

基于网络药理学和动物实验探讨木犀草素调控 TLR4/NF-κB 信号轴改善变应性鼻炎的作用

贾 梦¹, 雷晓椿¹, 蒋馥蔚¹, 李得堂^{2,3,4}, 张丽娟^{2,4*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 3. 广州中医药大学第一附属医院重庆医院, 重庆 404100; 4. 广东省中医临床研究院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 探讨木犀草素治疗变应性鼻炎 (AR) 的潜在机制。**方法** 数据库筛选木犀草素与 AR 相关靶点, 构建 PPI 网络筛选关键靶标, 进行 GO 功能、KEGG 富集分析, 以及分子对接, 采用 CETSA 验证木犀草素与 TLR4 的直接结合能力。36 只小鼠随机分为正常组、模型组、地塞米松组 (1 mg/kg) 及木犀草素低、中、高剂量组 (10、20、30 mg/kg), 每组 6 只, 构建 OVA 诱导的 AR 模型, 灌胃给药 7 d 后评估行为学、鼻黏膜病理、血清 IgE 和细胞因子水平, 检测肺组织靶点 mRNA、蛋白表达。**结果** 共鉴定得到 78 个交集靶点, 核心调控轴为 TLR4/NF-κB 通路, 木犀草素与 TLR4、P65、IκBα 结合能均低于 -5.0 kcal/mol。在 50~60 ℃ 下, 木犀草素提高 TLR4 蛋白热稳定性 ($P<0.01$)。木犀草素剂量依赖性地改善 AR 小鼠喷嚏、挠鼻频率及鼻黏膜病理损伤 ($P<0.01$), 抑制肺组织 *IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达, 上调 *IFN-γ* mRNA 表达 ($P<0.05$, $P<0.01$); 中、高剂量组降低血清 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平 ($P<0.01$), 抑制肺组织 p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α、TLR4 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 木犀草素通过靶向 TLR4 阻断 NF-κB 通路活化, 调节 Th1/Th2 免疫平衡, 从而缓解 AR 症状与鼻黏膜炎症损伤。

关键词: 木犀草素; 变应性鼻炎; 网络药理学; 动物实验; TLR4/NF-κB 信号通路; 免疫平衡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)09-3117-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.09.036

变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是由特异性免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 介导的鼻黏膜慢性非感染性炎症, 以鼻痒、阵发性喷嚏、清水样涕、鼻塞等为核心临床表现^[1-2], 其病理机制以 Th2 型免疫应答占主导为特征, 表现为过敏原特异性 T 淋巴细胞活化, 并分泌白细胞介素 (interleukin, IL) -4、IL-5、IL-13 等 2 型细胞因子^[3-5]。吸入性过敏原诱导产生特异性 IgE 并结合效应细胞表面高亲和力 IgE 受体 (Fc epsilon receptor 1, FcεRI) 完成致敏, 再次暴露时过敏原交联该复合物触发细胞脱颗粒, 释放组胺、白三烯等介质, 加剧 2 型炎症反应^[6-9]。尽管糖皮质激素是临床治疗 AR 的一线用药, 但长期应用时常伴随复发率高、诱发青光眼、代谢紊乱等不良反应^[10-12], 故亟需探索安全有效的治疗新策略。

课题组前期在玉屏风散加味复方治疗 AR 研究

中发现, 木犀草素与疗效密切相关^[13-14], 该成分不仅是全方物质基础, 更是辛夷清肺饮、苍耳子散、银翘散等经典鼻科方剂中菊花、金银花、薄荷等中药的核心活性成分^[15-17], 但其物质基础和分子机制尚未完全阐明。现有研究证实, 木犀草素具有抗菌、抗病毒、抗纤维化、镇痛、抗肿瘤等多种药理活性^[18-19]。在免疫调节领域, 木犀草素可调控活性氧氮产物, 干预花生四烯酸代谢, 抑制关键炎症性信号通路, 下调促炎因子表达, 从而发挥抗炎效应^[20-21]。

本研究采用网络药理学预测木犀草素干预 AR 的潜在作用靶点, 细胞热位移分析技术 (cellular thermal shift assay, CETSA) 在人鼻黏膜上皮细胞 (human nasal mucosal epithelial cells, HNEpC) 验证其直接作用靶点。再采用动物实验验证其“成分-靶点”相互作用及抗 AR 效应, 深入探讨木犀

收稿日期: 2026-01-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82374526); 邱宝珊教授广东省名中医传承工作室 (粤中医办函 [2023] 108 号); 2023 年广州中医药大学第一附属医院菁英人才项目 (中医一院 [2023] 186 号)

作者简介: 贾 梦 (2002—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药效应物质作用机制。E-mail: 1621773449@qq.com

*** 通信作者:** 张丽娟 (1982—), 女, 硕士, 副主任中医师, 从事中医治疗耳鼻喉疾病临床、基础研究。E-mail: zhanglijuan2001@126.com

草素治疗 AR 可能的药理效应,旨在阐明木犀草素治疗上呼吸道感染性疾病的抗炎机制。

1 材料

1.1 动物与细胞 36 只 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠,6~8 周龄,体质量 (20±5) g,由广东省医学实验动物中心提供 [实验动物生产许可证号 SCXK (粤) 2022-0002],饲养于广州中医药大学第一附属医院屏障设施内 [实验动物使用许可证号 SYXK (粤) 2023-0029],动物实验经广州中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会审批通过 (伦理批号 GZTCMF1-20250073)。人鼻黏膜上皮细胞 HNEpC 购自上海盈湾生物科技有限公司,采用含 10% FBS 的 RPMI-1640 完全培养基,置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养。

1.2 药物与试剂 木犀草素 (成都瑞芬思德丹生物科技有限公司,批号 RDD-M00702004028,纯度>98%)。苏木素-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色试剂盒 (上海源叶生物技术有限公司,批号 008IR18842A);过碘酸-雪夫 (periodic acid-Schiff, PAS) 染色试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司,批号 Z941240837);卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) (美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 SLCR2806);氢氧化铝佐剂 (aluminum hydroxide adjuvant, Alum)、地塞米松 (dexamethasone, Dex) (上海麦克林生化科技股份有限公司,批号 C17593783、C12587832);小鼠 IgE、OVA 特异性 IgE (OVA-specific immunoglobulin E, OVA-sIgE)、IL-4、IL-5、IL-13 ELISA 检测试剂盒 (江苏酶免实业有限公司,批号 202509、202509、202509、202506、202506);总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒 (美国 Life Biosciences 公司,批号 B0012DP、A0017CGQ);RIPA 裂解液、BCA 试剂盒、磷酸酶蛋白酶抑制剂 (苏州新赛美生物科技有限公司,批号 20251126、20250910、ZF0701);SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒、超敏 ECL 化学发光试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司,批号 G2053、G2024);β-actin 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司,批号 00136516);HRP 标记山羊抗兔二抗 (美国 Jackson 公司,批号 111-035-018);NF-κB 抑制蛋白 α (nuclear factor-kappa B inhibitor alpha, IκBα) 抗体、磷酸化 IκBα (phosphorylated IκBα, p-IκBα) 抗体、Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司,批号 4814T-20、2859T-19、08L5W-14);NF-κB p65 亚基 (p65) 抗体、p-p65 抗体、肿瘤坏死因子-α (tumor

necrosis factor-alpha, TNF-α) 抗体 (美国 ImmunoWay 公司,批号 RX743、RX759、RX423)。

1.3 仪器 P-150A 型 CO₂ 培养箱 (广州源起健康科技有限公司);RM2016 型病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司);T10 型组织匀浆机 (德国 IKA 公司);化学发光凝胶成像系统 (美国 ProteinSimple 公司);JB-P5 包埋机 (武汉俊杰电子有限公司);KD-P 型组织摊片机 (科迪仪器设备有限公司);Varioshan LUX 型多功能微孔板检测仪、A28138 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国赛默飞世尔科技公司);1645070 型 PowerPac Universal 电泳电源、1658001 型蛋白垂直电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 木犀草素靶点筛选 通过检索 TCMSP 平台 (<http://lsp.nwu.edu.cn/temsp.php>)、SwissTarget Prediction 数据库 (<https://swisstargetprediction.ch/>) (限定物种为“*Homo sapiens*”)、PharmMapper 数据库 (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) (Norm Fit≥0.8 且 z-score≥0.7) 来筛选木犀草素靶点,检索 Herb 数据库 (<http://herb.ac.cn/>) 来补充相关靶点,合并结果,并删除重复靶点,UniProt (<https://www.uniprot.org/>) 标准化后获得最终靶点。

2.1.2 AR 疾病靶点筛选 采用 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、TTD (<https://ttd.idrblab.cn/>) 数据库,以“allergic rhinitis”为关键词进行检索,合并结果,剔除重复项目,UniProt 数据库统一规范疾病靶点名称。

2.1.3 木犀草素治疗 AR 潜在靶点预测 将药物、疾病靶点导入 Venny 2.1.0 平台绘制韦恩 (Venn) 图,交集靶点即木犀草素治疗 AR 潜在靶点。

2.1.4 蛋白互作网络构建及核心靶点获取 将“2.1.3”项下潜在靶点提交至 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>),物种设定为“*Homo sapiens*”,隐藏游离节点,构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络图。导入 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化分析。选取 Degree、中介中心性 (BC)、接近中心性 (CC) 均大于中位数的靶点,作为木犀草素治疗 AR 的核心靶点。

2.1.5 GO 功能、KEGG 通路富集分析 采用 Metascape 平台 (<https://metascape.org/>) 对交集靶点进行分析 (种属为“*Homo sapiens*”,最小基因重叠数≥3, P<0.01,最小富集因子 1.5),在线

工具对结果进行可视化, 预测木犀草素治疗 AR 的相关生物功能及信号通路。

2.1.6 分子对接 选取关键靶点与木犀草素进行分子对接, 后者 3D 结构经 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载并进行能量最小化处理, 与 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 获取的靶点晶体结构进行半柔性对接, 结合能<-5.0 kcal/mol 视为具有良好结合活性, 采用 PyMOL 进行三维可视化。

2.2 CETSA 分析

2.2.1 细胞分组与处理 取对数生长期 HNEpC 细胞, 按每孔 3×10⁶ 个的密度接种于 6 孔板, 每孔加入 2 mL 完全培养基, 待细胞生长融合度达到 70%~80% 后随机分为溶剂对照组 (DMSO 组) 和药物处理组 (木犀草素组)。根据文献 [22-24] 报道, 木犀草素组加入终浓度为 64 μmol/L 的木犀草素, DMSO 组加入等体积溶剂, 置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养 2 h 后收集细胞, 用于后续 CETSA 实验。

2.2.2 木犀草素与 TLR4 结合能力评价 将“2.2.1”项下细胞用含磷酸酶和蛋白酶抑制剂的 PBS 洗涤并重悬, 分装至 PCR 管中, 置于热循环器中梯度加热 (40~65 ℃, 10 min), 将细胞放入液氮罐中速冻后室温解冻, 循环 3 次, 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, BCA 法测定蛋白浓度, 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离后转移至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭液室温封闭 1 h, TBST 洗膜 3 次后加入 TLR4 一抗 (1:1 000), 4 ℃孵育过夜, 次日加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗 (1:5 000), 室温孵育 2 h, ECL 法显影, 采用 ImageJ 软件定量分析蛋白相对表达。

2.3 动物实验

2.3.1 模型建立与分组 小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为正常组、模型组、地塞米松组 (1 mg/kg) 及木犀草素低、中、高剂量组 (10、20、30 mg/kg), 每组 6 只。采用 OVA 混合液致敏^[25-27] 构建 AR 模型, 在第 1、8、15 天, 模型组及各给药组小鼠腹腔注射 200 μL OVA 混合液 (100 μg OVA + 2 mg Alum, 溶于 200 μL PBS 中) 完成基础致敏, 正常组于同一天注射等量 PBS。造模第 22 天开始, 模型组和给药组每天向两侧鼻腔滴注 25 mg/mL OVA 溶液 (每侧 20 μL) 完成激发阶段, 正常组滴注等量 PBS, 连续 7 d, 每天滴鼻前 1 h, 各给药组灌胃给药, 正常组和模型组灌胃给予等体积纯水。

2.3.2 样本采集 末次 OVA 激发后 24 h, 小鼠采

用异氟烷麻醉, 摘除眼球, 采血 0.7~1.0 mL, 室温静置 1 h, 4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min, 分离得到血清, 置于-80 ℃冰箱中保存。小鼠采血后采用颈椎脱臼法处死, 取鼻骨、上颌骨组织, 分开后 4% 多聚甲醛固定 24 h, 转入 EDTA 脱钙液中脱钙 25 d, 用于后续病理检测。同时, 摘取小鼠肺组织, 于-80 ℃冰箱中冷冻保存。

2.3.3 行为学评估 最后 1 次激发后, 每组小鼠观察 15 min, 记录其挠鼻次数及打喷嚏次数。

2.3.4 组织病理学检查 小鼠鼻骨、上颌骨组织脱钙, 脱水, 石蜡包埋, 制成 4 μm 厚的切片, 经烤片、脱蜡、梯度乙醇水化后再进行常规 HE 或 PAS 染色, 再经脱水、透明、封片后采用数字病理扫描仪进行图像采集与观察, HE 染色评估鼻黏膜结构及炎性细胞浸润情况, PAS 染色观察杯状细胞增生情况, 每张切片选取 5 个高倍视野 (300 倍), 计数每个视野中杯状细胞数量, 取平均值。

2.3.5 ELISA 法检测血清 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平 取小鼠血清, 按照试剂盒说明书检测 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平。

2.3.6 RT-qPCR 法检测肺组织相关靶点 mRNA 表达 采用 TRIzol 法提取小鼠肺组织总 RNA, 将其逆转录为 cDNA 后进行扩增, 再进行实时荧光定量 PCR 扩增, 引物序列见表 1。以 β-actin 为内参, 采用 2^{-ΔΔCT} 法计算 IL-6、IL-1β、IFN-γ、TNF-α mRNA 表达。

表 1 引物序列

基因	序列 (5'→3')	产物长度/bp
IL-6	正向 CAAAGCCAGAGTCCTTCAGAG	106
	反向 AGCATTGGAAATTTGGGGTAG	106
IL-1β	正向 TGGCAACTGTTCTCTG	105
	反向 GGAAGCAGCCCTTCATCTTT	105
TNF-α	正向 TCTTCTCATTCCTGCTTGTGG	109
	反向 ATGAGAGGGAGGCCATTTG	109
IFN-γ	正向 ATGAACGCTACACACTGCATC	182
	反向 CCATCCTTTTGCCAGTTTCCTC	182
β-actin	正向 AGAAGATCTGGCACCACACC	195
	反向 TACGACCAGAGGCATACAGG	195

2.3.7 Western blot 法检测肺组织 p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α、TLR4 蛋白表达 提取小鼠肺组织总蛋白, BCA 法测定浓度, SDS-PAGE 凝胶电泳分离并转移到 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别加入 p65 (1:1 000)、p-p65 (1:1 000)、IκBα (1:1 000)、p-IκBα (1:1 000)、TLR4 (1:1 000)、TNF-α (1:1 000)、β-actin (1:5 000) 一抗, 4 ℃孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入 HRP

标记的山羊抗兔二抗（1：5 000），室温孵育 1 h，ECL 法显影，采用 ImageJ 软件定量分析蛋白相对表达。

2.3.8 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理，计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 检验；若数据不满足正态分布或方差齐性，则采用非参数检

验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 木犀草素靶点 从 TCMSP、SwissTargetPrediction、PharmMapper、Herb 数据库中分别获得 57、100、14、85 个靶点，整合后删除重复者，最终得到 217 个，见图 1。

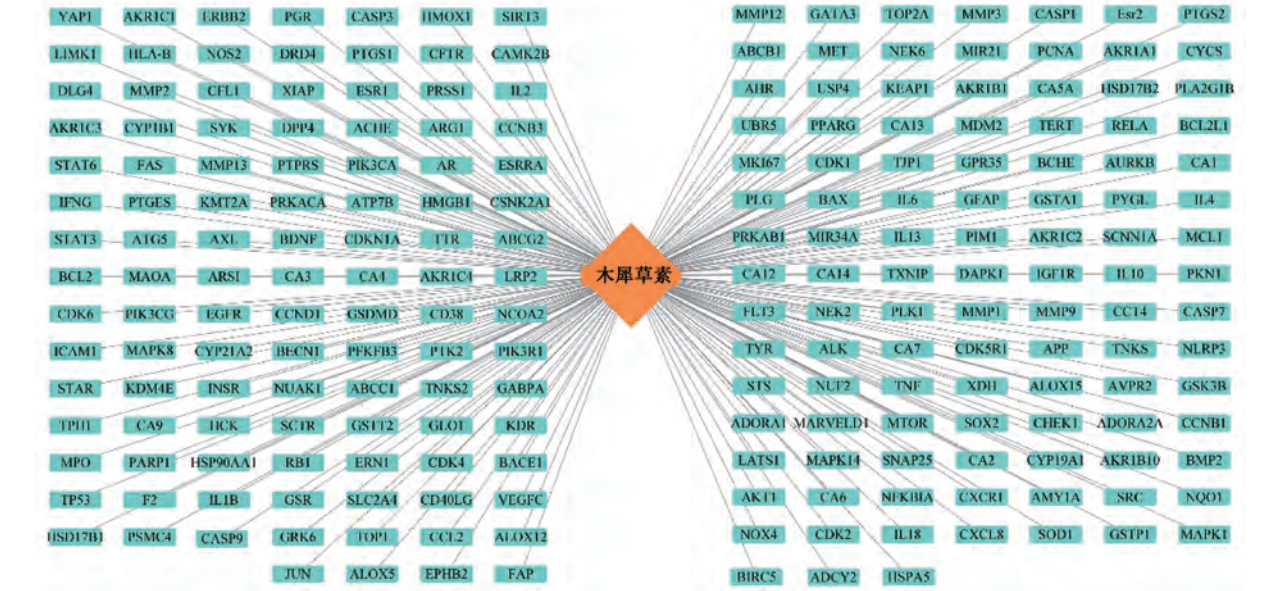


图 1 木犀草素相关靶点

3.1.2 AR 疾病靶点及木犀草素治疗 AR 潜在靶点 采用 GeneCards、OMIM、DrugBank、TTD 数据库检索关键词“allergic rhinitis”，去除重复靶点，最终获得 1 761 个 AR 相关靶点，再采用 Venny 平台得到 78 个木犀草素治疗 AR 的潜在靶点，见图 2。

键靶点分别为 IL6、TNF、AKT1、IL1β、TP53、STAT3、BCL2、EGFR、PTGS2、JUN，可作为后续相关分子生物学实验的验证靶点，见图 3。

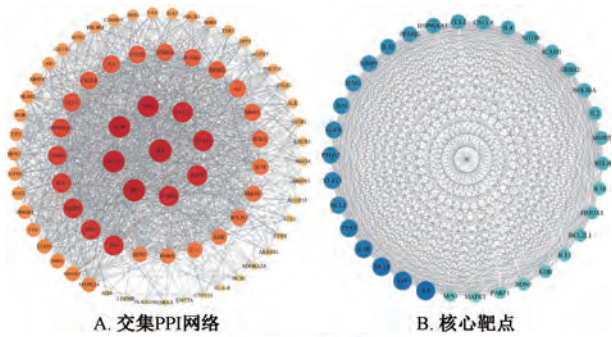
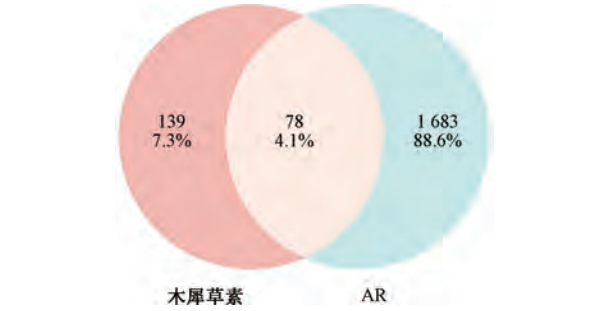


图 3 木犀草素治疗 AR 的 PPI 网络图及相关核心靶点

3.1.4 GO 功能、KEGG 通路富集分析 采用 Metascope

数据库对潜在作用靶点进行 GO 功能富集分析，共获得生物过程（BP）1 305 项、细胞组分（CC）52 项、分子功能（MF）106 项，根据基因数分别选取排名前 10 位的条目进行可视化分析，发现交集靶点主要参与炎症反应调节、细胞因子活性、受体结合等生物过程，在信号转导、基因表达层面发

挥双重调控作用。KEGG 通路富集分析结果显示，木犀草素核心作用可能是干预 TLR4/NF- κ B 信号轴，通过阻断 Toll 样受体通路来抑制 NF- κ B 活化，并协同调控 TNF、IL-17、MAPK 等下游通路，从而减轻鼻腔黏膜慢性炎症，见图 4。

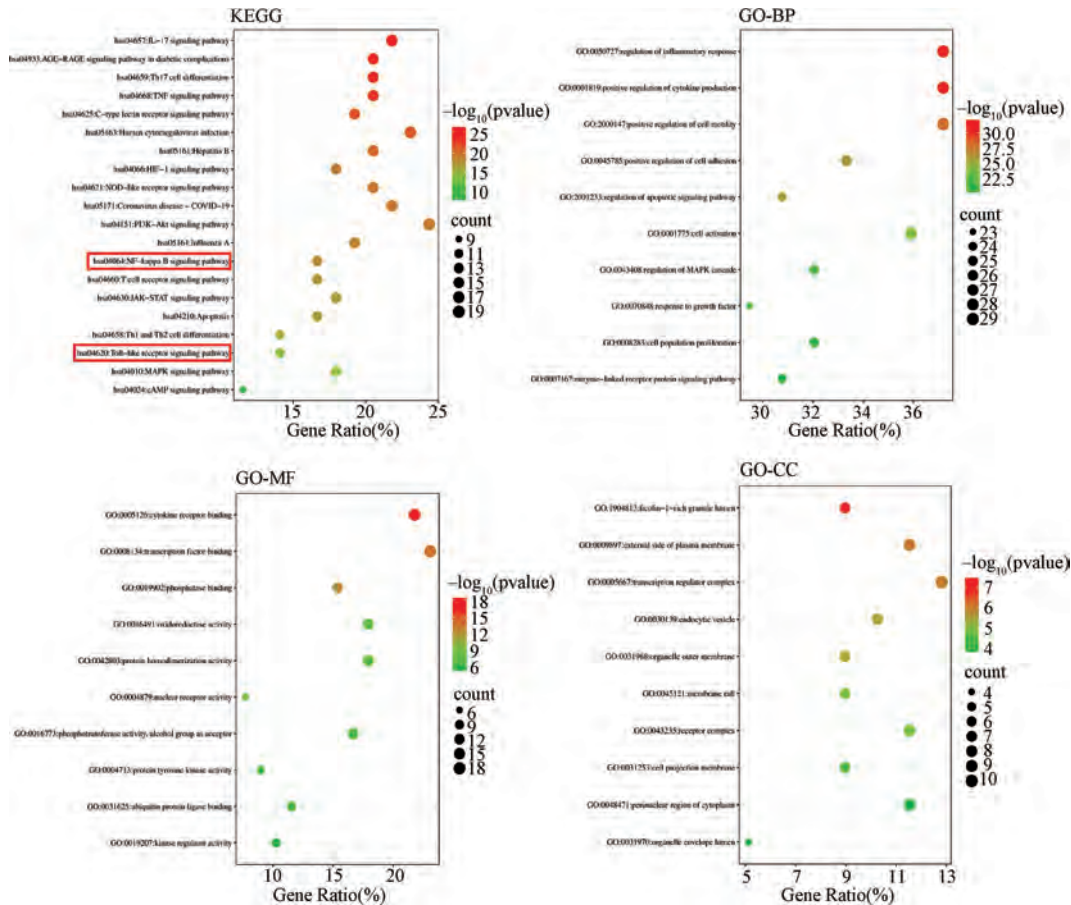


图 4 木犀草素治疗 AR 的 GO 功能、KEGG 通路富集分析图

3.1.5 分子对接 将木犀草素与“3.1.4”项下 KEGG 通路预测的 TLR4/NF- κ B 信号轴核心靶点 p65、TLR4、I κ B α 进行分子对接，发现该成分与 p65、TLR4、I κ B α 的结合能分别为-6.323、-7.243、-7.538 kcal/mol，均低于-5.0 kcal/mol，提示它与核心靶点具有较好的结合活性，见图 5。

3.2 CETSA 分析 如图 6、表 2 所示，在 50 ~ 60 $^{\circ}$ C 温度范围内，64 μ mol/L 木犀草素组 TLR4 蛋白表达较 DMSO 组升高 ($P<0.01$)，在 55 $^{\circ}$ C 下前者蛋白保留率约为后者的 2 倍；在 60 $^{\circ}$ C 下，DMSO 组 TLR4 蛋白基本完全降解，而木犀草素组仍保持约 40 $^{\circ}$ C 时的 45%，表明木犀草素通过直接结合来增强 TLR4 蛋白的热稳定性，两者存在明确的细胞内相互作用，可为木犀草素调控 TLR4 治疗鼻黏膜

炎症反应提供直接证据。

3.3 动物实验

3.3.1 木犀草素对 AR 小鼠行为学的影响 如表 3 所示，与正常组比较，模型组小鼠打喷嚏次数及挠鼻次数增加 ($P<0.01$)，提示模型建立成功；与模型组比较，各给药组小鼠打喷嚏次数及挠鼻次数均减少 ($P<0.01$)。

3.3.2 木犀草素对 AR 小鼠鼻黏膜病理变化的影响 如图 7~8、表 4 所示，与正常组比较，模型组小鼠鼻黏膜整体呈现充血水肿状态，细胞排列紊乱无序，鼻黏膜厚度、杯状细胞数增加 ($P<0.01$)，提示模型建立成功；与模型组比较，各给药组小鼠鼻黏膜充血水肿程度缓解，炎性细胞浸润减少，鼻黏膜厚度、杯状细胞数减少 ($P<0.01$)。

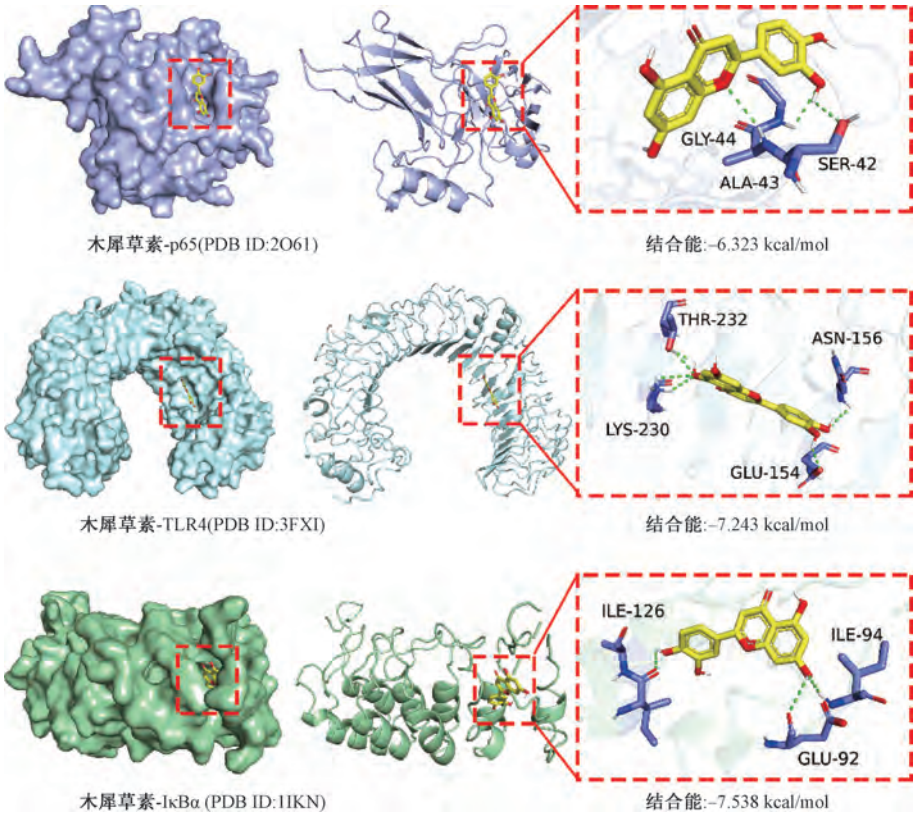


图 5 木犀草素与核心靶点分子对接图

表 2 不同温度下木犀草素对 TLR4 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	条带相对强度/%					
	40 ℃	45 ℃	50 ℃	55 ℃	60 ℃	65 ℃
DMSO 组	1.00±0.02	0.74±0.05	0.51±0.07	0.36±0.06	0.16±0.05	0.08±0.05
木犀草素组	1.00±0.04	0.84±0.04	0.78±0.05 ^{##}	0.61±0.05 ^{##}	0.44±0.05 ^{##}	0.17±0.04

注：与 DMSO 组比较，^{##} $P<0.01$ 。

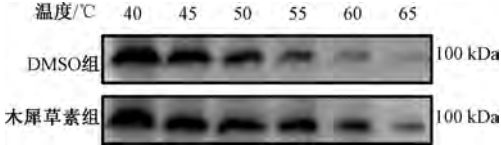


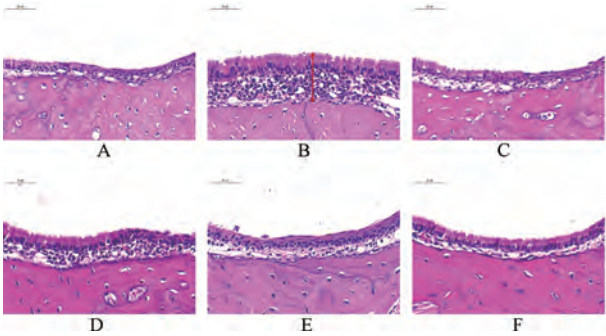
图 6 不同温度下各组 TLR4 蛋白条带图

表 3 各组小鼠打喷嚏次数、挠鼻次数比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	15 min 打喷嚏次数/次	15 min 挠鼻次数/次
正常组	2.17±1.17	3.17±1.17
模型组	26.17±3.19 ^{##}	28.83±3.43 ^{##}
地塞米松组	6.33±2.50 ^{**}	5.67±2.94 ^{**}
木犀草素低剂量组	14.83±3.87 ^{**}	14.83±3.92 ^{**}
木犀草素中剂量组	10.67±3.20 ^{**}	11.33±2.73 ^{**}
木犀草素高剂量组	5.00±2.53 ^{**}	8.17±2.48 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

3.3.3 木犀草素对 AR 小鼠血清 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平的影响 如表 5 所示，与正常组比较，模型组小鼠血清 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平升高 ($P<0.01$)，提示小鼠处于 Th2 型免疫反应亢进状态；与模型组比较，除木犀

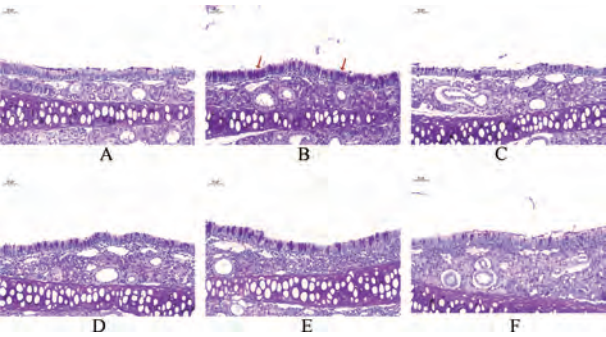


注：A 为正常组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为木犀草素低、中、高剂量组。

图 7 木犀草素对 AR 小鼠鼻黏膜病理形态的影响 (HE 染色， $\times 300$)

草素低剂量组小鼠血清 OVA-sIgE、IL-13 水平无明显变化外 ($P>0.05$)，其余各给药组 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平降低 ($P<0.01$)。

3.3.4 木犀草素对 AR 小鼠肺组织 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ mRNA 表达的影响 如表 6 所示，与正常组比较，模型组小鼠肺组织 IL-6、TNF- α 、IL-



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为木犀草素低、中、高剂量组。

图 8 木犀草素对 AR 小鼠鼻黏膜杯状细胞增生的影响 (PAS 染色, ×300)

表 5 各组小鼠血清 IgE、OVA-sIgE、IL-4、IL-5、IL-13 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	IgE/(ng·mL ⁻¹)	OVA-sIgE/(ng·mL ⁻¹)	IL-4/(pg·mL ⁻¹)	IL-5/(pg·mL ⁻¹)	IL-13/(pg·mL ⁻¹)
正常组	196.14±13.00	6.34±1.81	67.28±8.96	20.17±2.02	30.86±3.31
模型组	724.10±51.19 ^{##}	25.59±4.99 ^{##}	182.14±12.74 ^{##}	51.95±4.45 ^{##}	81.45±4.95 ^{##}
地塞米松组	448.46±14.74 ^{**}	12.00±1.65 ^{**}	85.10±12.76 ^{**}	27.82±2.72 ^{**}	40.82±6.43 ^{**}
木犀草素低剂量组	604.58±43.75 ^{**}	23.12±2.46	154.02±7.20 ^{**}	45.13±3.69 ^{**}	75.13±3.07
木犀草素中剂量组	549.96±33.54 ^{**}	16.18±3.73 ^{**}	130.71±6.46 ^{**}	33.38±2.64 ^{**}	62.49±5.08 ^{**}
木犀草素高剂量组	417.45±18.58 ^{**}	12.10±3.84 ^{**}	98.22±8.56 ^{**}	24.51±4.97 ^{**}	48.19±10.51 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

表 6 各组小鼠肺组织 IL-6、TNF-α、IL-1β、IFN-γ mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	IL-6	IL-1β	TNF-α	IFN-γ
正常组	1.03±0.25	1.02±0.23	1.04±0.31	1.02±0.19
模型组	11.14±2.18 ^{##}	35.03±5.57 ^{##}	9.64±1.83 ^{##}	0.12±0.03 ^{##}
地塞米松组	3.16±1.08 ^{**}	6.00±2.46 ^{**}	3.84±1.31 ^{**}	0.72±0.13 ^{**}
木犀草素低剂量组	6.83±1.25 [*]	23.33±4.63 [*]	7.33±2.40 [*]	0.35±0.11 [*]
木犀草素中剂量组	5.37±1.12 ^{**}	15.41±4.27 ^{**}	5.13±1.74 ^{**}	0.47±0.13 ^{**}
木犀草素高剂量组	2.44±0.86 ^{**}	8.41±2.39 ^{**}	3.17±1.27 ^{**}	0.78±0.13 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3.3.5 木犀草素对 AR 小鼠肺组织 p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α 和 TLR4 蛋白表达的影响 如图 9、表 7 所示，与正常组比较，模型组小鼠肺组织 p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α、TLR4 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，各给药组小鼠肺组织 p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α、TLR4 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

4 讨论

本研究结合网络药理学与动物实验，揭示了木犀草素治疗 AR 的作用。网络药理学得到 TLR4/NF-κB 信号轴可能是木犀草素抗 AR 的关键靶点；分子对接结果显示，木犀草素与 TLR4/NF-κB 通路核心蛋白具有良好的结合能力，为 CETSA 实验在细胞水平证实它可与 TLR4 蛋白直接结合并增强其热稳定性提供了直接证据^[21]；KEGG 富集分析虽显示 IL-17、TNF、HIF-1、PI3K-Akt 等信号通路排名较 TLR4/NF-κB 信号通路靠前，但后者在 AR 发

1β mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，IFN-γ mRNA 表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，各给药组小鼠肺组织 IL-6、TNF-α、IL-1β mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，IFN-γ mRNA 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

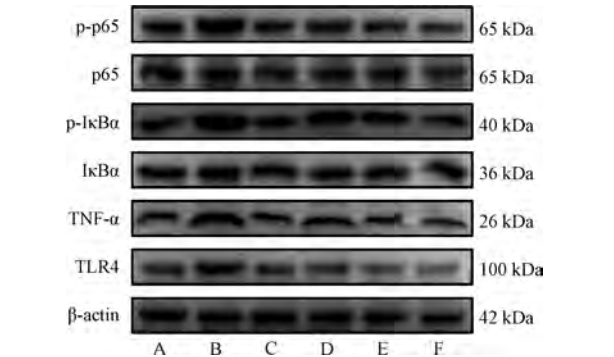
表 4 各组小鼠鼻黏膜厚度、杯状细胞数比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	鼻黏膜厚度/μm	杯状细胞数/个
正常组	19.48±2.11	16.67±3.56
模型组	58.47±3.63 ^{##}	45.50±5.96 ^{##}
地塞米松组	29.85±1.73 ^{**}	21.17±4.02 ^{**}
木犀草素低剂量组	39.78±3.61 ^{**}	34.50±4.51 ^{**}
木犀草素中剂量组	31.48±2.79 ^{**}	24.67±4.41 ^{**}
木犀草素高剂量组	26.92±2.07 ^{**}	24.17±5.42 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

病机制中的核心地位已得到广泛证实，是连接天然免疫与适应性免疫的关键枢纽，其活化可启动下游多种炎症级联反应，直接调控 Th1/Th2 免疫失衡状态。Liu 等^[28]报道，TLR4/NF-κB 通路在 AR 小鼠模型中显著激活，与嗅觉功能障碍密切相关。Kang 等^[29]阐述 TLR4/IRAK4/NF-κB 信号轴在 AR 中的关键调控作用，证实该通路通过调控致耐受性树突状细胞分化来影响 Th17 介导的炎症反应；Wu 等^[30]发现，miR-224-5p 通过靶向抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 通路来缓解 AR 症状。因此，TLR4/NF-κB 信号轴作为炎症反应的上游启动环节，其靶向干预具有更强的机制代表性和治疗针对性，而 IL-17、TNF 等通路更多作为该通路的下游效应环节发挥作用，后续将进一步探讨其协同调控机制。

研究发现，木犀草素可剂量依赖性改善 AR 小鼠鼻部症状与黏膜病理损伤^[31-32]，其作用不仅局限于抑制 Th2 型细胞因子及 IgE 表达，还可显著上



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为木犀草素低、中、高剂量组。

图 9 各组小鼠肺组织 p-p65、p65、p-IκBα、IκBα、TNF-α、TLR4 蛋白条带

表 7 各组小鼠肺组织 p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α、TLR4 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)				
组别	p-p65/p65	p-IκBα/IκBα	TNF-α	TLR4
正常组	0.77±0.17	0.56±0.09	0.59±0.09	0.65±0.06
模型组	1.46±0.09 ^{##}	1.29±0.14 ^{##}	1.36±0.08 ^{##}	1.25±0.18 ^{##}
地塞米松组	0.80±0.09 ^{**}	0.61±0.09 ^{**}	0.58±0.08 ^{**}	0.65±0.04 ^{**}
木犀草素低剂量组	0.98±0.07 ^{**}	1.09±0.10 [*]	0.86±0.11 ^{**}	0.80±0.13 ^{**}
木犀草素中剂量组	0.79±0.05 ^{**}	0.77±0.05 ^{**}	0.64±0.05 ^{**}	0.64±0.08 ^{**}
木犀草素高剂量组	0.59±0.13 ^{**}	0.60±0.06 ^{**}	0.47±0.04 ^{**}	0.44±0.08 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

代机制相呼应^[36]。本研究结果既为后续开展木犀草素与配伍成分的协同效应考察奠定了基础，也为从相关方剂中发掘靶向明确的候选药物提供了思路。

TLR4/NF-κB 通路在 AR 炎症级联反应中处于核心地位，TLR4 识别过敏原后激活 MyD88 依赖性通路，诱导 IκBα 磷酸化降解，促使 p65 入核启动促炎因子转录^[37-39]。本研究发现，模型组小鼠肺组织 TLR4、p-p65/p65、p-IκBα/IκBα、TNF-α 蛋白表达升高，而木犀草素干预后其表达均降低，表明木犀草素可能通过直接结合 TLR4，阻止 IκBα 磷酸化降解，抑制 p65 亚基活化入核，从而阻断促炎因子的转录释放^[40-42]。

然而，本研究未使用 TLR4 敲除或抑制剂对照来验证木犀草素靶点特异性。因此，未来可进一步探索木犀草素与 TLR4 结合的精确位点，评估该成分在鼻黏膜局部的药物浓度及长期应用的安全性，从而为其治疗变应性鼻炎等呼吸道炎症性疾病提供更充分的证据。

参考文献：

[1] Zhang Y, Lan F, Zhang L. Advances and highlights in allergic rhinitis[J]. *Allergy*, 2021, 76(11): 3383-3389.

[2] Bernstein J A, Bernstein J S, Makol R, et al. Allergic rhinitis: A review[J]. *JAMA*, 2024, 331(10): 866-877.

调 Th1 型细胞因子 IFN-γ 水平，揭示它可通过恢复 Th1/Th2 免疫平衡发挥效应，与 TLR4/NF-κB 通路抑制密切相关。木犀草素虽广泛分布于金银花、菊花、紫苏叶等中药中，但其治疗 AR 的经典来源为金银花，其性味甘寒，归肺、心、胃经，具清热解毒、疏散风热之功，为肺经伏热证鼻鼽之要药^[33]。既往研究表明，辛夷清肺饮中辛夷挥发油可促进木犀草素鼻黏膜渗透^[34]，薄荷醇能增强其抗炎活性^[35]，提示方剂中“君臣佐使”配伍可能通过改善单味药成药性来实现协同增效的作用。木犀草素作为金银花核心黄酮类成分，其“寒能清热”的药性与抑制 TLR4/NF-κB 通路、下调促炎因子的现

[3] Hao Y, Yang Y, Zhao H, et al. Multi-omics in allergic rhinitis: mechanism dissection and precision medicine[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2025, 68(1): 19.

[4] Dong L, Tang Y, Wen S, et al. Fecal microbiota transplantation alleviates allergic rhinitis via CD4⁺ T cell modulation through gut microbiota restoration[J]. *Inflammation*, 2024, 47(4): 1278-1297.

[5] Fan Y, Piao C H, Hyeon E, et al. Gallic acid alleviates nasal inflammation via activation of Th1 and inhibition of Th2 and Th17 in a mouse model of allergic rhinitis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 70: 512-519.

[6] Cheng L, Chen J, Fu Q, et al. Chinese society of allergy guidelines for diagnosis and treatment of allergic rhinitis[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2018, 10(4): 300-353.

[7] Ogulur I, Pat Y, Ardicli O, et al. Advances and highlights in biomarkers of allergic diseases[J]. *Allergy*, 2021, 76(12): 3659-3686.

[8] 顾瑜蓉, 李华斌. 变应性鼻炎的发病机制与精准治疗[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2019, 25(6): 578-584.

[9] 张 静, 董 馨, 程自岐, 等. 中药干预变应性鼻炎免疫学机制的研究进展[J]. *中成药*, 2025, 47(10): 3358-3365.

[10] 杨钦泰, 陈建军, 谭国林, 等. 鼻用糖皮质激素治疗变应性鼻炎专家共识 (2021, 上海) [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2021, 27(4): 365-371.

[11] Sun D, Liu L, Yan Y. Development and evaluation of a nomogram for INCS insensitivity in Chinese adults with allergic rhinitis[J]. *Int J Clin Pract*, 2023, 2023(1): 3027092.

[12] Santiago T, Da Silva J A. Safety of low- to medium-dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: myths and reality

over the years[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2014, 1318(1): 41-49.

[13] 刘翠珍, 冯思琪, 林秀娟, 等. 玉屏风散加味方化学成分鉴定[J]. *中国药房*, 2024, 35(18): 2225-2231.

[14] Lei X C, Liu C Z, Liu X J, *et al.* Effect of improved Yupingfeng powder prescription (玉屏风散加味) on interleukin-33/suppression of tumorigenicity 2 pathway in mice with ovalbumins-induced allergic rhinitis[J]. *J Tradit Chin Med*, 2025, 45(6): 1215-1227.

[15] 徐 新, 刘 畅, 曹佳渊, 等. 加减苍耳子散通过调控 SYK/PI3K/AKT 信号通路治疗变应性鼻炎的作用与机制[J]. *中药药理与临床*, 2025, 41(4): 28-36.

[16] 林锡泽, 张 瑜, 方 芳, 等. 银翘散加减方对急性鼻窦炎患者炎症因子及鼻黏膜传输功能的影响[J]. *中国中医急症*, 2025, 34(11): 1753-1756.

[17] 程静凯, 朱 珊, 田新磊, 等. 基于 Keap1/Nrf2/HO-1 通路探讨辛夷清肺饮对变应性鼻炎小鼠 Th1/Th2 免疫平衡的影响[J]. *中药材*, 2025, 48(10): 2627-2631.

[18] Gendrisch F, Esser P R, Schempp C M, *et al.* Luteolin as a modulator of skin aging and inflammation[J]. *BioFactors*, 2021, 47(2): 170-180.

[19] 杨 萍, 刘军刚, 李学娟, 等. 木犀草素治疗炎症性疾病作用机制研究进展[J]. *中草药*, 2025, 56(22): 8424-8435.

[20] Sun P, Chen X, Wang Y, *et al.* Regulatory mechanisms of luteolin in inflammatory respiratory diseases[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1720824.

[21] Wang T, Yin Y, Jiang X, *et al.* Exploring the mechanism of luteolin by regulating microglia polarization based on network pharmacology and *in vitro* experiments[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 13767.

[22] Liu Z, Gao S, Bu Y, *et al.* Luteolin protects cardiomyocytes cells against lipopolysaccharide-induced apoptosis and inflammatory damage by modulating Nlrp3[J]. *Yonsei Med J*, 2022, 63(3): 220-228.

[23] Liu T, Xu J, Yan H L, *et al.* Luteolin suppresses teratoma cell growth and induces cell apoptosis *via* inhibiting Bcl-2[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(7): 773-778.

[24] Park C M, Song Y S. Luteolin and luteolin-7-O-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF- κ B/AP-1/PI3K-Akt signaling cascades in RAW 264. 7 cells[J]. *Nutr Res Pract*, 2013, 7(6): 423-429.

[25] van de Rijn M, Mehlhop P D, Judkins A, *et al.* A murine model of allergic rhinitis: studies on the role of IgE in pathogenesis and analysis of the eosinophil influx elicited by allergen and cotaxin[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, 102(1): 65-74.

[26] Ko M T, Huang S C, Kang H Y. Establishment and characterization of an experimental mouse model of allergic rhinitis[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2015, 272(5): 1149-1155.

[27] 王姝玥, 孟 瑜, 汪咏春, 等. 小青龙汤配方颗粒剂及汤剂治疗变应性鼻炎小鼠的有效性与其安全性比较[J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(6): 899-906.

[28] Liu P, Qin D, Lv H, *et al.* Activation of dopamine D2 receptor alleviates neuroinflammation in a mouse model of allergic rhinitis with olfactory dysfunction[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2021, 13(6): 882-895.

[29] Kang C, Li X, Liu P, *et al.* Tolerogenic dendritic cells and TLR4/IRAK4/NF- κ B signaling pathway in allergic rhinitis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1276512.

[30] Wu J, Wu L, Zhang L, *et al.* Overexpression of miR-224-5p alleviates allergic rhinitis in mice *via* the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Exp Anim*, 2021, 70(4): 440-449.

[31] Vajdi M, Karimi A, Karimi M, *et al.* Effects of luteolin on sepsis: A comprehensive systematic review[J]. *Phytomedicine*, 2023, 113: 154734.

[32] Liang K L, Yu S J, Huang W C, *et al.* Luteolin attenuates allergic nasal inflammation *via* inhibition of interleukin-4 in an allergic rhinitis mouse model and peripheral blood from human subjects with allergic rhinitis[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 291.

[33] 简 雷, 肖才文, 何庆文, 等. 金银花提取物对变应性鼻炎小鼠细胞因子表达的影响[J]. *华中科技大学学报 (医学版)*, 2017, 46(3): 285-290.

[34] 任 翔, 王连睿, 王华雨, 等. 辛夷的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2026, 44(5): 164-171.

[35] Liu S, Guo W, Jia Y, *et al.* Menthol targeting AMPK alleviates the inflammatory response of bovine mammary epithelial cells and restores the synthesis of milk fat and milk protein[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 782989.

[36] 李 畅, 崔鸿峥, 王海琦, 等. 金银花颗粒对调节兔耳痒疮模型 NF- κ B 信号通路的实验研究[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(2): 88-92.

[37] Liu J, Jiang Y, Han M, *et al.* MicroRNA-345-5p acts as an anti-inflammatory regulator in experimental allergic rhinitis *via* the TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 86: 106522.

[38] Ebrahim Soltani Z, Badripour A, Haddadi N S, *et al.* Allergic rhinitis in BALB/c mice is associated with behavioral and hippocampus changes and neuroinflammation *via* the TLR4/ NF- κ B signaling pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 108: 108725.

[39] 刘书芹, 李桂华, 赵 娜, 等. 黄连解毒汤对变应性鼻炎大鼠 TLR4/NF- κ B 信号通路及黏膜杯状细胞的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(1): 140-145.

[40] Gao H L, Yu X J, Feng Y Q, *et al.* Luteolin attenuates hypertension *via* inhibiting NF- κ B-mediated inflammation and PI3K/Akt signaling pathway in the hypothalamic paraventricular nucleus[J]. *Nutrients*, 2023, 15(3): 502.

[41] Chen D, Shen F, Liu J, *et al.* Luteolin enhanced antioxidant capability and induced pyroptosis through NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 in splenic lymphocytes exposure to ammonia[J]. *Sci Total Environ*, 2024, 919: 170699.

[42] Chen C Y, Peng W H, Tsai K D, *et al.* Luteolin suppresses inflammation-associated gene expression by blocking NF-kappaB and AP-1 activation pathway in mouse alveolar macrophages[J]. *Life Sci*, 2007, 81(23/24): 1602-1614.