

水栀子及京尼平苷抑制 RBL-2H3 细胞脱颗粒作用的代谢组学研究

王洋洋¹, 周 宁¹, 赵莹莹¹, 刘 振¹, 刘振辉¹, 郑晓珂^{1,2*}, 冯卫生^{1,2}, 王彦志¹, 张艳丽¹

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 基于细胞代谢组学的方法研究水栀子 *Gardenia jasminoside* 及其主要有效成分京尼平苷对 RBL-2H3 细胞脱颗粒模型的干预作用。**方法** 利用 UPLC-QTOF-MS 高分辨质谱检测 RBL-2H3 细胞的代谢轮廓改变, 并应用主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 筛选出引起这种差异的代谢标志物; 同时应用 MEV 软件对差异标志物水平的变化进行聚类分析和热图绘制。**结果** 分别得到与水栀子和京尼平苷作用相关的代谢标志物 54 和 46 个, 其中共有标志物 31 个, 且在 2 个给药组中变化趋势相同。由共有代谢标志物富集得到了受干扰的 5 条代谢通路: 甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酸代谢, 谷胱甘肽代谢, 组胺代谢, 能量代谢, 烟酰胺代谢。**结论** 水栀子和京尼平苷通过调节组胺代谢、氧化应激和能量代谢而抑制 RBL-2H3 细胞脱颗粒过程, 且京尼平苷是水栀子发挥主要药效物质基础之一。

关键词: 水栀子; 京尼平苷; RBL-2H3 细胞; 脱颗粒; 代谢组学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)02-0412-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.018

Metabolomic study of *Gardenia jasminoside* var. *radicans* and geniposide on degranulation model of RBL-2H3 cells

WANG Yang-yang¹, ZHOU Ning¹, ZHAO Ying-ying¹, LIU Zhen¹, LIU Zhen-hui¹, ZHENG Xiao-ke^{1,2}, FENG Wei-sheng^{1,2}, WANG Yan-zhi¹, ZHANG Yan-li¹

1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Co-construction Collaborative Innovation Center for Respiratory Diseases Prevention by Chinese Medicine of Henan & Ministry of Education, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To study the intervention effect of *Gardenia jasminoside* var. *radicans* and its main effective component of geniposide on the degranulation model of RBL-2H3 cells based on metabolomics. **Methods** The changed metabolite profile of RBL-2H3 cells was detected by UPLC-QTOF-MS; PCA (principal component analysis) and OPLS-DA (orthogonal partial least squares discriminant analysis) in SIMCA software were used to select the potential biomarkers. Meanwhile, the clustering and heat map analysis for those potential biomarker levels were carried out by MEV software. **Results** A total of 54 and 46 relevant biomarkers of *G. jasminoside* var. *radicans* and geniposide were selected, of which 31 biomarkers enriched in five disturbed metabolite pathways, including glycine, aspartic acid and glutamate metabolism, glutathione metabolism, histamine metabolism, energy metabolism, and nicotinamide metabolism pathways. **Conclusion** *G. jasminoside* var. *radicans* and geniposide exerts the inhibitory effect on the degranulation model of RBL-2H3 cells by regulating histamine metabolism, oxidative stress and energy metabolism, and geniposide was one of the main efficacious substance basis of *G. jasminoside* var. *radicans*.

Key words: *Gardenia jasminoside* Ellis. var. *radicans* (Thunb.) Makino; geniposide; RBL-2H3 cells; degranulation; metabolomic

过敏反应又被称为变态反应, 是指外源性抗原物质与机体抗体接触时免疫系统发生的一种过度反应, 通常被认为是免疫系统的紊乱^[1-3]。其反应机制

主要有免疫球蛋白 E (IgE) 介导的 I 型过敏反应和不依赖 IgE 参与的辅助型 T 淋巴细胞 1 (Th1)、辅助型 T 淋巴细胞 2 (Th2) 之间的免疫失衡 2 种形式^[4]。

收稿日期: 2019-07-11

基金项目: 中央引导地方科技发展专项: 河南道地大宗药材种质评价及集约化种植与示范 (豫财科 [2016] 149 号); 河南省高层次人才特殊支持计划“中原千人计划”-中原领军人才 (ZYQR201810080); 2018 年度河南省重大科技专项 (国际合作): 水栀子抗动脉粥样硬化药效物质基础研究 (182102410080)

作者简介: 王洋洋 (1993—), 男, 硕士生, 从事中药药效物质基础研究。Tel: 13290962202 E-mail: wyyang2017@163.com

***通信作者** 郑晓珂 (1961—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (0371)60190296 E-mail: zhengxk.2006@163.com

其中 I 型过敏反应在临床中最为多见,其发生过程主要是由过敏原进入机体后可诱导 B 细胞产生 IgE 抗体,而肥大细胞表面的 IgE 受体与之结合,使机体处于致敏的状态,当再次接触致敏原时可触发肥大细胞脱颗粒反应,其脱颗粒程度与变态反应的强度呈正相关的变化趋势^[5]。

水 梔 子 为 茜 草 科 植 物 水 梔 子 *Gardenia jasminoside* Ellis. var. *radicans* (Thunb.) Makino 的干燥成熟果实,主产于江西、湖南、湖北等地,具有解热、镇静止痛和疏风解湿的功效。现代研究表明,水 梔 子 具 有 抗 氧 化、降 血 糖 和 神 经 保 护 等 作 用^[6-7],主要化学成分有梔子油、环烯醚萜苷、萜类、黄酮类、有机酸类、多糖类等成分^[8-9],以环烯醚萜苷类中的京尼平苷含量最高^[6]。本课题组在前期活性筛选中发现,水 梔 子 和 京 尼 平 苷 均 具 有 良 好 的 抗 过 敏 活 性,而肥大细胞作为过敏反应中的受体细胞,能直接反映在过敏原刺激下的代谢状态变化^[10],且大鼠嗜碱性细胞白血病粒细胞系 RBL-2H3 具有肥大细胞的多种生物学特性,是体外研究肥大细胞功能的重要工具^[11]。因此,本实验采用细胞代谢组学^[12]的研究方法,基于 RBL-2H3 细胞脱颗粒模型探讨水 梔 子 和 京 尼 平 苷 对 细 胞 内 代 谢 的 干 预 作 用,从 而 进 一 步 阐 释 水 梔 子 抗 过 敏 作 用 的 相 关 机 制 和 物 质 基 础。

1 材料

1.1 药材与试剂

水 梔 子 购 自 河 南 省 唐 河 县,经河南中医药大学陈随清教授鉴定为茜草科梔子属植物水 梔 子 *Gardenia jasminoside* Ellis. var. *radicans* (Thunb.) Makino 的干燥成熟果实。C48/80 (4-硝基苯基-*N*-乙酰- β -*D*-氨基半乳糖苷, Sigma 公司); DMEM 培养基 (Gibco 公司); 台氏液 (BBS, 北京索莱宝科技有限公司); 胎牛血清 (杭州四季青生物工程研究所); 胰酶 (Biosharp 公司); 青霉素/链霉素 (北京索莱宝科技有限公司); 京尼平苷由本实验室从水 梔 子 中 分 离 得 到,其 质 量 分 数 大 于 95%; 甲 醇、乙 腈、甲 酸 (色 谱 纯, 美 国 Fisher Scientific 公司); 纯净水 (娃哈哈集团有限公司)。

1.2 细胞

RBL-2H3 细胞购自中国科学院细胞库。

1.3 仪器

CO₂ 培养箱 (美国 Thermo Scientific 公司); maXis HD 四极杆-飞行时间质谱 (德国 Bruker 公司); Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱仪 (美

国 Thermo Scientific 公司); 5810R 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 水 梔 子 水 提 物 的 制 备

取水 梔 子 适 量,10 倍 量 水 煎 煮 3 次,每 次 1 h,滤过合并滤液,减压冷冻干燥,称质量,提取率为 22.7%,得到水 梔 子 提 取 物 (含 京 尼 平 苷 15.81%)^[13]。

2.2 细胞培养、分组及给药

用含有 15%胎牛血清、青霉素 66.7 mg/L、链霉素 100 mg/L 的 DMEM 完全培养基于 5% CO₂、37 °C 的饱和湿度培养箱中培养 RBL-2H3 细胞,取对数生长期细胞接种于培养皿中,培养 24 h,细胞数量达到 80%以上 (2×10^5 个/mL) 后,设置对照组、模型组、水 梔 子 水 提 物 (水 梔 子) 组 和 京 尼 平 苷 组,每 组 平 行 培 养 8 份。对 照 组 给 予 相 同 体 积 的 台 氏 液; 模 型 组 给 予 含 有 20 μ g/mL C48/80 的 台 氏 液^[14]; 水 梔 子 组 给 予 含 有 20 μ g/mL C48/80 和 10 μ g/mL (基于前期对水 梔 子 和 京 尼 平 苷 最 佳 质 量 浓 度 的 筛 选 确 定) 水 梔 子 水 提 物 的 台 氏 液; 京 尼 平 苷 组 给 予 含 有 20 μ g/mL C48/80 和 10 μ mol/L 京 尼 平 苷 的 台 氏 液,4 组 细 胞 均 放 入 培 养 箱 中 孵 育 30 min 后 进 行 样 本 的 制 备。

2.3 细胞样本的制备

在细胞培养箱中孵育 30 min 后,移去细胞上清液,用预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS, -20 °C 预冷 20 min) 洗涤 2 次,向每皿中加入 0.05% 的胰蛋白酶溶液 1 mL 收集细胞,2~3 min 后加入 2 mL 的培养液终止胰酶的消化,在预冷转子的离心机中 1 500 r/min、4 °C 离心 6 min,移去上清液,加入 -20 °C 的甲醇-水 (4:1) 1 mL,然后将细胞在冰浴中超声破碎处理 10 min,随后在 13 000 r/min、4 °C 离心 10 min。收集上清液并用 N₂ 吹干,将残余物用乙腈-水 (1:1) 复溶,再次 13 000 r/min、4 °C 离心 10 min,将上清液转移至进样瓶中供 LC-MS 分析^[12]。质控样本 (QC) 是从所有样本中分别取 40 μ L 混合到进样瓶中制备得到。在进序列前先连续进 QC 样本 6 次,以检测仪器的稳定性。

2.4 检测条件

2.4.1 色谱条件 Thermo AcclaimTM RSLC120 C₁₈ 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.2 μ m); 体积流量 0.3 mL/min; 进样体积 2 μ L; 柱温 40 °C; 流动相 A 为 0.1% 甲酸-水溶液、B 为乙腈,梯度洗脱条件: 0~7 min, 98%~85% A; 7~19 min, 85%~72% A; 19~20 min, 72%~2% A。

2.4.2 质谱条件 质谱离子源为电喷雾 (ESI) 离子源, 正、负离子检测模式; 毛细管电压为 3 500 V (ESI⁺) 和 3 200 V (ESI⁻), 雾化器压力为 800 kPa; 去溶剂气体流量为 8 L/min, 温度为 230 °C, 质量扫描范围 m/z 500~1 500。

2.5 数据处理

将仪器采集的谱图信息通过 Bruker 质谱软件 (DataAnalysis 4.2、ProfileAnalysis 2.1) 对原始质谱数据进行数据的校正、滤噪、峰对齐以及归一化等处理, 并将质谱数据转化得到的二维矩阵列表再导入 SIMCA 13.0 软件中进行主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)。根据 VIP 值 ($VIP > 3.5$) 和 S-plot 图筛选对照组和模型组的差异代谢物, 并利用 SPSS 19.0 软件对差异代谢物进行 t 检验统计学分析。并采用 MEV 4.9.0 软件对筛选的差异代谢物水平进行热图绘制和聚类分析。最后通过 MetaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca>) 和 KEGG (<https://www.kegg.jp>) 等在线数据库进行代谢通路的富集和构建。

3 结果

3.1 代谢轮廓分析

将对照组、模型组、水栀子组和京尼平苷组的

LC-MS 代谢轮廓数据进行 PCA 后可知, 对照组与模型组样本各自聚为一类, 并且能完全分离, 说明在 C48/80 的刺激下 RBL-2H3 细胞的代谢轮廓发生显著改变, 代谢物的种类或水平发生了明显变化, 即模型建立成功 (图 1, $R^2_X=0.480$; $Q^2=0.714$)。在分别给予水栀子 ($R^2_X=0.840$; $Q^2=0.735$) 和京尼平苷 ($R^2_X=0.806$; $Q^2=0.660$) 后, 水栀子和京尼平苷给药组细胞在第 2 主成分的方向上能够与模型组细胞明显区分, 并与对照组细胞靠近, 表明水栀子和京尼平苷对 RBL-2H3 细胞脱颗粒模型的代谢异常均有一定的干预作用。

3.2 潜在标志物的筛选

为了寻找水栀子和京尼平苷主要干预的代谢物, 在 PCA 后, 对模型组与水栀子组、京尼平苷组, 分别进行了 OPLS-DA 分析 (图 2), 通过 $VIP > 3.5$ 、 t 检验 ($P < 0.05$) 以及 HMDB 和 KEGG 等在线数据库比对, 进一步筛选出较为重要的潜在标志物, 最终得到与水栀子干预作用相关的代谢标志物 54 个 (正离子源模式检测得到 38 个、负离子源模式检测得到 16 个, 图 3-A), 京尼平苷干预作用相关的代谢标志物 46 个 (正离子源模式 24 个、负离子源模式 22 个, 图 3-B)。

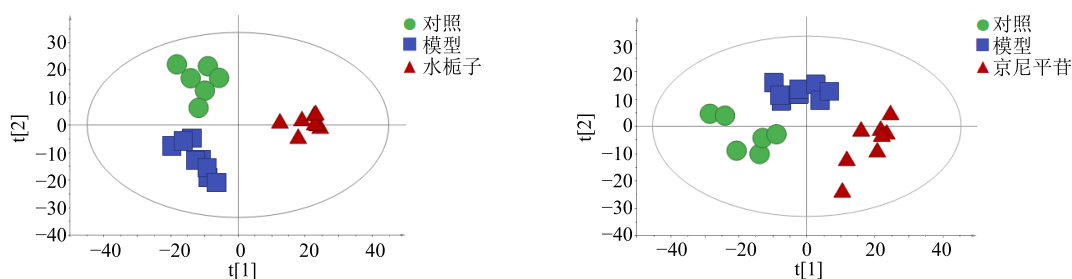


图 1 对照组、模型组、水栀子组、京尼平苷组 PCA 得分图

Fig. 1 PCA score plot of control, model, *G. jasminoside* var. *radicans*, and geniposide groups

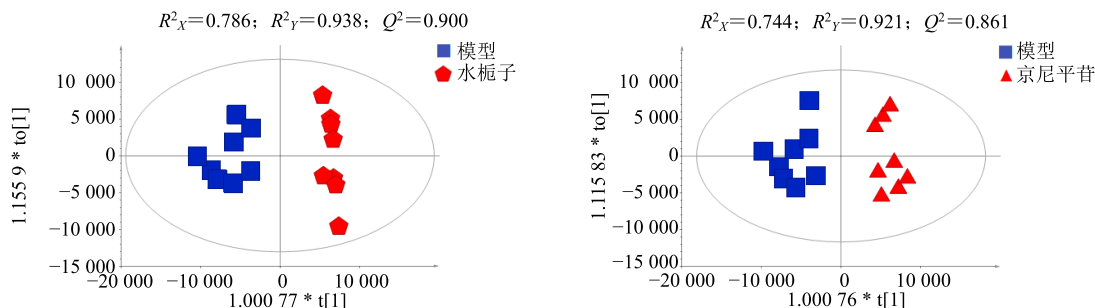


图 2 模型组与给药组 RBL-2H3 细胞 OPLS-DA 得分图

Fig. 2 OPLS-DA score plot of RBL-2H3 cells of model, *G. jasminoside* var. *radicans*, and geniposide groups

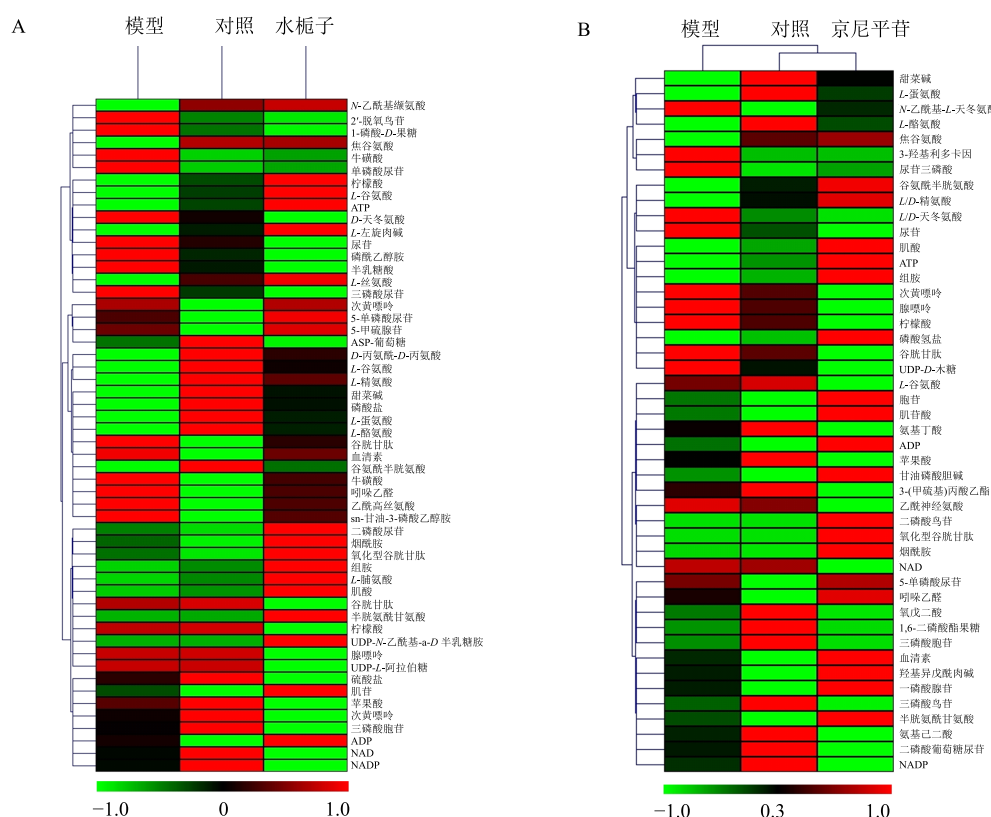


图 3 水杨子组 (A) 和京尼平苷组 (B) 所有潜在标志物的聚类分析

Fig. 3 Clustering analysis of all biomarkers between *G. jasminoside* var. *radicans* (A) and geniposide (B) groups

3.3 潜在标志物聚类分析

将得到的代谢标志物进行定量和聚类分析, 结果 (图 3) 表明水杨子组和京尼平苷组大多数代谢物有向正常回调的趋势, 并且分别与对照组聚为一类。所以, 水杨子和京尼平苷干预 RBL-2H3 细胞脱颗粒模型的作用与其调整细胞内代谢水平的紊乱有关。

3.4 水杨子和京尼平苷共有标志物变化结果

对比 2 组标志物后发现, 2 个给药组间共有标志物有 31 个, 且共有标志物在 2 给药组中的变化趋势相同 (表 1), 进一步说明京尼平苷可能是水杨子发挥抗过敏作用的主要物质基础之一。

3.5 代谢通路富集分析

在代谢通路分析图中, 对通路进行拓扑分析得到 $-\lg P$ 值和 impact 值, 其中 $-\lg P$ 为纵坐标, impact 值为横坐标。P 值代表差异性, $-\lg P$ 越大, 表明差异性越显著; 节点半径大小代表通路 impact 值, impact 值越大节点半径越大, 命中的节点就越多。因此, 气泡的颜色越深, 半径越大, 表明参与此通路的代谢物越多, 在机体的整体代谢轮廓中占的比

重越大, 作用就越显著^[15]。通过对共有标志物进行通路分析 (图 4), 可知水杨子和京尼平苷主要通过甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酸代谢, 谷胱甘肽代谢, 组胺代谢, 能量代谢, 烟酰胺代谢等代谢通路调节 RBL-2H3 细胞内代谢的紊乱而发挥作用。

3.6 代谢网络的构建

通过 MetaboAnalyst 对生物标志物进行通路富集分析后共得到 5 条显著受到干扰的代谢途径, 分别为甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酸代谢, 谷胱甘肽代谢, 组胺代谢, 能量代谢, 烟酰胺代谢。结合在线数据库 (KEGG) 中的通路信息后, 构建了水杨子和京尼平苷干预 RBL-2H3 细胞的主要代谢网络 (图 5)。

4 讨论

4.1 组胺代谢与过敏反应

组胺是肥大细胞内的一种活性胺化合物, 是肥大细胞脱颗粒的标志物之一^[16]。组胺的大量释放可引起瘙痒、流涕和皮疹等过敏反应和炎症反应^[17]。在模型组细胞内检测到组胺的含量下降, 给予水杨子和京尼平苷后其水平升高, 另外也检测到血清素水平也有所升高, 表明 C48/80 可以引起 RBL-2H3

表 1 水栀子和京尼平苷共同潜在代谢标志物

Table 1 Mutual biomarkers between *G. jasminoside* var. *radicans* and geniposide groups

离子源	序号	代谢物	化学式	准确相对分子质量	变化趋势
ESI ⁺	1	磷酸盐	H ₃ PO ₄	98.984 2	↑ ** ↑ *
	2	组胺	C ₅ H ₉ N ₃	112.087 0	↑ * ↑ **
	3	甜菜碱	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 3	↑ ↑
	4	5-氨基戊酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 3	↑ ↑
	5	烟酰胺	C ₆ H ₆ N ₂ O	123.055 3	↑ ↑
	6	焦谷氨酸	C ₅ H ₇ NO ₃	130.049 8	↑ ↑
	7	肌酸	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	132.076 7	↑ ** ↑ **
	8	L-蛋氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	150.058 2	↑ ↑ **
	9	吡啶乙醛	C ₁₀ H ₉ NO	160.075 5	↑ ↑
	10	L-精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	175.118 9	↑ ↑ *
	11	血清素	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	177.102 1	↑ ↑
	12	β-酪氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₃	182.081 2	↑ ↑ **
	13	γ-谷氨酰	C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₅ S	251.069 2	↑ ↑
	14	甘油磷酸胆碱	C ₈ H ₂₁ NO ₆ P	258.109 8	↑ ** ↑ **
	15	ADP	C ₁₀ H ₁₅ N ₅ O ₁₀ P ₂	428.036 4	↑ * ↑ **
	16	鸟苷二磷酸	C ₁₀ H ₁₅ N ₅ O ₁₁ P ₂	444.031 2	↑ ↑ *
	17	氧化型谷胱甘肽	C ₂₀ H ₃₂ N ₆ O ₁₂ S ₂	613.158 9	↑ ↑
	18	L-天冬氨酸	C ₄ H ₇ NO ₄	132.030 2	↓ * ↓
	19	L-苹果酸	C ₄ H ₆ O ₅	133.014 2	↓ * ↓
	20	腺嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅	134.047 1	↓ ↓ *
	21	次黄嘌呤	C ₅ H ₄ N ₄ O	135.031 1	↓ ↓
	22	L-谷氨酸	C ₅ H ₉ NO ₄	146.046 0	↓ ** ↓
	23	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 7	↓ ↓
	24	尿苷	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	243.062 2	↓ * ↓
	25	谷胱甘肽	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	306.076 6	↓ * ↓ *
	26	胞苷三磷酸	C ₉ H ₁₆ N ₃ O ₁₄ P ₃	481.976 6	↓ * ↓
	27	尿苷三磷酸	C ₉ H ₁₅ N ₂ O ₁₅ P ₃	482.963 3	↓ ↓
	28	ATP	C ₁₀ H ₁₆ N ₅ O ₁₃ P ₃	505.987 8	↓ ** ↓
	29	UDP-L-阿拉伯糖	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₁₆ P ₂	535.036 3	↓ ** ↓ **
	30	NAD	C ₂₁ H ₂₈ N ₇ O ₁₄ P ₂	662.101 3	↓ * ↓
	31	NADP	C ₂₁ H ₂₉ N ₇ O ₁₇ P ₃	742.067 0	↓ ↓

左边箭头表示水栀子组中代谢物水平相对于模型组的变化, 右边箭头表示京尼平苷组中代谢物水平相对于模型组的变化; ↑表示上升、↓表示下降; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

Left of metabolite changes trend represent the level in the *G. jasminoside* var. *radicans* group compared with the model group; Right of metabolite change trend represent the level in the geniposide group compared with the model group; ↑ represent increase, ↓ represent decrease; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

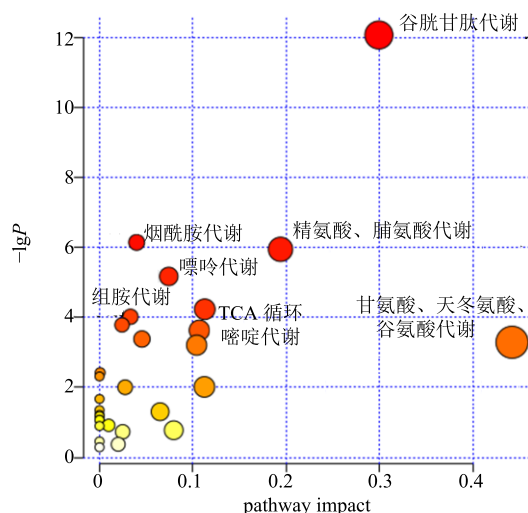


图 4 基于共有标志物的水栀子组和京尼平苷组通路富集分析
Fig. 4 Pathway enrichment analysis between *G. jasminoside* var. *radicans* and geniposide groups based on mutual biomarkers

细胞的脱颗粒, 大量释放组胺等活性介质进而引起过敏反应的发生, 而给予水栀子和京尼平苷后组胺代谢受到抑制, 即水栀子和京尼平苷可以通过抑制组胺的释放来减轻或缓解过敏反应。

4.2 谷胱甘肽代谢

谷胱甘肽 (GSH) 属于一种非蛋白巯基类小分子化合物, 具有氧化和还原 2 种形式, 可以中和各种自由基和清除活性氧, 在氧化-还原系统、调节细胞凋亡和免疫反应等细胞活动中起重要作用^[12]。氧化型谷胱甘肽和还原型谷胱甘肽 (GSSH/GSH) 之间的比例已成为细胞氧化应激的重要生物标志物^[18-19]。有文献报道, 京尼平苷抗氧化作用对内皮细胞以及神经细胞均具有显著保护作用^[20-21]。

本实验结果可知, 模型组中 GSSH/GSH 值升高, 给予水栀子和京尼平苷后其水平具有回调的趋

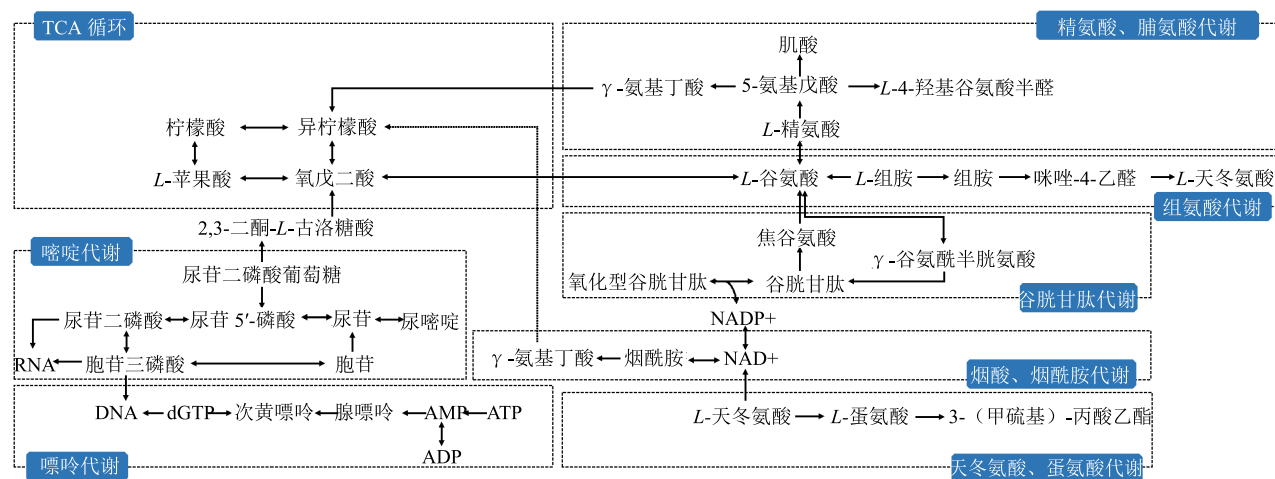


图 5 水栀子组和京尼平苷组干预 RBL-2H3 细胞代谢网络

Fig. 5 Metabolic network of *G. jasminoside* var. *radicans* and geniposide effect on RBL-2H3 cells

势，说明水栀子和京尼平苷对 C48/80 诱导的 RBL-2H3 脱颗粒模型具有保护作用。

4.3 嘌呤代谢、嘧啶代谢

在嘌呤代谢中 AMP、ADP、ATP 及次黄嘌呤核苷是其主要的代谢物，次黄嘌呤核苷消耗 1 分子天冬氨酸（谷氨酸）和 ATP（GTP）生成 AMP 或 GMP 或通过嘧啶代谢从头合成途径生成尿苷。ATP 是一种重要的信号分子，可以在腺苷酸化酶作用下转化为第 2 信使 cAMP，cAMP 作用于细胞上的钙离子通道，引起细胞内钙离子释放^[22]，并且钙离子的浓度与 RBL-2H3 细胞脱颗粒情况有关^[23]。在给予水栀子和京尼平苷后 ATP 水平降低从而抑制 RBL-2H3 细胞的脱颗粒，进而发挥其对过敏反应的改善作用。

RBL-2H3 是大鼠嗜碱性细胞肿瘤株的一个亚系，表面具有高表达的 IgE 高亲和力受体，具有多种肥大细胞的生物学特性，而 C48/80 是一种多胺类化合物可刺激肥大细胞和嗜碱性细胞脱颗粒并释放组胺等介质，常作为一种过敏介质的释放剂^[24]。C48/80 刺激后组胺、5-羟色胺活性介质大量释放，细胞内组胺代谢、能量代谢、谷胱甘肽代谢、嘌呤代谢、嘧啶代谢等重要通路代谢紊乱，引发过敏反应发生。经给予水栀子和京尼平苷后代谢通路中大多数代谢物水平以及组胺、5-羟色胺水平均有回调趋势，即水栀子可能是通过抑制 RBL-2H3 细胞的钙离子紊乱、氧化损伤以及能量代谢，进而减少过敏介质的释放、改善脱颗粒情况和过敏反应，且京尼平苷可能是水栀子发挥抗过敏作用的主要物质基础之一。

参考文献

- [1] Arshad H S. Does exposure to indoor allergens contribute to the development of asthma and allergy? [J]. *Curr Aller Asthm Rep*, 2010, 10(1): 49-55.
- [2] Evelyn M, Diaz A M. Allergy to house dust mites and asthma [J]. *Puerto Rico Health Sci J*, 2004, 23(1): 47-57.
- [3] Mathias C B, Hobson S A, Garcia-Lloret M, et al. IgE-mediated systemic anaphylaxis and impaired tolerance to food antigens in mice with enhanced IL-4 receptor signaling [J]. *J Aller Clin Immunol*, 2011, 127(3): 795-805.
- [4] 刘小娟, 王蓉蓉, 蒋秋桃. 药物诱导的速发型变态反应的研究进展 [J]. *中国药事*, 2013, 27(5): 521-524.
- [5] 包永欣, 吕冠华, 邵丽春, 等. 健脾调肝温肾方对腹泻型肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞及 5-HT 的影响 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2015, 23(6): 385-389.
- [6] 鲁莹莹. 水栀子有效成分提取及其活性研究 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2017.
- [7] 江国杰. 中药栀子不同炮制方法的含量变化与抗炎效果的影响 [J]. *北方药学*, 2015, 12(12): 106-107.
- [8] 曹彦刚, 郑晓珂, 齐曼, 等. 水栀子中酚性成分研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(22): 4615-4619.
- [9] 刘素娟, 张现涛, 王文明, 等. 水栀子化学成分的研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(2): 238-241.
- [10] Lu J, Xie G, Jia W, et al. Metabolomics in human type 2 diabetes research [J]. *Front Med*, 2013, 7(1): 4-13.
- [11] 赵吟, 李钦, 张信岳. 基于 RBL-2H3 细胞模型的 I 型过敏反应和类过敏反应研究 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2010, 15(11): 1310-1315.
- [12] Yao W, Li H, Liu Q, et al. Cellular metabolomics

- revealed the cytoprotection of amentoflavone, a natural compound, in lipopolysaccharide-induced injury of human umbilical vein endothelial cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1514.
- [13] 王洋洋, 赵莹莹, 刘振辉, 等. HPLC 测定水杨子中京尼平苷的含量 [A] // 中国药物化学学术会议暨中欧药物化学研讨会论文集 [C]. 成都: 四川大学华西药学院, 2019
- [14] 刘中成, 刘世芳, 李 飞, 等. RBL-2H3 细胞脱颗粒模型研究 [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2018, 38(2): 159-167.
- [15] 胡佳慧, 许盼盼, 侯丽娟, 等. 细胞代谢轮廓分析策略研究姜黄素抗肿瘤作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2019(11): 2359-2366.
- [16] Dunford P J, Holgate S T. The Role of histamine in asthma [J]. *Histam Inflamm*, 2010, 709: 53-66.
- [17] Galli S J, Tsai M, Piliponsky A M. The development of allergic inflammation [J]. *Nature*, 2008, 454(7203): 445-454.
- [18] Luís R. Pre-diabetes alters testicular PGC1- α /SIRT3 axis modulating mitochondrial bioenergetics and oxidative stress [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 3(1837): 335-344.
- [19] Hu Q, Wei J, Liu Y, *et al.* Discovery and identification of potential biomarkers for alcohol-induced oxidative stress based on cellular metabolomics [J]. *Biomed Chromatogr*, 2017, 31(7): e3907.
- [20] 丁嵩涛, 刘洪涛, 李文明, 等. 槲子苷对氧化应激损伤血管内皮细胞的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(6): 725-729.
- [21] 王星华. 槲子苷抗氧化保护神经细胞与 DSSylation 反应关系的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [22] Kamenetsky M, Middelhaufe S, Bank E M, *et al.* Molecular details of cAMP generation in mammalian cells: A tale of two systems [J]. *J Mol Biol*, 2006, 362(4): 623-639.
- [23] 刘中成, 刘世芳, 李 飞, 等. RBL-2H3 细胞脱颗粒模型研究 [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2018, 38(2): 159-167.
- [24] Chatterjea D, Wetzel A, Mack M, *et al.* Mast cell degranulation mediates compound 48/80-induced hyperalgesia in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425(2): 237-243.