DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.04.020

文章编号:1000-5404(2000)04-0349-02

论著

慢性特发性荨麻疹患者血清组胺释放活性的检测

孙仁山,刘荣卿,叶庆俏,刁庆春,向明明,张 黎,黄秀英 (第三军医大学附属西南医院皮肤科,重庆 400038)

提 要:目的 检测慢性特发性荨麻疹患者血中组胺释放活性。方法 自身血清皮肤试验和嗜碱性粒细胞组胺释放试验。结果 自身血清皮肤试验和嗜碱性粒细胞组胺释放试验的阳性率分别为37.5%和43.75%。结论 部分慢性特发性荨麻疹患者血中组胺释放活性增高,提示该类病人具有特殊的肥大细胞和嗜碱性粒细胞激活机制,很可能与自身免疫有关。

关键词:慢性特发性荨麻疹;组胺释放活性;自身血清皮肤试验;嗜碱粒细胞组胺释放试验
中图法分类号:R758.240.2 文献标识码:A

Evaluation of histamine-releasing activity in the serum of the patients with chronic idiopathic urticaria

SUN Ren-shan, LIU Rong-qing, YIE Qing-yi, DIAO Qing-chun, XIANG Ming-ming, ZHANG Li, HUANG Xiu-ying
(Department of dermatology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the histamine-releasing activity in the serum of the patients with chronic idiopathic urticaria (CIU). **Methods** Skin tests with autologous serum and basophil histamine-release assay (BHRA) were performed. **Results** The positive rates of skin tests with autologous serum and BHRA were 37.5% and 43.75 respectively. **Conclusion** Certain patients with CIU exhibited elevated histamine-releasing activity in their serum. This implies unusual activating mechanism of their mast cells and basophils. It may be related to autoimmunity.

Key words: chronic idiopathic urticaria; histamine-releasing activity; skin tests with autologous serum; basophil histamine-release assay

慢性特发性荨麻疹(Chronic idiopathic urticaria, CIU)是一种原因不清楚的慢性荨麻疹,它的临床表现迁延顽固,常规抗组胺药物治疗效果不好,临床上常找不到明确的过敏原。近年研究发现,部分CIU患者体内存在循环性组胺释放因子,病人的病情与血清组胺释放活性密切相关。进一步研究表明,该组胺释放活性大部分是由抗高亲和力IgE受体(FcεR1)的自身抗体所致,说明部分CIU的发生有自身免疫机制的参与[1]。本实验在该方面用自身血清皮肤试验和嗜碱粒细胞组胺释放试验进行了初步的试验研究。

1 资料与方法

1.1 慢性荨麻疹病例的选择

我们从1998年1月至1998年6月的门诊病人中选择了32例慢性荨麻疹患者,这些病人均符合如下条件:①皮肤粘膜表面复发性风团,持续时间不超过24 h;②每周发作不少于2次;③病程超过2个月;④排除了食物、药物为过敏原;⑤非物理性荨麻疹(寒冷性荨麻疹,胆碱能性荨麻疹和人工荨麻疹)及荨麻疹性血管炎患者;⑥1周内未使用抗组胺药物、类固醇激素药物及免疫抑制药物;⑦同意进行自身血清皮肤试验;⑧非异位性体质者。该32例患者平均年龄为38岁(21~56岁),男性21例,女性11例。病程从3个月到16年不等。25例对照血清,其中20例来自本院输血科的健康自愿者,其余5例既作为对照血清,也作为自身血清皮肤试验的正常对照者,为研究者本人和科室同事。

1.2 自血清皮肤试验(Skin test with autologous serum)[2]

常规方法抽取外周血3 ml,放入无菌试管中30 min后血液凝固,常温下离心,分离血清,取50 μl,用皮试针头,注入该被抽血者的前臂屈侧真皮内,其余血清存入-20℃冰箱备用。同时,用等量生理盐水注入对侧真皮内,作为对照。

1.3 嗜碱粒细胞组胺释放试验(Basophil histamine release assays, BHRA)[3]

1.3.1 嗜碱粒细胞悬液制备 从一健康自愿者肘静脉,采血30 ml,肝素抗凝,等量分配至3个离心管中后,每管10 ml肝素抗凝血与等体积pH 7.6 Hepes-ACM缓冲液(Hepes 25 mmol/L,

基金项目:重庆市科学技术委员会院士基金资助项目
作者简介:孙仁山(1964—),男,河南省博爱县人,博士,主治医师,主要从事荨麻疹方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68752278
收稿日期:1999-08-30;修回日期:1999-12-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

$CaCl_2$ 1 mmol/L, NaCl 130 mmol/L, KCl 5mmol/L, $MgCl_2$ 1 mmol/L) 混和，温和平铺于 10 ml 葡聚糖-泛影葡胺分离液（密度为 1.085）表面，2 500 r/min 离心 20 min。吸取中间层细胞，加入同样缓冲液 15 ml 洗涤 1 次，1 500 r/min 离心 10 min。弃上清留约 1 ml，轻轻混匀备用。

1.3.2 温育 50 μl 待检测血清，或对照血清，或等量 Hepes-ACM 缓冲液与 50 μl 细胞悬液在 37℃条件下温育 40 min。温育结束后，立即离心 6 000 r/min 15 min，分离上清，进行组胺测定。组胺的自发释放由 Hepes-ACM 缓冲液与细胞悬液温育后得出。50 μl 细胞悬液煮沸后，分离上清，所测定的组胺含量为嗜碱粒细胞的组胺总含量。以上每个测定均用复管进行。

1.3.3 组胺释放率的测定 用荧光测定法测定组胺含量，按窦淑筠方法略加修改进行[4]。由于最后的结果用组胺释放率表示，所以不需要用标准浓度的组胺溶液进行组胺测定及绘制标准曲线。

将待检测管的溶液体积用 0.4 mol/L 的过氯酸补充至 1 ml，加入 5 mol/L NaOH 0.125 ml、NaCl 0.375 g 和正丁醇 2.5 ml，振荡 5 min 后，低速离心，吸取上层有机相至另一试管，加入盐饱和的 0.1 mol/L NaOH 1.25 ml，振荡 1 min，离心分层。吸取 2 ml 正丁醇提取液，加入 0.1 mol/L HCl 1.125 ml 和正庚烷 3.75 ml。同样地振荡 1 min 后离心分层，吸取 0.5 ml 水相，加入 0.1 mol/L NaOH 0.1 ml 和邻苯二甲醛 0.025 ml，准确反应 4 min 后，加入 3 mol/L HCl 0.050 ml 终止反应，空白管为先加入 3 mol/L HCl 后，再加入邻苯二甲醛。

利用 Beckman 自动荧光分光光度计于激发波 360 nm，荧光波长 450 mm，狭缝为 10 nm 条件下测定荧光强度读数（T）。组胺的释放用百分比来表示。

$$\text{组胺自发释放率} = \frac{Tb - Tbo}{Tt - Tto} \times 100\%$$

$$\text{组胺释放率} = \frac{Tx - Txo}{Tt - Tto} \times 100\% - \text{组胺自发释放率}$$

Tt：组胺总含量管；Tto：组胺总含量对照管；

Tb：自发释放管；Tbo：自发释放对照管；

Tx：血清测定管；Txo：血清测定对照管。

2 结果

2.1 自身血清皮肤试验

自身血清皮肤试验的阳性标准为风团直径大于对侧 5 mm，或者潮红、红斑大于对侧 10 mm[2]。32 例病人中有 12 例符合阳性标准，阳性率为 37.5%。5 例对照者中，无 1 例出现红斑或风团。在 12 例阳性患者中，4 例风团和红晕均符合阳性标准，1 例只有风团无红晕；有 7 例为红斑阳性，而风团是阴性反应。这些观察表明红晕或潮红，较风团容易出现。有的病人对自身血清可出现急剧的反应，皮内注射数分钟后，即出现红晕，而后为风团及大片红斑，红晕的直径可扩大至 15 cm，风团直径达 6 cm，有轻度的瘙痒，无全身不适。患者皮试后，阳性反应一般出现在半小时后，90 min 至 2 h 为反应高峰期，风团或红晕在 6~8 h 后逐渐消退。

2.2 嗜碱粒细胞组胺释放试验

25 例对照血清中，无 1 例组胺释放率大于 10%。嗜碱粒细胞的自发组胺释放率均低于 5%。32 例慢性荨麻疹血清中，有 14 例其组胺释放率大于 10%，从 12%或 86%不等，平均为 46%，明显高于对照组。按 10%为组胺释放率的阳性界线，其阳性率为 43.75%。

3 讨论

过敏原首次进入机体后，诱导 B 淋巴细胞分化产生 IgE，IgE 与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的高亲和力 IgE 受体结合；当过敏原再次进入机体时，过敏原使结合于效应细胞膜上的 IgE 发生交联，激活效应细胞，致肥大细胞及嗜碱粒细胞释放组胺和白三烯等炎性介质，进而产生了荨麻疹、哮喘等过敏性疾病。慢性荨麻疹常常找不到明确的过敏原，所以它们的肥大细胞激活机制尚不明确。本实验利用自身血清皮肤试验，从 32 例慢性特发性荨麻疹患者中，检测出 37.5%的患者呈阳性反应，表明该类病人血清中存在循环性组胺释放因子，该释放因子不可能是 IgE，因为 IgE 不可能使自身肥大细胞直接致敏脱颗粒，它的性质尚须进一步的实验研究确定。Niimi 等[3]从 163 例 CIU 中用自身血清皮肤试验方法获得了 60%的阳性率。他们的深入研究显示，其中 38 例携带抗高亲和力 IgE 受体的自身抗体，9 例携带抗 IgE 的自身抗体，前者可以直接活化肥大细胞及嗜碱粒细胞，而后者通过 IgE 起作用。我们在本实验中进一步应用 BHRA 法，在体外证实部分特发性荨麻疹患者，BHRA 阳性率为 43.75%。该结果与国外学者报道基本一致[5,6]。

总之，本实验的研究结果表明部分 CIU 患者血清中可能存在组胺释放因子，通过直接活化肥大细胞与嗜碱粒细胞，释放炎症介质，产生临床症状，对其活化机制的深入研究将有助于对慢性特发性荨麻疹的治疗。

参考文献：

[1] Sabroe R A, Greaves M W. The pathogenesis of chronic idiopathic urticaria[J]. Arch Dermatol, 1997, 133(8): 1 003-1 008.

[2] Grattan C E H, Wallington T B, Warin R P, et al. A serological mediator in chronic idiopathic urticaria—a clinical, immunological and histolgical evaluation[J]. Br J Dermatol, 1986, 114(2): 583-590.

[3] Niimi N, Francis D M, Kermani F, et al. Dermal mast cell activation by autoantibodies against the high affinity IgE receptor in chronic urticaraia[J]. J Invest Dermatol, 1996, 106(5): 1 001-1 006.

[4] 窦淑筠，符云峰. 血及组织中组织胺的荧光测定法[J]. 中华医学检验杂志，1981, 4(2): 100-102.

[5] Ferrer M, Kinet J, Kaplan A P, et al. Comparative studies of functional and binding assays for IgG anti-Fcε R1α (α-subuntit) in chronic urticaria[J]. J Allergy Clin Immunol, 1998, 101(5): 672-676.

[6] Tong L, Balakrishnan G, Kochan J P, et al. Assessment of autoimmunity in patients with chronic urticaria[J]. J Allergy Clin Immunol, 1997, 99(4): 461-465.

（编辑 王 红）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net