorogenic acid on RBL-2H3 cells. **Methods** After stimulation of RBL-2H3 cells with different concentration (3.125, 6.250, 12.500, 25.000, 50.000, 100.000, and 200.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) of chlorogenic acid, the cell index (CI) was monitored by using real-time cell analyzer (RTCA) in order to evaluate the degranulation response of RBL-2H3. The cell morphology was observed by using toluidine blue. The fluorescence method were used to verify histamine release and beta-hexose glucosidase, tryptase release were used to verify the degranulation of RBL-2H3 cells by colorimetric method. Potential mechanisms of degranulation response of chlorogenic acid on RBL-2H3 cells was predicted by network pharmacology and the mRNA levels of extracellular regulatory protein kinase (ERK1), c-Jun amino terminal kinase (JNK) and p38 mitogen activated protein kinase (MAPK), which were the main targets of the predicted pathway, were detected by real-time

收稿日期: 2022-10-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1706804)

第一作者: 申 茜, 女, 硕士, 研究方向为中药药理与毒理学。E-mail: shenqian0105@163.com

*通信作者: 郭 虹, 副研究员, 研究方向为中药防治脑血管及神经药理研究。E-mail: cacti1983@163.com

quantitative PCR (qRT-PCR). **Results** Chlorogenic acid at concentrations greater than $6.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ could significantly increase the CI value of RBL-2H3 cells and at concentrations greater than $12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ could make the cell morphology change obviously and increased levels of histamine, β -hexose glucosidase and trypsin released compared with control group ($P < 0.05, 0.01$, and 0.001). A network pharmacology approach was found that the degranulation response of chlorogenic acid on RBL-2H3 cells was mainly associated with MAPK signaling pathways and PI3K/Akt signaling pathways. qRT-PCR assays confirmed that *ERK1*, *p38 MAPK* mRNA levels were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$) in chlorogenic acid group and chlorogenic acid didn't obviously affect the expression of *JNK* mRNA compared with control group. **Conclusion** Chlorogenic acid can induce degranulation response of RBL-2H3 cells via the ERK1, p38 MAPK pathway and maybe induce anaphylactoid reactions.

Key words: chlorogenic acid; RBL-2H3 cells; anaphylactoid reactions; mechanism of allergy; β -aminoglycosidase; histamine; trypsin; extracellular regulatory protein kinase (ERK1); p38 mitogen activated protein kinase (MAPK)

绿原酸是金银花、栀子、茵陈等清热解毒类中药的有效成分。有研究表明,清开灵注射液和双黄连注射液的过敏反应与绿原酸有关^[1-2]。目前,对于绿原酸诱导的过敏反应类型仍存有争议^[3],对绿原酸是否会引发由肥大细胞脱颗粒介导的类过敏反应及反应机制仍没有确切的研究结论。因此,在含有绿原酸中药的研发和应用中,有必要考虑其是否会直接刺激肥大细胞脱颗粒,诱导机体类过敏反应。本研究旨在通过观察绿原酸对大鼠嗜碱性细胞白血病细胞(RBL-2H3)脱颗粒的影响,揭示绿原酸引起的类过敏反应及可能机制,为含绿原酸中药的安全性研究提供参考。

1 材料

1.1 细胞

RBL-2H3细胞,购自北纳生物科技有限公司。

1.2 药品和主要试剂

甲苯胺蓝(批号1002341392)、4-硝基苯基-N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖(批号N9376),购自美国Sigma公司;Na-苯甲酰-DL-精氨酸-对硝基酰胺盐酸盐(BAPNA,批号B9060)购自北京Solarbio公司;绿原酸(批号A22GB158496,质量分数 $\geq 98\%$)购自成都瑞芬思公司;总RNA提取试剂盒、RNA反转录试剂盒购自普洛麦格生物技术有限公司;DNA扩增试剂盒购自天根生化科技有限公司;Compound 48/80(C40/80,批号1002340712)购自北京Sigma公司。

1.3 主要仪器

细胞培养箱(美国Thermo公司);倒置相差显微镜(德国徕卡);Flexstation 3多功能酶标仪工作站(Molecular Devices);实时细胞分析(RTCA)系统、16孔电极板(美国罗氏公司);PCR仪(美国Bio-rad公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

RBL-2H3细胞培养于含15%胎牛血清的

DMEM培养基,置于 37°C 、5% CO_2 的培养箱中培养。每3天按照1:3比例传代1次,取对数生长期的细胞进行实验。

2.2 RTCA系统检测绿原酸对RBL-2H3细胞脱颗粒作用

参考本课题组前期建立的方法^[4],利用RTCA系统进行细胞脱颗粒检测。RBL-2H3细胞以 $2 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 密度接种于16孔板中,每孔100 μL 。实验分为对照组、C48/80($30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)组和梯度质量浓度(3.125、6.250、12.500、25.000、50.000、100.000、200.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的绿原酸组,对照组加入等体积的磷酸盐缓冲溶液(PBS)。加药后,设置监测间隔为3 min,监测12 h。通过RTCA系统实时监测细胞状态,并绘制出RBL-2H3细胞的实时特征细胞指数(CI)值曲线。

2.3 甲苯胺蓝染色考察绿原酸对RBL-2H3细胞的影响

RBL-2H3细胞以 $2 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度接种于6孔板,每孔2 mL。分组及给药同“2.2”项,药物作用60 min后,每孔加入0.5%的甲苯胺蓝染液20 μL ,染色3 min,倒置显微镜下观察细胞形态变化。

2.4 检测细胞因子释放量分析绿原酸诱导的RBL-2H3细胞脱颗粒

2.4.1 组胺释放率的测定 RBL-2H3细胞以 $2 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度均匀接种于48孔板,每孔加液250 μL ,分组及给药操作同“2.2”项, 37°C 孵育60 min。取细胞上清100 μL 置于测试板中,加入50 μL $0.4 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH和10 μL 1%邻苯二甲醛-甲醇溶液,混匀,室温放置10 min后,加入50 μL $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl终止反应,酶标仪检测荧光值(入射波长360 nm,激发波长450 nm)。剩余的细胞板每孔加入320 μL 0.5%的Triton100-PBS溶液裂解, 37°C 孵育30 min后,取细胞裂解液100 μL 检测组胺。计算组胺释

放率。

组胺释放率 = 上清荧光值 / (上清荧光值 + 裂解液荧光值)

2.4.2 β -氨基己糖苷酶释放率的测定 待测样品为“2.4.1”项中细胞的上清和裂解液。每孔均匀加入待测上清或裂解液 10 μL 后,立即加入 90 μL 基底溶液(10 mL 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸盐溶液 + 3.423 mg 4-硝基苯-N-乙酰基-酰基酸盐葡萄糖胺),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。每孔加入 200 μL 碳酸钠溶液终止反应,混合均匀后立即在酶标仪 405 nm 处检测吸光度(A)值。上清和裂解液需分开检测。

β -氨基己糖苷酶释放率 = $A_{\text{上清}} / (A_{\text{上清}} + A_{\text{裂解}})$

2.4.3 类胰蛋白酶释放量的测定 待测样品为“2.4.1”项中冻存的上清,实验设置标准品组和实验组。称取胰蛋白酶 0.01 g, PBS 稀释后绘制标准曲线。每孔加入 130 μL 的 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl(pH 7.4),加入 4 μL 底物(20 mg BAPNA+1 mL DMSO),加入 20 μL 待测样品/胰蛋白酶溶液,混合均匀,30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min 后加入 50 μL 30% 乙酸终止反应,在酶标仪 405 nm 处检测 A 值,根据标准曲线,计算类胰蛋白酶实际释放量。

2.5 绿原酸致 RBL-2H3 细胞脱颗粒机制预测

2.5.1 绿原酸靶点的筛选及过敏反应相关蛋白的获取 为了预测绿原酸的靶点,首先从中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSP 数据库(<https://old.tcmsp.e.com/tcmsp.php>)中获取绿原酸 mol2 格式的文件并上传到 PharmMapper 数据库(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)中,以“Homo sapiens”和 normal fit score ≥ 0.6 为筛选标准,筛选出绿原酸的主要靶点。

以“allergic”为关键词,在 Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)和 TTD 数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)中进行检索,获得与过敏相关的靶点基因。将绿原酸主要靶点与疾病相关靶点取交集,作为绿原酸致 RBL-2H3 细胞脱颗粒的潜在作用靶点。

2.5.2 京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析 使用 David 数据库(<https://david.ncicrf.gov/>)对绿原酸致 RBL-2H3 细胞脱颗粒的靶基因进行 KEGG 通路富集分析,根据富集靶标数量由多到少进行排序,再选取富集靶标数量最多的前 10 条通路,使用 R 软件对 KEGG 通路富集分析结果进行可视化展示。结合相关研究文献对该 10 条通路进行

分析,筛选出与脱颗粒相关的通路,作为本研究的主要分析对象以及绿原酸致 RBL-2H3 细胞脱颗粒的潜在作用机制。最后将成分-靶点-通路导入到 Cytoscape 3.8.0 软件进行可视化。

2.6 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)考察预测通路主要靶点在 mRNA 水平的表达情况

取 RBL-2H3 细胞均匀铺于 6 孔板,培养 24 h 后,50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的绿原酸刺激 1 h,进行细胞总 RNA 抽提,并反转录成 cDNA,以 cDNA 为模板,进行 qRT-PCR 实验,检测各组细胞外调节蛋白激酶(*ERK1*)、c-Jun 氨基末端激酶(*JNK*)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(*MAPK*)mRNA 的表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

基因	基因序列(5'→3')
<i>ERK1</i>	正向: ACCCTGAGCAGCAGCCACTG
	反向: CAGCCCACAGACCAGATGTCAATG
<i>JNK</i>	正向: CCACCACCAAAGATCCCTGACAAG
	反向: GACGCCATTCTTAGTTTCGCTCCTC
<i>p38 MAPK</i>	正向: GATAAGAGGATCACAGCAGCCCAAG
	反向: TCGTAGGTCAGGCTCTTCCATTCTG
β -actin	正向: ACCGTGAAAAGATGACCCAG
	反向: TCTCAGCTGTGGTGGTGAAG

3 结果

3.1 绿原酸可以引起 RBL-2H3 细胞脱颗粒

3.1.1 绿原酸对 RBL-2H3 细胞 CI 值的影响 如图 1 所示,给药 20 min 后, RBL-2H3 细胞的 CI 值发生了明显变化:阳性药 C48/80 组呈先快速上升后下降而后缓慢上升的趋势;对照组呈先快速下降再快速上升而后缓慢上升的趋势;绿原酸质量浓度 $\geq$

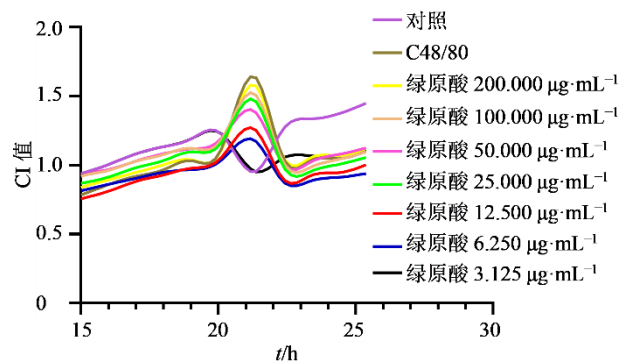


图 1 基于 RTCA 考察绿原酸对细胞脱颗粒的影响
Fig. 1 RTCA monitoring of chlorogenic acid induced degranulation of RBL-2H3 cells

6.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可使RBL-2H3细胞的CI值变化趋势与C48/80一致;绿原酸质量浓度 $\leq 3.125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时RBL-2H3细胞的CI值变化趋势与对照组一致。提示绿原酸浓度 $\geq 6.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可使RBL-2H3细胞发生脱颗粒。

3.1.2 绿原酸对RBL-2H3细胞形态的影响 甲苯胺蓝染色后,对照组细胞生长良好,呈梭形;C48/80组细胞呈圆形;绿原酸作用于细胞60 min后,随着浓度的增加,细胞逐渐变圆甚至呈现多边形,发生明显的脱颗粒现象。见图2。

3.1.3 绿原酸对RBL-2H3细胞 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶、组胺释放量的影响 如图3所示,与对照组比较,C48/80引起的组胺释放率显著增加($P < 0.001$);质量浓度 $< 12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的绿原酸没有引起组胺、 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶释放增加;质量浓度 $\geq 12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的绿原酸引起的组胺、 β -氨基己糖苷酶、类胰蛋白酶释放量显著高于对照组($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。

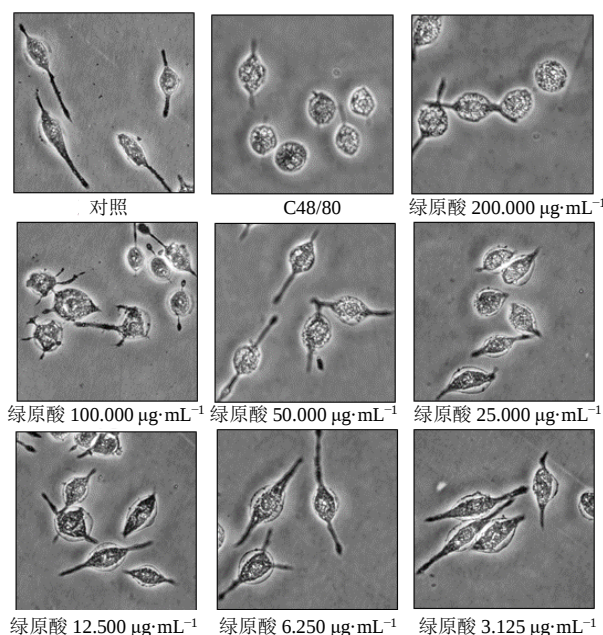


图2 甲苯胺蓝染色考察绿原酸对细胞形态的影响($\times 40$)

Fig. 2 Toluidine blue staining to investigate effect of chlorogenic acid on RBL-2H3 cells morphology ($\times 40$)

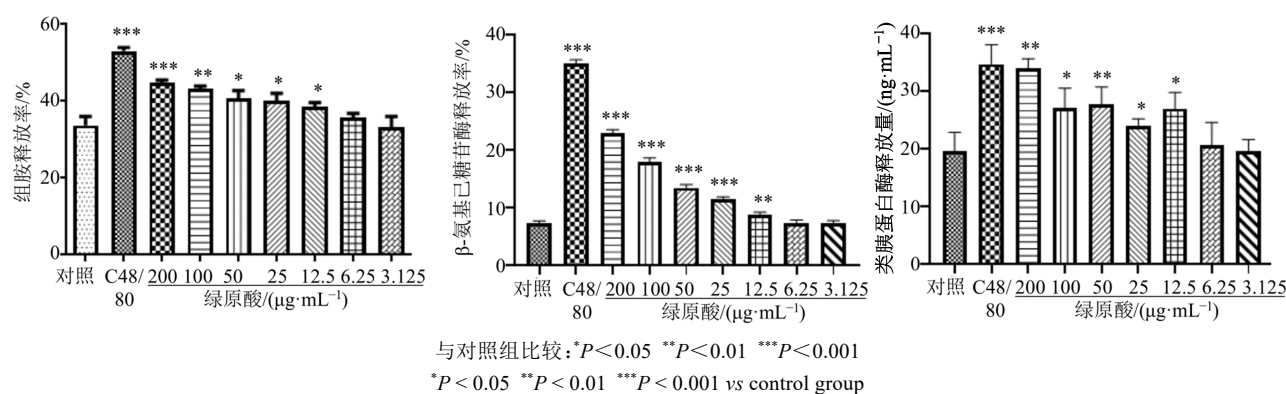


图3 炎症介质释放率

Fig. 3 Release rate of inflammatory mediators

3.2 绿原酸通过 ERK1、p38 MAPK 通路诱导 RBL-2H3 细胞脱颗粒

将数据库检索到的过敏反应靶点汇总并剔除重复项后共得到3 441个靶点,与绿原酸的140个主要作用靶点进行匹配,共获得交集靶点24个,见图4。KEGG信号通路分析结果显示(图5),与绿原酸致敏反应相关性最强的是MAPK信号通路。

通过qRT-PCR实验对预测的绿原酸致敏靶点进行验证。结果显示,与对照组比较,绿原酸处理后可显著增加RBL-2H3细胞ERK1、p38 MAPK的mRNA表达水平($P < 0.05, 0.01$),而对JNK的mRNA表达有增加趋势,但是无显著影响。结果表明绿原酸可通过ERK1、p38 MAPK途径引起RBL-

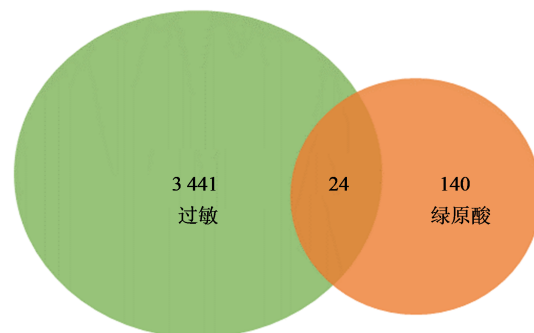


图4 绿原酸靶点与过敏反应相关靶点 Venn 图

Fig. 4 Venn diagram of chlorogenic acid targets and targets in allergic diseases

2H3细胞脱颗粒,从而诱导类过敏反应的发生。结果见图6。

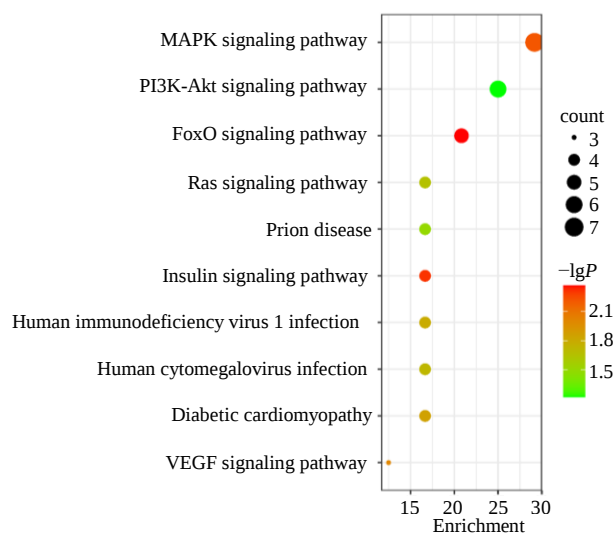


图5 绿原酸致敏作用靶点 KEGG 富集通路分析(排名前10)
Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of sensitized targets of chlorogenic acid (top 10 of rank)

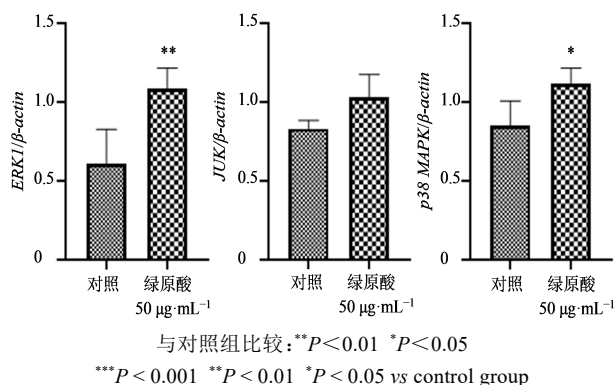


图6 绿原酸对 MAPK 信号通路主要靶点 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 6 Effects of chlorogenic acid on MAPK signaling pathways in mRNA expression ($\bar{x} \pm s, n=6$)

4 讨论

绿原酸被认为是众多药材和中成药抗菌解毒^[5]、消炎利胆的主要有效成分,然而其又是中药制剂中一种可疑的致敏物质,其安全性问题近年来备受关注。目前,对于绿原酸引起的过敏反应主要有2种观点:一种认为绿原酸是一种半抗原,可与蛋白质上的氨基酸结合,引发 IgE 介导的 I 型过敏反应^[6]。但临床报道,含有绿原酸的中药制剂引发的过敏样症状大多发生在首次给药后的 60 min 内,且无需 IgE 介导^[7]。因此另一种观点认为,绿原酸可作为致敏原直接刺激肥大细胞脱颗粒,诱导类过敏反应的发生。类过敏反应的主要特点为肥大细胞脱颗粒介导,首次用药即可出现过敏样症状。张信岳等^[8]为未致敏的豚鼠注射绿原酸溶液后,发现豚鼠出现过敏样症状。余海滨等^[9]、汪芳等^[10]也证实

绿原酸与类过敏反应密切相关。本研究以 RBL-2H3 细胞为模型,应用课题组前期建立的基于 RTCA 的中药注射液类过敏反应评价体系^[4],发现绿原酸可呈剂量相关性刺激 RBL-2H3 细胞发生脱颗粒现象,具有潜在的诱发类过敏反应作用。

但是由于目前缺乏致敏机制的相关研究,绿原酸引发 I 型超敏反应仍是普遍接受的观点。因此,寻找绿原酸诱导 RBL-2H3 细胞发生脱颗粒的反应机制较为迫切。本研究基于网络药理学,结合靶点预测、KEGG 通路富集分析初步发现 MAPK 信号通路是绿原酸引起致敏反应的潜在机制。MAPK 作为经典的信号通路,可以调控下游众多信号分子,引发级联反应。如花生引起的过敏反应与 MAPK 信号通路调控哮喘基因产生 Th2 细胞因子有关^[11];二硝基氟苯诱导的过敏性皮炎与 MAPK 信号通路调控的促炎因子释放有关^[12]。既往研究也发现,肥大细胞脱颗粒亦与 MAPK 通路的激活有关^[13]。

MAPK 家族由 ERK、JNK 和 p38 MAPK 3 种蛋白激酶组成。本研究中,绿原酸作用于 RBL-2H3 细胞后,可引起 ERK1 和 p38 MAPK mRNA 表达显著增加,提示绿原酸通过 ERK1、p38 MAPK 通路引起 RBL-2H3 细胞脱颗粒,这与青藤碱促进 RBL-2H3 细胞脱颗粒的机制相似^[14]。文献报道,ERK1 的激活使 RBL-2H3 细胞释放花生四烯酸,并在环氧化酶的作用下转化为前列腺素,进一步刺激 RBL-2H3 细胞脱颗粒。ERK1 敲除的小鼠过敏反应症状得到缓解,证实了 ERK1 在过敏反应中起着重要的调控作用^[15]。肥大细胞脱颗粒和炎症反应具有相互促进的作用^[16]。p38 MAPK 被认为是炎症反应的重要调节因子,其激活可促进肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、组胺等促炎因子的表达,提升肥大细胞脱颗粒强度,增加类过敏反应风险。

本研究中,绿原酸并没有显著提高 JNK 的 mRNA 表达,而 JNK 被认为是 IgE 相关反应的开关^[15],再次验证了绿原酸可以直接刺激肥大细胞发生脱颗粒诱导类过敏反应发生,而不完全依赖于 IgE 介导的过敏机制。本研究发现绿原酸可直接刺激 RBL-2H3 细胞发生脱颗粒,其致敏机制与 ERK1、p38 MAPK 信号通路的激活有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 廖国平. 清开灵注射液致小鼠 IgE 介导的过敏反应模型建立与绿原酸变应原性研究 [D]. 广州: 南方医科大学,

- 2012.
- Liao G P. The study on modeling a murine model of immunoglobulin-E (IgE)-mediated Qingkailing injection anaphylaxis and the allergenicity of chlorogenic acid [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2012.
- [2] 张瑞霞, 汤纳平, 林海霞, 等. 绿原酸和双黄连粉针剂致敏性比较评价 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2010, 12(6): 1005-1008.
- Zhang R X, Tang N P, Lin H X, et al. Allergenicity assessment and comparison between chlorogenic acid and Shuanghuanglian Fenzhenji [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med, 2010, 12(6): 1005-1008.
- [3] 胡婧文. 绿原酸在中药注射剂中是否产生致敏性的探讨 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(1): 215-217.
- Hu J W. Discussion on whether chlorogenic acid produces sensitization in traditional Chinese medicine injection [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2016, 27(1): 215-217.
- [4] 范姗姗, 陈瑞, 尹清晟, 等. 基于实时细胞分析技术评价注射用益气复脉(冻干)类过敏反应 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 411-416.
- Fan S S, Chen R, Yin Q S, et al. Evaluation of anaphylactoid reaction of Yiqi Fumai Lyophilized Injection based on real-time cell analysis technique [J]. Drug Eval Res, 2018, 41(3): 411-416.
- [5] 樊荣, 羿国娟, 鲁兰, 等. 绿原酸及其13种体内主要代谢物的体外抗菌作用研究 [J]. 中草药, 2020, 51(24): 6239-6245.
- Fan R, Yi G J, Lu L, et al. Antimicrobial activities of chlorogenic acid and 13 main metabolites *in vitro* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(24): 6239-6245.
- [6] 彭博, 贺蓉, 徐启华, 等. 绿原酸对RBL-2H3细胞脱颗粒作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(7): 912-917.
- Peng B, He R, Xu Q H, et al. Effect of chlorogenic acid on degranulation in mast cell RBL-2H3 [J]. China J Chin Mater Med, 2011, 36(7): 912-917.
- [7] 梁爱华, 易艳. 中药注射剂超敏反应评价和风险控制相关问题的思考 [J]. 药学进展, 2020, 44(10): 752-758.
- Liang A H, Yi Y. Thoughts on the related issues of hypersensitivity evaluation and risk control of traditional Chinese medicine injection [J]. Prog Pharm Sci, 2020, 44(10): 752-758.
- [8] 张信岳, 陈爱君, 李钦, 等. 绿原酸主动全身过敏与被动皮肤过敏的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2011, 18(2): 127-128.
- Zhang X Y, Chen A J, Li Q, et al. Experimental study on active systemic allergy and passive skin allergy of chlorogenic acid [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol, 2011, 18(2): 127-128.
- [9] 余海滨, 刘青, 崔琳. 脉络宁针剂致敏RBL-2H3细胞的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 245-248.
- Yu H B, Liu Q, Cui L. Study of mailuoning cause an allergic the RBL-2H3 cells [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2013, 19(3): 245-248.
- [10] 汪芳, 李存玉, 郑云枫, 等. 双黄连注射液中8种主要成分对RBL-2H3细胞的影响 [J]. 中成药, 2016, 38(7): 1615-1617.
- Wang F, Li C Y, Zheng Y F, et al. Effects of eight main components in Shuanghuanglian Injection on RBL-2H3 cells [J]. Chin Tradit Pat Med, 2016, 38(7): 1615-1617.
- [11] Wang J J, Song R L, Lan R X, et al. Peanut allergen induces more serious allergic reactions than other allergens involving MAPK signaling pathways [J]. Food Funct, 2022, 13(17): 8818-8828.
- [12] Li W H, Ding F M, Zhai Y, et al. IL-37 is protective in allergic contact dermatitis through mast cell inhibition [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 83: 106476.
- [13] Oh P S, Lim K T. IgE, COX-2, and IL-4 are expressed by DEHP through p38 MAPK and suppressed by plant glycoprotein (75 kDa) in ICR mice [J]. Inflammation, 2011, 34(5): 326-334.
- [14] Huang L F, Li T, Zhou H, et al. Sinomenine potentiates degranulation of RBL-2H3 basophils *via* up-regulation of phospholipase A₂ phosphorylation by Annexin A1 cleavage and ERK phosphorylation without influencing on calcium mobilization [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28(2): 945-951.
- [15] Chialda L, Zhang M X, Brune K, et al. Inhibitors of mitogen-activated protein kinases differentially regulate costimulated T cell cytokine production and mouse airway eosinophilia [J]. Respir Res, 2005, 6(1): 36.
- [16] 陈默, 赵亚, 魏少敏. 抗炎抗敏之肥大细胞脱颗粒方法研究进展 [A]//第九届中国化妆品学术研讨会论文集(上) [C]. 上海: 中国香料香精化妆品工业协会, 2012: 81-85.
- Chen M, Zhao Y, Wei S M. Research progress of mast cell degranulation for anti-inflammation and anti-sensitization [A]// Proceedings of the 9th China Cosmetic Symposium (Part 1) [C]. Shanghai: China Fragrance & Cosmetics Industry Association, 2012: 81-85.

[责任编辑 兰新新]