

甲基丁香酚对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜水通道蛋白 5 的影响

武楠¹, 张秀丽¹, 侯赞², 林丽星^{3△}, 张小兵^{2△}

(1. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院耳鼻喉科, 兰州 730000; 3. 兰州大学第一医院儿科, 兰州 730000)

[摘 要] **目的:** 观察甲基丁香酚对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜水通道蛋白(aquaporin, AQP)5 表达的影响, 并探讨其意义。**方法:** Wistar 大鼠 126 只随机分为正常对照组, 变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)模型对照组, 布地奈德阳性对照组, 甲基丁香酚 80 mg/kg 组、40 mg/kg 组、20 mg/kg 组及 10 mg/kg 组, 每组 18 只, 除正常对照组外, 其余组大鼠经卵清蛋白(ovalbumin, OVA)致敏建立变应性鼻炎模型, 造模成功后分别给予蓖麻油、布地奈德及对应剂量甲基丁香酚干预, 于给药 1、2、4 周后应用免疫组织化学方法观察鼻黏膜 AQP5 的分布, Western blotting 比较各组鼻黏膜中 AQP5 的表达, Real-time PCR 比较 AQP5 mRNA 的表达。**结果:** AQP5 主要位于鼻黏膜腺上皮及导管上皮细胞的胞膜和胞质。AR 模型对照组大鼠鼻黏膜的 AQP5 及 AQP5 mRNA 均较正常对照组表达减少($P < 0.05$)。各给药组大鼠鼻黏膜 AQP5 及 AQP5 mRNA 均较 AR 模型对照组有不同程度增高。药物干预 1、2、4 周, 布地奈德阳性对照组 AQP5 的表达与正常对照组比较, 差异均无统计学意义(P 均 > 0.05), 与 AR 模型对照组比较, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05); 布地奈德阳性对照组的 AQP5 mRNA 分别与正常对照组及 AR 模型对照组比较, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。干预 2 周后, 甲基丁香酚各剂量组 AQP5 的表达即与布地奈德阳性对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。干预 1 周, 20 mg/kg 组的 AQP5 mRNA 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 与模型对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 甲基丁香酚可能通过上调 AQP5 的表达减轻鼻黏膜腺体水肿程度、减少腺体分泌, 从而缓解变应性鼻炎鼻痒、喷嚏及流涕等症状。

[关键词] 甲基丁香酚; 水通道蛋白 5; 变应性鼻炎

[中图分类号] R765.21 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2019)06-1036-06

doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2019.06.010

Effect of methyl eugenol on nasal mucosal aquaporin 5 in rats with allergic rhinitis

WU Nan¹, ZHANG Xiu-li¹, HOU Yun², LIN Li-xing^{3△}, ZHANG Xiao-bing^{2△}

(1. The First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Otolaryngology, The First Affiliated of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3. Pediatrics, The First Affiliated of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effect of methyl eugenol on the expression of aquaporin (AQP) 5 in nasal mucosa of rats with allergic rhinitis and to explore its significance. **Methods:** In the study, 128 Wistar rats were randomly divided into normal control group, AR model control group, budesonide positive control group, 80 mg/kg group, 40 mg/kg group, 20 mg/kg group and 10 mg/kg group, and ovalbumin (OVA) was used to establish the model of allergic rhinitis. After successful modeling, castor oil, budesonide and corresponding doses of methyl eugenol were given respectively. After 1, 2 and 4 weeks of administration, the distribution of AQP5 in nasal mucosa was observed by immunohistochemistry. The expression of AQP5 in nasal mucosa of each group was compared by Western blotting. The expression of AQP5 mRNA was compared with real-time PCR. **Results:** AQP5 was mainly located in the glandular epithelium and ductal epithelial cell membrane and cytoplasm. The expression of AQP5 and AQP5 mRNA in nasal mucosa of the rats in the model control group was lower than that in the normal control group ($P < 0.05$). AQP5 and AQP5 mRNA in nasal mucosa of the rats in each treatment group were higher than those in the model control group in varying degrees. The expression of AQP5 in the budesonide group was not significantly different from that in the normal control group 1, 2 and 4 weeks after drug intervention ($P > 0.05$), but there was significant difference between the budesonide group and the model control group ($P < 0.05$). The expression of AQP5 mRNA in the budesonide group was significantly different from that in the normal control group and the model control group ($P < 0.05$). After 2

weeks of intervention, the expression of AQP5 in each dose group of methyleugenol was not significantly different from that in the budesonide group ($P > 0.05$). After 1 week of intervention, there was no significant difference in AQP5 mRNA between the 20 mg/kg group and the normal control group ($P > 0.05$), but there was significant difference between the 20 mg/kg group and the model control group ($P < 0.05$).

Conclusion: Methyl eugenol may increase the degree of edema of the nasal mucosa by reducing the expression of AQP5 and reduce the secretion of glands, thus alleviating the symptoms of allergic rhinitis, sneezing and runny nose.

KEY WORDS Methyl eugenol; Aquaporin 5; Allergic rhinitis

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是IgE介导的I型超敏反应,病理改变以黏膜水肿、毛细血管扩张及腺体增生为主,主要表现为鼻塞、鼻痒及大量清涕。由组氨酸脱羧基而成的组胺是参与变应性鼻炎发病机制的重要炎症介质之一^[1]。甲基丁香酚作为细辛挥发油的主要成分之一,能直接抑制肥大细胞释放组氨酸和组氨酸脱羧酶的基因超表达,从而发挥其抗过敏作用^[2]。水通道蛋白(aquaporins, AQP)是一组与细胞内外水转运有关的小分子跨膜蛋白。目前在鼻腔黏膜中发现有AQP1、AQP3、AQP4和AQP5,其中AQP5在人类鼻黏膜组织中表达相当广泛,是黏膜下层浆液性腺体分泌的限速屏障。本研究旨在通过探讨甲基丁香酚对AR大鼠鼻部症状和鼻黏膜AQP5的影响,了解甲基丁香酚对于AR大鼠鼻黏膜的黏液代谢及水代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

Wistar大鼠126只,4~6周龄,160~170 g,由兰州大学基础医学院动物实验中心提供。利用随机数字表法将实验动物随机分为正常对照组18只,模型组108只。模型组大鼠造模成功后,用随机数字表法将其随机分为AR模型对照组,布地奈德阳性对照组,甲基丁香酚80 mg/kg组、40 mg/kg组、20 mg/kg组及10 mg/kg组,每组18只。

1.2 主要试剂及仪器

卵清蛋白(ovalbumin, OVA)购自美国Sigma公司,氢氧化铝[Al(OH)₃]购自天津市致远化学试剂有限公司,布地奈德(budesonide)购自澳大利亚阿斯利康有限公司,甲基丁香酚购自上海生物科技有限公司,兔抗鼠AQP5多克隆抗体购自美国Sigma公司,二抗试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,免疫组化DAB染色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,AQP5及GAPDH引物购自宝生物工程(大连)有限公司,RNAiso Plus购自日本Takara公司,PrimeScript™ eRT reagent Kit with gDNA Eraser购自日本的Takara公司,SYBR® Premix Ex Taq™ II购自日本Takara公司,罗氏LightCycler 480

实时定量PCR仪购自美国Roche公司。

1.3 AR模型的建立

变应性鼻炎大鼠模型的建立分基础致敏及鼻腔激发两阶段。首先基础致敏阶段,即将0.3 mg OVA和30 mg Al(OH)₃中加生理盐水配置成1 mL混悬液给予大鼠腹腔注射,隔日1次,共7次,14 d。然后进入鼻腔激发阶段,即在末次基础致敏后隔日开始,用2% (质量分数) OVA溶液对实验组大鼠双侧鼻腔滴鼻,50 μL/侧,每日1次,共7 d。每次鼻腔激发后即刻至30 min内,观察并记录大鼠搔鼻动作次数、喷嚏个数及流涕情况,进行症状学评分。正常对照组大鼠以生理盐水代替OVA,其余方法和步骤与模型组相同。造模成功后,为了维持动物模型,AR模型对照组,布地奈德阳性对照组,甲基丁香酚80 mg/kg组、40 mg/kg组、20 mg/kg组及10 mg/kg组大鼠继续给予2% OVA滴鼻,50 μL/侧,隔日1次,正常对照组大鼠以等量生理盐水替代。

1.4 变应性鼻炎大鼠行为学评分标准

依据鼻痒、喷嚏、流涕等出现的时间长短、轻重程度、次数多少为评分标准^[3]。鼻痒程度:轻擦鼻几次,记1分;抓挠鼻、面不止,到处摩擦记2分。喷嚏:1~3个为1分,4~10个为2分,11个以上为3分。流涕:流至前鼻孔为1分,超过前鼻孔为2分,流涕满面为3分。各症状记分叠加,总分数5分者为模型建立成功。症状观察时间为每次给致敏物后30 min。

1.5 给药干预

建模完成后,根据动物体表面积转换计算公式,即大鼠给药剂量(mg/kg) = 人的给药剂量(mg/m²)/大鼠的体质量(kg) × 大鼠的体表面积(m²)。布地奈德阳性对照组大鼠给予布地奈德混悬液0.05 mL/侧鼻腔,每日3次;甲基丁香酚因其脂溶性故以蓖麻油作为溶剂,各组按照设定剂量即80 mg/kg、40 mg/kg、20 mg/kg及10 mg/kg配置滴鼻剂,滴鼻剂量同布地奈德组即0.05 mL/侧鼻腔,每日3次;正常对照组和模型对照组以等量蓖麻油替代,每日3次。分别于给药干预1、2、4周的末次给药24 h后,随机选择每组6只大鼠,给予10% (质量分数)水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉,迅速取双

侧鼻中隔黏膜。每周每组随机选择 3 只大鼠的一侧鼻黏膜放入 4 ℃ 的 4% (体积分数)多聚甲醛溶液中固定,用于免疫组织化学检测,另一侧于 -80 ℃ 保存,用于实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测;其余 3 只大鼠鼻黏膜保存于 -80 ℃ 冰箱,用于蛋白免疫印迹 (Western blotting) 检测。

1.6 免疫组织化学检测

取出经 4% 多聚甲醛溶液固定的鼻黏膜,进行梯度酒精脱水,常规石蜡包埋,4 μm 厚度连续切片。常规脱蜡、水化。采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结 (streptavidin-peroxidase, SP) 法染色,柠檬酸修复,其余步骤按照 SP 试剂盒说明书进行。AQP5 一抗按照 1:400 稀释。利用已知阳性片作为阳性对照,PBS 代替一抗作为阴性对照。经 3,3'-二氨基联苯胺 (3,3'-diaminobenzidine, DAB) 显色、苏木精复染、梯度乙醇溶液 (酒精),脱水、二甲苯透明、中性树胶封片,光学显微镜下观察。

1.7 Western blotting 检测

用裂解液提取各组大鼠鼻黏膜中总蛋白,BCA 法测蛋白浓度。按照 Western blotting 实验步骤进行上样,SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE),转膜,封闭,孵育一抗、二抗,显影,扫描获取图像。选取 β-actin 作为内参,其中 AQP5 的一抗为兔抗 AQP5 IgG 抗体 (1:5 000),二抗为 FITC 标记的羊抗兔 IgG 抗体 (1:10 000);β-actin 的一抗为小鼠抗 β-actin IgG 抗体 (1:4 000),二抗为 FITC 标记的大鼠抗小鼠 IgG 抗体 (1:5 000)。

1.8 Real-time PCR 检测

根据 RNAiso Plus 试剂说明书提取各组大鼠鼻黏膜中总 mRNA,琼脂糖凝胶电泳法检测 mRNA 质量,将其中 3 μL mRNA 逆转录合成 cDNA,并取 2 μL 进行扩增,获得目的产物,选取 GAPDH 作为内参,在相同反应条件下进行扩增。使用引物序列如下: (1) GAPDH: 上游 5'-CGGAGTCAACGGATTTG-GTCGTAT-3', 下游 5'-AGCCTTCTCCATGGTGGT-GAAGAC-3'; (2) AQP5: 上游 5'-CCATGGTGGT-GAGTTAATCTTGA-3', 下游 5'-CATGGAACAGCCG-GTGAAGTAG-3'。对所得 CT 值进行相对定量,获得 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件,计量资料以使用均数 ± 标准差表示,使用 *t* 检验进行正常对照组与模型组两组间行为学评分比较;使用单因素方差分析进行多组间 AQP5 及 AQP5 mRNA 表达量的比较, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学评分

致敏 15 d 后,模型组动物开始鼻腔激发,行为学评分均超过 5 分,造模成功;正常对照组仅少数动物出现轻抓鼻。正常对照组行为学评分为 (0.56 ± 0.17) 分,模型组为 (6.70 ± 0.09) 分,采用 *t* 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 AQP5 在大鼠鼻黏膜的分布及表达

光学显微镜下鼻黏膜组织中 AQP5 阳性表达呈棕黄色或棕褐色 (图 1), AQP5 在各组的分布基本一致,主要位于鼻黏膜腺上皮及导管上皮细胞的胞膜和胞质。

Western blotting 检测各组大鼠鼻黏膜中 AQP5 的表达量 (图 2) 发现,模型对照组大鼠鼻黏膜的 AQP5 较正常对照组表达减少 ($P < 0.05$)。各甲基丁香酚组大鼠鼻黏膜 AQP5 的表达均较模型对照组有不同程度增高。药物干预 1、2、4 周,布地奈德阳性对照组与正常对照组比较,差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05);与模型对照组比较,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。干预 2 周后,甲基丁香酚各剂量组与布地奈德阳性对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

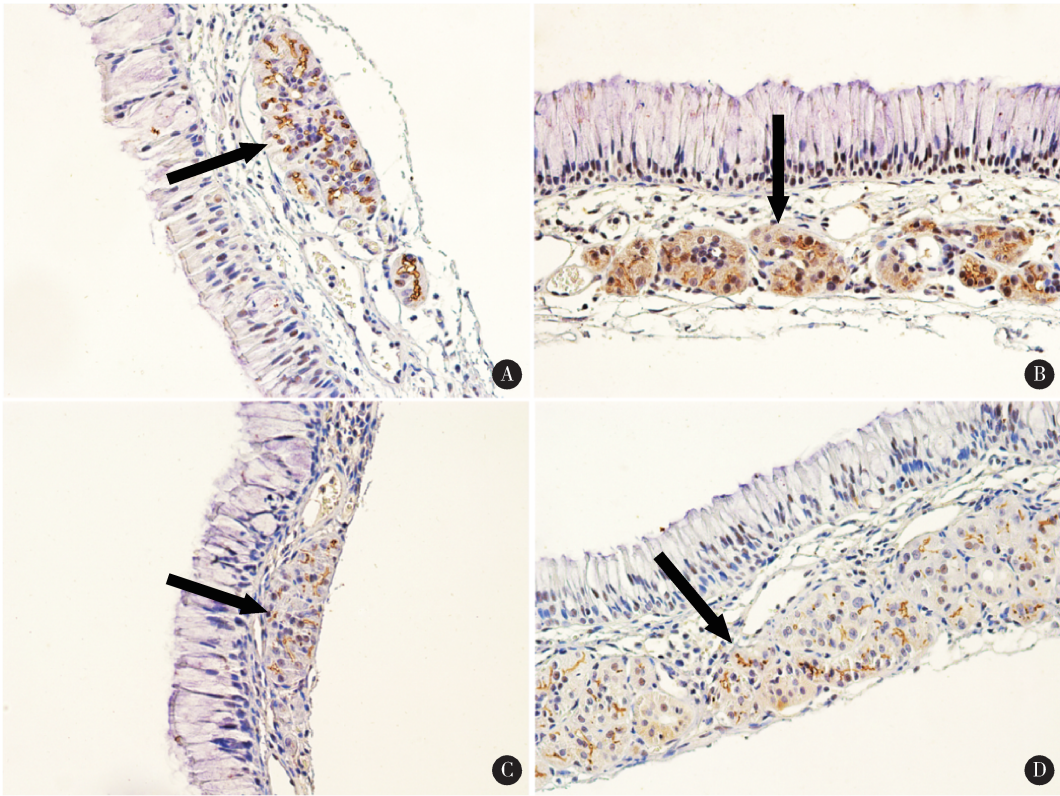
2.3 各组大鼠鼻黏膜中 AQP5 mRNA 的表达

Real-time PCR 检测各组大鼠鼻黏膜中 AQP5 mRNA (图 3) 发现,AR 模型对照组大鼠鼻黏膜的 AQP5 mRNA 较正常对照组表达减少 ($P < 0.05$)。各甲基丁香酚组大鼠鼻黏膜 AQP5 mRNA 均较 AR 模型对照组有不同程度增高。药物干预 1、2、4 周,布地奈德阳性对照组分别与正常对照组及 AR 模型对照组比较,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。比较各甲基丁香酚组 AQP5 mRNA 发现,甲基丁香酚干预 1 周,20 mg/kg 组与正常对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),与 AR 模型对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

变应性鼻炎是特应性个体接触变应原后由 IgE 介导的鼻黏膜变态反应性疾病,其病理生理改变包括鼻黏膜腺体的过度分泌,肥大细胞、嗜碱和嗜酸性粒细胞脱颗粒,炎症介质释放^[4]等,引起鼻黏膜的高反应和高分泌,从而产生以鼻痒、喷嚏、流涕为主鼻部症状。高分泌即腺体分泌过度,其发生机制多样,如各种炎症介质、细胞因子和神经递质通过不同途径直接或间接作用于鼻黏膜的腺细胞^[5-6];P

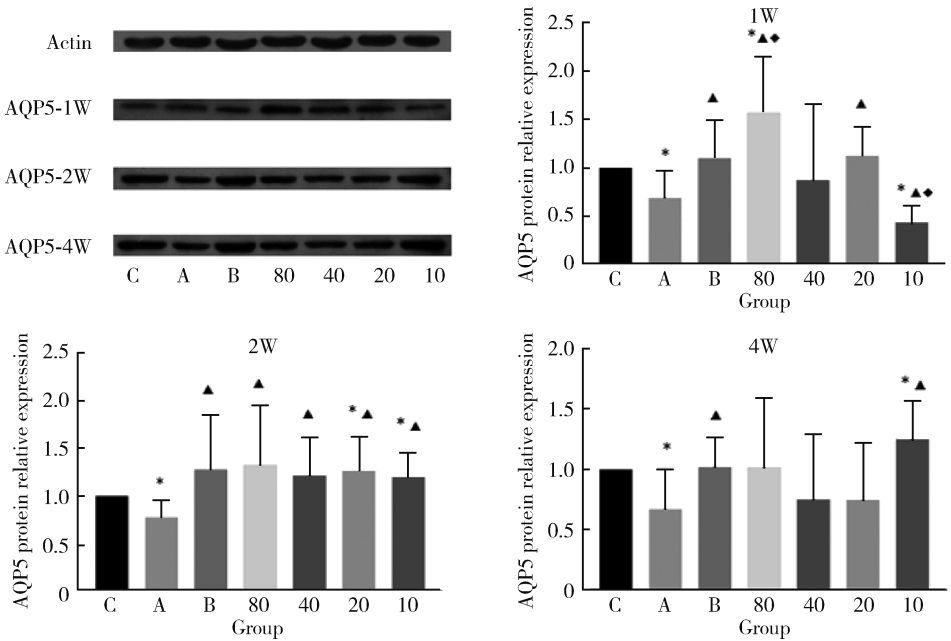
物质受体的参与^[7];细胞内钙代谢异常^[8]等。以往AR治疗上多使用以糖皮质激素为主的非特异性治疗,但因其作用机制复杂^[9],故AR的特异性治疗研究进展尚不是很理想。



A and B, Expression of AQP5 in normal control group of rat nasal mucosa; C and D, expression of AQP5 in nasal mucosa of rats in AR model control group.

图1 AQP5在大鼠鼻黏膜的分布(SP×400)

Figure 1 The distribution of AQP5 in the nasal mucosa of rats (SP×400)



C, control group; A, AR model control group; B, budesonide positive control group; 80, 80 mg/kg group; 40, 40 mg/kg group; 20, 20 mg/kg group; 10, 10 mg/kg group; W, week(s). * $P < 0.05$, comparison with normal control group; ▲ $P < 0.05$, comparison with AR model control group; ◆ $P < 0.05$, comparison with budesonide positive control group.

图2 大鼠鼻黏膜 AQP5 的表达

Figure 2 The expression of AQP5 in the nasal mucosa of rats

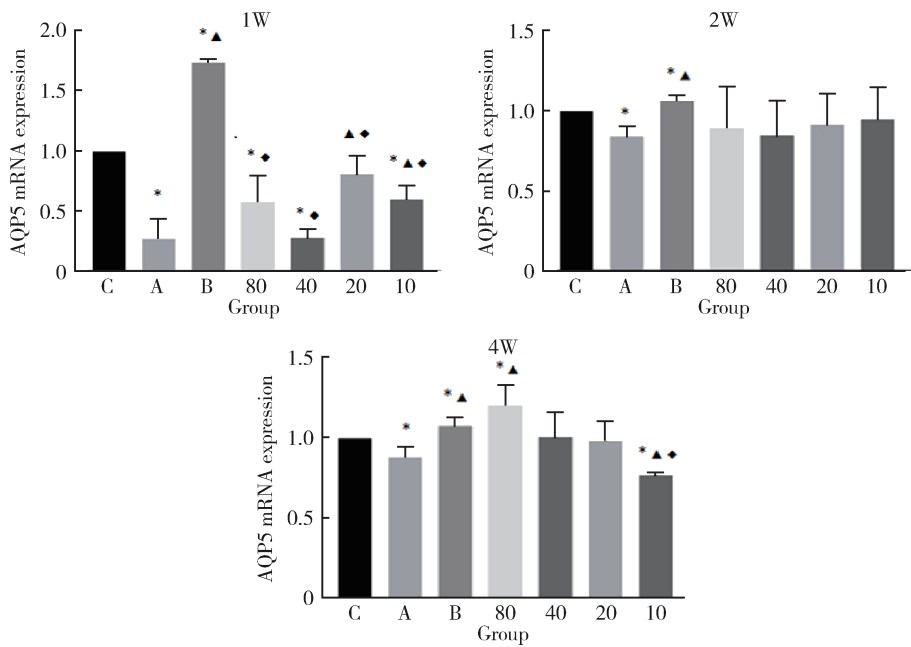


图3 大鼠鼻黏膜 AQP5 mRNA 的表达
Figure 3 The expression of AQP5 mRNA in the nasal mucosa of rats

细辛为多年生草本马兜铃科植物北细辛、汉城细辛或华细辛的干燥根和根茎^[10]。细辛挥发油具有抗炎、抑菌、解热镇痛、中枢抑制、催眠镇静及抗过敏等作用^[11-13]，其主要成分包括甲基丁香酚、细辛酮、桉油酚、黄樟素、柠檬烯及优香芹烷等^[14]，其中，甲基丁香酚为细辛给药后血液和脑脊液吸收的主要成分之一^[15]。杨华等^[16]研究发现，甲基丁香酚可激活 γ -氨基丁酸 A 型 (GABAA) 受体，通过抑制一氧化氮 (NO) 释放而发挥抗炎镇痛作用。Shin 等^[2]研究发现，甲基丁香酚可通过抑制肥大细胞释放组氨酸，从而抑制大鼠皮肤的过敏反应。

AQP 是一组与水分子转运相关的细胞膜蛋白，在液体转运平衡及某些腺体的分泌方面具有重要的作用。迄今为止，哺乳动物体内已发现了 13 种 AQP 亚型，即 AQP0 ~ AQP12。AQP 能促进水肿液的吸收，选择性地吸收渗透水和某些非极性溶剂 (如甘油和尿素等)，其机制可能与 Na-K-ATP 酶的协调定位相关，通过跨膜离子的转运，从而在膜两侧形成渗透梯度，推动水分子的转运。AQP 广泛分布于多种组织细胞的质膜中，属于选择性水通道的主要内在膜蛋白 (major intrinsic protein, MIP) 家族，能快速且选择性地促进水分子的跨膜转运，从而达到相应的渗透梯度。AQP5 在部分腺体的分泌中起着关键的作用，Yasui 等^[17]研究发现，新生大鼠 AQP5 的表达量可持续增加至其成年，从而保证肺泡内液

体的正常转运。Shen 等^[18]发现，AQP5 野生型小鼠肺组织中 Th2 细胞浸润，黏蛋白过度分泌，而在 AQP5 基因敲除小鼠无该现象，提示 AQP5 可能参与哮喘中气道炎症及黏液过度分泌的过程。Nejsun 等^[19]研究发现，AQP5 基因敲除小鼠汗腺体量减少，汗液分泌也较对照组明显减少，且黏稠度增高。鼻腔黏膜中腺体含量丰富，其分泌液对保持气道表面液体平衡、抵抗细菌的入侵起着重要的作用。AQP5 与黏膜下浆液性腺体的分泌密切相关^[20]。本研究也发现，大鼠鼻黏膜腺上皮及导管上皮细胞的胞膜和胞质中均分布有 AQP5，且变应性鼻炎大鼠较正常大鼠鼻黏膜 AQP5 的表达减少，推测 AQP5 可能在限制鼻黏膜腺体的分泌、控制腺上皮细胞腔侧膜对水分子的转运中起着重要作用。

环磷酸腺苷-蛋白激酶 A (cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A, cAMP-PKA) 信号通路通过 PKA 使其特异性磷酸底物 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP reaction element binding protein, CREB) 丝氨酸在 133 位点 (Ser133) 磷酸化，参与鼻黏膜 AQP5 的表达调控^[21-23]。变应性鼻炎时，NF- κ B (NF- κ B) 信号通路被激活，大量 NF- κ B p65 从胞浆进入细胞核，诱导肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 等基因转录，产生大量 TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子^[24]，这些炎症因子可通过抑制 CREB 磷

酸化途径,下调 cAMP/PKA- CREB 依赖性 AQP5 的表达。Towne 等^[25]通过 TNF- α 干预小鼠肺上皮细胞后发现,AQP5 在 mRNA 和蛋白水平上分别减少了 50% 和 90%,其作用机制可能通过 TNF- α 激活 TNF- α 受体 1 (TNF-R1) 实现。小鼠肺部急性病毒感染后,AQP5 表达的下调可能由于感染后炎症因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 等表达增多引起^[26-27]。本研究也发现,变应性鼻炎大鼠较正常大鼠鼻黏膜 AQP5 表达减少,可能正是与 NF- κ B 信号通路被激活相关,下调 cAMP-PKA-CREB 信号通路上的基因表达,同时上调 TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子的基因转录,从而使得 AQP5 及 AQP5 mRNA 的表达减少,鼻黏膜水肿、鼻黏膜腺体分泌亢进,进而产生鼻痒、喷嚏、流涕等鼻部症状。

本研究发现,变应性鼻炎大鼠鼻黏膜中 AQP5 及 AQP5 mRNA 的表达趋势基本一致,甲基丁香酚干预 1、2、4 周后,大鼠鼻黏膜 AQP5 及 AQP5 mRNA 的表达均较模型对照组增加;甲基丁香酚 20 mg/kg 组在干预 1 周后,AQP5 mRNA 的表达与正常对照组比较差异无统计学意义;甲基丁香酚各剂量组干预 2 周后,AQP5 的表达与布地奈德阳性对照组比较差异无统计学意义,推测甲基丁香酚可能通过抑制 NF- κ B 信号通路,一方面引起 cAMP-PKA 信号传导途径下游磷酸化的 CREB 竞争性结合转录辅助因子 CREB 结合蛋白(CBP),上调包括 AQP5 在内的 cAMP-PKA-CREB 信号通路上的基因表达;另一方面进入细胞核的 NF- κ B p65 减少,下调 TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子基因转录,从而在蛋白及 mRNA 水平上促进 AQP5 的表达,使得变应性鼻炎大鼠鼻黏膜腺体水肿程度减轻、腺体分泌减少,对变应性鼻炎起到治疗作用,但其具体作用机制尚需进一步探讨。

综上所述,甲基丁香酚可通过促进大鼠鼻黏膜 AQP5 的表达,调节变应性鼻炎大鼠鼻黏膜腺体的分泌,减轻其鼻部症状。

参考文献

[1] 孟楠楠,候赞,桂岩,等. 甲基丁香酚对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜组织中黏蛋白 5AC 的影响[J]. 浙江大学学报(医学版), 2016, 45(5): 476-484.

[2] Shin BK, Lee EH, Kim HM. Suppression of L-histidine decarboxylase mRNA expression by methyleugenol[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 232(1): 188-191.

[3] 赵秀杰,董震,杨占泉,等. 鼻超敏反应实验模型的建立[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1993, 28(1): 17-18.

[4] 彭瑶,连增林,张晓阳,等. 祛风胜湿方对变应性鼻炎小鼠免疫球蛋白 E 及水通道蛋白 5 的影响[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(6): 39-41.

[5] 周斌,吕世静,陈向阳,等. 变应性鼻炎红细胞和淋巴细胞免疫黏附功能和两种细胞因子的检测[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2000, 35(6): 50-52.

[6] 洪苏玲,黄江菊,杨玉成. 变应性鼻炎患者血清中四种细胞因子的检测[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2002, 37(4): 76-77.

[7] 薛金梅,赵海亮,安云芳,等. 大鼠变应性鼻炎模型鼻黏膜 P 物质受体 mRNA 的表达[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2004, 10(4): 19-23.

[8] 张旭,袁金凤,刘重光. 变应性鼻炎大鼠鼻黏膜 Ca²⁺-ATP 酶的表达[J]. 辽宁医学杂志, 2003, 17(1): 12-14.

[9] Barnes PJ. Molecular mechanisms of corticosteroids in allergic diseases[J]. Allergy, 2001, 56(10): 928-936.

[10] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 159.

[11] Wang BB, Qi W, WANG LL, et al. Comparative study of chemical composition, antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oils of three asarum drugs[J]. Chin Pharm J, 2014, 23(7): 480-489.

[12] 谢伟,陆满文. 毛细辛挥发油的中枢抑制、解热镇痛和抗炎作用[J]. 中国药理学通报, 1993, 9(5): 389.

[13] 王玉生. 中药药理与应用[M]. 北京:人民卫生出版社, 1983: 46-48.

[14] 周荣汉. 中药资源学[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1993: 202.

[15] Li C, Xu F, Xie DM, et al. Identification of absorbed constituents in the rabbit plasma and cerebrospinal fluid after intranasal administration of Asari Radix et Rhizoma by HS-SPME-GC-MS and HPLC-APCI-IT-TOF-MSn[J]. Molecules, 2014, 19(4): 4857-4879.

[16] 杨华,徐凤,万丹,等. 甲基丁香酚镇痛抗炎作用及机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(3): 292-297.

[17] Yasui M, Serlachius E, Lofgren M, et al. Perinatal changes in expression of aquaporin-4 and other water and ion transporters in rat lung[J]. J Physiol, 1997, 505(1): 3-11.

[18] Shen Y, Wang Y, Chen Z, et al. Role of aquaporin 5 in antigen-induced airway inflammation and mucous hyperproduction in mice[J]. J Cell Mol Med, 2011, 15(6): 1355-1363.

[19] Nejsum LN, Kwon TH, Jensen UB, et al. Functional requirement of aquaporin-5 in plasma membranes of sweat glands[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(1): 511-516.

[20] Song Y, Verknum AS. Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands[J]. J Biol Chem, 2001, 276(44): 41288-41292.

[21] Montminy MR, Sevarino KA, Wagner JA, et al. Identification of cyclic-AMP-responsive element within the rat somatostatin gene[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(18): 6682-6686.

[22] Mobasheri A, Airley R, Hewitt SM. Heterogeneous expression of the aquaporin 1 (AQP1) water channel in tumors of the prostate, breast, ovary, colon and lung: a study using high density multiple human tumor tissue microarrays[J]. Int J Oncol, 2005, 26(5): 1149-1158.

[23] Wang W, Zheng M. Nuclear factor kappa B pathway down-regulates aquaporin 5 in the nasal mucosa of rats with allergic rhinitis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2011, 268(1): 73-81.

[24] Moine P, McIntyre R, Schwartz MD, et al. NF-kappaB regulatory mechanisms in alveolar macrophages from patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Shock (Augusta, Ga), 2000, 13(2): 85-91.

[25] Towne JE, Krane CM, Bachurski CJ, et al. Tumor necrosis factor-alpha inhibits aquaporin 5 expression in mouse lung epithelial cells[J]. J Bio Chem, 2001, 276(22): 18657-18664.

[26] Ginsberg HS, Moldawer LL, Sehgal PB, et al. A mouse model for investigating the molecular pathogenesis of adenovirus pneumonia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(5): 1651-1655.

[27] Towne JE, Harrod KS, Krane CM, et al. Decreased expression of aquaporin (AQP)1 and AQP5 in mouse lung after acute viral infection[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 22(1): 34-44.

(2017-12-14 收稿)
(本文编辑:王 蕾)