

☆ XXXX ☆

# 基于TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD细胞焦亡途径探讨电针治疗变应性鼻炎嗅觉障碍大鼠的机制

王钰嘉<sup>1,2</sup>, 戴晓辉<sup>1</sup>, 石佳惠<sup>2</sup>, 卢晓晓<sup>2</sup>, 李丽红<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>威海市中医院, 山东威海 264200; <sup>2</sup>贵州医科大学临床医学院, 贵阳 550004; <sup>3</sup>贵州医科大学附属医院针灸科, 贵阳 550004)

**【摘要】** 目的:观察电针对变应性鼻炎(AR)伴嗅觉障碍(OD)大鼠嗅觉功能及嗅黏膜Toll样受体4(TLR4)/核苷酸结合寡聚化结构域样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)/天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)/消皮素D(GSDMD)信号通路的影响,探讨电针改善AR伴OD大鼠嗅觉功能的机制。方法:除空白组3只外,其余SD大鼠采用卵清蛋白致敏法构建AR大鼠模型,埋藏食物小球实验(BFPT)筛选出OD大鼠,随机分为模型组和电针组,每组3只。电针组电针双侧“迎香”,每次10 min,1次/d,共14 d。干预结束后,对各组大鼠进行鼻部症状积分评定,BFPT评估大鼠嗅觉功能;HE染色观察嗅黏膜组织形态学变化;ELISA法检测血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 及IL-18含量;免疫组织化学法检测嗅黏膜TLR4、NLRP3、GSDMD、磷酸化核因子 $\kappa$ B(p-NF- $\kappa$ B)p65、Caspase-1及嗅觉标记蛋白(OMP)阳性表达。结果:与空白组比较,模型组大鼠嗅黏膜上皮层厚度变薄,细胞层数减少,黏膜细胞坏死脱落、结构破坏、排列紊乱,且有较多炎性细胞浸润;大鼠鼻部症状积分增高( $P<0.01$ ),嗅觉功能减弱( $P<0.01$ ),血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18含量及嗅黏膜TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B p65、Caspase-1阳性表达增加( $P<0.01$ ),OMP表达减少( $P<0.01$ )。与模型组比较,电针组大鼠嗅黏膜上皮层厚度和细胞层数增加,黏膜细胞坏死脱落、结构破坏减少,未见明显炎性细胞浸润,大鼠鼻部症状积分降低( $P<0.05$ ),嗅觉功能改善( $P<0.01$ ),血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18含量及嗅黏膜TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B p65、Caspase-1表达降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),OMP表达升高( $P<0.01$ )。结论:电针可能通过抑制炎症因子的释放,调控TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD通路介导的细胞焦亡,实现改善AR伴OD大鼠嗅觉功能的作用。

**【关键词】** 变应性鼻炎;嗅觉障碍;电针;细胞焦亡

## Mechanism of electroacupuncture in the treatment of olfactory function in rats with allergic rhinitis based on TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway

WANG Yu-jia<sup>1,2</sup>, DAI Xiao-hui<sup>1</sup>, SHI Jia-hui<sup>2</sup>, LU Xiao-xiao<sup>2</sup>, LI Li-hong<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Weihai Traditional Chinese Medical Hospital, Weihai 264200, Shandong Province, China; <sup>2</sup>Clinical Medical College, Guizhou Medical University, Guiyang 550004; <sup>3</sup>Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

**【ABSTRACT】 Objective** To observe the effect of electroacupuncture (EA) on olfactory function and the olfactory mucosa toll-like receptor 4 (TLR4)/NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3)/Caspase-1/gasdermin D (GSDMD) signaling pathway in rats with allergic rhinitis (AR) and olfactory dysfunction (OD), so as to explore the mechanism of EA in improving olfactory function. **Methods** The AR rat model was established using the ovalbumin sensitization method. Rats with OD were screened using the buried food pellet test (BFPT) and randomly divided into a model group and an EA group, with 3 rats in each group. Three normal SD rats were taken as the control group. Rats of the EA group received EA at bilateral “Yingxiang” (LI20) for 10 min each time, once daily for 14 d. After EA intervention, nasal symptom scores were assessed in each group; BFPT was used to evaluate olfactory

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250810

引用格式:王钰嘉,戴晓辉,石佳惠,等.基于TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD细胞焦亡途径探讨电针治疗变应性鼻炎嗅觉障碍大鼠的机制[J].针刺研究,XXXX,XX(X):1-8.

项目来源:威海市中医药科技项目(No.2023N-06)

通信作者:李丽红,E-mail:1109718711@qq.com

function; HE staining was used to observe the morphological changes of the olfactory mucosa; ELISA was used to detect serum contents of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1 $\beta$ , and IL-18; immunohistochemistry was used to detect the positive expressions of TLR4, NLRP3, GSDMD, phosphorylated nuclear factor- $\kappa$ B (p-NF- $\kappa$ B) p65, Caspase-1, and olfactory marker protein (OMP) in the olfactory mucosa. **Results** In the model group, the olfactory mucosal epithelium exhibited thinning with a reduced number of cell layers, mucosal cell necrosis and exfoliation, structural disruption, disorganized arrangement, and significant inflammatory cell infiltration. Compared with the control group, nasal symptom score was increased ( $P<0.01$ ), olfactory function was decreased ( $P<0.01$ ), serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-18 and the expression of TLR4, NLRP3, GSDMD, p-NF- $\kappa$ B p65, and Caspase-1 in the olfactory mucosa were increased ( $P<0.01$ ), while OMP expression was decreased ( $P<0.01$ ) in the model group. After EA intervention, the EA group showed increased thickness of the olfactory epithelium and number of cell layers, reduced necrosis and shedding of mucosal cells and structural damage, and no significant inflammatory cell infiltration. Compared with the model group, the EA group showed a reduction in nasal symptom scores ( $P<0.05$ ), improvement in olfactory function ( $P<0.01$ ), decreased serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-18, as well as reduced expressions of TLR4, NLRP3, GSDMD, p-NF- $\kappa$ B p65, and Caspase-1 in the olfactory mucosa ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), along with increased expression of OMP ( $P<0.01$ ). **Conclusion** EA may improve olfactory function in AR rats with OD by inhibiting the release of inflammatory factors and regulating pyroptosis mediated by the TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD pathway.

**【KEYWORDS】** Allergic rhinitis; Olfactory dysfunction; Electroacupuncture; Pyroptosis

变应性鼻炎(AR)是一种常见的慢性过敏性疾病,表现为鼻塞、打喷嚏、流涕、鼻痒及嗅觉障碍(OD)等。AR患者常常伴有OD,其中嗅觉减退的发生率为10%~88%<sup>[1]</sup>,OD的严重程度与AR的严重程度和持续时间呈正相关<sup>[2]</sup>,对患者的生活质量和社交活动产生严重影响。研究<sup>[3]</sup>表明,炎性反应是激活细胞焦亡的主要途径。细胞焦亡是新近发现的一种促炎性、程序性细胞死亡形式,其经典途径依赖于核苷酸结合寡聚化结构域样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)和消皮素D(GSDMD)等关键蛋白的激活<sup>[4]</sup>。AR鼻黏膜损伤与细胞焦亡密切相关,抑制细胞焦亡能明显改善鼻黏膜损伤<sup>[5]</sup>。Toll样受体4(TLR4)/NLRP3通路是触发细胞焦亡的经典通路,其参与诱导免疫炎性反应,造成AR鼻黏膜损伤<sup>[6]</sup>。既往研究<sup>[7]</sup>表明,NLRP3炎性小体参与了AR伴OD大鼠的发病过程,使用抑制剂后可抑制NLRP3介导的细胞焦亡,从而改善AR引起的OD。

针刺对鼻源性OD效果确切,在穴位上施加电刺激可增强组织代谢、消除炎性水肿,营养支配嗅觉的组织神经<sup>[8-9]</sup>。前期研究<sup>[10]</sup>结果显示,电针可通过抑制相关炎性因子对嗅上皮和嗅觉神经元的损伤而改善AR大鼠嗅觉功能,但电针能否通过调控TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD细胞焦亡途径发挥治疗AR伴OD的作用尚不清楚。本实验通过观察电针对AR伴OD大鼠嗅觉功能、嗅黏膜组织

形态学、嗅黏膜白细胞介素(IL)-18、IL-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 含量及嗅黏膜TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B p65、Caspase-1、嗅觉标记蛋白(OMP)表达的影响,探讨电针抑制炎症反应调控细胞焦亡治疗AR伴OD的机制,为临床提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

SPF级雄性SD大鼠20只,体质量200~250 g,购于广东维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(粤)2022-0063。大鼠分笼饲养于贵州医科大学附属医院临床医学研究中心,饲养温度22~24℃,湿度(65±5)%、12 h/12 h昼夜节律,自由进食饮水。实验方案通过贵州医科大学伦理委员会审批,审批号:2304575。实验中对动物的处理遵照《关于善待实验动物的指导性意见》相关规定。

### 1.2 主要仪器与试剂

一次性无菌针灸针(0.25 mm×13 mm)、SDZ-Ⅲ型电子针疗仪(苏州医疗用品厂),JT-12 J脱水机、JB-P5包埋机(武汉俊杰),Leica RM 2016型病理切片仪(上海徕卡),JK-6型生物组织摊烤片机(武汉俊杰),TGL-16冷冻离心机(湖南湘仪),Multiskan FC酶标仪(美国Thermo Scientific),Nikon Fi3型显微镜(日本Nikon)。卵清蛋白(OVA,美国Sigma),氢氧化铝(北京索莱宝),IL-18、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒(武汉酶免),HE染色

试剂盒(美国 Sigma), GSDMD、TLR4、磷酸化核因子  $\kappa$ B(p-NF- $\kappa$ B)p65 抗体(武汉三鹰), NLRP3 抗体(美国 Affinity), Caspase-1、OMP 抗体(武汉博士德), 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔即用型二抗(厦门通灵生物)。

### 1.3 造模及分组方法

大鼠适应性饲养 1 周后, 随机取 3 只大鼠作为空白组, 其余大鼠进行造模。

采用 OVA 致敏法<sup>[10-11]</sup>制备 AR 模型。基础致敏阶段: 大鼠腹腔注射含 0.3 mg OVA、氢氧化铝凝胶 30 mg 的混悬液 1 mL, 隔日 1 次, 共 7 次。强化致敏阶段: 基础致敏结束第 2 天, 以 5% 卵清蛋白和 0.9% 氯化钠溶液滴鼻(双侧), 每侧 50  $\mu$ L, 连续 7 d。在末次鼻腔致敏后, 30 min 内观察大鼠鼻部症状, 采用叠加量化记分法<sup>[11]</sup>评估大鼠鼻部过敏症状, >5 分表明造模成功。鼻痒: 轻度为 1 分, 轻抓鼻几次; 重度为 2 分, 抓鼻面不止。喷嚏: 1~3 个为 1 分, 4~10 个为 2 分, 10 个以上为 3 分。清涕: 流至前鼻孔为 1 分, 过前鼻孔为 2 分, 流涕满面为 3 分。所有造模大鼠全部成功制备 AR 模型。

AR 大鼠在成模第 2 天进行嗅觉功能评估。采用埋藏食物小球实验(BFPT)进行嗅觉功能评估<sup>[12]</sup>。在实验前 2 d 开始对大鼠进行限食饲养(大鼠每 24 h 0.2 g 饲料), 可自由饮水, 并每日将大鼠放于实验箱熟悉实验环境 10 min。嗅觉实验每日 1 次, 将 0.5 g 食物小球(采用新鲜鼠料, 以减少外源性食物味道的干扰)埋藏在垫料表面下 3 cm 处, 每次随机更换食物小球位置, 记录将大鼠置于笼中至找到食物小球的时间。以 300 s(2 次测试的平均值)内未找到食物小球的大鼠即为存在 OD。将存在 OD 的 AR 大鼠随机分为模型组和电针组, 每组 3 只。

### 1.4 干预方法

造模结束后次日进行电针干预。电针组大鼠用 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)溶液进行腹腔注射麻醉后, 固定于鼠板。参照文献[13]取大鼠两侧“迎香”, 局部常规消毒后, 针灸针向鼻根方向斜刺 3 mm, 连接电针仪, 正负极各接一侧“迎香”, 疏密波, 频率 2 Hz/15 Hz, 电流强度 1 mA, 每次 10 min, 1 次/d, 共 14 d。空白组、模型组每日抓取固定, 不作干预。

### 1.5 观察指标及检测方法

各组大鼠症状积分评估: 最后 1 次干预完成当日, 观察大鼠行为学 30 min, 采用叠加量化记分法<sup>[11]</sup>

评估大鼠鼻部过敏症状。

各组大鼠嗅觉功能评估: 干预结束当日, 采用 BFPT 法<sup>[12]</sup>对所有大鼠进行嗅觉功能评估。

标本采集: 嗅觉功能评估结束后, 用 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉各组大鼠, 心脏取血 2 mL, 离心 10 min, 取上层血清放入 EP 管, 置于 -80  $^{\circ}$ C 保存备用。处死大鼠, 以两侧鼻骨为解剖标志, 矢状位切割, 剪下完整的鼻中隔, 分离嗅黏膜, 置于 4% 多聚甲醛中固定, 常规石蜡包埋, 4  $^{\circ}$ C 保存。

HE 染色法观察嗅黏膜组织形态学变化: 嗅黏膜组织放入 4% 多聚甲醛中固定 48 h 以上, 常规梯度乙醇脱水、透明、浸蜡、包埋、切片(厚度 4  $\mu$ m), 二甲苯脱蜡, 再次乙醇梯度复水, 苏木精-伊红染色, 脱水透明, 封固, 显微镜下观察切片组织形态。

免疫组织化学法检测嗅黏膜 TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B p65、Caspase-1、OMP 表达: 取大鼠的嗅黏膜石蜡切片、烤片、脱蜡、抗原修复, 加 3% 过氧化氢溶液室温孵育 15 min, 加 10% 山羊血清室温封闭 30 min。分别加入 TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B p65、Caspase-1 及 OMP 一抗(TLR4、NLRP3、Caspase-1、OMP 为 1:100, GSDMD、p-NF- $\kappa$ B p65 为 1:200)4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。PBS 冲洗 3 min $\times$ 3 次, 加入 HRP 标记山羊抗兔即用型二抗, 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min, PBS 冲洗 3 min $\times$ 4 次。加入 DAB 显色液显色, 苏木精复染细胞核, 脱水, 透明, 中性树胶封片。每张切片在 400 倍光学显微镜下观察 4 个视野, 棕黄(褐)色颗粒为阳性表达, 用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统进行吸光度值分析, 取 4 个视野平均值。

ELISA 法检测血清 IL-18、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量: 取大鼠冻存血清严格按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作。酶标仪空白孔调零, 于 450 nm 波长下依序测量各孔的吸光度值, 根据标准曲线计算出样品 IL-18、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的实际含量。

### 1.6 统计学处理

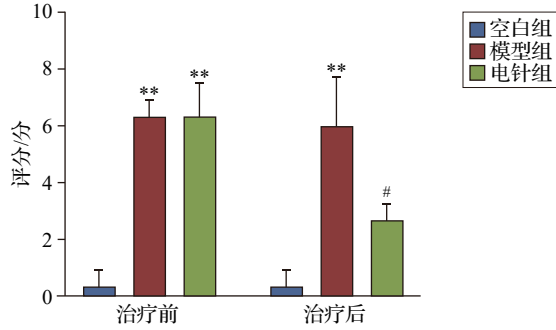
采用 SPSS26.0 统计软件进行处理, 计量资料均符合正态分布, 以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。多组间比较用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验。以  $P\leq 0.05$  为差异有统计学意义的标准。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠鼻部症状学积分比较

造模后, 模型组、电针组大鼠鼻部症状积分高

于空白组( $P<0.01$ )。电针干预后,与空白组比较,模型组大鼠鼻部症状学积分升高( $P<0.01$ );与模型组比较,电针组大鼠鼻部症状学积分降低( $P<0.05$ )。见图1。

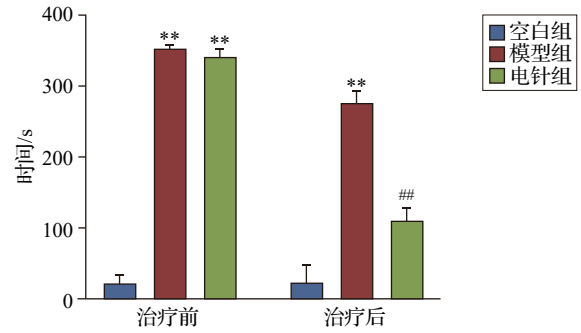


注:与同时点空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与同时点模型组比较,# $P<0.05$ 。

图1 各组大鼠鼻部症状学积分比较( $\bar{x}\pm s$ ,3只鼠/组)  
Fig.1 Comparison of nasal symptom scores of rats in the 3 groups ( $\bar{x}\pm s$ ,3 rats/group)

### 2.2 各组大鼠嗅觉功能评估比较

造模后,模型组、电针组大鼠寻找食物时间长于空白组( $P<0.01$ )。电针干预后,与空白组比较,模型组大鼠寻找食物时间延长( $P<0.01$ );与模型组比较,电针组大鼠寻找食物时间缩短( $P<0.01$ )。见图2。

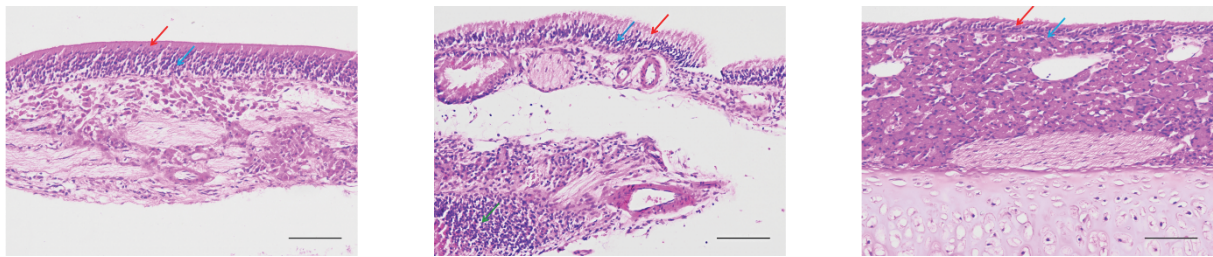


注:与同时点空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与同时点模型组比较,## $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠嗅觉功能评估比较( $\bar{x}\pm s$ ,3只鼠/组)  
Fig.2 Comparison of olfactory function of rats in the 3 groups ( $\bar{x}\pm s$ ,3 rats/group)

### 2.3 各组大鼠嗅黏膜组织形态学比较

空白组大鼠嗅黏膜上皮厚度正常,绒毛和黏膜细胞排列整齐、形态完整。模型组大鼠嗅黏膜上皮层厚度变薄、细胞层数减少,黏膜细胞坏死脱落、结构破坏、排列紊乱,且有较多炎性细胞浸润(绿色箭头),Bowman腺体萎缩、坏死,形态难以辨认。与模型组比较,电针组大鼠嗅上皮层厚度和细胞层数增加,黏膜细胞坏死脱落、结构破坏等减少,未见明显炎性细胞浸润,Bowman腺形态结构均有好转。见图3。



空白组 模型组 电针组  
注:标尺=100  $\mu\text{m}$ 。绿色箭头示炎性细胞,红色箭头示绒毛,蓝色箭头示嗅黏膜细胞。

图3 各组大鼠嗅黏膜组织形态比较(HE染色)

Fig.3 Comparison of the histomorphology of olfactory mucosa of rats in the 3 groups (HE staining)

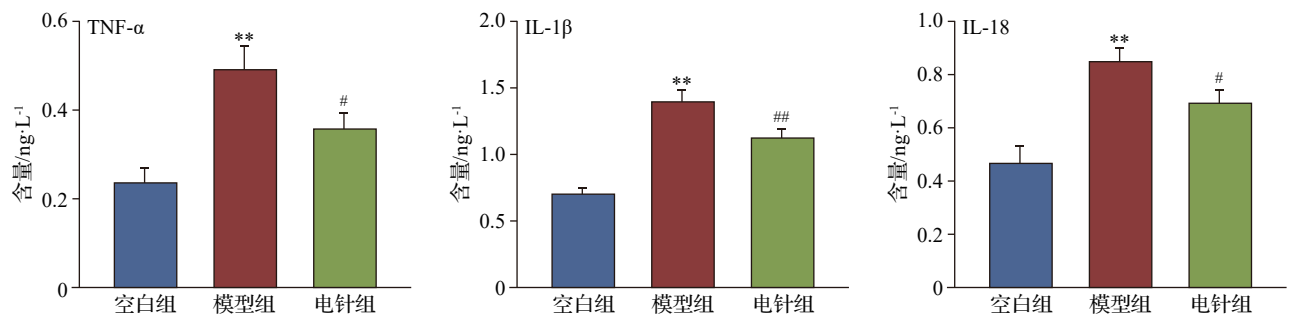
### 2.4 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及 IL-18 含量比较

与空白组比较,模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及 IL-18 含量增加( $P<0.01$ );与模型组比较,电针组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及 IL-18 含量均减少( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。见图4。

### 2.5 各组大鼠嗅黏膜 TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa\text{B}$ p65、Caspase-1 及 OMP 阳性表达比较

各组大鼠嗅黏膜均有 TLR4、NLRP3、

GSDMD、p-NF- $\kappa\text{B}$  p65、Caspase-1 及 OMP 阳性表达。与空白组比较,模型组大鼠嗅黏膜 TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa\text{B}$  p65 及 Caspase-1 阳性表达增加( $P<0.01$ ),OMP 阳性表达减少( $P<0.01$ );与模型组比较,电针组大鼠嗅黏膜 TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa\text{B}$  p65 及 Caspase-1 阳性表达减少( $P<0.05$ ),OMP 阳性表达明显增加( $P<0.01$ )。见图5。



注:TNF- $\alpha$ 为肿瘤坏死因子- $\alpha$ ,IL为白细胞介素。与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,# $P<0.05$ ,## $P<0.01$ 。

图4 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-18 含量的比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,3 只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-18 contents of rats in the 3 groups ( $\bar{x}\pm s$ ,3 rats/group)

### 3 讨论

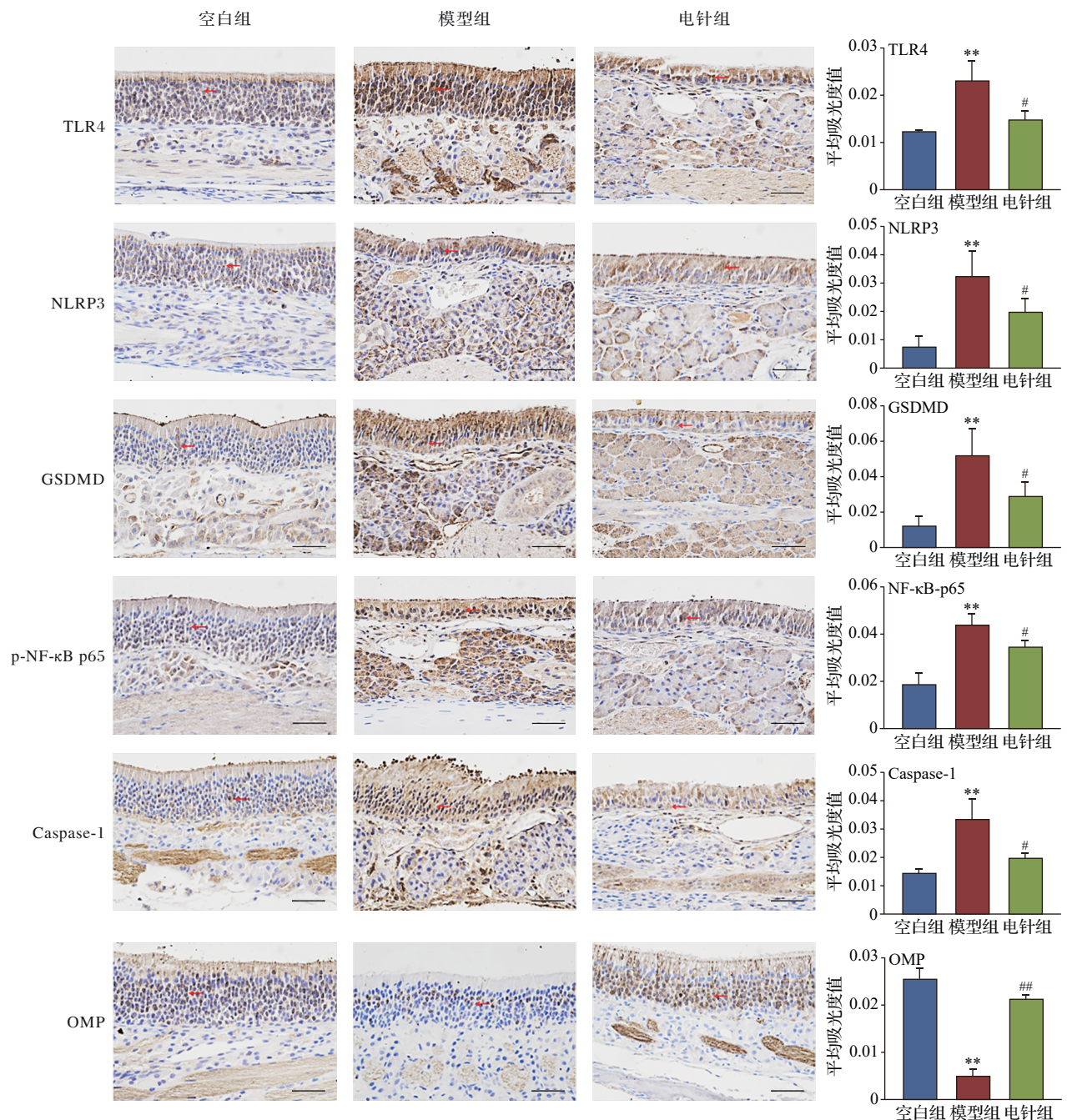
AR是指具有特异过敏体质的个体接触变应原后由IgE介导的介质释放及多种免疫活性细胞和细胞因子等参与的鼻黏膜炎性反应性疾病,其发病的重要免疫学基础是体内免疫细胞亚群失衡。OD是AR的常见症状,近几年发病率有不断上升趋势,逐步引起临床重视<sup>[14]</sup>。炎性反应被认为是导致嗅觉功能受损的核心因素,AR炎性反应产生的细胞因子和炎性介质对嗅觉神经元有毒性作用,直接损伤嗅上皮及神经元,导致成熟嗅觉神经元不能产生嗅觉神经冲动,引起OD症状<sup>[15-16]</sup>。持续的炎性反应状态可引起嗅觉上皮的结构性改变,进一步加剧嗅觉功能的退化<sup>[17]</sup>。OMP是目前所知主要嗅觉通路中唯一的标记脑蛋白,特异性地表达于成熟的嗅觉神经元,与嗅觉功能密切相关,可作为嗅觉神经元的分子标记<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,模型组大鼠嗅觉功能明显减弱,嗅黏膜上皮层厚度变薄、细胞层数减少,黏膜细胞坏死脱落,且有较多炎性细胞浸润,血清促炎因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及IL-18含量升高,OMP阳性表达明显降低;而经电针干预后,大鼠嗅觉功能明显提高,嗅上皮层厚度和细胞层数增加,黏膜细胞坏死脱落、结构破坏减少,未见明显炎性细胞浸润,血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及IL-18含量明显降低。提示电针可能通过抑制促炎因子的释放,减少嗅黏膜神经元的损伤,发挥治疗OD的作用,与前期研究结果一致<sup>[8]</sup>。

在机体生长发育的过程中,细胞死亡是机体发育、维持机体稳态和免疫调节的关键过程,细胞焦亡是其中的一种形式,是以炎性反应为核心的程序性细胞死亡方式,主要依赖于Caspase-1活化介导的GSDMD细胞焦亡小孔的形成及促炎细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-18释放增加的过程<sup>[19]</sup>,常伴随细胞胀破,胞内促炎因子外泄,进一步引发严重的炎性反

应<sup>[7,20]</sup>。TLR4是第一个被发现的TLRs,能够识别病原微生物及细胞壁产物的跨膜蛋白质,在炎症免疫中发挥枢纽作用。研究显示,TLR4的激活能够促进NF- $\kappa$ B活化,促进炎性细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-6及TNF- $\alpha$ 等释放<sup>[21]</sup>,还可激活NLRP3炎性小体,促进下游炎性细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-18释放,诱导细胞焦亡的发生<sup>[22]</sup>。TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD是炎性反应的关键调控轴,也是介导细胞焦亡的关键通路<sup>[23]</sup>。

近年研究证实,细胞焦亡参与如感染性疾病、变应性疾病等多种免疫性和炎症疾病的发生。研究显示,NLRP3炎性小体是介导细胞焦亡途径的关键蛋白,NLRP3可通过增强炎性反应和细胞焦亡促进AR的发展,其激活Caspase-1,成熟的Caspase-1剪切GSDMD发生低聚化反应,使细胞膜发生破裂,加速促炎因子IL-1 $\beta$ 和IL-18释放,导致辅助性T细胞过度激活及细胞焦亡的发生,诱导和促进AR发生<sup>[24]</sup>。IL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-18等作为炎性小体的特异性炎性因子,在AR的发展中起到重要作用。研究显示,OVA诱导的AR小鼠GSDMD、IL-18、Caspase-1显著升高,而敲除NLRP3基因可显著逆转其升高现象,明显改善小鼠的AR症状<sup>[25]</sup>。也有研究<sup>[5-6]</sup>证实,抑制TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路活化,降低炎性细胞因子释放,能有效改善AR大鼠鼻黏膜损伤。本研究结果显示,模型组大鼠嗅黏膜TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B P65、Caspase-1阳性表达均升高,而电针组大鼠TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF- $\kappa$ B P65、Caspase-1阳性表达明显降低,说明电针可通过抑制细胞焦亡,减轻嗅黏膜炎性反应。

综上所述,电针刺激可明显缩短AR伴OD大鼠寻找食物时间,改善嗅觉功能,其机制可能与电针抑制TLR4/NLRP3/Caspase-1/GSDMD介导的



注:TLR4为 Toll样受体 4,NLRP3为核苷酸结合寡聚化结构域样受体热蛋白结构域相关蛋白 3,GSDMD为消皮素 D,p-NF-κB 为磷酸化核因子 κB,Caspase-1为天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1,OMP为嗅觉标记蛋白。标尺=50 μm,箭头所示棕黄(褐)色为阳性表达。与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,# $P<0.05$ ,## $P<0.01$ 。

图5 各组大鼠嗅黏膜组织 TLR4、NLRP3、GSDMD、p-NF-κB p65、Caspase-1及 OMP 阳性表达的比较( $\bar{x}\pm s$ ,3 只鼠/组)  
Fig. 5 Comparison of TLR4, NLRP3, GSDMD, p-NF-κB p65, Caspase-1 and OMP positive expressions in olfactory mucosa tissue of rats in the 3 groups( $\bar{x}\pm s$ ,3 rats/group)

细胞焦亡,下调炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1  $\beta$ 、IL-18 的表达,减少其对嗅黏膜神经元的损伤有关。当然,本研究存在一定局限性,主要表现为大鼠数量有限。因本次实验样本量较小,今后需进一步扩大样本量,增加结果的可靠性。但现有结果仍可为同类研究提供初步参考,为后续扩大样本量的验证研

究奠定基础。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

### 参考文献

- [1] 邵莉莉,孙宝宾,陶锋,等. 变应性鼻炎嗅觉障碍大鼠嗅觉感受神经元的实验研究[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2017, 24 (6): 320-324.

- SHAO L L, SUN B B, TAO F, et al. Experimental research of the olfactory receptor neurons of olfactory dysfunction by allergic rhinitis (in Chinese) [J]. Chinese Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2017, 24 (6) : 320-324.
- [2] STUCK B A, HUMMEL T. Olfaction in allergic rhinitis: a systematic review [J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 136 (6): 1460-1470.
- [3] 孙腾腾, 张小强, 崔丹丹, 等. 氧化锌纳米颗粒对小鼠小胶质细胞 HMGB1/TLR4/RAGE 信号通路和炎症反应影响的研究[J]. 毒理学杂志, 2022, 36(4): 304-309, 315.
- SUN T T, ZHANG X Q, CUI D D, et al. Effects of Zinc oxide nanoparticles on HMGB1/TLR4/RAGE signaling pathway and inflammation in BV2 mouse microglial cells (in Chinese) [J]. Journal of Toxicology, 2022, 36 (4) : 304-309, 315.
- [4] 彭果然, 程贝贝, 丁蓉珍, 等. 柴朴汤通过调控 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路改善哮喘大鼠细胞焦亡的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(22): 135-144.
- PENG G R, CHENG B B, DING R Z, et al. Mechanism of chaipo decoction in alleviating pyroptosis in asthmatic rats *via* regulation of NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway (in Chinese) [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2025, 31(22): 135-144.
- [5] 李艳峰, 王慧敏. 山柰酚调控 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路介导的细胞焦亡途径对变应性鼻炎大鼠的影响[J]. 中医药信息, 2025, 42(5): 21-28, 44.
- LI Y F, WANG H M. Effect of kaempferol on allergic rhinitis rats *via* regulating the TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway mediated cell apoptosis pathway (in Chinese) [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2025, 42(5): 21-28, 44.
- [6] TIAN M H, SUN W F, MAO Y H, et al. Mechanistic study of acupuncture on the pterygopalatine ganglion to improve allergic rhinitis: analysis of multi-target effects based on bioinformatics/network topology strategie [J]. Brief Bioinform, 2024, 25(4): bbae287.
- [7] 周方伟, 张田, 金莹, 等. NLRP3 介导的焦亡在变应性鼻炎嗅觉障碍中的作用研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2022, 57(4): 433-441.
- ZHOU F W, ZHANG T, JIN Y, et al. Effects of NLRP3-mediated pyroptosis on olfaction dysfunction in allergic rhinitis (in Chinese) [J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2022, 57(4): 433-441.
- [8] 樊晶, 李姝睿, 王琼, 等. 针刺治疗嗅觉障碍研究进展[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2023, 47(4): 159-163.
- FAN J, LI S R, WANG Q, et al. Research progress of acupuncture in the treatment of olfactory dysfunction (in Chinese) [J]. Chinese Journal of Library and Information Science for Traditional Chinese Medicine, 2023, 47 (4) : 159-163.
- [9] 于东歌. “鼻三针”配合穴位注射治疗嗅觉障碍疗效观察[J]. 中医临床研究, 2014, 6(25): 23-24.
- YU D G. Clinical observation on treating dysosmia with Nose 3-Needle plus acupoint injection (in Chinese) [J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2014, 6(25): 23-24.
- [10] 周科安, 王钰嘉, 周芋伶, 等. 电针抑制炎症反应改善变应性鼻炎嗅觉障碍大鼠嗅觉功能的机制研究[J]. 针刺研究, 2025, 50(8): 946-953.
- ZHOU K A, WANG Y J, ZHOU Y L, et al. Study on the mechanism of electroacupuncture in improving olfactory function in rats with allergic rhinitis-induced olfactory dysfunction through inhibition of inflammatory response (in Chinese)[J]. Acupuncture Research, 2025, 50(8): 946-953.
- [11] 周芋伶, 张倩, 王钰嘉, 等. 穴位注射通过 Toll 样受体 4/激活蛋白-1 信号通路纠正 Th1/Th2 细胞因子失衡改善变应性鼻炎大鼠炎症反应[J]. 针刺研究, 2023, 48(4): 366-371.
- ZHOU Y L, ZHANG Q, WANG Y J, et al. Acupoint injection ameliorates Th1/Th2 imbalance through Toll-like receptor 4/activator protein-1 signal pathway and improves inflammatory response in rats with allergic rhinitis (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2023, 48(4): 366-371.
- [12] GAO X, LI N, ZHANG J S. SB203580, a p38MAPK inhibitor, attenuates olfactory dysfunction by inhibiting OSN apoptosis in AR mice (activation and involvement of the p38 mitogen-activated protein kinase in olfactory sensory neuronal apoptosis of OVA-induced allergic rhinitis)[J]. Brain Behav, 2019, 9(6): e01295.
- [13] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分: 大鼠[J]. 针刺研究, 2021, 46(4): 351-352.
- China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals. Part 2: rats(in Chinese)[J]. Acupuncture Research, 2021, 46(4): 351-352.
- [14] 李姝睿, 王琼, 刘乃嘉, 等. 基于 cAMP 嗅觉信号转导通路探讨靶向通窍针法干预嗅觉障碍小鼠的作用机制[J]. 中医药信息, 2023, 40(4): 11-14.
- LI S R, WANG Q, LIU N J, et al. Exploring action mechanism of targeted Tongqiao acupuncture in intervening OD based on cAMP olfactory signal transduction pathway in mice (in Chinese) [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2023, 40(4): 11-14.
- [15] GULEMANY J M, GARCÍA-PIÑERO A, ALOBID I, et al. Persistent allergic rhinitis has a moderate impact on the sense of smell, depending on both nasal congestion and inflammation[J]. Laryngoscope, 2009, 119(2): 233-238.
- [16] LIN Y T, YE H T H. Studies on clinical features, mechanisms, and management of olfactory dysfunction secondary to chronic rhinosinusitis [J]. Front Allergy, 2022, 3: 835151.
- [17] 陈兴龙, 赵玲琼, 骆文龙. 变应性鼻炎嗅觉障碍致病机制及治疗的研究进展[J]. 海南医学, 2024, 35(24): 3644-3648.
- CHEN X L, ZHAO L Q, LUO W L. Research progress on pathogenesis and treatment of olfactory dysfunction in allergic rhinitis (in Chinese) [J]. Hainan Medical Journal, 2024, 35 (24): 3644-3648.
- [18] HAMMEN G F, TURAGA D, HOLY T E, et al.

- Functional organization of glomerular maps in the mouse accessory olfactory bulb [J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17 (7) : 953-961.
- [19] HUSTON H C, ANDERSON M J, FINK S L. Pyroptosis and the cellular consequences of gasdermin pores [J]. *Semin Immunol*, 2023, 69: 101803.
- [20] 陈丽香, 李顺, 周晓辉. 程序性细胞坏死及细胞焦亡信号通路研究进展概述 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2020, 40 (3): 231-237.
- CHEN L X, LI S, ZHOU X H. Overview of necroptosis and pyroptosis signaling pathways (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2020, 40 (3) : 231-237.
- [21] CAI Q Y, ZHAO C Y, XU Y Y, et al. Qingda granule alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling in microglia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 324: 117712.
- [22] WANG K T, WANG A, DENG J P, et al. Rivaroxaban down-regulates pyroptosis and the TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway to promote flap survival [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 128: 111568.
- [23] 张轶斐, 曹梓静, 张泽钰, 等. 益肾通络方调控 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路改善糖尿病肾病小鼠细胞焦亡的机制研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2025, 48(1): 21-33.
- ZHANG Y F, CAO Z J, ZHANG Z Y, et al. Mechanism of Yishen Tongluo Formula regulating the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway to ameliorate pyroptosis in diabetic nephropathy mice (in Chinese) [J]. *Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, 2025, 48 (1) : 21-33.
- [24] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases [J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61-75.
- [25] 魏亚宁, 仇惠莺. NLRP3 炎症小体活化促进上皮细胞焦亡诱导变应性鼻炎 [J]. *免疫学杂志*, 2021, 37(2): 140-144.
- WEI Y N, QIU H Y. NLRP3 inflammasome activation promotes the development of allergic rhinitis *via* epithelium pyroptosis (in Chinese) [J]. *Immunological Journal*, 2021, 37 (2): 140-144.

收稿日期:2025-07-31 修回日期:2025-11-14