

张田,喻国冻,顾平,等. 基于 SDF-1/CXCR4 信号通路探讨新安鼻渊方流浸膏对急性鼻窦炎大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(5): 121-127.

Zhang T, Yu GD, Gu P, et al. The effect of xinan nasoyuan fangliu extract on the apoptosis of olfactory neurons in rats with acute sinusitis based on SDF-1 /CXCR4 signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(5): 121-127.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021.05.020

基于 SDF-1/CXCR4 信号通路探讨新安鼻渊方流浸膏 对急性鼻窦炎大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡的 影响

张 田,喻国冻*,顾 平,叶惠平,金 莹

(贵州医科大学附属医院 耳鼻咽喉科,贵阳 550004)

【摘要】 目的 基于 SDF-1/CXCR4 信号通路探讨新安鼻渊方流浸膏对急性鼻窦炎大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡的影响。**方法** 40 只 SD 大鼠分为对照组,模型组,治疗组和抑制剂组,每组 10 只。除对照组外,其余各组大鼠采用金黄色葡萄球菌悬液注射法构建急性鼻窦炎模型,对照组予以无菌生理盐水代替。造模后第 7 天开始采用灌胃方式连续给药 1 周,每天 1 次,治疗组给药新安鼻渊方流浸膏按照大鼠体重计算(7 g/kg),抑制剂组给予 1 mg/kg CXCR4 特异性抑制剂 AMD3100,对照组以及模型组灌胃等量的生理盐水。观测大鼠鼻窦炎病理特征并进行评分以鉴定模型的建立,通过酶联免疫法检测各组大鼠嗅上皮组织的炎性因子 TNF- α 以及 IL-1 β 的表达情况,通过 TUNEL 法检测各组大鼠嗅上皮组织中细胞凋亡数量,免疫组化检测 SDF-1、CXCR4 的表达,采用 Western blot 检测各组大鼠嗅上皮神经元细胞中促凋亡蛋白 cleaved caspase 3、Bax 以及抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。**结果** 模型组大鼠鼻窦炎病理评分显著高于对照组($P<0.05$),治疗组相比与模型组显著降低($P<0.05$)。与对照组相比,模型组的炎性因子表达明显升高($P<0.05$),治疗组显著低于模型组($P<0.05$)。TUNEL 染色结果显示:与对照组相比,模型组大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡显著增加($P<0.05$),治疗组以及抑制剂组大鼠嗅上皮神经元细胞的凋亡显著低于模型组($P<0.05$)。与对照组相比,模型组抗凋亡蛋白 Bcl-2、SDF-1 以及 CXCR4 的表达明显降低($P<0.05$),促凋亡蛋白 cleaved caspase 3、Bax 显著增加($P<0.05$),治疗组相比于模型组抗凋亡蛋白 Bcl-2、SDF-1 以及 CXCR4 的表达明显增加($P<0.05$),促凋亡蛋白 cleaved caspase 3、Bax 显著降低($P<0.05$)。**结论** 新安鼻渊方流浸膏可改善急性鼻窦炎大鼠嗅上皮神经元细胞的凋亡,该作用机制可能与抑制 SDF-1/CXCR4 信号通路密切相关。

【关键词】 新安鼻渊方流浸膏;SDF-1/CXCR4 信号通路;急性鼻窦炎;细胞凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 05-0121-07

The effect of xinan nasoyuan fangliu extract on the apoptosis of olfactory neurons in rats with acute sinusitis based on SDF-1/CXCR4 signaling pathway

ZHANG Tian, YU Guodong*, GU Ping, YE Huiping, JIN Ying

(Department of Otolaryngology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

[作者简介] 张田(1982—),女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:耳鼻咽喉科。E-mail: mrk4uh@163.com

[通信作者] 喻国冻(1965—),男,本科,教授,研究方向:慢性鼻窦炎,鼻腔鼻窦肿瘤。E-mail: 17391256@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of xinan nasoyuan fangliu extract on the apoptosis of olfactory neurons in rats with acute sinusitis and the role of the SDF-1/CXCR4 signaling pathway. **Methods** Forty Sprague Dawley rats were divided into a control group, model group, treatment group and inhibitor group, with 10 rats in each group. The rats in all groups except the control group were treated with staphylococcus aureus suspension to establish the acute sinusitis model, and the control group received sterile saline. On the seventh day after the model was established, treatment administration was conducted by gavage every day for 1 week continuously. The treatment group was given xin'an nasoyuan fangliu extract according to body weight (7 g/kg), the inhibitor group received 1 mg/kg CXCR4 specific inhibitor AMD3100, and the control group and the model group were given the same amount of normal saline. Pathological features of sinusitis were observed and scored to confirm the establishment of the model. Enzyme-linked immunoassay was used to detect the expression of inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β in the olfactory epithelium tissue. TUNEL staining, to detect the number of apoptotic cells, and immunohistochemistry of SDF-1 and CXCR4 were performed in olfactory epithelial tissue of rats in each group. Western blot was used to assess the expression of pro-apoptotic proteins, such as cleaved caspase 3 and Bax, and anti-apoptotic protein Bcl-2 in neurons of the olfactory epithelium. **Results** The pathological score of sinusitis in the model group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), and that in the treatment group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$). The expression of inflammatory factors in the model group was significantly increased compared with that in the control group ($P < 0.05$), and that in the treatment group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$). TUNEL staining showed that olfactory epithelial neuron apoptosis increased in the model group compared with the control group ($P < 0.05$), and was significantly lower in the treatment group and inhibitor group than in the model group ($P < 0.05$). In the model group, Bcl-2, SDF-1 and CXCR4 expressions were significantly decreased ($P < 0.05$), whereas cleaved caspase 3 and Bax expressions were significantly increased ($P < 0.05$) compared with the control group. Bcl-2, SDF-1 and CXCR4 expressions in the treatment group were significantly increased compared with those in the model group ($P < 0.05$), whereas cleaved caspase 3 and Bax expressions were significantly decreased in the treatment group ($P < 0.05$). **Conclusions** Xinan nasoyuan fangliu extract improved apoptosis of rat superior olfactory neurons in acute sinusitis, and the effect may be mediated by inhibition of the SDF-1/CXCR4 signaling pathway.

【Keywords】 xinan biyuanfang extract; SDF-1/CXCR4 signaling pathway; acute sinusitis; cell apoptosis

急性鼻窦炎是一种鼻窦黏膜的炎症性疾病^[1],作为耳鼻喉科最常见的疾病之一,在全球范围内具有较高的发病率。在我国,急性鼻窦炎的发病率逐年增加,主要临床症状包括头痛,鼻塞、记忆力下降等^[2],其病情反复,难以治愈,严重影响患者的身心健康,是临床上亟需解决的健康问题。目前,关于鼻窦炎的治疗手段主要是采用鼻内镜外科手术及抗炎药物^[3-4],对于患者创伤性大,而且预后效果不佳,存在复发率高、耐药性以及其它不良反应等一系列问题。新安鼻渊方流浸膏由中草药败酱草、黄芪等药物组成,主要用于治疗急、慢性鼻窦炎,起效迅速,且经过长期使用证实其疗效确切^[5]。但是对于新安鼻渊方流浸膏改善急性鼻窦炎的机制研究还未见报道,因此本研究通过建立大鼠急性鼻窦炎模型来探讨新安鼻渊方流浸膏对大鼠急性鼻窦炎嗅上皮神经元细胞凋亡影响的相关机制,为进一步研究以及临床用药提供客观的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8~10 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠,体重(200 $\pm$ 20) g 40 只购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0011],依照我院最新的动物实验管理办法,实验动物均在本实验室 SPF 级动物房饲养[SYXK(黔)2018-0001],每笼 3~4 只动物,自由饮水、摄食,12 h 光照/12 h 黑暗,温度 20 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C,相对湿度 40%~70%。适应性喂养一周后入组,进行相应的操作。整个动物实验期间严格按实验动物 3R 原则给予实验动物人道主义关怀,本实验获本院伦理委员会批准(IACUC2018-027)。

1.2 主要试剂与仪器

新安鼻渊方流浸膏由我院中药制剂实验室制备;金黄色葡萄球菌由我院微生物室从患者标本中分离获得;AMD3100 购买于美国 Sigma 公司;TNF- α 、IL-1 β 酶联免疫试剂盒以及 AEC 显色试剂盒、PBS 购买于北京索莱宝科技有限公司;嗅标记蛋白

(olfactory marker protein, OMP)、TUNEL、SDF-1 以及 CXCR4 免疫组化试剂以及 cleaved caspase 3、Bax 以及 Bcl-2 一抗试剂盒购买于英国 Abcam 公司;切片机(Leica, 德国);倒置显微镜(OLYMPUS, 日本);高速离心机(Eppendorf, 德国);紫外分光光度计(Thermo, 美国);超低温冰箱(Siemens, 德国)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及建模

本研究中 40 只大鼠分为 4 组每组 10 只,包括对照组,模型组(急性鼻窦炎),治疗组(急性鼻窦炎+新安鼻渊方流浸膏),抑制剂组(急性鼻窦炎+CXCR4 特异性抑制剂 AMD3100)。除对照组外,其余各组大鼠均构建急性鼻窦炎模型,建模过程如下:麻醉大鼠,剃除鼻背部毛、沿鼻中线部位皮下注射利多卡因麻醉大鼠,切开皮肤,分离粘膜以暴露上颌窦前壁区,可见左侧上颌窦前壁,暴露上颌窦骨壁,采用 2 mm 钻头钻开上颌窦前壁,将无菌生物止血棉塞入窦腔,0.2 mL 金黄色葡萄球菌悬液注入窦腔,缝合伤口,对照组注射等量无菌生理盐水代替,其余操作与同上。造模后第 7 天开始采用灌胃方式连续给药 1 周,每天 1 次。其中治疗组给药新安鼻渊方流浸膏按照大鼠体重计算(7 g/kg),抑制剂组给予 1 mg/kg AMD3100,对照组以及模型组灌胃等量的生理盐水。模型的建立通过大鼠鼻窦炎症状评分进行检测^[5];于给药前、末次给药后 1 h 分别观察 30 min 内大鼠鼻窦炎症状,评分规则如表 1,鼻窦炎症状评分总计大于 7 分认为模型建立成功。

1.3.2 鼻粘膜组织炎性细胞因子检测

将各组大鼠处死后,分离鼻粘膜并用生理盐水洗涤,收集鼻腔流出液体,离心取上清,采用酶联免疫吸附试剂盒对各组大鼠鼻腔灌洗液中炎性因子 TNF- α 以及 IL-1 β 的浓度进行测定。使用多功能酶

标仪检测 450 nm 处吸光度,用标准细胞因子以及对应浓度作标准曲线,根据标准曲线计算各组样本中 TNF- α 以及 IL-1 β 的浓度。

1.3.3 免疫荧光观察 OMP 蛋白的表达

处死动物后,用手术刀划取左侧窦口 1 mm $\times$ 1 mm 大小鼻顶部黏膜,4% 甲醛溶液固定,常规石蜡切片。切片经 PBS 漂洗后加入蛋白酶 K-盐酸缓冲液恒温孵育 20 min,再经 PBS 漂洗后加入山羊血清封闭 30 min;滴加稀释好的(1:500)山羊抗鼠 OMP,4 $^{\circ}$ C 过夜;再加稀释好的(1:500)兔抗山羊荧光二抗,PBS 漂洗后甘油封片,置于荧光显微镜下观察并拍照记录。

1.3.4 HE 以及免疫组化检测

将上述制备好的各组大鼠的石蜡切片采用二甲苯脱蜡,乙醇脱水,过氧化物酶灭活,血清封闭后分别加入 SDF-1 以及 CXCR4 的一抗,4 $^{\circ}$ C 条件下过夜孵育;加入二抗,孵育 30 min 后加入链霉素卵白素工作液并在 37 $^{\circ}$ C 条件下孵育 30 min;使用 DAB 显色,显微镜下观察染色情况。阳性细胞表示为细胞质呈棕黄色或棕褐色,并采用 Image J 软件对于各组光密度值进行统计。

1.3.5 TUNEL 染色检测各组大鼠嗅上皮神经元细胞的凋亡

取各组大鼠嗅上皮组织,常规方法固定,石蜡包埋切片,二甲苯浸洗两次,梯度乙醇浸洗 5 min,风干后 3% 双氧水-甲醇浸泡 10 min,PBS 漂洗 3 次,每次 3 min,然后 4 $^{\circ}$ C 预冷乙醇上进行如下操作:0.1%TRitonX-100、0.1%缓冲液处理 2 min,PBS 漂洗 3 次,每次 3 min,加入 TUNEL 反应混合液,封口膜密封,暗湿盒反应 1 h,温度 37 $^{\circ}$ C,PBS 漂洗,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,显微镜进行观察,采用 Image J 软件对各组光密度值进行分析。

表 1 急性鼻窦炎症状评分标准

Table 1 Score criteria for acute sinusitis symptoms

症状 Symptoms	评分标准 Scoring criteria		
	轻度(1分) Mild (1 point)	中度(2分) Medium (2 points)	重度(3分) Heavy (3 points)
轻擦鼻 Dab the nasal	30 min 内 1~4 次 1~4 times within 30 minutes	30 min 内 5~9 次 5~9 times within 30 minutes	30 min 内 >10 次 > 10 times within 30 minutes
喷嚏 Sneezing	30 min 内 1~4 个 1~4 within 30 minutes	30 min 内 5~9 个 5~9 within 30 minutes	30 min 内 >10 个 10 > within 30 minutes
鼻腔分泌物 Nasal discharge	少量流涕 A little runny nose	流涕到鼻孔 Runny nose to nostrils	鼻腔周围附着分泌物 Secretions attached around the nasal cavity
鼻腔炎症 Inflammation of the nasal cavity	鼻腔充血 Nasal congestion	鼻腔红肿 Nasal inflamed	鼻腔红肿出血 Nasal inflamed and bleeding

1.3.6 Western blot 检测

将各组大鼠嗅上皮组织样本加入 300 μ L RIPA 裂解液,裂解 10 min 后离心 5 min (15000 r/min),收集上清。每组上样 20 μ g 蛋白样本。将蛋白样品和上样缓冲液混合均匀,100 $^{\circ}$ C 水浴变性 3 min,采用 10% SDS-PAGE 分离胶电泳,转膜,室温封闭 2 h,加入稀释后的 cleaved caspase 3 一抗(1:1000)、Bax 一抗(1:500)、Bcl-2 一抗(1:500)、 β -actin 一抗(1:2500),摇床 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。复温后用 PBST 洗涤 PVDF 膜三次后加入 HRP 标记的山羊抗鼠 IgG,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h 之后 ECL 显影拍照,保存图像,Image J 软件分析条带的灰度值,以 β -actin 作为内参计算各蛋白的相对表达。

1.4 统计学方法

采用软件 SPSS 21.0、GraphPad Prism 5 对实验数据进行统计学分析,数据表示为平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$),两组数据间比较采用独立 t 检验, $P<0.05$ 表示具有统计学差异。

2 结果

2.1 大鼠鼻窦炎症状评分

给药前模型组与各给药组评分相比,评分无统计学差异($P>0.05$),模型组和各治疗组评分结果显著高于对照组($P<0.05$)。给药后模型组评分显著高于对照组,各治疗组评分显著低于模型组($P<0.05$),治疗组与抑制剂组在评分上相比无统计学差异($P>0.05$)见表 2。

2.2 OMP 荧光标记结果

成熟的嗅上皮神经细胞 OMP 荧光染色后红色荧光表示阳性,本实验中标本切片为 OMP 阳性细胞,说明实验取材位置为嗅觉黏膜,可用于后续的实验研究,见图 1。

2.3 大鼠嗅上皮组织 HE 染色以及炎症因子检测

与对照组比较,模型组大鼠嗅上皮组织损伤严重,且 TNF- α 以及 IL-1 β 显著增加($P<0.05$);治疗组与模型组相比嗅上皮组织损伤减轻,TNF- α 以及 IL-1 β 表达明显降低($P<0.05$);治疗组与抑制剂组相比,炎症因子 TNF- α 以及 IL-1 β 表达无显著差异($P>0.05$),见图 2。

2.4 大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡

与对照组比较,模型组大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡显著增多($P<0.05$);与模型组相比,治疗组与抑制剂组大鼠嗅上皮神经元细胞凋亡减少($P<$

0.05),治疗组与抑制剂组相比无明显差异($P>0.05$)见图 3。

2.5 大鼠嗅上皮组织 SDF-1、CXCR4 的蛋白表达

相比于对照组,模型组大鼠嗅上皮组织 SDF-1、CXCR4 的蛋白表达显著升高($P<0.05$);治疗组与抑制剂组大鼠与模型组相比嗅上皮组织 SDF-1、CXCR4 的蛋白表达明显降低($P<0.05$);治疗组与抑制剂组相比无明显差异($P>0.05$),见图 4。

2.6 大鼠嗅上皮组织 caspase-3、Bax 以及 Bcl-2 的表达

相比于对照组,模型组大鼠嗅上皮组织重促凋亡蛋白 cleaved caspase 3、Bax 的表达显著升高($P<0.05$),抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平明显降低($P<0.05$);治疗组与抑制剂组大鼠与模型组相比嗅上皮组织促凋亡蛋白 cleaved caspase 3、Bax 的表达明显降低($P<0.05$)抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达显著增加($P<0.05$);治疗组与抑制剂组相比无明显差异($P>0.05$),见图 5。

3 讨论

急性鼻窦炎是发生于鼻窦粘膜的一种炎症性疾病,主要病理特征为各种窦口狭窄或阻塞,以及黏膜纤毛功能发生障碍。作为耳鼻咽喉科的常见病和多发病,其主要的临床表现为嗅觉功能障碍,同时会伴有鼻塞、鼻痒、流涕、打喷嚏、头痛、头昏等症状^[6]。其病因复杂,发病机制尚不明确,牵涉因素众多,可能与细菌感染、过敏反应、环境因素等多种因素有关^[7-9]。在急性期若没有得到及时治疗则会转变为慢性鼻窦炎,严重影响患者正常生活。

近年来,中药应用于鼻炎的研究受到众多研究者的重视^[10-11]。新安鼻渊方流浸膏主要包含中药败酱草、黄芪、鱼腥草、辛夷等^[12-13]。该方具有清热解毒、祛瘀排脓、止痛通窍的功效。败酱草具清热解毒、排脓消痈、止痛之功,被广泛用于治疗肺经蕴热、胆经(腑)郁热所导致的鼻渊症状^[14]。黄芪能排脓通窍,补益正气,敛疮生肌,现代药理学证实其可增强机体免疫^[15]。相关研究^[5]表明新安鼻渊方流浸膏对于急性鼻窦炎有很好的治疗效果。常见的急性鼻窦炎致病菌有金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌等^[16],因此本研究中,采用金黄色葡萄球菌构建急性鼻窦炎大鼠模型。结果表明模型组大鼠鼻窦炎症状评分以及嗅上皮神经元细胞凋亡比例显著多于对照组,证明模型建立成功。新安鼻渊方流浸

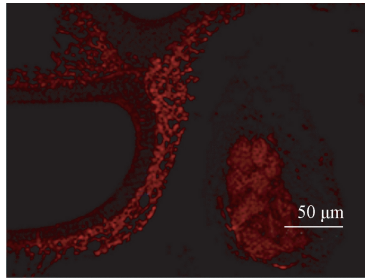


图 1 OMP 免疫荧光结果

Figure 1 Results of OMP immunofluorescence

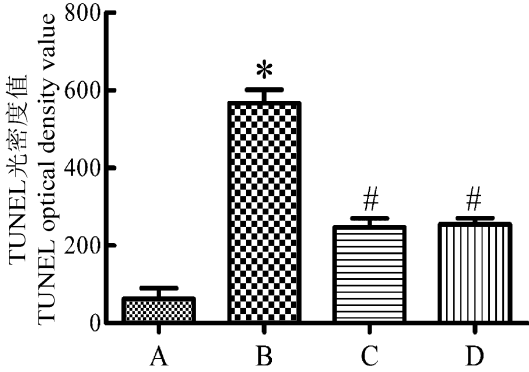


图 3 各组大鼠嗅上神经元细胞凋亡

Figure 3 Apoptosis of upper olfactory neurons in each group

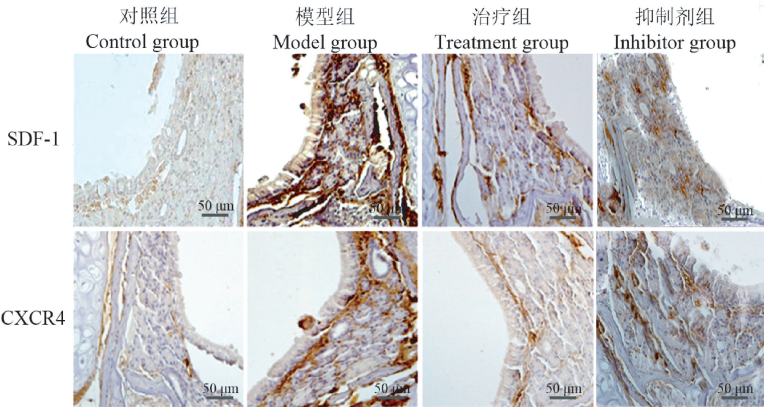
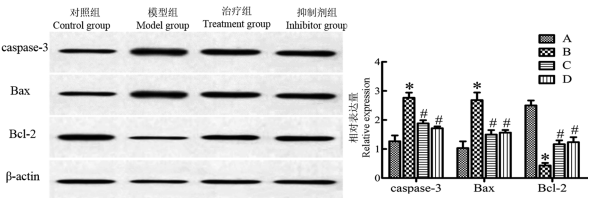
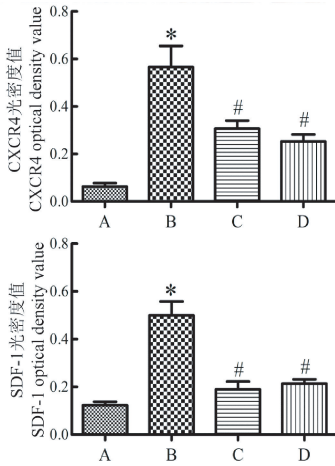


图 4 免疫组化检测各组大鼠 SDF-1、CXCR4 的表达

Figure 4 Expression of SDF-1 and CXCR4 in each group was detected by immunohistochemistry

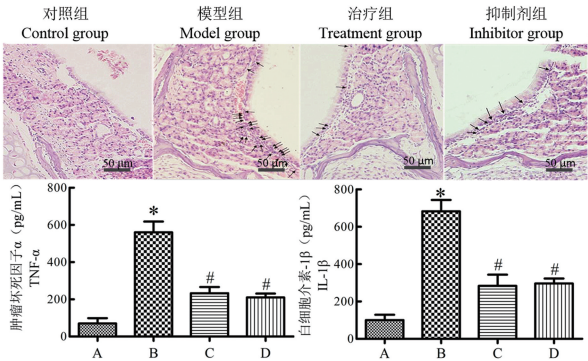


注:A:对照组;B:模型组;C:治疗组;D:抑制剂组。与对照组相比, * $P < 0.05$;与模型组相比, # $P < 0.01$ 。

图 5 caspase-3、Bax 以及 Bcl-2 蛋白表达水平

Note. A, Control group. B, Model group. C, Treatment group. D, Inhibitor group. Compared with control group, * $P < 0.05$. Compared with the model group, # $P < 0.01$.

Figure 5 Expression levels of cleaved caspase 3, Bax and Bcl-2



注:A:对照组;B:模型组;C:治疗组;D:抑制剂组。与对照组相比, * $P < 0.05$;与模型组相比, # $P < 0.05$ 。下同。箭头表示嗜酸性粒细胞浸润。

图 2 HE 染色观察各组大鼠鼻黏膜病理变化
Note. A, Control group. B, Model group. C, Treatment group. D, Inhibitor group. Compared with the control group, * $P < 0.05$. Compared with the model group, # $P < 0.05$. The same as below. Arrow indicates eosinophilic infiltration.

Figure 2 Pathological changes of nasal mucosa of rats in each group were observed by HE staining

表 2 给药前后大鼠鼻窦炎评分表 ($n = 10$)
Table 2 Scores of sinusitis of rats before and after administration

组别 Groups	鼻窦炎症状评分 Sinusitis symptom score	
	给药前 Before dosing	给药 7 d 后 7 days after administration
对照组 Control group	1.53±0.62	1.62±0.45
模型组 Model group	7.88±0.49 ^{##}	8.03±0.42 ^{##}
治疗组 Treatment group	8.05±0.56	2.69±0.53 ^{**}
抑制剂组 Inhibitor group	8.21±0.48	2.35±0.28 ^{**}

注:与模型组比, ** $P < 0.01$;与对照组比, ## $P < 0.01$ 。
Note. Compare with the model group, ** $P < 0.01$. Compare with the normal group, ## $P < 0.01$.

膏组大鼠的嗅上皮神经细胞凋亡以及凋亡相关蛋白的表达明显低于模型组,表明新安鼻渊方流浸膏对于大鼠急性鼻窦炎具有明显的改善作用。但是,对于新安鼻渊方流浸膏治疗急性鼻窦炎的相关机制目前仍不清楚。因此,本研究构建大鼠急性鼻窦炎模型来探究新安鼻渊方流浸膏对于鼻窦炎的调节作用以及其相关机制。

近年来,趋化因子受体 CXCR4 以及 SDF-1/CXCR4 相互作用形成的信号通路由于参与多种疾病的发生以及发展而备受关注^[17]。其中 SDF-1 作为一种趋化因子,由炎症反应因子如 TNF- α 、IL-1 β 所诱导,由于其对炎症反应细胞具有强大的趋化能力,因此常被作为炎症反应的特异性指标。此外, CXCR4 是一个 G 蛋白偶联受体,作为 SDF-1 唯一的受体, CXCR4 多表达于免疫细胞之中,对细胞生长发育至关重要。目前,研究证明 SDF-1/CXCR4 信号通路对细胞凋亡具有明显的调节作用^[18-19]。此外,相关研究^[20-21]表明 SDF-1/CXCR4 在鼻炎鼻粘膜中呈现高表达现象,提示该通路参与鼻炎鼻粘膜病变的发生和发展。B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 是一种抗凋亡蛋白,以线粒体为单位参与细胞凋亡的调控,其同源二聚体 X 蛋白 (Bax) 是一种促凋亡蛋白, Bcl-2 和 Bax 是在凋亡调控过程中功能对立的一对重要的调控基因, cleaved caspase 3 作为凋亡过程中最关键的凋亡执行蛋白酶诱发细胞凋亡^[22-23]。众多研究^[24-25]证实: SDF-1/CXCR4 通路的激活导致 Bax、cleaved caspase 3 等促凋亡蛋白表达升高,抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低最终诱发细胞凋亡。本研究中,相比于模型组,治疗组大鼠 SDF-1 以及 CXCR4 的表达显著降低,同时促凋亡蛋白表达明显降低,抗凋亡相关蛋白的表达显著增高,而给予 CXCR4 特异性抑制剂 AMD3100 处理后,大鼠病理变化与治疗组相似。以上结果提示,新安鼻渊方流浸膏对于急性鼻窦炎大鼠嗅上皮神经细胞凋亡的改善作用可能是通过抑制 SDF-1/CXCR4 信号通路实现的。

综上所述,本研究通过建立大鼠急性鼻窦炎模型验证了新安鼻渊方流浸膏可能通过抑制 SDF-1/CXCR4 的表达,从而抑制嗅上皮神经细胞的凋亡,最终改善急性鼻窦炎症状。然而急性鼻窦炎的发生发展涉及因素众多,机制复杂,因此新安鼻渊方流浸膏改善急性鼻窦炎嗅上皮神经细胞凋亡的具体机制有待深入研究。

参考文献:

[1] 汪娟. 中西药合用治疗急性鼻窦炎临床观察 [J]. 实用中医

药杂志, 2019, 35(6): 714-715.

- [2] 彭湘粤. 儿童鼻窦炎 为啥会头痛 [J]. 中南药学(用药与健康), 2018, (4): 53.
- [3] 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.
- [4] Ltd BPG. NICE: reduce antibiotic prescribing for acute sinusitis [J]. Drug Ther Bull, 2018, 56(1): 2-3.
- [5] 刘西舟, 陈光亮, 郑日新, 等. 新安鼻渊方流浸膏对大鼠急性鼻窦炎的防治作用 [J]. 安徽中医药大学学报, 2012, 31(2): 48-52.
- [6] 陈敬华, 武琦琦, 江凤仙. 嗅觉训练对慢性鼻窦炎患者嗅觉障碍的治疗效果 [J]. 吉林医药学院学报, 2019, 40(2): 110-111.
- [7] 徐松波, 尤国军, 吴目武, 等. 鼻腔鼻窦解剖结构异常对慢性鼻-鼻窦炎发病影响的临床研究 [J]. 中华解剖与临床杂志, 2019, 24(4): 386-389.
- [8] 胡守亮, 李辉, 朱天民, 等. 慢性鼻-鼻窦炎的病因及发病机制研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2019, 35(11): 1846-1849.
- [9] Aldana G, Jimenez C A, Moran C. Unusual cause of sinusitis and cough [J]. BMJ Case Re, 2018, 2018: bcr2018225829.
- [10] 朱宁, 姚晓燕, 王志平. 川芎茶调散合苍耳子散联合西医常规疗法治疗急性鼻窦炎临床研究 [J]. 国际中医中药杂志, 2018, 40(8): 719-721.
- [11] 杨春玲, 芦金男, 张海芳. 清热化浊通窍汤辅助治疗小儿急性鼻窦炎 41 例临床观察 [J]. 中医儿科杂志, 2018, 14(2): 49-51.
- [12] 李莉, 陈光亮, 刘西舟. 新安鼻渊方对兔急性鼻窦炎的防治作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(4): 270-274.
- [13] 屠彦红, 宋若会, 高士秀. 新安鼻渊方治疗鼻窦炎 87 例 [J]. 安徽中医药大学学报, 2014, 33(3): 35-37.
- [14] 张一芳. 败酱草研究进展 [J]. 中药材, 2009, 32(1): 148-152.
- [15] 汪娟. 黄芩的药理作用研究进展 [J]. 医疗装备, 2018, 31(14): 202-203.
- [16] 丁芳. 256 例慢性鼻窦炎患者的临床实验室数据诊断与分析 [J]. 中国高等医学教育, 2017, 10: 132, 139.
- [17] Broussas M, Boute N, Akla B, et al. A new anti-CXCR4 antibody that blocks the CXCR4/SDF-1 axis and mobilizes effector cells [J]. Mol Cancer Ther, 2018, 15(8): 1890.
- [18] Mannavola F, Tucci M, Felici C, et al. Tumor-derived exosomes promote the in vitro osteotropism of melanoma cells by activating the SDF-1/CXCR4/CXCR7 axis [J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 230.
- [19] Liu Z, Ma C, Shen J, et al. SDF1/CXCR4 axis induces apoptosis of human degenerative nucleus pulposus cells via the NF- κ B pathway [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 783-789.
- [20] 黄少强. SDF-1/CXCR4 轴在实验性变应性鼻炎鼻粘膜中的表达和意义 [D]. 福州: 福建医科大学, 2009.
- [21] Neri M, Sansone L, Pietrasanta L, et al. Gene and protein expression of CXCR4 in adult and elderly patients with chronic

- rhinitis, pharyngitis or sinusitis undergoing thermal water nasal inhalations [J]. *Immun Ageing*, 2018, 15(1): 10.
- [22] 董雅洁, 高维娟. bcl-2, bax, caspase-3 在细胞凋亡中的作用及其关系 [J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(21): 4828-4830.
- [23] 张丽丽, 李雁. 加味温胆方对心肌缺血(痰浊血瘀证)大鼠细胞凋亡及 Bcl-2, Bax, Survivin, Caspase-3 表达的影响 [J]. *中国中医急症*, 2018, 27(12): 2140-2144, 2155.
- [24] 邹照银, 郑府, 徐先顺, 等. 黄芪甲苷通过 SDF-1/CXCR4 信号通路诱导人肾腺癌细胞的凋亡 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24(6): 665-669.
- [25] 杨艳华, 周翔禹. 白藜芦醇通过 SDF-1/CXCR4 信号通路诱导大肠癌细胞株 SW480 凋亡 [J]. *临床消化病杂志*, 2019, 31(4): 227-231.

[收稿日期]2020-06-29

(上接第 107 页)

- [13] 李雪, 张萍. 糖尿病视网膜病变的临床治疗新进展 [J]. *国际眼科杂志*, 2019, 19(1): 69-72.
- [14] 赵丹. 木丹颗粒联合胰激肽原酶治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察 [J]. *辽宁中医杂志*, 2019, 46(2): 343-345.
- [15] Chen GT, Yang BB, Chen JH, et al. Pancreatic kininogenase improves erectile function in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats with erectile dysfunction [J]. *Asian J Androl*, 2018, 20(5): 448-453.
- [16] Cheng Y, Yu X, Zhang J, et al. Pancreatic kallikrein protects against diabetic retinopathy in KK Cg-A(y)/J and high-fat diet/streptozotocin-induced mouse models of type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2019, 62(6): 1074-1086.
- [17] 任春久, 张瑶, 崔为正, 等. 氧化应激在 2 型糖尿病发病机制中的作用研究进展 [J]. *生理学报*, 2013, 65(6): 664-673.
- [18] 司俊康, 郭俊国, 王兴荣. 氧化应激诱导视网膜神经节细胞凋亡的研究进展 [J]. *国际眼科杂志*, 2013, 13(12): 2424-2426.
- [19] 郑林燕, 陈书程, 王爱芳. 2 型糖尿病合并视网膜病变患者血浆 MDA、SOD 和 HbA1c 水平及意义 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(6): 76-79, 17.
- [20] Zheng X, Narayanan S, Sunkari VG, et al. Triggering of a Dll4-Notch1 loop impairs wound healing in diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(14): 6985-6994.
- [21] 李丽, 顾文燕. Notch1/Hes1 通路活化通过抑制氧化应激改善高糖诱导的心肌细胞肥大 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(3): 216-220.
- [22] Dou GR, Wang L, Wang YS, et al. Notch signaling in ocular vasculature development and diseases [J]. *Mol Med*, 2012, 18(1): 47-55.
- [23] Li L, Chen LP, Liu QH. Effect of the Notch signaling pathway on retinal ganglion cells and its neuroprotection in rats with acute ocular hypertension [J]. *Int J Ophthalmol*, 2018, 11(2): 208-215.
- [24] 刘文强, 刘学政, 左中夫. RU486 通过 Notch1/Hes-1 信号通路对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞的保护作用及机制研究 [J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(6): 656-658, 671.

[收稿日期]2020-08-08