

本文引用: 邓 婕, 廖远平, 颜家朝, 喻京生. 祛风止痒方超声雾化对过敏性结膜炎模型兔炎症因子 IL-3、IL-5、GM-CSF、TSLP 及相关蛋白表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(11): 1968-1974.

祛风止痒方超声雾化对过敏性结膜炎模型兔炎症因子 IL-3、IL-5、GM-CSF、TSLP 及相关蛋白表达的影响

邓 婕¹, 廖远平¹, 颜家朝², 喻京生^{1,2*}

1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙 410007

【摘要】目的 观察祛风止痒方超声雾化对过敏性结膜炎(allergic conjunctivitis, AC)模型兔结膜组织中 Janus 酪氨酸激酶 2/信号转导子和转录激活子 5(Janus kinase2/signal transducer and activator of transcription5, JAK2/STAT5)信号转导通路关键细胞因子白细胞介素-3(interleukin-3, IL-3)、白细胞介素-5(interleukin-5, IL-5)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)及胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopietin, TSLP)表达的影响。**方法** 选取健康成年新西兰长耳大白兔 36 只,按照随机数字表法分为对照组、模型组、奥洛他定组、祛风止痒组,每组 9 只。对照组不予处理,其余组分别于实验第 0、7 天予静脉注射含卵清蛋白(ovalbumin, OVA)和佐剂氢氧化铝的混合物致敏,此后每天采用 OVA、磷酸盐平衡生理盐水混合物局部每天滴眼 1 次,连续 14 d,以加强致敏,建立 AC 模型。造模成功后,奥洛他定组用盐酸奥洛他定滴眼液滴双眼,祛风止痒组用祛风止痒方超声雾化治疗,连续给药 14 d。造模期间裂隙灯下观察兔眼前节临床表现,并采用 Magone 计分法行眼部症状临床评分。末次给药 24 h 后,以摘眼球法采血并取兔眼结膜组织,ELISA 检测血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量,Western blot 检测结膜组织 JAK2、STAT5 蛋白表达水平。**结果** 模型组 Magone 评分明显高于对照组($P<0.05$),说明 AC 模型制备成功。与对照组比较,模型组兔眼部可见明显的结膜充血、分泌物及流泪表现;与模型组比较,奥洛他定组及祛风止痒组兔眼部结膜仅见少量充血、分泌物,流泪症状减轻。与对照组比较,模型组血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量均升高($P<0.05$),结膜组织中 JAK2、STAT5 蛋白表达水平平均升高($P<0.05$);与模型组比较,奥洛他定组及祛风止痒组血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量均降低($P<0.05$),结膜组织中 JAK2、STAT5 蛋白表达水平平均下降($P<0.05$);与奥洛他定组比较,祛风止痒组血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量差异均无统计学意义($P>0.05$),结膜组织中 JAK2、STAT5 蛋白表达水平平均升高($P<0.05$)。**结论** 祛风止痒方超声雾化对 OVA 诱导的 AC 样症状有明显疗效,其作用机制可能与抑制 JAK2/STAT5 信号转导通路中关键细胞因子,进而减轻炎症反应有关。

【关键词】 祛风止痒方;超声雾化;过敏性结膜炎;JAK2/STAT5 信号;白细胞介素-3;白细胞介素-5;粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子;胸腺基质淋巴细胞生成素

【中图分类号】R285.5

【文献标志码】A

【文章编号】doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.11.005

Effects of ultrasonic nebulization of Qufeng Zhiyang Formula on the expressions of inflammatory factors IL-3, IL-5, GM-CSF, TSLP, and related proteins in rabbit models of allergic conjunctivitis

DENG Jie¹, LIAO Yuanping¹, YAN Jiazhao², YU Jingsheng^{1,2*}

【收稿日期】2024-06-17

【基金项目】国家中医药管理局中医药循证能力建设项目(2019XZZX-YK007);湖南省“十四五”中医药领军人才和学科带头人培养项目(湘中医药综合处便函[2022]4号);湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30460)。

【通信作者】* 喻京生,男,教授,博士研究生导师,E-mail:yujingsheng-mike@163.com。

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] Objective To observe the effects of ultrasonic nebulization of Qufeng Zhiyang Formula (QFZYF) on the expressions of key cytokines in the Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 5 (JAK2/STAT5) signal transduction pathway, including interleukin-3 (IL-3), interleukin-5 (IL-5), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), and thymic stromal lymphopoietin (TSLP), in the conjunctival tissue of rabbit models of allergic conjunctivitis (AC). **Methods** Thirty-six healthy adult New Zealand white rabbits were selected and divided into control group, model group, olopatadine group, and QFZYF group according to the random number table method, with nine rabbits in each group. The control group received no treatment. The other groups were sensitized on days 0 and 7 by intravenous injection of a mixture containing ovalbumin (OVA) and aluminum hydroxide adjuvant; subsequently, a mixture of OVA and phosphate-buffered saline was instilled into the eyes once daily for 14 consecutive days to enhance sensitization and establish the AC model. After successful modeling, the olopatadine group was treated with olopatadine hydrochloride ophthalmic solution in both eyes, while the QFZYF group received ultrasonic nebulization therapy with QFZYF, for 14 consecutive days. During the modeling period, the anterior segment of the rabbit eye was observed under a slit lamp, and clinical scores for ocular symptoms were assessed using the Magone scoring system. Twenty-four hours after the last administration, blood was collected by enucleation, and conjunctival tissue from the rabbit eyelid was obtained. The levels of serum IL-3, IL-5, GM-CSF, and conjunctival TSLP were measured by ELISA, and the protein expression levels of JAK2 and STAT5 in conjunctival tissue were determined by Western blot. **Results** The Magone scores in the model group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$), indicating the successful establishment of the AC model. Compared with the control group, the rabbits in the model group exhibited obvious conjunctival hyperemia, secretions, and tearing in their eyes. In contrast, the rabbits in the olopatadine and QFZYF groups showed only mild conjunctival hyperemia and a small amount of secretions, with reduced tearing symptoms compared to the model group. Compared with the control group, the levels of serum IL-3, IL-5, GM-CSF, and conjunctival TSLP were elevated in the model group ($P<0.05$), and the protein expression levels of JAK2 and STAT5 in conjunctival tissue also increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the levels of serum IL-3, IL-5, GM-CSF, and conjunctival TSLP decreased in both the olopatadine and QFZYF groups ($P<0.05$), and the protein expression levels of JAK2 and STAT5 in conjunctival tissue were also reduced ($P<0.05$). However, there were no statistically significant differences in the levels of serum IL-3, IL-5, GM-CSF, and conjunctival TSLP between the olopatadine group and the QFZYF group ($P>0.05$), although the protein expression levels of JAK2 and STAT5 in conjunctival tissue were higher in the QFZYF group ($P<0.05$). **Conclusion** Ultrasonic nebulization of QFZYF has significant therapeutic effects on OVA-induced AC-like symptoms. Its mechanism of action may be related to inhibiting key cytokines in the JAK2/STAT5 signal transduction pathway, thereby reducing the inflammatory response.

[Keywords] Qufeng Zhiyang Formula; ultrasonic nebulization; allergic conjunctivitis; JAK2/STAT5 signaling; interleukin-3; interleukin-5; granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; thymic stromal lymphopoietin

过敏性结膜炎 (allergic conjunctivitis, AC) 是因结膜黏膜对环境过敏原发生过敏反应而引起的眼部疾病, 以眼部瘙痒、异物感、分泌物增多、结膜充血或水肿为主要临床特征^[1-2]。AC 可分为季节性 AC、常年性 AC、春季角结膜炎、特应性角结膜炎和巨乳头状结

膜炎。AC 的急慢性病理过程主要表现为过敏原与肥大细胞中 IgE 受体结合, 促使肥大细胞的脱颗粒或持续激活, 从而导致炎症介质释放^[3]。近年来, 越来越多研究聚焦于 Janus 酪氨酸激酶信号转导子和转录激活子 (Janus kinase/signal transducer and acti-

vator of transcription, JAK/STAT)信号通路与AC的关系,JAK-STAT信号通路与AC的发生发展密切相关^[4-5]。而白细胞介素(interleukin,IL)-3、IL-5、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor,GM-CSF)及胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin,TSLP)是AC发病机制中的重要调控因子,四者通过JAK2-STAT5信号通路传导信号^[6-9],这一过程可能是引起AC发病的重要因素。

AC属于中医学“时复目痒”“痒若虫行证”范畴,与风、湿、热密切相关^[10]。喻京生教授在《审视瑶函论·一字散》中“驱风一字散”的基础上,结合自身多年治疗AC临床经验,创立祛风止痒方。全方由防风、川芎、荆芥、白鲜皮、薄荷、苦参、冰片、千里光、地肤子9味药物组成,具有祛风止痒、清热祛湿的功效。故本研究通过建立AC模型,着眼于JAK2-STAT5信号通路,探究祛风止痒方对AC的治疗作用及其分子机制,研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年新西兰长耳大白兔36只,雌雄各半,体质量1.5~2.0 kg,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0015]。实验开始前,对36只新西兰长耳大白兔双眼进行常规检查以排除眼部病变及全身疾病,经检查无疾患。动物造模前适应性饲养7 d,恒温恒湿,自由摄食、饮水。本研究实验动物及实验条件符合国家科学技术委员会的相关规定,由湖南中医药大学实验伦理委员会批准(伦理审批号:ZUFY20230720)。

1.2 主要试剂、仪器与药品

兔抗IL-3、IL-5、TSLP、GM-CSF ELISA试剂盒(批号:RX120014SR、RX1200329R、KQ120755、RX1200012R)均购自泉州市睿信生物科技有限公司;JAK2抗体、STAT5抗体(艾方生物科技有限公司,批号:AF300324、AF300117);GAPDH抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:10494-1-AP);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(北京博奥森生物技术有限公司,批号:bs-0295G-HRP);RIPA裂解

液(上海碧云天生物技术有限公司,批号:P0013B);BCA蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:PC0020);脱脂奶粉(美国BD公司,批号:232100);致敏用卵清蛋白(ovalbumin,OVA)(美国Sigma公司,批号:A5503);磷酸盐平衡生理盐水(phosphate balanced solution,PBS)(武汉普诺赛生命科技有限公司,批号:PB180327);氢氧化铝(上海麦克林生化科技有限公司,批号:A800852-50)。

粤华超声雾化仪器(广东粤华医疗器械厂有限公司,型号:WH-2000);2~200 μ L精密移液器(德国艾本德公司,型号:3120000259);酶标仪(美国伯腾仪器有限公司,型号:Synergy H4);KHB ST-36ET洗板机(上海科华实验系统有限公司,型号:ST-36WT);电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械有限公司,型号:HDPN-88)。

祛风止痒方组成:防风10 g,荆芥10 g,川芎10 g,白鲜皮10 g,千里光10 g,地肤子10 g,苦参6 g,薄荷(后下)6 g,冰片(后下)3 g。文火煎煮400 mL收汁冷却,10层纱布过滤,袋装密封冷藏备用。每次用注射器将20 mL祛风止痒方煎液注入雾化器容器中,用雾化管连接塑料喷嘴。喷雾口正对兔双眼(兔被兔盒固定),开睑器撑开双眼眼睑接受治疗,通过超声振动使药液形成雾化分子,到达球结膜,喷雾口和角膜距离为2~3 cm,开机定时20 min,每天1次。盐酸奥洛他定滴眼液(比利时爱尔康公司,国药准字:H20130954,规格:5 mL/瓶)。

1.3 AC模型建立

根据随机数字表法取9只新西兰长耳大白兔为对照组,剩余27只参照文献方法^[11],分别于实验第0、7天给予实验兔静脉注射含OVA(1.8 mg/kg)和佐剂氢氧化铝(90 mg/kg)的混合物致敏,每只兔每次静脉注射致敏原2 mL。第8~21天用100 μ L含OVA的激发过敏原(4 mg/mL)溶于PBS(pH=7.2)滴入双眼,以加强致敏,共激发14 d。裂隙灯下观察兔眼前节,根据兔眼部症状评价模型,可观察到炎症表现。造模完成后送回动物房饲养,禁水、禁食12 h。对照组不干预,饲养过程完全同造模动物一致。

1.4 动物分组与给药

将造模成功的 27 只 AC 兔随机分为模型组、奥洛他定组和祛风止痒组,另将未做处理的兔设为对照组,每组 9 只。对照组及模型组不干预;奥洛他定组用 0.1% 盐酸奥洛他定滴眼液滴双眼,2 次/d,每次 1 滴;祛风止痒组用祛风止痒方雾化治疗,每天 1 次,每次 20 min。奥洛他定组及祛风止痒组连续给药 14 d。

1.5 标本采集与检测

1.5.1 兔眼部症状观察及评分方法 在造模 11 d 进行眼部症状评分,固定兔的头部,拍摄眼部照片。参考 MAGONE 等^[12]评分标准,采用随机双盲法对兔眼部结膜充血、结膜水肿、分泌物 3 个指标分别进行 AC 炎症评分,根据无、轻度、中度、重度分别记为 0、1、2、3 分。

1.5.2 兔结膜及眼睑组织的取材 末次给药 24 h 后,过量麻醉处死动物。沿兔外眦部分离上下眼睑,显微镜下进一步去除眼睑周围多余的肌肉、毛发组织,分离出结膜及眼睑组织,放入液氮速冻,转移至 -80 ℃ 条件下冻存备用。以摘眼球法采血,室温静置 2 h 后于 4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 20 cm),吸取上层血清,放入 EP 管中,置于 -80 ℃ 条件下冻存。

1.6 ELISA 检测兔血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量

采用 ELISA 法检测兔血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.7 Western blot 检测结膜组织 JAK2、STAT5 蛋白表达水平

从兔睑结膜组织中提取蛋白,使用 BCA 蛋白浓

度测定试剂盒测定蛋白浓度,经凝胶、电泳和转膜后,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,洗膜后分别加入 JAK2、STAT5 一抗(兔抗,稀释比例 1:1 000),以及内参蛋白 β -actin 一抗(兔抗,稀释比例 1:1 000),4 ℃ 孵育过夜。洗涤 3 次再加入二抗(山羊抗兔,稀释比例 1:10 000),室温孵育 1 h,洗涤 3 次后,化学发光显影并拍照。用 Image J 软件对蛋白条带行灰度分析,目标条带蛋白水平=目标条带灰度值/ β -actin 灰度值。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 27.0 统计软件对数据进行分析。计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,符合正态分布且方差齐的计量资料,采用方差分析进行多组变量间的相互比较,两两比较采用 LSD 检验。不符合正态分布或方差不齐的计量资料采用 Kruskal-Wallis *H* 检验。当 $P < 0.05$ 时,认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AC 兔眼前节变化及 Magone 评分比较

裂隙灯下观察兔眼前节,对照组无明显炎症反应,眼部睁开自然,眼睑正常,无溢泪、分泌物,不畏光。模型组造模第 11 天,出现较明显的炎症反应,包括结膜充血、轻度水肿等,眼部睁开稍费力,分泌物呈稀黏液状;造模第 21 天,严重者可见结膜明显充血、睑裂变小、流泪,分泌物稠黏或成颗粒状。详见图 1。

与对照组比较,模型组 Magone 评分升高($P < 0.05$);与模型组比较,奥洛他定组及祛风止痒组 Magone 评分下降($P < 0.05$);奥洛他定组与祛风止痒组间 Magone 评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见图 2。

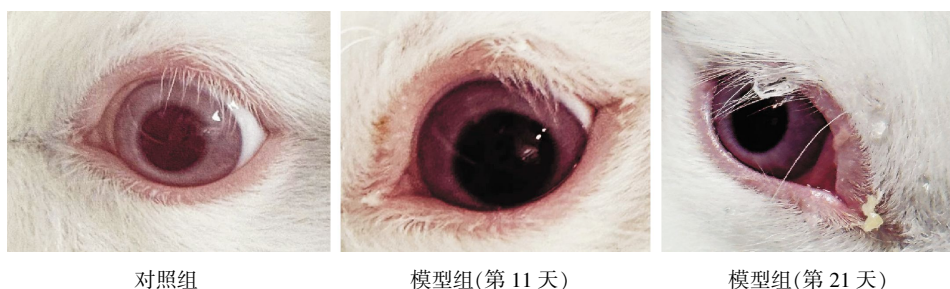


图 1 兔眼前节照相图片

Fig.1 Photographs of the rabbit anterior segment

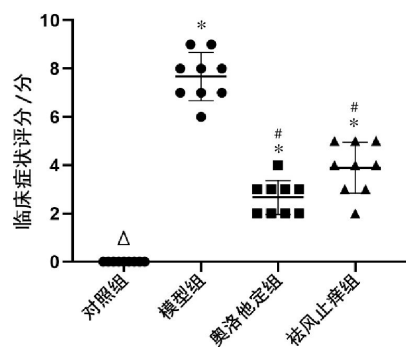


图2 造模第 11 天裂隙灯下兔眼前节 Magone 评分比较($\bar{x}\pm s, n=9$)

Fig.2 Comparison of Magone scores of the rabbit anterior segment under slit lamp on day 11 of modeling among different groups ($\bar{x}\pm s, n=9$)

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

2.2 祛风止痒方对 AC 兔血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量的影响

与对照组比较,模型组血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量均升高($P<0.05$);与模型组比较,奥洛他定组及祛风止痒组血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量均降低($P<0.05$);奥洛他定组与祛风止痒组组间血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 1。

2.3 祛风止痒方对 AC 兔结膜组织 JAK2、STAT5 蛋白表达水平的影响

与对照组比较,模型组 JAK2、STAT5 蛋白表达水平均升高($P<0.05$);与模型组比较,奥洛他定组及祛风止痒组 JAK2、STAT5 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与奥洛他定组比较,祛风止痒组 JAK2、STAT5 蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。详见表 2、图 3。

3 讨论

AC 是宿主体质和环境因素共同作用下引起免疫失调而导致结膜功能障碍的眼部疾病,是一种急性、间歇性或慢性眼表炎症反应^[13-15]。根据研究报道,当前一线用药以合理分级使用抗组胺药、肥大细胞稳定剂和糖皮质激素为主,然而不能完全满足临床需要,亟须探索新的治疗靶点及方案^[16]。

AC 属中医学“时复目痒”“痒若虫行证”等范畴,历代医家多将其发病归于风热外袭、肝血不足致虚风内动或脾胃湿热又复感风邪^[17],其中风热外袭是 AC 最突出的病机。风盛、热盛皆能致肿、致痒,故致胞睑红肿、白睛红赤、目痒难忍。祛风止痒方是喻京生教授根据《审视瑶函·论一字散》中“驱风一字散”加减所制成的中药复方。AC 多因肺卫不固,风热外侵导致,治以祛风清热、祛湿止痒。方中防风、川芎、荆芥共为君药。《本草纲目·风湿病症》载防风:“三十六般风,去上焦风邪,头目滞气,经络留湿,一身骨节痛。除风去湿仙药。”防风合川芎、荆芥,共行祛风解表之效。再取白鲜皮、苦参为清热燥湿之主药,为臣,其中白鲜皮清热燥湿,兼有祛风止痒之功;苦参燥湿杀虫,二者相伍外可驱散热邪、内可清利水湿。薄荷辛凉解表、清利头目;冰片辛香走窜,能通诸窍而明目;千里光苦寒,能治疗风热上攻所导致的目赤肿痛;地肤子祛风止痒。以上共为佐药。

中药超声雾化是将传统中药熏蒸与现代超声雾化相结合而衍生的中医外治法,本实验进行眼表超声雾化局部短期治疗,在刘玲^[18]的研究中,其安全性已被验证。

AC 的发病机制与免疫球蛋白 IgE 介导的肥大细胞活化及炎症介质的级联反应密切相关^[19]。此外,

表 1 各组兔血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量比较($\bar{x}\pm s, n=9, \text{pg/mL}$)

Table 1 Comparison of serum IL-3, IL-5, GM-CSF, and conjunctival TSLP levels in rabbits among different groups ($\bar{x}\pm s, n=9, \text{pg/mL}$)

组别	血清			结膜组织
	IL-3	IL-5	GM-CSF	TSLP
对照组	1 450.13±207.64	80.47±22.04	50.18±19.19	9.45±1.07
模型组	2 865.55±589.80*	119.75±10.80*	110.48±32.87*	13.34±2.40*
奥洛他定组	1 854.65±150.32 [#]	98.84±17.39 [#]	55.88±19.34 [#]	10.90±1.54 [#]
祛风止痒组	2 034.70±304.98 [#]	93.15±17.94 [#]	62.75±14.63 [#]	11.36±2.28 [#]

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

表2 各组兔结膜组织 JAK2、STAT5 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=9$)

Table 2 Comparison of the rabbit conjunctival JAK2 and STAT5 protein expression levels among different groups ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	JAK2	STAT5
对照组	0.67±0.07	0.59±0.09
模型组	1.07±0.08*	0.95±0.12*
奥洛他定组	0.83±0.08 [#]	0.68±0.09 [#]
祛风止痒组	0.88±0.07 ^{#△}	0.73±0.08 ^{#△}

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与奥洛他定组比较,[△] $P<0.05$ 。

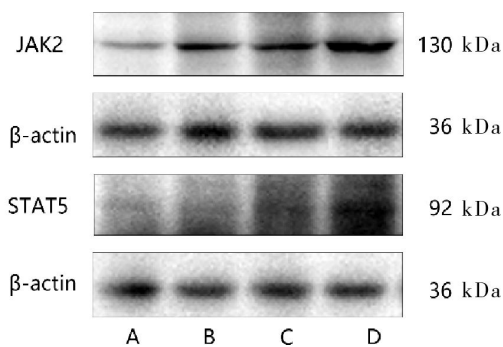


图3 各组兔结膜组织 JAK2、STAT5 蛋白条带图

Fig.3 Rabbit conjunctival JAK2 and STAT5 protein bands in each group

注:A.对照组;B.奥洛他定组;C.祛风止痒组;D.模型组。

Th1/Th2 型免疫应答反应在过敏性炎症过程中发挥至关重要的作用^[20]。IL-3 与 IL-5 分别由活化的 T 细胞和 Th2 型细胞因子产生;GM-CSF 可由自反应性 T 细胞产生。三者具有促进 IgE 产生、肥大细胞分化以及嗜酸性粒细胞生长、迁移和活化的特点,在炎症和自身免疫等疾病中发挥重要作用。TSLP 可影响 T 细胞、Th2 细胞的增殖,以及肥大细胞、先天淋巴样细胞和趋化因子的释放。本研究结果显示,祛风止痒方超声雾化可降低静脉血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量,表明祛风止痒方可有效干预 Th1/Th2 型免疫反应。

JAK/STAT 是免疫细胞因子受体、炎性信号传导的重要信号通路^[21],可通过直接介导关键细胞因子与外周感觉神经元结合引起瘙痒,引发 Th2 免疫反应,导致过敏性疾病^[22]。转录因子 STAT5 是酪氨酸激酶 JAK2 的下游物质,在信号传导和转录激活过程中起重要作用。在发生结膜过敏反应时,GM-CSF

刺激中性粒细胞前体和成熟中性粒细胞产生、增殖,人体内的中性粒细胞、嗜酸性粒细胞增多,其与受体结合能激活释放 IL-3、IL-5 等炎症因子,这些炎症因子与酪氨酸激酶相关受体结合后,可诱导激活结合于受体亚基上的 JAK2,活化的酪氨酸提供停泊位点,使 STAT5 与受体结合并在 JAK2 的作用下被磷酸化活化,介导炎症反应^[23]。另外,研究表明,TSLP 在人和小鼠细胞中通过相同的 JAK-STAT 通路发出信号^[24],TSLP 诱导 STAT5 磷酸化需要 JAK2 关键激酶。

目前,公认的研究人类 AC 发病机制及药物治疗的动物模型为使用 OVA 诱导的 AC 模型^[25]。本实验通过构建 AC 模型发现,造模第 11 天,模型组眼部症状评分较对照组显著增加,表明模型建立成功。模型组兔血清 IL-3、IL-5、GM-CSF 及结膜组织 TSLP 含量均较对照组增加。经祛风止痒方超声雾化治疗后,通过裂隙灯观察实验兔眼表炎症变化,以及检测结膜组织中 JAK2/STAT5 通路相关蛋白的表达量,均证实祛风止痒方超声雾化的治疗发挥了一定疗效。与对照组比较,模型组 IL-3、IL-5、GM-CSF、TSLP、JAK2、STAT5 的表达均增加;与模型组比较,奥洛他定组与祛风止痒组上述指标表达均减少。结果表明,奥洛他定组及祛风止痒组均可有效减轻 AC 模型兔的炎症表现。

综上所述,本实验从炎症反应角度初步证明祛风止痒方可能通过减少炎症因子生成和释放,降低 JAK2、STAT5 蛋白磷酸化水平,进而下调 JAK2/STAT5 信号通路表达,抑制结膜炎症反应,发挥治疗 AC 的作用。

参考文献

- [1] VILLEGAS B V, BENITEZ-DEL-CASTILLO J M. Current knowledge in allergic conjunctivitis[J]. Turkish Journal of Ophthalmology, 2021, 51(1): 45-54.
- [2] BIELORY L, DELGADO L, KATELARI C H, et al. ICON: Diagnosis and management of allergic conjunctivitis[J]. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 2020, 124(2): 118-134.
- [3] MISHRA G P, TAMBOLI V, JWALA J, et al. Recent patents and emerging therapeutics in the treatment of allergic conjunctivitis[J]. Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery, 2011, 5(1): 26-36.

- [4] 宋剑涛, 沈志华, 高健生, 等. 川椒方对过敏性结膜炎小鼠 IL4-JAK1-STAT6 信号通路的影响[J]. 中国中医眼科杂志, 2013, 23(4): 240-243.
- [5] 杨军, 何宏, 钟兴武. 盐酸奥洛他定滴眼液对过敏性结膜炎小鼠结膜 M 细胞增殖及白细胞介素 4、JAK1、STAT6 表达的影响[J]. 眼科新进展, 2019, 39(11): 1028-1031.
- [6] RENNER K, HELLERBRAND S, HERMANN F, et al. IL-3 promotes the development of experimental autoimmune encephalitis[J]. *Journal of Clinical Investigation Insight*, 2016, 1(16): e87157.
- [7] DOUGAN M, DRANOFF G, DOUGAN S K. GM-CSF, IL-3, and IL-5 family of cytokines: Regulators of inflammation[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 796-811.
- [8] BECHER B, TUGUES S, GRETER M. GM-CSF: From growth factor to central mediator of tissue inflammation[J]. *Immunity*, 2016, 45(5): 963-973.
- [9] CORREN J, ZIEGLER S F. TSLP: From allergy to cancer[J]. *Nature Immunology*, 2019, 20: 1603-1609.
- [10] 左倩倩, 王家宁, 宋剑涛. 中医药治疗过敏性结膜炎的研究进展[J]. 中国中医急症, 2024, 33(2): 373-376.
- [11] 梁铭辉. 卵清蛋白诱导的过敏性结膜炎对兔跨上皮角膜交联结构与功能效应的影响[D]. 厦门: 厦门大学, 2021.
- [12] MAGONE M T, CHAN C C, RIZZO L V, et al. A novel murine model of allergic conjunctivitis[J]. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1998, 87(1): 75-84.
- [13] 郑晓骏, 陈旭青. 中西医结合治疗过敏性鼻结膜炎的临床研究进展[J]. 中国中医眼科杂志, 2023, 33(3): 269-272.
- [14] 邢晓青, 宋欣欣, 刘若琼. 苍朮明目汤内服联合眼部冷湿敷治疗过敏性结膜炎临床研究[J]. 新中医, 2024, 56(9): 150-155.
- [15] MUELLER A. Allergic conjunctivitis: An update[J]. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2022, 268: 95-99.
- [16] FAUQUERT J L. Diagnosing and managing allergic conjunctivitis in childhood: The allergist's perspective[J]. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2019, 30(4): 405-414.
- [17] 钱航, 王方. 中西医结合治疗季节性过敏性结膜炎研究进展[J]. 河南中医, 2023, 43(4): 631-636.
- [18] 刘玲. 中药眼表雾化的局部安全性临床调查及实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [19] LEONARDI A, DOMINICIS C D, MOTTERLE L. Immunopathogenesis of ocular allergy: A schematic approach to different clinical entities[J]. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2007, 7(5): 429-435.
- [20] 蔡乐琪, 李晔, 柯婉仪. 过敏性结膜炎发病机制的研究进展[J]. 眼科学报, 2022, 37(4): 342-347.
- [21] SURBEK M, TSE W, MORIGGL R, et al. A centric view of JAK/STAT5 in intestinal homeostasis, infection, and inflammation[J]. *Cytokine*, 2021, 139: 155392.
- [22] MORALES J K, FALANGA Y T, DEPCRYNSKI A, et al. Mast cell homeostasis and the JAK-STAT pathway[J]. *Genes and Immunity*, 2010, 11(8): 599-608.
- [23] BANERJEE S, BIEHL A, GADINA M, et al. Erratum to: JAK-STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: Current and future prospects[J]. *Drugs*, 2017, 77(11): 1261.
- [24] ROCHMAN Y, KASHYAP M, ROBINSON G W, et al. Thymic stromal lymphopoietin-mediated STAT5 phosphorylation via kinases JAK1 and JAK2 reveals a key difference from IL-7-induced signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(45): 19455-19460.
- [25] REN N, SUN R, XIA K, et al. DNA-based hybrid hydrogels sustain water-insoluble ophthalmic therapeutic delivery against allergic conjunctivitis[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(30): 26704-26710.

(本文编辑 周旦)