

徐丹,李姗姗,王毅力,等.花粉诱导的过敏性鼻炎动物模型研究进展[J].中国比较医学杂志,2025,35(1):92-110.
Xu D, Li SS, Wang YL, et al. Progress in animal models of pollen-induced allergic rhinitis [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35 (1): 92-110.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.01.010

花粉诱导的过敏性鼻炎动物模型研究进展

徐丹,李姗姗,王毅力,高斐宏*

(天津中医药大学,天津 301617)

【摘要】 花粉变应原诱导的过敏性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 又称季节性过敏性鼻炎 (seasonal allergic rhinitis, SAR), 通常发生在风媒植物的花粉散播期。在过去的 30 年里, SAR 的发病率已增加了一倍多。SAR 的病因复杂, 涉及多种因素, 包括花粉变应原的种类、环境气候因素、遗传因素、人体免疫状态等。动物模型是理解 AR 发病机制和推动有效防治策略发展的重要工具, 本文通过总结近年来国内外关于花粉诱导 AR 动物试验的文献, 系统阐述了影响模型效果的因素, 包括动物品系、致敏材料 (花粉抗原的制作及存在问题、佐剂的使用及存在问题)、造模的步骤和效果评价。这些内容旨在为建立合适的花粉诱导 AR 动物模型及其相关的基础研究和应用研究提供参考和支持。

【关键词】 季节性过敏性鼻炎; 过敏性鼻炎; 花粉变应原; 动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 01-0092-19

Progress in animal models of pollen-induced allergic rhinitis

XU Dan, LI Shanshan, WANG Yili, GAO Feihong*

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

【Abstract】 Pollen allergen-induced allergic rhinitis (AR), also known as seasonal allergic rhinitis (SAR), typically manifests during the period of pollen dissemination by anemophilous plants. The prevalence of SAR has more than doubled over the past three decades. The etiology of SAR is multifaceted, involving factors such as pollen allergens, environmental and climatic conditions, genetic predispositions, and the immunological status of the individual. Animal models provide a critical tool for elucidating the mechanisms underlying AR and advancing the development of effective preventive and therapeutic strategies. This review synthesizes the recent pertinent domestic and international literature on pollen-sensitized AR animal experiments. It systematically delineates the factors influencing the efficacy of these models, including the selection of animal strains, the production and associated challenges of sensitizing agents, specifically pollen antigens, the utilization and limitations of adjuvants, the procedural steps involved in model creation, and the method ologies for evaluating model effectiveness. The insights provided are intended to offer guidance and support for the development of appropriate animal models of pollen-induced AR, thereby facilitating both fundamental and applied research in this area.

【Keywords】 seasonal allergic rhinitis; allergic rhinitis; pollen allergens; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金 (82105045)。

【作者简介】 徐丹 (1997—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 蒙药治疗过敏性鼻炎的作用机制。E-mail: xudan4040@163.com

【通信作者】 高斐宏 (1987—), 女, 医学博士, 硕士生导师, 研究方向: 蒙药治疗过敏性鼻炎的作用机制。

E-mail: fayehom@tjucm.edu.cn

过敏性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是由免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 介导的、涉及多种细胞因子和免疫细胞介入的慢性非感染性鼻黏膜炎性疾病^[1-2]。其临床表现通常为阵发性打喷嚏、流清水样鼻涕、鼻部瘙痒和鼻塞等^[3]。并且由于上下气道相互影响,临床上 40%~50% 的 AR 患者同时并发支气管哮喘^[4],严重影响患者生活质量^[5]。AR 主要分为常年性和季节性两种类型,其中季节性过敏性鼻炎 (seasonal allergic rhinitis, SAR) 是最常见的形式。SAR 曾被称为花粉热,其特点是季节性发病明显,与特定花粉的散播期相吻合,患者血清中可发现特异性 IgE 抗体^[6]。该病的病理机制非常复杂,这也引起了该领域学者的广泛关注。

根据世界卫生组织的数据,全球至少有 4 亿人患有 AR,预计到 2050 年,全球有一半的人口可能患有过敏性疾病^[7]。在过去的 30 年里,SAR 的发病率增加了一倍多,影响到了全球 10%~25% 的人口^[8]。研究表明,季节性花粉浓度的增加与过敏性疾病的发生密切相关^[9-10]。随着现代化和工业化的快速发展,人们的生活环境不断变化,空气污染越来越严重,SAR 的流行率逐年上升^[11-12]。

因此,我们迫切需要对花粉诱导的 AR 进行更为深入的研究,特别是在发病机制、有效的治疗方法和预防措施等方面。建立花粉诱导 AR 动物模型被认为是至关重要的一步。本文综述了近年来关于花粉诱导 AR 动物模型的研究进展,重点讨论了动物品系、致敏材料(花粉抗原的制作及存在问题、佐剂的使用及存在问题)、造模的步骤、效果评价等内容。这些研究不仅增强了我们对花粉过敏机制的理解,也为探索有效的治疗策略和促进新药研发提供了重要的理论依据与实践指导。

1 花粉过敏原的致敏特性

1.1 花粉过敏原的类型及分布特征

花粉过敏的发生很大程度上受到环境因素的影响,其中最重要的是花粉浓度和气候条件。气候条件对花粉的传播有重要影响,例如风速。引起 AR 的花粉主要是风媒花粉(如空气传播的树木和草花粉),由于其重量轻,可随风飘散到数

千公里外的大气中^[13],进而增加了过敏原的暴露风险。不同的地理位置也会影响植物的分布,进而导致不同类型的花粉过敏原出现^[14]。花粉浓度是导致过敏反应的关键外部因素之一。不同类型的植物在不同的季节释放花粉,例如春季和秋季是常见的花粉高峰期。根据对风媒花粉植物的调查结果显示,我国的主要气传致敏花粉植物包括松科(如松树)、蒿属(如艾蒿)、杨属(如白杨)、禾本科(如禾草)、柳属(如垂柳)、柏属(如侧柏)、藜科(如灰藜)、葎草属(如葎草)、苋科(如苋菜)和悬铃木属(如法国梧桐)等。在我国,春季(3月~5月)以松树科(如松树)、柏科(如侧柏)、杨树(如白杨)和柳树(如垂柳)的花粉为主,而夏季和秋季(6月~10月)则以蒿草(如艾蒿)、葎草和豚草的花粉为主要过敏原^[15]。

1.2 花粉过敏原的结构组成

大多数花粉由花粉外壁、花粉内壁、营养细胞核和精细胞等成分组成。花粉颗粒具有独特的表面结构,为了完成授粉过程,花粉的表面通常是粗糙的,常常带有尖刺状结构,这种表面形态有时与一些寄生虫卵相似,甚至在某些情况下在显微镜下也会与之混淆^[16]。花粉的表面结构(如尖刺)有助于其附着在鼻黏膜上,并可能破坏紧密连接蛋白,从而增加上皮细胞的通透性,导致过敏原进入免疫系统从而引起致敏作用^[17-19](见图 1)。

研究调查显示,花粉中的一些高表达的蛋白质(通常是糖蛋白)是花粉主要致敏成分。近年来研究发现蛋白质本身并不是敏化的驱动力。敏化不仅与单个蛋白质的内在特性有关,而且与花粉中具有不同特征的其他成分有关(见图 1)。AGLAS 等^[20]的研究表明,桦树花粉主要的过敏原 Betv1 本身既不能刺激树突状细胞,也不能诱导 2 型辅助性 T 细胞(type 2 helper t cells, Th2)极化,而是桦树花粉提取物全部成分。除了蛋白质过敏原,暴露于花粉中的气道上皮细胞还会接触到脂质,这些脂质同样会干扰人体免疫。当花粉粒被呼吸道上皮细胞水合时,过敏原和类二十烷被释放,即花粉相关脂质介质(pollen-associated lipid mediators, PALMs),随后进一步激活先天免疫细胞,如中性粒细胞和嗜酸性粒细胞,从而促进气道中的过敏性炎症^[21-22]。花粉表面负载空

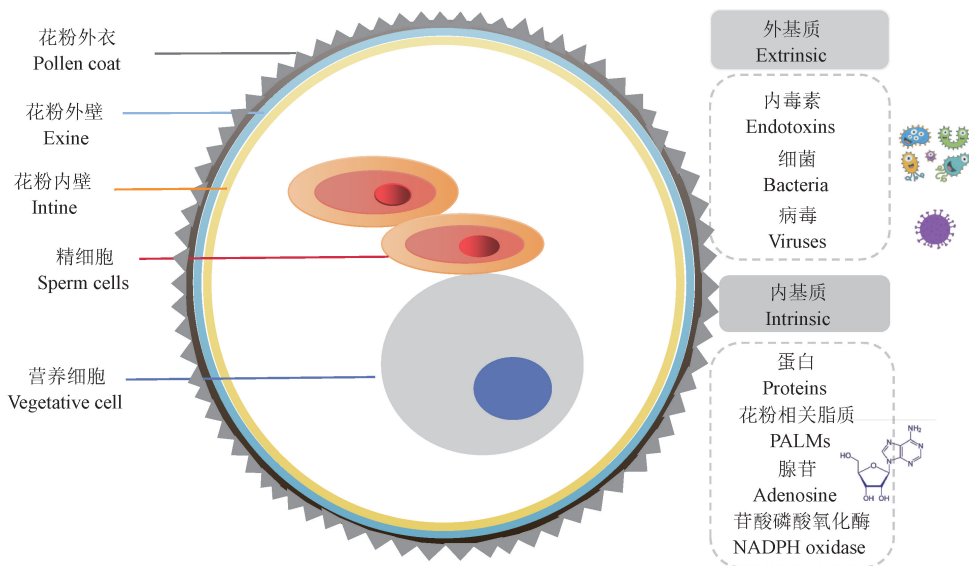


图 1 花粉粒结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of pollen grain structure

气中的微生物成分也有助于致敏过程。OTEROS 等^[23]发现,艾蒿花粉在空气中携带的内毒素含量最高,与其他内毒素水平较低的花粉相比,会导致更强的气道过敏反应。腺苷是一种重要的组织激素,最初因其在炎症中的作用而闻名,但它在免疫抑制和调节中也起着关键作用。在最近对桦树花粉代谢组的分析中,腺苷被确定为另一种有助于过敏敏感的花粉衍生物。桦树花粉提取物已被证明通过腺苷 A2 受体刺激树突状细胞中的环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, CAMP),从而抑制白介素-12 (interleukin-12, IL-12) 的分泌^[24]。同样,在豚草提取物对动物致敏的研究中,嗜酸性粒细胞的招募和气道对挑战的抵抗依赖于提取物的腺苷消耗^[25]。这些研究为支持腺苷可能在过敏反应中发挥关键作用这一说法提供了令人信服的证据体系。此外,大量的研究表明,花粉中含有 NADPH 氧化酶,可产生氧化应激 (reactive oxygen species, ROS),并诱导由抗原引起的过敏性炎症反应^[26]。

越来越多的研究表明,空气污染与 SAR 的发病率密切相关^[27-28]。空气污染物浓度的增加不仅会直接引发呼吸道的炎症反应,还会导致鼻黏膜对花粉过敏原的敏感性增加。这种敏感性增加导致花粉致敏现象愈发严重,从而使 SAR 患者

的症状更加明显。WAYNE 等^[29]发现,大气中二氧化碳浓度使豚草花粉产量增加 61%,从繁忙的道路采集的花粉比从植被地区采集的花粉更容易过敏。综上,花粉致敏机制的复杂性与其结构形态、成分及负载物均有密切关系(见图 2)。

2 花粉致敏 AR 动物模型

近年来,国内外啮齿动物模型已被用于建立 AR 动物模型,使用非啮齿动物模型的研究较少。由于花粉致过敏性鼻炎发病机制的复杂性,目前还没有单一的动物模型能够完全复制过敏性鼻炎患者的所有典型临床表现,本文总结国内外近年来利用花粉致敏动物诱导 AR(22 例)的研究,从动物品系、性别、花粉品种、造模方案、致敏效果评估及检测指标等方面进行归纳和比较分析,见表 1。

2.1 小鼠

小鼠因其清晰的免疫遗传背景、快速的繁殖能力以及广泛的来源而受到广泛应用。不同品系的小鼠各具特色,适应不同的研究需求。近年来,利用小鼠建立过敏模型的应用呈逐年上升的趋势,其中常用的品系包括 BALB/c、BDF-1、C57BL/6 和 B10.S 等。其中, BALB/c 小鼠是一种近交高 IgE 应答系,主要倾向于产生 Th2 型免疫应答以及 IgE 抗体^[52-53]。由于其在细胞因子水平研究中的优越性, BALB/c 小鼠常被用作筛选潜在蛋白致敏作用

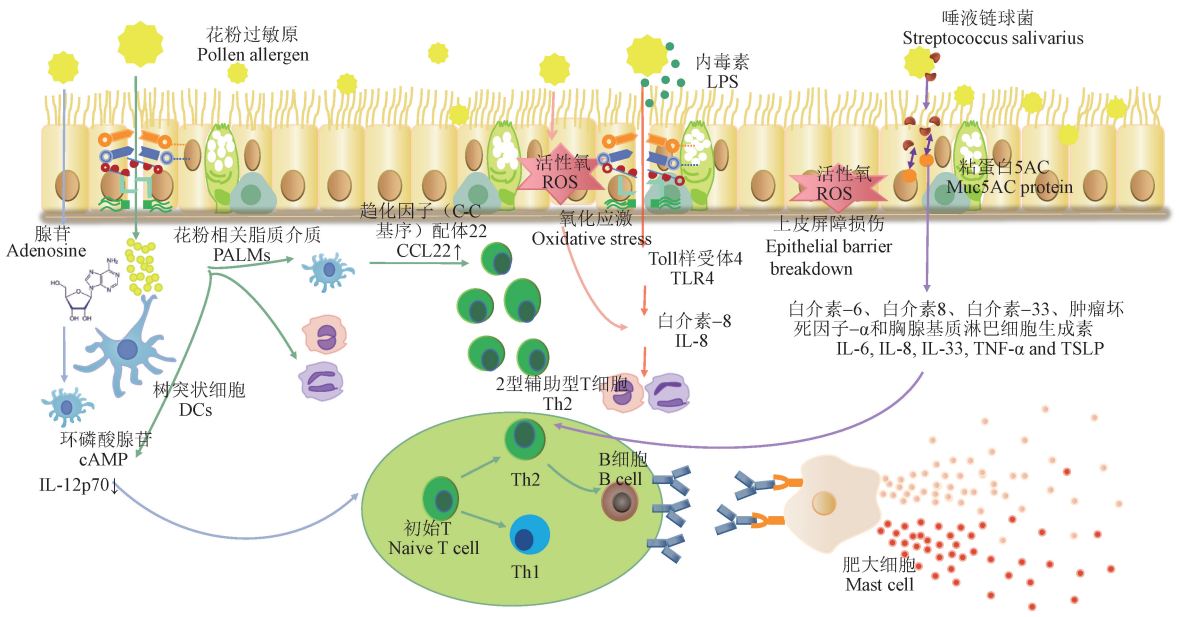


图 2 花粉致过敏性鼻炎的机制图

Figure 2 Mechanisms of pollen-induced allergic rhinitis

的有效模型。与 BALB/c 小鼠不同, C57BL/6 小鼠主要触发 Th1 免疫应答和(interferon- γ , INF- γ)的产生^[54]。此外,有报道称,在 Cry j 1 致敏的 B10.S 小鼠中发现了一个主要的 T 细胞表位,该表位序列与患者中最普遍的表位一致^[55-56]。因此, B10.S 小鼠是日本雪松花粉相关疾病的合适品系。

2.2 大鼠

大鼠作为实验动物,因其广泛的来源和相对稳定的遗传特征而备受青睐。这些动物具备有敏锐的嗅觉,能够对环境中的粉尘、气体等刺激表现出高敏感性,这一特性使得它们在研究过敏性鼻炎、哮喘等过敏性疾病症状时显得尤为重要。大鼠在接触各种过敏原时,常常会产生特异性 IgE 抗体,这些抗体在免疫反应中起着关键作用,使得对抗原的反应呈现出相对一致的模式。另外,相较于小鼠和豚鼠,大鼠体型较大,这为科研人员在进行多种实验操作以及样本采集提供了更为便利的条件。因此,大鼠在评估和研究过敏性疾病的典型特征时显得更为适宜,从而使其成为一种理想的实验模型。目前, Wistar 大鼠^[57]、SD 大鼠和 BN 大鼠^[58]是最常用的过敏模型品系。

2.3 豚鼠

豚鼠对多种过敏原表现出高度敏感性,因此

它们常被用作研究过敏性反应的良好动物模型。这些动物在遇到不同过敏原时,可能会迅速引发过敏性呼吸道疾病和过敏性休克等急性反应。与其他动物相比,它们更容易发生鼻过敏或气管过敏,研究人员经常使用豚鼠来诱导鼻塞模型。通常用来模拟花粉过敏的豚鼠品种是哈特利豚鼠。然而,与常用的实验动物如小鼠和大鼠相比豚鼠对外界刺激的敏感性更高,这种较强的敏感性使得豚鼠在实验过程中容易出现明显的过敏反应,甚至在极端情况下可能导致死亡。此外,豚鼠的个体差异也较为明显,导致在进行花粉过敏原建模时,个体之间的反应可能会有所不同。最后,由于对豚鼠基因和免疫系统的了解相对不足,这限制了豚鼠在进一步研究免疫机制和基因水平上的应用^[59-61]。

2.4 非啮齿动物

目前,花粉诱导的非啮齿动物过敏模型主要包括艾蒿花粉诱导的兔过敏模型^[51],日本雪松花粉诱导的猴过敏反应模型^[50]以及豚草诱导的狗类过敏反应模型^[49]。这些模型虽然能够更接近地模拟人类的过敏反应,但在常规检测过程中,用于花粉致敏和潜在安全性评估时面临较大的困难。所以由于伦理考量、高昂的成本以及技术难度等因素,它们的应用受到限制。

表 1 花粉致敏 AR 动物模型一览表

Table 1 List of animal models of pollen-sensitized AR

动物品系 Animal strain	花粉过敏原 Pollen allergen	模型构建方法 Model construction method	佐剂 Adjuvant	评价指标 Evaluation indicators
昆明小鼠 ^[30] Kunming mice	柳树花粉 Willow pollen	将柳树花粉蛋白提取液混悬于含有 5% 氢氧化铝的生理盐水中, 配置成 4 种不同浓度的溶液: 1.5 mg/mL, 2.0 mg/mL, 2.5 mg/mL 和 3.0 mg/mL。给小鼠腹腔注射上述溶液 (每只 0.4 mL), 每 3 d 重复 1 次, 共 7 次。第 7 次注射后的第 6 天起, 采用浓度为 10.6 mg/mL 的溶液进行滴鼻激发 (每只 10 μ L), 连续 6 d, 每天 1 次。 Mix willow pollen protein extract in a suspension containing 5% aluminum hydroxide in saline, preparing four different concentrations of solutions: 1.5 mg/mL, 2.0 mg/mL, 2.5 mg/mL, and 3.0 mg/mL. Administer intraperitoneal injections of these solutions (0.4 mL/mouse) every 3 d for a total of 7 times. Starting 6 d after the last injection, administer intranasal challenges using a 10.6 mg/mL solution (10 μ L/mouse) daily for 6 consecutive days.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分; 血清 sIgE 水平; 鼻黏膜病理学检测 Behavioral scoring; serum sIgE levels; nasal mucosa histopathology
雌性 C57BL/6J 小鼠 ^[31] Female C57BL/6J mice	豚草花粉 Ragweed pollen	将 50 μ L 的豚草花粉变应原与等量的弗氏佐剂混合。在第 1、8 和 15 天, 向小鼠腹腔内注射 200 μ L 的混合物。从第 21 天至第 28 天, 每天使用 0.5% 浓度的豚草花粉变应原溶液 (每侧鼻腔 10 μ L) 进行滴鼻激发。 Mix 50 μ L of ragweed pollen allergen with an equal volume of Freund's adjuvant. Inject 200 μ L of the mixture intraperitoneally on days 1, 8 and 15. From day 21 to day 28, administer intranasal challenges using a 0.5% concentration of ragweed pollen allergen solution (10 μ L per nostril).	弗氏佐剂 Freund's adjuvant	行为学评分; 血清 IgE、IL-1 β 、IL-18; 鼻腔灌洗液中 IL-6、IL-1 β 、IL-18 水平; Western blot 检测 NLRP3、Caspase-1、IL-18 及 IL-1 β Behavioral scoring; serum IgE, IL-1 β , IL-18; levels of IL-6, IL-1 β , IL-18 in nasal lavage fluid; Western blot detection of NLRP3, Caspase-1, IL-18, and IL-1 β
雌性 B10.S 小鼠 ^[32] Female B10.S mice	日本雪松花粉/Cry j 1 Japanese cedar pollen/Cry j 1	将 10 μ g Cry j 1 与 4 mg 氢氧化铝凝胶混合。给小鼠皮下注射, 每周 1 次, 连续 3 周。暂停 1 周后, 给小鼠鼻内灌注 Cry j 1 (200 μ g/mL PBS), 每鼻孔 10 μ L, 连续 5 d。 Mix 10 μ g of Cry j 1 with 4 mg of aluminum hydroxide gel. Administer subcutaneous injections once a week for 3 weeks. After a one-week pause, instill Cry j 1 (200 μ g/mL PBS) intranasally, 10 μ L per nostril, for 5 consecutive days.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分; 血清特异性 IgE、IgG1、IgG2a; 鼻黏膜单核细胞和嗜酸性粒细胞表达; 鼻黏膜 EPO 活性 Behavioral scoring; serum-specific IgE, IgG1, IgG2a; expression of monocytes and eosinophils in nasal mucosa; EPO activity in nasal mucosa
雄性 C57BL/6J 小鼠 ^[33] Male C57BL/6J mice	日本雪松花粉/Cry j 1 Japanese cedar pollen/Cry j 1	将 10 μ g Cry j 1 与 4 mg 氢氧化铝凝胶混合。对小鼠进行皮下注射, 每天 1 次, 连续 3 次。暂停 1 周后, 对小鼠进行鼻内灌注, 连续 7 d。 Mix 10 μ g of Cry j 1 with 4 mg of aluminum hydroxide gel. Administer subcutaneous injections every day for 3 times. After a one-week pause, instill intranasally for 7 consecutive days.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分; 血清神经内分泌激素、IgE 和 NOx 水平; 气管组织 iNOS、IgA 和肥大细胞胰蛋白酶表达 Behavioral scoring; serum neuronal hormones, IgE, and NOx levels; tracheal tissue iNOS, IgA, and mast cell tryptase expression

续表 1

动物品系 Animal strain	花粉过敏原 Pollen allergen	模型构建方法 Model construction method	佐剂 Adjuvant	评价指标 Evaluation indicators
雄性 BDF-1 小鼠 ^[34] Male BDF-1 mice	日本雪松花粉/Cry j 1 Japanese cedar pollen/Cry j 1	将 10 μg Cry j 1 与 4 mg 氢氧化铝凝胶混合。对小鼠进行皮下注射,每天 1 次,连续 3 次。暂停 1 周后,对小鼠进行鼻内灌注,连续 7 d。 Mix 10 μg Cry j 1 with 4 mg aluminum hydroxide gel. Administer subcutaneous injections every day for 3 consecutive times. After a one-week pause, instill intranasally for 7 consecutive days.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分;血清 IgE 水平和神经元激素水平;气管中 IgA、MC1R 和 MCSR 表达 Behavioral scoring; serum IgE levels and neuronal hormone levels; tracheal IgA, MC1R, and MCSR expression
雌性 BALB/c 小鼠 ^[35] Female BALB/c mice	黄花蒿花粉 Artemisia annua pollen	在第 1、4、7 天,对小鼠皮下注射 0.1 mL 的 Art a1 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的黄花蒿花粉提取液)。暂停 1 周后,对小鼠进行鼻内灌注 (滴鼻) 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的黄花蒿花粉提取液 (每孔 10 μL), 连续 10 d。在第 4 周结束后,再进行 2 次鼻内灌注激发。 On days 1, 4, and 7, administer subcutaneous injections of 0.1 mL Art a1 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ artemisia annua pollen extract). After a one-week pause, instill intranasally (drop nose) with 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ artemisia annua pollen pollen extract (10 $\mu\text{L}/\text{nostril}$) for 10 consecutive days. At the end of the fourth week, perform two more intranasal instillations.	/	行为学评分;鼻黏膜病理学检测;血清 IgE 和 IgG2a 水平;脾抗原特异性淋巴细胞数量检测 Behavioral scoring; nasal mucosa histopathology; serum IgE and IgG2a levels; detection of antigen-specific lymphocyte numbers in the spleen
雌性 BALB/c 小鼠 ^[36] Female BALB/c mice	豚草花粉 Ragweed pollen	第 0 天,对小鼠进行腹腔注射豚草花粉 (0.1 mg/200 μL) 与明矾佐剂 (1 mg/200 μL) 的混合物进行基本致敏。第 7 天,再次对小鼠进行腹腔注射豚草花粉 (0.1 mg/200 μL) 以增强致敏作用。从第 14 天开始,连续 4 d 对小鼠进行鼻内灌注豚草花粉 (0.1 mg/20 μL)。 On day 0, sensitize mice with an intraperitoneal injection of a mixture of ragweed pollen (0.1 mg/200 μL) and alum adjuvant (1 mg/200 μL). On day 7, re-sensitize mice with an intraperitoneal injection of ragweed pollen (0.1 mg/200 μL). From day 14, instill intranasally with ragweed pollen (0.1 mg/20 μL) for 4 consecutive days.	明矾佐剂 Alum adjuvant	行为学评分;紧密连接蛋白 (tight junction proteins, TJ) 和 (zonula occludens-1, ZO-1) 表达;细胞旁通透性检测 Behavioral scoring; tight junction proteins and zonula occludens-1 expression; paracellular permeability testing
雌性 BALB/c 小鼠 ^[37] Female BALB/c mice	桦树花粉/rBet v 1 Birch pollen/rBet v 1	在第 0、14 和 28 天,对小鼠进行皮下注射,每次注射 10 μg rBet v 1 加氢氧化铝佐剂。 On days 0, 14, and 28, administer subcutaneous injections of 10 μg rBet v 1 plus aluminum hydroxide adjuvant.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	脾 CD4 ⁺ 细胞增殖;血清特异性 IgE、IgG1、IgG2a 水平 Spleen CD4 ⁺ cell proliferation; serum-specific IgE, IgG1, and IgG2a levels
雌性 BALB/c 小鼠 ^[38] Female BALB/c mice	黄花蒿花粉/艾蒿花粉/大籽蒿花粉 Artemisia annua pollen/Mugwort pollen/Artemisia macrosperma pollen	在第 7 天和第 14 天,对小鼠进行腹腔注射,每次注射 1 mg/mL 的蒿花粉提取物与 2 mg/mL 的氢氧化铝佐剂混合物 (总体积为 200 μL), 以进行基础致敏。从第 14 天至第 23 天,对小鼠进行鼻内灌注,每天连续灌注 200 μg 蒿花粉溶于 100 μL 1 mg/mL 的氢氧化铝溶液,以诱导变应性鼻炎。 On days 7 and 14, administer intraperitoneal injections of a mixture of 1 mg/mL Artemisia pollen extract with 2 mg/mL aluminum hydroxide adjuvant (total volume of 200 μL) for primary sensitization. From day 14 to day 23, instill intranasally with 200 μg Artemisia pollen dissolved in 100 μL of 1 mg/mL aluminum hydroxide solution daily to induce allergic rhinitis.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分;鼻黏膜 TLR4、MyD88 和 NF- κB p65 表达水平 Behavioral scoring; nasal mucosa TLR4, MyD88, and NF- κB p65 expression levels

续表 1

动物品系 Animal strain	花粉过敏原 Pollen allergen	模型构建方法 Model construction method	佐剂 Adjuvant	评价指标 Evaluation indicators
雌性 BALB/c 小鼠 ^[39] Female BALB/c mice	侧柏花粉 Cedar pollen	在第 0、7、14 天,对小鼠进行皮下注射,每次注射 10 μg 侧柏花粉提取物与 2 mg 氢氧化铝的混合物。在第 21 天至第 24 天,每天用 1% 侧柏花粉提取物雾化激发,每天 1 次,每次 20 min。 On days 0, 7, and 14, administer subcutaneous injections of 10 μg juniper pollen extract mixed with 2 mg aluminum hydroxide. From day 21 to day 24, aerosolize 1% juniper pollen extract once daily for 20 min each time.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	血清特异性 IgE 水平 (sIgE) 和总 IgE 抗体水平 (tIgE); 脾 T 细胞增殖试验; 鼻灌洗液中嗜酸性粒细胞计数; 肺组织病理形态 Serum-specific IgE levels (sIgE) and total IgE antibody levels (tIgE); splenic T-cell proliferation test; eosinophil count in nasal wash fluid; lung tissue histomorphology
雄性 BALB/c 小鼠 ^[40] Male BALB/c mice	日本雪松花粉 Japanese cedar pollen	在第 0 天和第 14 天,对小鼠进行腹腔注射 50 μg 日本雪松花粉提取物加氢氧化铝佐剂(2.5 mg/0.5 mL)的混合物。在第 28、29、30 和 35 天,对小鼠进行鼻内灌注,每次灌注 100 μg 日本雪松花粉提取物(每只 20 μL)。 On days 0 and 14, administer intraperitoneal injections of a mixture of 50 μg Japanese cedar pollen extract with aluminum hydroxide adjuvant (2.5 mg/0.5 mL). On days 28, 29, 30, and 35, instill intranasally with 100 μg Japanese cedar pollen extract (20 μL per mouse).	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	血清特异性 IgG1 水平; 鼻黏膜肥大细胞、嗜酸性粒细胞和杯状细胞检测 Serum-specific IgG1 levels; detection of mast cells, eosinophils, and goblet cells in nasal mucosa
雄性 BALB/c 小鼠 ^[41] Male BALB/c mice	臭椿花粉 Ailanthus pollen	第 0、10、20 天,小鼠腹腔注射以基础致敏(臭椿花粉提取物 130 μg 吸附在 PBS 溶液稀释的氢氧化铝 130 μg 上,总体积为 200 μL); 第 10、20 天不加佐剂注射。 On days 0, 10, and 20, administer intraperitoneal injections for basic sensitization (130 μg Ailanthus pollen extract adsorbed onto 130 μg aluminum hydroxide diluted in PBS, total volume of 200 μL); on days 10 and 20, inject without adjuvant.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	血清 IgE 结合位点检测 Detection of serum IgE binding sites
野生型 BALB/c 小鼠 ^[42] Wild-type BALB/c mice	豚草花粉 Ragweed pollen	急性 AR 模型: 第 0 天,小鼠腹腔注射豚草花粉(100 μg+氢氧化铝凝胶 1 mg+200 μL PBS); 第 7 天,小鼠腹腔注射豚草花粉(100 μg+200 μL PBS); 第 14~17 天,小鼠鼻内注射豚草花粉(每只小鼠 1 mg/20 μL PBS)。慢性 AR 模型: 小鼠在第 1 周和第 2 周(第 0~5 天)和(第 7~12 天)鼻内灌注豚草花粉(1 mg+200 μL PBS); 在第 3 周(第 14~17 天继续鼻内灌注豚草花粉)。 Acute AR model: On day 0, administer intraperitoneal injection of ragweed pollen (100 μg + 1 mg aluminum hydroxide gel + 200 μL PBS); on day 7, administer intraperitoneal injection of ragweed pollen (100 μg + 200 μL PBS); from day 14 to day 17, instill intranasally with ragweed pollen (1 mg/20 μL PBS per mouse). Chronic AR model: Mice receive intranasal instillations of ragweed pollen (1 mg + 200 μL PBS) on days 0~5 and 7~12; continue intranasal instillations on days 14~17.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分; 血清细胞因子 IL4、IL5 和 IL13 水平; 鼻细胞中嗜酸性粒细胞数量; 血清特异性 IgE 水平 (sIgE); 鼻部 mRNA 表达水平 Behavioral scoring; serum cytokine levels of IL-4, IL-5, and IL-13; number of eosinophils in nasal cells; serum-specific IgE levels (sIgE); nasal mRNA expression levels
雌性 B10.S 小鼠 ^[43] Female B10.S mice	日本雪松花粉 Japanese cedar pollen	日本雪松花粉提取物(0.02 μg 花粉蛋白+0.02 mg 氢氧化铝/2 μL/鼻孔)鼻内滴注,每天 2 次,连续 7 d。暂停一周; 然后每周滴鼻刺激动物 1 次,直到第 15 次。 Instill intranasally with Japanese cedar pollen extract (0.02 μg pollen protein + 0.02 mg aluminum hydroxide/2 μL/nostril), twice daily for 7 consecutive days. Pause for one week; then instill intranasally once weekly until the 15th stimulation.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分; 气道阻力测量; 血清特异性 IgE 水平 (sIgE) Behavioral scoring; airway resistance measurement; serum-specific IgE levels (sIgE)

续表1

动物品系 Animal strain	花粉过敏原 Pollen allergen	模型构建方法 Model construction method	佐剂 Adjuvant	评价指标 Evaluation indicators
雄性 BALB/c 小鼠 ^[44] Male BALB/c mice	艾蒿花粉/Art v1 Mugwort pollen/ Art v1	在第 0 天和第 14 天,给小鼠腹腔注射艾蒿花粉提取物(1000 PNU/200 μ L)与氢氧化铝佐剂(每只小鼠 1 mg)的混合物为基础致敏。暂停 1 周后,在第 21、23 和 25 天对小鼠进行滴鼻激发,给予小鼠艾蒿花粉提取物(每只小鼠 200 PNU/20 μ L)。On days 0 and 14, administer intraperitoneal injections of a mixture of mugwort pollen extract (1000 PNU/200 μ L) with aluminum hydroxide adjuvant (1 mg/mouse) for primary sensitization. After a one-week pause, instill intranasally on days 21, 23, and 25 with mugwort pollen extract (200 PNU/20 μ L/mouse).	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	血清特异性 IgE、总 IgE 抗体、特异性 IgG、IgG1 和 IgG2a;耳过敏性肿胀试验;细胞因子水平;肺组织病理形态 Serum-specific IgE, total IgE antibodies, specific IgG, IgG1, and IgG2a; ear allergic edema test; cytokine levels; lung tissue histomorphology
雄性哈特利豚鼠 ^[45] Male Hartley guinea pigs	日本雪松花粉 Japanese cedar pollen	在第 0 天开始,连续 7 d 每天两次每鼻孔鼻内给予雪松花粉提取物 3 μ L(0.3 mg 花粉蛋白溶于 0.3 mg 氢氧化铝)。暂停 1 周后,从第 14 天开始,每周一次,通过吸入器给予小鼠 3 mg 雪松花粉,持续 30 周。 Starting on day 0, Cedar pollen extract 3 μ L (0.3 mg pollen protein dissolved in 0.3 mg aluminum hydroxide) was given intranasal twice a day for 7 consecutive days. After a one-week pause, starting from day 14, administer via inhaler 3 mg of cedar pollen once weekly for 30 weeks.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	特异性气道阻力(sRaw);行为学评分;被动性皮肤过敏反应(PCA);血清 γ 1 和 IgE 抗体水平 Specific airway resistance (sRaw); behavioral scoring; passive cutaneous anaphylaxis (PCA); serum γ 1 and IgE antibody levels
雄性哈特利豚鼠 ^[46] Male Hartley guinea pigs	日本雪松花粉 Japanese cedar pollen	在第 0 天开始,连续 7 d 每天两次每鼻孔鼻内给予雪松花粉提取物 3 μ L(0.3 mg 花粉蛋白溶于 0.3 mg 氢氧化铝)。暂停 1 周后,从第 14 天开始,每周 1 次,通过吸入器给予小鼠雪松花粉(3 mg/孔),持续 13 周。 Starting on day 0, Cedar pollen extract 3 μ L (0.3 mg pollen protein dissolved in 0.3 mg aluminum hydroxide) was given intranasal twice a day for 7 consecutive days. After a one-week pause, starting from day 14, administer via inhaler 3 mg of cedar pollen once weekly for 13 weeks.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	行为学评分;特异性气道阻力(sRaw);鼻腔灌洗液中 TXB2、p-I _t 和组胺水平 Behavioral scoring; specific airway resistance (sRaw); TXB2, p-LT, and histamine levels in nasal lavage fluid
雄性哈特利豚鼠 ^[47] Male Hartley guinea pigs	日本雪松花粉 Japanese cedar pollen	在第 0 天开始,连续 7 d 每天两次每鼻孔鼻内给予雪松花粉提取物 3 μ L(0.3 mg 花粉蛋白溶于 0.3 mg 氢氧化铝)。暂停 1 周后,从第 14 天开始,每周 1 次,通过吸入器给予小鼠 3.6 mg 雪松花粉,持续 48 周。 Starting on day 0, Cedar pollen extract 3 μ L (0.3 mg pollen protein dissolved in 0.3 mg aluminum hydroxide) was given intranasal twice a day for 7 consecutive days. After a one-week pause, starting from day 14, administer via inhaler 3.6 mg of cedar pollen once weekly for 48 weeks.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	特异性气道阻力(sRaw);行为学评分;血清特异性 IgE 和 IgG1 抗体水平;鼻灌洗液中的白细胞计数;鼻灌洗液中组胺和半胱氨酸白三烯含量;肺组织病理形态 Specific airway resistance (sRaw); behavioral scoring; serum-specific IgE and IgG1 antibody levels; white blood cell count in nasal lavage fluid; histamine and cysteinyl leukotriene content in nasal lavage fluid; lung tissue histomorphology

续表 1

动物品系 Animal strain	花粉过敏原 Pollen allergen	模型构建方法 Model construction method	佐剂 Adjuvant	评价指标 Evaluation indicators
雄性哈特利豚鼠 ^[48] Male Hartley guinea pigs	日本雪松花粉 Japanese cedar pollen	在第 0 天开始,连续 7 d 每天两次每鼻孔鼻内给予雪松花粉提取物 3 μ L(0.3 mg 花粉蛋白溶于 0.3 mg 氢氧化铝)。暂停 1 周后,从第 14 天开始,每周 1 次,通过吸入器给予小鼠 3.6 mg 雪松花粉,持续 11 周。 Starting on day 0, Cedar pollen extract 3 μ L (0.3 mg pollen protein dissolved in 0.3 mg aluminum hydroxide) was given intranasal twice a day for 7 consecutive days. After a one-week pause, starting from day 14, administer via inhaler 3.6 mg of cedar pollen once weekly for 11 weeks.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	气流阻力测量;鼻气道容积测量;血清特异性 IgE 水平 Airflow resistance measurement; nasal airway volume measurement; serum-specific IgE levels
成年比格犬(9.5~14.5 kg) ^[49] Adult Beagle dogs (9.5~14.5 kg)	豚草花粉 Ragweed pollen	出生后 24 h 内,给犬腹腔注射豚草提取物(200 μ g)、0.9%生理盐水(0.5 mL)与氢氧化铝凝胶(30 mg)的混合物。每两周重复上述注射 1 次,直到犬达到 16 周龄。16 周龄后,通过雾化吸入的方式诱发犬鼻部过敏反应。 Within 24 hours of birth, administer intraperitoneal injections of a mixture of ragweed extract (200 μ g), 0.9% saline (0.5 mL), and aluminum hydroxide gel (30 mg). Repeat this injection every two weeks until the dogs reach 16 weeks of age. After 16 weeks of age, induce nasal allergic reactions via aerosol inhalation.	氢氧化铝佐剂 Aluminum hydroxide adjuvant	气流阻力测量;鼻气道容积测量 Airflow resistance measurement; nasal airway volume measurement
绒猴 ^[50] Common marmosets	豚草花粉 Ragweed pollen	给猕猴腹腔注射豚草花粉提取物(每只 100 μ g)与明矾佐剂(每只 5 mg)的混合物以基础致敏,每周 1 次,连续 70 周。而后给猕猴滴鼻激发以诱导过敏反应。 Administer intraperitoneal injections of a mixture of ragweed pollen extract (100 μ g per animal) and alum adjuvant (5 mg per animal) for primary sensitization, once a week for 70 consecutive weeks. Thereafter, instill intranasally to induce allergic reactions.	明矾佐剂 Alum adjuvant	行为学评分;外周血 CD4 ⁺ CD25 ⁺ 细胞比例;外周血中 Th1/Th2/Th17 细胞因子 mRNA 水平 Behavioral scoring; proportion of peripheral blood CD4 ⁺ CD25 ⁺ cells; Th1/Th2/Th17 cytokine mRNA levels in peripheral blood
新西兰白兔 ^[51] New Zealand White rabbits	艾蒿花粉/rArt v1 Mugwort pollen/rArt v1	每隔 4 周刺激白兔以诱导过敏反应。 Stimulate the rabbits every 4 weeks to induce allergic reactions.	弗氏佐剂 Freund's adjuvant	特异性 IgE 水平 Specific IgE levels

3 花粉致敏 AR 模型构建方法

3.1 花粉致敏 AR 材料:抗原

花粉过敏原在致敏前需要进行处理,以获得标准的抗原物质。一种豚草提取物的生产工艺已被公认为国际参考标准,它包括收集花粉、脱脂,利用有效的缓冲液提取花粉颗粒 22 h。然后进行离心过滤以去除杂质,连续通过 0.45 μ m 和 0.22 μ m 的过滤膜以除菌。提取液经过进一步的冻干处理,最后进行氮气密封^[62]。用于建模的花粉过敏原提取物需要蛋白质定量来确定剂量。

脱脂包括利用有机溶剂来消除油、树脂、挥发性油、脂溶性毒素,以及该物质中的其他刺激性物

质。大多数过敏原材料应脱脂,使水溶性活性成分更容易在水溶液中浸出。二乙醚和石油醚是最常用的有机溶剂,其优点是脱脂效果好、挥发速度快。与其他有机溶剂相比,氯仿能够在较低的水化速率下脱去更高的总脂肪含量,而环己烷的高蛋白质提取性能和花粉水化率低,是目前的最佳溶剂^[63]。然而脱脂是否影响致敏效果是一个有趣的问题,目前已有使用未脱脂花粉提取物的实验研究,也成功诱导出过敏性鼻炎模型^[23,43,64]。

所谓提取是将花粉的水溶性活性抗原部分浸入溶液中的方法。不同的缓冲液对花粉提取物的抗原活性影响较大。最常用的缓冲液包括磷酸盐缓冲液和碳酸氢铵缓冲液,它们可将提取的花

粉过敏原物质的 pH 值保持为中性^[65]。

此外,花粉重组蛋白是过敏性鼻炎动物模型中常用的变应原。在过去的 20 年里,花粉来源的过敏原蛋白的分子特征取得了巨大的进展。在不同的植物物种中已经发现了属于不同蛋白质家族的花粉过敏原^[66]。与花粉粗提物相比,花粉重组蛋白具有较好的安全性和稳定性,易于吸收。然而,AR 的作用机制受到多种因素的影响,包括主要的致敏蛋白、与花粉相关的脂质介质、花粉腺苷、细菌内毒素附着、病毒和环境污染等。因此,在制备花粉提取物时,必须考虑到这些因素。

3.2 花粉致敏 AR 材料:佐剂

佐剂是非特异性免疫增强剂,通常与花粉抗原一起或在花粉抗原之前注射到动物体内。应用佐剂的目的是提高抗原对机体的免疫原性,从而提高抗体的效力。目前,在过敏性鼻炎动物模型中最常用的佐剂是氢氧化铝佐剂(也称为明矾佐剂)^[67],也有部分研究使用的佐剂是弗氏佐剂。总体而言,两者的主要功能都是帮助免疫系统更有效地识别和对抗原。然而,它们之间存在显著差异。弗氏佐剂的炎症刺激效应更为强烈,容易导致局部炎症反应及组织损伤。此外,使用弗氏佐剂的过程较为繁琐,需要将其完全乳化后才能达到使用效果。因此,氢氧化铝佐剂通常被视为弗氏佐剂的便捷替代方案,因其操作更为简便。

目前的研究进展表明,铝佐剂引起的体液免疫力的增加可以用 3 种机制来解释^[68-69]。第一种机制是在注射部位发挥缓慢释放作用(氢氧化铝在体内的生物降解性较低),形成一个连续的抗原释放库,促进抗原对免疫系统的长期刺激,最终增强抗原的可用性。第二种机制涉及将可溶性抗原转化为颗粒状形式,随后这些颗粒被抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APCs)吞噬,从而加强机体对抗原的免疫反应。这一过程有助于提高抗原的生物利用度,使其更容易被免疫系统识别并加以处理。第三种机制则表明,铝佐剂能够通过增强 APCs 的招募和激活来诱导 Th2 免疫应答。通过这种方式,铝佐剂不仅提高了免疫细胞的数量,也促进了它们的功能活性,从而增强了整体的免疫反应。

但是,也有报道指出由氢氧化铝引起的不良反应也有报道。一些研究认为,使用氢氧化铝凝胶作为佐剂会在小鼠的腹部器官中产生异物肉芽肿^[70]。在过敏性鼻炎的动物模型中,氢氧化铝粉末常用量为每只动物 1~5 mg,氢氧化铝凝胶常用量为每只动物 0.1~0.3 mL^[71]。不同剂量的佐剂可能会对 AR 模型的制作效果产生影响,但其使用的有效范围和最佳浓度尚不清楚。且目前已有使用无佐剂的实验研究,也成功诱导出过敏炎症模型^[25,35,72-74]。

3.3 花粉致敏 AR 模型的过程

目前已发表的 AR 模型的实验设置可以分为两部分:(1)过敏原基础致敏;(2)过敏原激发。过敏原基础致敏是指使动物反复暴露于少量抗原后产生的特异性抗体,其中可能包括花粉提取物或重组蛋白。这种暴露方式包括腹腔注射、皮下注射、足垫注射或鼻内灌注。从模拟实际起病情况的角度来看,鼻内灌注比腹腔注射和皮下注射更接近现实^[75-76]。但后两种方法因其能够更快地诱发炎症而广受欢迎。过敏原激发阶段是使动物再次暴露于加大剂量的同一过敏原,通过与致敏肥大细胞和嗜酸性粒细胞表面的抗体特异性结合,诱导强烈过敏反应的阶段。通常,从初次致敏到出现明显的过敏性鼻炎症状通常需要几周的时间。具体的周期可能会根据实验设计和目的有所不同,但大致可以认为基础致敏周期需要大约 2~4 周的时间来完成。在完成全身致敏后的一段时间内(如 1 周后),通过局部给予抗原(如滴鼻)来激发过敏性鼻炎的症状,激发期可以持续几天到几周不等。

在现有的花粉致敏 AR 模型中,刺激途径、刺激时间和佐剂是更重要的影响因素。鼻内灌注给药比腹腔注射更符合实际发病场景。皮下注射致敏的过敏原很容易导致 Th2 引起的炎症反应。然而,很少有研究比较这两种不同类型的致敏作用对过敏模型的影响。对于过敏性气道慢性炎症模型,可以通过控制过敏原激发阶段的时间得到。过敏性气道慢性炎症模型的激发时间通常不小于 10 周。然而,目前还没有统一的标准化时间标准和相应的评价标准来区分急性和慢性气道炎症模型。

4 模型评价指标

花粉致敏 AR 动物模型评价通常基于动物整体反应的特征及相关生理指标的测定来进行综合判断(见表 1)。这一过程通常包括 4 个关键步骤:首先,通过行为学评分来评估动物的活动状态及其对环境刺激的反应;其次,通过检测特异性抗体的水平来了解动物体内的免疫反应;此外,组织病理形态的分析则能提供有关细胞和组织损伤情况的直接证据;最后,针对不同的研究目的应用辅助检测相关细胞因子和蛋白进一步验证和补充上述评估结果,从而形成一个全面的评价体系。除此之外我们还补充了通过评估鼻黏膜上皮屏障损伤验证造模效果的研究,这样的综合评估能够更准确地反映花粉引起的过敏反应特征。

4.1 行为学评分

行为评分通常在最后一次抗原激发后 30 min 内进行。主要观察花粉致敏模型动物的体征和症状,特别是挠鼻、打喷嚏、流鼻涕和鼻塞。打喷嚏和抓挠是最明显的症状,其严重程度可以取决于它发生的频率。流鼻涕量可以用荧光素染色的棉线来测量,将棉线插入豚鼠鼻孔约 15 mm,并保持 60 s,流鼻涕的程度由鼻分泌物引起的棉线的颜色长度变化来表示^[77]。全身体积描记术(whole body plethysmography, WBP)是评估动物鼻塞的一种常用技术。通过 WBP 测量呼吸频率变化可作为评估鼻塞的相关生理参数^[78]。

4.2 血清特异性抗体水平检测

花粉致敏 AR 动物模型评价还需要对动物进行全面的评估,以确定是否存在全身性过敏反应。该评价主要涉及血清 IgE 和被动性皮肤过敏反应(passive cutaneous anaphylaxis, PCA)的检测。PCA 检测是一种非常灵敏的方法,它依靠抗体与同类型或不同类型动物的组织相结合所引发的局部过敏反应,来实现对抗体或抗原的检测^[79]。然而,进行 PCA 测试的过程是复杂的,其结果可能会受到多种因素的影响。通过 PCA 鉴定抗体的主要挑战在于对染料反应的准确定量。随着 IgE 抗体的发现,这种方法逐渐被取代。在 I 型过敏反应中,花粉作为过敏原进入体内后,会触发一系列免疫反应。具体而言,花粉特异性 IgE 会与肥

大细胞结合,这一结合过程是引发过敏的关键步骤,客观且定量地测定血清中花粉特异性 IgE 的浓度,成为了评估个体对花粉过敏反应的主要科学指标^[80]。

在过敏性鼻炎的病例中,Th1 和 Th2 型细胞因子的异常分泌可导致促炎/抗炎平衡的异常。研究表明,Th2 细胞因子能够有效促进 IgG1 抗体的合成,而 Th1 细胞因子则主要诱导 IgG2a 抗体的生成^[81]。因此,通过比较血清中 IgG2a 和 IgG1 水平的变化,可以间接揭示 Th1 与 Th2 细胞之间调控机制的潜在变化^[82]。这种比较方法已经在多项实验性研究中得到了广泛应用,成为研究免疫响应和细胞信号调节的重要工具。在 AR 动物实验中,特定花粉的特异性 IgE、IgG1 和 IgG2a 水平往往比总 IgE 水平的变化更有说服力。

4.3 鼻黏膜组织病理形态学检测

动物鼻黏膜组织材料可用于检测 IgE 依赖的过敏反应的局部组织病理学变化。如果模型有效,可以观察到鼻黏膜脱落和损伤,间质组织有炎性细胞浸润,炎性病变更主要由淋巴细胞、嗜酸性粒细胞或中性粒细胞组成,在光学显微镜下可观察到水肿渗出,组织间隔增厚^[81]。客观且定量地评估花粉过敏反应所引发的组织炎症性病变及其相关病理特征尤为重要。此外,花粉作为一种常见的过敏原,除了引发鼻腔疾病外,其影响范围还扩展至下呼吸道,可能引起一系列支气管和肺部疾病的发生。因此,关注支气管及肺组织的病理状况显得十分关键^[83]。对花粉引发的呼吸系统疾病进行深入研究,有助于我们更好地理解其对整个呼吸系统的影响及相关机制,从而为相关疾病的预防和治疗提供理论依据。

4.4 细胞因子检测

除上述评价指标外,还可以进行细胞因子检测来确认过敏反应。研究表明,鼻腔微环境中细胞因子的释放不仅影响免疫反应,还可能改变鼻上皮细胞内紧密连接蛋白的组成结构。这种改变可导致紧密屏障特性向渗漏型屏障特性的转变,从而对鼻上皮的完整性和功能产生负面影响^[84]。过敏性鼻炎的发生与维持主要由 2 型先天性淋巴细胞(type 2 innate lymphoid cells ILC2s)和 Th2 细胞所介导,这种机制是通过诱导 2 型免疫反应实

现的。这些特定类型的免疫细胞能够释放多种细胞炎性因子,从而有效地激活其他免疫细胞,促使病理状态的持续,引发了更为明显的临床症状。涉及到的细胞因子检测方法主要根据样本量、样本种属及仪器平台等情况选择合适的检测方法,常用的检测方法有流式检测、ELISA、ELISpot、Luminex 等。涉及到的细胞及细胞因子主要包括如下几种。

4.4.1 Th2 细胞

AR 与 Th0 细胞向 Th2 细胞的分化和大量 Th2 型细胞因子的释放有关。Th2 细胞能够分泌多种细胞因子,主要包括 IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 等^[81,85],进一步破坏鼻黏膜上皮屏障^[86],加强炎症细胞的浸润,诱发并维持鼻黏膜的炎症。因此,检测上述因子的表达水平可以有效反映 Th2 细胞的活化程度。值得注意的是,IL-25(又称 IL-17E)是一种由 Th2 细胞产生的关键细胞因子。它通过与 IL-17RA/B 的相互作用,能够有效激活并增强多个转录因子的表达,例如 NF κ B、STAT6、GATA3 和 NFATC1。这一过程促使 Th2 记忆细胞的有效激活和极化,最终促进 Th2 细胞因子(尤其是 IL-4、IL-5 和 IL-13 等)的大量产生^[87]。

4.4.2 ILC2s

ILC2s 在 AR 的免疫反应中发挥核心作用^[88]。当过敏原如花粉接触鼻黏膜时,上皮细胞释放多种物质,包括过敏原蛋白和生物活性分子,导致细胞因子 IL-25、IL-33 和胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)的分泌,进而激活 ILC2s 并促进 2 型树突细胞(type 2 dendritic cells, DC2)的成熟。激活的 ILC2s 分泌多种细胞因子(如 IL-25、IL-33 和 IL-9),直接影响鼻黏膜和神经,引发气道高反应性和局部炎症,进而加剧过敏反应^[89]。

其中,IL-33 作为一种关键细胞因子,主要在组织损伤时被释放,并通过与 ST2 受体结合来调控免疫细胞活动,调控免疫反应和炎症。此外,IL-33 还能激活 Th2 细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、M2 巨噬细胞和树突状细胞,参与到 2 型和 1 型免疫、过敏与非过敏性鼻炎的过程中。

TSLP 是一种重要的促 Th2 反应因子,主要由鼻上皮细胞产生。它不仅能激活树突状细胞,还通过上调紧密连接蛋白的表达维持上皮屏障的完整性,特别是在过敏性鼻炎的早期阶段。在过敏性鼻炎小鼠模型中,TSLP 的表达显著上调,表明其在过敏反应和炎症调节中发挥关键作用。因此,检测 TSLP 的表达水平于理解 AR 的发病机制具有重要意义^[90]。

4.4.3 Th17 细胞

Th17 细胞是一类 T 辅助细胞(Th 细胞),主要负责分泌 IL-17,在多种生理和病理过程中均发挥着关键作用,主要能够促进炎症反应和增强局部免疫,应对感染和病原体的入侵。在过敏性鼻炎反应的早期阶段,IL-17 作为一种促炎因子,促进炎症物质的释放,增强鼻黏膜的敏感性^[91]。因此,检测 IL-17 的表达水平对于了解 Th17 细胞数量的表达具有重要意义。

4.5 上皮屏障功能关键指标检测

目前,很多研究会评估鼻黏膜上皮屏障的损伤情况。鼻黏膜作为呼吸道重要的防御屏障,其完整性直接关系到呼吸道的健康和免疫状态。通常会考察一系列指标和分子变化,这些指标为我们提供了评估鼻黏膜功能的重要依据(表 2)。紧密连接蛋白如 occludin 和 claudin,是维持上皮细胞间屏障功能的关键成分。当其表达水平降低时,上皮屏障的通透性可能增加,导致病原体及过敏原更容易侵入。而细胞因子在炎症反应中具有重要作用,某些细胞因子的过度释放可能指示鼻黏膜受到过度刺激或损伤。例如,肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等细胞因子,常常在过敏性鼻炎和其他上呼吸道疾病中升高,表明存在明显的炎症反应。此外,趋化因子作为一种信号分子,能吸引免疫细胞至损伤部位,帮助清除外来病原体,但其过量表达也可能引发慢性炎症^[92],导致鼻黏膜屏障的进一步损害。综合来看,这些指标和分子变化为评估和理解鼻黏膜上皮屏障的损伤提供了基础,有助于推动相应治疗策略的研发,以改善患者的生活质量和健康状况^[93-94]。

表 2 影响鼻上皮屏障功能的关键成分

Table 2 Key components affecting the nasal epithelial barrier function

检测名称 Detection name	对鼻上皮屏障功能的影响 Effect on the nasal epithelial barrier function
紧密连接蛋白-1 Zonula occludens-1	维持紧密连接的结构完整性,调节离子和溶质的通透性。 Maintain the structural integrity of the tight junctions and regulate the permeability of ions and solutes.
闭塞蛋白 Occludin	参与紧密连接的形成,调节跨细胞间隙的通透性。 Involved in the formation of tight junctions and regulating permeability across intercellular spaces.
封闭蛋白 Claudins	调控紧密连接的通透性和选择性,影响离子和分子的运输。 Regulating the permeability and selectivity of tight junctions, affecting the transport of ions and molecules.
接头黏附分子 Junctional adhesion molecules	影响紧密连接的稳定性,参与免疫细胞的迁移过程。 Affect the stability of tight junctions and participate in the migration process of immune cells.
E-钙黏蛋白 E-cadherin	保持上皮细胞间的黏附,对维持上皮屏障完整性至关重要。 Maintaining adhesion between epithelial cells is essential for maintaining epithelial barrier integrity.
原钙黏蛋白 9 Proto-cadherin 9	通过参与维持正常的上皮屏障功能、调节炎症反应、影响免疫细胞的迁移等来影响鼻黏膜上皮屏障。 It affects the nasal mucosal epithelial barrier by participating in maintaining the normal epithelial barrier function, regulating the inflammatory response, and affecting the migration of immune cells.
白介素-4 IL-4	促进 Th2 细胞分化,增加 IgE 介导的炎症反应,可能通过改变紧密连接蛋白表达而影响上皮屏障的完整性。 Promoting Th2 cell differentiation and increasing the IgE-mediated inflammatory responses may affect the integrity of the epithelial barrier by altering tight junction protein expression.
白介素-5 IL-5	促进嗜酸性粒细胞的增殖和存活,参与鼻黏膜炎症反应,导致上皮屏障功能受损。 Promote the proliferation and survival of eosinophils, and participate in the inflammatory response of the nasal mucosa, leading to an impaired epithelial barrier function.
白介素-6 IL-6	通过促进炎症介质的产生,可能间接损害上皮屏障功能,导致屏障功能障碍。 By promoting the production of inflammatory mediators, it may indirectly impair the epithelial barrier function, leading to the barrier dysfunction.
白介素-8 IL-8	通过促进中性粒细胞的募集和活化,可能通过诱导炎症反应间接损害上皮屏障。 By promoting the recruitment and activation of neutrophils, it may damage the epithelial barrier indirectly by inducing an inflammatory response.
白介素-9 IL-9	可能通过 Th2 应答参与炎症过程,间接影响上皮屏障功能。 May participate in inflammatory processes through the Th2 response and indirectly affect epithelial barrier function.
白介素-12 IL-12	IL-12 参与免疫细胞的活化,特别是促进 Th1 细胞的分化,这可能间接影响上皮屏障功能。 IL-12 is involved in the activation of immune cells, especially in promoting the differentiation of Th1 cells, which may indirectly affect the epithelial barrier function.
白介素-10 IL-10	具有抗炎作用,可能有助于维持上皮屏障的完整性和减少炎症反应。 Have anti-inflammatory effects and may help to maintain the epithelial barrier integrity and reduce inflammatory responses.
白介素-13 IL-13	通过改变紧密连接蛋白的表达,可能直接影响上皮屏障的通透性和完整性。 By changing the expression of tight junction proteins, it may directly affect the epithelial permeability and integrity of the barrier.
白介素-17 IL-17	促进炎症介质释放,可能通过诱导炎症间接损害上皮屏障。 Facilitating inflammatory mediator release, possibly impairing the epithelial barrier indirectly by inducing inflammation.
白介素-18 IL-18	能够吸引中性粒细胞等免疫细胞到炎症部位,加剧炎症反应,从而影响上皮屏障的完整性。 Ability to attract immune cells such as neutrophils to sites of inflammation, exacerbating the inflammatory response and thus affecting the integrity of the epithelial barrier.

续表2

检测名称 Detection name	对鼻上皮屏障功能的影响 Effect on the nasal epithelial barrier function
白介素-25 IL-25	参与 Th2 细胞的活化,可能通过促进 IL-5 和 IL-13 的产生而影响上皮屏障。 Involved in the activation of Th2 cells, possibly affecting the epithelial barrier by promoting the production of IL-5 and IL-13.
白介素-33 IL-33	通过激活 Th2 细胞和肥大细胞,可能通过炎症介质的释放间接影响上皮屏障功能。 By activating Th2 cells and mast cells, epithelial barrier function may indirectly through the release of inflammatory mediators.
胸腺基质淋巴生成素 Thymic stromal lymphopoietin	通过激活 Th2 细胞和树突状细胞,可能通过炎症介质的释放间接影响上皮屏障功能。 By activating Th2 cells and DCs, possibly affecting epithelial barrier function indirectly through the release of inflammatory mediators.
干扰素- γ INF- γ	抑制 Th2 应答,可能通过影响紧密连接蛋白来调节上皮屏障功能。 Inhibition of Th2 responses, possibly by regulating epithelial barrier function by affecting tight junction proteins.
肿瘤坏死因子- α TNF- α	引发炎症反应,可能导致紧密连接蛋白表达水平下降,从而损害上皮屏障。 Initiate an inflammatory response, which may lead to a decreased level of tight junction protein expression and thereby damage the epithelial barrier.
白介素-1 β IL-1 β	IL-1 β 是一种强大的促炎细胞因子,能够促进炎症介质的产生,并可能影响上皮屏障的通透性。 IL-1 β is a powerful pro-inflammatory cytokine that promotes the production of inflammatory mediators and may affect the permeability of the epithelial barrier.
单核细胞趋化蛋白-1(C-C 基序趋化因子配体 2) Monocyte chemoattractant protein-1 (C-C motif chemokine ligand 2)	能够吸引单核细胞等免疫细胞到炎症部位,加剧炎症反应,进而影响鼻上皮屏障功能。 It can attract immune cells such as monocytes to the inflammatory sites, exacerbate the inflammatory response, and then affect the nasal epithelial barrier function.
调节激活正常 T 细胞表达和分泌的趋化因子(C-C 基序趋化因子配体 5) Regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (C-C motif chemokine ligand 5)	能够吸引多种免疫细胞,包括 T 细胞、嗜酸性粒细胞和巨噬细胞等,它可能通过促进这些细胞的募集而加剧炎症反应,间接影响鼻上皮屏障。 Ability to attract a variety of immune cells, including T cells, eosinophils, and macrophages, it may aggravate the inflammatory response by promoting the recruitment of these cells, indirectly affecting the nasal epithelial barrier.
C-C 基序趋化因子配体 11 C-C motif chemokine ligand 11	可能通过吸引嗜酸性粒细胞的增多导致鼻上皮屏障受损。 Probably causing damage to the nasal epithelial barrier by attracting more eosinophils.
干扰素诱导蛋白 10(C-X-C 基序趋化因子配体 10) Interferon gamma-inducible protein 10 (C-X-C motif chemokine ligand 10)	可能通过调节免疫细胞的募集而影响鼻上皮屏障功能。 May affect the nasal epithelial barrier function by regulating the recruitment of immune cells.
巨噬细胞炎症蛋白-1(C-C 基序趋化因子配体 3)/巨噬细胞炎症蛋白-1(C-C 基序趋化因子配体 4) Macrophage inflammatory protein-1 alpha(C-C motif chemokine ligand 3)/macrophage inflammatory protein-1 beta(C-C motif chemokine ligand 4)	可能通过促进单核细胞、嗜酸性粒细胞等的募集而加剧炎症反应,进而影响鼻上皮屏障功能。 May exacerbate the inflammatory response by promoting the recruitment of monocytes, eosinophils, and subsequently affect nasal epithelial barrier function.
肿瘤裂解激肽片段(C-X3-C Motif 趋化因子配体 1) Fragment of tumor-lysis kinase (C-X3-C motif chemokine ligand 1)	可能通过调节免疫细胞的募集而影响鼻上皮屏障功能。 May affect the nasal epithelial barrier function by regulating the recruitment of immune cells.

5 结语

本文系统地总结了对过敏性鼻炎相关动物模型的研究,讨论了影响模型效果的因素,包括动物品系、致敏材料即花粉抗原的制作及存在问题、佐剂的使用及存在问题、造模的步骤、效果评价。动物品系的选择需考虑致敏效果、伦理,大多数的研究选择 BALB/c 小鼠因其较好的抗原敏感性,但是该小鼠形态小,鼻黏膜取材量稀少,在研究中应结合需要检测的目标合理设置分组及动物数目。花粉抗原的制作最初专为脱敏治疗所用,引用到动物造模中其制作流程、剂量目前还没有统一标准,研究者需要在参考相近的文献基础上,根据自己的实验目标做预实验来设计合理的过程和剂量,已达到理想效果。佐剂的使用可以增强抗原被免疫细胞识别捕捉的机会,但是也干扰了研究花粉抗原致敏机制的研究。模型成功的评价标准相对比较统一,行为评分中的各种症状的判定需要制定标准并进行量化,需要开发相应的检测设备,已有的测量鼻涕流量、鼻塞程度的设备需要更多的实验验证和优化,能实现在抗原刺激后同时一定时间段内对所有致敏小鼠症状进行客观量化的评估势在必行。

动物模型对于疾病研究至关重要,现有的花粉致敏模型中没有一种动物模型能够完全重现 AR 的所有典型症状,研究者有必要进一步完善各种花粉诱导 AR 动物模型的构建以及评价方法,尤其关注它们的重复性验证与标准化研究。这将为花粉致敏性 AR 的机制研究提供更加可靠的支持,为深入理解过敏性鼻炎的机制提供坚实的理论基础。

参考文献:

- [1] BOUSQUET J, ANTO J M, BACHERT C, et al. Allergic rhinitis [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 95.
- [2] TRINCIANTI C, TOSCA M A, CIPRANDI G. Updates in the diagnosis and practical management of allergic rhinitis [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2023, 16(7): 669-676.
- [3] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 中国变应性鼻炎诊断和治疗指南(2022 年,修订版) [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2022, 57(2): 106-129.
- BOARD OF CHINESE JOURNAL OF OTOLARYNGOLOGY HEAD AND NECK SURGERY, SUBSPECIALTY GROUP OF RHINOLOGY, SOCIETY OF OTORHINOLARYNGOLOGY HEAD AND NECK SURGERY, CHINESE MEDICAL ASSOCIATION. Chinese Guidelines for diagnosis and treatment of allergic rhinitis (2022, revised edition) [J]. *Chin J Otolaryngology Head Neck Surg*, 2022, 57(2): 106-129.
- [4] BOUSQUET J, SCHÜNEMANN H J, SAMOLINSKI B, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(5): 1049-1062.
- [5] KRSMANOVIĆ L, ARSOVIĆ N, BOKONJIĆ D, et al. The impact of cytokines on health-related quality of life in adolescents with allergic rhinitis [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(2): 428.
- [6] SCHÄFER T, HOELSCHER B, ADAM H, et al. Hay fever and predictive value of prick test and specific IgE antibodies: a prospective study in children [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2003, 14(2): 120-129.
- [7] LAKE I R, JONES N R, AGNEW M, et al. Climate change and future pollen allergy in Europe [J]. *Environ Health Perspect*, 2017, 125(3): 385-391.
- [8] ASAM C, HOFER H, WOLF M, et al. Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective [J]. *Allergy*, 2015, 70(10): 1201-1211.
- [9] BOUSQUET J, ONORATO G L, OLIVER G, et al. Google trends and pollen concentrations in allergy and airway diseases in France [J]. *Allergy*, 2019, 74(10): 1910-1919.
- [10] ANNESI-MAESANO I, CECCHI L, BIAGIONI B, et al. Is exposure to pollen a risk factor for moderate and severe asthma exacerbations? [J]. *Allergy*, 2023, 78(8): 2121-2147.
- [11] XU H, OHGAMI N, SAKASHITA M, et al. Intranasal levels of lead as an exacerbation factor for allergic rhinitis in humans and mice [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 148(1): 139-147.
- [12] XING Y H, GARY W. Environmental influences and allergic diseases in the asia-pacific region: what will happen in next 30 years? [J]. *J Allergy Asthma Immunol Res*, 2022, 14(01): 21-39.
- [13] TIMERMAN D, BARRETT S C H. The biomechanics of pollen release: new perspectives on the evolution of wind pollination in angiosperms [J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2021, 96(5): 2146-2163.
- [14] PASCHALIDOU A K, PSISTAKI K, CHARALAMPOPOULOS A, et al. Identifying patterns of airborne pollen distribution using a synoptic climatology

- approach [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 714: 136625.
- [15] LIU Z G, SONG J J, KONG X L. A study on pollen allergens in China [J]. *Biomed Environ Sci*, 2010, 23(4): 319–322.
- [16] CAMACHO M, REINHARD K J. Confusing a pollen grain with a parasite egg: an appraisal of “paleoparasitological evidence of pinworm (*Enterobius vermicularis*) infection in a female adolescent residing in ancient Tehran” [J]. *Korean J Parasitol*, 2019, 57(6): 621–625.
- [17] AKDIS C A. Does the epithelial barrier hypothesis explain the increase in allergy, autoimmunity and other chronic conditions? [J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(11): 739–751.
- [18] PUREVSUREN L, MILENA S, YU-KYOUNG H, et al. Epithelial Barrier Theory: the role of exposome, microbiome, and barrier function in allergic diseases [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2023, 14(6): 705–724.
- [19] MAOLIN YANG, LIWEI SUN, DONGDONG ZHU, et al. Recent advances in understanding the effects of Tlymphocytes on mucosal barrier function in allergic rhinitis [J]. *Front Immunol*, 2023, 9: 1224129.
- [20] AGLAS L, GILLES S, BAUER R, et al. Context matters; TH2 polarization resulting from pollen composition and not from protein-intrinsic allergenicity [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142(3): 984–987.
- [21] HOPKINS G V, COCHRANE S, ONION D, et al. The role of lipids in allergic sensitization: a systematic review [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 832330.
- [22] GILLES S, MARIANI V, BRYCE M, et al. Pollen allergens do not come alone: pollen associated lipid mediators (PALMS) shift the human immune systems towards a T(H) 2-dominated response [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2009, 5(1): 3.
- [23] OTEROS J, BARTUSEL E, ALESSANDRINI F, et al. *Artemisia* pollen is the main vector for airborne endotoxin [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(1): 369–377.
- [24] GILLES S, FEKETE A, ZHANG X, et al. Pollen metabolome analysis reveals adenosine as a major regulator of dendritic cell-primed T(H) cell responses [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(2): 454–461.
- [25] WIMMER M, ALESSANDRINI F, GILLES S, et al. Pollen-derived adenosine is a necessary cofactor for ragweed allergy [J]. *Allergy*, 2015, 70(8): 944–954.
- [26] O’GRADY S M, KITA H. ATP functions as a primary alarmin in allergen-induced type 2 immunity [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2023, 325(5): C1369–C1386.
- [27] 卢琪, 吴越, 张启航, 等. 空气污染对花粉症的影响及其机制研究进展 [J]. *环境与职业医学*, 2024, 41(1): 103–109.
- LU Q, WU Y, ZHANG Q H, et al. Research progress on effects of air pollution on pollinosis and its mechanisms [J]. *J Environ Occup Med*, 2024, 41(1): 103–109.
- [28] STAWOSKA I, MYSZKOWSKA D, OLIWA J, et al. Air pollution in the places of *betula pendula* growth and development changes the physicochemical properties and the main allergen content of its pollen [J]. *PLoS One*, 2023, 18(1): e0279826.
- [29] WAYNE P, FOSTER S, CONNOLLY J, et al. Production of allergenic pollen by ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) is increased in CO₂-enriched atmospheres [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2002, 88(3): 279–282.
- [30] 罗兆莉, 轩冉, 莘琳琳, 等. 特异性脱敏法治疗柳树花粉引起的过敏性鼻炎的实验研究 [J]. *实验动物科学*, 2020, 37(4): 10–14.
- LUO Z L, XUAN R, SHEN L L, et al. Specific desensitization therapy for allergic rhinitis caused by willow pollen [J]. *Lab Anim Sci*, 2020, 37(4): 10–14.
- [31] 赵晶晶, 包海鹰. 香栓菌抑制 NLRP3 炎症小体活化改善过敏性鼻炎 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(14): 1711–1715.
- ZHAO J J, BAO H Y. *Trametes suaveolens* fruiting body extract alleviates allergic rhinitis by suppressing of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Chin J Immunol*, 2022, 38(14): 1711–1715.
- [32] TSUNEMATSU M, YAMAJI T, KOZUTSUMI D, et al. Effect of Cry-consensus peptide, a novel recombinant peptide for immunotherapy of Japanese cedar pollinosis, on an experimental allergic rhinitis model in B10. S mice [J]. *Allergol Int*, 2007, 56(4): 465–472.
- [33] HIRAMOTO K, KOBAYASHI H, ORITA K, et al. Inducible nitric oxide synthase plays important roles in allergic reactions of pollinosis in mice sensitized with pollen allergy [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2013, 52(1): 17–21.
- [34] HIRAMOTO K, HASHIMOTO M, ORITA K, et al. Alpha-melanocyte-stimulating hormone plays an important role in the onset of pollinosis in a pollen allergy mouse model [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2010, 153(1): 13–18.
- [35] 周晨昱, 张影, 杨蕾, 等. 黄花蒿花粉过敏小鼠鼻炎模型的优化与稳定性研究 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2022, 42(5): 351–359.
- ZHOU C Y, ZHANG Y, YANG L, et al. Study on optimization and stability of *Artemisia annua* pollen-induced allergic rhinitis model in mice [J]. *Chin J Microbiol Immunol*, 2022, 42(5): 351–359.
- [36] FUKUOKA A, MATSUSHITA K, MORIKAWA T, et al. Diesel exhaust particles exacerbate allergic rhinitis in mice by disrupting the nasal epithelial barrier [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46(1): 142–152.

- [37] AKINFENWA O, HUANG H J, LINHART B, et al. Preventive administration of non-allergenic bet v 1 peptides reduces allergic sensitization to major birch pollen allergen, bet v 1 [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 744544.
- [38] ZHANG J, GAO L, YU D, et al. Three *Artemisia pollens* trigger the onset of allergic rhinitis via TLR4/MyD88 signaling pathway [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 319.
- [39] PORDEL S, HAGHNAVAZ N, REZAAEE M, et al. An epicutaneous therapeutic pollen-allergen extract delivery system in an allergic rhinitis mouse model; based on allergen loading on DC-specific aptamers conjugated nanogolds [J]. *Immunol Res*, 2024, 72(3): 460–475.
- [40] YOSHINO S, MIZUTANI N. Intranasal exposure to monoclonal antibody Fab fragments to Japanese cedar pollen Cry j1 suppresses Japanese cedar pollen-induced allergic rhinitis [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(10): 1629–1638.
- [41] MOUSAVI F, KARDAR G A, POURPAK Z. IgE-mediated allergic responses associated to *Ailanthus altissima* pollen using an animal model [J]. *Allergol Immunopathol*, 2019, 47(3): 272–276.
- [42] AKASAKI S, MATSUSHITA K, KATO Y, et al. Murine allergic rhinitis and nasal Th2 activation are mediated via TSLP- and IL-33-signaling pathways [J]. *Int Immunol*, 2016, 28(2): 65–76.
- [43] OGITA-NAKANISHI H, NABE T, MIZUTANI N, et al. Absence of nasal blockage in a Japanese cedar pollen-induced allergic rhinitis model mouse [J]. *Allergol Int*, 2009, 58(2): 171–178.
- [44] TABYNOV K, BABAYEVA M, NURPEISOV T, et al. Evaluation of a novel adjuvanted vaccine for ultrashort regimen therapy of artemisia pollen-induced allergic bronchial asthma in a mouse model [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 828690.
- [45] NABE T, MIZUTANI N, SHIMIZU K, et al. Development of pollen-induced allergic rhinitis with early and late phase nasal blockage in guinea pigs [J]. *Inflamm Res*, 1998, 47(9): 369–374.
- [46] YAMASAKI M, MIZUTANI N, SASAKI K, et al. Involvement of thromboxane A2 and peptide leukotrienes in early and late phase nasal blockage in a guinea pig model of allergic rhinitis [J]. *Inflamm Res*, 2001, 50(9): 466–473.
- [47] TSUNEMINE S, ISA Y, OHNO H, et al. Longitudinal study of effects of oral dosage of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 on Japanese cedar pollen-induced allergic nasal symptoms in guinea pigs [J]. *Microbiol Immunol*, 2015, 59(11): 690–699.
- [48] MIZUTANI N, NABE T, SHIMAZU M, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* on pollen-induced biphasic nasal blockage in a guinea pig model of allergic rhinitis [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(3): 325–332.
- [49] TINIAKOV R L, TINIAKOVA O P, MCLEOD R L, et al. Canine model of nasal congestion and allergic rhinitis [J]. *J Appl Physiol*, 2003, 94(5): 1821–1828.
- [50] KAMETANI Y, YAMADA Y, TAKABAYASHI S, et al. The response of common marmoset immunity against cedar pollen extract [J]. *Biosci Trends*, 2018, 12(1): 94–101.
- [51] HIMLY M, JAHN-SCHMID B, DEDIC A, et al. Art v 1, the major allergen of mugwort pollen, is a modular glycoprotein with a defensin-like and a hydroxyproline-rich domain [J]. *FASEB J*, 2003, 17(1): 106–108.
- [52] HUANG M, SHAO H, ZHANG X, et al. Comparison of cow's milk allergy models highlighted higher humoral and Th2 immune responses in BALB/c than C3H/HeNcrI mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2024, 184: 114315.
- [53] 宋天园, 肖兰, 王甜, 等. 花粉过敏动物模型的研究进展 [J]. *黑龙江动物繁殖*, 2022, 30(3): 23–31.
- SONG T Y, XIAO L, WANG T, et al. Progress in experimental models on pollen allergenicity [J]. *Heilongjiang J Anim Reprod*, 2022, 30(3): 23–31.
- [54] BYRNE A B, GARCÍA A G, BRAHAMIAN J M, et al. A murine model of dengue virus infection in suckling C57BL/6 and BALB/c mice [J]. *Anim Model Exp Med*, 2021, 4(1): 16–26.
- [55] KINGETSU I, OHNO N, HAYASHI N, et al. Common antigenicity between Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollen, I. H-2 complex affects cross responsiveness to Cry j 1 and Cha o 1 at the T- and B-cell level in mice [J]. *Immunology*, 2000, 99(4): 625–629.
- [56] SONE T, DAIRIKI K, MORIKUBO K, et al. Identification of human T cell epitopes in Japanese cypress pollen allergen, Cha o 1, elucidates the intrinsic mechanism of cross-allergenicity between Cha o 1 and Cry j 1, the major allergen of Japanese cedar pollen, at the T cell level [J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35(5): 664–671.
- [57] DATTA A, MOITRA S, HAZRA I, et al. Specific allergen immunotherapy attenuates allergic airway inflammation in a rat model of *Alstonia scholaris* pollen induced airway allergy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 30: 111–120.
- [58] KUCHARWICZ I, BODZENTA-ŁUKASZYK A, BUCZKO W. Experimental asthma in rats [J]. *Pharmacol Rep*, 2008, 60(6): 783–788.
- [59] KALLÓS P, KALLÓS L. Experimental asthma in guinea pigs revisited [J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1984, 73(1): 77–85.
- [60] KAR M, BAYAR MULUK N, BAFAQEEH S A, et al.

- Consensus on the methodology for experimental studies in allergic rhinitis [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2019, 121: 68–71.
- [61] LI D, WEI Y, WANG J, et al. Anim models of eosinophilic esophagitis, review and perspectives [J]. *Anim Model Exp Med*, 2024, 7(2): 127–135.
- [62] HELM R M, GAUERKE M B, BAER H, et al. Production and testing of an international reference standard of short ragweed pollen extract [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1984, 73(6): 790–800.
- [63] BASHIR M E H, LUI J H, PALNIVELU R, et al. Pollen lipidomics: lipid profiling exposes a notable diversity in 22 allergenic pollen and potential biomarkers of the allergic immune response [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57566.
- [64] ZHAO L, FU W, GAO B, et al. Variation in IgE binding potencies of seven *Artemisia* species depending on content of major allergens [J]. *Clin Transl Allergy*, 2020, 10(1): 50.
- [65] MANSOURITORGHABEH H, JABBARI-AZAD F, VARASTEHE A, et al. Common solvents for making extraction of allergenic proteins from plants' pollens for prick tests and related factors; a technical review [J]. *Electron Physician*, 2017, 9(5): 4440–4446.
- [66] RADAUER C, BREITENEDER H. Pollen allergens are restricted to few protein families and show distinct patterns of species distribution [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 117(1): 141–147.
- [67] JENSEN-JAROLIM E. Aluminium in allergies and allergen immunotherapy [J]. *World Allergy Organ J*, 2015, 8(1): 7.
- [68] LIN Y J, ZIMMERMANN J, SCHÜLKE S. Novel adjuvants in allergen-specific immunotherapy: where do we stand? [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1348305.
- [69] ZHANG T, HE P, GUO D J, et al. Research progress of aluminum phosphate adjuvants and their action mechanisms [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(6): 15061756.
- [70] XI L, FAN E, ZHAO Y, et al. Role of aluminum adjuvant in producing an allergic rhinitis animal model [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(3): 5173–5181.
- [71] 高洪娇, 李昕蓉, 刘洋, 等. 精析氢氧化铝在变应性鼻炎动物模型造模中的使用 [J]. *中国医学文摘(耳鼻咽喉科学)*, 2018, 33(4): 323–327.
- GAO H J, LI X R, LIU Y, et al. The application of aluminum hydroxide on animal model of allergic rhinitis [J]. *Chin Med Dig Otorhinolaryngol*, 2018, 33(4): 323–327.
- [72] LIU B, ZHANG L, LIU J, et al. A prophylactic effect of an oligodeoxynucleotide containing a cytidine-guanosine motif against Japanese cedar pollen-induced T-helper type 2 allergic response [J]. *J Asthma*, 2011, 48(9): 974–978.
- [73] SPACOVA I, PETROVA M I, FREMAU A, et al. Intranasal administration of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents birch pollen-induced allergic asthma in a murine model [J]. *Allergy*, 2019, 74(1): 100–110.
- [74] MOTTA A C, DORMANS J A, PELTRE G, et al. Intratracheal instillation of cytoplasmic granules from *Phleum pratense* pollen induces IgE- and cell-mediated responses in the Brown Norway rat [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2004, 135(1): 24–29.
- [75] LEHTO M, WOLFF H, LEINO R, et al. A novel glycocluster molecule prevents timothy-induced allergic airway inflammation in mice [J]. *Allergy*, 2018, 73(8): 1700–1706.
- [76] 蔺林, 严文洪, 赵霞. 氢氧化铝佐剂对变应性鼻炎小鼠模型的影响 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(11): 780–784.
- LIN L, YAN W H, ZHAO X. Influence of aluminum hydroxide adjuvant on a murine model of allergic rhinitis [J]. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2014, 28(11): 780–784.
- [77] NAMIMATSU A, YAMAURA S, GO K, et al. A new method of the measurement of nasal secretion in guinea pigs [J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1991, 95(1): 29–34.
- [78] WAGNER J G, HARKEMA J R. Rodent models of allergic rhinitis: relevance to human pathophysiology [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2007, 7(2): 134–140.
- [79] 孟昭影, 赵自刚, 杜会博, 等. 建立特异性皮炎动物模型的方法学进展 [J]. *医学研究杂志*, 2010, 39(4): 124–125, 101.
- MENG Z Y, ZHAO Z G, DU H B, et al. Methodological progress in establishing animal model of atopic dermatitis [J]. *J Med Res*, 2010, 39(4): 124–125, 101.
- [80] SKONER D P. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(1 Suppl): S2–S8.
- [81] NGUYEN T V, PIAO C H, FAN Y J, et al. *Artemisia gmelinii* extract alleviates allergic airway inflammation via balancing TH1/TH2 homeostasis and inhibiting mast cell degranulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15377.
- [82] 黄绮凌, 宋宁, 李东健, 等. 黄芩对小鼠实验性牙周炎血清 IgG1 和 IgG2a 水平影响的研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(1): 171–174.
- HUANG Q L, SONG N, LI D J, et al. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi on serum levels of IgG1 and IgG2a in mouse model of periodontitis [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2011, 27(1): 171–174.
- [83] HELLINGS P W, CEUPPENS J L. Mouse models of global

- airway allergy: what have we learned and what should we do next? [J]. *Allergy*, 2004, 59(9): 914-919.
- [84] LONDON N R Jr, THARAKAN A, RAMANATHAN M Jr. The role of innate immunity and aeroallergens in chronic rhinosinusitis [J]. *Adv Otorhinolaryngol*, 2016, 79: 69-77.
- [85] NUR HUSNA S M, SHUKRI N M, MOHD ASHARI N S, et al. IL-4/IL-13 axis as therapeutic targets in allergic rhinitis and asthma [J]. *PeerJ*, 2022, 10: e13444.
- [86] 郑少川, 瞿申红, 张少杰, 等. 紧密连接相关蛋白在变应性鼻炎小鼠模型中的表达研究 [J]. *右江民族医学院学报*, 2023, 45(2): 237-241.
- ZHENG S C, QU S H, ZHANG S J, et al. Expression of tight junction proteins in mice with allergic rhinitis [J]. *J Youjiang Med Univ Natl*, 2023, 45(2): 237-241.
- [87] 韩江南, 徐艳红, 姜霞, 等. 腺样体肥大伴变应性鼻炎患儿致敏原谱及腺样体组织中 IL-25 IL-32 EOS 表达分析及诊断价值 [J]. *河北医学*, 2021, 27(9): 1517-1522.
- HAN J N, XU Y H, JIANG X, et al. An analysis of allergen spectrum and expression of IL-25 IL-32 EOS in adenoid tissue in children with adenoid hypertrophy and allergic rhinitis and the diagnostic value [J]. *Hebei Med*, 2021, 27(9): 1517-1522.
- [88] 徐心悦, 景秀丽, 唐华. II 型固有淋巴细胞的研究进展 [J]. *山东第一医科大学(山东省医学科学院)学报*, 2022, 43(9): 666-673.
- XU X Y, JING X L, TANG H. Research progress of type II innate lymphocytes [J]. *J Shandong First Med Univ Shandong Acad Med Sci*, 2022, 43(9): 666-673.
- [89] 张玮, 初晓艺, 王甜, 等. 季节性过敏性鼻炎(SAR)病理机制和防治策略研究进展 [J]. *中国医药导刊*, 2023, 25(9): 891-897.
- ZHANG W, CHU X Y, WANG T, et al. Research progress on pathological mechanism and intervention strategies of seasonal allergic rhinitis(SAR) [J]. *Chin J Med Guide*, 2023, 25(9): 891-897.
- [90] BERNI CANANI R, CAMINATI M, CARUCCI L, et al. Skin, gut, and lung barrier: physiological interface and target of intervention for preventing and treating allergic diseases [J]. *Allergy*, 2024, 79(6): 1485-1500.
- [91] PIAO C H, SONG C H, LEE E J, et al. Saikosaponin A ameliorates nasal inflammation by suppressing IL-6/ROR- γ t/STAT3/IL-17/NF- κ B pathway in OVA-induced allergic rhinitis [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 315: 108874.
- [92] 白梦天, 李韵, 胡竹林, 不同条件下建立过敏性结膜炎小鼠模型比较研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(3): 330-337.
- BAI M T, LI Y, HU Z L. Comparison of mouse models of allergic conjunctivitis under different conditions [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(3): 330-337.
- [93] BERGOUGNAN C, DITTLEIN D C, HÜMMER E, et al. Physical and immunological barrier of human primary nasal epithelial cells from non-allergic and allergic donors [J]. *World Allergy Organ J*, 2020, 13(3): 100109.
- [94] XU C, SU W. Hyperforin modulates MAPK/CCL11 signaling to reduce the inflammatory response of nasal mucosal epithelial cells caused by allergic rhinitis by targeting BCL6 [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 26(6): 579.

[收稿日期]2024-09-02