

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202524228

· 耳科疾病专栏 ·

香菊胶囊对分泌性中耳炎大鼠水通道蛋白与细菌生物膜形成及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响

郑妍妍, 段耀东, 韩丽, 王明璋

(北京市大兴区中西医结合医院耳鼻咽喉科, 北京 100076)

摘要: **目的** 探究香菊胶囊对分泌性中耳炎大鼠水通道蛋白(AQP)、细菌生物膜形成及 Toll 样受体 4 (TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路的影响。**方法** 60 只大鼠按照随机数字方法分为正常组、模型组、香菊胶囊低剂量组、香菊胶囊中剂量组、香菊胶囊高剂量组及阳性对照组, 每组各 10 只。除正常组外均建立分泌性中耳炎动物模型, 建模过程中模型组死亡 2 只, 香菊胶囊低剂量组死亡 1 只。建模后, 香菊胶囊低、中、高剂量组连续 14 d 灌胃 0.36 g/100 mL、0.54 g/100 mL 及 0.72 g/100 mL 的香菊胶囊溶液, 阳性对照组灌胃 0.003 g/100 mL 的强的松, 其余大鼠灌胃等体积的蒸馏水。比较鼓膜炎症评分, 血清 AQP1、AQP4 及 AQP5 水平, 细菌生物膜, 病理形态及 NF- κ Bp65、TLR4 蛋白水平。**结果** 与正常组相比, 模型组鼓膜炎症评分、AQP4、NF- κ Bp65、TLR4 蛋白水平升高, AQP1 及 AQP5 水平降低($P < 0.05$); 与模型组相比, 香菊胶囊不同剂量组鼓膜炎症评分、AQP4、NF- κ Bp65、TLR4 蛋白水平降低, AQP1 及 AQP5 水平升高($P < 0.05$); 但香菊胶囊中剂量与阳性对照组比较无差异($P > 0.05$); 与香菊胶囊中剂量组相比, 香菊胶囊高剂量组鼓膜炎症评分、AQP4、NF- κ Bp65、TLR4 蛋白水平降低, AQP1 及 AQP5 水平升高($P < 0.05$)。正常组未见细菌生物膜形成; 模型组大鼠细菌生物膜呈现簇状团块且面积较大; 香菊胶囊低剂量组可见雾状细菌生物膜; 香菊胶囊中剂量组、高剂量组及阳性对照组均未见细菌生物膜聚集。正常组黏膜上皮细胞排列整齐, 且血管及纤维细胞丰富, 未见明显炎症及增生。模型组大鼠的黏膜上皮细胞出现严重坏死, 黏膜增厚且具有大量炎症细胞浸润, 纤维组织增生显著。香菊胶囊低剂量组存在少量炎症细胞浸润, 少量组织增生; 香菊胶囊中剂量及阳性对照组病理组织相似, 极少量纤维组织增生; 香菊胶囊高剂量组趋于正常。**结论** 香菊胶囊可抑制细菌生物膜形成, 通过降低 AQP4 表达, 提高 AQP1 及 AQP5 表达水平进而控制分泌性中耳炎病情, 其机制可能与抑制 NF- κ Bp65、TLR4 蛋白激活相关。

关键词: 分泌性中耳炎; 香菊胶囊; 鼓膜炎症评分; 细菌生物膜; 水通道蛋白

中图分类号: R764.21

Effects of Xiangju capsule on aquaporin, bacterial biofilm formation and TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats with secretory otitis media

ZHENG Yanyan, DUAN Yaodong, HAN Li, WANG Mingxuan

(Department of Otolaryngology, Beijing Daxing District Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing 100076, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of Xiangju capsule on aquaporin (AQP), bacterial biofilm formation and Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor - κ B (NF- κ B) signaling pathway in rats with secretory otitis media.

Methods A total of 60 rats were randomly divided into the normal group, the model group, the low-, medium- and high-dose groups of Xiangju capsule and positive control group, with 10 rats in each group. Except for the normal group, animal models of secretory otitis media were established in all other groups. During the modeling process, 2 rats died in the model group and 1 in the low-dose group of Xiangju capsule. After modeling, the low-, medium- and high-dose groups of Xiangju capsule were intragastrically administered with 0.36 g/100 mL, 0.54 g/100 mL and 0.72 g/100 mL of Xiangju capsule solution respectively for 14 consecutive days. The positive control group was intragastrically given 0.003 g/100 mL of

第一作者简介: 郑妍妍, 女, 硕士, 主治医师。

通信作者简介: 韩丽, 女, 博士, 主任医师; 王明璋, 男。

prednisone, while the rest of the rats were intragastrically administered with the same volume of distilled water. The score of tympanic membrane inflammation, serum levels of AQP1, AQP4 and AQP5, bacterial biofilm, pathological morphology and protein levels of NF- κ Bp65 and TLR4 were compared among the groups. **Results** Compared with the normal group, the score of tympanic membrane inflammation, the protein levels of AQP4, NF- κ Bp65, TLR4 were increased in the model group, while the levels of AQP1 and AQP5 were decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, the score of tympanic membrane inflammation, the protein levels of AQP4, NF- κ Bp65 and TLR4 in low-, medium- and high-dose groups of Xiangju capsule were decreased, and the levels of AQP1 and AQP5 were increased ($P < 0.05$). However, there was no difference between the medium-dose group of Xiangju capsule and the positive control group ($P > 0.05$). Compared with the medium-dose group of Xiangju capsule, the tympanic membrane inflammation score, the protein levels of AQP4, NF- κ Bp65 and TLR4 were decreased in the high-dose group of Xiangju capsule, and the levels of AQP1 and AQP5 were increased ($P < 0.05$). No bacterial biofilm formation was observed in the normal group. The bacterial biofilms in the model group presented cluster-like masses and were relatively large in area. In the low-dose group, fog-like bacterial biofilms could be observed. No bacterial biofilm aggregation could be observed in the medium-dose, high-dose groups of Xiangju capsule and the positive control group. In the normal group, the mucosal epithelial cells were neatly arranged, and blood vessels and fibrocytes were abundant, without obvious inflammation and hyperplasia. In the model group, the mucosal epithelial cells showed severe necrosis, the mucosae were thickened with a large amount of inflammatory cell infiltration, and the fibrous tissue hyperplasia was significant. In the low-dose group of Xiangju capsule, there was a small amount of inflammatory cell infiltration and a small amount of tissue hyperplasia. The histopathological tissues of the positive control group and the medium-dose group of Xiangju capsule were similar, with only a very small amount of fibrous tissue hyperplasia. The high-dose group of Xiangju capsule tended to be normal. **Conclusions** Xiangju capsule can inhibit the formation of bacterial biofilm and reduce AQP4, increase the levels of AQP1 and AQP5, and thereby control the condition of secretory otitis media. The mechanism may be related to inhibiting the activation of NF- κ Bp65 and TLR4 proteins.

Keywords: Secretory otitis media; Xiangju capsule; Tympanic membrane inflammation score; Bacterial biofilm; Aquaporin

分泌性中耳炎是咽鼓管不通畅或阻塞后等引起的以传导性聋和鼓室积液的病理改变,患者可有耳痛、听力下降、耳道内流水等临床表现^[1]。流行病学显示,约有60%小于2岁的儿童罹患分泌性中耳炎,到学龄前这一比率高达约90%^[2]。水通道蛋白(aquaporin, AQP)是一种位于细胞膜上的蛋白质,其与水的分泌吸收及细胞内外水的平衡相关。AQP与分泌性中耳炎发生发展存在关联,AQP4在中耳炎中表达升高,可参与疾病进展^[3]。细菌生物膜是由细菌粘附于非生物表面的富含细菌及细胞外多糖的结构,并参与中耳炎发病过程。分泌性中耳炎发生发展过程中存在某些信号通路的异常表达,包含Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)/核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)信号通路。有研究表明,在分泌性中耳炎动物模型中TLR4表达激活可能通过髓样分化因子88-依赖途径激活NF- κ B等信号通路,促进炎症细胞因子释放,进一步促进疾病进展^[4]。当前,中成药在中耳炎的临床治疗过程中受到重视,香菊胶囊由多种药材组成的具有祛风通窍、解毒固表的药物,已经被应用于治疗鼻炎、中耳炎,疗效较好^[5]。但香菊胶囊在中耳炎的作用机制如何还不得而知,故本

文探究香菊胶囊对分泌性中耳炎大鼠AQP、细菌生物膜形成及TLR4/NF- κ B信号通路的影响,以期对相关研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60只SPF级SD雄性大鼠,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号:SCXK(上)20220009。大鼠的平均体重为(220±30)g,温度为23℃,湿度55%~60%环境下饲养,所有大鼠实验前经动物实验检疫中心检验正常,按照《实验动物管理条例》进行实验。

1.2 药物及主要试剂、仪器

本实验主要药物及主要试剂、仪器具体见表1。

1.3 分组、建模及干预方法

60只大鼠按照随机数字方法分为正常组、模型组、香菊胶囊低剂量组、香菊胶囊中剂量组、香菊胶囊高剂量组及阳性对照组,每组各10只。除正常组外均进行建模:按照文献^[6]建立分泌性中耳炎动物模型,将1.2mg的OVA溶于0.6mL的磷酸盐缓冲

液(phosphate buffer solution, PBS)中,同时采用5.14 mg氢氧化铝作为免疫佐剂经腹腔注射1次/周,共2次,该阶段为致敏阶段。14 d后,4%戊巴比妥钠以40 mg/kg腹腔麻醉后,将15 μL的OVA + PBS混合液注射于鼓膜前下方鼓室,24 h再次麻醉,再注射1次,该阶段为耳内激发阶段。OVA先经腹腔注射联合佐剂对动物全身致敏,再通过鼓膜注入中耳局部激发,可触发I型变态反应。该反应会诱导嗜酸性粒细胞等炎性细胞浸润中耳黏膜,释放组胺等介质,导致黏膜水肿、血管扩张及渗出液形成,模拟变态反应相关分泌性中耳炎病理过程。24 h后采用耳内镜观察鼓膜形态及中耳腔内积液,当出现鼓膜充血、光锥消失、鼓室浑浊、鼓室积液征、苏木精-伊红(HE)染色结果显示听泡黏膜明显增厚、部分黏膜上皮纤毛排列紊乱、黏膜组织肿胀及可见较多炎性细胞浸润时,则为建模成功。

建模过程中模型组感染死亡2只,香菊胶囊低剂量组死亡1只,其余均建模成功。建模成功后次日,

依据《药理实验方法学》^[7]香菊胶囊低、中、高剂量组均灌胃0.36 g/100 mL、0.54 g/100 mL及0.72 g/100 mL的香菊胶囊溶液,阳性对照组灌胃0.003 g/100 mL的强的松,其余大鼠灌胃等体积的蒸馏水,均1次/d,连续给药14 d。

1.4 鼓膜炎状态评分

末次灌胃后,全身麻醉采用耳内镜观察鼓膜,自定义将炎症评分标准如下:0分为鼓膜形态未见明显异常;1分为轻度充血伴随轻度内陷;2分为中度充血,内陷或凸起,轻度积液;3分为重度充血及中重度积液;4分为鼓膜穿孔并流脓。见图1。

1.5 ELISA检测各组大鼠血清AQP1、AQP4及AQP5水平

采集各组大鼠尾部静脉血2 mL(分2次获得),4℃,3 500 r/min,离心半径12 cm,离心15 min,取上清液,按照试剂盒说明书在450 nm波长下检测吸光度值,根据标准浓度和吸光度计算标准曲线回归方程,检测被测样品浓度。

表1 实验药物、主要试剂及仪器

名称	生产厂家	国药准字(货号)
香菊胶囊	山东步长制药股份有限公司	Z19991040
强的松	浙江仙琚制药股份有限公司	H33021207
戊巴比妥钠	上海新亚药业有限公司	H31021725
铜绿假单胞菌菌液	昆山远慕生物科技有限公司	(MZ12189)
OVA	斯百全化学(上海)有限公司	(AL125)
4%多聚甲醛	上海优宁维生物科技股份有限公司	(abs9179)
PBS	上海泽叶生物科技有限公司	(ZY100215)
0.25%胰酶	HyClone公司	(SH30042.01)
苏木精-伊红试剂盒	北京索莱宝科技有限公司	(G1120)
ELISA试剂盒	上海通蔚实业有限公司	(BIO-(tw)-0227)
NF-κBp65抗体	Abcam公司	(ab468)
TLR4抗体	Abcam公司	(ab218987)
GAPDH单抗	中国上海生工生物	(1914526843)
山羊抗兔IgG	广东拓山科技股份有限公司	(BF02008)
DY CZ-24DN型垂直电泳槽	苏州江东精密仪器有限公司	/
DY CP-31E电泳仪	苏州江东精密仪器有限公司	/
ThermoScientific Forma 900系列超低温冰箱	美国Thermo Scientific公司	/
Centrifuge 5424R型高速低温离心机	美国贝克曼库公司	/

注:OVA(卵清蛋白);NF-κB(核因子-κB);TLR4(toll样受体4);ELISA(酶联免疫吸附测定);GAPDH(甘油醛-3-磷酸脱氢酶);PBS(磷酸盐缓冲液)。下同。



图1 不同鼓膜炎评分典型图片 A:0分;B:1分;C:2分;D:3分;E:4分

1.6 细菌生物膜

6组随机5只大鼠腹腔麻醉后,用75%乙醇进行外耳道消毒,采用1 mL的一次性无菌注射器抽取 1.0×10^6 CFU/mL的铜绿假单胞菌菌液,光纤电耳镜下双侧鼓室内注射100 μ L菌液(正常组不进行注射)。14 d后取大鼠听泡黏膜面约2 mm \times 2 mm的组织,经1 mL的PBS冲洗,加入1.5 μ L的碘化丙啶及1.5 μ L的绿色荧光核酸染料SYTO9,室温避光孵育15 min,常规冲洗及封片,激光共聚焦扫描显微镜扫描观察到有直径0.5~2 μ m大小绿染的活菌聚集成特征性的簇状群落,周围有绿色淡染的云雾状物质包裹时,可以确定此标本有细菌生物膜形成。

1.7 苏木精-伊红染色

各组剩余大鼠处死取双侧听泡,10%甲醛溶液固定。听泡组织常规脱水,石蜡包埋后,采用5 μ m厚度切片。将切片置于二甲苯中脱蜡,70%、80%、90%、95%乙醇梯度脱水,自来水冲洗后,苏木精染色,1%的盐酸-乙醇分化,水洗蓝化,1%的伊红复染,乙醇透水,光学显微镜下观察病理形态。

1.8 免疫印迹

取100 g听泡组织,匀浆,加入裂解液,冰上裂解30 min后离心10 min,收集上清,采用二喹啉甲酸试剂盒进行蛋白定量。然后,进行常规电泳、转膜、孵育,加入一抗(TLR4、NF- κ Bp65),以GAPDH为内参,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,Tris缓冲盐溶液洗涤3次,加入相应二抗,室温孵育2 h,常规显影,采用Image J图像分析软件进行目标蛋白条带灰度分析,蛋白表达水平以各目的蛋白条带与内参蛋白条带灰度值的比值表示。

1.9 统计学方法

SPSS 26.0统计学软件分析。数据符合正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间进行单因素分析,组间LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠鼓膜炎症评分比较

正常组、模型组、香菊胶囊低剂量组、香菊胶囊中剂量组、香菊胶囊高剂量组及阳性对照组鼓膜炎症评分分别为(0.00 \pm 0.00)、(3.26 \pm 0.50)、(2.90 \pm 0.35)、(2.51 \pm 0.41)、(1.98 \pm 0.33)、(2.48 \pm 0.45)分,存在差异($F = 56.580, P < 0.05$)。与正常组相比,模型组大鼠鼓膜炎症评分升高($P < 0.05$);与模型组相比,香菊胶囊低、中及高剂量组鼓膜炎症

评分降低($P < 0.05$);但香菊胶囊中剂量组与阳性对照组比较无差异($P > 0.05$);与香菊胶囊中剂量组相比,香菊胶囊高剂量组鼓膜炎症评分降低($P < 0.05$),见图2。

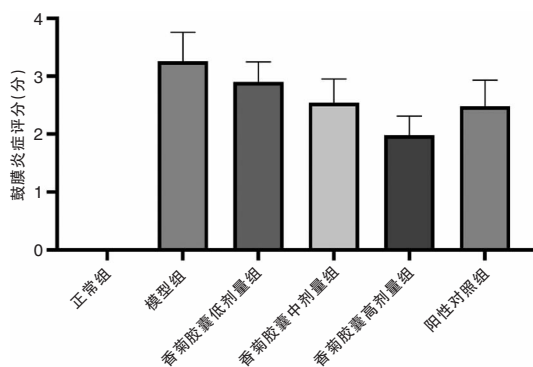


图2 各组大鼠鼓膜炎症评分比较

2.2 各组大鼠血清AQP1、AQP4及AQP5水平比较

与正常组相比,模型组AQP4水平升高,AQP1及AQP5水平降低($P < 0.05$);与模型组相比,香菊胶囊低、中及高剂量组AQP4水平降低,AQP1及AQP5水平升高($P < 0.05$);但香菊胶囊中剂量组与阳性对照组比较无差异($P > 0.05$);与香菊胶囊中剂量组相比,香菊胶囊高剂量组AQP4水平降低,AQP1及AQP5水平升高($P < 0.05$),见表2。

2.3 各组大鼠细菌生物膜比较

正常组未见细菌生物膜形成;模型组大鼠细菌生物膜呈现簇状团块且面积较大;香菊胶囊低剂量组可见雾状细菌生物膜;香菊胶囊中剂量组、香菊胶囊高剂量组及阳性对照组均未见细菌生物膜聚集,见图3。

2.4 各组大鼠病理形态比较

正常组黏膜上皮细胞排列整齐,且血管及纤维细胞丰富,未见明显炎症及增生。模型组大鼠的黏膜上皮细胞出现严重坏死,黏膜增厚且具有大量炎性细胞浸润,纤维组织增生显著。香菊胶囊低剂量组存在少量炎性细胞浸润,少量组织增生;香菊胶囊中剂量组及阳性对照组病理组织相似,极少量纤维组织增生;香菊胶囊高剂量组趋于正常,见图4。

2.5 各组大鼠TLR4、NF- κ Bp65蛋白相对表达量比较

与正常组相比,模型组TLR4、NF- κ Bp65蛋白相对表达量升高($P < 0.05$);与模型组相比,香菊胶囊低、中及高剂量组TLR4、NF- κ Bp65蛋白相对表达量降低($P < 0.05$);但香菊胶囊中剂量与阳性对照组比较无差异($P > 0.05$);与香菊胶囊中剂量组相比,香菊胶囊高剂量组TLR4、NF- κ Bp65蛋白相对表达量降低($P < 0.05$),见表3及图5。

表2 各组大鼠血清 AQP1、AQP4 及 AQP5 水平比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	AQP1	AQP4	AQP5
正常组	10	0.952 ± 0.145	0.364 ± 0.078	1.025 ± 0.200
模型组	8	0.430 ± 0.099	0.669 ± 0.123	0.603 ± 0.122
香菊胶囊低剂量组	9	0.503 ± 0.102	0.602 ± 0.090	0.710 ± 0.141
香菊胶囊中剂量组	10	0.596 ± 0.115	0.520 ± 0.086	0.796 ± 0.155
香菊胶囊高剂量组	10	0.806 ± 0.136	0.435 ± 0.070	0.926 ± 0.171
阳性对照组	10	0.602 ± 0.108	0.516 ± 0.088	0.800 ± 0.163
<i>F</i>		24.890	13.800	7.184
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:AQP(水通道蛋白)。

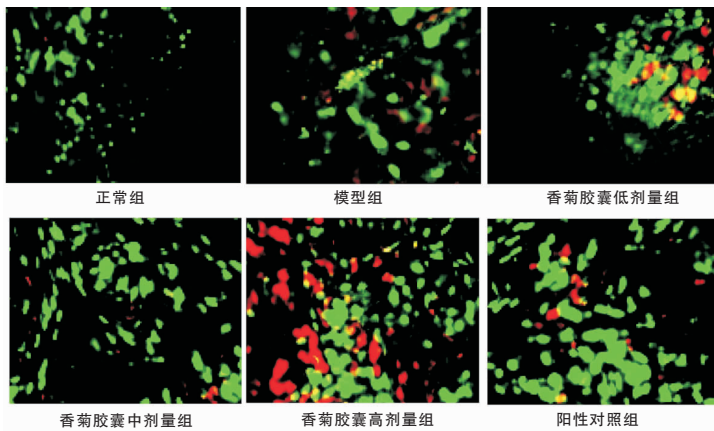


图3 各组大鼠细菌生物膜图比较 (红色:碘化丙啶染色、绿色:SYTO9 染料染色 ×200)

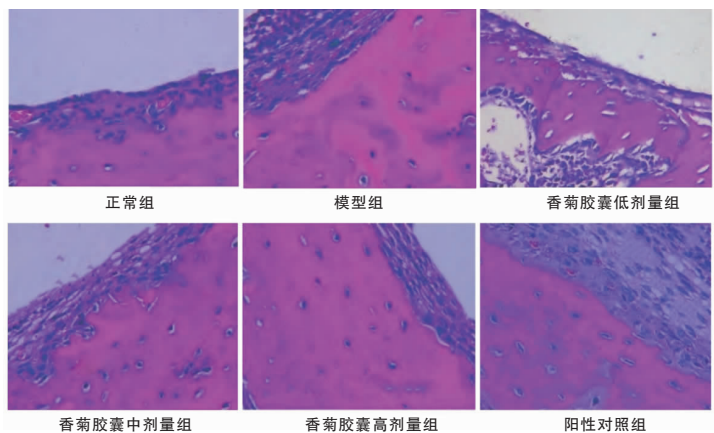


图4 各组大鼠病理形态比较 (HE ×200)

表3 各组大鼠 TLR4、NF-κBp65 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TLR4/GAPDH	NF-κBp65/GAPDH
正常组	5	1.05 ± 0.12	0.60 ± 0.11
模型组	3	2.67 ± 0.51	1.81 ± 0.45
香菊胶囊低剂量组	4	2.03 ± 0.46	1.50 ± 0.40
香菊胶囊中剂量组	5	1.69 ± 0.36	1.23 ± 0.36
香菊胶囊高剂量组	5	1.37 ± 0.34	0.97 ± 0.20
阳性对照组	5	1.65 ± 0.41	1.20 ± 0.49
<i>F</i>		8.720	5.732
<i>P</i>		<0.001	0.002

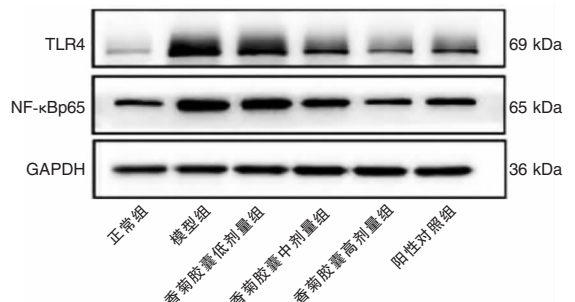


图5 各组大鼠 TLR4 及 NF-κBp65 蛋白表达

3 讨论

分泌性中耳炎是儿童常见疾病之一, AQP 在耳腔内细胞膜上发挥着重要作用, 它们调节着细胞内外液体平衡, 维持了正常的耳内环境。分泌性中耳炎常伴随着 AQP 的异常表达, 导致耳腔内液体积聚。此外, 细菌生物膜在分泌性中耳炎的发生和发展中起到了关键作用, 可以提供庇护环境, 抵抗抗生素的侵袭, 从而导致感染难以根除。TLR4/NF- κ B 信号通路在分泌性中耳炎中被过度激活进而参与疾病进展。香菊胶囊作为一种中药制剂, 被广泛应用于治疗中耳炎。然而, 关于香菊胶囊对分泌性中耳炎的治疗机制尚未明确。因此, 本研究将通过分泌性中耳炎大鼠模型评估香菊胶囊对 AQP 的表达、细菌生物膜形成以及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响, 为香菊胶囊在治疗分泌性中耳炎中的应用提供科学依据。

中耳炎常由急性中耳炎迁延不愈引发, 致病菌持续感染并形成生物膜, 是导致炎症反复的核心机制。中耳黏膜长期受炎症刺激, 会出现腺体增生、杯状细胞增多及纤毛功能障碍, 进而造成分泌物滞留, 加重感染与组织损伤的恶性循环。且当自身免疫功能异常、咽鼓管功能障碍或鼓膜穿孔长期不愈合, 会进一步破坏中耳防御屏障, 为致病菌定植与炎症持续提供有利条件^[8-10]。本研究结果显示: 不同剂量的香菊胶囊均可以降低鼓膜炎评分的同时还可以减少细菌生物膜的形成, 且以高剂量组效果最佳。香菊胶囊是由化香树果序、夏枯草、防风、白芷、野菊花、甘草、辛夷、黄芪以及川芎组成的中成药, 香菊胶囊选用秦巴山区的稀有药材化香树果序为君药, 具有清热解毒、活血通窍的作用。辅以清热类药物夏枯草和野菊花为臣药, 有效杀灭导致呼吸道疾病的病毒细菌, 与君药配合, 抗病毒及抑制炎症之力更强。防风发散风寒, 白芷、辛夷发散风热, 三药合用以治上呼吸道感染和由鼻塞引起的头痛; 川芎活血通窍促进鼻咽部血液循环; 黄芪补益元气, 扶正祛邪, 增强人体免疫。甘草调和诸药。君臣佐使配伍全面, 清热补益并用, 散寒散热同施, 诸药合用共奏辛散祛风, 清热通窍之功, 发挥清热解毒、通窍止痛、消肿排脓的作用^[11]。现代药理学研究表明, 香菊胶囊可杀菌、抑制菌群并可提高免疫功能。在中耳炎中香菊胶囊可通过减轻局部变态反应强度, 降低炎症反应, 进一步促进分泌物及积液的排除, 进而发挥

疾病控制作用^[12]。

本研究结果显示: 与模型组相比, 不同剂量香菊胶囊组的 AQP4 水平降低, AQP1 及 AQP5 水平升高, 说明香菊胶囊对分泌性中耳炎的 AQP 因子具有调节作用。AQP 对水分子具有转运、输入及调节作用, AQP1、AQP4 及 AQP5 是家族成员, 并在中耳黏膜上皮细胞大量表达, 可参与中耳积液转运及吸收。有学者研究表明, 分泌性中耳炎的发病机制可能与 AQP 失调而导致中耳黏膜水通道分布状态异常相关, 认为 AQP4 升高可导致水液清除效率降低, 增加中耳内积液^[13]。AQP1 主要表达于中耳黏膜固有层毛细胞血管中, AQP5 则位于纤毛细胞和扁平柱状上皮细胞表面的顶端, 两者在分泌性中耳炎中表达降低利于中耳积液的形成^[14]。黄芪对 AQP1 及 AQP5 水平具有上调作用, 有学者发现在肺损伤大鼠中采用黄芪干预中大鼠肺组织中 AQP1 mRNA、AQP5 mRNA 高于模型组, 认为黄芪可发挥补气作用, 通过保护肺泡及毛细血管膜屏障, 加快合成进而维持水液正常代谢功能^[15]。另有研究表明, 在肝腹水大鼠中灌胃由川芎组成的活血药可降低大鼠肝组织中 AQP4 表达, 可发挥利尿的作用^[16]。本文与上述学者研究结论具有一致性, 认为香菊胶囊可通过调节分泌性中耳炎的 AQP 因子维持中耳腔水平衡的作用。

本研究结果显示, 与模型组相比, 不同剂量香菊胶囊组的 TLR4、NF- κ Bp65 蛋白相对表达量均降低, 认为香菊胶囊可能调节该信号通路而发挥相关作用。NF- κ Bp65 是 NF- κ B 家族中包含的结构蛋白, 当细胞受到刺激后 NF- κ B 进入细胞核中激活 NF- κ Bp65 表达, 发挥致炎作用^[17]。TLR4 属于具有识别作用的受体, 其可识别病原体并被其激活, 通过髓样分化因子途径而激活 NF- κ B, 使得其磷酸化, 促使下游产生大量炎性细胞因子, 共同参与分泌性中耳炎的进展^[18]。防风可调节机体免疫功能, 在溃疡性结肠炎中能够降低 TLR4、NF- κ B 蛋白反应而降低炎性反应^[19]。另有研究表明, 在脂多糖诱导的野菊花总黄酮能够抑制脂多糖诱导炎性反应, 诱导细胞自噬, 其机制可能与抑制 NF- κ B 通路激活有关^[20]。本文认为香菊胶囊可通过抑制 TLR4/NF- κ B 而降低细菌生物膜形成, 并调节 AQP 表达进而发挥疾病控制作用。

综上所述, 香菊胶囊可抑制细菌生物膜形成, 并降低 AQP4, 提高 AQP1 及 AQP5 水平进而控制分泌性中耳炎病情, 研究机制可能与抑制 NF- κ Bp65、

TLR4 蛋白激活相关。

参考文献:

- [1] Yin X, Liu L, Luo M, et al. Association between secretory otitis media and laryngopharyngeal reflux in adults[J]. *Acta Otolaryngol*, 2023,143(11-12):946-950.
- [2] Mulvaney CA, Galbraith K, Webster KE, et al. Antibiotics for otitis media with effusion (OME) in children[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2023,10(10):CD015254.
- [3] 江政敏,王鑫霞,肖楚志.内镜下经咽鼓管给予地塞米松磷酸钠治疗慢性分泌性中耳炎的临床疗效及对水通道蛋白1、水通道蛋白4的影响[J]. *中国现代药物应用*, 2019,13(15):128-129.
- [4] 李海亮,王海茹,吴艳艳.宣肺通窍汤对分泌性中耳炎大鼠的作用及与TLR4/MyD88/NF- κ B通路相关机制探讨[J]. *长春中医药大学学报*, 2023,39(4):395-399.
- [5] 李洲.香菊胶囊与盐酸氨溴索片联合鼓室注射地塞米松治疗分泌性中耳炎患者的疗效观察[J]. *航空航天医学杂志*, 2021,32(6):699-700,702.
- [6] 刘华,赵守琴,刘泊,等.变应原诱发大鼠分泌性中耳炎动物模型的建立[J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2008,16(4):304-307.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修. *药理实验方法学*[M].北京:人民卫生出版社,2002.
- [8] 易庆鹤,刘闽,董龙宝.栀子苷调节Nrf2/HO-1信号通路对急性中耳炎大鼠听力损伤的影响[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2025,31(2):24-29.
- [9] Zaki FR, Monroy GL, Shi J, et al. Texture-based speciation of otitis media-related bacterial biofilms from optical coherence tomography images using supervised classification[J]. *J Biophotonics*, 2024,17(10):e202400075.
- [10] 张岳,唐年亚.耳炎清滴耳液对慢性化脓性中耳炎SD大鼠中耳黏膜铜绿假单胞菌生物膜的清除作用[J]. *中医临床研究*, 2018,10(32):102-104.
- [11] 吕丹雨,白广平.桉柠蒎与香菊胶囊联合治疗急性分泌性中耳炎的临床观察[J]. *中国医药指南*, 2017,15(29):9-10.

- [12] 谢华.香菊胶囊对分泌性中耳炎的疗效及对咽鼓管表面活性物质含量的影响[J]. *广西医学*, 2020,42(14):1821-1823,1835.
- [13] Zhang Q, Liu C, Wang J, et al. Expression pattern of aquaporin 4 and 5 in the middle ear of guinea pigs with secretory otitis media[J]. *Acta Otolaryngol*, 2010,130(1):68-74.
- [14] 童兴科.清窍胶囊对分泌性中耳炎小鼠模型水通道蛋白AQP1,4,5表达水平的影响[D].泸州:西南医科大学,2019.
- [15] 刘毅,梅荣,杨明会,等.黄芪对急性肺损伤模型大鼠肺组织水通道蛋白-1和水通道蛋白-5表达的影响[J]. *环球中医药*, 2012,5(9):651-653.
- [16] 王成业.基于大鼠肝硬化腹水模型的当归芍药散活血利水作用研究[D].合肥:安徽中医药大学,2013.
- [17] Heo KW, Noh M, Hur DY, et al. Bone destruction in chronic otitis media is not mediated by the RANKL pathway or estrogen receptor-alpha[J]. *Sci Prog*, 2023,106(3):368504231199204.
- [18] Fan W, Xu H, Chen F, et al. The expression of Nrf2 and TLRs in ear effusion in children with different types of otitis media and their relationship with inflammatory factors[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024,126:111152.
- [19] 朱聪,张贵阳,陈燕,等.基于TLR4/NF- κ B信号通路探讨防风治疗溃疡性结肠炎大鼠的机制研究[J]. *中国现代医生*, 2022,60(27):96-101.
- [20] 杨彬,黄俊卿,孟庆良,等.基于NLRP3-IL-1 β -NF- κ B信号轴研究野菊花总黄酮对脂多糖诱导HK-2细胞炎症反应及自噬的影响[J]. *天津医药*, 2020,48(2):81-87,161.

(收稿日期:2024-06-15)

本文引用格式:郑妍妍,段耀东,韩丽,等.香菊胶囊对分泌性中耳炎大鼠水通道蛋白与细菌生物膜形成及TLR4/NF- κ B信号通路的影响[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2025,31(6):17-23. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202524228

Cite this article as:ZHENG Yanyan, DUAN Yaodong, HAN Li, et al. Effects of Xiangju capsule on aquaporin, bacterial biofilm formation and TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats with secretory otitis media [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2025,31(6):17-23. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202524228