

玉屏风散对过敏性鼻炎小鼠 GATA3, Foxp3 表达的影响

周才杰^{1*}, 王小清¹, 赵九洲², 陈宝燕¹, 王银¹

(1. 北京中医药大学 深圳医院, 广东 深圳 518172;

2. 深圳市龙岗区耳鼻咽喉医院, 广东 深圳 518172)

[摘要] 目的:研究玉屏风散对卵清蛋白(OVA)诱导的过敏性鼻炎(AR)小鼠肺组织中 GATA 结合蛋白(GATA3)和叉头转录因子3(Foxp3)蛋白表达水平的影响,初步探讨玉屏风散治疗 AR 的作用机制。方法:采用 OVA+Al(OH)₃腹腔注射致敏,然后 OVA 滴鼻激发的方法建立过敏性鼻炎小鼠模型,将小鼠分为正常组、模型组、氯雷他定组(3 mg·kg⁻¹)和玉屏风散组(6.5 g·kg⁻¹)。灌胃给药3周后,苏木素-伊红(HE)染色观察鼻黏膜组织中的肥大细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞等炎症细胞的浸润情况;酶联免疫吸附测定(ELISA)检测各组小鼠外周血中 OVA 特异性免疫球蛋白(Ig)E 及白细胞介素-4(IL-4), IL-5, γ -干扰素(INF- γ)等细胞因子水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠肺组织中 GATA3 和 Foxp3 蛋白的表达。结果:AR 模型小鼠出现挠鼻、喷嚏、流涕等症状;鼻黏膜切片 HE 染色可见 AR 小鼠鼻黏膜纤毛大量脱落,组织间质水肿明显,小血管扩张,大量嗜酸性细胞、淋巴细胞、浆细胞浸润。而玉屏风散灌胃给药可明显改善过敏性鼻炎小鼠的鼻部症状;鼻黏膜上皮结构完整,排列均匀,未见明显组织间隙水肿和血管扩张,炎症细胞浸润情况明显减轻。与正常组比较,AR 模型组小鼠外周血中 OVA 特异性 IgE 以及 IL-4, IL-5 等细胞因子水平显著升高($P<0.01$),而 INF- γ 水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,氯雷他定和玉屏风散灌胃给药能显著降低 AR 小鼠外周血中 OVA 特异性 IgE 以及 IL-4, IL-5 等细胞因子水平($P<0.05$),同时上调 INF- γ 水平($P<0.05, P<0.01$);Western blot 结果显示,与正常组比较,AR 模型组小鼠肺组织中 GATA3 蛋白的表达显著增加,而 Foxp3 蛋白的表达明显降低($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,玉屏风散能显著降低 GATA3 蛋白的表达,并显著升高 Foxp3 蛋白的表达($P<0.01$)。结论:玉屏风散对 OVA 诱导的过敏性鼻炎具有改善作用;玉屏风散可能通过调节 Th2/Treg 平衡等机制调节机体的免疫反应。

[关键词] 过敏性鼻炎;玉屏风散;胰岛素抵抗;免疫调节

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)15-0008-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201104

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200309.1227.001.html>

[网络出版日期] 2020-3-9 15:41

Effect of Yupingfeng San on Expressions of GATA3, Foxp3 in Allergic Rhinitis Mice

ZHOU Cai-jie^{1*}, WANG Xiao-qing¹, ZHAO Jiu-zhou², CHEN Bao-yan¹, WANG Yin¹

(1. Shenzhen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Shenzhen 518172, China;

2. Shenzhen Longgang ENT Hospital, Shenzhen 518172, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Yupingfeng San (YPFS) on the expressions of GATA binding protein 3 (GATA3) and forkhead transcription factor3 (Foxp3) in ovalbumin (OVA)-induced lung tissue of allergic rhinitis (AR) mice, and explore the mechanism of YPFS on AR. **Method:** The allergic rhinitismice model was established by intraperitoneally injecting with OVA and Al(OH)₃, and challenged with OVA intranasally. The mice were divided into four groups: normal, model, chloretadine(3 mg·kg⁻¹) and YPFS (6.5 g·kg⁻¹) group, the corresponding drugs were orally administrated for three weeks. At the end of administration, the infiltration of inflammatory cells, such as mast cells, eosinophils and neutrophils in nasal

[收稿日期] 20191021(021)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81503623);深圳市龙岗区医疗卫生科技计划项目(LGKCYLWS2019000131)

[通信作者] *周才杰,博士,副主任中药师,从事中药防治过敏性疾病的临床和基础研究,E-mail:azhou828@163.com

mucosa, were observed by htoxylin eosin (HE) staining. The serum concentrations of OVA-specific IgE and cytokines [interleukin-4 (IL-4), IL-5 and γ -interferon (INF- γ)] were determined by enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA). The expressions of GATA3 and Foxp3 proteins in nasal mucosa tissue were detected by Western blot. **Result:** The AR mice had such symptoms as scratching, sneezing and running nose. Nasal mucosa section by HE staining showed significant desquamation of AR mouse nasal mucosa cilia, obvious tissue stromal edema, telangiectasia, and a large number of eosinophilic cells, lymphocytes, plasma cells infiltration. YPFS obviously improved nasal symptoms of allergic rhinitis mice. Nasal mucosa epithelial structure was complete and arranged evenly, with no obvious tissue clearance edema and vasodilation, and inflammatory cell infiltration was significantly reduced. Compared with normal group, the levels of OVA specific IgE, IL-4 and IL-5 in peripheral blood of AR model group were significantly higher ($P<0.01$), and the INF- γ level was significantly lower ($P<0.01$). Compared with AR model group, the administration of chloretadine and YPFS can significantly reduce the level of OVA specific IgE and IL-4, IL-5, and increase the level of INF- γ in AR mice peripheral blood ($P<0.05$, $P<0.01$). Western blot results showed that compared with normal group, GATA3 protein expression was significantly increased, while Foxp3 protein expression was significantly decreased in AR model group ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with AR model group, YPFS inhibited GATA3, and promoted Foxp3 protein expression ($P<0.01$). **Conclusion:** YPFS has an effect in alleviating OVA-induced allergic rhinitis. YPFS may modulate the immune response by regulating the balance of Th2/Treg cells.

[Key words] allergic rhinitis; Yupingfeng San (YPFS); insulin resistance; immune regulation

过敏性鼻炎(AR)是免疫球蛋白(Ig)E介导的I型变态反应,以发作性鼻痒、阵发性喷嚏、大量清水涕和鼻塞为主要特征^[1]。据统计其全球性的发病率约为10%~40%^[2];2011年,我国18个主要城市成人AR的平均自报发病率约为17.6%,但不同地区差异很大^[3]。近年来AR发病率呈持续上升趋势,并对全球产生了严重的经济和医疗负担^[1]。目前对于AR的推荐疗法包括尽量避免接触过敏原、药物治疗和特异性免疫治疗^[1,4]。然而后两种均能引起明显的不良反应。由于中药复方具有多组分协同作用的特点,可以通过多成分、多靶点、多系统协调干预人体内源性代谢物组,调节机体的免疫网络来发挥其整体治疗作用,目前已逐渐成为抗过敏研究的一个重要领域。

变应性鼻炎属于中医学“鼻鼈”范畴,认为该病的发生与肺气虚寒密切关系,并提出了扶正固表的治疗原则^[5]。玉屏风散源于元代朱震亨的《丹溪心法》,由黄芪、白术、防风3味中药组成,主要用来治疗“肺卫气虚证”,具有益气、固表、止汗的功效,是扶正固表的经典代表方剂^[6]。现代药理研究表明,该方具有抗炎、抗感染、抗病毒等功效^[7-9],并具有广泛的调节免疫作用^[6,10]。本研究旨在探讨玉屏风散对卵清蛋白(OVA)所致小鼠AR的改善作用,并初步探究其潜在的免疫调节机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级5~6周龄雄性BALB/c小鼠,体重16~18 g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物生产合格证号SCXK(粤)2013-0002,适应性饲养1周后用于实验。本研究经北京中医药大学深圳医院伦理委员会批准(批号为深龙中医通[2017]43号)。

1.2 药物与试剂 玉屏风散由黄芪、白术、防风3味中药组成(批号分别为H5118311, F0418122, 1802001),由北京中医药大学深圳医院中药房提供,经北京中医药大学深圳医院邱连建副主任中药师鉴定均为正品,3种中药饮片按3:1:1的比例混合均匀后加水煎煮2次,每次45 min,合并2次水煎液,过滤后取药液,将药液置于恒温水浴锅中浓缩(生药量为1.47 g·g⁻¹),在真空干燥箱中干燥,然后将固体提取物粉碎成粉末,4℃保存备用。氯雷他定片(海南万特制药有限公司,批号20180302);OVA, Al(OH)₃凝胶,二甲基亚砜(DMSO)(美国Sigma公司,批号分别为A5378, 1017502, C6164);小鼠OVA酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国Biolegend公司,批号439807);白细胞介素-4(IL-4), IL-5, γ -干扰素(INF- γ) ELISA试剂(美国R&D公司,批号分别为M4000B, M5000, MIF00);GATA结合蛋白3(GATA3)和叉头转录因子3(Foxp3),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体(英国Abcam公司,

批号分别为 ab106625, ab215206, ab181602); 辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗, ECL 化学发光检测试剂盒(美国 Amresco 公司, 批号分别为 0417, RPN2209); 脱脂奶粉(美国 Bio-Rad 公司, 批号 1706404); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(美国 Thermo 公司, 批号 A53225); RIPA 裂解液, 苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(中国上海碧云天公司, 批号分别为 P0013B, C0105)。

1.3 仪器 SpectraMax®Paradigm® Multi-mode detection platform 型酶标/紫外多功能分析仪(美国 Molecular Devices 公司); ECLPSE Ci-L 型倒置相差显微镜(日本 Nikon 公司); 5427R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); PowerPac HC Power Supply 型高电流电泳仪电源 164-5052, Mini-PROTEAN Tetra cell 小型垂直电泳槽 165-8001, Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell 小型转印槽 170-3930, ChemiDoc™. MP Imaging System 图像分析系统(美国 Bio-Rad 公司); TP1020 型自动组织脱水机, ST4020 型石蜡包埋机, RM2235 型石蜡切片机(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药 AR 模型的制备方法参照文献报道的方法^[11-13]并加以改进。小鼠适应性饲养 1 周后, 按随机数字法分为 4 组, 每组 10 只, 正常组、模型组、氯雷他定组、玉屏风散组, 于第 0, 3, 7 天分别用 OVA 加铝佐剂或磷酸盐缓冲液(PBS)腹腔注射, 第 15 天起, 以 OVA 或 PBS 滴鼻激发, 每天 1 次, 连续 7 d。致敏第 0 天起, 各组均在 OVA 致敏或滴鼻前 1 h 灌胃给药, 连续给药 3 周。氯雷他定组和玉屏风散组的给药剂量分别为 0.003, 6.5 g·kg⁻¹, 正常组给予等体积的生理盐水。

2.2 症状学观察 最后 1 次 OVA 或 PBS 滴鼻激发后, 立即观察并记录 10 min 内小鼠挠鼻、喷嚏次数和鼻涕量, 采用叠加法计算所得总分, 最后总分 > 5 分, 则表示模型成功。

2.3 样本采集 第 22 天, 各组小鼠均在给药 1 h 后, 采用乙醚吸入麻醉, 摘眼球取血, 将采集的血液 4℃, 5 000×g 离心 10 min, 分离血清置于 -80℃ 冰箱中保存待测。采血后立即处死小鼠, 收集鼻黏膜组织, 采用多聚甲醛固定, 用于 HE 染色。然后在冰台上迅速分离肺脏。将肺组织迅速投入液氮, 然后转移到 -80℃ 冰箱保存, 用于指标检测。

2.4 指标检测

2.4.1 HE 染色观察鼻黏膜组织病理学变化 处

死小鼠后, 剪取鼻黏膜组织, 用 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h, 然后依次经脱水、石蜡包埋、切片及 HE 染色等操作步骤, 显微镜下观察鼻黏膜组织的病理变化。

2.4.2 ELISA 检测血清 IL-4, IL-5, IFN-γ, IgE 的含量 采用 ELISA 试剂盒检测血清中的 IL-4, IL-5, IFN-γ 等细胞因子浓度, 以及血清中的 OVA 特异性 IgE 水平, 具体操作步骤严格按照说明的要求进行。

2.4.3 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 GATA3, Foxp3 蛋白的表达 称取肺组织约 50 mg, 加入 RIPA 裂解液, 冰上匀浆, 4℃, 1 万×g 离心 10 min 后取上清液, 用 BCA 试剂盒测定其中的蛋白含量, 加入蛋白上样缓冲液后, 95℃ 水浴加热变性。制备分离胶和浓缩胶, 样品上样, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 分离蛋白; 转移至 PVDF 膜上, 加入脱脂牛奶封闭, TBST 洗涤 3 次, 加入 GATA3 和 Foxp3 一抗(1:1 000), 置于摇床上室温孵育过夜; 用 TBST 洗涤 3 次, 然后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3 000), 室温孵育 1 h, 再用 TBST 洗涤 3 次; 然后用 ECL 化学发光法试剂盒显色, 凝胶成像系统拍照。Quantity One 软件分析蛋白灰度, 以 GAPDH 作为内参, 计算目的蛋白的相对表达量。

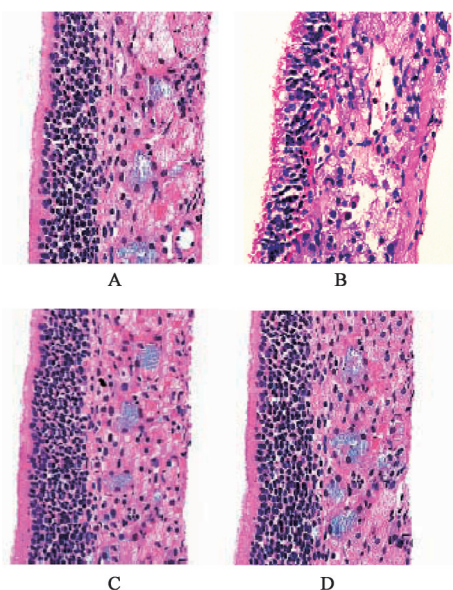
2.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 AR 小鼠一般情况的影响 激发后 AR 模型小鼠出现挠鼻、喷嚏、流涕等症状; 而玉屏风散及氯雷他定灌胃给药后可明显改善 AR 小鼠的鼻部症状。

3.2 对 AR 小鼠鼻黏膜组织病理学的影响 AR 小鼠鼻黏膜纤毛大量脱落, 组织间隙明显水肿, 毛细血管扩张, 大量淋巴细胞、浆细胞和嗜酸性粒细胞浸润。而氯雷他定组及玉屏风散组灌胃给药后, 小鼠鼻黏膜上皮结构完整, 排列均匀, 未见明显组织间隙水肿和血管扩张, 炎性细胞浸润情况明显减轻。见图 1。

3.3 对 AR 小鼠血清 sIgE, IL-4, IL-5 和 IFN-γ 水平的影响 与正常组比较, AR 模型组小鼠血清 OVA 特异性 IgE 水平以及 IL-4, IL-5 含量显著升高, 而 IFN-γ 含量显著降低($P < 0.01$)。与 AR 模型组比较, 氯雷他定组和玉屏风散组血清 OVA 特异性 IgE 以及 IL-4, IL-5 含量均明显降低, 而 IFN-γ 含量明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。



A. 正常组;B.AR模型组;C.氯雷他定组;D.玉屏风散组(图2同)

图1 玉屏风散对AR小鼠鼻粘膜组织病理学的影响(HE,×200)

Fig. 1 Effect of Yupingfeng San on nasal mucosa histopathology in AR mice(HE,×200)

表1 玉屏风散对AR小鼠血清sIgE,IL-4,IL-5和IFN-γ水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Yupingfeng San on serum sIgE, IL-4, IL-5 and IFN-γ levels in AR mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	sIgE/μg·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	IL-5/ng·L ⁻¹	IFN-γ/ng·L ⁻¹
正常	—	10.12±2.38	2.78±0.80	1.87±0.41	13.85±2.56
AR模型	—	211.82±42.68 ²⁾	28.49±6.77 ²⁾	19.09±3.39 ²⁾	2.43±0.34 ²⁾
氯雷他定	0.003	61.78±9.88 ³⁾	14.23±2.46 ³⁾	7.37±1.28 ³⁾	16.62±4.74 ³⁾
玉屏风散	6.5	92.37±15.57 ³⁾	16.14±3.85 ³⁾	9.84±2.12 ³⁾	27.65±5.89 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与AR模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2同)。

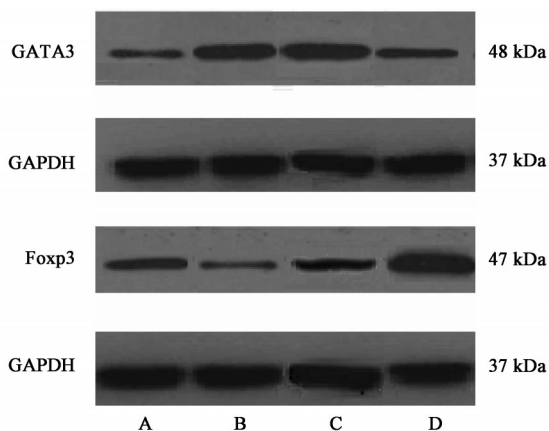


图2 各组小鼠肺组织GATA3,Foxp3蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of GATA3 and Foxp3 protein expression in lung tissue of each group mice

表达转录因子Foxp3的调节性Treg细胞天然存在于免疫系统中,他们对于维持机体的免疫耐受和免疫动态平衡至关重要,其功能障碍可能导致严重的自

3.4 对AR小鼠肺组织GATA3,Foxp3蛋白表达的影响 与正常组比较,AR模型组肺组织中GATA3蛋白表达显著升高($P<0.01$),而Foxp3蛋白表达明显降低($P<0.05$)。与AR模型组比较,玉屏风散组肺组织中GATA3蛋白表达显著降低,且Foxp3蛋白表达显著升高($P<0.01$);而氯雷他定组小鼠肺组织GATA3,Foxp3蛋白表达与模型组比较差异无统计学意义。见图2,表2。

4 讨论

AR是全球最常见的疾病之一,通常持续一生。AR的主要病理特征是Th2极化,包括Th2细胞的增加和Th2细胞过量产生Th2细胞因子^[14]。AR的另一个病理特征是免疫耐受功能受损^[15]。体内免疫耐受系统包括免疫调节细胞,如调节性T细胞(Treg)和调节性B细胞(Breg),以及由免疫调节细胞产生的细胞因子^[16-17]。Th2极化反映了免疫调节的条件。Th2极化的炎症和Treg介导的免疫失调在AR的发病机制中起关键作用。

表2 玉屏风散对AR小鼠肺组织GATA3,Foxp3蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of Yupingfeng San on GATA3 and Foxp3 protein expression in lung tissue of AR mice($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GATA3/GAPDH	Foxp3/GAPDH
正常	—	0.24±0.07	0.52±0.06
AR模型	—	0.88±0.12 ²⁾	0.17±0.04 ¹⁾
氯雷他定	0.003	0.99±0.18	0.37±0.06
玉屏风散	6.5	0.46±0.09 ⁴⁾	1.04±0.09 ⁴⁾

身免疫性疾病和过敏^[18]。Treg的功能障碍,如Foxp3的突变和转化生长因子-β(TGF-β)的产生减少,引起严重的体内炎症^[19]。过敏性疾病,比如AR,产生过量的抗原特异性IgE,Th2细胞因子等,表明免疫调节系统失调。

Th2偏向性炎症和免疫失调在AR的发病机制中起关键作用。Th2偏向性炎症的特征在于Th2细胞的深度浸润和局部组织中高水平的Th2细胞因

子^[20]。Th2细胞因子主要包括IL-4, IL-5和IL-13, 其中IL-4是特征性Th2细胞因子。IL-4启动B细胞中的IgE同种型转换以启动IgE的产生^[21]。IL-4还触发IL-5和IL-13的基因转录。GATA3在Th2细胞的分化中起主要作用, 并且是Th2细胞释放IL-4, IL-5和IL-13所必需的^[22]。此外, GATA3还能直接和Foxp3的启动子结合并抑制Foxp3基因的转录^[23]。多项研究表明, 与健康组相比, AR患者中GATA3的表达显著增加^[24-25]; 而AR患者的FOXP3⁺细胞数量和FOXP3⁺/GATA3⁺细胞降低^[26]。这些结果表明, AR患者中, Th2免疫反应引起的Treg细胞的抑制功能降低可能与过敏性炎症有关。

玉屏风散出自《丹溪心法》, 是益气固本的经典名方。该方治疗AR的疗效确切, 但关于其免疫调节机制的研究尚不够深入。研究表明, 玉屏风散能明显降低OVA所致AR大鼠血清IgE抗体水平, 改善AR症状; AR豚鼠鼻黏膜的嗜酸细胞增多、鼻黏膜溃疡、腺体增生以及充血水肿等病理学改变也得到明显改善^[27]。玉屏风散(12 g·kg⁻¹)在体内可抑制变应性鼻炎肥大细胞(MCs)脱颗粒, 体外可抑制变应性鼻炎腹腔肥大细胞(RPMC)脱颗粒释放类胰蛋白酶, 并抑制类胰蛋白酶的表达, 从而最终抑制变应性鼻炎肥大细胞的活性, 以抑制其过敏症状^[28]; 还可通过调控细胞因子的活性, 调节Th1/Th2平衡、抑制Th2优势等方面治疗AR^[29-30]。这些研究虽对玉屏风散治疗AR的机制进行了一些有益的探索, 但并未从调节Th2/Treg平衡的角度对玉屏风散的治疗机制进行论述。

本实验采用OVA加Al(OH)₃腹腔注射致敏, 然后OVA滴鼻激发的方法, 成功建立了AR小鼠模型。结果表明, 玉屏风散能显著改善AR小鼠的鼻部症状和鼻黏膜炎性细胞浸润情况; 显著降低AR小鼠外周血中OVA特异性IgE以及IL-4, IL-5等细胞因子水平, 同时上调INF- γ 水平; 能抑制GATA3蛋白的表达, 并促进Foxp3蛋白的表达。提示玉屏风散可能通过调节Th2/Treg平衡等机制调节机体的免疫反应从而对OVA诱导的AR具有治疗作用。

[参考文献]

- [1] ZELLWEGER F, EGGEL A. IgE-associated allergic disorders: recent advances in etiology, diagnosis, and treatment[J]. *Allergy*, 2016, 71(12):1652-1661.
- [2] BROŽEK J L, BOUSQUET J, AGACHE I, et al. Allergic Rhinitis and its impact on asthma (ARIA)

guidelines-2016 revision[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140(4):950-958.

- [3] WANG X D, ZHENG M, LOU H F, et al. An increased prevalence of self-reported allergic rhinitis in major Chinese cities from 2005 to 2011[J]. *Allergy*, 2016, 71(8):1170-1180.
- [4] BOUSQUET J, SCHÜNEMANN H J, SAMOLINSKI B, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(5):1049-1062.
- [5] 陈文明, 李静波, 王慧敏, 等. 温肺止流丹治疗肺气虚寒型变应性鼻炎及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(22):55-59.
- [6] 朱雪, 李珂, 陈宪海, 等. 玉屏风散对煤烟相关可吸入颗粒物致肺损伤模型小鼠免疫功能的干预作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(8):103-109.
- [7] 李青灵, 巨慧, 薛燕茹. 玉屏风颗粒对反复呼吸道感染患儿的疗效观察[J]. *中药材*, 2016, 39(5):1176-1178.
- [8] 高月娟, 刘金丽, 王景欣, 等. 玉屏风颗粒对过敏性哮喘大鼠气道炎症因子的影响[J]. *中成药*, 2016, 38(11):2466-2469.
- [9] 李荣培, 陈昕, 刘平, 等. 玉屏风散对小鼠哮喘合并人偏肺病毒感染的干预机制探讨[J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 27(8):709-713.
- [10] 李泳文, 孙麦青. 玉屏风散联合督脉铺灸对变应性鼻炎患者血清IL-6, cAMP, cGMP的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(11):163-167.
- [11] MCCUSKER C, CHICOINE M, HAMID Q, et al. Site-specific sensitization in a murine model of allergic rhinitis: role of the upper airway in lower airways disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 110(6):891-898.
- [12] LEE J E, ZHANG Y L, HAN D H, et al. Antiallergic Function of KR62980, a peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist, in a mouse allergic rhinitis model[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2015, 7(3):256-264.
- [13] SUZUKI M, YOKOTA M, NAKAMURA Y, et al. Intranasal administration of IL-35 inhibits allergic responses and symptoms in mice with allergic rhinitis[J]. *Allergol Int*, 2017, 66(2):351-356.
- [14] LEUNG J, BEUKEMA K R, SHEN A H. Allergic mechanisms of *Eosinophilic oesophagitis* [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2015, 29(5):709-720.
- [15] BERIN M C, SHREFFLER W G. Mechanisms underlying induction of tolerance to foods [J].

- Immunol Allergy Clin North Am, 2016, 36 (1) : 87-102.
- [16] OHNMACHT C. Microbiota, regulatory T cell subsets, and allergic disorders[J]. Allergo J Int, 2016, 25(5) : 114-123.
- [17] BRAZA F, CHESNE J, CASTAGNET S, et al. Regulatory functions of B cells in allergic diseases[J]. Allergy, 2014, 69(11) : 1454-1463.
- [18] SAKAGUCHI S, YAMAGUCHI T, NOMURA T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. Cell, 2008, 133(5) : 775-787.
- [19] ZHENG Y, RUDENSKY A Y. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage [J]. Nat Immunol, 2007, 8 (5) : 457-462.
- [20] VENUPRASAD K, KONG M, MICHAEL A. Control of Th2-mediated inflammation by regulatory T cells [J]. Am J Pathol, 2010, 177 (2) : 525-531.
- [21] IWAKI K, OHASHI E, ARAI N, et al. Tryptanthrin inhibits Th2 development, and IgE-mediated degranulation and IL-4 production by rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134 (2) : 450-459.
- [22] MANEECHOTESUWAN K, XIN Y, ITO K, et al. Regulation of Th2 cytokine genes by p38MAPK-mediated phosphorylation of GATA3 [J]. J Immunol, 2007, 178(4) : 2491-2498.
- [23] MANTEL P Y, KUIPERS H, BOYMAN O, et al. GATA3-driven Th2 responses inhibit TGF-beta1-induced FOXP3 expression and the formation of regulatory T cells[J]. PLoS Biol, 2007, 5(12) : e329.
- [24] MALMHÄLL C, BOSSIOS A, PULLERITS T, et al. Effects of pollen and nasal glucocorticoid on FOXP3⁺, GATA3⁺ and T-bet⁺ cells in allergic rhinitis [J]. Allergy, 2007, 62(9) : 1007-1013.
- [25] NAKAMURA Y, CHRISTODOULOPOULOS P, CAMERON L, et al. Upregulation of the transcription factor GATA3 in upper airway mucosa after *in vivo* and *in vitro* allergen challenge[J]. J Allergy Clin Immunol, 2000, 105(6) : 1146-1152.
- [26] SOGUT A, YILMAZ O, KIRMAZ C, et al. Regulatory-T, T-helper 1, and T-helper 2 cell differentiation in nasal mucosa of allergic rhinitis with olive pollen sensitivity [J]. Int Arch Allergy Immunol, 2012, 157 (4) : 349-353.
- [27] 文洁, 朱建梅, 李婕, 等. 玉屏风颗粒治疗过敏性鼻炎的实验研究[J]. 中成药, 2011, 33(6) : 934-937.
- [28] 张仲林, 钟玲, 袁明勇, 等. 玉屏风散对变应性鼻炎肥大细胞活性的抑制作用[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(1) : 1-4.
- [29] 顾珺, 沈朝斌, 陆磊, 等. 玉屏风散对过敏性鼻炎动物模型的Th1/Th2影响[J]. 中成药, 2006, 28(8) : 1163-1164.
- [30] 张仲林, 钟玲, 凌保东, 等. 玉屏风散调控变应性鼻炎大鼠IL-6、TNF- α 活性的实验研究[J]. 中成药, 2014, 36(9) : 1804-1808.
- [责任编辑 周冰冰]