

DOI:10.16305/j.1007-1334.2023.2210085

辛前甘桔汤对慢性鼻窦炎小鼠 *lncRNA SNHG16*、*EGFR* 及 *MUC5AC* mRNA 表达的影响

施陈燕¹, 柳国斌², 孙茹¹, 张治军¹, 滕磊¹, 蔡蔚然¹, 董雪林¹, 袁波¹, 鞠晗¹, 张弢¹

1. 上海中医药大学附属曙光医院耳鼻喉科(上海 201203); 2. 上海中医药大学附属曙光医院血管外科(上海 201203)

【摘要】 **目的** 研究辛前甘桔汤对慢性鼻窦炎(CRS)小鼠长链非编码RNA小核仁RNA宿主基因16(*lncRNA SNHG16*)、表皮生长因子受体(*EGFR*)及黏蛋白5AC(*MUC5AC*)mRNA表达的影响。**方法** 36只C57BL/6小鼠随机分为正常组、模型组、羧甲司坦组及辛前甘桔汤低、中、高剂量组,每组6只。采用金黄色葡萄球菌鼻腔灌注建立小鼠CRS模型。正常组与模型组小鼠灌胃质量分数为0.9%的氯化钠溶液($0.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),辛前甘桔汤低、中、高剂量组分别灌胃辛前甘桔汤水煎液(0.3 、 0.6 、 $1.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),羧甲司坦组灌胃羧甲司坦口服液($0.3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),连续干预14 d。采用苏木精-伊红(HE)及阿尔新蓝-过碘酸雪夫(AB-PAS)染色法观察小鼠鼻黏膜结构,免疫组织化学法观察小鼠鼻黏膜*EGFR*、*MUC5AC*表达并测量光密度值;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测样本中白介素-6(IL-6)、白介素-8(IL-8)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)水平。实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测样本中*lncRNA SNHG16*、*EGFR*、*MUC5AC* mRNA的表达。**结果** 与正常组比较,模型组鼻黏膜上皮结构紊乱,IL-6、IL-8、MMP-9含量明显升高($P<0.05$),*lncRNA SNHG16*、*EGFR*、*MUC5AC* mRNA表达明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,辛前甘桔汤各剂量组IL-6水平显著降低($P<0.05$),辛前甘桔汤中、高剂量组MMP-9、IL-8水平降低($P<0.05$),辛前甘桔汤各剂量组*lncRNA SNHG16*、*EGFR*、*MUC5AC* mRNA表达显著降低($P<0.05$)。与羧甲司坦组比较,辛前甘桔汤高剂量组*lncRNA SNHG16*、*EGFR* mRNA表达降低($P<0.05$)。**结论** 辛前甘桔汤能降低*lncRNA SNHG16*、*EGFR*、*MUC5AC* mRNA表达,降低*EGFR*、*MUC5AC*蛋白表达,减少IL-6、IL-8、MMP-9表达,进而改善鼻黏膜病理改变。

【关键词】 慢性鼻窦炎;辛前甘桔汤;长链非编码RNA;表皮生长因子受体;小鼠模型;中药研究

Effects of Xinqian Ganjie Decoction on *lncRNA SNHG16*, *EGFR* and *MUC5AC* mRNA expression in chronic rhinosinusitis mice

SHI Chenyan¹, LIU Guobin², SUN Ru¹, ZHANG Zhijun¹, TENG Lei¹, CAI Weiran¹, DONG Xuelin¹, YUAN Bo¹, JU Han¹, ZHANG Tao¹

1. Department of Otolaryngology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Department of Vascular Surgery, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To Study the effects of Xinqian Ganjie Decoction (XQGJD) on long strand non coding RNA small nucleolar RNA host gene 16 (*lncRNA SNHG16*), epidermal growth factor receptor (*EGFR*) and mucin 5AC (*MUC5AC*) mRNA expression in mice with chronic rhinosinusitis (CRS). **Methods** Thirty-six C57BL/6 mice were randomly divided into six groups: normal group, model group, low-dose XQGJD group, medium-dose XQGJD group, high-dose XQGJD group and Carbocisteine group, with 6 mice in each group. The CRS model was established by intranasal infusion of *Staphylococcus aureus*. Mice in the normal group and model group were given 0.9% NaCl solution by gavage ($0.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), mice in the XQGJD groups were treated with XQGJD by gavage (0.3 , 0.6 , and $1.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ respectively), mice in the Carbocisteine group was treated with Carbocisteine by gavage ($0.3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). The treatment lasted for 14 days. The HE and AB-PAS staining were used to evaluate the structure of mouse nasal mucosa. The immunohistochemical staining was used to observe the expressions of *EGFR* and *MUC5AC*, and optical density IOD values

were measured. The contents of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), and human matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were determined by ELISA. The expressions of *lncRNA SNHG16*, *EGFR*, *MUC5AC* mRNA were detected by RT-qPCR. **Results** Compared with the normal group, the nasal mucosa epithelium in the model group was in disorder, with increased IL-6, IL-8, MMP-9 secretion

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82174447, 82104940); 上海中医药大学附属曙光医院四明临床基金项目(SCKJC-202003)

[作者简介] 施陈燕,女,主治医师,博士研究生,主要从事中西医结合治疗耳鼻咽喉疾病临床及基础研究工作

[通信作者] 张弢,副主任医师;E-mail:zhangtao.1339@163.com

($P<0.05$), increased *lncRNA SNHG16*, *EGFR*, *MUC5AC* mRNA expressions ($P<0.05$). Compared with the model group, the level of IL-6 in each dose group of XQGJD was significantly lower ($P<0.05$), the levels of MMP-9 and IL-8 in the medium and high dose groups of XQGJD were lower ($P<0.05$), and the expressions of *lncRNA SNHG16*, *EGFR*, *MUC5AC* mRNA in each dose group of XQGJD were significantly lower ($P<0.05$). Compared with Carbocisteine group, the expressions of *lncRNA SNHG16* mRNA and *EGFR* mRNA in the high-dose XQGJD group were decreased ($P<0.05$).

Conclusion Xinqian Ganjie Decoction can reduce expressions of *lncRNA SNHG16*, *EGFR* and *MUC5AC* mRNA and EGFR and MUC5AC proteins, lower IL-6, IL-8 and MMP-9 secretion, and improve the pathological changes of nasal mucosa in chronic sinusitis model mice.

Keywords: chronic rhinosinusitis; Xinqian Ganjie Decoction; long strand non coding RNA; epidermal growth factor receptor; mice model; traditional Chinese herbal medicine research

全球慢性鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)的患病率呈逐年上升趋势。欧洲 CRS 总患病率为 10.9%, 美国患病率约 11.9%^[1-2]。我国 CRS 总患病率约 8%, 近 1.07 亿人患有 CRS^[3], 目前已成为我国一个重要的社会卫生问题。CRS 临床表现为鼻塞、流涕、头痛或嗅觉减退, 且反复发作, 严重影响患者的生活质量^[4]。目前已有许多关于 CRS 病因的研究, 但其发病机制尚不明确, 仍处于探索阶段。治疗包括以足量抗生素及糖皮质激素为主的保守治疗, 以及功能性鼻内镜手术, 但存在总体治疗疗效不佳、难以抉择手术时机、术后复发率高等几大难题。中医药潜在的疗效及作用机制研究可能成为寻求 CRS 新靶点及新治疗方式的突破点。

长链非编码 RNA(lncRNA)是一类长于 200 核苷酸不编码蛋白质的 RNA 分子, 广泛涉及各种疾病的发生发展。近年来发现 lncRNA 在炎症疾病中特异性表达, 通过多种机制调控炎症信号通路或炎症因子, 发挥促炎或抗炎作用^[5]。研究^[6-7]表明, lncRNA 在鼻腔炎症疾病中扮演着重要角色, 但具体机制尚不明确。lncRNA 小核仁 RNA 宿主基因 16(*lncRNA SNHG16*)被发现 CRS 中可促进黏蛋白 5AC(MUC5AC)的表达增多^[8]。表皮生长因子受体(EGFR)作为经典的炎症信号通路, 对 MUC5AC 的分泌起调节作用^[9], 但与 *lncRNA SNHG16* 的关系尚未见报道。辛前甘桔汤是海派名医张赞臣治疗 CRS“通窍排脓法”的经验方, 能明显改善患者鼻塞、流涕等临床症状^[10]。本研究拟通过观察辛前甘桔汤对 CRS 小鼠 *lncRNA SNHG16*/EGFR 信号通路及 MUC5AC 的影响, 探索辛前甘桔汤改善 CRS 黏液高分泌的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 C57BL/6 小鼠 36 只, 雄性, 体质量 20~22 g, SPF 级, 购自上海斯莱克实验动物公司, 饲养于上海中医药大学实验动物中心。动物生产许可证号: SCXK(沪)2017-0005。动物使用许可证号: SCXK(沪)2020-0009。动物饲养环境保持昼夜节律交替, 自由饮水及进食, 温度为 20~24 °C, 湿度为 50%~70%。本实验方

案经上海中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理批准号: PZSHUTCM211227022)。

1.1.2 药物及试剂 辛前甘桔汤方组成: 辛夷 6 g, 防风 6 g, 前胡 9 g, 天花粉 9 g, 薏苡仁 12 g, 桔梗 4.5 g, 生甘草 3 g。药材均购自上海中医药大学附属曙光医院中药房。所有中药材水煎 2 次, 合并浓缩成含生药 1 g/mL 的药液, 离心取上清后滤过除菌, 冰箱 4 °C 保存备用。

羧甲司坦口服溶液, 白云山汤阴东泰药业有限责任公司(批号: 12200218513)。金黄色葡萄球菌 ATCC25923, 由上海市疾病预防控制中心提供。

总 RNA 抽提试剂(TRIZol), 美国 Invitrogen 公司(批号: 15596018); 三氯甲烷, 上海试剂一厂(批号: 2006-06-08); 异丙醇, 国药集团药业股份有限公司(批号: AR80109218); 乙醇, 国药集团药业股份有限公司(批号: AR10009218); 焦碳酸二乙酯(DEPC)水, 上海司鼎生物科技有限公司(批号: SD01005); 反转录试剂盒(RT reagent Kit)、荧光定量 qPCR 试剂盒(TB Green qPCR), 日本 Takara 株式会社(批号: RR047A、RR420A); 琼脂糖(agarose), 上海司鼎生物科技有限公司(批号: SD0241); 小鼠白介素-6(IL-6)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒、小鼠基质金属蛋白酶-9(MMP-9)ELISA 试剂盒、小鼠白介素-8(IL-8)ELISA 试剂盒, 上海司鼎生物科技有限公司(批号: SDM0008、SDM0087、SDM0140); 兔抗 MUC5AC 多克隆抗体(Rabbit Anti-MUC5AC), 北京博奥森生物技术有限公司(批号: BS-7166R); 表皮生长因子受体(EGFR)多克隆抗体, 武汉亚科因生物技术有限公司(批号: ABP51236)。

1.1.3 主要仪器 酶标检测仪, 瑞士 Tecan 公司(型号: F50); 台式冷冻高速离心机, 德国 Eppendorf 公司(型号: 5810R); 漩涡混合器, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司(型号: VORTEX-5); 高通量组织研磨器, 上海净信科技有限公司(型号: Tissuelyser-48); 分光光度计, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司(型号: NanoDrop 2000); PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司(型号: Veriti 96-Well Thermal Cycler); qPCR 仪, 瑞士 Roche 公司(型号: LightCycler® 480 II); 凝胶成像系统, 上海天能科技有

限公司(型号:GIS2009)。

1.2 分组与造模 将 36 只小鼠随机分为 6 组,分别为正常组、模型组、羧甲司坦组和辛前甘桔汤低、中、高剂量组,每组 6 只。除正常组外均行 CRS 模型造模^[11],小鼠腹腔注射地西洋 5 mg/kg 麻醉后,将膨胀海绵片置入小鼠左侧鼻腔,金黄色葡萄球菌标准菌株悬浊液左侧鼻腔内灌注。饲养 6 周后苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠鼻黏膜组织慢性炎症表现,见大量炎症细胞浸润、杯状细胞增生、纤毛脱落即表示 CRS 小鼠模型建立成功。

1.3 干预方法 造模第 43 天起灌胃给予羧甲司坦口服液(0.3 mL·kg⁻¹·d⁻¹)、辛前甘桔汤水煎液(0.3、0.6、1.2 g·kg⁻¹·d⁻¹,分别相当于成人用量的 0.5、1、2 倍),正常组与模型组小鼠灌胃质量分数为 0.9% 的氯化钠溶液(0.6 g·kg⁻¹·d⁻¹),连续干预 14 d 后,收集小鼠鼻黏膜组织,进行液氮封存待用。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 鼻黏膜组织病理学改变 取适量鼻黏膜组织,通过乙醇梯度脱水、透明、浸蜡等操作后,石蜡包埋,制作切片(厚度约 5 μm)。①常规脱蜡、脱水、二甲苯透明,封固后进行苏木精-伊红(HE)染色;②以 3% 醋酸溶液浸染 3 min,阿尔新蓝浸染 30 min,复以 3% 醋酸溶液浸染 3 min,水洗,0.5% 过碘酸溶液氧化 10 min,入希夫液中浸染 20 min,封固后进行阿尔新蓝-过碘酸雪夫(AB-PAS)染色。分别在光学显微镜下观察各组小鼠鼻黏膜组织的病理学改变。

1.4.2 鼻黏膜组织中 EGFR、MUC5AC 的表达 采用免疫组织化学法检测鼻黏膜组织中 EGFR、MUC5AC 的表达情况。取适量鼻黏膜组织,常规石蜡包埋切片,脱蜡复水,磷酸缓冲盐溶液(PBS)缓冲液清洗,使用一抗、二抗进行抗原修复,二氨基联苯胺(DAB)显色常规脱水、透明、封片后镜下观察。400 倍光镜下随机观察 6 个视野,采用 ImagePro Plus6.0(IPP 6.0)专业图像采集及分析系统计算图像积分光密度(IOD)值。

1.4.3 鼻黏膜组织中 IL-6、IL-8、MMP-9 的水平 采用 ELISA 检测鼻黏膜组织 IL-6、IL-8、MMP-9 的水平。取各组小鼠鼻黏膜组织适量,加入放射免疫沉淀(RIPA)裂解液后充分研磨组织,研磨后的组织悬液放置在 4 °C 离心机中离心 20 min(13 000 r/min),取上层澄清液。按照 ELISA 试剂盒说明书测定鼻黏膜组织上层澄清液 IL-6、IL-8、MMP-9 含量。

1.4.4 鼻黏膜组织中 *lncRNA SNHG16*、*EGFR*、*MUC5AC* mRNA 的表达 取各组小鼠鼻黏膜置于研钵中,加入 TRIzol 裂解液提取总 RNA,再逆转录合成 cDNA,以 β-肌动蛋白基因(*β-actin*)为内参进行荧光定量 PCR 扩增以检测各组小鼠鼻黏膜组织中 *lncRNA SNHG16*、*EGFR*、

MUC5AC mRNA 的表达水平。扩增引物序列见表 1。反应条件:95 °C 预变性 15 min;95 °C 变性 5 s,60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,40 个循环。利用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。

表 1 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
<i>lncRNA SNHG16</i>	上游:5'-TCTGCCTCAGACATAGTTCTCA-3'	22
	下游:5'-CCACGCCTTTCCATGATGC-3'	19
<i>EGFR</i>	上游:5'-GCCATCTGGGCCAAAGATAACC-3'	21
	下游:5'-GTCTTCGCATGAATAGGCCAAT-3'	22
<i>MUC5AC</i>	上游:5'-GGACTTCAATATCCAGCTACGC-3'	22
	下游:5'-CAGCTCAACAACACTAGGCCATC-3'	21
<i>β-actin</i>	上游:5'-AGGTGGGTGTGAACGGATTTC-3'	21
	下游:5'-TGTAGACCATGTACTTGAGGTCA-3'	23

注:*lncRNA SNHG16* 为长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 16,*EGFR* 为表皮生长因子受体基因,*MUC5AC* 为黏蛋白 5AC 基因,*β-actin* 为 β-肌动蛋白基因。

1.5 统计学方法 所有数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析处理。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据间比较用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

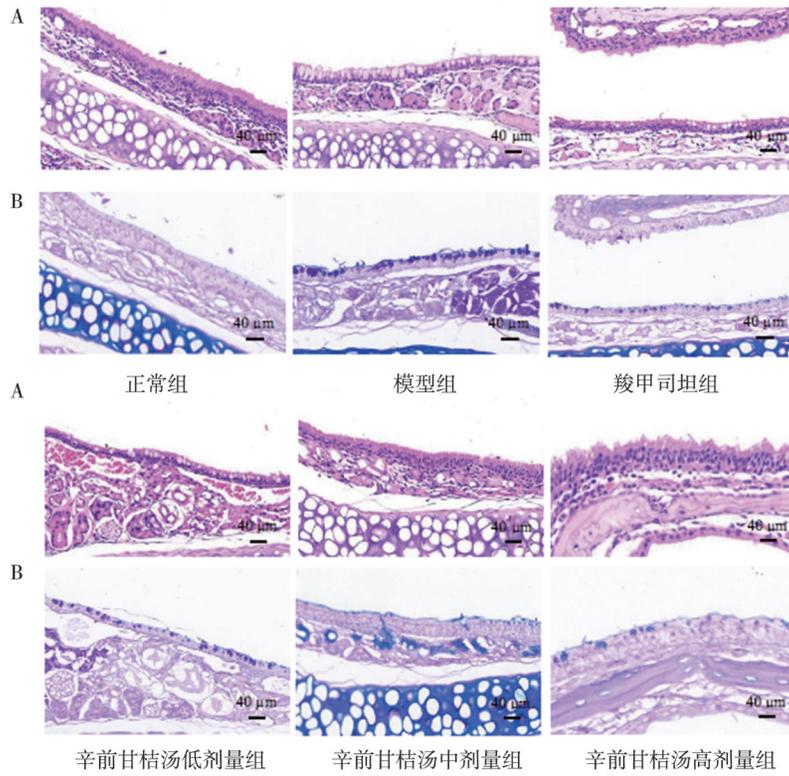
2 结果

2.1 对鼻黏膜组织病理学的影响 HE 和 AB-PAS 染色结果显示,正常组小鼠鼻黏膜上皮完整,纤毛完整,杯状细胞少见。模型组鼻黏膜上皮结构紊乱,纤毛脱落及粘连明显,杯状细胞增生,伴有大量炎症细胞浸润。与模型组比较,辛前甘桔汤不同剂量组的小鼠鼻黏膜炎症程度明显减轻,纤毛少量粘连,杯状细胞增生较模型组减轻;羧甲司坦组鼻黏膜上皮纤毛局部粘连,杯状细胞增生减轻。见图 1。

2.2 对鼻黏膜组织中 EGFR、MUC5AC 表达的影响

免疫组织化学结果显示,与正常组比较,模型组 EGFR 及 MUC5AC 表达升高。与模型组比较,辛前甘桔汤低、中、高剂量组鼻黏膜组织 EGFR、MUC5AC 的表达降低,其中辛前甘桔汤高剂量组 EGFR 及 MUC5AC 的表达最低。见图 2、图 3。与正常组比较,模型组 IOD 值升高($P < 0.05$);与模型组比较,辛前甘桔汤各剂量组 IOD 值降低($P < 0.05$),辛前甘桔汤高剂量组 IOD 值最低。辛前甘桔汤各剂量组间 EGFR 的 IOD 值差异无统计学意义($P > 0.05$),辛前甘桔汤高剂量组较辛前甘桔汤低剂量组 MUC5AC 的 IOD 值降低($P < 0.05$);与羧甲司坦组比较,辛前甘桔汤高剂量组 MUC5AC 的 IOD 值降低($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 对鼻黏膜 IL-6、IL-8、MMP-9 表达的影响 与正常组比较,模型组 IL-6、IL-8、MMP-9 含量明显升高($P < 0.05$)。



注:A为苏木精-伊红染色(×400),B为阿尔新蓝-过碘酸雪夫染色(×400)。

图1 各组鼻黏膜组织病理学变化情况

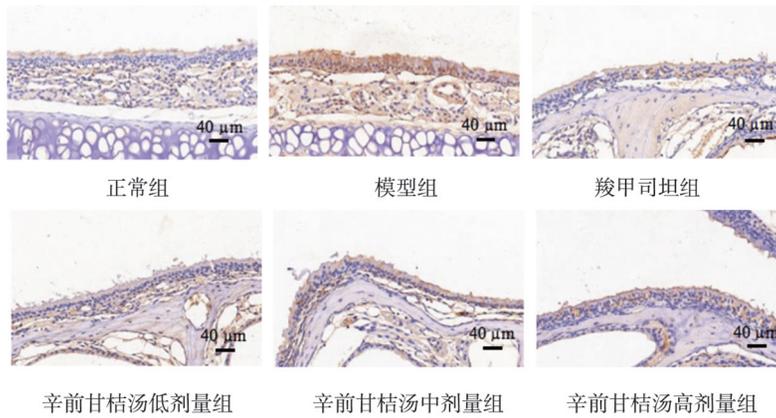


图2 各组鼻黏膜组织表皮生长因子受体(EGFR)表达情况(免疫组织化学染色,×400)

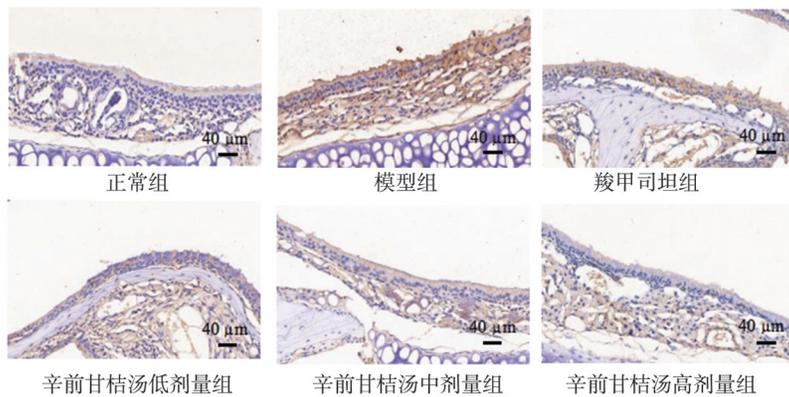


图3 各组鼻黏膜组织黏蛋白5AC(MUC5AC)表达情况(免疫组织化学染色,×400)

与模型组比较,辛前甘桔汤低、中、高各剂量组 IL-6 含量降低($P<0.05$),辛前甘桔汤中、高剂量组 MMP-9、IL-8 含量降低($P<0.05$);羧甲司坦组 IL-6 含量降低($P<0.05$), IL-8、MMP-9 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。与羧甲

表 2 各组鼻黏膜组织 EGFR、MUC5AC 光密度比较

(n=6, $\bar{x}\pm s$)

组别	EGFR	MUC5AC
正常组	14.65±3.55	24.66±7.69
模型组	164.08±33.06*	98.44±23.09*
辛前甘桔汤低剂量组	94.21±15.31**	69.32±12.96**▲
辛前甘桔汤中剂量组	75.26±20.29**	48.22±16.52#
辛前甘桔汤高剂量组	60.99±11.79**	29.09±3.81#△
羧甲司坦组	76.71±10.21**	78.22±19.39*

注:EGFR 为表皮生长因子受体, MUC5AC 为黏蛋白 5AC。与正常组比较, *P<0.05; 与模型组比较, #P<0.05; 与羧甲司坦组比较, △P<0.05; 与辛前甘桔汤高剂量组比较, ▲P<0.05。

司坦组比较, 辛前甘桔汤低剂量组 IL-6 含量差异有统计意义(P<0.05)。辛前甘桔汤各剂量组间 MMP-9、IL-8 含量差异无统计学意义(P>0.05), 辛前甘桔汤高剂量组 IL-6 含量较辛前甘桔汤低剂量组降低(P<0.05)。

表 3 各组鼻黏膜组织 MMP-9、IL-8、IL-6 含量比较(n=6, $\bar{x}\pm s$, ng·L⁻¹)

组别	MMP-9	IL-8	IL-6
正常组	653.47±149.80	310.85±42.54	60.72±8.45
模型组	2 677.52±377.42*	434.91±56.39*	160.83±16.17*
辛前甘桔汤低剂量组	1 811.38±250.81*	387.28±15.15*	94.95±5.24**△▲
辛前甘桔汤中剂量组	1 629.74±321.43**	375.50±42.23**	89.94±4.84**
辛前甘桔汤高剂量组	1 542.91±238.82#	347.48±27.72#	71.17±6.42#
羧甲司坦组	1 729.06±284.08*	371.28±69.47*	78.94±16.69**

注:MMP-9 为基质金属蛋白酶-9, IL-8 为白介素-8, IL-6 为白介素-6。与正常组比较, *P<0.05; 与模型组比较, #P<0.05; 与羧甲司坦组比较, △P<0.05; 与辛前甘桔汤高剂量组比较, ▲P<0.05。

表 4 各组鼻黏膜组织 lncRNA SNHG16、EGFR、MUC5AC mRNA 表达情况比较(n=6, $\bar{x}\pm s$, 2^{-ΔΔ}Ct)

组别	lncRNA SNHG16	EGFR	MUC5AC
正常组	0.99±0.06	1.98±0.08	3.96±0.22
模型组	1.93±0.14*	4.94±0.42*	29.75±3.82*
辛前甘桔汤低剂量组	1.50±0.43**△	3.29±0.54**△▲□	24.27±0.50**△▲□
辛前甘桔汤中剂量组	1.38±0.43**	2.50±1.99**▲	16.05±1.79**△▲
辛前甘桔汤高剂量组	1.27±0.21**△	1.99±0.47#△	4.20±1.34#
羧甲司坦组	1.35±0.14**	2.56±0.25**	5.98±1.02**

注:lncRNA SNHG16 为长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 16, EGFR 为表皮生长因子受体基因, MUC5AC 为黏蛋白 5AC 基因。与正常组比较, *P<0.05; 与模型组比较, #P<0.05; 与羧甲司坦组比较, △P<0.05; 与辛前甘桔汤高剂量组比较, ▲P<0.05; 与辛前甘桔汤中剂量组比较, □P<0.05。

3 讨论

CRS 可归属中医学“鼻渊”范畴。《素问·气厥论》载:“胆移热于脑, 则辛頞鼻渊。鼻渊者, 浊涕下不止也。”鼻渊之病因病机多为“胆移热于脑”, 症见鼻流浊涕, 量多不止。辛前甘桔汤是已故著名中医耳鼻喉科专家张赞臣先生在古方的基础上结合多年临床经验总结的“通窍排脓法”自拟经验方, 可显著改善患者鼻塞、流涕症状^[10]。全方由辛夷、防风、前胡、天花粉、薏苡仁、桔梗及生甘草组成。辛夷为君药, 入肺经, 散风寒、通鼻窍。辛夷挥发油成分丰富, 可下调炎症损伤中白

见表 3。

2.4 对鼻黏膜 lncRNA SNHG16、EGFR、MUC5AC mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组 lncRNA SNHG16、EGFR、MUC5AC mRNA 表达明显升高(P<0.05)。与模型组比较, 辛前甘桔汤低、中、高各剂量组及羧甲司坦组 lncRNA SNHG16、EGFR、MUC5AC mRNA 表达均显著降低(P<0.05)。与羧甲司坦组比较, 辛前甘桔汤低剂量组 lncRNA SNHG16、EGFR、MUC5AC mRNA 表达差异有统计学意义(P<0.05), 辛前甘桔汤中剂量组 MUC5AC mRNA 表达差异有统计学意义(P<0.05), 辛前甘桔汤高剂量组 lncRNA SNHG16、EGFR mRNA 表达明显降低(P<0.05)。辛前甘桔汤各剂量组之间 lncRNA SNHG16 mRNA 表达差异无统计学意义(P>0.05); 辛前甘桔汤各剂量组之间 EGFR、MUC5AC mRNA 表达差异均有统计学意义(P<0.05), 其表达水平随剂量的升高而降低。见表 4。

介素-1β(IL-1β)、IL-6、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及超氧化物歧化酶(SOD)表达, 具有抗炎、抗过敏、抗氧化等作用^[12]。辛夷配以防风可祛风解表解痉, 加强祛风之力。防风中色原酮、香豆素和 1-酰基甘油等有效成分还可发挥镇静镇痛作用^[13]。前胡与桔梗辛开苦降, 降气化痰。前胡有效成分北美芹素可通过阻断核因子-κB/丝裂原活化蛋白激酶(NF-κB/MAPK)信号转导, 并抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)启动和激活, 从而预防炎症^[14]。桔梗可通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路消除炎症^[15]。天花粉与薏苡仁共奏消肿排脓之功。现代药理

研究^[16-17]证明,天花粉可明显抑制巨噬细胞中一氧化氮的生成,还可分解黏蛋白稀释痰液。薏苡仁还可发挥抗炎镇痛效果^[18]。甘草调和诸药,性平温和,从而治疗 CRS。

lncRNA 在人类疾病发生发展中发挥重要的生物学功能,如染色质修饰、转录、转录后调节和核运输^[19-20]。*lncRNA SNHG16* 位于染色体 17q25.1 处,首次在侵袭性神经母细胞瘤中发现^[21],随后发现与多种癌症相关,且与预后关系密切^[22-23]。近年来研究表明,*lncRNA SNHG16* 在炎症疾病中亦表达异常。*lncRNA SNHG16* 可促进脂多糖诱导的炎症反应^[24],还可通过参与 PI3K/Akt 信号通路及转化生长因子- β (TGF- β)信号转导介导炎症反应^[25-26]。在一项非小细胞肺癌的研究^[27]中发现 MUC5AC 受 *lncRNA SNHG16* 的调控,在促进细胞增殖、迁移方面发挥积极作用。袁薇^[8]通过体外原代鼻黏膜上皮细胞培养,证实 *lncRNA SNHG16* 可促进 MUC5AC 的表达增多。MUC5AC 是鼻腔鼻窦黏膜分泌的主要黏蛋白之一,是黏液的主要组成成分。CRS 中高表达黏蛋白 MUC5AC 和黏蛋白 5B(MUC5B),从而引起黏液高分泌,是导致患者鼻腔黏液积蓄及流涕的主要病理机制^[28]。

EGFR 在鼻黏膜杯状细胞、上皮细胞和基底细胞中均有表达^[29]。EGFR 与表皮细胞生长因子(EGF)、转化生长因子- α (TGF- α)等配体结合后,与自身或家族成员形成二聚体导致磷酸化,激活下游 MAPK 信号通路^[30]、PI3K/Akt 信号通路^[31]、酪氨酸蛋白激酶/信号转导因子和转录激活因子 3(JAK/STAT3)信号通路^[32],激活 NF- κ B 转录因子或者 SP1 转录因子,促进 IL-8、IL-6 等炎症因子释放及 MUC5AC、MUC5B 的表达^[33],激活 MMP-9 的活性并增加其表达^[34]。MMP-9 是组织重塑的关键因素,而组织重塑是鼻息肉形成的主要原因^[35-36]。

本研究结果显示,模型组小鼠鼻黏膜组织炎症通路相关因子 IL-8、IL-6、MMP-9 及 EGFR 显著升高。辛前甘桔汤干预后,各项指标明显改善,且呈现浓度依赖,其中以高剂量组改善最显著,提示辛前甘桔汤可明显改善鼻黏膜炎症反应。模型组鼻黏膜杯状细胞增生明显,MUC5AC 表达升高,而辛前甘桔汤各剂量组均可有效减轻黏液高分泌。*lncRNA SNHG16* 在模型组中高表达,辛前甘桔汤各剂量组可抑制 *lncRNA SNHG16* 表达,提示辛前甘桔汤可能通过抑制 *lncRNA SNHG16* 表达、影响 EGFR 炎症通路及黏蛋白 MUC5AC 表达而对 CRS 发挥治疗作用。

综上,辛前甘桔汤能降低 *lncRNA SNHG16*、EGFR、MUC5AC mRNA 表达,降低 EGFR、MUC5AC 蛋白表达,减少 IL-6、IL-8、MMP-9 表达,进而改善鼻黏膜病理改变。

参考文献:

- [1] HASTAN D, FOKKENS W J, BACHERT C, et al. Chronic rhinosinusitis in Europe: an underestimated disease. A GA² LEN study [J]. Allergy, 2011, 66(9): 1216-1223.
- [2] HIRSCH A G, STEWART W F, SUNDARESAN A S, et al. Nasal and sinus symptoms and chronic rhinosinusitis in a population-based sample[J]. Allergy, 2017, 72(2): 274-281.
- [3] LIU Z, CHEN J J, CHENG L, et al. Chinese Society of Allergy and Chinese Society of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery Guideline for Chronic Rhinosinusitis [J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2020, 12(2): 176-237.
- [4] SCHUSTEFF R A, CHEVINKO M A, NYENHUIS S M, et al. Ecological momentary assessment of outcomes in allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis: A review[J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2022, 12(10): 1282-1290.
- [5] 裴昕昀,陈宗浩,周宇. LncRNA 与炎症性疾病关系的研究进展 [J]. 胃肠病学, 2017, 22(9): 565-568.
- [6] WANG X, ZHU X, PENG L, et al. Identification of lncRNA biomarkers and LINC01198 promotes progression of chronic rhinosinusitis with nasal polyps through sponge miR-6776-5p [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 9469207.
- [7] MA Y, SHI L, ZHENG C. Microarray analysis of lncRNA and mRNA expression profiles in mice with allergic rhinitis [J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2018, 104: 58-65.
- [8] 袁薇. 慢性鼻窦炎 lncRNA SNHG16 调控 miR-146a 从而促进 MUC5AC 表达的作用研究[D]. 南昌:南昌大学, 2021.
- [9] TAO X, LIU H, XIA J, et al. Processed product (Pinelliae Rhizoma Praeparatum) of Pinellia ternata (Thunb.) Breit. Alleviates the allergic airway inflammation of cold phlegm via regulation of PKC/EGFR/MAPK/PI3K-AKT signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 295: 115449.
- [10] 施陈燕,章静怡,滕磊,等. 辛前甘桔汤联合内舒拿治疗慢性鼻窦炎术后患者的临床观察[J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(S1): 118-121.
- [11] 邹庆云,王天宇,梁才全,等. 慢性鼻窦炎动物模型应用现状及评价指标[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019, 25(6): 687-691.
- [12] MOHAMMED H A, MOHAMMED S A A, KHAN O, et al. Topical eucalyptol ointment accelerates wound healing and exerts antioxidant and anti-inflammatory effects in rats' skin burn model[J]. J Oleo Sci, 2022, 71(12): 1777-1788.
- [13] 曹思思,史磊,孙佳琳,等. 防风的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2021, 35(1): 95-102.
- [14] ZHEN D, XUAN T Q, HU B, et al. Pteryxin attenuates LPS-induced inflammatory responses and inhibits NLRP3 inflammasome activation in RAW264.7 cells[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 284: 114753.
- [15] LI Y, WU Y, XIA Q, et al. Platycodon grandiflorus enhances the effect of DDP against lung cancer by down regulating PI3K/Akt signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 120: 109496.
- [16] HA M T, PHAN T N, KIM J A, et al. Trichosanhenemiketal A and B: Two 13, 14-seco-13, 14-epoxypteriferastanes from the root of Trichosanthes kirilowii Maxim [J]. Bioorg Chem, 2019, 83: 105-110.
- [17] 王国强. 全国中草药汇编(卷一)[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2014: 204.
- [18] 岳静,王世军. 薏苡仁及其组分对佐剂性关节炎大鼠抗炎镇痛的

作用及其机制[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(26): 4187-4192.

[19] CHEKANOVA J A. Plant long non-coding RNAs in the regulation of transcription[J]. Essays Biochem, 2021, 65(4): 751-760.

[20] YAN H, BU P. Non-coding RNA in cancer [J]. Essays Biochem, 2021, 65(4): 625-639.

[21] SU H, HU N, YANG H H, et al. Global gene expression profiling and validation in esophageal squamous cell carcinoma and its association with clinical phenotypes [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(9): 2955-2966.

[22] XU P, XIAO H, YANG Q, et al. The USP21/YY1/SNHG16 axis contributes to tumor proliferation, migration, and invasion of non-small-cell lung cancer[J]. Exp Mol Med, 2020, 52(1): 41-55.

[23] TAO L, WANG X, ZHOU Q. Long noncoding RNA SNHG16 promotes the tumorigenicity of cervical cancer cells by recruiting transcriptional factor SPI1 to upregulate PARP9 [J]. Cell Biol Int, 2020, 44(3): 773-784.

[24] WANG W, LOU C, GAO J, et al. LncRNA SNHG16 reverses the effects of miR-15a/16 on LPS-induced inflammatory pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 1661-1667.

[25] LIANG Y J, LI H, GONG X B, et al. Long non-coding RNA THRIL mediates cell growth and inflammatory response of fibroblast-like synoviocytes by activating PI3K/AKT signals in rheumatoid arthritis [J]. Inflammation, 2020, 43(3): 1044-1053.

[26] SHI X, SHAO X L, LIU B, et al. Genome-wide screening of functional long noncoding RNAs in the epicardial adipose tissues of atrial fibrillation [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020, 1866(7): 165757.

[27] HAN W, DU X, LIU M, et al. Increased expression of long non-coding RNA SNHG16 correlates with tumor progression and poor prognosis in non-small cell lung cancer [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 121: 270-278.

[28] TONG J, GU Q. Expression and clinical significance of mucin Gene in chronic rhinosinusitis [J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2020, 20(11): 63.

[29] LEE H M, CHOI J H, CHAE S W, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and its ligands in chronic sinusitis [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2003, 112(2): 132-138.

[30] KWAK S, CHOI Y S, NA H G, et al. Fipronil upregulates inflammatory cytokines and MUC5AC expression in human nasal epithelial cells [J]. Rhinology, 2020, 58(1): 66-73.

[31] FENG F, DU J, MENG Y, et al. Louqin Zhisou Decoction inhibits mucus hypersecretion for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease rats by suppressing EGFR-PI3K-AKT signaling pathway and restoring Th17/Treg balance [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 6471815.

[32] LAI X, LI X, CHANG L, et al. IL-19 up-regulates mucin 5AC production in patients with chronic rhinosinusitis via STAT3 pathway [J]. Front Immunol, 2019, 10: 1682.

[33] HAO Y, KUANG Z, JING J, et al. Mycoplasma pneumoniae modulates STAT3-STAT6/EGFR-FOXA2 signaling to induce overexpression of airway mucins [J]. Infect Immun, 2014, 82(12): 5246-5255.

[34] 陈星辰. 胶质瘤细胞中的表皮生长因子激活基质金属蛋白酶-9的分子机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.

[35] DU K, WANT M, ZHANG N, et al. Involvement of the extracellular matrix proteins periostin and tenascin C in nasal polyp remodeling by regulating the expression of MMPs [J]. Clin Transl Allergy, 2021, 11(7): e12059.

[36] LI Y, TAN G, LIU J, et al. The role of relaxin-2 in tissue remodeling of chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. Am J Rhinol Allergy, 2019, 33(5): 490-499.

编辑:季春来

收稿日期:2022-12-23

·信息窗·

“学科新探”专栏征稿启事

“学科新探”为本刊重点栏目,主要反映现代科学理念、思维以及技术手段在传统中医药研究中的应用情况。现诚向广大专家、学者征稿,具体要求如下:

1. 选题要求:结合时代特色,对传统中医学发展提出的创新性思维,或采用现代医学理念研究传统中医学的新方法,或采用现代科技手段探索传统中医学应用的新领域。总之,既体现传统,又融合新知。内容可以涉及有关中医药各学科的不同研究方向。

2. 内容要求:突出新颖性,主题明确,方法科学,数据可靠,论据充分,逻辑严谨。

3. 投稿方式:访问本刊官方网址(shzyyz.shzyyz.com),按要求提交稿件。

《上海中医药杂志》编辑部