

• 论著——实验研究 •

18β-甘草次酸钠对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜 TNF-α 的干预作用*

折宁宁^{1,2} 侯贇¹ 王有虎¹ 桂岩¹ 席克虎¹ 陈小婉¹
陈康兵¹ 马春霞¹ 刘小涵^{1,2} 张小兵¹

[摘要] 目的:观察 18β-甘草次酸钠(18β-SGA)对变应性鼻炎(AR)大鼠鼻黏膜肿瘤坏死因子-α(TNF-α)表达的影响,探讨 18β-SGA 对 AR 的干预机制。方法:106 只 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为空白对照组、AR 组、布地奈德组、18β-SGA 低剂量组和 18β-SGA 高剂量组。经卵清蛋白构建 AR 大鼠模型后给予药物干预,各组大鼠分别在干预 2 周和 4 周后处死,取大鼠鼻黏膜行免疫组织化学染色、RT-PCR 和免疫蛋白印迹定位、定量大鼠鼻黏膜中 TNF-α 表达。结果:经免疫组织化学、免疫印迹及 RT-PCR 发现,与空白对照组相比,AR 组大鼠鼻黏膜中 TNF-α 高表达于鼻黏膜纤毛柱状上皮、血管内皮、腺体及部分炎症细胞胞质中($P < 0.01$)。经不同剂量的 18β-SGA 干预后,TNF-α 表达量明显下降($P < 0.01$),尤以 18β-SGA 低剂量组干预 4 周后效果最明显($P < 0.01$)。结论:不同剂量的 18β-SGA 对 AR 有治疗作用,且其发挥作用的机制与抑制 TNF-α 的高表达有关。

[关键词] 18β-甘草次酸钠;鼻炎,变应性;肿瘤坏死因子-α

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2019.03.019

[中图分类号] R765.21 **[文献标志码]** A

Effects of 18β-sodium glycyrrhetic acid on TNF-α expression in rats with allergic rhinitis

SHE Ningning^{1,2} HOU Yun¹ WANG Youhu¹ GUI Yan¹ XI Kehu¹ CHEN Xiaowan¹
CHEN Kangbing¹ MA Chunxia¹ LIU Xiaohan^{1,2} ZHANG Xiaobing¹

(¹Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, 730000, China; ²Lanzhou University)

Corresponding author:ZHANG Xiaobing, E-mail: 790736924@qq.com

Abstract Objective: To observe the effect of 18β-sodium glycyrrhetic acid(18β-SGA) on the expression of TNF-α in nasal mucosa of rats with allergic rhinitis(AR), and explore the intervention mechanism of 18β-SGA on AR. **Method:** One hundred and six SPF-level Wistar rats were randomly divided into control group, AR group, budesonide group, 18β-SGA low dose group and high dose group. After the AR rat model was constructed by ovalbumin, the rats were given drug intervention and sacrificed after 2 and 4 weeks of intervention. The nasal mucosa of the rats was taken for immunohistochemical staining, RT-qPCR and Western-blotting to localize and quantify the expression of TNF-α. **Result:** By immunohistochemistry, Western-blotting and RT-PCR, TNF-α was mainly found in the columnar epithelium, vascular endothelium, glandular and some inflammatory cytoplasm of nasal mucosa. And the expression of TNF-α in the nasal mucosa of AR rats was significantly increased than the normal group at the protein and mRNA levels ($P < 0.01$). After intervention with different doses of 18β-SGA, the expression of TNF-α was significantly decreased ($P < 0.01$), especially after 4 weeks of 18β-SGA low dose group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Different doses of 18β-SGA have therapeutic effects on AR, and its mechanism of action may be related to the inhibition of TNF-α expression.

Key words 18β-sodium glycyrrhetic acid; rhinitis, allergic; tumor necrosis factor-α

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是由变应原引起的一种慢性炎症性疾病,其发病过程涉及遗传环境等多种因素^[1],由多种免疫炎症细胞和因子共同参与^[2],深入研究免疫细胞及细胞因子在 AR 中的作用机制,可为 AR 的治疗提供新的途径和方法。肿瘤

坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)是一类具有多种生物学效应的细胞因子,主要由上皮细胞、单核巨噬细胞分泌,参与免疫炎症反应^[3]。甘草次酸是中药甘草的有效成分之一,具有抗炎^[4]、抗肿瘤及调节免疫功能^[5]等多种生物学作用。杨静等^[6]发现甘草次酸的衍生物 18β-甘草次酸钠(18β-sodium glycyrrhetic acid, 18β-SGA)对 AR 有显著的治疗作用,但其具体的作用机制及作用靶点鲜见相关报道。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(No:81160449)

¹兰州大学第一医院耳鼻咽喉头颈外科(兰州,730000)

²兰州大学(兰州,730000)

通信作者:张小兵, E-mail:790736924@qq.com

本实验通过比较不同剂量的 18 β -SGA 干预后 AR 大鼠鼻黏膜中 TNF- α 的表达,探讨 18 β -SGA 在 AR 中的作用机制,为 18 β -SGA 的临床应用及 AR 的治疗提供依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

106 只 SPF 级健康 Wistar 大鼠,雌雄各半,4~6 周龄,体重 180~220 g,由甘肃中医药大学 SPF 级动物实验室提供,并饲养于该实验室。

1.2 主要试剂及仪器

卵清蛋白(Ovalbumin, OVA; 美国 Sigma 公司,批号:103521008);氢氧化铝(AR 级,天津市致远化学试剂有限公司,批号:Q/HG31857-82);布地奈德(Budesonide; 澳大利亚 AstraZeneca PtyLtd 公司,批号:LOT321459);18 β -SGA(甘肃泛植生物科技有限公司);OVA-sIgE 试剂盒(江苏晶美生物科技有限公司);RNAsimple Total RNA Kit 总 RNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司);PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser(日本 TaKaRa 公司);TB[®] Premix Ex TaqTM II 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);兔抗大鼠 TNF- α 多克隆抗体(北京博奥森生物科技有限公司,编号:bs-2081R);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(武汉博士德生物科技有限公司,编号:BA1054);兔抗大鼠 β -actin 多克隆抗体(武汉博士德生物科技有限公司,编号:BM3873);DAB 染色试剂盒及二抗试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);Light Cycler480 实时定量 PCR 仪(美国 Roche 公司);光学显微镜(型号 BX51,日本 Olympus 公司);电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);水平式电泳槽(EPS 301;美国 Amersham Pharmacia Biotech 公司)。

2 实验过程

2.1 AR 大鼠动物模型构建及评估

2.1.1 实验动物分组及模型构建 106 只 SPF 级 Wistar 大鼠以每 5~6 只为一组饲养于鼠笼中,严格控制温度、湿度及光照,观察性饲养 2 d。随机将大鼠分为空白对照组(23 只)和造模组(83 只)。

对造模组大鼠构建 AR 模型。造模方法参照文献^[7],造模分为两个阶段,第一阶段基础致敏:将 0.3 mg OVA 和 30 mg Al(OH)₃ 加生理盐水配成 1 ml 混悬液,对造模组大鼠进行腹腔注射,隔日 1 次 \times 7 次,共 14 d;第二阶段鼻腔激发(自第 15 天开

始):将致敏的大鼠以 2% OVA(50 μ l/侧 \times 2 侧鼻腔)用微量进样器滴鼻,每日 1 次 \times 7 d。空白对照组以等量生理盐水替代行基础致敏和鼻腔激发。

2.1.2 造模成功观察指标

2.1.2.1 行为学标准模型成功判定 造模第 21 天末次 OVA 滴鼻后立即观察大鼠行为学表现,记录 30 min 挠鼻数、喷嚏数以及流涕情况。鼻部症状分为 4 个等级(0~3),叠加评分总分 $>$ 5 认为造模成功(表 1)。

2.1.2.2 血清 OVA-sIgE 检测 在造模第 21 天滴鼻 24 h 后,从空白对照组和造模组中随机取 3 只大鼠,处死大鼠,取血,操作按试剂盒说明书进行,比较组间 OVA-sIgE 表达情况,若有升高且差异有统计学意义,则表示造模成功^[8]。

2.1.2.3 鼻黏膜光镜苏木精-伊红染色 选取的大鼠鼻黏膜经 10% 福尔马林固定液固定 48 h 后,梯度乙醇脱水、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、染色制作苏木精-伊红染色标本,光镜下观察,比较空白对照组和造模组大鼠鼻黏膜中的组织病理学变化情况。

2.2 药物干预及取材

评估模型构建成功后,为维持动物模型,造模组剩余大鼠继续给予 2% OVA 滴鼻,50 μ l/侧,隔日 1 次;空白对照组剩余大鼠以等量生理盐水替代。采用随机数表法将造模剩余大鼠分为 AR 组、布地奈德组(0.2 mg/kg)、18 β -SGA 高剂量组(40 mg/kg)和 18 β -SGA 低剂量组(20 mg/kg),每组 20 只。根据动物体表面积转换计算公式:大鼠给药剂量(mg/kg)=人的给药剂量(mg/m²)/大鼠的体重(kg) \times 大鼠的体表面积(m²)。布地奈德组大鼠给予布地奈德混悬液 50 μ l 每侧鼻腔,每日 3 次;以生理盐水作为溶剂,18 β -SGA 组按照设定剂量 20 mg/kg、40 mg/kg 配置 18 β -SGA 滴鼻剂,滴鼻剂量为 50 μ l 每侧鼻腔,每日 3 次。空白对照组和 AR 组以等剂量的生理盐水替代,3 次/d。

药物干预 2 周和 4 周的末次给药 24 h 后,采用 10% 的水合氯醛(3 ml/kg)麻醉大鼠,留取鼻黏膜,将一侧带骨的鼻黏膜置于 10% 福尔马林溶液中固定,用于免疫组织化学染色;另一侧鼻中隔黏膜、鼻甲及鼻窦黏膜收集放置于标记好的 1.5 ml 冻存管中,快速经液氮冻存,-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存,用于后续 RT-PCR 及 Western-blot 实验。

表 1 AR 症状评分

指标	0	1	2	3
挠鼻数(30 min)	无	1~4	$>$ 4	—
喷嚏数(30 min)	无	1~3	4~10	$>$ 11
流涕	无	未超出前鼻孔	超出前鼻孔	涕流满面

2.3 分子实验检测

2.3.1 免疫组织化学 10%福尔马林浸泡后的鼻黏膜经梯度乙醇脱水,常规石蜡包埋,切片,采用 SP 法染色,EDTA 修复,其余步骤均按照 SP 试剂盒说明进行操作,TNF- α 抗体稀释比例为 1:400,用已知阳性片作为阳性对照,一抗稀释液代替一抗作为阴性对照。3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精复染,常规脱水、透明、封片,光镜下观察。

2.3.2 RT-PCR 取出冻存的鼻黏膜,按总 RNA 提取试剂盒说明操作提取总 RNA,琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性;反转录合成 cDNA,行 PCR 扩增。经实时定量 PCR 仪记录实验所得数据及扩增曲线、溶解曲线。引物序列 TNF- α (forward: 5'-CATG-GATCTCAAAGACAACCAA -3'; reverse: 5'-CTC-CTGGTATGAAATGGCAAAT -3') 和 β -actin (forward: 5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA -3'; reverse: 5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG -3')。各样品目标基因的相对表达水平以 β -actin 为参考标准,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量。

2.3.3 Western-blot 冻存的鼻黏膜经 RIPA 裂解抽提蛋白。BCA 法定量蛋白浓度。组织上样电泳跑胶,转膜、封闭洗膜、一抗、二抗孵育,ECL 化学发光成像,Image J 软件分析。TNF- α 抗体稀释比例为 1:800,二抗比例为 1:5000。

2.4 统计学分析

用 SPSS 22.0 软件分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据符合正态分布时,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析;若非正态分布或方差不齐,采用秩和检验后进行组间的非参数检验。以 $P=0.05$ 为临界, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 动物模型评估

3.1.1 动物学行为评估 在造模第 21 天末次 OVA 滴鼻后,观察大鼠行为学,可见每只造模大鼠精神明显欠佳,出现反复抓鼻、喷嚏和流涕症状,叠加评分均超过 5 分,根据动物造模标准(表 1),认为造模成功。空白对照组大鼠精神良好,未见上述明

显症状和体征。

3.1.2 ELISA 法检测 OVA-sIgE 空白对照组和造模组大鼠的 OVA-sIgE 分别为 $(5.542 \pm 1.230) \mu\text{g/ml}$ 和 $(18.602 \pm 0.700) \mu\text{g/ml}$,造模组明显升高($P<0.01$),证明造模成功。

3.1.3 苏木精-伊红染色 病理切片镜下可见造模组大鼠鼻黏膜纤毛柱状上皮排列紊乱,部分纤毛黏集,细胞间隙明显增宽,伴有大量炎症细胞浸润,黏膜下血管及腺体增生明显,呈高分泌状态;空白对照组大鼠鼻黏膜纤毛上皮连续,未见明显的炎症细胞聚集。见图 1。

3.2 各实验方法检测结果

3.2.1 免疫组织化学染色定位 TNF- α 表达情况

如图 2 所示:TNF- α 主要表达于鼻黏膜纤毛柱状上皮(蓝色箭头)、血管内皮(绿色箭头)、腺体(黄色箭头)及部分炎症细胞中。AR 组上皮纤毛呈黏集状,上皮细胞较为稀疏,细胞排列紊乱,基膜不明显,大量腺体增生,在上皮纤毛层及血管、腺体及部分炎症细胞中可见大量棕黄色 TNF- α 表达产物;而空白对照组上皮细胞排列紧密,炎性细胞浸润较少,仅见少量棕黄色阳性产物表达。

3.2.2 RT-PCR 检测 TNF- α mRNA 量 造模组大鼠鼻黏膜 TNF- α mRNA 相对表达水平见表 2。与空白对照组相比,AR 组大鼠鼻黏膜中 TNF- α 表达量明显升高($P<0.01$)。与 AR 组相比,布地奈德组、18 β -SGA 组在干预 2 周、4 周后 TNF- α 表达量均降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。与布地奈德组相比,18 β -SGA 低剂量组在干预 2 周、4 周后 TNF- α mRNA 表达量无明显变化($P>0.05$);18 β -SGA 高剂量组在干预 2 周后 TNF- α 表达量较高($P<0.05$),干预 4 周后表达量下降,但差异无统计学意义($P>0.05$)。与 18 β -SGA 低剂量组相比,18 β -SGA 高剂量组干预 2 周后差异有统计学意义($P<0.05$),4 周后差异无统计学意义($P>0.05$)。

3.2.3 Western-blot 检测 TNF- α 表达情况

Western-blot 实验各组大鼠鼻黏膜 TNF- α 蛋白相对表达水平见图 3。与空白对照组相比,AR 组 TNF- α 表达量明显升高($P<0.01$)。与 AR 组相

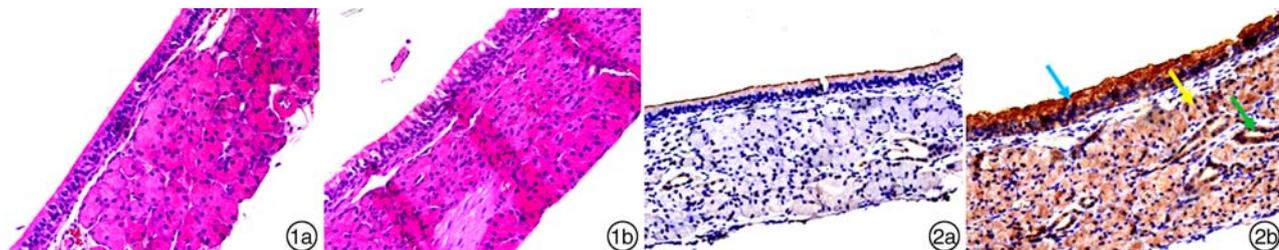
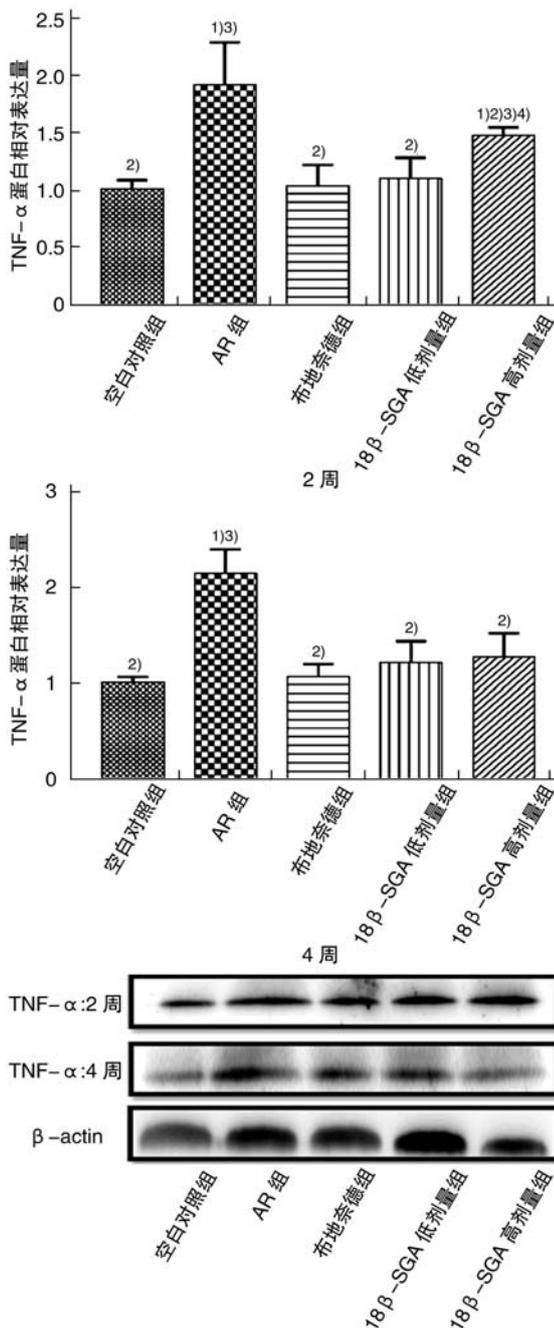


图 1 大鼠鼻黏膜苏木精-伊红染色结果($\times 400$) 1a:空白对照组;1b:造模组; 图 2 大鼠鼻黏膜 TNF- α 表达情况($\times 400$) 2a:空白对照组;2b:AR 组。

表 2 大鼠鼻黏膜 TNF-α 的表达情况

组别	2 周	4 周
空白对照组	1.0748±0.0850	1.0817±0.1739
AR 组	3.5619±0.2777 ¹⁾	3.9481±0.4928 ¹⁾
布地奈德组	1.1125±0.0867 ²⁾	1.1413±0.1975 ²⁾
18β-SGA 低剂量组	1.0944±0.1005 ²⁾	1.1665±0.1801 ²⁾
18β-SGA 高剂量组	2.2392±0.1774 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	1.3216±0.0965 ²⁾

与空白对照组比较,¹⁾ P<0.01;与 AR 组比较,²⁾ P<0.01;与布地奈德组比较,³⁾ P<0.05;与 18β-SGA 低剂量组比较,⁴⁾ P<0.05。



与空白对照组比较,¹⁾ P<0.01;与 AR 组比较,²⁾ P<0.01;与布地奈德组比较,³⁾ P<0.05;与 18β-SGA 低剂量组比较,⁴⁾ P<0.05。

图 3 大鼠鼻黏膜 TNF-α 蛋白相对表达情况

比,布地奈德组、18β-SGA 低剂量组和 18β-SGA 高剂量组在干预 2 周、4 周后 TNF-α 表达量均降低,且差异有统计学意义(P<0.01)。与布地奈德组相比,18β-SGA 低剂量组在干预 2 周、4 周后差异无统计学意义(P>0.05);18β-SGA 高剂量组在干预 2 周后表达量较高(P<0.05),4 周后差异无统计学意义(P>0.05)。与 18β-SGA 低剂量组相比,18β-SGA 高剂量组在干预 2 周后差异有统计学意义(P<0.05),4 周后差异无统计学意义(P>0.05)。

4 讨论

甘草次酸是中药甘草的有效成分之一,其能够提高吞噬细胞的吞噬功能,调节淋巴细胞数量,抑制 IgE 生成,从而起到抗炎、抗变态反应的功效^[9]。Han 等^[10]证明甘草次酸可以介导免疫球蛋白 IgE 水平,以剂量依赖的方式抑制 IL-4 升高,调控 Th1/Th2 细胞免疫平衡。新近研究发现 18β-甘草次酸作为甘草次酸的衍生物,具有抗溃疡、抗炎和其他药理作用,在哮喘等变应性疾病中有广泛的应用^[11]。前期实验中发现 18β-甘草次酸可以改善 AR 大鼠纤毛上皮结构损伤^[12],减少炎症细胞浸润,减轻腺体增生^[13],但其调控炎症细胞浸润和改善上皮损伤的具体作用机制尚不清楚。

TNF-α 是一种具有广泛生物学活性的细胞因子,在机体免疫炎症反应中起到重要作用^[14]。研究发现 TNF-α 可作用于肥大细胞^[15]、T 细胞^[3]等,相互影响,共同构成复杂的免疫网络。Minhas 等^[16]发现 TNF-α 的增加与 AR 的发病明显相关。本研究通过 Western-blot 和 RT-PCR 发现,与空白对照组相比 AR 组大鼠鼻黏膜中 TNF-α 表达明显增高,证明 TNF-α 在 AR 中发挥重要作用。在探讨 TNF-α 的作用机制时,邹纪东等(2004)发现 TNF-α 通过表达于息肉组织的结构细胞和炎症细胞中,对多种组织器官产生生物学作用。在 AR 中,王忠喜等(2006)研究认为 TNF-α 可以诱导多种炎症因子释放,促进下游肥大细胞、嗜酸粒细胞激活和聚集,诱导 T、B 淋巴细胞分化^[17],作用于血管内皮细胞和腺体,导致血管扩张和腺体高分泌状态^[3]。本实验通过免疫组织化学发现 TNF-α 高表达于 AR 大鼠鼻黏膜纤毛柱状上皮、血管内皮细胞、腺体及部分炎症细胞胞质中,进一步从组织形态学上证明 TNF-α 通过调控多种组织结构细胞和炎症细胞参与 AR 的发生,造成鼻黏膜的病理性改变。

既往研究认为甘草次酸及其提取物对 TNF 合成释放有抑制作用,是其发挥抗炎、抗过敏作用的重要机制。Bodet 等^[18]发现甘草提取物能够抑制 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 等炎性递质的分泌。Chang 等(2010)发现甘草次酸可以抑制 TNF-α 刺激的 ICAM-1 表达,从而减轻内皮细胞的损伤。

Zhang 等^[19]在哮喘中发现甘草次酸可以通过调控 ERK1/2 信号通路以及抑制 TNF- α 、IL-4 等炎症因子的表达从而介导支气管哮喘平滑肌细胞增殖和凋亡。本实验采用水溶性更好的甘草次酸的钠盐制剂 18 β -SGA 干预 AR 大鼠,观察大鼠生物学行为变化及相关因子表达情况。经 18 β -SGA 干预 2 周后,可见大鼠挠鼻、流涕等症状较 AR 组有所减轻,同时经 Western-blot 和 RT-PCR 发现鼻黏膜中 TNF- α 表达量有所降低;干预时间延长 4 周后,可见大鼠挠鼻、流涕、打喷嚏均较 AR 组明显减少,且大鼠鼻黏膜 TNF- α 在 mRNA 和蛋白水平与空白对照组相比无明显差异,尤其是 18 β -SGA 低剂量组干预 4 周后效果最佳。说明 18 β -SGA 可通过抑制前炎症因子 TNF- α 的表达,减少后续炎症细胞及炎症因子的激活释放,避免炎症细胞网络交互作用的形成,从而改善大鼠鼻黏膜的免疫炎症反应情况,减轻 AR 大鼠鼻塞、鼻涕等症状(图 4)。

本研究证实了 18 β -SGA 作为一种有效的抗炎抗过敏药物,可通过下调 TNF- α 的表达,抑制下游细胞因子网络激活,从而抑制 AR 的进程,对 AR 起到治疗作用。

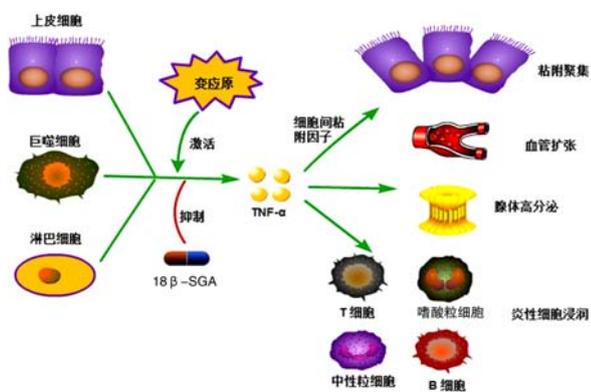


图 4 TNF- α 在 AR 中的作用机制及 18 β -SGA 的抑制机制

参考文献

[1] CINGI C, GEVAERT P, MOSGES R, et al. Multimorbidities of allergic rhinitis in adults: European academy of allergy and clinical immunology task force report[J]. Clin Transl Allergy, 2017, 7: 17.

[2] ROSS S M. Allergic rhinitis: A proprietary extract of pinus pinaster aitona (pynogenol) is found to improve the symptoms associated with allergic rhinitis[J]. Holist Nurs Pract, 2016, 30: 301-304.

[3] IWASAKI M, SAITO K, TAKEMURA M, et al. TNF- α contributes to the development of allergic rhinitis in mice[J]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 112: 134-140.

[4] CHEN H J, KANG S P, LEE I J, et al. Glycyrrhetic acid suppressed NF- κ B activation in TNF- α -induced hepatocytes[J]. J Agric Food Chem, 2014, 62: 618-625.

[5] PARK H Y, PARK S H, YOON H K, et al. Anti-allergic activity of 18 beta-glycyrrhetic acid-3-O-beta-D-glucuronide[J]. Arch Pharm Res, 2004, 27: 57-60.

[6] 杨静, 席克虎, 桂岩, 等. 18 β -甘草次酸钠滴鼻对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜上皮纤毛的影响[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 29(23): 2060-2064.

[7] 赵宇, VAN HASSELT C A, 吴港生, 等. 卵白蛋白经鼻致敏建立变应性鼻炎动物模型[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2005, 40(3): 18-22.

[8] 张建辉, 唐嗣泉. 血清总 IgE、INF- γ 、IL-4 作为变应性鼻炎动物模型建立的客观评价指标初探[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 29(15): 1372-1374.

[9] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分抗炎与抗炎机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(4): 261-268.

[10] HAN S, SUN L, HE F, et al. Anti-allergic activity of glycyrrhizic acid on IgE-mediated allergic reaction by regulation of allergy-related immune cells[J]. Sci Rep, 2017, 7: 7222.

[11] KIM S H, HONG J H, LEE J E, et al. 18 β -Glycyrrhetic acid, the major bioactive component of Glycyrrhizae Radix, attenuates airway inflammation by modulating Th2 cytokines, GATA-3, STAT6, and Foxp3 transcription factors in an asthmatic mouse model[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2017, 52: 99-113.

[12] 江英, 席克虎, 陈小婉, 等. 18 β -甘草次酸对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜纤毛超微结构的影响[J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(1): 26-33.

[13] 李娟丽, 席克虎, 侯赟, 等. 18 β -甘草次酸对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜中 CCL11、AQP1 和 EOS 表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2015, 46(3): 389-393.

[14] ARTIS D, HUMPHREYS N E, BANCROFT A J, et al. Tumor necrosis factor α is a critical component of interleukin 13-mediated protective T helper cell type 2 responses during helminth infection[J]. J Exp Med, 1999, 190: 953-962.

[15] KIM Y S, KO H M, KANG N I, et al. Mast cells play a key role in the development of late airway hyperresponsiveness through TNF-alpha in a murine model of asthma[J]. Eur J Immunol, 2007, 37: 1107-1115.

[16] MINHAS K, MICHEAL S, AHMED F, et al. Strong association between the-308 TNF promoter polymorphism and allergic rhinitis in Pakistani patients[J]. J Investig Allergol Clin Immunol, 2010, 20: 563-566.

[17] 林钦, 付芬兰, 郑宗富. 肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素在变应性鼻炎中的作用[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(28): 6808-6809.

[18] BODET C, LA V D, GAFNER S, et al. A licorice extract reduces lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine secretion by macrophages and whole blood[J]. J Periodontol, 2008, 79: 1752-1761.

[19] ZHANG T, LIAO J Y, YU L, et al. Regulating effect of glycyrrhetic acid on bronchial asthma smooth muscle proliferation and apoptosis as well as inflammatory factor expression through ERK1/2 signaling pathway[J]. Asian Pac J Trop Med, 2017, 10: 1172-1176.

(收稿日期: 2018-10-10)