

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research苍耳亭治疗过敏性鼻炎合并哮喘大鼠的研究
Research of xanthine in the treatment of rats with allergic
rhinitis complicated with asthma

张 冰, 张燕霞, 姚向东

(新乡市中心医院/新乡医学院 第四临床学院
耳鼻咽喉科, 河南 新乡 453000)ZHANG Bing, ZHANG Yan-xia,
YAO Xiang-dong(Department of Otolaryngology, Xinxiang
Central Hospital/The Fourth Clinical
College of Xinxiang Medical College,
Xinxiang 453000, Henan Province, China)作者简介: 张冰(1987-), 男, 主治医师, 主要从
事过敏性鼻炎的相关机制研究

通信作者: 张冰

MP: 18303607537

E-mail: zhangbing137819@126.com

摘要:目的 探讨苍耳亭通过调节微小 RNA(miR) - 27a - 3p 靶向胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)治疗过敏性鼻炎(AR)合并哮喘的作用机制。方法 用卵清蛋白(OVA)致敏和鼻部滴注攻击法建立 AR 合并哮喘大鼠模型。将50 只大鼠分为对照组(等体积 0.9% NaCl)、模型组(构建 AR 模型合并哮喘 + 等体积 0.9% NaCl)、实验组(构建 AR 模型合并哮喘 + 100 mg · kg⁻¹ 苍耳亭)、miR - 27a - 3p inhibitor 组(在实验组基础上尾静脉注射 0.5 nmol · μL⁻¹ miR - 27a - 3p inhibitor 10 μL), si - TSLP 组(在 miR - 27a - 3p inhibitor 组基础上尾静脉注射 0.5 nmol · μL⁻¹ si - TSLP 10 μL), 每组 10 只。用酶联免疫吸附试验法检测大鼠血清免疫球蛋白 E(IgE)、白细胞介素 - 2(IL - 2)、IL - 13 和肿瘤坏死因子 - α(TNF - α)的水平, 用黄嘌呤氧化酶法检测超氧化物歧化酶(SOD)水平, 用硫代巴比妥酸法(TBA)检测丙二醛(MDA)水平。结果 对照组、模型组、实验组、miR - 27a - 3p inhibitor 组和 si - TSLP 组的 IgE 水平分别为(18.33 ± 3.53)、(89.95 ± 17.62)、(55.70 ± 10.08)、(78.43 ± 15.30)和(47.87 ± 9.44) ng · mL⁻¹, IL - 2 水平分别为(8.01 ± 1.36)、(19.61 ± 3.94)、(14.12 ± 2.51)、(17.33 ± 3.18)和(11.89 ± 2.03) pg · mL⁻¹, IL - 13 水平分别为(6.79 ± 1.33)、(34.15 ± 7.02)、(24.70 ± 5.13)、(35.97 ± 7.24)和(20.53 ± 4.26) pg · mL⁻¹, TNF - α 水平分别为(94.08 ± 19.07)、(312.47 ± 58.61)、(209.78 ± 41.49)、(296.42 ± 55.99)和(187.45 ± 37.28) pg · mL⁻¹, SOD 水平分别为(29.14 ± 5.04)、(13.25 ± 2.63)、(24.19 ± 4.89)、(17.28 ± 3.16)和(33.94 ± 5.87) U · mg prot⁻¹, MDA 水平分别为(2.26 ± 0.51)、(4.43 ± 0.72)、(3.17 ± 0.58)、(3.94 ± 0.69)和(2.62 ± 0.45) nmol · mg prot⁻¹。对照组的上述指标与模型组比较, 模型组的上述指标与实验组比较, 实验组的上述指标与 miR - 27a - 3p inhibitor 组比较, miR - 27a - 3p inhibitor 组的上述指标与 si - TSLP 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 苍耳亭对大鼠的 AR 合并哮喘具有改善氧化应激、减轻炎症的治疗作用, 其机制可能与调节 miR - 27a - 3p 靶向 TSLP 有关。

关键词: 苍耳亭; 过敏性鼻炎; 支气管哮喘; 氧化应激; 炎症因子**DOI:** 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.02.011**中图分类号:** R28 **文献标志码:** A**文章编号:** 1001-6821(2025)02-0203-06

Abstract: Objective To explore the mechanism of action of xanthine in the treatment of allergic rhinitis (AR) complicated with asthma in rats by regulating microRNA - 27a - 3p (miR - 27a - 3p) targeting thymic stromal lymphopoietin (TSLP). **Methods** The AR - asthma rat model was established using ovalbumin (OVA) sensitization and nasal drip attack method. Fifty rats were divided into control group (equal volume 0.9% NaCl), model group (AR - asthma model + equal volume 0.9% NaCl), experimental group (AR - asthma model + 100 mg · kg⁻¹

xanthorin) and miR-27a-3p inhibitor group (caudal vein injection of $0.5 \text{ nmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ miR-27a-3p inhibitor $10 \mu\text{L}$ on the basis of the experimental group), si-TSLP group ($0.5 \text{ nmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ si-TSLP $10 \mu\text{L}$ intravenously injected on the basis of miR-27a-3p inhibitor group), 10 rats in each group. Serum immunoglobulin E (IgE), interleukin-2 (IL-2), IL-13 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels of rats were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The level of superoxide dismutase (SOD) was detected by xanthoxine oxidase method. The level of malonaldehyde (MDA) was detected by thiobarbituric acid method (TBA). **Results** The levels of IgE in control group, model group, experimental group, miR-27a-3p inhibitor group and si-TSLP group were (18.33 ± 3.53), (89.95 ± 17.62), (55.70 ± 10.08), (78.43 ± 15.30) and (47.87 ± 9.44) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; IL-2 levels were (8.01 ± 1.36), (19.61 ± 3.94), (14.12 ± 2.51), (17.33 ± 3.18) and (11.89 ± 2.03) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; IL-13 levels were (6.79 ± 1.33), (34.15 ± 7.02), (24.70 ± 5.13), (35.97 ± 7.24) and (20.53 ± 4.26) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; TNF- α levels were (94.08 ± 19.07), (312.47 ± 58.61), (209.78 ± 41.49), (296.42 ± 55.99) and (187.45 ± 37.28) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; SOD levels were (29.14 ± 5.04), (13.25 ± 2.63), (24.19 ± 4.89), (17.28 ± 3.16) and (33.94 ± 5.87) $\text{U} \cdot \text{mg prot}^{-1}$, respectively; MDA levels were (2.26 ± 0.51), (4.43 ± 0.72), (3.17 ± 0.58), (3.94 ± 0.69) and (2.62 ± 0.45) $\text{nmol} \cdot \text{m gprot}^{-1}$, respectively. The above indicators were compared between control group and model group, model group and experimental group, experimental group and miR-27a-3p inhibitor group, miR-27a-3p inhibitor group and si-TSLP group. The differences were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Xanthine can improve oxidative stress and reduce inflammation of AR complicated with asthma in rats, and its mechanism may be related to the regulation of miR-27a-3p targeting TSLP.

Key words: xanthatin; allergic rhinitis; bronchial asthma; oxidative stress; inflammatory factor

过敏性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是一种由免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 诱发的呼吸道炎症、氧化/抗氧化失衡的非感染性疾病, 以气道高反应性、气道炎症、黏液分泌增多及免疫系统过敏反应等为主要表现, 因具有相似的流行病学特点常与哮喘同时出现^[1]。现阶段糖皮质激素、免疫疗法、抗组胺药等可以改善 AR 患者症状, 但易产生耐药性, 疗效局限^[2]。方苍耳子散源于《济生方》, 临床上常用于治疗急、慢性鼻炎。苍耳亭作为一种天然倍半萜内酯类化合物, 具有抗炎、抗过敏、抑菌、抗肿瘤等作用^[3]。本研究旨在探究苍耳亭通过调节微小 RNA (microRNA, miR)-27a-3p 靶向胸腺基质淋巴细胞生成素 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP) 治疗 AR 合并哮喘的作用机制, 从而为天然药物的开发提供参考。

材料与方法

1 材料

动物 健康清洁级雄性 SD 大鼠, 鼠龄 8 周, 体重 (200 ± 20) g, 购自郑州大学 (河南省实验动物中心)。动物许可证号: SCXK (豫) 2022-0001。本实验经新乡市中心医院伦理委员会批准 (伦理批号:

20240116023)。

细胞 293T 人胚肾细胞, 购自百哈 (上海) 生物科技有限公司。

药品与试剂 苍耳亭, 规格: 每支 10 mg, 纯度: 99.29%, 批号: 133020, 陶术生物 (上海) 有限公司生产; 卵清蛋白 (ovalbumin, OVA), 规格: 每瓶 5 g (精制级), 纯度: $\geq 98.0\%$, 批号: 2403115, 南京都莱生物技术有限公司生产。miR-27a-3p 模拟物及其对照序列、TSLP 突变型质粒 (mutant type, MUT) 及其野生型质粒 (wild type, WT), miR-27a-3p、TSLP、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 及 U6 引物, 均购自上海生工生物工程公司; TSLP 一抗、荧光二抗、白细胞介素-13 (interleukin-13, IL-13) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒, 均购自上海艾博抗贸易有限公司; TRIzolTM 试剂、逆转录试剂盒、磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS)、4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 试剂, 均购自赛默飞世尔科技有限公司; 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒、IgE ELISA 试剂盒、苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染液、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒、IL-2 ELISA 试

剂盒、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒, 均购自上海碧云天生物技术公司。

仪器 DR3900 可见分光光度计, 美国 HACH 公司产品; LMD6 光学显微镜, 德国 Leica 公司产品; Rt-6100 酶标仪, 美国 Rayto 公司产品; LightCycler 480II 定量逆转录聚合酶链反应 (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR) 仪, 瑞士 Roche 公司产品; Eclipse Ti-SR 荧光显微镜, 日本尼康公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建、动物分组与处置方法

用 OVA 致敏和鼻部滴注攻击法构建 AR 合并哮喘模型^[4]。①基础致敏: 将 5% OVA 混悬液 (内含 OVA 1 mg 和氢氧化铝凝胶 50 mL) 于大鼠腹腔注射 2 周, *qd*, 再连续鼻部滴注 1 周; ②强化激发: 从初次致敏第 7 天开始 OVA 滴鼻, 每次 10 μL , *qd*, 共 7 d; ③模型维持: 后隔日给予 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ OVA 滴鼻, 持续刺激鼻黏膜, 每隔 7 d 观察 1 次鼻部; ④模型评价: 最后 1 次滴蛋白液激发结束后 30 min 内观察大鼠鼻分泌物量、喷嚏次数及鼻痒程度。累计总分 ≥ 5 分为造模成功。

将 50 只大鼠随机分为对照组、模型组、实验组、miR-27a-3p inhibitor 组和 si-TSLP 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余组均建立 AR 哮喘模型。实验组: 实验第 22 天给予 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 苍耳亭灌胃处理, *qd*, 连续给药 2 周; miR-27a-3p inhibitor 组: 在实验组的基础上, 尾静脉注射 0.5 $\text{nmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ miR-27a-3p inhibitor 10 μL , *qd*, 连续注射 2 周; si-TSLP 组: 在 miR-27a-3p inhibitor 组的基础上, 尾静脉注射 0.5 $\text{nmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ si-TSLP 10 μL 。对照组和模型组均尾静脉注射等量的 0.9% NaCl。

2.2 细胞培养、细胞分组与处置方法^[5]

293T 细胞株在杜氏改良培养液 (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM) 培养, 培养基中添加 10% 胎牛血清。细胞保存在含有 5% CO_2 的 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养。取对数生长期的 293T 细胞以每孔 2×10^5 个接种于 6 孔板, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的细胞培养箱内培养, 待细胞生长至 80% 左右, 分为 NC mimic 组 (50 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ miR-NC 处理) 和 miR-27a-3p mimic 组 (50 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ miR-27a-3p mimic 处理)。

2.3 HE 染色法观察肺组织病理情况^[6]

给药结束 24 h 后, 脱颈椎法处死大鼠后快速取出左、右肺组织, 用蒸馏水漂洗左肺, 固定左肺于 4% 多聚甲醛溶液中, 右肺组织置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 液氮中保存备用。取出左肺组织, 将组织依次进行脱水、

透明、浸蜡、包埋和切片, 保证组织片附着于载玻片上, 脱蜡处理后进行水化, 用 HE 法对组织进行染色, 光学显微镜下观察肺组织染色结果, 随机选取 3 个清晰视野拍照。

2.4 考马斯亮蓝 (coomassie blue staining, Bradford) 法检测大鼠鼻腔灌洗液总蛋白^[7]

给药结束 24 h 后, 将大鼠以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 仰卧位固定, 缓慢向一侧鼻腔注入 0.9% NaCl, 持续低负压条件下抽吸对侧鼻腔, 反复灌洗 3 次, 最终回收灌洗液体积 $> 1 \text{ mL}$ 。用 Bradford 法测定鼻腔灌洗液中总蛋白浓度的最大光密度值 ($\lambda = 595 \text{ nm}$)。

2.5 ELISA 法检测大鼠鼻腔灌洗液组胺、血清 IgE 及炎症因子的水平^[8]

取“2.4”中处理的鼻腔灌洗液, 用 ELISA 试剂盒检测组胺含量。抽取上述麻醉固定后各组大鼠腹主动脉血 2 mL, 置于抗凝管中室温静置 3 h, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下, 以 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分装后于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 下保存, 用 ELISA 试剂盒检测血清 IgE、IL-2、IL-13、TNF- α 的含量。

2.6 检测 miR-27a-3p 和 TSLP mRNA 的表达水平^[9]

用 TRIzolTM 试剂提取大鼠肺组织总 mRNA, 逆转录合成互补脱氧核糖核酸, 扩增。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、U6 为内参, 计算得出各目的基因 Ct 数值后, 用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析 mRNA 相对表达水平。

2.7 免疫荧光法检测 TSLP 蛋白表达水平^[10]

将“2.3”中处理的肺组织石蜡切片脱蜡, 乙醇脱水后抗原修复, 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 反复洗 3 次, 每次 5 min, 加入一定比例的 TSLP-抗于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。用 PBS 溶液冲洗 3 次, 每次 5 min, 加二抗室温孵育 1 h, PBS 清洗后加入 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 复染 5 min, PBS 冲洗后封片, 在荧光显微镜下采集图像。

2.8 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-27a-3p 和 TSLP 的靶向关系^[11]

通过 Targetscan 数据库预测 miR-27a-3p 与 TSLP 的靶向结合位点。取“2.2”中培养的 293T 细胞按 LipofectamineTM 2000 使用说明书的方法进行操作, 构建 TSLP-MUT 和 TSLP-WT 质粒, 并分别与 miR-NC、miR-27a-3p mimic 共转染至 293T 细胞中, 转染 6 h, 每组设 6 个平行样本, 48 h 检测荧光素酶活性。

2.9 黄嘌呤氧化酶法与硫代巴比妥酸法(thiobarbituric acid, TBA)分别检测大鼠肺组织的SOD和MDA水平^[12]

取“2.5”中处理的血清样本,于室温下解冻,按要求配制试剂并混匀。SOD检测条件为37℃下水浴40 min后,蒸馏水调零($\lambda=550\text{ nm}$),MDA检测条件为100℃下水浴40 min后冷却,然后以 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清液($\lambda=523\text{ nm}$)。用酶标仪分别测定每孔光密度值,绘制标准曲线并计算二者含量。

3 统计学处理

用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 苍耳亭对AR合并哮喘大鼠肺组织病理学的影响

实验组给予 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 苍耳亭处理;对照组和模型组均给予等体积0.9% NaCl;miR-27a-3p inhibitor组在实验组基础上尾静脉注射 $0.5\text{ nmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ miR-27a-3p inhibitor 10 μL , qd,连续注射2周;si-TSLP组在miR-27a-3p inhibitor组基础上尾静脉注射 $0.5\text{ nmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ si-TSLP 10 μL 。

HE染色结果显示:对照组大鼠的肺泡组织结构完整且清晰,呈正常形态;模型组与对照组相比,大鼠的部分肺泡融合,黏膜下出现大量炎性细胞浸润;实验组与模型组相比,大鼠肺组织损伤程度相较模型组有所减轻,管腔无明显狭窄,但周围仍有部分肺泡融合和少量炎性细胞浸润。结果见图1。

2 苍耳亭对AR合并哮喘大鼠鼻腔灌洗液总蛋白和组胺水平的影响

对照组、模型组和实验组大鼠鼻腔灌洗液的总蛋白水平分别为 (0.31 ± 0.03) 、 (0.45 ± 0.04) 和 $(0.37\pm0.03)\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,组胺水平分别为

(1.56 ± 0.29) 、 (1.98 ± 0.32) 和 $(1.67\pm0.27)\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,对照组的上述指标与模型组比较,模型组的上述指标与实验组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

3 miR-27a-3p和TSLP在各组大鼠肺组织中的表达情况

对照组、模型组和实验组的miR-27a-3p相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 0.52 ± 0.09 和 0.86 ± 0.14 ,TSLP mRNA相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 、 2.33 ± 0.41 和 1.68 ± 0.32 ,TSLP相对荧光强度值分别为 1.00 ± 0.12 、 3.84 ± 0.47 和 1.42 ± 0.18 ,对照组的上述指标与模型组比较,模型组的上述指标与实验组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。

4 miR-27a-3p和TSLP的靶向关系验证

miR-27a-3p组293T细胞转染miR-27a-3p, NC mimic组293T细胞转染miR-NC。

TargetsCan预测发现,miR-27a-3p和TSLP存在结合位点,见图2。

双荧光素酶报告基因实验结果显示:miR-27a-3p mimic组与NC mimic组相比,miR-27a-3p mimic与TSLP-WT共转染的荧光素酶活性和TSLP mRNA相对表达水平均较明显降低(均 $P<0.01$),miR-27a-3p mimic与TSLP-MUT共转染的荧光素酶活性无显著性差异($P>0.05$)。结果见表1。

5 苍耳亭通过miR-27a-3p/TSLP对各组大鼠肺组织中氧自由基相关指标表达的影响

对照组、模型组、实验组、miR-27a-3p inhibitor

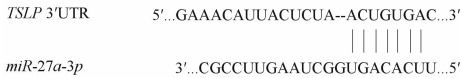


图2 微小RNA-27a-3p(miR-27a-3p)和胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)的结合位点预测

Figure 2 Prediction of binding sites of microRNA-27a-3p(miR-27a-3p) and thymic stromal lymphopoietin (TSLP)

表1 miR-27a-3p和TSLP的调控关系验证($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Verification of the regulatory relationship between miR-27a-3p and TSLP ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	TSLP-WT	TSLP MUT	TSLP mRNA
NC mimic	8	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.13
miR-27a-3p mimic	8	$0.57\pm0.06^{**}$	1.04 ± 0.15	$0.66\pm0.07^{**}$

NC mimic group; Transfection NC mimic; miR-27a-3p mimic group; Transfection miR-27a-3p mimic; Compared with the NC mimic group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$.

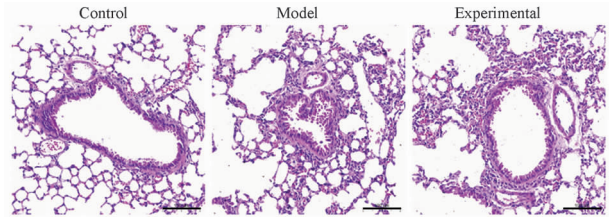


图1 各组大鼠肺组织苏木精-伊红(HE)染色($\times 100$)
Figure 1 Hematoxylin-eosin (HE) staining of lung tissues in each group($\times 100$)
NC group; 0.9% NaCl; Model group; 0.9% NaCl; Experimental group; $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Xanthatin.

表2 各组大鼠血清中免疫球蛋白 E(IgE)和炎症因子水平的比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of serum immunoglobulin E (IgE) and inflammatory factors in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	IgE (ng · mL ⁻¹)	IL-2 (pg · mL ⁻¹)	IL-13 (pg · mL ⁻¹)	TNF-α (pg · mL ⁻¹)
Control	10	18.33 ± 3.53	8.01 ± 1.36	6.79 ± 1.33	94.08 ± 19.07
Model	10	89.95 ± 17.62 **	19.61 ± 3.94 **	34.15 ± 7.02 **	312.47 ± 58.61 **
Experimental	10	55.70 ± 10.08 $\Delta\Delta$	14.12 ± 2.51 $\Delta\Delta$	24.70 ± 5.13 $\Delta\Delta$	209.78 ± 41.49 $\Delta\Delta$
miR-27a-3p inhibitor	10	78.43 ± 15.30 $\Delta\Delta$	17.33 ± 3.18 Δ	35.97 ± 7.24 $\Delta\Delta$	296.42 ± 55.99 $\Delta\Delta$
si-TSLP	10	47.87 ± 9.44 $\Delta\Delta$	11.89 ± 2.03 $\Delta\Delta$	20.53 ± 4.26 $\Delta\Delta$	187.45 ± 37.28 $\Delta\Delta$

miR-27a-3p inhibitor group; Caudal vein injection of 0.5 nmol · μL⁻¹ miR-27a-3p inhibitor 10 μL on the basis of the experimental group; si-TSLP group; 0.5 nmol · μL⁻¹ Si-TSLP 10 μL intravenously injected on the basis of miR-27a-3p inhibitor group; IL: Interleukin; TNF-α: Tumor necrosis factor-α; Compared with control group, ***P* < 0.01; Compared with model group, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01; Compared with experimental group, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01; Compared with miR-27a-3p inhibitor group, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01.

组和 si-TSLP 组的 SOD 水平分别为(29.14 ± 5.04)、(13.25 ± 2.63)、(24.19 ± 4.89)、(17.28 ± 3.16)和(33.94 ± 5.87) U · mg prot⁻¹, MDA 水平分别为(2.26 ± 0.51)、(4.43 ± 0.72)、(3.17 ± 0.58)、(3.94 ± 0.69)和(2.62 ± 0.45) nmol · mg prot⁻¹, 对照组的上述指标与模型组比较, 模型组的上述指标与实验组比较, 实验组的上述指标与 miR-27a-3p inhibitor 组比较, miR-27a-3p inhibitor 组的上述指标与 si-TSLP 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 *P* < 0.01)。

6 苍耳亭通过 miR-27a-3p/TSLP 对各组大鼠血清中 IgE 和炎症因子水平的影响

模型组与对照组相比, IgE、IL-2、IL-13、TNF-α 水平均显著升高(均 *P* < 0.01); 实验组与模型组相比, IgE、IL-2、IL-13、TNF-α 水平均显著降低(均 *P* < 0.01); miR-27a-3p inhibitor 组与实验组相比, IgE、IL-2、IL-13、TNF-α 水平均显著升高(*P* < 0.05, *P* < 0.01); si-TSLP 组与 miR-27a-3p inhibitor 组相比, IgE、IL-2、IL-13、TNF-α 水平均显著降低(均 *P* < 0.01), 见表2。

讨 论

中医学将 AR 合并哮喘归为“哮证”“鼻鼽”等范畴, 治疗应以补肾开窍、化痰平喘为原则。苍耳子性温, 味苦、甘、辛, 具有散风寒、通鼻窍、祛风湿等功效, 临床上主治鼻塞流涕、鼻鼽、风疹瘙痒等^[13]。PENG 等^[14]研究发现, 苍耳亭提取物可以通过降低血清促炎因子水平来改善大鼠鼻黏膜病理状态, 并有效减少其打喷嚏及挠鼻数。本研究中大鼠肺组织病理改善情况与其相符, 表明苍耳亭能够有效缓解模型大鼠 AR 合并哮喘症状。AR 症状常表现为鼻塞、鼻痒、喷嚏、流清水样涕, 由腺体分泌物、杯状细胞及血浆外渗

液组成的鼻腔分泌物可以间接反映鼻腔腺体分泌情况^[15]。本实验中苍耳亭给药后的大鼠鼻腔灌洗液总蛋白浓度及组胺含量均降低, 说明苍耳亭可以在一定程度上抑制腺体分泌, 发挥对模型大鼠鼻黏膜组织病变的治疗作用。

研究表明, miR-27a-3p 可以减轻多种疾病的炎症反应, 如其可靶向信号转导分子来抑制人表皮角质形成细胞中炎症因子的表达^[16]。TSLP 可以直接诱导强烈的辅助型 T 细胞 2 (T helper 2 cell, Th2) 型免疫反应, 导致慢性变应性炎症反应持续或加重^[17]。本研究发现, OVA 所致 AR 合并哮喘大鼠的 miR-27a-3p 表达降低, TSLP 表达升高, 而激活 miR-27a-3p 表达、抑制 TSLP 表达能够减轻 AR 大鼠血清炎症因子的表达, 表明 miR-27a-3p 在 OVA 所致 AR 合并哮喘中发挥抑制作用, 而 TSLP 则发挥促进作用。进一步靶向验证发现, miR-27a-3p 可以靶向结合 TSLP, 过表达 miR-27a-3p 可以抑制 TSLP 的表达, 说明苍耳亭可能通过上调 miR-27a-3p 表达而靶向下调 TSLP 表达来控制 AR 合并哮喘的发展, 这与王霄彤等^[18]研究发现, 苍耳亭能通过抑制上皮细胞产生的 TSLP 及巨噬细胞产生的 TNF-α 而发挥对过敏性皮炎小鼠抗炎作用的结果类似。

在 AR 合并哮喘病理过程中, TSLP 诱导 Th2 淋巴细胞并激活炎症反应, 导致 IgE 合成及 IL-2、IL-13、TNF-α 等因子的释放, 机体耗氧量增加, 促使氧自由基大量生成, SOD 等抗氧化物消耗增加, 脂质过氧化产物 MDA 增加, 氧化应激损伤加重, 进而诱发炎症级联反应, 形成恶性循环^[19]。LI 等^[20]研究发现, 下调 miR-27a-3p 表达可以靶向转录因子叉头样转录因子 O1 抑制氧化应激, 清除氧自由基。本研究结果显示, 经 miR-27a-3p 抑制药及敲低 TSLP 质粒处理后的苍耳亭给药大鼠的 SOD 升高, MDA、IgE 及炎症因子均降低, 表明 miR-27a-3p/TSLP 具有维持氧自由

基生成与清除动态平衡及抗炎作用,这可能是苍耳亭治疗 AR 合并哮喘的药理作用机制。

本研究提示,苍耳亭可以通过改善 AR 合并哮喘大鼠的气道炎症状态、降低氧化应激发挥治疗作用,这可能与其激活 *miR-27a-3p/TSLP* 通路有关。

参考文献:

- [1] YUAN Z, FENG L, LUO Z. Advances and highlights in allergic rhinitis[J]. *Allergy*, 2021, 76(11): 3383—3389.
- [2] 李壮花, 梁建平. 中西医结合治疗过敏性鼻炎临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2024, 22(10): 137—138, 175.
- [3] 蔡鹏, 盛天露, 易永, 等. 中药苍耳草中苍耳亭的研究进展[J]. 江西化工, 2024, 40(2): 1—4.
- [4] 刘建国, 杨政, 刘月辉. 变应性鼻炎大鼠模型建造[J]. 江西医学院学报, 2008, 48(5): 33—34, 37.
- [5] 郑嵘灵, 邓泽润, 韩丹, 等. 骨髓间充质干细胞来源外泌体调节大鼠肝细胞凋亡的机制[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(1): 44—49.
- [6] 柯玲玲, 王敏, 高洁, 等. STAT1 对肺结核大鼠巨噬细胞凋亡及 MAPK/NF- κ B 信号通路的机制研究[J]. 解剖学研究, 2024, 46(2): 115—122.
- [7] KIELKOPF C L, BAUER W, URBATSCH I L. Bradford assay for determining protein concentration[J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2020, 2020(4): 102269.
- [8] 卡迪丽娅·木拉提, 艾力根·阿不都热依木, 张瑾. 异绿原酸 A 抑制变应性鼻炎大鼠炎症反应[J]. 解剖科学进展, 2022, 28(2): 234—238.
- [9] 吴晓玲. 柴朴汤含药血清对哮喘血清诱导小鼠气道上皮细胞表达 MAL, CADMI, TSLP 的影响[D]. 湖南长沙: 中医药大学, 2021.
- [10] 李丽, 许翀, 柴若楠. LY294002 对过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠氧自由基、TRPV1 神经元敏感性及 TSLP 表达的影响[J]. 西部医学, 2023, 35(9): 1276—1281.
- [11] 童珍珍, 高雅丽, 许娟娟, 等. *miR-660-3p* 靶向 NFAM1 对 RSV 诱导支气管上皮细胞凋亡及炎症因子分泌的影响[J]. 山东医药, 2024, 64(13): 30—35.
- [12] 熊建, 屈战利, 任瑜, 等. 灵仙新苷对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织氧化应激和炎症反应的调控及神经细胞凋亡的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(4): 551—556.
- [13] 盛天露, 张祖良, 陈冠宜, 等. 苍耳草与苍耳子的研究进展[J]. 广州中医药大学学报, 2021, 38(12): 2812—2816.
- [14] PENG W, HAN P, YU L, *et al.* Anti-allergic rhinitis effects of caffeoylquinic acids from the fruits of *Xanthium strumarium* in rodent animals via alleviating allergic and inflammatory reactions[J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2019, 29(1): 46—53.
- [15] HAN T Z, JIANG Q L, LI H M, *et al.* The olink proteomics profile in nasal secretion of patients with allergic rhinitis[J]. *Int Forum Allergy Rh*, 2023, 14(4): 862—865.
- [16] 郑树茂, 王华, 白帆, 等. 微小 RNA-27a-3p 对人表皮角质形成细胞损伤的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(19): 2676—2679.
- [17] 邓秀娟, 黄乐, 刘海燕, 等. 基于 TSLP-OX40L 通路探讨麻黄附子细辛汤合肾四味汤对变应性鼻炎大鼠的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(23): 3219—3224, 3320.
- [18] 王霄彤, 许一凡, 王思齐, 等. 苍耳亭缓解过敏性皮炎及机制探索[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(4): 415—420.
- [19] 王基云, 王丹, 陆钊罡, 等. 宁夏沙枣叶乙醇提取物对哮喘模型小鼠氧自由基代谢及气道炎症的实验研究[J]. 宁夏医学杂志, 2020, 42(11): 961—964, 960.
- [20] LI W, ZHU Q, XU X, *et al.* *MiR-27a-3p* suppresses cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting FOXO1[J]. *Aging*, 2021, 13(8): 11727—11737.

(收稿日期 2024-07-17; 本文编辑 吴焕贤)

· 科学文摘 ·

慢性适应性脑深部电刺激与常规刺激治疗帕金森病患者的临床研究

引自: OEHRN C R, *et al.* Chronic adaptive deep brain stimulation versus conventional stimulation in Parkinson's disease: A blinded randomized feasibility trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30(11): 3345—3356.

深部脑刺激(deep brain stimulation, DBS)是帕金森病(Parkinson's disease, PD)的一种广泛使用的治疗方法,但其缺乏对临床和神经状态变化的动态响应能力。反馈控制可能会提高治疗效果,但目前尚不清楚最佳控制策略以及“自适应”神经刺激的额外优势。该报道为一项盲法随机交叉试验的初步结果,该试验旨在确定帕金森病患者特定运动症状的神经相关性,以及用这些信号驱动自适应 DBS 的可行性。从因运动波动接受 DBS 植入的患者中招募了 4 例男性 PD 患者,每位患者接受自适应 DBS 和持续 DBS 的治疗。在所有 4 例患者的丘脑底核或运动皮质中,识别出与高、低多巴胺状态及其相关的残余运动症状相关的刺激诱发伽马振荡,作为优化标记。

该研究提示,自适应 DBS 与经过临床优化的标准刺激相比,改善了患者的运动症状和生活质量。

(吴焕贤 摘录)