

# 槲皮素通过TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路对过敏性鼻炎大鼠炎症反应的影响<sup>Δ</sup>

雷西熙\*, 邓可斌, 姜 锐<sup>#</sup>(湖北省中医院耳鼻喉科, 武汉 430006)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)07-0832-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.07.11



**摘要** 目的 基于Toll样受体4/白细胞介素1(IL-1)受体相关激酶/核因子 $\kappa$ B(TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B)信号通路,探讨槲皮素对过敏性鼻炎(AR)大鼠炎症反应的影响及机制。方法 采用卵白蛋白致敏法构建AR大鼠模型。将48只造模成功的大鼠随机分为AR组,槲皮素低、高剂量组(灌胃17.5、35 mg/kg),槲皮素高剂量+TLR4激活剂(脂多糖)组(灌胃35 mg/kg槲皮素+尾静脉注射0.4 mg/kg脂多糖),每组12只;另取12只正常健康大鼠作为对照组,每天给药1次,连续21 d。末次给药后,对各组大鼠鼻炎症状进行评分,检测血清中免疫球蛋白E(IgE)、组胺(HIS)及炎症因子水平,检测全血中调节性T细胞(Treg)、辅助性T细胞17(Th17)比例并计算Th17/Treg比值,观察大鼠鼻黏膜组织病理情况,并检测大鼠鼻黏膜组织中TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路相关蛋白表达。结果 与Control组比较,AR组大鼠鼻黏膜组织损伤严重,上皮细胞出现部分脱落、杯状细胞增生及炎症细胞浸润等情况;鼻炎症状评分,IgE、HIS、IL-17水平,Th17比例,Th17/Treg比值、p-IRAK4/IRAK4、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65比值,TLR4蛋白相对表达量均显著升高( $P<0.05$ );IL-10水平及Treg比例均显著降低( $P<0.05$ )。与AR组比较,槲皮素低、高剂量组大鼠鼻黏膜组织病理情况以及上述指标均明显改善( $P<0.05$ );而加入脂多糖后,可逆转高剂量槲皮素对鼻黏膜组织病理损伤及上述指标的改善作用( $P<0.05$ )。结论 槲皮素可通过抑制TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路活性来抑制AR大鼠炎症反应。

**关键词** 槲皮素;TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路;过敏性鼻炎;炎症反应;作用机制

## Effects of quercetin on inflammatory response in allergic rhinitis rats through TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B signaling pathway

LEI Xixi, DENG Kebin, JIANG Rui(Dept. of Otolaryngology, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430006, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the effects and mechanism of quercetin (QUE) on inflammatory response in allergic rhinitis (AR) model rats based on Toll-like receptor 4/interleukin 1 (IL-1) receptor-associated kinase/nuclear factor  $\kappa$ B (TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B) signaling pathway. **METHODS** AR model rats were constructed by ovalbumin sensitization method. A total of 48 successfully constructed rats were randomly divided into AR group, QUE-L and QUE-H groups (i.g administration, 17.5, 35 mg/kg) and QUE-H+TLR4 activator lipopolysaccharide (LPS) group (i.g administration of 35 mg/kg QUE+intravenous administration of 0.4 mg/kg LPS via tail vein), with 12 rats in each group. Another 12 normal healthy rats were selected as control group, once a day, for 21 consecutive days. After the last medication, rhinitis symptoms of rats in each group were scored. The serum levels of immunoglobulin E (IgE), histamine (HIS), and inflammatory factors were all detected. The proportions of regulatory T cells (Treg) and helper T cells 17 (Th17) cells in blood were detected, the Th17/Treg ratio was calculated, and the pathological condition of nasal mucosal tissue was observed. The expressions of TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B pathway related protein in nasal mucosal tissue were determined. **RESULTS** Compared with control group, nasal mucosal tissue damage in the AR group was more severe, with partial shedding of epithelial cells, the proliferation of goblet cells, and obvious inflammatory cell infiltration. The rhinitis symptom score, the levels of IgE, HIS and IL-17, Th17 proportion, Th17/Treg ratio, p-IRAK4/IRAK4 and p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 ratios as well as relative expression of TLR4 protein were increased significantly ( $P<0.05$ ), while IL-10 level and Treg proportion were decreased significantly ( $P<0.05$ ). Compared with AR group, the pathological injuries of nasal mucosa and the above indexes in QUE-L and QUE-H groups were all improved significantly ( $P<0.05$ ). LPS treatment could reverse the improvement effects of high-dose QUE on histopathological damage to nasal mucosa tissue and the aforementioned indicators ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** QUE can inhibit the inflammatory response in AR rats by inhibiting TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B signaling pathway.

<sup>Δ</sup> 基金项目 湖北省卫生健康委员会中医药科研项目(No. ZY2021Z001)

\* 第一作者 主治医师, 硕士。研究方向: 中西医结合治疗耳鼻喉疾病。E-mail: kvbs2f@163.com

<sup>#</sup> 通信作者 副主任医师。研究方向: 耳鼻咽喉疾病。E-mail: y60iov3@163.com

**KEYWORDS** quercetin; TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B signaling pathway; allergic rhinitis; inflammatory response; action of mechanism

过敏性鼻炎(allergic rhinitis, AR)属于耳鼻喉科常见的免疫慢性炎症疾病,临床症状主要表现为鼻腔瘙痒、鼻塞、打喷嚏、流涕等,常伴随鼻窦炎、鼻息肉、中耳炎、哮喘等疾病发生,严重影响患者正常生活,加之其发病率高且反复难愈,已成为世界公共的卫生难题<sup>[1]</sup>。目前,AR患者主要通过服用鼻内抗胆碱能药、抗组胺(histamine, HIS)药、糖皮质激素等进行治疗,虽然服药后病情可得到缓解,但长期服用副作用显著<sup>[2]</sup>。因此,寻求安全的、疗效显著的新型治疗AR的药物至关重要。

槲皮素作为一种黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调节免疫、抗过敏等多种药理作用,在治疗变应性疾病方面具有重要作用<sup>[3]</sup>。研究显示,槲皮素可通过平衡辅助性T细胞1(helper T cells 1, Th1)/Th2、Th17/调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)比例,降低血清中免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)、HIS及炎症因子水平,从而减轻AR症状<sup>[4]</sup>。Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/白细胞介素1(interleukin 1, IL-1)受体相关激酶(IL-1 receptor-associated kinase, IRAK4)/核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路作为经典免疫炎症相关通路,参与了AR的发生发展,抑制TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路的激活可减少炎症因子的释放,抑制过敏性炎症反应,从而减轻AR症状<sup>[5]</sup>。但槲皮素能否通过调控TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路来减轻AR大鼠的炎症反应尚不清楚。鉴于此,本研究从TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B信号通路出发,初步探讨槲皮素对AR大鼠炎症反应的影响及作用机制,以期对AR治疗提供新思路。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究用的主要仪器有:SuPerMax 3000FL型多功能酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司)、BX51型显微镜(日本Olympus公司)、ChemIDoc XRS<sup>+</sup>型凝胶成像分析系统(美国Thermo Fisher Scientific公司)、BD FAC-SCalibur型流式细胞仪(美国BD公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

本研究用的主要药品与试剂有:槲皮素对照品(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号Q463731,纯度 $\geq 95\%$ ),TLR4激活剂脂多糖(lipopolysaccharide, LPS;北京索莱宝科技有限公司,批号L8880,纯度 $\geq 99\%$ ),卵白蛋白(ovalbumin, OVA;四川省维克奇生物科技有限公司),IgE、HIS酶联免疫吸附试验测定(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为E-EL-R0517、E-EL-0032),白细胞介素17(interleukin-17, IL-17)、IL-10 ELISA试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司,批号分别为SBJ-R0601、SBJ-R0095),TLR4抗体(南京莱富赛生物科技有限公司,批号35463),磷酸化IRAK4(p-IRAK4)、IRAK4抗体(深圳市豪地华拓生

物科技有限公司,批号分别为PL0303692、PL0402581),磷酸化NF- $\kappa$ B p65(p-NF- $\kappa$ B p65)、NF- $\kappa$ B p65抗体(沈阳万类生物科技有限公司,批号分别为WL02169、WL01980),辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(北京达科为生物技术有限公司,批号8018021),CD3、CD4抗体(上海信裕生物科技有限公司,批号分别为bs-10498R、XY-02121),CD25、Foxp3、IL-17抗体[爱必信(上海)生物科技有限公司,批号分别为abs149147、abs118887、abs121447], $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(南京赛戈巍生物科技有限公司,批号48139)。

### 1.3 动物

本研究所用动物为健康SPF级SD成年雄性大鼠,共62只,体重(200 $\pm$ 20)g,7~8周龄,购自湖北贝恩特生物科技有限公司[动物生产许可证号:SCXK(鄂)2021-0027]。将大鼠饲养在温度(25 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、湿度55%~65%、光照12h/黑暗12h的环境中,并给予充足食物与水。本研究已通过贝恩特生物中心动物伦理委员会审核批准(审批号:BNT-2023-0092)。

## 2 方法

### 2.1 AR大鼠模型构建

所有大鼠先适应性喂养1周,然后将62只大鼠随机分为对照组(Control组,  $n=12$ )和造模组( $n=50$ )。造模组大鼠腹腔注射1 mL OVA混悬液[0.3 mg OVA、15 mg Al(OH)<sub>3</sub>、1 mL 0.9% NaCl溶液]致敏,隔日注射1次,连续7次;实验第15天在造模大鼠双侧鼻腔中分别滴入0.05 mL OVA混悬液继续致敏,每天1次,连续7 d<sup>[6]</sup>。对照组大鼠同步腹腔注射、滴鼻等体积生理盐水。末次滴鼻后,观察大鼠30 min内的挠鼻次数、喷嚏个数、流涕程度并进行评分,总分 $\geq 5$ 分表示造模成功<sup>[7]</sup>。最终共有48只大鼠造模成功。

### 2.2 分组与给药

将48只造模成功的大鼠随机分为AR组,槲皮素低、高剂量组(QUE-L、QUE-H组)和槲皮素高剂量+TLR4激活剂组(QUE-H+LPS组),每组12只。QUE-L组、QUE-H组大鼠分别灌胃17.5、35 mg/kg槲皮素并尾静脉注射10 mL/kg生理盐水<sup>[4]</sup>,QUE-H+LPS组大鼠灌胃35 mg/kg槲皮素并尾静脉注射0.4 mg/kg LPS<sup>[8]</sup>,Control组和AR组大鼠灌胃10 mL/kg生理盐水并尾静脉注射10 mL/kg生理盐水;每天给药1次,连续21 d。

### 2.3 鼻炎症状评分

末次给药后30 min内,观察大鼠挠鼻、流涕、打喷嚏症状,并进行评分。具体评分标准如下<sup>[7]</sup>:挠鼻——1分,轻擦鼻几次;2分,抓挠鼻频繁;3分,挠鼻、挠面不止,到处摩擦。流涕——1分,流到鼻前孔;2分,过鼻前孔;3分,流涕满面,挂满须毛。打喷嚏——1分,1~3个;2分,4~10个;3分,11个及以上。

## 2.4 血清中 IgE、HIS 及炎症因子水平检测

鼻炎症状评分结束后,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠后取腹主动脉血,取部分血样离心收集上清液,然后按照 ELISA 试剂盒说明书方法检测血清中 IgE、HIS、IL-17、IL-10 水平。

## 2.5 全血中免疫细胞比例检测

取“2.4”项下剩余腹主动脉血,并分离全血中的淋巴细胞,加入佛波酯、离子霉素、莫能菌素刺激,然后分别加入 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>及 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>抗体(稀释比例均为 1:1 000),采用流式细胞仪检测全血中 Treg、Th17 比例,并计算 Th17/Treg 比值。

## 2.6 鼻黏膜组织病理观察

取血结束后,处死各组大鼠并取鼻黏膜组织。各组任选 6 只大鼠的鼻黏膜组织,用 4% 多聚甲醛固定,常规制备石蜡切片,脱蜡至水后进行常规 HE 染色,显微镜下观察切片并进行病理学评分。评分标准<sup>[9]</sup>:0 分——上皮正常,纤毛完整,少量杯状细胞;1 分——杯状细胞增多,可见少量炎症细胞;2 分——纤毛倒伏不整齐、偶见脱落,杯状细胞密布,炎症细胞增多;3 分——上皮层破坏、结构紊乱,纤毛大量脱落,杯状细胞密布,炎症细胞大量浸润。

## 2.7 鼻黏膜组织中 TLR4/IRAK4/NF-κB 信号通路相关蛋白检测

取各组剩余 6 只大鼠的鼻黏膜组织,研碎后加入蛋白裂解液提取总蛋白,采用 BCA 法对总蛋白进行定量,并进行高温变性。将变性蛋白进行 SDS-PAGE 电泳(120~150 V 电泳约 1 h)分离,再将蛋白质湿转(110 V 转移 60 min)至 PVDF 膜上,然后加入脱脂奶粉封闭 1 h。加入 β-actin(稀释比例为 1:1 000)以及 TLR4、p-IRAK4、IRAK4、p-NF-κB p65、NF-κB p65 一抗(稀释比例均为 1:500),4 °C 孵育过夜;洗膜后,加入 HRP 标记的二抗(稀释比例为 1:10 000),室温孵育 1 h。洗膜后进行曝光显色,采集图像并用 Image J 软件分析条带灰度值。以目的蛋白和内参(β-actin)蛋白条带灰度值比值表示目的蛋白的相对表达量,并计算 p-IRAK4/IRAK4、p-NF-κB p65/NF-κB p65 比值。

## 2.8 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析。计量资料符合正态分布的以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 槲皮素对 AR 大鼠鼻炎症状评分的影响

与 Control 组[(0.50 ± 0.09)分]比较,AR 组大鼠鼻炎症状评分[(7.08 ± 0.74)分]显著升高( $P < 0.05$ );与 AR 组比较,QUE-L 组、QUE-H 组大鼠鼻炎症状评分[分别为

(4.83 ± 0.51)、(2.17 ± 0.23)分]均显著降低( $P < 0.05$ ),且 QUE-H 组较 QUE-L 组变化更明显( $P < 0.05$ );与 QUE-H 组比较,QUE-H+LPS 组大鼠鼻炎症状评分[(4.25 ± 0.44)分]显著升高( $P < 0.05$ )。

### 3.2 槲皮素对 AR 大鼠血清中 IgE、HIS 水平的影响

与 Control 组比较,AR 组大鼠血清中 IgE、HIS 水平均显著升高( $P < 0.05$ );与 AR 组比较,QUE-L 组、QUE-H 组大鼠血清中 IgE、HIS 水平均显著降低( $P < 0.05$ ),且 QUE-H 组较 QUE-L 组变化更明显( $P < 0.05$ );与 QUE-H 组比较,QUE-H+LPS 组大鼠血清中 IgE、HIS 水平均显著升高( $P < 0.05$ )。结果见表 1。

表 1 各组大鼠血清中 IgE、HIS 水平比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	IgE/(U/mL)	HIS/(ng/mL)
Control 组	1.75 ± 0.18	15.34 ± 1.62
AR 组	4.28 ± 0.45 <sup>a</sup>	39.62 ± 4.08 <sup>a</sup>
QUE-L 组	3.16 ± 0.33 <sup>b</sup>	28.07 ± 2.95 <sup>b</sup>
QUE-H 组	1.91 ± 0.20 <sup>c</sup>	16.25 ± 1.73 <sup>c</sup>
QUE-H+LPS 组	3.02 ± 0.31 <sup>d</sup>	26.79 ± 2.86 <sup>d</sup>

a: 与 Control 组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与 AR 组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 QUE-L 组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与 QUE-H 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.3 槲皮素对 AR 大鼠血清中炎症因子水平的影响

与 Control 组比较,AR 组大鼠血清中 IL-17 水平显著升高( $P < 0.05$ ),IL-10 水平显著降低( $P < 0.05$ );与 AR 组比较,QUE-L 组、QUE-H 组大鼠血清中 IL-17 水平均显著降低( $P < 0.05$ ),IL-10 水平均显著升高( $P < 0.05$ ),且 QUE-H 组较 QUE-L 组变化更明显( $P < 0.05$ );与 QUE-H 组比较,QUE-H+LPS 组大鼠血清中 IL-17 水平显著升高( $P < 0.05$ ),IL-10 水平显著降低( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 IL-17、IL-10 水平比较( $\bar{x} \pm s, n=12, \text{pg/mL}$ )

组别	IL-17	IL-10
Control 组	142.36 ± 15.26	59.84 ± 6.13
AR 组	259.78 ± 27.13 <sup>a</sup>	22.31 ± 2.35 <sup>a</sup>
QUE-L 组	213.60 ± 22.34 <sup>b</sup>	37.19 ± 3.87 <sup>b</sup>
QUE-H 组	159.42 ± 16.58 <sup>c</sup>	56.78 ± 5.79 <sup>c</sup>
QUE-H+LPS 组	203.51 ± 21.52 <sup>d</sup>	39.05 ± 4.05 <sup>d</sup>

a: 与 Control 组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与 AR 组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 QUE-L 组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与 QUE-H 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.4 槲皮素对 AR 大鼠全血中免疫细胞比例的影响

与 Control 组比较,AR 组大鼠全血中 Th17 比例和 Th17/Treg 比值均显著升高( $P < 0.05$ ),Treg 比例显著降低( $P < 0.05$ );与 AR 组比较,QUE-L 组、QUE-H 组大鼠全血中 Th17 比例和 Th17/Treg 比值均显著降低( $P < 0.05$ ),Treg 比例均显著升高( $P < 0.05$ ),且 QUE-H 组较 QUE-L 组变化更明显( $P < 0.05$ );与 QUE-H 组比较,QUE-H+LPS 组大鼠全血中 Th17 比例和 Th17/Treg 比值均显著升高( $P < 0.05$ ),Treg 比例显著降低( $P < 0.05$ )。结果见表 3。

表3 各组大鼠全血中Th17、Treg比例和Th17/Treg比值比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

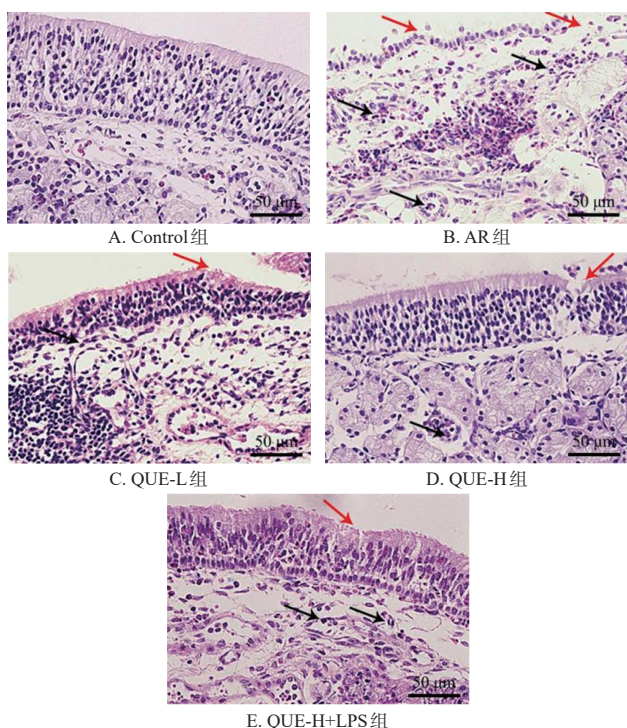
组别	Th17/%	Treg/%	Th17/Treg
Control组	1.23 ± 0.18	8.25 ± 0.87	0.15 ± 0.02
AR组	6.15 ± 0.67 <sup>a</sup>	4.02 ± 0.44 <sup>a</sup>	1.53 ± 0.16 <sup>a</sup>
QUE-L组	4.08 ± 0.44 <sup>b</sup>	5.96 ± 0.63 <sup>b</sup>	0.68 ± 0.07 <sup>b</sup>
QUE-H组	1.87 ± 0.21 <sup>bc</sup>	8.11 ± 0.85 <sup>bc</sup>	0.23 ± 0.03 <sup>bc</sup>
QUE-H+LPS组	3.76 ± 0.40 <sup>d</sup>	5.84 ± 0.61 <sup>d</sup>	0.64 ± 0.07 <sup>d</sup>

a: 与Control组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与AR组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与QUE-L组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与QUE-H组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.5 槲皮素对AR大鼠鼻黏膜组织病理变化的影响

Control组大鼠鼻黏膜组织形态、结构正常,无明显病理变化;AR组大鼠鼻黏膜组织损伤严重,上皮细胞出现部分脱落,杯状细胞增生,可见细胞间质水肿、毛细血管扩张及明显炎症细胞浸润;QUE-L组、QUE-H组大鼠鼻黏膜组织轻微损伤,上皮细胞形态、结构相对完整,存在少量炎症细胞浸润;QUE-H+LPS组大鼠较QUE-H组鼻黏膜组织病理损伤加重。

与Control组[(0.17 ± 0.02)分]比较,AR组大鼠鼻黏膜组织病理评分[(2.67 ± 0.31)分]显著升高( $P < 0.05$ );与AR组比较,QUE-L组、QUE-H组大鼠鼻黏膜组织病理评分[分别为(1.50 ± 0.18)、(0.67 ± 0.08)分]均显著降低( $P < 0.05$ ),且QUE-H组较QUE-L组变化更明显( $P < 0.05$ );与QUE-H组比较,QUE-H+LPS组大鼠鼻黏膜组织病理评分[(1.83 ± 0.20)分]显著升高( $P < 0.05$ )。结果见图1。



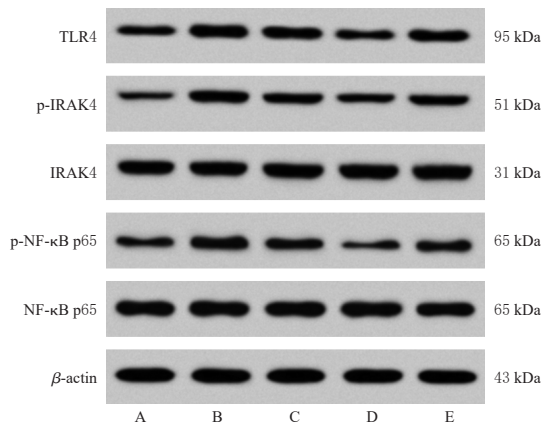
注:红色箭头指向细胞脱落,黑色箭头指向炎症细胞。

图1 各组大鼠鼻黏膜组织病理形态显微图(HE染色)

### 3.6 槲皮素对AR大鼠鼻黏膜组织中TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响

与Control组比较,AR组大鼠鼻黏膜组织中TLR4

蛋白相对表达量及p-IRAK4/IRAK4、p-NF-κB p65/NF-κB p65比值均显著升高( $P < 0.05$ );与AR组比较,QUE-L组、QUE-H组大鼠鼻黏膜组织中TLR4蛋白相对表达量及p-IRAK4/IRAK4、p-NF-κB p65/NF-κB p65比值均显著降低( $P < 0.05$ ),且QUE-H组较QUE-L组变化更明显( $P < 0.05$ );与QUE-H组比较,QUE-H+LPS组大鼠鼻黏膜组织中TLR4蛋白相对表达量及p-IRAK4/IRAK4、p-NF-κB p65/NF-κB p65比值均显著升高( $P < 0.05$ )。结果见图2、表4。



A: Control组; B: AR组; C: QUE-L组; D: QUE-H组; E: QUE-H+LPS组。

图2 各组大鼠鼻黏膜组织中TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路相关蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠鼻黏膜组织中TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路相关蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	TLR4/β-actin	p-IRAK4/IRAK4	p-NF-κB p65/NF-κB p65
Control组	0.41 ± 0.05	0.35 ± 0.04	0.31 ± 0.04
AR组	0.90 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.77 ± 0.09 <sup>a</sup>
QUE-L组	0.73 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.66 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.51 ± 0.06 <sup>b</sup>
QUE-H组	0.48 ± 0.05 <sup>bc</sup>	0.41 ± 0.05 <sup>bc</sup>	0.37 ± 0.04 <sup>bc</sup>
QUE-H+LPS组	0.71 ± 0.08 <sup>d</sup>	0.63 ± 0.07 <sup>d</sup>	0.56 ± 0.06 <sup>d</sup>

a: 与Control组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与AR组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与QUE-L组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与QUE-H组比较,  $P < 0.05$ 。

## 4 讨论

AR属于常见鼻腔黏膜变应性疾病,主要是特异性个体接触变应原后,Th被激活产生免疫应答,B细胞被激活形成变应原特异性IgE,然后与其受体结合释放炎症介质HIS、IL-17等,作用于鼻黏膜组织,引发强烈的超敏反应及炎症<sup>[10]</sup>。黄酮类化合物槲皮素因具有抗炎、抗肿瘤、调节免疫、抗过敏等多种功能,已成为治疗AR的候选药物。已有研究显示,槲皮素可显著减少AR小鼠打喷嚏和擦鼻的次数,降低IgE、IL-17、TNF-α和IL-6等炎症因子水平,抑制过敏性炎症反应,改善受损的鼻黏膜,缓解AR症状<sup>[11-12]</sup>。本研究结果显示,槲皮素可降低模型大鼠鼻炎症状评分和血清中IgE、HIS水平,进一步验证了槲皮素可减轻AR大鼠症状。

免疫失衡及炎症反应与AR的发生发展密切相关,而Th17/Treg失衡在其中发挥至关重要的作用。Th17与

Treg是人体免疫的重要组成部分,正常情况下,两者处于动态平衡以维持机体免疫;而当AR发生时,Th17比例明显增加,导致其释放的IL-17等炎症因子增多,加速IgE、HIS生成,同时抑制Treg分泌IL-10等抑炎因子,进而导致组织损伤,引发自身免疫性疾病<sup>[13]</sup>。研究显示,抑制NF-κB表达可抑制Th17/Treg失衡,进而降低IgE、IL-17水平,升高IL-10水平,改善AR豚鼠的炎症反应<sup>[14-15]</sup>。本研究结果显示,槲皮素可降低Th17比例、Th17/Treg比值及IL-17水平,升高Treg比例及IL-10水平。这提示,槲皮素可通过调节Treg/Th17平衡,抑制AR大鼠的炎症反应。

TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路作为免疫炎症相关通路,在包括AR在内的多种免疫炎症相关疾病的发展进程中发挥重要作用。TLR作为广泛表达在呼吸道鼻黏膜的树突状细胞及黏膜上皮细胞表面的天然免疫受体,当机体受到外界免疫刺激时,TLR家族成员TLR4被异常激活后与细胞受体结合,导致IRAK4磷酸化,激活NF-κB,影响Treg/Th17平衡,促进促炎因子表达,引发免疫应答反应<sup>[16-17]</sup>。研究显示,抑制TLR4/NF-κB信号通路可减轻超敏反应及炎症,缓解鼻黏膜组织损伤,改善AR大鼠症状<sup>[7,18]</sup>。本研究结果显示,槲皮素可降低AR大鼠鼻黏膜组织中TLR4蛋白相对表达量及p-IRAK4/IRAK4、p-NF-κB p65/NF-κB p65比值,提示其可能通过抑制TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路活性,进而抑制AR大鼠的炎症反应。为此本研究对高剂量槲皮素处理的AR大鼠给予TLR4激活剂LPS处理,结果发现,大鼠鼻黏膜组织中TLR4蛋白相对表达量及p-IRAK4/IRAK4、p-NF-κB p65/NF-κB p65比值均升高,这说明槲皮素对AR大鼠炎症反应的抑制作用被逆转,验证了槲皮素可通过抑制TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路活性,减轻AR大鼠炎症反应。

综上所述,槲皮素可通过抑制TLR4/IRAK4/NF-κB信号通路活性来抑制AR大鼠炎症反应。但AR发病机制较复杂,槲皮素可能通过调控其他通路影响AR发展进程,加之本研究可能存在实验样本量偏小、实验内容欠全面等问题,仍需更多实验加以佐证。

## 参考文献

[1] WISE S K, DAMASK C, ROLAND L T, et al. International consensus statement on allergy and rhinology: allergic rhinitis: 2023[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2023, 13(4):293-859.

[2] MENG Y F, WANG C S, ZHANG L. Advances and novel developments in allergic rhinitis[J]. *Allergy*, 2020, 75(12):3069-3076.

[3] JAFARINIA M, SADAT HOSSEINI M, KASIRI N, et al. Quercetin with the potential effect on allergic diseases[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2020, 16:36.

[4] KE X, CHEN Z Q, WANG X Q, et al. Quercetin improves

the imbalance of Th1/Th2 cells and Treg/Th17 cells to attenuate allergic rhinitis[J]. *Autoimmunity*, 2023, 56(1):2189133.

[5] KANG C L, LI X M, LIU P, et al. Tolerogenic dendritic cells and TLR4/IRAK4/NF-κB signaling pathway in allergic rhinitis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1276512.

[6] 乔梁,王斌,王昱杰,等. 环状RNA CD151对过敏性鼻炎大鼠鼻黏膜上皮细胞炎症的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(4):333-337.

[7] 王金凤,王枫,赵桂芝,等. 小青龙汤对过敏性鼻炎大鼠Th1/Th2细胞因子失衡及SP、Annexin1、VCAM-1表达的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(15):2051-2057.

[8] 牛金明,程莉雅,吴美美. 柚皮素对过敏性鼻炎模型大鼠鼻黏膜组织TLR4/NF-κB/TNF-α信号通路的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2023, 27(4):483-488.

[9] 夏晨,汪受传,李萌,等. 消风宣窍汤对变应性鼻炎豚鼠免疫调节作用研究[J]. *中医药通报*, 2022, 21(2):54-57.

[10] BOUSQUET J, ANTO J M, BACHERT C, et al. Allergic rhinitis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1):95.

[11] MU D H, ZHOU L, SHI L Y, et al. Quercetin-crosslinked chitosan nanoparticles: a potential treatment for allergic rhinitis[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):4021.

[12] DENG Y J, SHEN L M, ZHU H L, et al. Network pharmacology analysis of the Huangqi-gancao herb pair reveals quercetin as a therapeutics for allergic rhinitis via the RELA-regulated IFNG/IRF1 axis response[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2024, 1(1):1-10.

[13] MM Y Y, YAN MM J. Study on the mechanism of allergic rhinitis based on the expression of FIB, PCT, hs-CRP, and Th17/Treg-IL-10/IL-17 axis balance[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2023, 37(4):429-437.

[14] HE X, LIU L, LUO X Q, et al. Astragalus polysaccharide relieves inflammatory responses in guinea pigs with allergic rhinitis via ameliorating NF-κB-mediated Treg/Th17 imbalance[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2022, 36(5):638-648.

[15] 贾明月,张纾难,于洋,等. 鹿鹅鼻炎方对过敏性鼻炎大鼠Treg/Th17细胞及相关细胞因子的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(4):1933-1937.

[16] WENGER M, GROSSE-KATHOEFER S, KRAIEM A, et al. When the allergy alarm bells toll: the role of Toll-like receptors in allergic diseases and treatment[J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10:1204025.

[17] PEREIRA M, DURSO D F, BRYANT C E, et al. The IRAK4 scaffold integrates TLR4-driven TRIF and MYD88 signaling pathways[J]. *Cell Rep*, 2022, 40(7):111225.

[18] TIAN M H, ZHANG Y N, SUN W F, et al. Acupuncture at "Die E acupoint" alleviates inflammatory reaction via inhibiting TLR4/MyD88/NF-κB signaling in rats with allergic rhinitis[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2024, 49(5):456-462.

(收稿日期:2024-11-14 修回日期:2025-02-25)

(编辑:林 静)