

实验研究

变应性鼻炎肾阳虚复合豚鼠模型筛选与评价

潘利叶¹ 马重阳¹ 刘敏¹ 李姝玉¹ 于雪¹ 范盎然¹ 王旭¹ 王淑艳¹ 闫凯²

(1 北京中医药大学基础医学院,100029,北京; 2 北京中医药大学附属东方医院,100078,北京)

摘要 目的:在卵清蛋白致敏变应性鼻炎豚鼠模型基础上,采用糖皮质激素、羟基脲、腺嘌呤3种不同阳虚诱导剂诱发,建立变应性鼻炎肾阳虚复合模型,以筛选建立理想而稳定的变应性鼻炎(Allergic Rhinitis,AR)病证结合动物模型。方法:采用卵清蛋白(Ovalbumin,OVA)诱导建立变应性鼻炎豚鼠模型,同时给予糖皮质激素、羟基脲或腺嘌呤建立肾阳虚复合模型,观察动物宏观体征及死亡情况、局部过敏症状,酶联免疫吸附法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay,ELISA)法测血清中sIgE和组胺含量,苏木精-伊红(Hematoxylin-eosin,HE)染色观察肾和睾丸组织形态学改变。结果:糖皮质激素、羟基脲和腺嘌呤3种致肾阳虚药物均可使动物表现出肾阳虚症状及体征、体重下降并具有一定的致死率。与空白组相比,糖皮质激素对肾脏和睾丸组织形态影响较小,羟基脲和腺嘌呤对肾脏和睾丸等形态结构影响较大。结论:对比3个肾阳虚复合模型,羟基脲复合组模型比激素复合组和腺嘌呤复合组模型更稳定,且死亡率较低,较为理想。不过变应性鼻炎病证结合动物模型的指标评价标准尚待进一步研究。

关键词 变应性鼻炎;肾阳虚;糖皮质激素;羟基脲;腺嘌呤

Selection and Evaluation for Guinea Pig Model with Allergic Rhinitis of Kidney-yang Deficiency Pattern

Pan Liye¹, Ma Chongyang¹, Liu Min¹, Li Shuyu¹, Yu Xue¹, Fan Angran¹, Wang Xu¹, Wang Shuyan¹, Yan Kai²

(1 Basic Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 East Hospital

Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

Abstract Objective: To establish complex models with allergic rhinitis of kidney-yang-deficiency by three different kidney-Yang-deficiency inducers, glucocorticoid, hydroxyurea and adenine, based on guinea pig models of allergic rhinitis sensitized by ovalbumin, for screening a reliable and ideal model of allergic rhinitis of kidney yang deficiency pattern. **Methods:** Guinea pig models of Allergic Rhinitis sensitized by ovalbumin were set and glucocorticoid, hydroxyurea or adenine was used to build the complex models of allergic rhinitis with kidney-yang deficiency. The macro signs, death and partial allergy symptoms of animals were observed, the serum sIgE and histamine were tested by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) and the morphology change of kidney and testis tissue were observed by HE (hematoxylin-eosin) staining. **Results:** Three different Yang deficiency inducers, glucocorticoid, hydroxyurea and adenine, could lead to kidney-yang-deficiency symptoms and signs, weight loss, and cause certain death. Compared with the control group, it is found the affection on morphology of glucocorticoid to kidney and testis tissue was little, while which of hydroxyurea and adenine were great. **Conclusion:** By comparison of three different complex models with allergic rhinitis of kidney-yang deficiency, the model induced by hydroxyurea was more stable and suitable with lower death rate. More researches should be conducted for the evaluation criteria of the allergic rhinitis animal model.

Key Words Allergic Rhinitis; Kidney-yang Deficiency; Glucocorticoid; Hydroxyurea; Adenine

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.12.057

目前最常见的变应性鼻炎动物模型是通过OVA致敏再诱导致敏豚鼠血清IgE效价升高,从而出现相应鼻部过敏症状。为了更符合AR肾阳虚的病机特性,近年学者开始探索建立肾阳虚型变

应性鼻炎复合动物模型。通常做法是,在OVA诱导过敏的同时,采用某些“阳虚”诱导剂来模拟中医肾阳虚证候,以此来建立变应性鼻炎病证结合的复合模型。目前,肾阳虚诱导剂各有不同,以糖皮质激

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:81202728)——基于两模两方的小青龙汤、麻黄附子细辛汤对两种不同AR模型干预机制的方证相应研究

作者简介:潘利叶(1987.10—),女,北京中医药大学基础医学院2013级硕士研究生,研究方向:经方防治常见病、疑难病研究,E-mail:363607705@qq.com

通信作者:刘敏(1978.04—),女,博士,副教授,副主任医师,硕士生导师,研究方向:经方防治常见病、疑难病研究,E-mail:liumin78@126.com

素、腺嘌呤、羟基脲最为常见,其建立的模型稳定性也各有差异。本研究拟在同一条件下,对这3种模型进行对比评价,以筛选建立一种稳定可行的变应性鼻炎肾虚阳虚病证结合动物模型。

1 材料与方法

1.1 动物与分组 选用3~4月龄普通级雄性豚鼠60只,体重300 g~350 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。随机分4组:空白对照组(简称空白组)8只;单纯AR组(简称单纯组)10只;糖皮质激素致肾虚阳虚AR组(简称激素复合组)14只;羟基脲致肾虚阳虚AR组(简称羟基脲复合组)14只;腺嘌呤致肾虚阳虚AR组(简称腺嘌呤复合组)14只。适应性饲养7 d后进行造模。

1.2 试剂与设备 OVA,购自Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司(货号A5503);氢氧化铝佐剂,浓度40 mg/mL,购自北京百诺威生物科技有限公司(货号PI77161);醋酸泼尼松龙注射液,由华中药业股份有限公司生产,批号20131210;羟基脲片,由山西远景康业制药有限公司生产,批号20140101;腺嘌呤、伊文斯蓝,购自国药集团化学试剂北京有限公司;离心机;电子分析天平;微量取样器。

1.3 模型制备(方法参考文献^[1-3])

1.3.1 单纯组 以OVA 0.9 mg做抗原,氢氧化铝佐剂0.3 mL,加生理盐水0.3 mL,形成混悬液,腹腔内注射,隔日1次,共7次;腹腔注射完成后第2 d,行被动皮肤过敏试验(PCA),确定IgE抗体效价升高后,将OVA 8 mg+生理盐水20 μL用微量加样器滴入双侧鼻腔,每侧10 μL,1次/d,共7次激发。

1.3.2 激素复合组 每日用醋酸泼尼松龙注射液肌注,按50 mg/(kg·d)剂量,连续7 d,第8 d始将剂量减为40 mg/(kg·d),连续7 d,第15 d将剂量减为30 mg/(kg·d),连续7 d;同时按A组方法致敏。

1.3.3 羟基脲复合组 给予羟基脲混悬液1 mL灌胃,剂量为239 mg/(kg·d),连续14 d,同时按A组方法致敏。

1.3.4 腺嘌呤复合组 给予腺嘌呤混悬液1 mL灌胃,剂量为300 mg/(kg·d),连续7 d;同时按A组方法致敏。

1.3.5 空白组 给予生理盐水。

1.4 实验方法

1.4.1 宏观体征及死亡情况 每日观察记录动物的一般外观症状,包括毛发变化,食欲、反应及活动情况,精神和呼吸是否改变、死亡数量等情况,并隔

日测量体重。

1.4.2 局部过敏症状 给OVA致敏后,动物鼻部逐渐出现擦鼻、喷嚏、流涕等过敏症状,滴鼻激发后症状明显增加。每次滴鼻后20 min内,将上述行为记录并作出评分,总分达5分者为过敏模型成功。标准如下见表1。

表1 过敏反应行为评分标准

表现	1分	2分	3分
擦鼻	0~5次	6次以上	——
喷嚏	0~3次	4~10次	11次以上
流涕	鼻孔内	流出鼻孔外	涕流满面

1.4.3 被动皮肤过敏试验(PCA) PCA试验是利用与同种或异种动物组织有结合性的抗体所引起的局部过敏反应,来检验抗体或抗原的高敏感度的方法。实验方法为:各组于末次腹腔注射OVA后,分别在每组动物中随机选取3只,于球后静脉丛采血0.3 mL,离心分离出血清,取40 μL并用生理盐水稀释配成1:4、1:16、1:64、1:256浓度;并取健康豚鼠15只,背部剃毛,将上述不同浓度的血清分别注射于背部皮下,间隔2 cm,并作记号;72 h后,以OVA 1 mg、伊文斯蓝5 mg溶于1 mL生理盐水,于豚鼠足背静脉注射,30 min后观察结果,拍照。

1.4.4 血清中sIgE和组胺 将动物麻醉后,行腹主动脉取血,然后离心取血清,采用ELISA方法检测,按试剂盒说明书操作。

1.4.5 肾脏、睾丸组织病理形态 剥取肾脏、睾丸后,分别经甲醛浸泡固定、脱水包埋、切片、HE染色,在光学显微镜下,观察肾脏与睾丸组织病理形态结构。

1.5 统计学方法 采用SPSS 17.0版本进行数据处理,各种计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验。以P<0.05为差异有统计学意义,以P<0.01为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 一般外观症状、体重变化及死亡情况 结果如表2。

根据表2、表3、表4,结合一般外观症状及体征、体重增长率和致死率的比较,3个肾虚阳虚复合组中,激素组出现肾虚阳虚等症状主要在用药后期,1周内体重变化不明显,3周后体重明显下降,死亡率较大;而羟基脲组在给药过程中肾虚阳虚症状逐渐出现并加重,体重逐渐下降,死亡率较激素组和腺嘌呤组低;腺嘌呤组则主要在用药早期迅速出现严重的肾虚阳虚症状,体重急剧下降,死亡率也较大。

因此,表明激素、羟基豚和腺嘌呤 3 种致肾阳虚药物均可使动物表现出肾阳虚症状及体征、体重下降并具有一定的致死率。对比 3 个肾阳虚复合组,羟基豚复合组模型比激素复合组和腺嘌呤复合组模型更稳定,且死亡率较低。

表 2 比较 3 种致肾阳虚药物对动物一般外观症状及体征的影响

分组	外观症状及体征
空白组	毛发光泽柔顺,动作灵敏,活跃,摄食正常,体重逐渐增加
单纯组	毛发无光泽,外观上无其他改变,但部分出现死亡
激素复合	毛发无光泽,后期肌注部位可出现硬结,肢体无力或瘫痪,消瘦,部分出现死亡
羟基豚复合组	逐渐出现毛发枯槁疏松、堆叠,摄食及活动减少,蜷缩、消瘦,少数动物出现精神萎靡,死亡
腺嘌呤复合组	早期迅速出现毛发枯槁疏松、脱落,摄食及活动明显减少,精神萎靡,蜷缩、消瘦,呼吸急促,部分出现死亡

表 3 比较 3 种致肾阳虚药物对动物体重增长率的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	1 周体重增长率	3 周体重增长率
空白组	1.050 2 $\pm$ 0.072 14	1.229 2 $\pm$ 0.123 39
单纯组	0.857 3 $\pm$ 0.193 82	1.086 2 $\pm$ 0.140 49
激素复合组	0.998 2 $\pm$ 0.043 27	0.962 3 $\pm$ 0.074 51 **
羟基豚复合组	0.931 2 $\pm$ 0.062 98 **	1.101 5 $\pm$ 0.077 72 *
腺嘌呤复合组	0.846 1 $\pm$ 0.067 48 **	1.124 4 $\pm$ 0.266 95

注:1 周体重增长率=造模 1 周后体重/造模前体重;3 周体重增长率=造模 3 周后体重/造模前体重与空白组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

表 4 比较 3 种致肾阳虚药物的致死率

分组	第 1 周	第 2 周	第 3 周	致死率
空白组	0	0	0	0
单纯组	0	2	1	30%
激素复合	2	3	4	64.3%
羟基豚复合组	3	0	0	21.4%
腺嘌呤复合组	4	4	0	57.1%

2.2 过敏反应行为评分 据表 5,与空白组相比,单纯组和 3 个肾阳虚复合组过敏反应行为评分均较高,差异有统计学意义($P<0.01$)。单纯组平均得分达 5 分(过敏模型成功),羟基豚复合组和腺嘌呤复合组平均得分较高,但激素复合组平均得分较低(与激素抑制免疫反应相关)。

2.3 血清中 sIgE、组胺含量 据表 6,与空白组相比,单纯组和 3 个肾阳虚复合组血清中 sIgE 含量均升高,差异有统计学意义;同时,与空白组相比,单纯组和 3 个肾阳虚复合组血清中组胺含量均升高,差异有统计学意义。

2.4 被动皮肤过敏试验(PCA) 见图 1。

表 5 各组动物过敏反应行为评分

分组	均值 $\pm$ 标准差
空白组	1.770 8 $\pm$ 0.608 10
单纯组	5.041 7 $\pm$ 0.469 10 **
激素复合组	2.875 0 $\pm$ 0.448 52 **
羟基豚复合组	4.164 8 $\pm$ 0.517 11 **
腺嘌呤复合组	4.354 2 $\pm$ 0.588 52 **

注:滴鼻激发后,第 5、6、7 天,各组动物的过敏反应表现较稳定,比较该 3 d 的平均得分。与空白组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

表 6 各组动物血清中 sIgE、组胺含量($\bar{x} \pm s$)

分组	sIgE 含量 (ng/mL)	组胺含量 (ng/mL)
空白组	88.27 $\pm$ 6.82	1.85 $\pm$ 0.15
单纯组	122.19 $\pm$ 3.27 **	2.35 $\pm$ 0.35 *
激素复合组	102.02 $\pm$ 6.91 *	2.33 $\pm$ 0.13 **
羟基豚复合组	100.94 $\pm$ 9.83 *	2.41 $\pm$ 0.12 **
腺嘌呤复合组	112.77 $\pm$ 11.028 **	2.32 $\pm$ 0.09 **

注:与空白组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。



图 1 PCA 试验结果图片

注:A:空白组;B:单纯组;C:激素复合组;D:羟基豚复合组;E:腺嘌呤复合组。

实验结果可见:静脉注射后,B、C、D、E 组豚鼠皮肤、眼眶逐渐出现颜色变化,背部致敏点处出现蓝斑,血清浓度越高,蓝斑直径越大,甚至两个点之间连成一片(如 D),浓度低者或可不出现蓝斑(如 B、C、E 左侧)。空白对照组未出现蓝斑,结果为阴性;单纯组在 1:4 和 1:16 浓度的注射点出现蓝斑,直径大于 5 mm,结果为阳性;激素复合组在 1:4 浓度的注射点出现蓝斑,直径大于 5 mm,结果为阳性;羟基豚复合组蓝斑面积连成片状,直径大于 5 mm,结果为阳性;腺嘌呤复合组在 1:4 浓度的注射点出现蓝斑,直径大于 5 mm,结果为阳性。表明单纯组和 3

个肾阳虚复合组动物体内的 IgE 抗体效价升高。

结合过敏反应行为评分、PCA 试验和血清中 sIgE、组胺含量变化,表明单纯组和 3 个肾阳虚复合组动物体内过敏反应发生。

2.5 肾脏、睾丸组织病理形态的变化 肾组织病理切片:正常对照组大鼠肾脏结构清晰,皮质、髓质结构正常,肾小球、肾小管及间质均无异常改变(图 2A)。与空白组比较,单纯组和激素复合组肾脏形态结构无明显病理改变(图 2B 和 2C)。羟基脲复合组肾脏可见肾小体数量减少,肾小囊囊腔扩大,肾小管管腔呈代偿性扩大、管壁变薄、细胞排列紊乱,肾小管间质结缔组织增生,可见炎性细胞浸润(图 2D)。腺嘌呤复合组可见,肾小管上皮浊肿、坏死、脱落,肾小管显著扩张,肾小囊包膜结构不清,肾小管内有大量结晶物沉着,且有异物肉芽肿形成,占据整个管腔,皮、髓质间质纤维组织增生,大量炎性细胞浸润,可见纤维素样坏死(图 2E)。

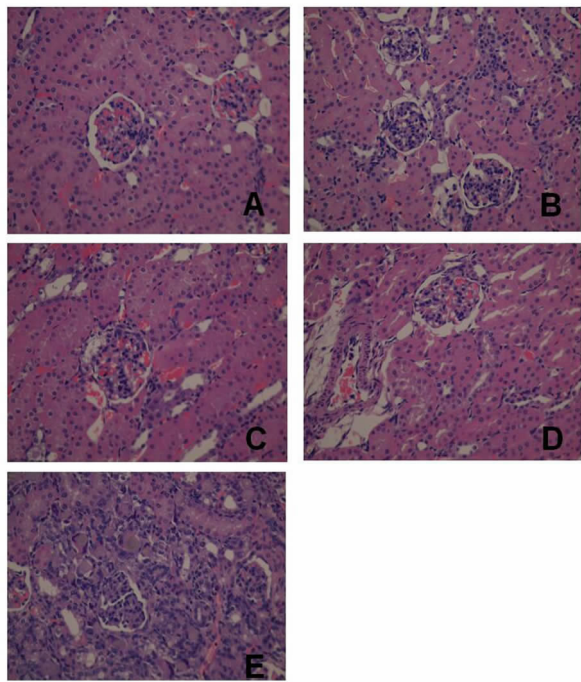


图 2 3 种致肾阳虚药物对肾脏组织病理形态的影响(HE×400)

注:A 空白组;B 单纯组;C 激素复合组;D 羟基脲复合组;E 腺嘌呤复合组。

睾丸组织病理切片:空白组睾丸中生精小管上皮厚度适中,可见不同发育阶段的生精细胞及成熟的精子,上皮外的界膜均匀、完整,管腔饱满,管腔内可见密度适当的精子;间质细胞排列均匀,疏松结缔组织中微血管丰富(图 3A)。与空白组相比,单纯组和激素复合组睾丸界膜、生精小管上皮没有明显改

变,各级生精细胞数量较多,生精小管形态完整,间质相对丰富,间质内毛细血管相对较多,无明显病理改变(图 3B 和 3C)。羟基脲复合组睾丸中生精小管上皮萎缩,各级生精细胞、精子细胞及精子减少,部分生精小管可见生精细胞脱落及排列紊乱,间质细胞变性(图 3D)。腺嘌呤复合组睾丸中生精小管上皮明显变薄,各级生精细胞数量显著减少;管腔面几乎见不到变态后的精子,仅见少量脱落的生精细胞,支持细胞和间质细胞变性(图 3E)。

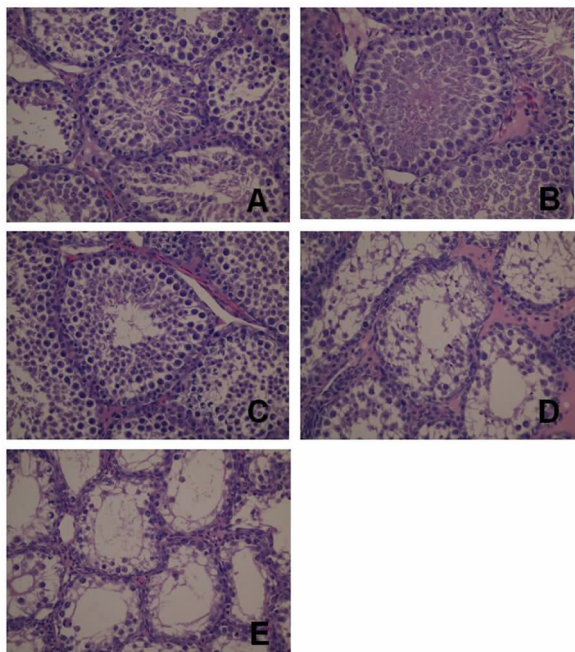


图 3 3 种肾阳虚诱导剂对睾丸组织病理形态的影响(HE×400)

注:A 空白组;B 单纯组;C 激素复合组;D 羟基脲复合组;E 腺嘌呤复合组。

结合肾脏和睾丸的形态学变化,表明激素、羟基脲和腺嘌呤 3 种致肾阳虚药物中,激素对肾脏和睾丸等形态结构影响较小,羟基脲和腺嘌呤对肾脏和睾丸等形态结构影响较大。

3 讨论

现代中医临床具有辨证与辨病相结合的特点,建立病证结合模型是开展相关中医药实验研究必不可少的手段,是连接中医基础理论和临床实践的桥梁与纽带,是深化对证候物质基础认识的方法,同时也是筛选有效方药、深入研究药物作用机制的手段^[5]。就肾阳虚证而言,临床可表现出恶寒蜷缩,精神萎靡,肤白肢冷,消瘦乏力,食欲不振,大便稀溏,小便频数而清长,免疫力及生殖功能低下等一系列症状和体征。在动物研究中通常采用各种不同措施使其出现上述症状来模拟肾阳虚的状态,药物是最

普遍的方法,其中激素、羟基脲和腺嘌呤 3 种使用较广泛。

这 3 种诱导剂使用后,我们的实验结果显示,3 种模型动物均在局部过敏的同时出现了恶寒蜷缩,精神萎靡,肢冷,免疫力及性功能低下并易于死亡等一系列肾阳虚症状和体征。由于诱发肾阳虚的机制并不相同,所建立的动物模型也各有优缺点^[4]。

糖皮质激素可抑制丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的反馈作用,当糖皮质激素突然停用,下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的抑制状态使的机体对外界环境变化的应激、适应能力显著下降,水、电解质代谢失调,同时具有免疫抑制作用。故造模过程中,动物在用药后期才出现肢体无力或瘫痪,消瘦,部分死亡等肾阳虚表现,同时局部过敏症状不明显,病理结果中肾脏和睾丸基本无损伤。此模型主要在免疫力低下方面体现肾阳虚的状态,即肾阳抗邪愈病的功能受损。

羟基脲是一种核苷酸还原酶抑制剂,可抑制 DNA 的合成和核酸代谢,使得脂肪、蛋白质、能量代谢下降,造成下丘脑-垂体-肾上腺轴/甲状腺轴/性腺轴不同程度的功能紊乱,从而出现一系列虚损的表现。故造模过程中,动物逐渐出现毛发枯槁疏松、堆叠,摄食及活动减少,蜷缩、消瘦,精神萎靡,少数死亡等肾阳虚表现,局部过敏症状无影响、肾脏和睾丸的病理可见损伤。此模型主要在生理活动及代谢、性功能方面体现肾阳虚的状态,即肾阳温煦机体、维持生长发育和生殖的功能受损。

腺嘌呤在体内黄嘌呤氧化酶的作用下会转变成极难溶解于水的 2,8-二羟基腺嘌呤,当机体大量摄入时,尿酸盐将析出结晶并沉积于肾小管与肾间质,刺激局部引起尿酸盐异物肉芽肿性炎性反应,并堵塞肾小管腔引起肾功能衰竭。另外,腺嘌呤的代谢产物具有“毒性”,可抑制肾组织中与糖、脂肪、蛋白质代谢有关的多种酶活性,影响肾组织的能量代谢。故动物造模过程中,动物早期迅速出现毛发枯槁疏松、脱落,摄食及活动明显减少,精神萎靡,蜷缩、消瘦,呼吸急促,死亡等表现,局部过敏症状无影响,肾脏和睾丸的病理出现明显损伤。此模型主要在生理活动及水液代谢方面体现肾阳虚的状态,即肾阳温煦机体、维持生长的功能受损。因此,机体用药后迅速出现一系列严重的虚损症状,并大量死亡。

中医证候概念是基于中医思维而提出存在,其现代生物学实质尚在挖掘研究中,相关评价指标体系尚未有权威定论,肾阳虚证也是如此。相同的肾阳虚证在不同的疾病中可以表现为不同的生物学基

础,其涉及现代医学神经、内分泌、免疫系统等不同方面的功能紊乱或损伤。陈英华等认为应当从一般状态、客观指标、药物反证 3 个角度进行模型评价。邹海森^[6]等总结得出在肾阳虚的动物模型、作用机理、基因表达、代谢组学等研究中,多采用下丘脑-垂体-靶腺轴功能,免疫系统,肾功能,能量代谢,环核苷酸,核苷酸系统变化,自由基代谢,细胞信号系统,特殊蛋白功能等作为主要评价指标。王秀凤^[7]等利用因子分析的方法研究垂体-靶腺轴上的 8 个生物学指标,结果表明睾酮、黄体生成素和皮质醇是 3 个时期共有的关键指标,发生变化的关键指标在早、中、晚 3 个时期分别为四碘甲腺原氨酸、促肾上腺皮质激素和促卵泡激素,即随着时期的不同这一关键指标从甲状腺轴变动到肾上腺轴最后到性腺轴。

我们认为,具体疾病的肾阳虚病证结合动物模型也应根据具体的疾病来选择。对变应性鼻炎而言,其免疫功能紊乱,肾阳虚模型的建立应反映其免疫功能异常的现代生物免疫机制。糖皮质激素对过敏反应具有抑制作用,会对模型的致敏效果存在一定的干扰,用于本病是不恰当的。相比之下,腺嘌呤和羟基脲较为合适。同时,在实验进行过程中发现,腺嘌呤会导致机体用药后迅速出现一系列严重的虚损症状,并大量死亡,这为模型的稳定性、可控性和重复性带来了很大的困难。而羟基脲这些表现进程较缓慢,机体各系统功能处于低水平状态,死亡率较低,是较理想的阳虚模型。不过,我们并不能完全肯定羟基脲就是最理想的变应性鼻炎肾阳虚证动物模型,其所致的肾阳虚与变应性鼻炎临床实际的肾阳虚尚有距离,不能完全等同。

本实验在动物模型的评价指标方面相对较少,药物作用机制不同,评价指标也存在差异,单一的免疫系统血清学指标的变化难以作出客观全面的评价。因此,应从中西医生理病理机制的不同层面和角度,选择具有代表性的评价指标。在垂体-靶腺轴的关键指标方面,研究发现肾阳虚变化的关键指标在早、中、晚 3 个时期分别为四碘甲腺原氨酸、促肾上腺皮质激素和促卵泡激素,即随着时期的不同这一关键指标从甲状腺轴变动到肾上腺轴最后到性腺轴^[7]。自由基代谢方面的关键指标,如 SOD、MDA、GSH、GSH-PX 等。研究认为,氧化应激反应也是变应性鼻炎发病的一个重要机制,氧化应激与机体变态反应过程交叉、相互影响,加重疾病的症状^[8-9]。氧化应激参与了机体多种病理生理过程,活性氧的细胞毒性可影响细胞功能,造成细胞渐进式损害加

重疾病状态^[10]。崔静等^[11]实验研究发现变应性鼻炎大鼠鼻黏膜呼吸区组织 SOD、GSH、GSH-PX 降低,MDA 升高,相关蛋白含量异常。细胞学方面的指标,如 Th1、Th2 细胞数目等。赵建东等^[12]研究发现变应性鼻炎模型的 Th1 数量有下降趋势,Th2 细胞却明显升高,差异有统计学意义,Th1/Th2 显著偏离正常比值,差异有统计学意义,说明变应性鼻炎在细胞水平上存在一定程度的偏移。

此外,甄甄^[13]研究表明变应性鼻炎中存在内质网应激,内质网应激可由表达上调的细胞因子诱导产生,并促进 IgE 及 IL-5、IL-13 分泌从而参与变应性鼻炎的发病过程。研究发现 P 物质可作为诱导神经源性炎性反应的物质参与变应性鼻炎晚期反应过程,是重要的神经-内分泌-免疫系统相互作用的递质和共同信使^[14]。Zhang^[15]等通过动物实验发现 P 物质可诱导豚鼠表现变应性鼻炎症状,且能诱导鼻黏膜趋化因子 RANTES mRNA 的表达,促进局部嗜酸粒细胞的趋化和迁移,诱导和加重鼻黏膜的炎性反应。临床实验表明变应性鼻炎患者鼻黏膜涂片中 P 物质等神经肽高表达^[16]。史红健^[17]等观察加味补中益气汤对变应性鼻炎大鼠鼻腔黏膜 P 物质及 P 物质受体表达活性的影响,揭示了加味补中益气汤对此病症状的缓解作用,可能是通过抑制鼻腔黏膜 P 物质的释放以及 P 物质受体的表达,降低肥大细胞浸润程度,减轻组织炎性反应来实现的。相关研究表明 NF- κ B 的过度活化很可能使变应性鼻炎和支气管哮喘中多种炎性反应基因表达升高,鼻黏膜、支气管上皮反应性增高,并且参与疾病的发生和发展过程^[18]。南丽红^[19]等研究发现醒鼻凝胶剂对变应性鼻炎豚鼠的作用,可能是通过抑制 NF- κ B 的活化与核移位,降低了 IL-5、GM-CSF、CCL-1 的表达,从而减轻鼻部的炎性反应达到治疗目的。

我们面对的问题是中医证候研究的瓶颈问题,这与证候实质的认识、与现代科学技术手段的发展等因素密切相关。因此,要想建立符合中医学理论和临床实际的病证结合动物模型,还需要进行动物模型评价体系的规范化和标准化研究,选择进一步研究探索与具体疾病、证型关系紧密且具有代表性的客观指标,这是一条很漫长的道路^[20]。

参考文献

- [1] 邱宝珊,王士贞,梁晓阳,等. 肾虚型变应性鼻炎动物模型的建立[J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志,2002,10(1):16-19.
- [2] 徐慧贤,阮岩,王士贞,等. 豚鼠肾虚变应性鼻炎模型的建立

- [J]. 中药新药与临床药理,2005,16(6):427-453.
- [3] 钟筱华,张海丹. 肾虚变应性鼻炎动物模型的研究[J]. 中国中医药现代远程教育,2010,8(4):168-170.
- [4] 吴启端,熊带水,梁文能. 肾虚动物模型的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(6):54-56.
- [5] 殷惠军,黄焯. 病证结合动物模型的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(1):8-10.
- [6] 邹海森,辛雪,孙伟,等. 肾虚生化指标的现代研究进展[J]. 现代生物医学进展,2015,15(30):5989-5993.
- [7] 王秀凤,李静,张磊,等. 基于因子分析的肾虚证动物模型垂体-靶腺轴关键指标的评价[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(6):825-829.
- [8] Di LG, Minciullo PL, Leto-Barone MS, et al. Differences in the behavior of advanced glycation end products and advanced oxidation protein products in patients with allergic rhinitis[J]. J Investig Allergol Clin Immunol,2013,23(2):101-106.
- [9] Ozkaya E, Akduman H, Erenberk U, et al. Plasma paraoxonase activity and oxidative stress and their relationship to disease severity in children with allergic rhinitis[J]. Am J Rhinol Allergy,2013,27(1):13-17.
- [10] Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol,2013(53):401-426.
- [11] 崔静,李辉,王海军. 雷公藤红素治疗变应性鼻炎大鼠的机制研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2014,28(8):550-553.
- [12] 赵建东,王世振,马凤梅. Th1 和 Th2 细胞及相关细胞因子在变应性鼻炎发病中的变化[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志,2005,19(17):794-796.
- [13] 甄甄. 内质网应激在过敏性鼻炎发病机制中的作用[D]. 武汉:华中科技大学,2014.
- [14] 李斯斯,阮标,余咏梅. P 物质在变应性鼻炎发病机制和治疗中的作用[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2013,7(2):193-197.
- [15] Zhu Q, Zhang S, Wu J, et al. The investigation for the neuropeptides of nasal septum in perennial allergic rhinitis patient[J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery,2009,23(8):339-342.
- [16] Chalastras T, Nicolopoulou-Stamati P, Patsouris E, et al. Expression of substance P, vasoactive intestinal peptide and heat shock protein 70 in nasal mucosal smears of patients with allergic rhinitis; investigation using a liquid-based method[J]. Laryngol Otol,2008,122(7):700-706.
- [17] 史红健,邵渝,何迎春,等. 加味补中益气汤对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜 P 物质及 P 物质受体表达活性的影响[J]. 中华中医药杂志,2015,30(3):918-920.
- [18] 周林,郑鸣. NF- κ B 与变态反应性疾病[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2010,31(4):591-593.
- [19] 南丽红,向青,徐伟,等. 醒鼻凝胶剂对变应性鼻炎豚鼠核转录因子- κ B 信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志,2016,31(2):441-444.
- [20] 吕爱平. 病证结合动物模型研究:从理论创新到技术挑战[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(1):6-7.