

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322122

· 论著 ·

枸杞多糖通过调控 TLR9/AP-1 信号通路对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子及鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症的影响

杨志超, 于洋, 梁鹏, 马会梅, 李娜

(宁夏医科大学总医院耳鼻咽喉头颈外科, 宁夏银川 750001)

摘要: **目的** 探究枸杞多糖通过调控 Toll 样受体 9/激活蛋白-1 (TLR9/AP-1) 信号通路对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子、鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症的影响。**方法** 选取 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠, 随机分为正常(A)组, 模型(B)组, 糠酸莫米松(C)组, 枸杞多糖(D)组, TLR9/AP-1 信号通路抑制剂(E)组, TLR9/AP-1 信号通路抑制剂联合枸杞多糖(F)组, 每组各 10 只, 对 B、C、D、E、F 组采用卵清蛋白致敏法建立变应性鼻炎模型, A 组不建立该模型。建模成功后, 对 C 组给予 1 喷/侧的糠酸莫米松喷雾治疗, 对 D 组灌胃 100 mg/kg 的枸杞多糖, 对 E 组灌胃 20 mg/kg AP-1 抑制剂 SP100030, 对 F 组给予 SP100030 联合枸杞多糖, A、B 组同期给予灌胃同体积生理盐水, 对大鼠鼻部症状进行评分, HE 染色法检测鼻黏膜组织病理形态及嗜酸性粒细胞并计数, ELISA 法检测大鼠血清中 Th1/Th2 细胞因子水平, 免疫印迹法检测鼻黏膜组织中 TLR9/AP-1 信号通路相关蛋白表达。**结果** 与 A 组相比, B 组鼻部症状评分、鼻黏膜中嗜酸性粒细胞数目、血清 IL-4 含量显著升高 ($P < 0.05$), 血清中 INF- γ 含量显著降低 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C、D 两组鼻部症状评分、鼻黏膜中嗜酸性粒细胞数目、血清 IL-4 含量显著降低 ($P < 0.05$), 血清中 INF- γ 含量显著升高 ($P < 0.05$), 且 D 组比 C 组变化显著 ($P < 0.05$); A 组大鼠鼻黏膜组织结构完整, B 组鼻黏膜上皮结构紊乱且不完整, 出血及嗜酸性粒细胞等炎性细胞浸润; 与 B 组相比, C、D 组病理状态明显改善, 嗜酸性粒细胞明显减少; 与 A 组比较, B 组鼻黏膜组织中 TLR9、AP-1 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), 与 B 组比较, C、D 组鼻黏膜组织中 TLR9、AP-1 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$), 且 D 组比 C 组变化显著 ($P < 0.05$), 而 E 组与 D 组相比无明显差异 ($P > 0.05$), F 组比 E 组降低明显 ($P < 0.05$)。**结论** 枸杞多糖可有效调控变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子水平, 减轻鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症, 其机制可能与抑制 TLR9/AP-1 信号通路有关。

关键词: 变应性鼻炎; 枸杞多糖; TLR9/AP-1 信号通路; Th1/Th2 细胞因子; 鼻黏膜; 嗜酸性粒细胞
中图分类号: R765.21

Effects of lycium barbarum polysaccharide on Th1/Th2 cytokines and eosinophil inflammation in nasal mucosa of allergic rhinitis rats by regulating TLR9/AP-1 signaling pathway

YANG Zhichao, YU Yang, LIANG Peng, MA Huimei, LI Na

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, General Hospital of Ningxia Medical University, Ningxia 750001, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of lycium barbarum polysaccharide on Th1/Th2 cytokines and eosinophil inflammation in nasal mucosa of allergic rhinitis (AR) rats by regulating Toll-like receptor 9/activated protein-1 (TLR9/AP-1) signaling pathway. **Methods** Sixty SPF male SD rats were randomly divided into normal (A) group, model (B) group, mometasone furoate (C) group, lycium barbarum polysaccharide (D) group, TLR9/AP-1 signaling pathway inhibitor (E) group and TLR9/AP-1 signaling pathway inhibitor combined lycium barbarum polysaccharide (F) group, with 10 rats in each group. AR model was established by ovalbumin sensitization method in all groups except group A. After

基金项目:宁夏自然科学基金项目(2020AAC03409);宁夏医科大学校级项目(XM2019103)。

第一作者简介:杨志超,男,硕士,副主任医师。

通信作者:于洋,Email:952839102@qq.com

successful establishment of AR model, one spray/side of mometasone furoate nasal spray was adopted intranasally in group C, 100 mg/kg lycium barbarum polysaccharide, 20 mg/kg AP-1 inhibitor SP100030, 20 mg/kg SP100030 + 100 mg/kg lycium barbarum polysaccharide were administered intragastrically in group D, E and F respectively. In groups A and B, normal saline of the same volume was administered intragastrically. The nasal symptoms were scored, and HE staining was used to detect the pathological morphology of nasal mucosa with eosinophils count. Serum levels Th1/Th2 of cytokines were detected by enzyme-linked immuno sorbent assay. The expression of TLR9/AP-1 signaling pathway-related proteins in nasal mucosa was detected by western blot. **Results** Compared with group A, the nasal symptom score, the number of eosinophils in nasal mucosa and the serum level of interleukin (IL)-4 in group B were significantly increased with decreased serum level of interferon (INF)- γ (all $P < 0.05$). Compared with group B, the score of nasal symptoms, the number of eosinophils in nasal mucosa and the serum level of IL-4 in groups C and D were significantly decreased with increased serum level of INF- γ (all $P < 0.05$), and the changes in group D were more significant than those in group C (all $P < 0.05$). The structure of nasal mucosa from group A kept intact, while the epithelial structure of nasal mucosa from group B was disordered and incomplete with bleeding and infiltration of inflammatory cells such as eosinophils. Compared with group B, the pathological statuses of groups C and D were significantly improved with decreased eosinophils. The protein expressions of TLR9 and AP-1 in nasal mucosa tissues of group B were significantly higher than those of group A (both $P < 0.05$), and their expressions in groups C and D were significantly decreased compared with group B (all $P < 0.05$), and the changes in group D were more significant than those in group C ($P < 0.05$). The differences between the protein expressions of TLR9 and AP-1 of group E and group D were statistically insignificant (both $P > 0.05$), and the expressions in group F were significantly lower than those in group E (both $P < 0.05$). **Conclusion** Lycium barbarum polysaccharide can effectively regulate Th1/Th2 cytokine level and relieve eosinophil inflammation in nasal mucosa in rats with AR, and the mechanism may be related to the inhibition of TLR9/AP-1 signaling pathway.

Keywords: Allergic rhinitis; Lycium barbarum polysaccharide; TLR9/AP-1 signaling pathway; Th1/Th2 cytokines; Nasal mucosa; Eosinophils

变应性鼻炎是由多种细胞因子、免疫活性细胞等参与的鼻黏膜慢性炎症反应性疾病,具有高发病率及高复发率的特点,其虽然不会危及生命,但却严重影响着患者的日常生活、学习以及工作效率,并造成了沉重的经济负担,同时该病还可诱发支气管哮喘等疾病,因此探寻一种有效的治疗方法尤为重要^[1]。该病的致病因素复杂,是一种由基因与环境共同作用引起的多因素疾病,其中 Th1/Th2 细胞比例失衡及嗜酸性粒细胞浸润是目前公认的变应性鼻炎致病因素^[2]。Th1/Th2 细胞是机体免疫反应中的关键细胞,其可通过分泌细胞因子参与机体细胞免疫及体液免疫的调节,正常情况下其分泌的细胞因子处于动态平衡,但当机体受到外界环境因素刺激后,就会引起免疫变态反应,变应性鼻炎就属于这种情况^[3]。而嗜酸性粒细胞在先天性免疫及获得性免疫中占有重要地位,其不仅反映了变态反应的结果,还是变应性疾病发病的重要诱因之一,参与了机体中包括变应性鼻炎在内的多种病理生理过程^[4]。近年来有研究表明, Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9)/激活蛋白-1 (activated protein, AP-1) 信号通路在变应性鼻炎的发生、发展中发挥了重要作用,其可通过调控多种生长因子、细胞因子等,来促进免

疫炎症反应^[5]。目前临床上治疗变应性鼻炎的方法多为西医治疗,虽然其效果显著,但副作用也不可小觑,因此如何寻求新的、温和的治疗手段是目前医学领域关注的焦点^[6]。有研究表明,中药与西药相比具有毒副作用小、远期疗效稳定的优点,中医认为该病是内外因共同作用所致,肺脏开窍于鼻,肾主先天之精,脾主后天之源,故肺、脾、肾三脏不足,鼻窍失于濡养、温熏,此时外邪侵扰,辨其病位在鼻视为内因,外因素以风寒居多,燥、火、湿、热次之,而枸杞多糖是我国传统中药枸杞的有效药用成分,归肝、肾、肺经,其在有抗衰老、抗氧化、细胞保护、神经保护、肝脏保护、免疫调节等方面发挥着重要作用^[7]。因此,本文就枸杞多糖通过调控 TLR9/AP-1 信号通路对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子、鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症的影响进行研究探讨,为临床治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

动物材料:本实验选取北京亿鸣复兴生物科技有限公司提供的 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠(合格证书

为:SCXK(京)2019-0054),平均体重200~250 g,大鼠分笼喂养,室温生长,模仿12 h昼夜交替,通风良好,保持环境清洁,在常温下进行无菌自由进食、饮水2周,按照《实验动物管理条例》规定进行实验。

1.2 实验材料

糠酸莫米松喷雾剂(货号:H20113481,浙江仙琚有限公司);枸杞多糖(货号:A2721,北京康瑞纳有限公司);SP100030(货号:HY-110177,美国 Med-ChemExpress LLC 公司);卵白蛋白(货号:EY-0892,上海一研有限公司);氢氧化铝(货号:B5748,北京康瑞纳有限公司);福尔马林(货号:DF0111,北京雷根有限公司);苏木素染液(货号:H9627,美国 Sigma 公司);伊红染液(货号:AG1100-100 mL,上海吉至有限公司);光学显微镜(型号:CX-60,日本 OLYMPUS 公司);酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号:446502,美国 R&D 公司);RIPA 裂解液(货号:SY4680,北京伊塔有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(型号:E112-01,诺唯赞股份有限公司);SDS-PAGE 凝胶电泳试剂(货号:CDLG-4942,武汉纯度有限公司);TLR9 抗体(货号:102040-T08,北京义翘神州股份有限公司);AP-1 抗体(货号:ATA24718,武汉益普有限公司);GAPDH 抗体(货号:PL0403130,深圳豪地华拓有限公司)ECL 检测试剂盒(货号:CDLG-4911,武汉纯度有限公司)。

1.3 分组与模型制备

选取60只SPF级SD雄性大鼠,随机分为正常(A)组,模型(B)组,糠酸莫米松(C)组,枸杞多糖(D)组,TLR9/AP-1信号通路抑制剂(E)组,TLR9/AP-1信号通路抑制剂联合枸杞多糖(F)组,每组各10只,对B、C、D、E、F组采用卵清蛋白致敏法建立变应性鼻炎模型,首先给予大鼠腹腔注射0.3 mg 卵白蛋白、30 mg 氢氧化铝和1 mL 生理盐水混合液以行全身致敏,每两日注射1次,共注射7次,然后给予双侧鼻腔滴加10 μ L 的5%卵白蛋白以强化致敏,每日1次,共滴加7次,末次滴加后观察大鼠抓鼻次数、打喷嚏及流涕情况并记录,观察30 min后,对大鼠鼻部症状进行评分,然后进行被动皮肤过敏(pas-sive cutaneous anaphylaxis, PCA)实验,30 min后测量背部蓝斑直径,若大于5 mm,则视为建模成功。A组不建立该模型,同期给予同体积生理盐水。建模成功后,对C组给予1喷/侧的糠酸莫米松喷鼻治疗,对D组灌胃100 mg/kg 枸杞多糖^[14];各组均每日1次,持续21 d; A组与B组同期给予灌胃同体积生理盐水。为验证枸杞多糖可调控TLR9/AP-1信号通路,

对E组灌胃20 mg/kg AP-1抑制剂SP100030,对F组给予SP100030联合枸杞多糖。

1.4 检测步骤

1.4.1 大鼠鼻部症状评分标准^[6] 总分9分,分3部分。①搔鼻1~2次记1分,剧烈挠鼻不止记3分,介于两者之间记2分;②喷嚏1~3个记1分,4~10个记2分, \geq 11个记3分;③流涕流至前鼻孔记1分,超出前鼻孔记2分,涕流满面记3分。

1.4.2 标本采集 实验完成后,腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉处死大鼠,从腹主动脉取血,在4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min的条件下离心10 min,取上清液在冰箱中密封保存,同时剥离出鼻黏膜组织,迅速置于10%中性福尔马林溶液中固定48 h后,进行常规石蜡包埋、切片、烤片处理,然后将切片放入冰箱密封保存。

1.4.3 大鼠鼻黏膜组织HE染色 取大鼠鼻黏膜组织,用二甲苯进行脱蜡、用梯度乙醇进行复水,蒸馏水洗涤后,用苏木素染色5 min,自来水冲洗后,1%盐酸酒精分化30 s,自来水冲洗3 min,进行氨水返蓝,流水冲洗后伊红染液染色1 min后,进行梯度乙醇及二甲苯脱水、透明处理,稍晾干后中性树脂封片,用光学显微镜进行组织病理学观察。

1.4.4 嗜酸性粒细胞计数 HE染色完成后,光学显微镜观察时先将其调至低倍,整体观察鼻黏膜细胞分布情况,以选取、定位炎症相对明显的区域,然后再将其调至高倍,随机选取5个视野,取平均值以计算嗜酸性粒细胞数目,HE染色下嗜酸性粒细胞为分叶双核,细胞质被染成红色。

1.4.5 大鼠血清Th1/Th2细胞因子水平检测 采用双抗体夹心法ELISA检测Th1细胞因子干扰素- γ (interferon, INF- γ)、Th2细胞因子白细胞介素-4(interleukin, IL-4),实验步骤严格按试剂盒说明书进行操作,依次进行绘制样本布局表、配置试剂标准品、清洗孔板、加样、覆膜、洗版、加显色剂终止液处理,实验完成后立即用酶标仪在450 nm波长处,测定每孔吸光度A,绘制标准曲线,然后通过标准曲线,计算INF- γ 、IL-4的含量。

1.4.6 大鼠鼻黏膜组织中TLR9/AP-1信号通路相关蛋白检测 E组和F组采用免疫印迹法检测TLR9、AP-1蛋白表达,取各组鼻黏膜组织清洗、剪碎后,加入1 mL RIPA裂解液,冰上充分裂解10 min,在4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min的条件下离心30 min,取上清液用BCA法测定,首先按照说明书配置好工作液,然后取等浓度的上清液加入等体积的工作液,37 $^{\circ}$ C恒温箱中孵育30 min,同时根据目的蛋白分子

量配置 8% 分离胶及 5% 浓缩胶,然后进行电泳,电泳条件为浓缩胶 90 V 20 min,分离胶 120 V,待预染蛋白至胶边缘时结束,结束后运用湿转法进行转膜 2 h,转膜条件为恒电流 300 mA,然后用丽春红染色以观察转膜效果,洗膜后封闭 1 h,PBS 洗涤 3 次后,加入稀释的 TLR9、AP-1 一抗(1:1 000),4 ℃ 摇床孵育过夜,洗膜后,加入稀释的二抗(1:5 000),37 ℃ 轻摇室温孵育 1 h;洗膜后,用 ECL 荧光试剂盒反应 3 min,曝光 5 min,显影 2 min,定影后计算与 GAPDH 比值求得 TLR9、AP-1 蛋白的相对表达含量。

1.5 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0 对各组大鼠 Th1/Th2 细胞因子及 TLR9/AP-1 蛋白表达进行统计分析,多组间比较采用单因素方差分析,描述采用 $M \pm SD$ 表示,组间两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠鼻部症状评分结果

A、B、C、D 组鼻部症状评分分别为 2.11 ± 0.12 、 8.22 ± 0.54 、 5.98 ± 0.41 、 2.75 ± 0.11 ($F = 672.500$, $P < 0.001$),与 A 组相比,B 组鼻部症状评分显著升高($P < 0.05$),与 B 组比较,C、D 两组鼻部症状评分显著降低($P < 0.05$),且 D 组比 C 组降低显著($P < 0.05$),见图 1。

2.2 各组大鼠鼻黏膜组织 HE 染色结果

A 组大鼠鼻黏膜组织结构完整、平滑且排列整齐,腺体大小正常,未见明显炎性细胞浸润、上皮坏

死脱落及明显血管扩张或充血现象,B 组鼻黏膜上皮结构紊乱且不完整,纤毛粗细不一,出现上皮细胞固缩、坏死甚至脱落现象,可见明显腺体增生、肿胀、出血及嗜酸性粒细胞等炎性细胞浸润,与 B 组相比,C、D 组病理状态明显改善,嗜酸性粒细胞明显减少,见图 2。

2.3 各组大鼠鼻黏膜中嗜酸性粒细胞计数结果

A、B、C、D 组嗜酸性粒细胞数目分别为 2.78 ± 0.21 、 10.54 ± 1.11 、 6.87 ± 0.54 、 3.89 ± 0.35 ($F = 285.500$, $P < 0.05$),与 A 组相比,B 组鼻黏膜中嗜酸性粒细胞数目显著升高($P < 0.05$),与 B 组比较,C、D 两组鼻黏膜中嗜酸性粒细胞数目显著降低($P < 0.05$),且 D 组比 C 组降低显著($P < 0.05$),见图 3。

2.4 各组大鼠血清中 Th1、Th2 细胞因子水平结果

与 A 组比较,B 组血清中 $INF-\gamma$ 含量显著降低($P < 0.05$), $IL-4$ 含量显著升高($P < 0.05$),与 B 组比较,C、D 组血清中 $INF-\gamma$ 含量显著升高($P < 0.05$), $IL-4$ 含量显著降低($P < 0.05$),且 D 组比 C 组变化显著($P < 0.05$),见表 1、图 4。

2.5 各组大鼠鼻黏膜组织中 TLR9/AP-1 信号通路相关蛋白结果

与 A 组比较,B 组鼻黏膜组织中 TLR9、AP-1 蛋白表达显著升高($P < 0.05$),与 B 组比较,C、D 组鼻黏膜组织中 TLR9、AP-1 蛋白表达显著降低($P < 0.05$),且 D 组比 C 组变化显著($P < 0.05$),而 E 组与 D 组相比无明显差异($P > 0.05$),F 组比 E 组降低明显($P < 0.05$),见表 2、图 5。

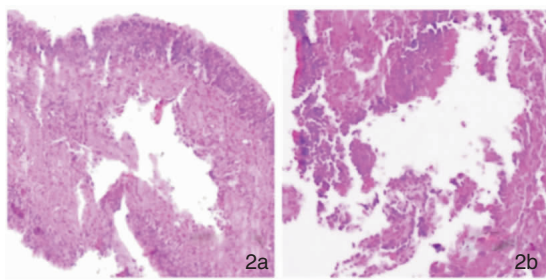
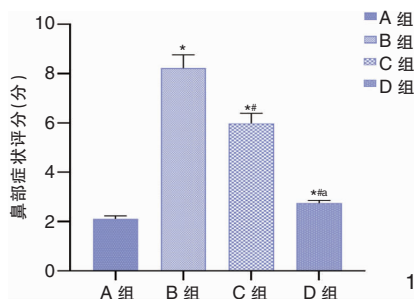


图 1 各组大鼠鼻部症状评分 注:与 A 组相比,* $P < 0.05$;与 B 组相比,# $P < 0.05$;与 C 组相比,* $P < 0.05$ 。

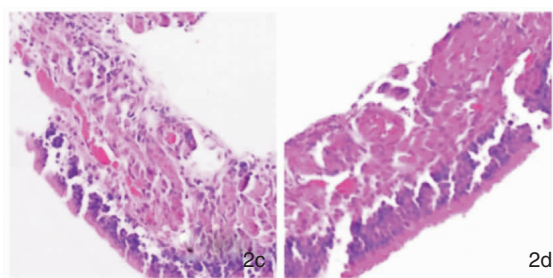


图 2 各组大鼠鼻黏膜组织 (HE ×200) 2a:A 组; 2b:B 组; 2c:C 组; 2d:D 组

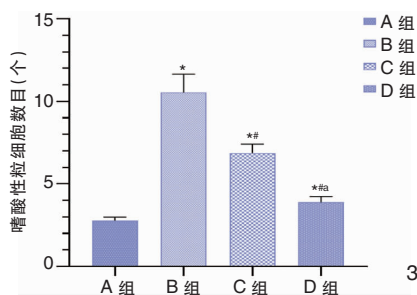


图 3 各组大鼠鼻黏膜中嗜酸性粒细胞数目 注:与 A 组相比,* $P < 0.05$;与 B 组相比,# $P < 0.05$;与 C 组相比,* $P < 0.05$ 。

表1 各组大鼠血清中 INF- γ 、IL-4 含量 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	A组	B组	C组	D组	F	P
INF- γ (pg/mL)	412.33 \pm 15.23	224.54 \pm 12.11	289.56 \pm 13.15	378.65 \pm 14.54	30.520	<0.05
IL-4 (pg/mL)	185.65 \pm 13.12	405.41 \pm 15.65	311.54 \pm 13.56	201.78 \pm 13.01	34.030	<0.05

注:INF- γ (干扰素- γ);IL-4(白细胞介素4)。下图同。

表2 各组大鼠鼻黏膜组织中 TLR9/AP-1 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	A组	B组	C组	D组	E组	F组	F	P
TLR9	1.12 \pm 0.11	2.78 \pm 0.54	2.22 \pm 0.51	1.89 \pm 0.45	1.87 \pm 0.41	1.35 \pm 0.32	9.525	<0.05
AP-1	1.25 \pm 0.12	2.89 \pm 0.57	2.35 \pm 0.51	1.91 \pm 0.48	1.92 \pm 0.47	1.39 \pm 0.35	8.903	<0.05

注:TLR9(Toll样受体9);AP-1(激活蛋白-1)。下图同。

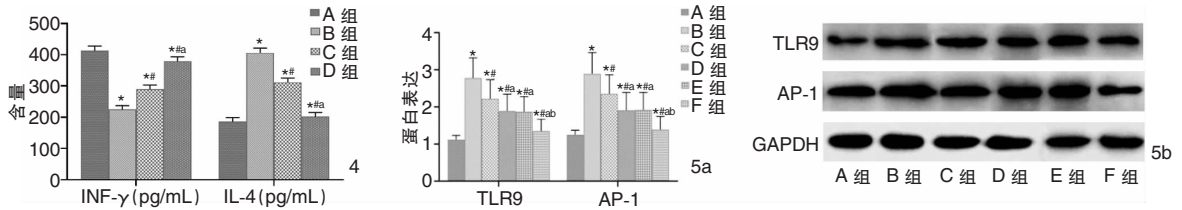


图4 各组大鼠血清中 INF- γ 、IL-4 含量 注:与 A 组相比, * $P < 0.05$;与 B 组相比, # $P < 0.05$;与 C 组相比, ^a $P < 0.05$ 。

图5 各组大鼠鼻黏膜组织中 TLR9/AP-1 蛋白表达 5a:TLR9、AP-1 蛋白含量;5b:TLR9、AP-1 蛋白电泳 注:与 A 组相比, * $P < 0.05$;与 B 组相比, # $P < 0.05$;与 C 组相比, ^a $P < 0.05$;与 E 组相比, ^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

近年来随着世界工业、经济的高速发展,人们生活习惯的不断变化,以及气候的异常,导致变应性鼻炎的发病率呈逐年上升趋势,有调查显示其影响着世界上 10%~40% 的人口,患病率最高可达 25%,这使得该病已经被视为“21 世纪的流行病”,因此目前众多医学工作者都致力于探索更加有效的治疗方案和临床药物^[8]。近年来研究表明,中医在治疗变应性鼻炎方面有其独特的优势,其不仅具有显著的临床效果,还具有较高的安全性^[9]。因此,本文就枸杞多糖通过调控 TLR9/AP-1 信号通路对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子、鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症的影响进行研究探讨,以期为临床治疗提供理论基础。

本文研究发现,枸杞多糖可显著改善大鼠症状,减少嗜酸性粒细胞浸润,这说明其具有显著疗效,可有效改善鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症。糠酸莫米松属于糖皮质激素类药物,是目前临床治疗变应性鼻炎的常用药物,可有效抑制炎症反应及免疫应答,因此本文选择其作为阳性对照^[10]。枸杞是我国传统名贵中药材,素有“红宝”的美称,而枸杞多糖是从枸杞中提取而得的一种水溶性多糖,研究表明其具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、保护神经、免疫调节等广泛的药理作用^[11]。嗜酸性粒细胞是鼻部变态反应性疾病中一种重要的炎症细胞,变应性鼻炎的主要

病理特征就是以嗜酸性粒细胞浸润为主的鼻黏膜慢性炎症,因此如何减轻其浸润是治疗变应性鼻炎的有效靶点^[12]。变应性鼻炎在中医属于“鼻渊”范畴,病因主要为本虚标实,其病位在鼻,但与内部肺、脾、肾三脏功能失调及外部感受风邪寒邪密切相关,因此中医主要以“辨体—辨病—辨证”理论体系来治疗该病^[13]。对于变应性鼻炎大鼠,枸杞多糖可能是通过调节免疫反应、抑制炎症介质的合成及释放,来有效控制速发型变态反应的发生,从而降低趋化因子表达、抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡、抑制黏附分子分泌等,进而抑制嗜酸性粒细胞向炎症部位募集、有效控制鼻黏膜的迟发型变态反应,最终到达纠正病理状态的目的。赵嘉庆等^[14]研究表明,枸杞多糖具有显著疗效,其可有效减轻嗜酸性粒细胞浸润,改善 Th1/Th2 细胞平衡,这与本文结果类似。

本文研究表明,与 B 组比较,C、D 组血清中 INF- γ 含量显著升高,IL-4 含量显著降低,且 D 组比 C 组变化显著,这说明枸杞多糖可有效调控 Th1/Th2 细胞因子分泌。Th1/Th2 细胞因子分泌失调是多种免疫炎症疾病的发病基础,变应性鼻炎也是如此,而 INF- γ 是 Th1 细胞分泌的标志因子,IL-4 是 Th2 细胞分泌的标志因子,在变应性鼻炎中主要以 Th2 细胞浸润为主^[15]。变应性鼻炎是世界上最常见的慢性炎症疾病,且现在已经成为严重危及人类健康的全球性疾病,因此明确发病机制、制定针对性治疗手段是临床医生的重要任务,而近年来随着分子免疫学的发展,Th1/Th2 细胞失衡是导致变应性鼻炎发病机制的免

疫学基础已经得到临床证实^[16]。对于变应性鼻炎大鼠,枸杞多糖可能是通过调控特异性转录因子,来纠正 Th1/Th2 细胞免疫失衡,从而有效调节细胞分泌细胞因子、抑制相关免疫炎症介质分泌,进而到达抑制免疫反应、减少对肥大细胞、嗜酸性粒细胞刺激等目的,最终有效改善疾病症状。胡海宇等^[17]研究发现,在变应性鼻炎大鼠血清中 INF- γ 含量降低,IL-4 含量升高,而给予治疗后,INF- γ 含量显著升高,IL-4 含量显著降低,这与本文结果类似。

本文研究发现,与 B 组比较,C、D 组鼻黏膜组织中 TLR9、AP-1 蛋白表达显著降低,且 D、E 组比 C 组变化显著,F 组比 E 组降低明显,这说明枸杞多糖可有效抑制 TLR9/AP-1 信号通路。TLR9/AP-1 信号通路是免疫炎症信号通路,其在免疫炎症反应中发挥着重要作用,其中 TLR9 是沟通天然免疫及获得性免疫的重要桥梁,而 AP-1 则可参与 Th2 细胞分化,调控其细胞因子表达^[18]。有研究表明,变应性鼻炎的发生、发展与多种免疫炎症信号通路相关,信号通路的表达紊乱会增强免疫炎症反应,从而进一步加重疾病进程,故有必要对免疫炎症相关信号通路进行深入研究,以更好的治疗疾病^[19]。而对于变应性鼻炎大鼠,枸杞多糖可能是通过调节免疫-神经-内分泌系统,来抑制 TLR9/AP-1 信号通路相关蛋白的转录及合成,从而免疫反应、抑制 AP-1 诱导、协同已存在的转录因子,进而有效调控生长因子和细胞因子的基因转录、抑制 Th2 细胞分化、促进 Th1 分化,抑制免疫应答,最终达到治疗疾病的目的。

综上所述,枸杞多糖可有效调控变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子水平、减轻鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症,其机制可能与抑制 TLR9/AP-1 信号通路有关。

参考文献:

[1] Gani F, Cottini M, Landi M, et al. Allergic rhinitis and COVID-19: friends or foes[J]. Eur Ann Allergy Clin Immunol, 2022, 54(2):53-59.

[2] 范嘉佳,刘海兵,龙莘莘,等. CysLTR1 基因多态性与孟鲁司特治疗变应性鼻炎患儿反应性的关系[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2022, 28(2):72-77.

[3] Wu Y, Zhao X, Cui J, et al. Petroleum extract of Farfarae Flos alleviates nasal symptoms by regulating the Th1-Th2 cytokine balance in a mouse model of Allergic Rhinitis[J]. Int J Med Sci, 2021, 18(2):555-563.

[4] 李迪,杨琳红. 嗜酸性粒细胞和 IL-33/ST2 水平与变应性鼻炎的相关性[J]. 中国医学文摘(耳鼻咽喉科学), 2020, 35(6):

197-198+201.

[5] 尹硕森. 基于 TLR9/AP-1 信号通路探讨益气祛风,宣痹化痰方治疗过敏性鼻炎—哮喘综合征的作用机制[D]. 南京中医药大学, 2016.

[6] 邵利洁,唐方. 麻黄,细辛对过敏性鼻炎大鼠作用机制的研究[J]. 中医药信息, 2019, 36(5):47-49.

[7] 高洁,李森,王海燕,等. 枸杞多糖对特殊环境致敏损伤防治的研究进展[J]. 中华诊断学电子杂志, 2020, 8(2):86-89.

[8] Schuler Iv CF, Montejo JM. Allergic rhinitis in children and adolescents[J]. Pediatr Clin North Am, 2019, 66(5):981-993.

[9] Brinkhaus B, Ortiz M, Dietzel J, et al. Akupunktur bei Schmerzkrankungen und Allergien-von der klinischen Erfahrung zur Evidenz [Acupuncture for pain and allergic rhinitis-from clinical experience to evidence] [J]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2020, 63(5):561-569.

[10] 周巍. 糠酸莫米松鼻喷剂联合孟鲁司特钠治疗过敏性鼻炎的疗效观察[J]. 中国实用医药, 2021, 16(12):133-136.

[11] 赵嘉庆,史春丽,尹梅,等. 枸杞果多糖对哮喘小鼠炎症损伤影响及作用机制[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(1):23-28.

[12] Campo P, Eguiluz-Gracia I, Bogas G, et al. Local allergic rhinitis; Implications for management[J]. Clin Exp Allergy, 2019, 49(1):6-16.

[13] 张锦. 通窍止鼾汤对过敏性鼻炎模型大鼠鼻黏膜病理学及免疫功能的影响[J]. 四川中医, 2020, 38(4):60-64.

[14] 赵嘉庆,肖静,史春丽,等. 枸杞叶多糖提取工艺优化及其缓解小鼠过敏性鼻炎的研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 420(24):94-100.

[15] 梁晓鹰,姜孝芳,单彩霞,等. 甲基化酶抑制剂对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞及相关因子的影响[J]. 国际免疫学杂志, 2021, 44(1):35-40.

[16] Wakabayashi M, Pawankar R, Narazaki H, et al. Coronavirus disease 2019 and asthma, allergic rhinitis: molecular mechanisms and host-environmental interactions[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2021, 21(1):1-7.

[17] 胡海宇,朱正阳,孙敏燕,等. 复方生/炒白芥子穴位贴敷对变应性鼻炎大鼠行为学及血清 IgE, IL-4, IFN- γ 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9):323-326.

[18] 张晓文,张慧云,王维,等. 变应性鼻炎患者血液嗜酸性粒细胞富集群中 TLR2、TLR4、TLR7 和 TLR9 的变化及其相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2018, 39(4):537-541+572.

[19] Guedes H, Morgado M, Rodrigues M, et al. Allergic rhinitis characterization in community pharmacy customers; a cross-sectional study[J]. Int J Clin Pharm, 2021, 43(1):118-127.

(收稿日期:2022-04-07)

本文引用格式:杨志超,于洋,梁鹏,等. 枸杞多糖通过调控 TLR9/AP-1 信号通路对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子及鼻黏膜中嗜酸性粒细胞炎症的影响[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2023, 29(2):106-111. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322122

Cite this article as: YANG Zhichao, YU Yang, LIANG Peng, et al. Effects of lycium barbarum polysaccharide on Th1/Th2 cytokines and eosinophil inflammation in nasal mucosa of allergic rhinitis rats by regulating TLR9/AP-1 signaling pathway [J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2023, 29(2):106-111. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202322122