

苍耳子水提液对过敏性鼻炎小鼠的治疗作用及机制研究

邵深深¹ 张菁蓉¹ 林希¹ 何婷²

1.温州市人民医院 浙江,温州 325000 2.浙江大学医学院附属第一医院

摘要: [目的] 探讨苍耳子(*Xanthii Fructus*, XF)水提液对过敏性鼻炎(allergic rhinitis, AR)小鼠的治疗作用及机制。[方法] 36只 BALB/c 小鼠随机分为正常对照(normal control, NC)组、AR 组、低剂量 XF 水提液(low-dose XF, L-XF)组(4 mg·kg⁻¹)、中剂量 XF 水提液(medium-dose XF, M-XF)组(8 mg·kg⁻¹)、高剂量 XF 水提液(high-dose XF, H-XF)组(16 mg·kg⁻¹)和地塞米松(dexamethasone group, DXM)组(5 mg·kg⁻¹), 每组 6 只。除 NC 组外, 余下各组小鼠均用卵清白蛋白(ovalbumin, OVA)致敏进行 AR 造模, 随后治疗 14 d。治疗结束后, 记录小鼠搔鼻和喷嚏次数, 并进行鼻炎症状评分; 取小鼠鼻腔组织, 行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色和糖原(periodic acid-schiff, PAS)染色观察小鼠鼻腔组织学形态变化并评分, 中性红染色观察肥大细胞脱颗粒情况, 并计算各组药物脱颗粒抑制率; 酶联免疫吸附试验检测小鼠血清白三烯 C₄、组胺及 β-氨基己糖苷酶 A 水平; 免疫印迹法检测鼻腔组织 T 细胞激活连接蛋白(linker for activation of T cell, LAT)、磷酸化 LAT(phospho-LAT, p-LAT)、磷脂酶 C_γ1(phospholipase C_γ1, PLC_γ1)、磷酸化 PLC_γ1(phospho-PLC_γ1, p-PLC_γ1)、蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)、磷酸化 PKC(phospho-PKC, p-PKC)蛋白的表达。[结果] 与 NC 组比较, AR 组小鼠的搔鼻、打喷嚏次数显著增加, 鼻炎评分显著升高, HE 评分以及 PAS 评分均显著升高, 血清白三烯 C₄、组胺、β-氨基己糖苷酶 A 水平显著升高, 肥大细胞脱颗粒率显著升高, p-LAT/LAT、p-PLC_γ1/PLC_γ1、p-PKC/PKC 的蛋白表达显著升高($P<0.01$)。与 AR 组比较, 各组小鼠搔鼻、打喷嚏次数, 以及肥大细胞脱颗粒率显著减少($P<0.05, P<0.01$); M-XF 组、H-XF 组、DXM 组的鼻炎评分显著下降, HE 评分以及 PAS 评分显著降低, 血清白三烯 C₄、组胺、β-氨基己糖苷酶 A 水平显著下降($P<0.05, P<0.01$); M-XF 组、H-XF 组、DXM 组的药物脱颗粒抑制率显著高于 L-XF 组($P<0.05, P<0.01$)。免疫印迹显示, 与 AR 组比较, 各组小鼠鼻腔组织的 p-PKC/PKC 蛋白表达显著下降($P<0.05, P<0.01$), M-XF 组、H-XF 组、DXM 组小鼠鼻腔组织的 p-LAT/LAT、p-PLC_γ1/PLC_γ1 的蛋白表达显著下降($P<0.05, P<0.01$)。[结论] XF 水提液可能通过抑制 LAT/PLC_γ1/PKC 信号通路的表达, 抑制肥大细胞脱颗粒, 从而改善小鼠 AR 症状。

关键词: 苍耳子水提液; 过敏性鼻炎; 肥大细胞脱颗粒; 组胺; LAT/PLC_γ1/PKC 信号通路; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1005-5509(2023)02-0111-07

DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2023.02.001

Study on the Therapeutic Effect and Mechanism of *Xanthii Fructus* Water Extract on Mice with Allergic Rhinitis
SHAO Shenshen, ZHANG Qiangrong, LIN Xi, et al *Wenzhou People's Hospital, Wenzhou(325000), China*

Abstract: [Objective] To investigate the therapeutic effect and mechanism of *Xanthii Fructus*(XF) water extract on allergic rhinitis(AR) mice. [Methods] Thirty-six BALB/c mice were randomly divided into normal control(NC) group, AR model(AR) group, low dose XF water extract(L-XF) group(4 mg·kg⁻¹), medium dose XF water extract(M-XF) group(8 mg·kg⁻¹), high dose XF water extract(H-XF) group(16 mg·kg⁻¹), and dexamethasone(DXM) group(5 mg·kg⁻¹), six in each group. Except the NC group, mice were sensitized with ovalbumin(OVA) to establish AR model, then treated for 14 days. After treatment, the times of nasal scratching and sneezing were recorded and the symptoms of rhinitis were scored. Mice nasal tissues were collected, hematoxylin-eosin(HE) staining and periodic acid-schiff(PAS) staining were used to observe the histological changes and scoring, neutral red staining was used to count the number of degranulation of mast cells and calculate the drug degranulation inhibition rate; enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) was used to detect serum leukotriene C₄(LTC₄), histamine and β-hexosaminidase A levels; Western blot was used to detect protein expression of linker for activation of T cell(LAT), phospho-LAT(p-LAT), phospholipase C_γ1(PLC_γ1), phospho-PLC_γ1(p-PLC_γ1), protein kinase C(PKC), phospho-PKC(p-PKC) in nasal tissue. [Results] Compared with NC group, the times of scratching nose and sneezing, rhinitis score, HE and PAS scores, serum LTC₄, histamine and β-hexosaminidase A levels, rate of degranulation mast cells, and protein

基金项目:温州市科技计划项目(Y20180817)

Fund project: Wenzhou Science and Technology Plan Project(Y20180817)

expression of p-LAT/LAT, p-PLC γ 1/PLC γ 1, p-PKC/PKC in AR group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with AR group, the times of scratching nose and sneezing and rate of degranulation mast cells in each group were significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$); and rhinitis score, HE and PAS scores, serum LTC $_4$, histamine and β -hexosaminidase A levels in M-XF group, H-XF group and DXM group were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the drug degranulation inhibition rate of M-XF group, H-XF group and DXM group was significantly higher than that of L-XF group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Western blot showed that compared with AR group, protein expression of p-PKC/PKC was significant decreased in each group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and protein expression of p-LAT/LAT, p-PLC γ 1/PLC γ 1 were significantly decreased in M-XF group, H-XF group and DXM group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). [Conclusion] XF water extract may ameliorate mice AR symptom mediated inhibition of LAT/PLC γ 1/PKC signaling pathway to restrain mast cell degranulation.

Key words: *Xanthii Fructus* water extract; allergic rhinitis; mast cell degranulation; histamine; LAT/PLC γ /PKC signaling pathway; functional mechanism

过敏性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是机体免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 介导的, 针对吸入性过敏原的变态反应性疾病, 表现为鼻痒、阵发性喷嚏、鼻分泌亢进及鼻塞等, 其发病受环境因素和遗传因素的双重影响^[1]。目前认为, IgE 接触过敏原后刺激肥大细胞激活和脱颗粒, 是产生 AR 症状和炎症的主要原因^[1]。

中医治疗 AR 讲究辨治, 并独具特色^[2-3]。苍耳子 (*Xanthii Fructus*, XF) 为菊科植物苍耳 (*Xanthium sibiricum* Patr) 干燥成熟带总苞的果实, 其性温, 味辛、苦, 多用于鼻部疾病治疗^[4]。研究表明, XF 具有抑制肥大细胞释放炎症介质和调节细胞因子的作用^[5-7], 但其具体机制尚不明确。因此, 本研究通过卵清白蛋白 (ovalbumin, OVA) 致敏小鼠模型, 观察 XF 水提液对 AR 小鼠的改善作用并探究其作用机制, 以完善临床治疗 AR 的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物 8 周龄左右的雌性 BALB/c 小鼠 36 只, 购于上海斯莱克实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号: SCXK (沪) 2017-0005], 常规饲养于杭州鹰吻生物科技有限公司 [实验动物使用许可证号: SYXK (浙) 2020-0024], 给予自由饮食。本研究动物伦理已获得杭州鹰吻生物科技有限公司动物中心许可 (伦理批准号为: EYOUNG-20210404-01)。

1.2 试剂及药物 OVA 购于美国 Sigma 公司 (批号: SLCH4123); 小鼠白三烯 C $_4$ (leukotriene C $_4$, LTC $_4$)、组胺 (histamine)、 β -氨基己糖苷酶 A (β -hexosaminidase A) 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒均购于江苏酶免实业有限公司 (批号: 20210421, 20210518, 20210513); 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE)、过碘酸-雪夫 (periodic acid-schiff, PAS) 染液套装均购于武汉塞维尔生物科技有限公司 (批号: CR20210712, CR20210406); T 细胞激

活连接蛋白 (linker for activation of T cell, LAT) 抗体、磷酸化 LAT (phospho-LAT, p-LAT)、磷脂酶 C γ 1 (phospholipase C γ 1, PLC γ 1)、磷酸化 PLC γ 1 (phospho-PLC γ 1, p-PLC γ 1)、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、磷酸化 PKC (phospho-PKC, p-PKC)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体均购于美国 Affinity 抗体公司 (批号: 32e5440, 34e4712, 32b5843, 32b7854, 51f3487, 51f3542, 65e8990); 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白浓度试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司 (批号: 20210623)。XF 购于桐君堂药业有限公司, 煮沸 2 h 后用 3 号滤纸过滤, 60 °C 旋转蒸发仪浓缩, 真空干燥后重新悬浮, 得到浓缩的 XF 水提液备用, 每 1 g 提取物相当于原药 20 g; 地塞米松 (dexamethasone, DXM) 片购于山东新华制药股份有限公司 (批号: H37020290)。

1.3 主要仪器 LRH-150 生化培养箱购于上海齐欣科学仪器有限公司; CMaxPlus 酶标仪购于美谷分子仪器 (上海) 有限公司; Micro17R 低温高速离心机购于美国 Thermo 公司; 610020-9Q 化学发光仪为上海勤翔科学仪器有限公司产品; Eclipse E100 正置光学显微镜购于日本尼康公司; RM2016 病理切片机为上海徠卡仪器有限公司产品。

1.4 造模及分组给药 将小鼠随机分为正常对照 (normal control, NC) 组、AR 模型 (AR model, AR) 组、4 mg·kg $^{-1}$ 的低剂量 XF 水提液 (low-dose XF, L-XF) 组、8 mg·kg $^{-1}$ 的中剂量 XF 水提液 (medium-dose XF, M-XF) 组、16 mg·kg $^{-1}$ 的高剂量 XF 水提液 (high-dose XF, H-XF) 组、5 mg·kg $^{-1}$ 的 DXM 组, 每组 6 只。除 NC 组外, 其余各组小鼠在第 1 天用 0.4% 氢氧化铝凝胶配制浓度为 0.2 mg·mL $^{-1}$ 的 OVA 溶液, 于两后足足跖、两腹股沟、背部两点等处皮下分别注射 0.05 mL, 腹腔注射

0.2 mL;在第7、14、21天腹腔注射OVA溶液 0.5 mL;第22~35天经鼻腔滴入25 mg·mL⁻¹的OVA溶液20 μL,1次/d。NC组以同样的方式给予等体积0.9%氯化钠溶液。第22天起各药物组小鼠灌胃给予相应剂量的相应药物,NC、AR组以相同方式给予等体积0.9%氯化钠溶液,共治疗14 d。

1.5 指标检测

1.5.1 小鼠行为学观察 在末次鼻腔致敏及给药后,记录30 min内小鼠鼻部异常情况,进行鼻炎症状评分。评分标准如下:(1)鼻痒:轻度:轻擦鼻数次,计1分;重度:挠鼻面不止、到处擦磨,计2分。(2)喷嚏:1分:1~3个;2分:4~10个;3分:11个及以上。(3)清涕:流至前鼻孔计1分,超过前鼻孔计2分,流涕满面计3分。采用叠加量化计分法,评估各组小鼠AR的发病率及严重程度,5分即为造模成功。

1.5.2 小鼠鼻腔组织病理变化观察

1.5.2.1 PAS染色 小鼠鼻腔组织常规脱水、浸蜡、包埋和切片。切片标本脱蜡至水后,PAS染色液B染色15 min,流水冲洗两遍;避光环境下PAS染色液A浸染25 min,流水冲洗5 min;再用PAS染色液C染色30 s,自来水洗,盐酸水溶液分化,洗涤,返蓝,流水冲洗,脱水封片,镜下观察。根据杯状细胞所占数量比例进行PAS染色评分:0分:0%;1分:1%~25%;2分:26%~50%;3分:51%~75%;4分:>75%。

1.5.2.2 HE染色 切片脱蜡至水,苏木精染色5 min,清水冲洗10 min,伊红染色30 s,清水冲洗,脱水,透明,封片,光镜下观察小鼠鼻腔组织病理变化,并进行HE染色半定量评分:0分:无病理改变;1分:黏膜出现肿胀,但鼻腔细胞排列仍整齐致密;2分:黏膜肿胀加剧,鼻腔细胞排列轻度紊乱;3分:鼻腔细胞排列紊乱,黏膜肿胀,并出现细胞层数减少;4分:黏膜肿胀严重,鼻腔细胞排列紊乱,细胞层数明显减少。

1.5.3 ELISA法检测血清LTC-4、组胺、β-氨基己糖苷酶A水平 小鼠取血后,4℃下3 000 r/min离心10 min,取上清液,以ELISA法检测血清中LTC-4、组胺、β-氨基己糖苷酶A的水平,具体操作步骤依照试剂盒说明书。

1.5.4 肥大细胞脱颗粒及药物脱颗粒抑制率检测 小鼠吸入二氧化碳处死后,向腹腔内注射台式液10 mL,轻揉腹壁10 min,吸出腹腔液,置于涂有硅油的试管中。1 000 r/min离心10 min,弃去上清液,加入

台氏液2 mL,制成肥大细胞悬液,收集自动脱颗粒细胞少于10%的肥大细胞悬液。加台氏液至0.9 mL,37℃水浴5 min,轻轻摇匀,37℃水浴15 min后取出,即置冰浴。将中性红染料涂于玻片表面,吸取试管内悬液2滴并混匀,高倍镜下观察100个肥大细胞脱颗粒情况并计数,每管计数2次,结果取均值。肥大细胞脱颗粒率(%)=脱颗粒肥大细胞/肥大细胞总数×100%。药物脱颗粒抑制率(%)=(AR组脱颗粒率-药物组脱颗粒率)/药物组脱颗粒率×100%。

1.5.5 免疫印迹法检测蛋白表达 提取小鼠鼻腔组织蛋白,BCA试剂盒测定总蛋白含量,聚丙烯酰胺凝胶电泳后转膜,以5%脱脂奶粉封闭2 h,分别加入LAT、p-LAT、PLCγ1、p-PLCγ1、PKC、p-PKC和GAPDH抗体,4℃下孵育过夜;洗涤3次后,室温下加入二抗孵育1 h,洗涤后增强型化学发光仪显影处理,蛋白灰度值用Image J软件分析。

1.6 统计学分析 应用SPSS 16.0统计软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠AR症状和评分比较 与NC组比较,AR组小鼠搔鼻次数与喷嚏次数显著增多($P < 0.01$),鼻炎症状评分显著升高($P < 0.01$)。与AR组比较,各药物组小鼠搔鼻次数与喷嚏次数显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$);M-XF组、H-XF组、DXM组小鼠鼻炎症状评分显著下降($P < 0.01$),而L-XF组小鼠鼻炎评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 各组小鼠鼻腔组织HE及PAS染色评分比较 NC组小鼠鼻腔细胞正常、鼻腔组织未见明显肿胀,而AR组小鼠鼻腔可见炎症细胞浸润,组织黏膜严重肿胀,杯状细胞大量增生。与AR组比较,各组小鼠鼻腔组织病变均有不同程度的改善,鼻腔细胞排列紊乱减轻,黏膜肿胀缓解,杯状细胞数量减少。见图1。与NC组比较,AR组小鼠鼻腔组织的HE及PAS染色评分均显著升高($P < 0.01$)。与AR组比较,M-XF组、H-XF组、DXM组小鼠两项评分均显著降低($P < 0.01$),而L-XF组小鼠两项评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 各组小鼠血清LTC4、组胺、β-氨基己糖苷酶A水平比较 与NC组比较,AR组小鼠血清中LTC4、组胺、β-氨基己糖苷酶A水平显著上升($P < 0.01$)。与AR组比

表1 各组小鼠鼻部观察结果比较

Tab.1 Comparison of nasal observations results of each group

($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	搔鼻(次)	喷嚏(次)	鼻炎症状(分)
NC 组	2.33±0.52	4.00±0.89	1.00±0.63
AR 组	24.83±2.04 ^{▲▲}	25.33±2.16 ^{▲▲}	7.50±0.84 ^{▲▲}
L-XF 组	21.17±2.14 [*]	21.67±2.16 [*]	6.83±0.98
M-XF 组	14.67±1.21 ^{**}	16.17±1.60 ^{**}	5.17±0.41 ^{**}
H-XF 组	9.50±1.38 ^{**}	10.00±1.10 ^{**}	3.67±0.52 ^{**}
DXM 组	5.33±0.82 ^{**}	7.00±0.63 ^{**}	2.83±0.75 ^{**}

注:与NC组比较,▲▲ $P<0.01$;与AR组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

Note: Compared with NC group, ▲▲ $P<0.01$; compared with AR group, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$.

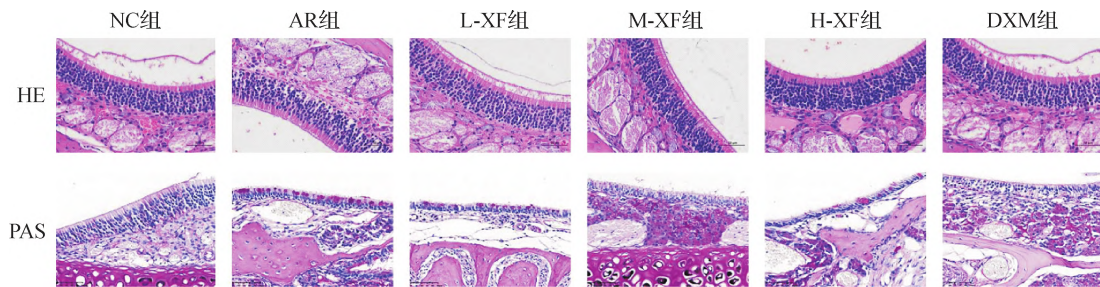


图1 各组小鼠鼻腔组织染色情况(400×)

Fig.1 Staining of nasal tissue of each group(400×)

表2 各组小鼠鼻腔组织HE和PAS染色评分比较

Tab.2 Comparison of HE and PAS staining scores in nasal tissue of each group ($\bar{x}\pm s, n=6$, scores)

组别	HE 半定量评分	PAS 染色评分
NC 组	0.00±0.00	0.17±0.41
AR 组	3.33±0.52 ^{▲▲}	3.33±0.52 ^{▲▲}
L-XF 组	2.83±0.41	2.83±0.75
M-XF 组	2.00±0.63 ^{**}	2.17±0.41 ^{**}
H-XF 组	1.67±0.52 ^{**}	1.50±0.55 ^{**}
DXM 组	1.17±0.41 ^{**}	0.67±0.52 ^{**}

注:与NC组比较,▲▲ $P<0.01$;与AR组比较,^{**} $P<0.01$ 。

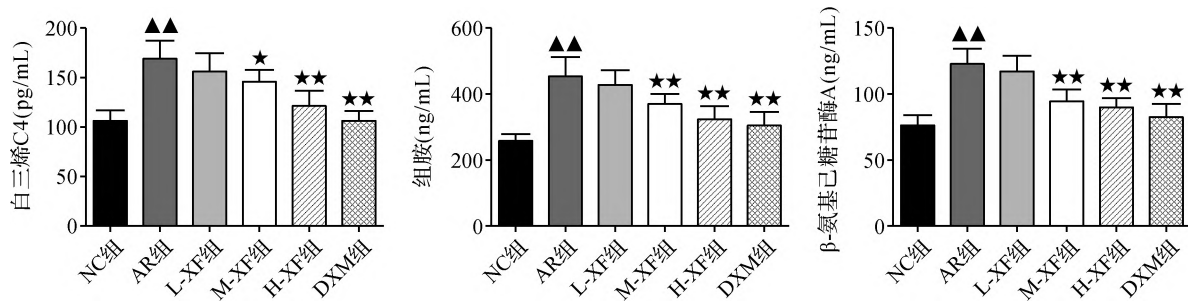
Note: Compared with NC group, ▲▲ $P<0.01$; compared with AR group, ^{**} $P<0.01$.

较,M-XF组、H-XF组、DXM组小鼠血清中LTC₄、组胺、β-氨基己糖苷酶A水平显著下降($P<0.05, P<0.01$),而L-XF组小鼠的血清因子差异无统计学意义($P>0.05$)。见图2。

2.4 各组小鼠肥大细胞脱颗粒及药物脱颗粒抑制率的比较 与NC组比较,AR组小鼠鼻腔组织肥大细胞脱颗粒率显著上升($P<0.01$)。与AR组比较,各组小鼠组鼻腔组织肥大细胞脱颗粒率均显著下降($P<0.01$)。与L-XF组比较,M-XF组、H-XF组、DXM组的药物脱

颗粒抑制率显著升高($P<0.05, P<0.01$)。见图3。

2.5 各组小鼠鼻腔组织中LAT、p-LAT、PLCγ1、p-PLCγ1、PKC、p-PKC蛋白表达比较 与NC组比较,AR组小鼠鼻腔组织中的p-LAT/LAT、p-PLCγ1/PLCγ1和p-PKC/PKC的蛋白表达水平显著升高($P<0.01$)。与AR组比较,M-XF、H-XF组小鼠鼻腔组织中的p-LAT/LAT、p-PLCγ1/PLCγ1、p-PKC/PKC的蛋白表达水平显著下降($P<0.05, P<0.01$);L-XF组小鼠鼻腔组织p-PKC/PKC蛋白表达显著降低($P<0.05$),而p-LAT/

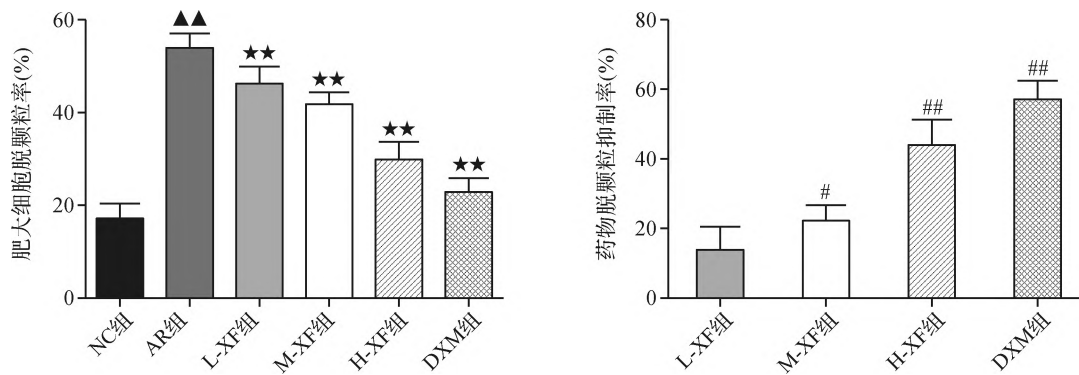


注:与NC组比较,▲▲ $P<0.01$;与AR组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

Note: Compared with NC group, ▲▲ $P<0.01$; compared with AR group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

图2 各组小鼠血清LTC4、组胺、β-氨基己糖苷酶A水平比较

Fig.2 Comparison of serum LTC4, histamine and β-hexosaminidase A levels of each group



注:与NC组比较,▲▲ $P<0.01$;与AR组比较,** $P<0.01$;与L-XF组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

Note: Compared with NC group, ▲▲ $P<0.01$; compared with AR group, ** $P<0.01$; compared with L-XF group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

图3 各组小鼠鼻腔组织肥大细胞脱颗粒率及药物抑制脱颗粒率比较

Fig.3 Comparison of mast cell degranulation rate in nasal tissue and drug degranulation inhibition rate of each group

LAT、p-PLC γ 1/PLC γ 1蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见图4。

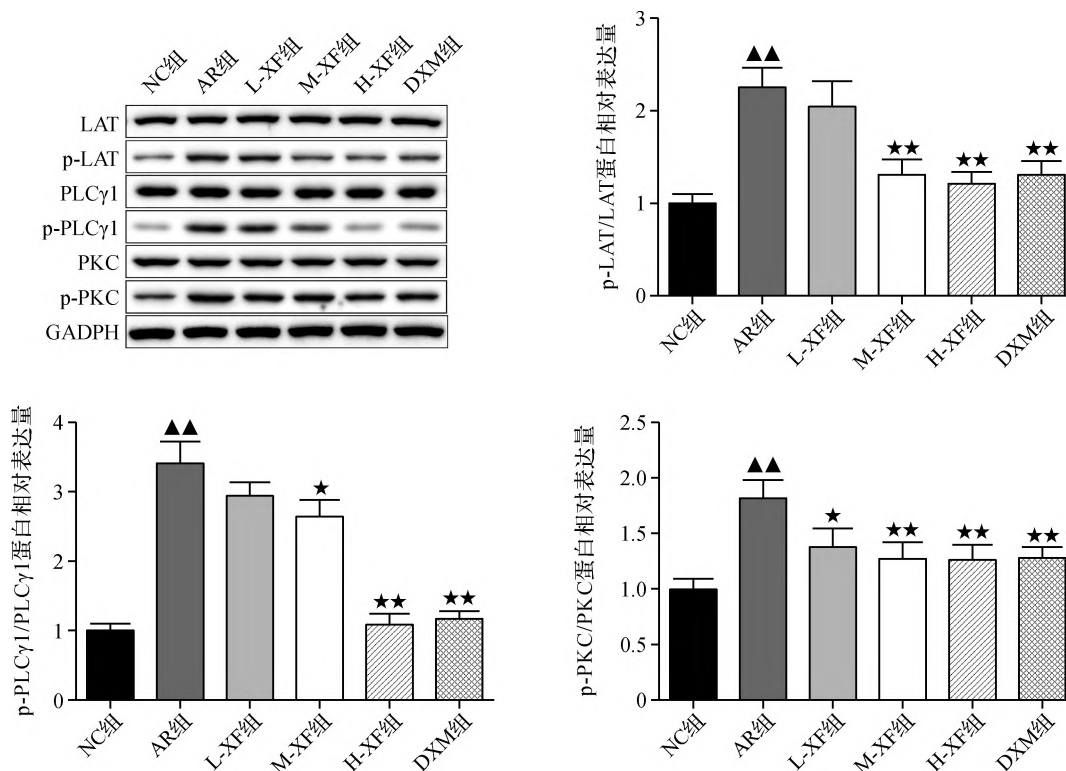
3 讨论

研究发现,中药及其相关制剂可通过抑制组胺受体、调节免疫功能来治疗AR,且总体不良反应少^[8]。临床研究显示,含XF成分的中药制剂与西药联合治疗能够更有效地提高AR治疗有效率,减少患者外周嗜酸性粒细胞数量和IgE的水平^[9-10]。XF为中医治疗AR的常用药材,明确其防治AR的机制,对于推进AR中西医结合治疗具有重要意义^[8-11]。

肥大细胞脱颗粒释放活性介质组胺,从而激活组胺受体,可诱导机体产生大量炎性物质如LTC4、β-氨基己糖苷酶A等,引起一系列过敏样反应^[8],因此抑制肥大细胞脱颗粒,减少炎症介质释放是防治AR的关键。DXM属于糖皮质激素,具有免疫抑制作用,能够降低血管通透性,抑制嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞向鼻腔黏膜聚集,本研究采用DXM作为阳

性药物对照^[9,12]。本研究结果显示,不同剂量XF水提液均可显著减少AR小鼠搔鼻、打喷嚏次数,抑制鼻腔组织肥大细胞脱颗粒,高剂量XF水提液效果作用与DXM接近。中、高剂量XF水提液和DXM能够更加显著地降低血清中炎性因子LTC4、组胺及β-氨基己糖苷酶A的水平,降低AR小鼠的鼻炎评分,其原因可能为中、高剂量XF水提液及DXM对肥大细胞的脱颗粒抑制作用优于低剂量XF水提液。

XF中所含化学成分复杂多样,可通过多个作用靶点治疗AR^[4,7]。Zhuang等^[13]通过代谢组学方法分析小鼠XF含药血清发现,XF可影响小鼠的甘油磷脂代谢途径。相关研究表明,PLC γ 1/PKC信号通路与过敏反应有关,其作用机制为PLC γ 1水解胞质中的膜磷脂酰肌醇4,5-二磷酸,产生甘油二酯(diacylglycerol, DAG),DAG作为第二信使进入胞质,引起PKC表达及Ca²⁺内流增加,导致肥大细胞活化并脱颗粒,释放组胺等过敏炎症介质^[14]。因此,减少Ca²⁺内流,抑制相关



注:与NC组比较,▲▲ $P < 0.01$;与AR组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with NC group, ▲▲ $P < 0.01$; compared with AR group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图4 各组小鼠鼻腔组织LAT、p-LAT、PLCγ1、p-PLCγ1、PKC、p-PKC蛋白表达比较

Fig.4 Comparison of LAT, p-LAT, PLCγ1, p-PLCγ1, PKC and p-PKC protein expression in nasal tissue of each group

信号分子表达是抑制肥大细胞脱颗粒的关键^[15]。Li等^[16]研究发现,活肥大细胞和AR小鼠鼻黏膜组织中,PLCγ1/PKC信号通路磷酸化水平均升高。LAT为PLCγ1的上游信号,IgE可诱导肥大细胞内LAT/PLCγ1信号通路磷酸化水平升高^[17]。以上研究成果提示,LAT/PLCγ1/PKC信号通路激活可能介导AR发病过程中肥大细胞脱颗粒。本研究发现,AR小鼠鼻腔组织LAT/PLCγ1/PKC信号通路磷酸化水平显著升高,而XF水提液则能抑制AR小鼠鼻黏膜组织中LAT/PLCγ1/PKC信号通路的激活,且中、高剂量XF水提液的抑制效果更显著,提示XF水提液能够通过抑制LAT/PLCγ1/PKC信号通路,减少AR小鼠鼻黏膜组织肥大细胞脱颗粒。

综上所述,XF水提液具有改善AR小鼠症状的作用,并具有剂量效应,其作用可能是通过介导LAT/PLCγ1/PKC信号通路,抑制肥大细胞脱颗粒,减少炎症介质释放实现。本研究明确了抑制LAT/PLCγ1/PKC信号通路可能是XF防治AR的作用机制之一,但本研究未对XF水提液中的成分进行分析,且动物模型数

量较少,今后还需要进行更多实验以进一步探索XF防治AR的作用机制。

参考文献:

References:

- [1] BOUSQUET J, ANTO J M, BACHERT C, et al. Allergic rhinitis[J]. Nat Rev Dis Primers,2020,6(1):95.
- [2] 孙彤彤,闫军堂,倪钰莹,等.王庆国教授辨治过敏性鼻炎经验探析[J].浙江中医药大学学报,2022,46(6):633-636. SUN Tongtong, YAN Juntang, NI Yuying, et al. Professor WANG Qingguo's experience in treating allergic rhinitis[J]. J Zhejiang Chin Med Univ,2022,46(6):633-636.
- [3] 江卫仙,章金娟,马小琴,等.艾灸治疗过敏性鼻炎的选穴规律[J].浙江临床医学,2022,24(4):537-539. JIANG Weixian, ZHANG Jinjuan, MA Xiaoqin, et al. Acupoint selection rule of moxibustion in the treatment of allergic rhinitis[J]. J Zhejiang Clin Med,2022,24(4):537-539.
- [4] 夏召,张海新,许天启,等.苍耳子的化学成分研究[J].中国中药杂志,2020,45(12):2907-2915. XIA Zhao, ZHANG Haixin, XU Tianqi, et al. Chemical constituents from *Xanthii Fructus*[J]. Chin J Chin Mater Med,2020,45(12):2907-2915.
- [5] 孙小草.中药苍耳子治疗变应性鼻炎的药效学评价[D].合

- 肥:安徽中医药大学,2020:87.
SUN Xiaocao. The study of therapy of *Fructus Xanthii* for allergic rhinitis[D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2020:87.
- [6] 孙小草,张强,章秀梅,等.苍耳子水提取物对变应性鼻炎豚鼠鼻黏膜病变和血清炎症细胞因子的影响[J].安徽中医药大学学报,2019,38(6):44-48.
SUN Xiaocao, ZHANG Qiang, ZHANG Xiumei, et al. Effect of *Fructus Xanthii* water extract on nasal mucosal lesion and serum inflammatory cytokines in Guinea pigs with allergic rhinitis[J]. J Anhui Univ Chinese Med, 2019,38(6):44-48.
- [7] 王康,孟泳,王玉洁,等.苍耳子治疗过敏性鼻炎的分子机制研究[J].转化医学杂志,2021,10(5):330-334.
WANG Kang, MENG Yong, WANG Yujie, et al. Exploration of molecular mechanism for xanthium in the treatment of allergic rhinitis[J]. Trans Med J, 2021,10(5): 330-334.
- [8] LIM S, JEONG I, CHO J, et al. The natural products targeting on allergic rhinitis: from traditional medicine to modern drug discovery [J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(10):1524.
- [9] 安明丽,马善春.苍耳子鼻炎滴丸联合地塞米松治疗过敏性鼻炎的临床研究[J].现代药物与临床,2019,34(2):509-512.
AN Mingli, MA Shanchun. Clinical study of Cangerzi Biyan dropping pills combined with dexamethasone in treatment of allergic rhinitis[J]. Drugs & Clinic, 2019,34(2):509-512.
- [10] 张岚.苍耳子鼻炎滴丸联合氯雷他定片对过敏性鼻炎患者嗜酸性粒细胞百分比的影响[J].北方药学,2020,17(5):54-55.
ZHANG Lan. The effect of *Xanthium Rhinitis* Dropping Pills combined with Loratadine Tablets on eosinophilia cell percentage in patients with allergic rhinitis[J]. J North Pharm, 2020, 17(5):54-55.
- [11] 郑晓骏,陈旭青,蒋中秋.中西医结合治疗过敏性鼻炎的临床研究进展[J].医学综述,2022,28(10):1983-1987.
ZHENG Xiaojun, CHEN Xuqing, JIANG Zhongqiu. Clinical research progress of combination of traditional Chinese and western medicine in treatment of allergic rhinitis[J]. Med Recapitulate, 2022, 28(10):1983-1987.
- [12] 李栋才,王鹏,李胜,等.白藜芦醇调节卵清蛋白诱导的小鼠过敏性鼻炎的作用机制研究[J].中国药理学通报,2021,37(2):215-220.
LI Dongcai, WANG Peng, LI Sheng, et al. Therapeutic effects of resveratrol on OVA-induced allergic rhinitis in mice and immune mechanisms[J]. Chin Pharmacol Bull, 2021, 37(2):215-220.
- [13] ZHUANG Y, QIN K, YU B, et al. A metabolomics research based on UHPLC-ESI-Q-TOF-MS coupled with metabolic pathway analysis: treatment effects of stir-frying *Xanthii Fructus* on allergic rhinitis in mice model[J]. Biomed Chromatogr, 2018, 32(12):e4352.
- [14] LIU R, ZHAO T, CHE D, et al. The anti-anaphylactoid effects of hydroxysafflor yellow A on the suppression of mast cell Ca^{2+} influx and degranulation[J]. Phytomedicine, 2018, 48:43-50.
- [15] CHEN Y C, CHANG Y C, CHANG H A, et al. Differential Ca^{2+} mobilization and mast cell degranulation by $Fc\epsilon RI$ -and GPCR-mediated signaling[J]. Cell Calcium, 2017, 67:31-39.
- [16] LI S, LI Z, TAN T, et al. Tanshinone II A improves degranulation of mast cells and allergic rhinitis induced by ovalbumin by inhibiting the $PLC\gamma 1/PKC/IP3R$ pathway [J]. Hum Exp toxicol, 2021, 40(12suppl):S702-S710.
- [17] NIU L, WEI J, LI X, et al. Inhibitory activity of narirutin on RBL-2H3 cells degranulation[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2021, 43(1):68-76.

(收稿日期:2022-06-21)