

18β-甘草次酸钠改善幼鼠变应性鼻炎和鼻黏膜组织病变及对 Th1/Th2 的平衡机制*

符玉水¹ 符元证² 杨辉¹ 钟丽花¹ 霍开明³

(1. 海南省妇女儿童医学中心新生儿科, 海南 海口 571924; 2. 中国医科大学公共卫生学院卫生毒理学教研室, 辽宁 沈阳 110013; 3. 海南医学院第二附属医院儿科, 海南 海口 570311)

【摘要】 目的 研究 18β-甘草次酸钠(18β-SGA)对变应性鼻炎(AR)幼鼠及其对 Th1/Th2 失衡的改善作用及机制。方法 50 只 SD 幼鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、18β-SGA 低、高剂量组和地塞米松组, 每组 10 只。除对照组外, 其余大鼠根据卵清蛋白致敏法建立 AR 模型。造模后进行对应给药处理, 持续 4 周。大鼠鼻部症状根据行为学评分法进行记录; ELISA 法检测白细胞介素-2(IL-2)、干扰素-γ(IFN-γ)、免疫球蛋白 E(IgE)以及 IL-4、IL-5 水平; HE 染色观察大鼠鼻黏膜组织病理变化; 免疫组化法检测鼻黏膜组织细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、水通道蛋白 5(AQP5)、NF-κB 蛋白表达; Western blot 检测鼻黏膜组织中 NF-κB 和 PI3K-Akt 信号通路相关蛋白表达。结果 模型组大鼠较对照组大鼠评分显著降低($P=0.002$), 鼻黏膜组织出现明显血管扩张、水肿和严重炎性细胞浸润等病理现象。18β-SGA 可减轻大鼠 AR 鼻部症状, 抑制血清中 IL-2、IFN-γ 含量的下降及 IgE、IL-4 和 IL-5 含量的升高($P=0.001$; $P=0.003$; $P=0.008$; $P=0.002$; $P=0.002$), 下调鼻黏膜组织中 ICAM-1、AQP5 与 NF-κB 蛋白表达($P=0.002$; $P=0.004$; $P=0.005$), 并抑制 p-PI3K、p-AKT 及 NF-κB p65 的蛋白表达($P=0.006$; $P=0.002$; $P=0.002$)。结论 18β-SGA 能减轻大鼠 AR 症状, 其机制可能与抑制 NF-κB 和 PI3K-Akt 信号通路活性、调节体内 Th1/Th2 平衡相关。

【关键词】 变应性鼻炎; 18β-甘草次酸钠; 辅助 T 淋巴细胞 1/辅助 T 淋巴细胞 2; 核因子-κB; 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B

【中图分类号】 R765.21; R765.25 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2021.11.008

Study on 18β glycyrrhetic acid sodium in improving allergic rhinitis, nasal mucosal tissue disease and th1/th2 balance mechanism in young rats

FU Yushui¹, FU Yuanzheng², YANG Hui¹, ZHONG Lihua¹, HUO Kaiming³

(1. Department of Neonatal, Hainan Women and Children's Medical Center, Haikou 571924, China; 2. Department of Hygienic Toxicology, School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110013, China; 3. Department of Pediatrics, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570311, China)

【Abstract】 Objective To study the effect and mechanism of 18β-glycyrrhetic acid sodium (18β-SGA) on allergic rhinitis (AR) young mice and its improvement on Th1/Th2 imbalance. **Methods** Fifty young SD rats were randomly divided into control group, model group and 18 groups β SGA low and high dose groups and dexamethasone group, with 10 rats in each group. Except the control group, the other rats established AR model according to ovalbumin sensitization method. The corresponding administration treatment was performed after modeling for 4 weeks. The nasal symptoms of rats were recorded according to the behavioral scoring method. Interleukin-2 (IL-2) and interferon were detected by ELISA-γ (IFN-γ). The levels of immunoglobulin E (IGE), IL-4 and IL-5. The histopathological changes of rat nasal mucosa were observed by HE staining. The intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), aquaporin 5 (AQP5) and NF were detected by immunohistochemistry κ Western blot was used to detect NF in nasal mucosa κB and PI3K Akt signaling pathway related proteins were expressed. **Results** The score of the model group was significantly lower than that of the control group ($P=0.002$), and there were obvious pathological phenomena such as vasodilation, edema and severe

inflammatory cell infiltration in the nasal mucosa. 18β SGA can alleviate the nasal symptoms of AR in rats, inhibit IL-2 and γ -IFN in serum, increase the contents of IgE, IL-4 and IL-5 ($P=0.002, P=0.002$), down regulate ICAM-1, AQP5 and NF in nasal mucosa κ B protein expression ($P=0.002; P=0.004; P=0.005$), Inhibite P-PI3K, P-Akt and NF κ protein expression of B p65 ($P=0.006; P=0.002; P=0.002$). **Conclusion** 18β -SGA can alleviate AR nasal symptoms in rats, and its mechanism may be related to inhibiting the activity of NF- κ B and PI3K-Akt signaling pathway and regulating Th1/Th2 balance in vivo.

【Key words】 Allergic rhinitis; 18β -sodium glycyrrhetic acid; Helper T lymphocyte 1/helper T lymphocyte 2; Nuclear factor- κ B; Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B

变应性鼻炎(Allergic rhinitis, AR)是一种常见的变态反应介导的炎症性疾病,其特征是鼻塞、鼻充血、打喷嚏和鼻痒等^[1]。据统计,AR 在全球的发病率约为 25%~35%,在我国 AR 的发病率不断上升,它与其他炎症性疾病如哮喘、鼻窦炎、过敏性结膜炎、渗出性中耳炎和腺样体肥大等密切相关^[2-3],其发病与多种因素有关,主要包括 Th1/Th2 细胞分化失衡、炎症介质释放及免疫球蛋白 E 升高^[4]。甘草次酸(Glycyrrhetic acid, GA)为甘草主要活性成分之一的五环三萜烯衍生物,具有与甘草酸相同的药理作用,可发挥抗肿瘤、抗溃疡、抗炎以及延缓自身免疫性疾病发展的作用^[5-7]。 18β -甘草次酸钠(18β -SGA)是甘草次酸的钠盐制剂,已有研究证明 18β -SGA 在抑制 AR 方面具有一定的可行性^[8],但其治疗 AR 的具体机制尚未明确,本研究拟通过构建 AR 大鼠模型,进一步观察 18β -SGA 对 AR 大鼠鼻黏膜的作用并探究相关分子机制,为阐明 AR 发病机制和探索新的 AR 治疗途径提供了依据,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级 Sprague-Dawley 大鼠,7 日龄,体质量(18.4 ± 2.2)g,购自中国医科大学实验动物中心。将新生 SD 幼鼠与母鼠同笼适应性喂养,饲养箱环境设置为温度 $25^{\circ}\text{C} \sim 28^{\circ}\text{C}$ 、湿度 60%~80%,给予光照与黑暗各 12 h 交替。本研究符合实验动物 3R 原则,并经海南省妇女儿童医学中心伦理委员会批准。

1.2 主要试剂 卵清蛋白(ovalbumin, OVA)和氢氧化铝 [$\text{Al}(\text{OH})_3$]干粉购自美国 Sigma 公司;伊红染色液、苏木素染色液、RIPA 裂解液和 BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术公司;IL-2、IFN- γ 、IgE、IL-4、IL-5 大鼠特异性 ELISA 试剂盒购自上海西唐生物有限公司;免疫组织化学染色,抗体 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 购自北京博奥森生物技术有限公司;抗体 histone H2、NF- κ B p65、ICAM-1、TGF- β 1、 β -actin 购自美国 Abcam 公司;HRP 标记的山羊抗兔二抗购自上海碧云天生物技术公司。

1.3 方法

1.3.1 模型制作 参考文献方法^[9]建立大鼠变应性鼻炎(AR)模型,首先进行基础致敏:在 0.3 mg 卵清蛋白(OVA)和 30 mg 氢氧化铝 [$\text{Al}(\text{OH})_3$]中加入生理盐水 1 mL 混匀,制成混悬液,腹腔内注射,隔日注射 1 次,共 7 次,对照组大鼠以等量生理盐水进行腹腔注射;接着进行鼻腔激发:以 50 μL 的 2% OVA 滴鼻,采用微量进样器从双侧鼻腔滴入,每天 1 次,共 7 次,对照组以等量生理盐水滴入鼻腔。

1.3.2 分组与给药 将 50 只新生 SD 幼鼠按照随机数字表法分为五组,包括:对照组、模型组、 18β -SGA 低剂量组、 18β -SGA 高剂量组和地塞米松组,每组 10 只。模型组、 18β -SGA 低剂量组、 18β -SGA 高剂量组和地塞米松组建立 AR 模型。造模完成后开始给药治疗, 18β -SGA 低剂量组、 18β -SGA 高剂量组分别按照 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 进行腹腔注射,地塞米松组大鼠以 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 进行腹腔注射,对照组和模型组同时注射生理盐水。每日注射一次,共持续 4 周。

1.3.3 变应性鼻炎症状评分 在处死大鼠前,采用 5% OVA 滴鼻,观察 30 min 内大鼠喷嚏、鼻溢和搔鼻动作的行为,并采用叠加量化计分。①喷嚏:1~4 个为 1 分,5~10 个为 2 分,10 个以上为 3 分。②流鼻涕:流至鼻孔前为 1 分,流出鼻孔为 2 分,流至面部计为 3 分。③挠痒:单前肢偶有挠鼻为 1 分,双前肢挠鼻为 2 分,双前肢不停挠鼻为 3 分。

1.3.4 ELISA 断颈法处死各组大鼠,腹主动脉采血,室温静置 2h, 4°C 低温离心机以离心半径为 10cm、4000r/min 离心 15 min,获取上清,使用大鼠特异性 ELISA 试剂盒检测血清中 IL-2、IFN- γ 、IgE、IL-4 及 IL-5 水平,步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3.5 HE 染色 处死大鼠后分离鼻骨前皮肤,咬除鼻骨,迅速取出双侧鼻腔黏膜组织,置于 4% 多聚甲醛中固定。将组织进行石蜡包埋,切成 5 μm 石蜡切片后,进行苏木精-伊红染色观察组织学改变。切片采用二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,使用苏木精染色 5 min,

流水冲洗后,伊红染色 3 min,流水再次冲洗,梯度乙醇脱水后,二甲苯透明 10 min,中性树胶封片,于显微镜下观察鼻腔黏膜组织形态变化并拍照。

1.3.6 免疫组织化学染色 将鼻腔黏膜组织石蜡切片二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水后,在 0.3% 过氧化氢中处理 30 min,高温(98℃)下加热 5 min,加入山羊血清室温孵育 1 h,加入兔抗 ICAM-1(1:100)、TGF-β1(1:100)与 NF-κB(1:50),4℃ 孵育过夜。PBS 液洗后,加二抗室温孵育 1h。滴加 DAB 显色,自来水洗涤,加苏木素复染,二甲苯透明,中性树胶封片,在光学显微镜下观察图像并拍照。

1.3.7 Western blot 将鼻黏膜组织充分剪碎,用 PBS 清洗,加入 RIPA 裂解缓冲液提取总蛋白,通过 BCA 法测定蛋白质含量。以 30μg 蛋白的量加样并通过 10% SDS-PAGE 凝胶分离蛋白质,然后转移至聚偏氟乙烯膜上。5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,TBST 洗膜后,加入稀释后的一抗 p-PI3K(1:1000)、PI3K(1:1000)、p-Akt(1:1000)、Akt(1:1000)、NF-κB p65(1:1000)以及 histone H2(1:1000)、β-actin(1:1000),4℃ 下孵育过夜。次日,TBST 洗膜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5000),室温下孵育 1 h,TBST 洗膜后,滴加 ECL 化学发光液显色曝光,凝胶成像系统拍照,使用 Image Pro-Plus 分析系统对蛋白条带进行分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组数据比较采用 LSD-t 检验,多组间数据比较用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学评分结果 通过对各组大鼠观察发现,正常组大鼠未见明显喷嚏、流涕表现,偶有抓鼻;与正常组比较,AR 组大鼠均出现明显的烦躁不安、打喷嚏、流涕、频繁抓鼻等现象,AR 行为学评分显著增加($P < 0.01$),且高于 5 分;与模型组比较,18β-SGA 低剂量组、18β-SGA 高剂量组和地塞米松组大鼠打喷嚏、流涕、抓鼻等现象有所减轻,AR 行为学评分均显著下降($P < 0.01$),见表 1。

表 1 各组大鼠行为学评分比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of behavioral scores of rats in each group

分组	行为学评分
对照组	0.53±0.32
模型组	7.81±0.94 ^①
18β-SGA 低剂量组	1.54±0.39 ^②
18β-SGA 高剂量组	0.82±0.27 ^②
地塞米松组	0.76±0.20 ^②
F	34.980
P	<0.001

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.2 各组大鼠鼻粘膜组织病理学观察 HE 染色结果显示,在对照组大鼠的鼻粘膜组织中未见明显的损伤,鼻黏膜组织结构整齐、有序排列;模型组大鼠鼻粘膜组织可见明显的血管扩张、水肿和严重炎症细胞浸润;18β-甘草次酸钠低剂量组鼻黏膜组织仍有水肿,伴有轻度的炎症细胞浸润,但较模型组鼻黏膜组织病理变化得以改善,18β-甘草次酸钠高剂量组鼻黏膜组织水肿、炎症细胞浸润的现象较 18β-甘草次酸钠低剂量组明显减轻。地塞米松组鼻黏膜组织病理变化改善效果较 18β-甘草次酸钠低、高剂量组更好,见图 1。

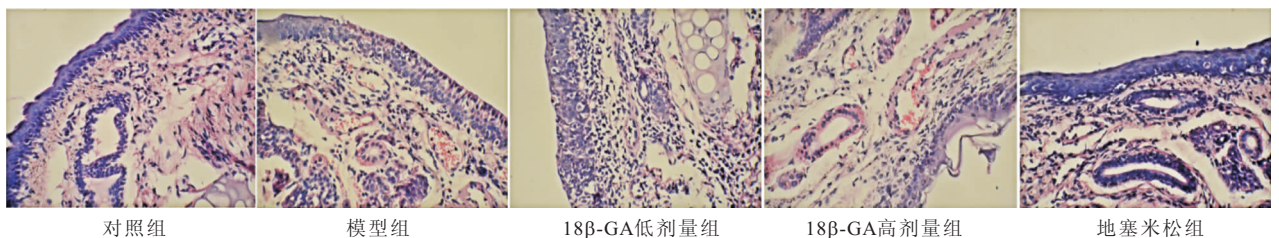


图 1 各组大鼠鼻黏膜组织病理图片(HE,200×)

Figure 1 Histopathological pictures of the nasal mucosa of rats in each group

2.3 各组大鼠血清 Th1/Th2 细胞因子表达比较 ELISA 检测结果显示,模型组 IL-2、IFN-γ 含量显著低于对照组,IgE、IL-4 及 IL-5 显著高于对照组($P < 0.01$);与模型组比较,18β-甘草次酸钠低、高剂量组与地塞米松组 IL-2、IFN-γ 含量显著升高,而 IgE、IL-4 及 IL-5 水平显著低于模型组($P < 0.01$),见图 2。

2.4 各组鼻黏膜组织中 ICAM-1、AQP5 和 NF-κB

测定结果 免疫组织化学染色结果显示,与正常组比较,模型组大鼠鼻黏膜组织中 ICAM-1、AQP5 着色较深,NF-κB 在细胞质和细胞核中均有着色,三种蛋白表达显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,18β-SGA 低剂量组、18β-SGA 高剂量组和地塞米松组中,ICAM-1、AQP5 着色较浅,NF-κB 主要在细胞质中着色,这三种蛋白表达均显著下降($P < 0.05$),见图 3、表 2。

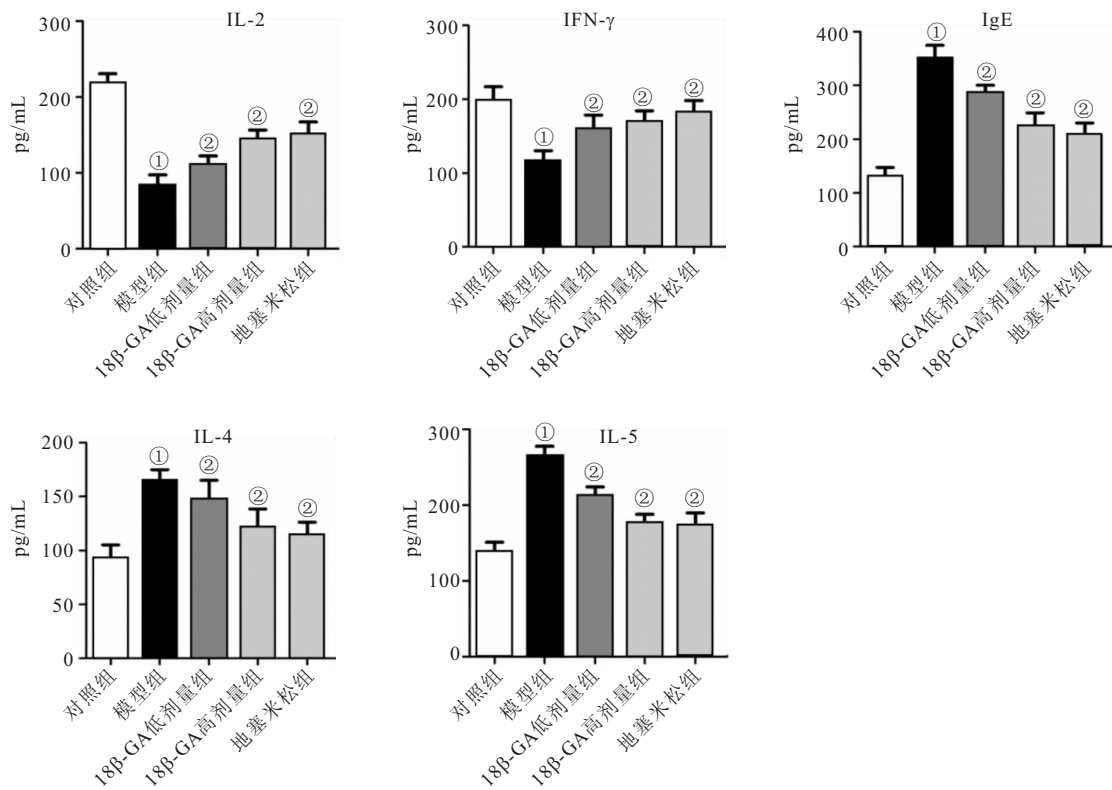


图 2 各组大鼠血清 IL-2、IFN-γ、IgE、IL-4 与 IL-5 水平检测
 Figure 2 Detection of serum IL-2, IFN-γ, IgE, IL-4 and IL-5 levels in each group of rats
 注:与对照组比较,①P<0.01;与模型组比较,②P<0.01

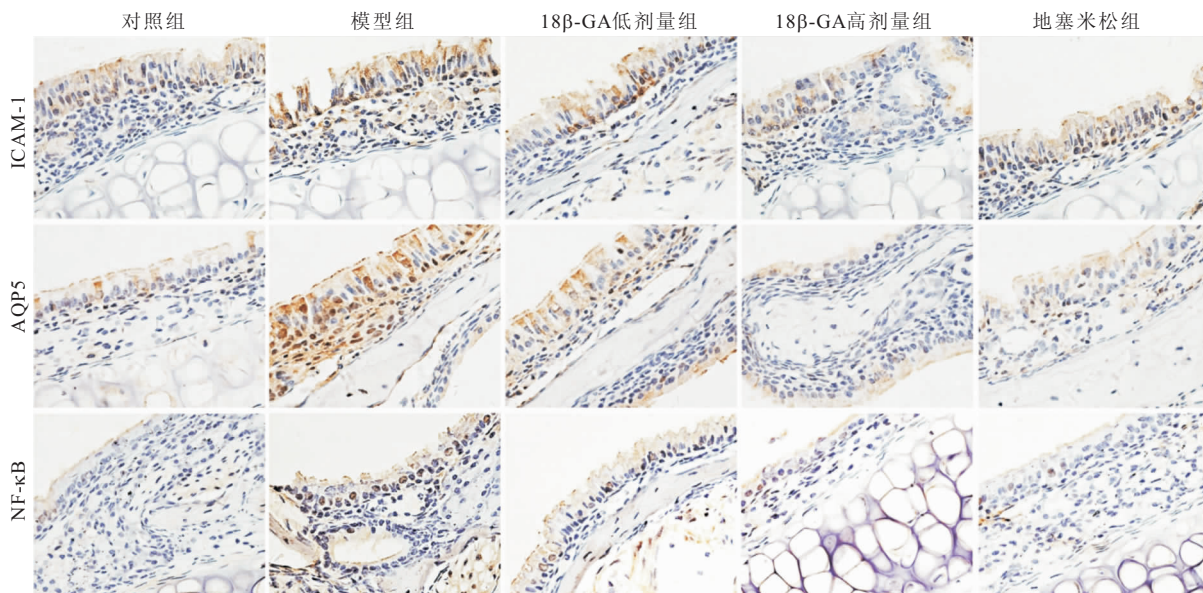


图 3 各组大鼠鼻黏膜组织中 ICAM-1、AQP5 和 NF-κB(免疫组化染色,200×)
 Figure 3 ICAM-1, AQP5 and NF-κB in nasal mucosa tissue of rats in each group

表 2 大鼠鼻粘膜组织 ICAM-1、AQP5 和 NF-κB 平均光密度比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of the average optical density of ICAM-1, AQP5 and NF-κB in rat nasal mucosa

分组	ICAM-1	AQP5	NF-κB
对照组	0.22±0.02	0.19±0.01	0.16±0.01
模型组	0.59±0.04 ^①	0.67±0.06 ^①	0.60±0.07 ^①
18β-SGA 低剂量组	0.43±0.03 ^②	0.45±0.04 ^②	0.41±0.05 ^②
18β-SGA 高剂量组	0.29±0.01 ^②	0.26±0.01 ^②	0.21±0.01 ^②
地塞米松组	0.37±0.02 ^②	0.24±0.01 ^②	0.20±0.01 ^②
F	15.098	12.241	9.116
P	0.003	0.007	0.010

注:与对照组比较,①P<0.05;与模型组比较,②P<0.05

2.5 各组大鼠鼻粘膜组织 NF-κB 与 PI3K-Akt 信号通路相关蛋白表达 Western blot 检测结果显示,模型组鼻粘膜组织中 p-PI3K、p-AKT 及 NF-κB p65 蛋白表达量显著上升(P<0.05);而 18β-甘草次酸钠低、高剂量组与地塞米松组中 p-PI3K、NF-κB p65 蛋白表达受到抑制,较模型组均显著下降(P<0.05),18β-甘草次酸钠高剂量组与地塞米松组中 p-AKT 蛋白表达量较模型组也显著下降(P<0.05);而各组间 PI3K、

AKT 蛋白表达量比较差异无统计学意义(P>0.05),见图 4、表 3。

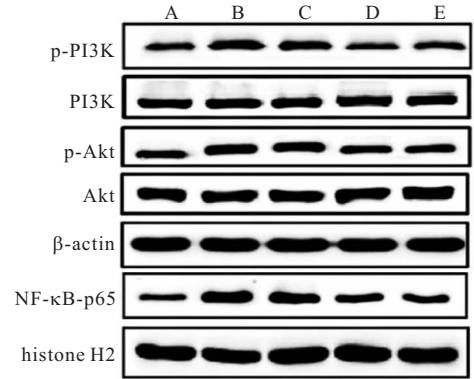


图 4 Western blot 检测各组大鼠鼻黏膜组织 NF-κB 与 PI3K-Akt 信号通路相关蛋白表达

Figure 4 Western blot detection of NF-κB and PI3K-Akt signaling pathway related protein expression in nasal mucosa tissues of rats in each group

注:A.对照组;B.模型组;C.18β-甘草次酸钠低剂量组;D.18β-甘草次酸钠高剂量组;E.地塞米松组

表 3 各组大鼠粘膜组织 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、NF-κB p65 蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, NF-κB p65 protein expression in mucosal tissues of each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	PI3K	p-PI3K	AKT	p-AKT	NF-κB p65
对照组	0.83±0.06	0.28±0.01	0.88±0.09	0.36±0.02	0.12±0.01
模型组	0.85±0.08	0.76±0.05 ^①	0.87±0.07	0.80±0.07 ^①	0.71±0.07 ^①
18β-SGA 低剂量组	0.84±0.08	0.50±0.04 ^②	0.88±0.08	0.76±0.07	0.52±0.04 ^②
18β-SGA 高剂量组	0.82±0.07	0.41±0.03 ^②	0.86±0.09	0.50±0.06 ^②	0.43±0.03 ^②
地塞米松组	0.81±0.05	0.45±0.05 ^②	0.88±0.08	0.49±0.04 ^②	0.34±0.03 ^②
F	0.671	14.228	0.846	16.092	16.789
P	0.235	0.003	0.450	0.001	0.001

注:与对照组比较,①P<0.05;与模型组比较,②P<0.05

3 讨论

变应性鼻炎(AR)是成人和儿童哮喘发生的危险因素之一,AR 患者表现出由 IgE 介导的炎症反应,其特征在于 Th2 免疫学模式与肥大细胞、嗜酸性粒细胞的活化以及对暴露于过敏原的炎症介质的释放^[4]。AR 反应中当过敏原与鼻粘膜接触后,肥大细胞立即分泌并释放炎症介质如组胺、白介素等,从而诱导包括打喷嚏、瘙痒和流鼻涕等急性过敏反应,当在过敏原中继续暴露 6~10 h 后,在鼻腔中发生炎症细胞如嗜酸性粒细胞浸润,嗜酸性粒细胞来源的介质诱导上皮损伤并导致鼻粘膜肿胀^[10]。

本研究通过使用 OVA 诱导 AR 大鼠模型观察 18β-甘草次酸钠的抗过敏作用。OVA 致敏后的大鼠出现烦躁不安、打喷嚏、流涕、频繁抓鼻等现象,鼻粘膜组织可见明显的结构破坏、血管扩张、水肿和炎症细胞浸润等病理改变,说明 AR 大鼠模型构建成功。

经过 18β-甘草次酸钠治疗后,大鼠打喷嚏、流涕、抓鼻等现象较模型组有所减轻,显著改善了鼻粘膜组织鼻粘膜水肿、血管扩张和炎症细胞浸润。与先前研究结果一致,本研究也显示出 18β-甘草次酸钠对于 AR 大鼠具有一定的治疗功效。

辅助性 T 细胞是机体内具有特异性和非特异性免疫调节功能的细胞,根据分泌细胞因子种类的不同可分为 Th1 细胞和 Th2 细胞,Th1/Th2 失衡与过敏性疾病的发病机理密切相关^[11]。研究表明,AR 后 Th1 细胞因子表达受抑制和 Th2 细胞因子表达增加导致了 Th1/Th2 失衡^[12]。由于过敏原以肥大细胞的 Th2 免疫模式和由嗜酸性粒细胞产生的炎症浸润物的相互作用为特征,因此 AR 是一种 IgE 介导的鼻粘膜炎性疾病,Th2 细胞可能在 AR 的发展中起重要作用,而抑制 Th2 细胞过度分泌以调节 Th1/Th2 免疫平衡成为治疗 AR 的新靶点^[13]。由 Th1 细胞分泌的

细胞因子,如 IL-2 具有促进 T 细胞活化与增殖的作用,IFN- γ 能够抑制 B 细胞合成 IgE,同时抑制 Th0 细胞向 Th2 型细胞分化;Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5 等细胞因子,研究显示 IL-4 能够拮抗 IFN- γ ,可促进 B 细胞合成 IgE 与 Th0 细胞分化为 Th2 细胞^[14-15]。本研究结果显示,18 β -甘草次酸钠可抑制 IL-2、IFN- γ 下降与 IgE、IL-4 及 IL-5 水平的升高,调节 Th1/Th2 细胞因子平衡,从而对变应性鼻炎大鼠起到保护作用。

细胞间黏附分子-1(ICAM-1)是黏附分子中免疫球蛋白超基因家族成员,ICAM-1 在各种细胞类型,如成纤维细胞、白细胞、角质形成细胞、肿瘤细胞的表面上表达,增强与内皮细胞间的黏附作用^[16]。研究表明,ICAM-1 在变应性炎症组织中表达急剧增加,沉默 ICAM-1 可下调炎性细胞因子的水平,并抑制嗜酸性粒细胞和肥大细胞的浸润^[17]。水通道蛋白 5(AQP5)是一种水特异性通道蛋白,是变态反应性炎症期间的分泌限速屏障,在 AR 鼻黏膜组织中 AQP5 表达升高,并致使腺体过度分泌^[18]。本研究显示,经过 18 β -甘草次酸钠治疗的大鼠,鼻黏膜组织中 ICAM-1 和 AQP5 蛋白表达水平均下降。有研究表明,NF- κ B 通路参与了 AQP5 的表达调控^[19]。NF- κ B 作为与炎症密切相关的转录因子,活化后能诱导炎症细胞因子的表达以加重变应性炎症的病理反应,在 AR 中 NF- κ B 途径可被上皮细胞中的组胺所激活,NF- κ B p65 是一类典型的 NF- κ B 亚基,存在于转录激活区域,当 AR 发生后,NF- κ B 释放,游离的 NF- κ B 以异源二聚体形式 NF- κ B p65 和 NF- κ B p50 转移至细胞核,通过激活相关转录途径而加重炎症反应^[20]。本研究中,18 β -甘草次酸钠可抑制鼻黏膜组织中 NF- κ B p65 蛋白表达,抑制了 NF- κ B 通路激活,以减轻 AR 后的炎症反应。

磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路参与多种细胞活动和多种病理机制,与细胞增殖、分化、凋亡及代谢等密切相关。PI3K 家族由磷酸肌醇催化的激酶组成,AKT 是 PI3K 的关键下游靶蛋白,是细胞中重要的信号传导途径,能够响应各种外源刺激而磷酸化至其功能性状态,从而调控细胞生物学行为。此外,PI3K/AKT 通路参与调节免疫细胞功能来影响 AR 的发生发展。Ceng 等^[21]研究发现在肥胖过敏性鼻炎中,瘦素介导的骨桥蛋白表达上调促进了 Th 细胞向 Th2 细胞分化,进而增加了炎症反应,且该过程是通过调控 PI3K/AKT 信号通路途径实现的。本研究结果显示,18 β -甘草次酸钠作用于 AR 幼鼠后,鼻黏膜组织中 p-PI3K、p-AKT 水平均明显下调,说明 18 β -甘草次酸钠阻碍了 PI3K-Akt 信号通路

激活,从而发挥对 AR 的改善作用。

4 结论

18 β -甘草次酸钠改善 AR 幼鼠鼻黏膜组织病变,调节 Th1/Th2 细胞因子平衡,下调鼻黏膜组织中 ICAM-1、AQP5 蛋白表达,抑制 NF- κ B 与 PI3K-Akt 信号通路的激活,对 AR 幼鼠具有一定保护作用。然而 AR 病理机制较为复杂,18 β -甘草次酸钠是否通过其它通路对 AR 产生作用和影响仍需进一步进行探索。

【参考文献】

- [1] CHENG L, CHEN J, FU Q, *et al.* Chinese society of allergy guidelines for diagnosis and treatment of allergic rhinitis[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2018, 10(4):300-353.
- [2] BAE J S, KIM S H, KIM J H, *et al.* Effects of low-level laser irradiation in a mouse model of allergic rhinitis[J]. Laser Surg Med, 2020, 52(4):347-357.
- [3] SAMUEL N H, EMILY B, THOMAS E, *et al.* The role of allergic rhinitis in chronic rhinosinusitis[J]. Immunol Allergy Clin, 2020, 40(2):201-214.
- [4] SCADDING G W, CALDERON M A, SHAMJI M H, *et al.* Effect of 2 years of treatment with sublingual grass pollen immunotherapy on nasal response to allergen challenge at 3 years among patients with moderate to severe seasonal allergic rhinitis: the GRASS randomized clinical trial[J]. JAMA, 2017, 317(6):615-625.
- [5] SONG J, DAI H, ZHANG H, *et al.* Influence of glycyrrhetic acid on the pharmacokinetics of warfarin in rats[J]. Xenobiotica, 2020, 50(5):602-605.
- [6] 王若宁, 柳雨影, 陈健, 等. 甘草酸、甘草次酸的抗肿瘤机制及其作为药物递送载体的研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(23):5876-5886.
- [7] ZHOU F, WU G R, CAI D S, *et al.* Synthesis and biological activity of glycyrrhetic acid derivatives as antitumor agents[J]. Eur J Med Chem, 2019, 178: 623-635.
- [8] 李丽, 王有虎, 侯赞, 等. 18 β -甘草次酸钠对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜 NF- κ Bp50 及血清 IL-4 表达的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2020, 41(1):58-63.
- [9] 苗明三, 项丽玲, 苗艳艳. 变应性鼻炎动物模型制备规范(草案)[J]. 中草药, 2018, 49(1):50-57.
- [10] ALISA Y, CIERSTEN A B, NEIL B. Cognitive and quality of life-related burdens of illness in pediatric allergic airway disease[J]. Otolaryng Head Neck, 2020, 162(4):566-571.
- [11] LOOIJEN M G, NEW D J, FISCHER C D, *et al.* Expression of T helper cell-associated inflammatory mediator mRNAs in cells of bronchoalveolar lavage fluid samples and oxygen concentration in arterial blood samples from healthy horses exposed to hyperbaric oxygen[J]. Am J Vet Res, 2016, 77(10):1148-1156.
- [12] WANG X T, LV M, GOU H Y. Effects of epidural block combined with general anesthesia on antitumor characteristics of T helper cells in hepatocellular carcinoma patients[J]. J Biol Regul Homeost agents, 2016, 30(1):67-77.

- [8] ATTAL N. Pharmacological treatments of neuropathic pain: The latest recommendations [J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2019, 175(1-2): 46-50.
- [9] 查磊琼, 彭志友, 冯智英. 神经病理性疼痛药物治疗新靶点研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2018, 24(6): 402-406.
- [10] 吴志伟, 宋朋飞, 朱清广, 等. 神经病理性疼痛机制研究进展 [J]. *河北医科大学学报*, 2018, 39(9): 1095-1100.
- [11] MEACHAM K, SHEPHERD A, MOHAPATRA D P, *et al.* Neuropathic Pain: Central vs. Peripheral Mechanisms [J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2017, 21(6): 28.
- [12] INOUE K, TSUDA M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19(3): 138-152.
- [13] TSUDA M. Microglia-Mediated Regulation of Neuropathic Pain: Molecular and Cellular Mechanisms [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(12): 1959-1968.
- [14] 陈洪杰. 帕瑞昔布钠对腰椎间盘突出手术患者镇痛效果及术后血清炎症因子水平的影响 [J]. *颈腰痛杂志*, 2019, 40(3): 388-390.
- [15] 吴倩, 姚秀秀, 程伟, 等. 帕瑞昔布钠联合盐酸羟考酮对腹腔镜患者术后恢复质量和炎症反应的影响 [J]. *西部医学*, 2020, 32(7): 1041-1044.
- [16] 王涛, 江超, 李志军. TGF- β 1 与系统性红斑狼疮研究进展 [J]. *国际免疫学杂志*, 2019, 42(2): 190-194.
- [17] FLANDERS K C, REN R F, LIPPA C F. Transforming growth factor-betas in neurodegenerative disease [J]. *Prog Neurobiol*, 1998, 54(1): 71-85.
- [18] LIPPA C F, SMITH T W, FLANDERS K C. Transforming growth factor-beta: neuronal and glial expression in CNS degenerative diseases [J]. *Neurodegeneration*, 1995, 4(4): 425-432.
- [19] 殷姜文, 葛明月, 李燕, 等. TGF- β /SMAD/JNK 通路参与异氟醚后处理减轻大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2020, 36(6): 574-578.
- [20] HU Y, CHEN W, WU L, *et al.* TGF-beta1 Restores Hippocampal Synaptic Plasticity and Memory in Alzheimer Model via the PI3K/Akt/Wnt/beta-Catenin Signaling Pathway [J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 67(1): 142-149.
- [21] ZHOU X, ZOLLER T, KRIEGLSTEIN K, *et al.* TGFbeta1 inhibits IFNgamma-mediated microglia activation and protects mDA neurons from IFNgamma-driven neurotoxicity [J]. *J Neurochem*, 2015, 134(1): 125-134.
- [22] XU Q, JIA H, MA L, *et al.* All-trans retinoic acid inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in bovine adipocytes via TGFbeta1/Smad3 signaling pathway [J]. *BMC Vet Res*, 2019, 15(1): 48.
- [23] CHE F, DU H, WEI J, *et al.* MicroRNA-323 suppresses nerve cell toxicity in cerebral infarction via the transforming growth factor-beta1/SMAD3 signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(2): 993-1002.

(收稿日期: 2020-06-04; 修回日期: 2021-01-22; 编辑: 张翰林)

(上接第 1601 页)

- [13] ANDRADE M M C, CARNEIRO V L, GALVAO A A, *et al.* *Toxoplasma gondii* protects from IgE sensitization and induces Th1/Th2 immune profile [J]. *Parasite immunol*, 2020, 42(3): e12694.
- [14] CHEN B, LI H, XIA W. The role of Th1/Th2 cell chemokine expression in hypertrophic scar [J]. *Int Wound J*, 2020, 17(1): 197-205.
- [15] MATUCCI A, NENCINI F, MAGGI E, *et al.* Systemic hypereosinophilic syndromes: when autoimmunity is Th2 mediated [J]. *Curr Opin Allergy Cl*, 2020, 20(2): 175-180.
- [16] WEI J, LIN J. Relationship of polymorphism of adhesion molecules VCAM-1 and ICAM-1 with preeclampsia [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2020, 50(1): 79-84.
- [17] JEMIMA E A, PREMA A, THANGAME B. Functional characterization of histamine H4 receptor on human mast cells [J]. *Mol Immunol*, 2014, 62(1): 19-28.
- [18] 欧阳昱晖, 范尔钟, 李颖, 等. 水通道蛋白 5 在过敏性鼻炎黏膜过度表达及其对腺体分泌的影响 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2018, 25(9): 503-506.
- [19] WANG W, SHAO S, WANG S. The role for human nasal epithelial nuclear factor kappa B activation in histamine-induced mucin 5 subtype B overproduction [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2016, 6(3): 264-270.
- [20] 向小红, 孙永东, 李亮. TLR-NF- κ B 信号通路 with 变异性鼻炎发病机制的相关研究进展 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(A2): 105-106+109.
- [21] ZENG Q X, LUO X, HAN M M, *et al.* Leptin/Osteopontin axis regulated Type 2 T helper cell response in allergic rhinitis with obesity [J]. *EbioMedicine*, 2018, 32: 43-49.

(收稿日期: 2020-10-15; 修回日期: 2020-12-13; 编辑: 张翰林)