

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202424128

· 鼻-鼻窦疾病专栏 ·

# 通鼻消涕颗粒治疗大鼠慢性鼻窦炎的作用机制研究

吴敏曼,邱博文,王旋,马越,杜晓璇,毛尔元,郭兆刚

(云南中医药大学第一附属医院耳鼻咽喉科,云南昆明 650021)

**摘要:** **目的** 通过动物实验研究为通鼻消涕颗粒治疗慢性鼻窦炎提供客观实验数据支持。**方法** SPF级SD大鼠60只,取10只大鼠作为正常组,其余随机分为模型组、克拉霉素片组、通鼻消涕颗粒低剂量组、通鼻消涕颗粒中剂量组、通鼻消涕颗粒高剂量组,每组各10只。造模成功后分别应用克拉霉素和通鼻消涕颗粒灌胃治疗2周后,HE染色检测鼻黏膜炎症情况。免疫组化染色及RT-PCR实验检测各组鼻黏膜组织的PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1、谷胱甘肽S转移酶-pi、NKEF-B的蛋白和mRNA;ELISA法检测大鼠血清的核转录因子(NF- $\kappa$ B)表达水平;流式细胞术检测大鼠外周血Th淋巴细胞亚群Th1/Th2水平。采用t检验进行统计学分析,对比各组大鼠服药前后各个阶段的免疫指标含量变化有无显著差异。**结果** HE染色与免疫组化染色发现PLUNC等鼻黏膜保护性蛋白均表达在鼻黏膜纤毛柱状上皮及黏膜下腺体中。RT-PCR检测结果表明经通鼻消涕颗粒治疗后,大鼠鼻黏膜上皮及黏膜下腺体反应性增生,产生PLUNC等鼻黏膜保护性蛋白增多来抵抗慢性炎症,克拉霉素治疗后主要是促进炎症消退,而鼻黏膜保护性蛋白产生不多。ELISA检测大鼠血清的NF- $\kappa$ B表达水平提示:通鼻消涕颗粒及克拉霉素片均能减轻慢性鼻窦炎大鼠血清中的NF- $\kappa$ B水平达到抗炎效果。流式检测结果表明中药通鼻消涕颗粒和克拉霉素片均能提高Th1细胞比例,降低Th2细胞比例,从而有助于促进炎症消退。**结论** 中药通鼻消涕颗粒可通过提高鼻黏膜组织中PLUNC等鼻黏膜保护性蛋白含量来改善鼻黏膜局部免疫功能并降低血清NF- $\kappa$ B和Th2细胞比例促进炎症消退从而达到“扶正祛邪”的治疗效果。

**关键词:**慢性鼻窦炎;通鼻消涕颗粒;克拉霉素片;动物实验;扶正祛邪  
中图分类号:R765.4<sup>+</sup>1

## Study on the mechanism of Tongbixiaoti granules in the treatment of chronic rhinosinusitis in rats

WU Minman, QIU Bowen, WANG Xuan, MA Yue, DU Xiaoxuan, MAO Eryuan, GUO Zhaogang

(Department of Otorhinolaryngology, the First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China)

**Abstract:** **Objective** To provide objective experimental data support for the treatment of chronic rhinosinusitis (CRS) with Tongbixiaoti granules through animal experiments. **Methods** A total of 60 SPF SD rats were selected, 10 rats were selected as the normal control group, and the others were randomly divided into model group, clarithromycin tablet group, Tongbixiaoti granule low-dose, medium-dose and high-dose groups, with 10 rats in each group. After successful modeling, clarithromycin tablets and Tongbixiaoti granules were administered by gavage for 2 weeks, and the nasal mucosal inflammation was detected by HE staining. The protein and mRNA of PLUNC, Cu/ZnSOD, PACAP, DJ-1, glutathione S-transferase-pi and NKEF-B in nasal mucosa of each group were detected by immunohistochemical staining and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The expression level of NF- $\kappa$ B in serum was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Flow cytometry was used to detect Th1/Th2 levels of Th lymphocyte subsets in peripheral blood of rats. t-test was used for statistical analysis to compare the changes of immune indexes before and after medication. **Results** HE staining and immunohistochemical staining revealed that protective proteins such as PLUNC were expressed in the ciliated columnar epithelium and submucosal glands of the nasal mucosa. RT-PCR test results showed that the epithelia and submucosal glands of the rat nasal mucosa were reactive proliferation after treatment with Tongbixiaoti

granules, and the nasal mucosal protective proteins such as PLUNC were increased to resist chronic inflammation. Clarithromycin treatment mainly promoted inflammation resolution, while the production of protective proteins in the nasal mucosa was not significant. ELISA detection of NF- $\kappa$ B expression levels in rat serum suggested that both Tongbixiaoti granules and Clarithromycin tablets could reduce NF- $\kappa$ B levels in the serum of rats with CRS and achieve anti-inflammatory effect. The flow cytometry results showed that both Tongbixiaoti granules and clarithromycin tablets could increase the proportion of Th1 cells and decrease the proportion of Th2 cells, thereby helping to promote inflammation resolution.

**Conclusion** Traditional Chinese medicine Tongbixiaoti granules can improve the local immune function of nasal mucosa by increasing the content of PLUNC and other protective proteins in nasal mucosa tissue, and reduce the ratio of serum NF- $\kappa$ B and Th2 cells to promote the remission of inflammation, so as to achieve the therapeutic effect of “strengthening the body resistance to eliminate pathogenic factors”.

**Keywords:** Chronic rhinosinusitis; Tongbixiaoti granule; Clarithromycin tablet; Animal experiment; Strengthening the body resistance to eliminate pathogenic factors

为了深入了解通鼻消涕颗粒对慢性鼻窦炎的治疗作用机制,基于机体免疫防御机制失衡与慢性鼻窦炎发病和预后的相关性研究,本课题将通过慢性鼻窦炎动物模型实验研究,进一步验证通鼻消涕颗粒是否通过提高免疫功能并减少炎症细胞及炎症因子水平,从而达到“扶正驱邪”的治疗效果,为通鼻消涕颗粒治疗慢性鼻窦炎提供客观实验依据。这不但提高了其科学内涵,而且能更好地指导临床用药。本研究方案通过云南中医药大学第一附属医院伦理委员会批准,批件号:YL[2022]伦审字(032)-02。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级SD大鼠60只,6~8周龄,于室温18~24℃、相对湿度50%~60%、12h明暗交替的环境中饲养,通风良好,颗粒饲料喂养,自由饮水。

### 1.2 主要实验试剂和仪器

卵清蛋白(美国sigma)、氢氧化铝(美国sigma)、SEB(美国sigma)、克拉霉素片(上海雅培制药)、通鼻消涕颗粒(云南省中医医院内制剂)、ELISA试剂盒(美国Abcam)、PLUNC、Cu-ZnSOD、PACAP、DJ-1、谷胱苷肽S转移酶-pi和自然杀伤细胞促进因子-B(NKEF-B)多克隆抗体(美国Abcam)、美国EPOCH酶标仪、实时荧光定量PCR仪(赛默飞公司FC-3100)、RT-PCR试剂(Servicebio公司)、流式细胞术试剂(美国Biolegend公司)。

### 1.3 慢性鼻窦炎大鼠模型的建立

1.3.1 实验分组 将实验大鼠随机分成以下6组:正常组、模型组、克拉霉素片组、通鼻消涕颗粒低剂量组、通鼻消涕颗粒中剂量组、通鼻消涕颗粒高剂量组,每组各10只,共60只。

1.3.2 模型建立 所有大鼠适应性饲养1周后开始建模<sup>[1-3]</sup>。第1阶段:除正常组外其他50只大鼠给予腹腔注射进行基础致敏。以卵清蛋白0.3mg作为致敏原,氢氧化铝30mg作为佐剂,加生理盐水溶解制备为1mL混悬液腹腔注射基础致敏,隔日1次,连续注射7次。第2阶段:在腹腔注射结束后的第2周,此50只大鼠用卵清蛋白制成浓度为5%的混悬液。每只大鼠每侧滴鼻50 $\mu$ L。并用浓度为1%的卵清蛋白混悬液进行超声雾化吸入,连续激发10d,每次吸入时间5min。第3阶段:此50只大鼠每只给予5%卵清蛋白25 $\mu$ L滴鼻/侧,隔日1次;同时每只大鼠给予5ng的SEB滴鼻给药每周1次,持续6周。

1.3.3 模型给药 建模第3阶段完成后,对克拉霉素组、通鼻消涕颗粒低剂量组、通鼻消涕颗粒中剂量组、通鼻消涕颗粒高剂量组大鼠进行给药治疗,分别每只给予0.15、0.3、0.6、1.2g/kg的剂量进行灌胃。每天连续灌胃给药,用药一疗程15d。模型组不给药。正常组不给予任何处理。

### 1.4 模型取材病理检查

给药完成后第2天,将大鼠麻醉处死后进行取材:①取鼻黏膜做HE染色检测鼻窦黏膜的炎症情况;②取鼻黏膜做免疫组化检测鼻窦黏膜组织中PLUNC、Cu-ZnSOD、PACAP、DJ-1、NKEF-B、谷胱苷肽S转移酶-pi。

### 1.5 RT-PCR检测大鼠鼻黏膜组织PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1的mRNA表达

取冻存鼻黏膜组织30mg,置于液氮预冷的研钵中,并少量多次加入液氮研磨成粉末状后,加入Trizol试剂匀浆,并按RNA提取试剂盒说明书提取总RNA,测定各样本浓度,参照Servicebio RT First Strand cDNA Synthesis Kit说明书逆转录成cDNA,采

用 SYBR GreenII 嵌合荧光法进行扩增反应检测关键因子(PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1)的 mRNA 表达变化。扩增条件为:95 ℃ 预变性 30 s,95 ℃ 变性 5 s,62 ℃ 退火及扩增 30 s,40 个循环。按  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算目的基因 mRNA 相对表达量。引物由上海生物工程股份有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列	长度(bp)
DJ-1	上游 5'-CGAAATCCTGACCTACGTGC-3'	115
	下游 5'-CTTAGCCAATGGGTGCGATGTAAC-3'	
PACAP	上游 5'-TGACCATGTGTAGCGGAGCAAG-3'	82
	下游 5'-GCGGCAGGTGAACAGGAGAC-3'	
PLUNC	上游 5'-CCTCGCGTGTGGAACCTGG-3'	104
	下游 5'-CCAACCACGGGCATATTCACITG-3'	
Cu/Zn-SOD	上游 5'-GCGGTCCAGCGATGAAGAG-3'	142
	下游 5'-ACCACCATAGTACGGCCAATGATG-3'	

## 1.6 ELISA 法检测大鼠血清的核转录因子(nuclear transcription factor, NF- $\kappa$ B)表达水平

取冻存的大鼠静脉血清解冻后,按 ELISA 试剂盒说明书步骤检测血清中 NF- $\kappa$ B。

## 1.7 流式细胞术检测大鼠外周血 Th 淋巴细胞亚群 Th1/Th2 水平

取 3mL 新鲜抗凝大鼠全血,采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,取  $2 \times 10^6$  个/mL 细胞于 24 孔板培养并加入 2  $\mu$ L cock tail(500  $\times$ ) 刺激 3 ~ 4 h 后收集细胞于流式管,加入阻断剂 100  $\mu$ L, 1 200 rpm/5 min 离心弃上清后,加入 FITC 标记的 CD4、CD3 抗体,点震混匀室温放置 15 min 行胞外染色,加入 800  $\mu$ L Cell Staining Buffer, 1 200 rpm 离心 5 min, 弃上清每管加入破膜剂 True-Nuclear™ Transcription Factor Buffer Set 400  $\mu$ L, 4 ℃ 放置 30 min, 2 000 rpm 离心 6 min, 经清洗离心后分别加入 PE 标记的干扰素(interferon, IFN)- $\gamma$  抗体(Th1 检测管), FITC 标记的 IL-4 抗体(Th2 检测管)4 ℃, 45 min 行胞内染色,经清洗离心弃上清后,加入 500  $\mu$ L Staining Buffer 上机检测。并以 IFN- $\gamma$  和白细胞介素(interleukin, IL)-4 的散点图分别表示 Th1 淋巴细胞和 Th2 淋巴细胞。应用 CellQUEST Pro 软件分析结果。

## 1.8 统计学方法

数据采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布以  $\bar{x} \pm s$  表示,方差齐多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行比较,两组间比较采用  $t$  检验,方差不齐两组间比较采

用秩和检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HE 染色观察大鼠鼻黏膜组织病理改变情况

与正常组比较,大鼠慢性鼻窦炎模型组鼻黏膜呈慢性炎症改变:淋巴细胞、浆细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞等炎症细胞浸润,纤维增生和腺体中重度增生,杯状细胞增生分泌增多。克拉霉素片组显示鼻黏膜慢性炎症减轻,浆液性腺体轻度增生,鼻黏膜纤毛柱状上皮细胞排列紊乱。通鼻消涕颗粒低、中、高剂量组鼻黏膜慢性炎症均呈不同程度减轻,浆液性腺体中重度增生,鼻黏膜纤毛柱状上皮基本恢复正常。动物模型各组 HE 染色结果见图 1 ~ 6。

### 2.2 免疫组化染色观察鼻黏膜保护性蛋白在大鼠鼻黏膜组织的表达

免疫组化染色发现 PLUNC、Cu-ZnSOD、PACAP、DJ-1 蛋白,NKEF-B,谷胱甘肽 S 转移酶-pi 均表达在鼻黏膜纤毛柱状上皮及黏膜下腺体中。具体见图 7 ~ 12。

### 2.3 RT-PCR 检测大鼠鼻黏膜组织 PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1 蛋白的 mRNA 表达

与正常组比较,模型组大鼠鼻黏膜组织的 PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1 的 mRNA 均显升高(PLUNC:  $t = -6.865, P = 0.002$ ; Cu/ZnSOD:  $t = -6.144, P = 0.004$ ; PACAP:  $t = -3.635, P = 0.021$ ; DJ-1:  $t = -6.791, P = 0.002$ )。与模型组比较,克拉霉素片组鼻黏膜组织的 PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1 的 mRNA 有明显降低(PLUNC:  $t = 4.506, P = 0.002$ ; Cu/ZnSOD:  $t = 4.441, P = 0.002$ ; PACAP:  $t = 2.713, P = 0.029$ ; DJ-1:  $t = 4.642, P = 0.002$ )。通鼻消涕颗粒低剂量组大鼠鼻黏膜组织的 PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1 的 mRNA 无明显改变(PLUNC:  $t = 1.823, P = 0.106$ ; Cu/ZnSOD:  $t = 0.575, P = 0.582$ ; PACAP:  $t = 0.568, P = 0.586$ ; DJ-1:  $t = 1.525, P = 0.171$ )。通鼻消涕颗粒中剂量组大鼠鼻黏膜组织的 PLUNC、Cu/ZnSOD、DJ-1 的 mRNA 有明显的降低(PLUNC:  $t = 2.411, P = 0.043$ ; Cu/ZnSOD:  $t = 2.557, P = 0.034$ ; DJ-1:  $t = 2.787, P = 0.024$ , PACAP:  $t = 2.057, P = 0.023$ )。通鼻消涕颗粒高剂量组大鼠鼻黏膜组织的 PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1 的 mRNA 有明显的降低(PLUNC:  $t = 4.066, P = 0.004$ ; Cu/ZnSOD:  $t = 3.575, P = 0.008$ ; PACAP:  $t = 2.884, P = 0.028$ ; DJ-1:  $t = 4.339, P =$

0.003)。见表2。

### 2.4 ELISA 检测大鼠血清的 NF-κB 表达水平

与正常组比较,模型组大鼠血清的 NF-κB 的表达水平显著上升( $t = -3.802, P < 0.05$ );与模型组比较,克拉霉素片组大鼠血清的 NF-κB 的表达水平显著降低( $t = 1.467, P < 0.01$ ),通鼻消涕颗粒低剂

量组大鼠血清的 NF-κB 的表达水平有一定程度降低( $t = 3.588, P > 0.05$ ),通鼻消涕颗粒中剂量组大鼠血清的 NF-κB 的表达水平显著降低( $t = 2.366, P < 0.05$ ),通鼻消涕颗粒高剂量组大鼠血清的 NF-κB 表达水平均显著降低( $t = 2.379, P < 0.05$ )。见表3。

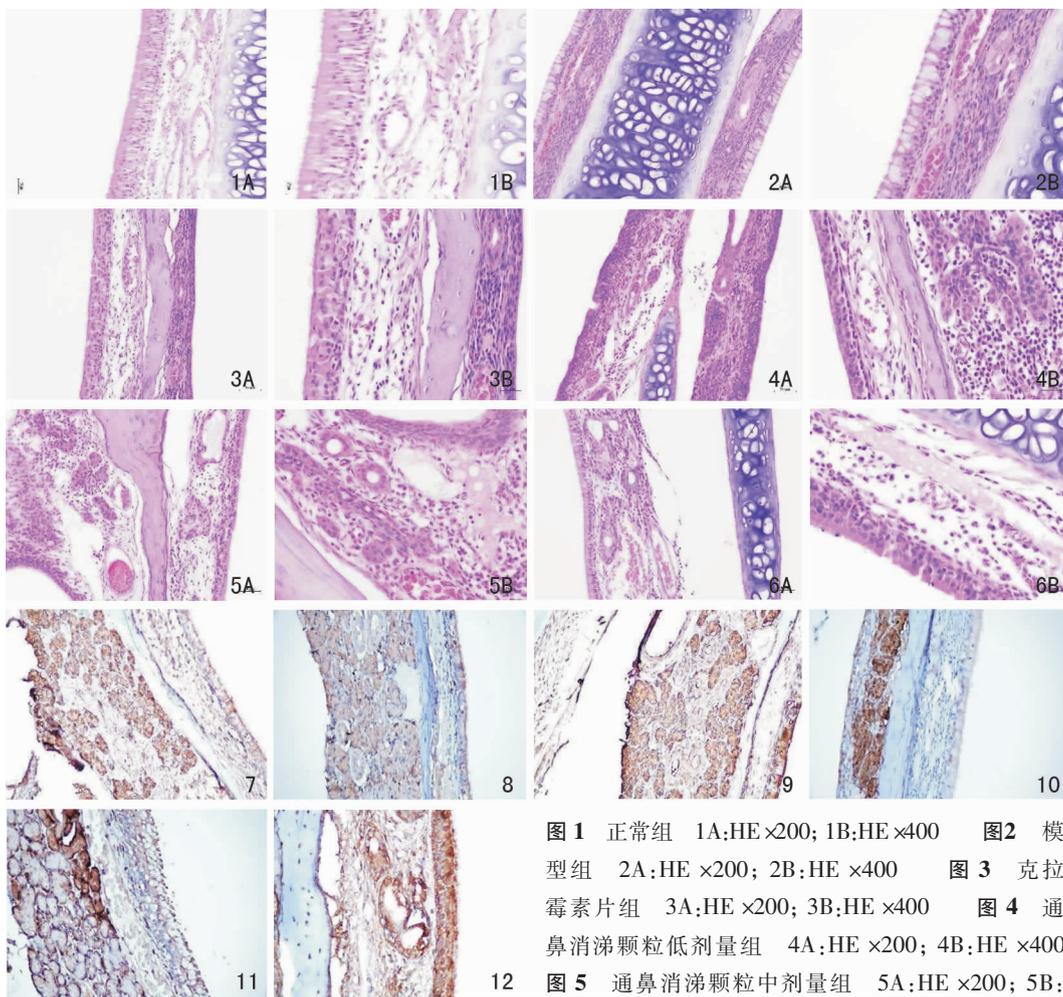


图1 正常组 1A:HE×200; 1B:HE×400 图2 模型组 2A:HE×200; 2B:HE×400 图3 克拉霉素片组 3A:HE×200; 3B:HE×400 图4 通鼻消涕颗粒低剂量组 4A:HE×200; 4B:HE×400 图5 通鼻消涕颗粒中剂量组 5A:HE×200; 5B:HE×400 图6 通鼻消涕颗粒高剂量组 6A:HE×200; 6B:HE×400 图7 Cu-ZnSOD (免疫组化×400) 图8 PLUNC (免疫组化×400) 图9 DJ-1 (免疫组化×400) 图10 PACAP (免疫组化×400) 图11 谷胱甘肽S转移酶-pi (免疫组化×400) 图12 NKEF-B (免疫组化×400)

表2 大鼠鼻黏膜组织保护性蛋白的 mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	模型给药剂量(g/kg)	PLUNC ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )	Cu/ZnSOD ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )	PACAP ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )	DJ-1 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )
正常组	10		1.01 ± 0.02	1.01 ± 0.01	1.06 ± 0.09	1.02 ± 0.04
模型组	10		2.80 ± 0.58 <sup>#</sup>	2.23 ± 0.45 <sup>#</sup>	2.08 ± 0.62 <sup>#</sup>	2.51 ± 0.49 <sup>#</sup>
克拉霉素片组	10	0.15	1.27 ± 0.48 <sup>**</sup>	1.11 ± 0.35 <sup>**</sup>	1.15 ± 0.45 <sup>*</sup>	1.20 ± 0.40 <sup>**</sup>
通鼻消涕颗粒低剂量组	10	0.3	2.11 ± 0.61	2.05 ± 0.55	1.87 ± 0.57	1.91 ± 0.73
通鼻消涕颗粒中剂量组	10	0.6	1.96 ± 0.52 <sup>*</sup>	1.50 ± 0.46 <sup>*</sup>	1.42 ± 0.35	1.66 ± 0.47 <sup>*</sup>
通鼻消涕颗粒高剂量组	10	1.2	1.36 ± 0.53 <sup>**</sup>	1.33 ± 0.34 <sup>**</sup>	1.17 ± 0.33 <sup>*</sup>	1.32 ± 0.37 <sup>**</sup>

注:与模型组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ;与正常组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

表3 大鼠血清 NF- $\kappa$ B 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	模型给药剂量(g/kg)	NF- $\kappa$ B(pg/mL)
正常组	10	-	1 054.45 $\pm$ 48.45
模型组	10	-	1 238.99 $\pm$ 82.53 <sup>#</sup>
克拉霉素片组	10	0.15	1 076.74 $\pm$ 53.81 <sup>**</sup>
通鼻消涕颗粒低剂量组	10	0.30	1 179.12 $\pm$ 54.74
通鼻消涕颗粒中剂量组	10	0.60	1 128.90 $\pm$ 52.98 <sup>*</sup>
通鼻消涕颗粒高剂量组	10	1.20	1 096.39 $\pm$ 64.33 <sup>**</sup>

注:与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与正常组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;NF- $\kappa$ B(核转录因子)。

## 2.5 流式细胞术检测外周血 Th 淋巴细胞亚群 Th1/Th2 水平

流式检测结果显示:与正常组比较,模型组大鼠外周血 Th1 细胞比例显著降低,Th2 细胞比例明显增大( $P < 0.05$ ),Th1/Th2 细胞比值降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,克拉霉素片组 Th1 细胞占比升高,Th2 细胞比例明显降低( $P < 0.05$ ),Th1/Th2 细胞比值也明显降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,通鼻消涕颗粒低剂量组大鼠外周血 Th1 细胞比例呈一定程度升高,Th2 细胞比例呈一定程度降低( $P > 0.05$ ),Th1/Th2 细胞比值有一定程度降低( $P > 0.05$ );通鼻消涕颗粒中、高剂量组大鼠外周血 Th1 细胞比例升高,Th2 细胞比例降低( $P < 0.05$ ),Th1/Th2 细胞比值降低( $P < 0.05$ )。见表4。

## 3 讨论

慢性鼻-鼻窦炎是耳鼻咽喉科的常见病多发病,发病率为10%~12%。西药采用抗生素、糖皮质激素为主,辅助免疫调节剂及黏液促排剂,有时候效果不尽人意,往往需要进一步的鼻内镜鼻窦手术治疗,并且长期用药带来的副作用不容忽视。众多的中药经多年的研究证实具有强大的抗感染、抗炎、调节免疫功能作用,长期使用安全性高,因此,中药参与慢性鼻窦炎的治疗具有很大的优势和研究价值。通鼻消涕颗粒是根据云南省中医医院名中医郭兆刚教授总结多年临床经验研制成的治疗慢性鼻-

鼻窦炎的院内制剂(其主要成分是黄芪、川芎、藿香、黄芩、茵陈、金银花、皂刺、鱼腥草、败酱草、辛夷、苍耳子、白芷、荆芥、桔梗、甘草)。本课题通过慢性鼻窦炎动物模型实验研究,揭示通鼻消涕颗粒治疗慢性鼻窦炎的作用机制。

先天性免疫也称天然免疫即非特异性免疫,是机体对外界刺激的第一道防线。鼻-鼻窦黏膜中,黏液纤毛系统、上皮细胞、中性粒细胞和巨噬细胞等是先天性免疫的重要组成部分。上皮细胞是鼻腔、鼻窦黏液纤毛系统的主要组成部分,除具有机械屏障作用外,上皮细胞还是一道免疫屏障。鼻黏膜上皮细胞与黏膜腺体可分泌大量具有防御性功能的抗菌肽和抗菌蛋白(antimicrobial peptides and proteins,AMPs),如溶菌酶、乳铁蛋白、防御素、IFN、Clara 细胞-10 kDa 蛋白、S100 蛋白、IL-37 等。免疫组化等实验研究证实抗菌肽和抗菌蛋白主要表达在鼻黏膜上皮、杯状细胞和浆液性腺上皮。研究表明呼吸道受病原体侵袭或理化因素刺激后引起炎症反应的同时产生以上抑炎物质,通过破坏细菌、病毒和真菌等病原体的膜结构或影响代谢进程来为机体提供一线防御<sup>[4-12]</sup>。我们前期蛋白质组学研究新发现的鼻黏膜保护性蛋白 PLUNC、Cu/ZnSOD、PACAP、DJ-1 蛋白、谷胱甘肽 S 转移酶-pi 和 NKEF-B 均属抗炎因子,能抑制炎症反应。其中 PLUNC 抗炎抗感染,PACAP 调节机体免疫力,Cu/ZnSOD、DJ-1 蛋白、谷胱甘肽 S 转移酶-pi 和 NKEF-B 有抗氧化的作用,它们是先天性免疫的重要新成员<sup>[13-15]</sup>。

NF- $\kappa$ B 参与许多炎症反应相关基因的表达与调控因子,是炎症反应的核心因子,并在机体免疫应答中发挥着重要的作用。研究发现大环内酯类抗生素的作用机制是抑制 NF- $\kappa$ B 来抑制 IL-6、IL-8 等炎性细胞因子<sup>[15-16]</sup>。因此,NF- $\kappa$ B 是评估鼻窦炎患者炎症程度及预后的重要指标。本研究 ELISA 检测大鼠血清的NF- $\kappa$ B表达水平提示:通鼻消涕颗粒及克

表4 各组大鼠 Th1/Th2 占比及比值变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	模型给药剂量(g/kg)	Th1 (%)	Th2 (%)	Th1/Th2
正常组	10	-	0.58 $\pm$ 0.08	0.19 $\pm$ 0.07	3.29 $\pm$ 0.75
模型组	10	-	0.22 $\pm$ 0.04 <sup>#</sup>	0.76 $\pm$ 0.15 <sup>#</sup>	0.31 $\pm$ 0.12 <sup>#</sup>
克拉霉素片组	10	0.15	0.36 $\pm$ 0.06 <sup>*</sup>	0.33 $\pm$ 0.09 <sup>*</sup>	1.14 $\pm$ 0.30 <sup>*</sup>
通鼻消涕颗粒低剂量组	10	0.30	0.30 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.13	0.62 $\pm$ 0.20
通鼻消涕颗粒中剂量组	10	0.60	0.56 $\pm$ 0.10 <sup>*</sup>	0.29 $\pm$ 0.09 <sup>*</sup>	2.00 $\pm$ 0.40 <sup>*</sup>
通鼻消涕颗粒高剂量组	10	1.20	0.56 $\pm$ 0.09 <sup>*</sup>	0.20 $\pm$ 0.02 <sup>*</sup>	2.80 $\pm$ 0.40 <sup>*</sup>

注:与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与正常组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

拉霉素片均能减轻慢性鼻窦炎大鼠血清中的 NF- $\kappa$ B 水平达到抗炎效果。

Th1 细胞分泌 IL-2 和 IFN- $\gamma$ , Th2 细胞分泌 IL-4 和 IL-5。本研究流式细胞术检测大鼠外周血 Th 淋巴细胞亚群 Th1/Th2 水平显示:与正常组比较,模型组大鼠外周血 Th1 细胞比例显著降低而 Th2 细胞比例明显升高 ( $P < 0.05$ ), Th1/Th2 细胞比值降低 ( $P < 0.05$ )。这说明本次研究慢性鼻窦炎大鼠模型符合 Th2 为主型炎症<sup>[17-19]</sup>。本研究表明中药通鼻消涕颗粒和克拉霉素均能提高 Th1 细胞比例,降低 Th2 细胞比例,从而有助于促进炎症消退。

本课题建立慢性鼻窦炎的大鼠动物模型,研究结果表明经通鼻消涕颗粒治疗后,大鼠鼻黏膜上皮及黏膜下腺体反应性增生,产生 PLUNC 等鼻黏膜保护性蛋白增多来抵抗慢性炎症,促使炎症消退。克拉霉素治疗后主要是促进炎症消退,而鼻黏膜保护性蛋白产生不多,所以局部抵抗力没有明显提高。这揭示中药通鼻消涕颗粒可通过提高 PLUNC 等鼻黏膜保护性蛋白含量来改善鼻黏膜局部免疫功能,从而促进炎症消退达到“扶正祛邪”的治疗效果。

#### 参考文献:

[1] 李腾飞, 查旭东, 王天宇, 等. 嗜酸性粒细胞型慢性鼻窦炎小鼠模型构建的研究进展[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志. 2023, 29(1):55-59.

[2] 邹庆云, 王天宇, 梁才全, 等. 慢性鼻窦炎动物模型应用现状及评价指标[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志. 2019, 25(6):687-691.

[3] Kim DW, Eun KM, Jin HR, et al. Prolonged allergen exposure is associated with increased thymic stromal lymphopoietin expression and Th2-skewing in mouse models of chronic rhinosinusitis[J]. Laryngoscope, 2016, 126(8):265-272.

[4] Radek K, Gallo R. Antimicrobial peptides: natural effectors of the innate immune system[J]. Semin Immunopathol, 2007, 29(1):27-43.

[5] Ooi EH, Wormald PJ, Tan LW. Innate immunity in the paranasal sinuses: a review of nasal host defenses[J]. Am J Rhinol, 2008, 22(1):13-19.

[6] Schleimer RP. Immunopathogenesis of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis[J]. Annu Rev Pathol, 2017, 12:331-357.

[7] Ramanathan M Jr, Lee WK, Spannhake EW, et al. Th2 cytokines associated with chronic rhinosinusitis with polyps down-regulate the antimicrobial immune function of human sinonasal epithelial cells[J]. Am J Rhinol, 2008, 22(2):115-121.

[8] Hirschberg A, Kiss M, Kadocsa E, et al. Different activations of toll-like receptors and antimicrobial peptides in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyposis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2016, 273(7):1779-1788.

[9] Lee JT, Escobar OH, Anouseyan R, et al. Assessment of epithelial innate antimicrobial factors in sinus tissue from patients with and without chronic rhinosinusitis[J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2014, 4(11):893-900.

[10] Tieu DD, Kern RC, Schleimer RP. Alterations in epithelial barrier function and host defense responses in chronic rhinosinusitis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(1):37-42.

[11] Woods CM, Lee VS, Hussey DJ, et al. Lysozyme expression is increased in the sinus mucosa of patients with chronic rhinosinusitis[J]. Rhinology, 2012, 50(2):147-156.

[12] Nijnik A, Hancock REW. The roles of cathelicidin IL-37 in immune defences and novel clinical applications[J]. Curr Opin Hematol, 2009, 16(1):41-47.

[13] Wu M, Sun H, Xiao Z, et al. Differential proteomic analysis of nasal polyps, chronic sinusitis, and normal nasal mucosa tissues[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2009, 141(3):364-368.

[14] Wu M, Sun H, Nan Q. Expression and clinical significance of PLUNC protein in nasal polyp and chronic sinusitis tissue[J]. Ear Nose Throat J, 2012, 91(7):282-285.

[15] 汪普, 赵俐菁, 张志利, 等. 玉屏风散对老年慢性鼻窦炎患者炎症因子水平及免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(8):2134-2136.

[16] 张涛, 唐海红, 郑宏良. 大环内酯类抗菌药物治疗慢性鼻-鼻窦炎机制及应用[J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(12):1364-1369.

[17] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 54(2):81-100.

[18] 何以红, 邵华, 李东宁. Th1/Th17 型慢性鼻窦炎伴鼻息肉主要炎症因子研究现状[J]. 实用医药杂志. 2021, 38(5):445-449.

[19] 操婉昕. 慢性鼻窦炎患者外周血 T 调节细胞和 Th1/Th2/Th17 细胞因子的分析[D]. 上海:上海交通大学, 2020.

(收稿日期:2024-04-03)

**本文引用格式:**吴敏曼, 邱博文, 王旋, 等. 通鼻消涕颗粒治疗大鼠慢性鼻窦炎的作用机制研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2024, 30(4):23-28. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202424128

**Cite this article as:** WU Minman, QIU Bowen, WANG Xuan, et al. Study on the mechanism of Tongbixiaoti granules in the treatment of chronic rhinosinusitis in rats[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2024, 30(4):23-28. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202424128