

卵白蛋白对变应性鼻炎小鼠模型的影响

古丽白热木·玉素因¹, 唐成方², 穆合塔尔·阿卜杜热合木³, 毛 艳⁴, 刘 燕⁴, 顾政一^{4*}

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 石河子大学药学院, 石河子 832001;

3. 新疆医科大学第六附属医院, 乌鲁木齐 830002; 4. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

摘 要: **目的** 研究卵白蛋白(ovalbumin, OVA)对变应性鼻炎(过敏性鼻炎)小鼠模型的影响。**方法** 小鼠随机分为 7 组: 对照组、高浓度 OVA 模型+PBS 组、中浓度 OVA 模型+PBS 组、低浓度 OVA 模型+PBS 组、高浓度 OVA+阳性药组、中浓度 OVA+阳性药组、低浓度 OVA+阳性药组。采用 OVA 全身致敏及局部攻击相结合的方法构建变应性鼻炎小鼠模型, 以 PBS、丙酸氟替卡松(0.008 mg/kg)滴鼻, 观察小鼠鼻部抓挠、喷嚏数症状和脏器指数; ELISA 法定量检测血清免疫球蛋白 E(IgE)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)和干扰素- γ (IFN- γ)的含量; 制备脾细胞悬液对比脾细胞悬液 CD4+CD25+T 细胞变化。**结果** 建模成功后, 高浓度 OVA+阳性药组与高浓度 OVA 模型+PBS 组相比, 血清 IgE、IL-10、IL-4、IFN- γ 水平和 CD4+CD25+T 细胞水平变化不明显, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 中、低浓度 OVA+阳性药组与中、低浓度 OVA 模型+PBS 组相比, 血清 IgE、IL-10 和 IL-4 水平显著降低, CD4+CD25+T 细胞水平和 IFN- γ 水平显著升高, IFN- γ /IL-4 比值升高, 差异有统计学意义($P < 0.001$ 或 $P < 0.05$)。**结论** 卵白蛋白的浓度选择对变应性鼻炎模型影响较大, 致敏用卵白蛋白为中浓度时对阳性药的检测效率较高。

关键词: 卵白蛋白; 变应性鼻炎; 过敏; 炎症因子

Effect of ovalbumin on allergic rhinitis model in mice

GULIBAIEMU Yu-Su-Yin¹, TANG Cheng-Fang², MUHETAER Abudurehemu³,
MAO Yan⁴, LIU Yan⁴, GU Zheng-Yi^{4*}

(1. Pharmacy of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Pharmacy of Shihezi University, Urumqi 832001, China; 3. The Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China; 4. Pharmaceutical Research Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830004, China)

ABSTRACT: Objective To study the effect of ovalbumin (OVA) on allergic rhinitis in mice. **Methods** The mice were randomly divided into 7 groups: control group, high concentration OVA model+PBS group, medium concentration OVA model+PBS group, low concentration OVA model+PBS group, high concentration OVA+positive drug group, medium concentration OVA+positive drug group and low concentration OVA+positive drug group. The mice model of allergic rhinitis was established by the combination of systemic sensitization and local attack with OVA. The mice nose was dripped with PBS and fluticasone propionate (0.008 mg/kg). The symptoms of scratching and sneezing and organ index were observed. The contents of serum immunoglobulin E (IgE),

基金项目: 新疆地产中药民族药新药研发项目(2016-01-01)

Fund: Supported by the Xinjiang Real Estate New Drug Research and Development Project of Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicine (2016-01-01)

***通讯作者:** 顾政一, 研究员, 主要研究方向为天然药物研究与开发。E-mail: zhengyi087@126.com

***Corresponding author:** GU Zheng-Yi, Professor, Pharmaceutical Research Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No.140 Xinhua South Road of Tianshan District, Urumqi 830004, China. E-mail: zhengyi087@126.com

interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10) and interferon- γ (IFN- γ) were measured quantitatively by ELISA. The changes of CD4+CD25+T cell in spleen cell suspension were observed. **Results** Compared with the high concentration of OVA+ PBS group, the levels of serum IgE, IL-10, IL-4, IFN- γ and CD4+CD25+T cells were significantly different from mesin the high concentration OVA+positive drug group had no significant difference ($P>0.05$); compared with the medium and low concentration OVA+PBS group, the levels of serum IgE, IL-10 and IL-4 in the medium and low concentration OVA+positive drug group were significantly lower, the level of CD4+CD25+T cell and IFN- γ increased significantly, the ratio of IFN- γ to IL-4 increased significantly ($P<0.001$ or $P<0.05$). **Conclusion** The concentration of ovalbumin has a great influence on the allergic rhinitis model. When the concentration of ovalbumin is medium, the detection efficiency of positive drugs is high.

KEY WORDS: ovalbumin; allergic rhinitis; allergy; inflammatory factors

1 引言

卵白蛋白(ovalbumin, OVA)又称为卵清蛋白、卵清白蛋白,是食品中常见的蛋白过敏原成分,为蛋清中含量最大的主要蛋白^[1,2]。卵白蛋白磷酸化产物参与生物机体反应,主要参与“生物调节”、“刺激反应”、“发育过程”等机体反应过程,主要涉及“结合”、“催化”等分子功能^[3]。卵白蛋白在过敏性反应中具有较为重要的作用,如诱导特异性鼻炎模型^[4]、急性哮喘模型^[5-7]、被动皮肤过敏试验模型^[8],以及诱导变应性鼻炎模型^[9-11]。

变应性鼻炎又称为过敏性鼻炎,是由多种信号通路和细胞因子共同参与的鼻腔黏膜炎症疾病^[12]。变应性鼻炎是全球性健康问题,对人体无致命危害,但严重影响患者生活质量及心理状况,增加社会负担,随病程进展会引起其他严重并发症,如鼻窦炎、结膜炎、咽炎以及哮喘等,因此探究变应性鼻炎小鼠模型对于其基础研究显得非常重要。目前变应性鼻炎机制的研究主要围绕在辅助性 T 细胞(helper T cell, Th)1/Th2 细胞因子平衡,细胞因子失衡且 Th2 细胞因子产生占主导可促进变应性鼻炎形成^[13-15]。本文主要研究卵白蛋白的浓度过敏性鼻炎小鼠模型的影响,旨在优化出一个比较适宜的浓度来诱导变应性鼻炎模型,为类似过敏性疾病模型的诱导提供依据。

2 材料与方法

2.1 仪器

370 Series CO2 细胞培养箱(美国 Thermo Scientific 公司); GI54DWS(50 L)自动高压灭菌锅(美国 Zealway 公司); 全波长多功能酶标仪(中国 Thermo Fisher Scientific 公司); SCA210 型 Scout 电子天平(奥豪斯国际贸易上海有限公司); FREAS 625 烘箱(美国 Thermo Scientific 公司); Attune NxT 流式细胞仪(中国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2.2 试剂

卵白蛋白 OVA(grade V)、铝佐剂(批号 TE267860A)(美

国 Sigma 公司); 丙酸氟替卡松鼻喷雾剂(批号 NW2A, 英国葛兰素史克公司); IgE ELISA 试剂盒(批号 GR3293145-2, 英国 abcam 公司); IL-4 ELISA 试剂盒(批号 KE10111, 美国 Proteintech 公司); IL-10 ELISA 试剂盒(批号 Y02346728)、IFN- γ Elisa 试剂盒(批号 C41356127(中国 CUSABIO BIOTECH 公司))。

2.3 动物

BALB/c 小鼠, 雄性, 体质量(22 $\pm$ 2) g, 购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司[许可证号: SYXK(沪)2014-0018], 动物饲养于上海医药工业研究院实验动物房。

2.4 实验方法

2.4.1 药物制备方法

(1)基础致敏 OVA 溶液

用灭菌 PBS 溶解 OVA, 配制成高、中、低浓度分别为 250、200、150 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。然后按照铝佐剂: OVA 溶液=1:1(V/V)比例配置溶液, 振荡 30 min, 备用。

(2)局部激发 OVA 溶液

用灭菌 PBS 溶解 OVA 配置浓度为 100 mg/mL 的溶液, 备用。

(3)阳性药的配制

丙酸氟替卡松鼻喷雾剂配制成 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 溶液, 备用。

2.4.2 实验分组

将 70 只小鼠按照随机数字表法分为 7 组, 分别为对照组、高浓度 OVA 模型+PBS 组、中浓度 OVA 模型+PBS 组、低浓度 OVA 模型+PBS 组、高浓度 OVA+阳性药组、中浓度 OVA+阳性药组、低浓度 OVA+阳性药组 7 组。用苦杏仁酸标记区分各组别。

2.4.3 模型建立及给药方法

(1)致敏阶段

各组于第 1、第 8、第 15 d 腹腔注射致敏用溶液。对照组: 腹腔注射生理盐水 0.2 mL; 高浓度 OVA 模型+PBS 组: 腹腔注射致敏用 250 $\mu\text{g/mL}$ OVA 溶液 0.2 mL; 中浓度 OVA 模型+PBS 组: 腹腔注射致敏用 200 $\mu\text{g/mL}$ OVA 溶液

0.2 mL; 低浓度 OVA 模型+PBS 组: 腹腔注射致敏用 150 $\mu\text{g/mL}$ OVA 溶液 0.2 mL; 高浓度 OVA+阳性药组: 腹腔注射致敏用 250 $\mu\text{g/mL}$ OVA 溶液 0.2 mL; 中浓度 OVA+阳性药组: 腹腔注射致敏用 200 $\mu\text{g/mL}$ OVA 溶液 0.2 mL; 低浓度 OVA+阳性药组: 腹腔注射致敏用 150 $\mu\text{g/mL}$ OVA 溶液 0.2 mL。

(2)激发阶段

对照组第 22~28 d 以灭菌 PBS 溶液滴鼻, 每侧 5 μL ; 其余组在相同干预时间节点以激发用 OVA 溶液代替灭菌 PBS 溶液滴鼻, 分组干预 7 d。于第 25 d 激发结束 15 min 后计数 15 min 内小鼠抓鼻次数。

(3)给药方法

各组于第 26 至第 28 d 激发结束 15 min 后滴鼻给药。对照组: 以灭菌 PBS 溶液滴鼻, 每侧 5 μL ; 高浓度 OVA 模型+PBS 组: 以灭菌 PBS 溶液滴鼻, 每侧 5 μL ; 中浓度 OVA 模型+PBS 组: 以灭菌 PBS 溶液滴鼻, 每侧 5 μL ; 低浓度 OVA 模型+PBS 组: 以灭菌 PBS 溶液滴鼻, 每侧 5 μL ; 高浓度 OVA+阳性药组: 以丙酸氟替卡松(0.008 mg/kg)滴鼻, 每侧 5 μL ; 中浓度 OVA+阳性药组: 以丙酸氟替卡松(0.008 mg/kg)滴鼻, 每侧 5 μL ; 低浓度 OVA+阳性药组: 以丙酸氟替卡松(0.008 mg/kg)滴鼻, 每侧 5 μL 。

2.4.4 指标测定

(1)小鼠喷嚏、抓鼻次数

于第 25 d 激发 15 min 后观察各组小鼠 15 min 内打喷嚏行为和抓鼻动作与对照组小鼠是否有统计学差异以此判断造模是否成功。于第 28 d 给药 15 min 后, 考察小鼠 15 min 内喷嚏行为和抓鼻动作的次数。

(2)小鼠脏器指数水平

于第 29 d, 各组小鼠解剖后, 分离脾脏和胸腺, 称量脾脏和胸腺的重量, 计算脾脏指数(脾脏重量/体重 $\times 100\%$)和胸腺指数(胸腺重量/体重 $\times 100\%$)。

(3)血清 IgE、IL-4、IL-10 和 IFN- γ 水平

第 29 d 各组小鼠 OVA 最后 1 次激发 24 h 后眼眶取血, 置入灭菌 EP 管中, 静置 1 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心处理 10 min, 转速为 3000 r/min, -20 $^{\circ}\text{C}$ 待测, 各组小鼠血样采集完成后等量分为 4 份, 分别按照 IgE ELISA 试剂盒、IL-4 ELISA 试剂盒、IL-10 试剂盒及 IFN- γ Elisa 试剂盒说明书测定 IgE、IL-4、IL-10 和 IFN- γ 水平。

(4)脾细胞悬液 CD4+CD25+T 细胞

处死小鼠后解剖分离脾脏取 50 mg 组织块制备细胞悬液, 对 CD4、CD25 表面抗原染色, 用流式细胞仪检测, 分析 CD4+CD25+T 细胞占 CD4+T 细胞的百分比。

2.4.5 统计学处理

采用 GraphPad Prism 5.0 统计学软件进行统计学处理, 计量资料均以($\bar{x}\pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 小鼠抓鼻次数的变化

第 25 d 时高、中、低浓度 OVA 模型+PBS 组及高、中、低浓度 OVA+阳性药组抓鼻次数明显高于对照组, 各组与对照组相比差异均有统计学意义($P<0.001$), 提示造模成功。第 28 d 时高、中、低浓度 OVA 模型+PBS 组及高浓度 OVA+阳性药组抓鼻次数明显高于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.001$), 提示这 4 组在第 28 d 仍处于高敏状态; 高浓度 OVA+阳性药组与高浓度 OVA 模型+PBS 组抓鼻次数相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), 说明阳性药对高浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用不明显; 中、低浓度 OVA+阳性药组小鼠抓鼻次数分别明显低于中、低浓度 OVA 模型+PBS 组, 差异有统计学意义($P<0.001$), 中、低浓度 OVA+阳性药组小鼠抓鼻次数与对照组相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), 说明阳性药对中、低浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用比较明显。见表 1。

表 1 各组小鼠抓鼻次数的变化情况($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 1 Changes of the number of times of grasping the nose in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	第 25 d/次	第 28 d/次
对照组	11.40 $\pm$ 2.37	12.20 $\pm$ 1.81
高浓度 OVA 模型+PBS 组	31.20 $\pm$ 2.74***	35.10 $\pm$ 3.48***
中浓度 OVA 模型+PBS 组	28.30 $\pm$ 2.41***	30.20 $\pm$ 3.23***
低浓度 OVA 模型+PBS 组	22.20 $\pm$ 2.86***	22.60 $\pm$ 2.37***
高浓度 OVA+阳性药组	31.00 $\pm$ 2.74***	34.50 $\pm$ 2.99***
中浓度 OVA+阳性药组	26.80 $\pm$ 2.66***	12.00 $\pm$ 1.70###
低浓度 OVA+阳性药组	22.10 $\pm$ 3.08***	11.90 $\pm$ 1.60###

注: 与对照组比较, *** $P<0.001$; 与对应浓度模型组比较, ### $P<0.001$ 。

3.2 小鼠喷嚏次数的变化

第 25 d 时高、中、低浓度 OVA 模型+PBS 组及高、中、低浓度 OVA+阳性药组小鼠的喷嚏次数明显高于对照组, 各组与对照组相比差异均有统计学意义($P<0.001$), 提示造模成功。第 28 d 时高、中、低浓度 OVA 模型+PBS 组及高浓度 OVA+阳性药组小鼠喷嚏次数明显高于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.001$), 提示这 4 组在第 28 d 仍处于高敏状态; 高浓度 OVA+阳性药组与高浓度 OVA 模型+PBS 组小鼠喷嚏次数相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), 说明阳性药对高浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用不明显; 中、低浓度 OVA+阳性药组小鼠喷嚏次数分别明显低于中、低浓度 OVA 模型+PBS 组, 差异有统计学意义($P<0.001$),

中、低浓度 OVA+阳性药组小鼠喷嚏次数与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明阳性药对中、低浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用比较明显。见表 2。

表 2 各组小鼠喷嚏次数的变化情况($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 2 Changes of sneezing times in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	第 25 d/次	第 28 d/次
对照组	8.70±3.59	9.40±2.01
高浓度 OVA 模型+PBS 组	20.90±3.21***	23.30±3.06***
中浓度 OVA 模型+PBS 组	20.70±3.83***	20.90±4.45***
低浓度 OVA 模型+PBS 组	21.30±2.75***	16.40±2.01***
高浓度 OVA+阳性药组	21.20±2.57***	22.30±2.67***
中浓度 OVA+阳性药组	22.90±2.60***	12.40±2.17###
低浓度 OVA+阳性药组	22.60±2.17***	12.20±2.04###

注:与对照组比较,*** $P<0.001$;与对应浓度模型组比较,### $P<0.001$ 。

3.3 小鼠脏器指数的变化情况

胸腺和脾脏都是机体质量要的免疫器官,各组与对照组相比,脾脏指数明显增大,差异有统计学意义($P<0.001$),提示造模成功,但胸腺指数无影响。高浓度 OVA+阳性药组与高浓度 OVA 模型+PBS 组脾脏指数相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明阳性药对高浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用不明显;中、低浓度 OVA+阳性药组脾脏指数分别明显低于中、低浓度 OVA 模型+PBS 组,差异有统计学意义($P<0.001$),说明阳性药对中、低浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用比较明显。见表 3。

3.4 血清 IgE、IL-4、IL-10、IFN- γ 水平、CD4+CD25+T 细胞含量变化

与对照组相比,高、中、低浓度 OVA 模型+PBS 组小鼠血清 IL-4、IL-10 和 IgE 水平显著升高,CD4+CD25+T 细胞水平和 IFN- γ 水平显著下降,IFN- γ /IL-4 比值下降,差异

有统计学意义($P<0.001$),模型组小鼠显示出过敏性鼻炎粘膜免疫的特征;高浓度 OVA+阳性药组与高浓度 OVA 模型+PBS 组相比,血清 IgE、IL-10、IL-4、IFN- γ 水平和 CD4+CD25+T 细胞水平变化不明显,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明阳性药对高浓度 OVA 模型小鼠的治疗作用不明显;中浓度 OVA+阳性药组与中浓度 OVA 模型+PBS 组相比,血清 IgE、IL-10 和 IL-4 水平显著降低,CD4+CD25+T 细胞水平和 IFN- γ 水平显著升高,IFN- γ /IL-4 比值升高,差异有统计学意义($P<0.001$),说明阳性药对中浓度 OVA 的变应性鼻炎模型效果最显著;低浓度 OVA+阳性药组与低浓度 OVA 模型+PBS 组相比,血清 IgE、IL-10 和 IL-4 水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.001$),CD4+CD25+T 细胞水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$),IFN- γ 水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.001$),IFN- γ /IL-4 比值升高,差异有统计学意义($P<0.01$),说明阳性药对低浓度 OVA 的变应性鼻炎模型效果较显著。见表 4、表 5。

表 3 各组小鼠脏器指数的变化情况($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 3 changes of organ index of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	脾脏指数/%	胸腺指数/%
对照组	0.38±0.03	0.13±0.02
高浓度 OVA 模型+PBS 组	1.03±0.13***	0.12±0.02
中浓度 OVA 模型+PBS 组	0.98±0.15***	0.11±0.04
低浓度 OVA 模型+PBS 组	0.97±0.14***	0.14±0.03
高浓度 OVA+阳性药组	1.02±0.12***	0.12±0.02
中浓度 OVA+阳性药组	0.81±0.06****	0.14±0.03
低浓度 OVA+阳性药组	0.78±0.09****	0.12±0.02

注:与对照组比较,*** $P<0.001$;与对应浓度模型组比较,**** $P<0.001$ 。

表 4 各组小鼠血清 IgE、IL-10、CD4+CD25+T 细胞含量变化情况($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 4 Changes of serum IgE, IL-10, CD4+CD25+T cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	IgE/(μ g/mL)	IL-10/(pg/mL)	CD4+CD25+T 细胞/%
对照组	37.37±1.30	57.24±1.20	11.16±1.07
高浓度 OVA 模型+PBS 组	743.00±73.27***	104.50±2.24***	3.40±1.03***
中浓度 OVA 模型+PBS 组	691.60±81.77****	94.22±2.41****	5.45±1.02***
低浓度 OVA 模型+PBS 组	668.10±76.44****	84.42±2.20****	6.52±1.06****
高浓度 OVA+阳性药组	733.90±67.06***	104.30±2.38***	4.20±1.08***
中浓度 OVA+阳性药组	277.40±22.35****	74.41±1.27****	7.64±1.03****
低浓度 OVA+阳性药组	274.00±28.90****	73.26±1.14****	7.71±1.10****

注:与对照组比较,*** $P<0.001$;与对应浓度模型组比较,## $P<0.05$,**** $P<0.001$ 。

表 5 各组小鼠 IFN- γ 、IL-4 含量变化及比值变化情况($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 5 changes of IFN- γ , IL-4 content and ratio in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	IFN- γ /(pg/mL)	IL-4/(μ g/mL)	IFN- γ /IL-4
对照组	25.97 $\pm$ 0.31	48.93 $\pm$ 6.81	0.54 $\pm$ 0.08
高浓度 OVA 模型+PBS 组	10.76 $\pm$ 0.53***	235.70 $\pm$ 6.87***	0.05 $\pm$ 0.01***
中浓度 OVA 模型+PBS 组	12.63 $\pm$ 0.86****	135.5 $\pm$ 6.72****	0.09 $\pm$ 0.01****
低浓度 OVA 模型+PBS 组	14.89 $\pm$ 0.61****	107.6 $\pm$ 9.45****	0.14 $\pm$ 0.01****
高浓度 OVA+阳性药组	11.19 $\pm$ 0.60***	232.4 $\pm$ 7.87***	0.05 $\pm$ 0.01***
中浓度 OVA+阳性药组	20.99 $\pm$ 0.44****	73.22 $\pm$ 9.78****	0.29 $\pm$ 0.05****
低浓度 OVA+阳性药组	21.01 $\pm$ 0.50****	99.53 $\pm$ 9.12****	0.21 $\pm$ 0.02****

注: 与对照组比较, *** $P<0.001$; 与对应浓度模型组比较, ** $P<0.01$, **** $P<0.001$ 。

4 结论与讨论

Th1/Th2 淋巴细胞亚群的动态平衡被打破是过敏性疾病发生、发展的重要原因之一。IFN- γ 是反映 Th1 细胞功能的重要因子之一, 可在适宜条件下增强 Th1 细胞活性并同时抑制 Th2 型反应引发的过敏性疾病, 因此, IFN- γ 的分泌水平下调会增加过敏性疾病的发病风险。IgE 是一种特异性免疫球蛋白, 主要由 B 细胞合成分泌, 且受到 Th2 细胞的调控。当前研究指出当变应性鼻炎患者首次接触变应原后 IgE 会附着于肥大细胞和嗜酸性粒细胞表面, 而再次接触变应原时, IgE 会与受体结合交联, 激活肥大细胞、EOS 释放组胺和白三烯等炎症递质, 进而刺激鼻黏膜, 引发鼻痒、喷嚏、流涕等症状^[16,17]。IL-4 主要由抗原或丝裂原刺激的 CD4⁺T 细胞合成, 少部分由活化的肥大细胞分泌^[18,19], 且受 Th2 细胞的调控。目前有研究指出 IL-4 是一个 Ig 类转换因子, 可为 B 细胞提供活化信号, 令 B 细胞由产生 IgM 并转换成产生 IgE 抗体, 促进 IgE 的产生^[20,21]。IL-10 可调节细胞的生长与分化, 且参与了机体炎症反应和免疫反应, 主要由 Th2 细胞分泌, 能够抑制 Th1 细胞产生 IFN- γ , 在变应性鼻炎过程中发挥重要作用^[22,23]。IL-4、IL-10、IgE、IFN- γ 均参与变应性鼻炎的免疫发病过程, 降低 IL-4、IL-10 含量, 减少 IgE 合成, 增加 IFN- γ 含量是防治变应性鼻炎的重要途径之一^[24,25]。

本研究为探讨卵白蛋白对变应性鼻炎小鼠模型的影响, 观察了小鼠鼻部抓挠、喷嚏数症状和脏器指数, ELISA 法定量检测了血清中 IgE、IL-4、IL-10 和 IFN- γ 的含量, 制备脾细胞悬液对比脾细胞悬液 CD4+CD25+T 细胞变化情况。结果表明, 卵白蛋白的浓度选择对变应性鼻炎模型影响较大, 致敏用卵白蛋白为中浓度时对阳性药的检测效率较高, OVA 致敏浓度为 200 μ g/mL 时, 致敏状态与治疗后的状态差异更为显著; 阳性药调节 Th1/Th2 淋巴细胞亚群平衡, 减轻鼻黏膜炎症, 减轻 OVA 致变应性鼻炎免疫因子的生成与释放可能是其治疗变应性鼻炎的重要机制。

参考文献

[1] 宁亚维, 刘茁, 范素芳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测食品中鸡蛋过敏原卵白蛋白[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 332-336.
Ning YW, Liu Z, Fan SF, *et al.* Detection of egg allergen ovalbumin in food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2018, 39(20): 332-336.

[2] 刘丽莉, 王焕, 李丹, 等. 鸡蛋清卵白蛋白酶解工艺优化及其结构性质[J]. 食品科学, 2016, 37(10): 54-61.
Liu LL, Wang H, Li D, *et al.* Enzymatic hydrolysis and structural properties of egg white ovalbumin [J]. Food Sci, 2016, 37(10): 54-61.

[3] 杨燃, 宋洪波, 黄群, 等. 鸡蛋清磷酸化蛋白质组鉴定与分析[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 30-35.
Yang R, Song HB, Huang Q, *et al.* Proteome identification and analysis of egg white phosphorylation [J]. Food Sci, 2019, 40(11): 30-35.

[4] 张宇, 韩悦, 徐蓓蕾, 等. 卵清蛋白联合卡泊三醇诱导构建特应性皮炎小鼠模型[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(7): 481-485.
Zhang Y, Han Y, Xu BL, *et al.* Construction of mouse model of atopic dermatitis induced by ovalbumin and carbatriol [J]. Chin J Dermatol, 2019, 52(7): 481-485.

[5] 惠言, 王希璠, 任发政, 等. 副干酪乳杆菌 L9 对卵白蛋白诱发的小鼠过敏性气道炎的调节作用[J]. 中国食品学报, 2019, 42(2): 12-20.
Hui Y, Wang XF, Ren FZ, *et al.* Regulation of *Lactobacillus paracasei* L9 on ovalbumin induced allergic airway inflammation in mice [J]. Chin J Food, 2019, 42(2): 12-20.

[6] 亓玉心, 杨文平, 赵永红. 烟曲霉对哮喘大鼠糖皮质激素受体和 β 2-肾上腺素能受体表达的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 4293-4297.
Qi YX, Yang WP, Zhao YH. Effect of aspergillus fumigatus on the expression of glucocorticoid receptor and β 2-adrenergic receptor in asthmatic rats [J]. Genom Appl Biol, 2019, 38(9): 4293-4297.

[7] 陈叶, 黄丽娟, 胡智立, 等. 鱼腥草素钠对急性哮喘模型小鼠炎症的影响及机制研究[J]. 药物评价研究, 2019, 42(6): 1105-1109.
Chen Y, Huang LJ, Hu ZL, *et al.* Effect and mechanism of Houttuynia sodium on inflammation in acute asthmatic mice [J]. Drug Eval Study, 2019, 42(6): 1105-1109.

[8] 王萍, 王功霞, 曹冲. 腹腔致敏途径下的大鼠被动皮肤过敏试验影响因素研究[J]. 食品与药品, 2019, 21(4): 312-316.

- Wang P, Wang GX, Cao C. Study on the influencing factors of passive skin hypersensitivity test in rats via celiac sensitization [J]. Food Drug, 2019, 21(4): 312–316.
- [9] 姜茗宸, 汪受传, 单进军, 等. 消风宣窍汤对 OVA 诱导的变应性鼻炎小鼠脾脏代谢特征的作用研究[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 57(2): 235–240.
- Jiang MC, Wang SC, Shan JJ, *et al.* Study on the effect of xiaofengxuanqiao Decoction on spleen metabolism of allergic rhinitis mice induced by OVA [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2020, 57(2): 235–240.
- [10] Fan XH, Cheng L, Yan AH. Ameliorative effect of acetylshikonin on ovalbumin (OVA)-induced allergic rhinitis in mice through the inhibition of Th2 cytokine production and mast cell histamine release [J]. APMIS, 2019, 127(10): 688–695.
- [11] Liu J, Cao ZW. Protective effect of circular RNA (CircRNA) Ddx17 in ovalbumin (OVA)-induced allergic rhinitis (AR) mice [J]. Med Sci Monit: Inter Med J Exp Clin Res, 2020, 26(1): 515–526.
- [12] 古丽白热木·玉素因, 毛艳, 刘燕, 等. TLRs 介导的炎症信号通路与变应性鼻炎发病机制研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(1): 50–53.
- Gulibaiermu Y, Mao Y, Liu Y, *et al.* TLRs mediated inflammatory signaling pathway and the pathogenesis of allergic rhinitis [J]. Med Rev, 2020, 26(1): 50–53.
- [13] 罗甜, 薛英, 雷公藤联合氯雷他定治疗轻度变应性鼻炎的临床疗效以及对血清 Th1/Th2、Treg/Th17 的影响[J]. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(2): 280–284.
- Luo T, Xue Y. The clinical effect of Tripterygium wilfordii combined with loratadine in the treatment of mild allergic rhinitis and its effect on Th1/Th2 and Treg/Th17 in serum [J]. Med J Wuhan Univ, 2020, 41(2): 280–284.
- [14] 刘静, 胡文健. 自拟通窍止鼾汤与氯雷他定分别联合孟鲁司特钠对儿童变应性鼻炎患者的血清 IL-4、IFN- γ 表达水平的影响比较[J]. 中国处方药, 2020, 18(1): 118–119.
- Liu J, Hu WJ. Comparison of the effects of tongqizhifu decoction and loratadine combined with montelukast sodium on the expression of serum IL-4 and IFN- γ in children with allergic rhinitis [J]. Chin Prescrip Drug, 2020, 18(1): 118–119.
- [15] 朱学伟, 段伟那, 陈明星. LMP-1 重组质粒滴鼻对变应性鼻炎鼠模型 Th2 方向的免疫调节作用[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(12): 2171–2172.
- Zhu XW, Duan WN, Chen MX. Immunomodulatory effect of LMP-1 recombinant plasmid on Th2 direction in allergic rhinitis rat model [J]. Chin J Lab Diagn, 2019, 23(12): 2171–2172.
- [16] 李萌, 魏肖云, 汪受传. 消风宣窍汤对 TDI 致过敏性鼻炎模型豚鼠血清 IL-5、IL-12 表达水平的影响[J]. 世界中医药, 2014, 9(7): 919–922.
- Li M, Wei XY, Wang SC. Effect of Xuanqiao decoction on the expression of IL-5 and IL-12 in serum of guinea pigs with allergic rhinitis induced by TDI [J]. J World Tradit Chin Med, 2014, 9(7): 919–922.
- [17] Eifan, Aarif O, Durham, *et al.* Pathogenesis of rhinitis [J]. Clin Exp Allergy, 2016, 46(9): 1139–1151.
- [18] 陈敏霞. 糠酸莫米松鼻喷雾剂对儿童变应性鼻炎 IL-4 和 IFN- γ 及临床症状的影响[C]. 全国高血压防治知识推广培训班暨健康血压中国行福建漳州会论文综合刊, 2014: 179.
- Chen MX. Effects of mometasone furoate nasal spray on IL-4 and IFN- γ and clinical symptoms in children with allergic rhinitis [C]. Comprehensive journal of the national training course on hypertension prevention and control knowledge and the paper of healthy blood pressure China travel to Zhangzhou in Fujian Province, 2014: 179.
- [19] 常盛. 针刺联合穴位注射治疗过敏性鼻炎的临床观察及对血清 IL-4、VCAM-1 水平的影响[J]. 中国中医药科技, 2019, 26(6): 877–878.
- Chang S. Clinical observation on the treatment of allergic rhinitis with acupoint injection and its effect on the levels of serum IL-4 and VCAM-1 [J]. Chin Tradit Med sci Technol, 2019, 26(6): 877–878.
- [20] 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 B p50 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.
- Li L, Wang YH, Hou Y, *et al.* Effect of 18 β -glycyrrhetic acid sodium on the expression of NF- κ B p50 and IL-4 in the nasal mucosa of rats with allergic rhinitis [J]. Med J Xi'an Jiaotong Univ, 2020, 41(1): 58–63.
- [21] 孙子慧, 高照慧, 薛金梅, 等. 舌下免疫法治疗变应性鼻炎的有效性及其细胞因子对其疗效的预测[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 33(4): 332–336.
- Sun ZH, Gao ZH, Xue JM, *et al.* The effectiveness of sublingual immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis and the prediction of the effect of cytokines [J]. J Otolaryngol-Head N, 2019, 33(4): 332–336.
- [22] Kang GY. Letter to the editor regarding "sublingual immunotherapy attenuates nasal symptoms upon allergen exposure in murine allergic rhinitis model via an induction of IL-10 producing T cells in submandibular lymph node" [J]. Ann Oto Rhinol Laryn, 2020, 129(1): 1–2.
- [23] Su XM. Expressions, function and significance of IL-10 and RANTES in rats with allergic rhinitis [J]. J Biol Reg Homeos Ag, 2019, 33(4): 1227–1232.
- [24] Yu SQ, Jin L, Che N, *et al.* Dendritic cells modified with Der p1 antigen as a therapeutic potential for allergic rhinitis in a murine model via regulatory effects on IL-4, IL-10 and IL-13 [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 70(2): 216–224.
- [25] 马瑞霞, 侯丽, 虎峻瑞. 观察防风固本颗粒对变应性鼻炎肺郁脾虚患者外周血单个核细胞培养上清中 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- γ 细胞因子水平的影响[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(21): 1662–1665.
- Ma RX, Hou L, Hu JR. To observe the effect of fangfengguben Granule on the levels of IL-4, IL-5, IL-10 and IFN- γ cytokines in the supernatant of peripheral blood mononuclear cells from patients with allergic rhinitis and lung depression and spleen deficiency [J]. J Otolaryngol-Head N, 2017, 31(21): 1662–1665.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



古丽白热木·玉素因, 研究生, 主要研究方向为天然药物研究与开发。
E-mail: glbrmysy@163.com

顾政一, 硕士, 研究员, 主要研究方向为天然药物研究与开发。
E-mail: zhengyi087@126.com