doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2020.11.001

·论著·

小儿鼻炎片对幼龄动物慢性鼻炎的治疗作用及机制初探

靳冉[1],岳枫[1],陈会丛[1],李晋生[1],陈加富[2](1.北京中研同仁堂医药研发有限公司,北京 100079;2.北京同仁堂科技发展股份有限公司,北京 100079)

[摘要]**目的**:观察小儿鼻炎片对幼龄大鼠二氧化硫染毒致慢性鼻炎的保护作用,并对其抗炎、免疫作用进行初步探索。**方法**:将幼龄大鼠随机分为空白对照组、模型组、辛夷鼻炎丸组、小儿鼻炎片高剂量组、小儿鼻炎片中剂量组、小儿鼻炎片低剂量组。将幼龄小鼠随机分为模型组、辛夷鼻炎组及小儿鼻炎片高、中、低剂量组。除空白对照组外,其余大鼠均采用二氧化硫熏蒸法建立幼龄大鼠慢性鼻炎模型,各给药组给予相应药物灌胃,连续 4 周后,观察小儿鼻炎片对慢性鼻炎大鼠模型鼻黏膜病理组织学改变、幼龄小鼠碳粒廓清率、幼龄大鼠棉球肉芽肿形成的影响。**结果**:幼龄大鼠经二氧化硫熏蒸后,模型组大鼠鼻黏膜上皮出现变性,血管扩张充血,黏膜层病理损伤较重。给药后,小儿鼻炎片高剂量组(1.32 g/kg)和中剂量组(0.66 g/kg)大鼠鼻腔黏膜的病理损伤程度较模型组明显减轻,病理等级评分与模型组比较差异有统计学意义(P 均<0.05);小儿鼻炎片高(1.98 g/kg)、中(0.99 g/kg)、低(0.50 g/kg)剂量组小鼠的碳粒廓清指数高于模型组,差异有统计学意义(P<0.05);小儿鼻炎片高(1.32 g/kg)、中(0.66 g/kg)、低(0.33 g/kg)剂量组大鼠的棉球肉芽肿干重与模型组比较降低,且差异有统计学意义(P<0.05)。**结论**:小儿鼻炎片可显著改善幼龄大鼠二氧化硫染毒后所引起的慢性鼻炎,对鼻黏膜有一定的保护作用,同时可不同程度地抑制大鼠棉球肉芽肿的形成,增强小鼠网状内皮吞噬系统的防御能力,有一定的免疫保护作用,这可能是其治疗慢性鼻炎的作用机制之一。

[关键词]小儿鼻炎片;慢性鼻炎;棉球肉芽肿;碳粒廓清;幼龄大鼠;幼龄小鼠
[中图分类号]R969.4 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2020)11-0001-04

Therapeutic Effects and Mechanism of Xiao'er Biyan Tablets on Chronic Rhinitis in Young Animals

Jin Ran[1], Yue Feng[1], Chen Huicong[1], Li Jinsheng[1], Chen Jiafu[2](1. *Beijing Zhongyan Tongrentang Medicine R&D Co. Ltd.*, *Beijing* 100079, *China*; 2. *Beijing Tongrentang Technology Development Co. Ltd.*, *Beijing* 100079, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To observe the protective effects of Xiao'er Biyan tablets on chronic rhinitis induced by sulfur dioxide in young rats, and to preliminarily explore its anti-inflammatory and immune effects. **Methods**: The young rats were randomly divided into the blank control group, model group, Xinyi Biyan pills group, Xiao'er Biyan tablets high-dose, medium-dose and low-dose group. The young mice were randomly divided into the model group, Xinyi Biyan pills group, Xiao'er Biyan tablets high-dose, medium-dose and low-dose group. In addition to the blank control group, chronic rhinitis model of young rats was established by sulfur dioxide fumigation in all rats. Each dose group was given drug lavage. After 4 weeks, the effects of Xiao'er Biyan tablets on the pathological changes of nasal mucosa, carbon clearance rate and granuloma formation in young rats with chronic rhinitis were observed. **Results**: After being fumigated by sulfur dioxide, the mucosal epithelium of rats in the model group showed degeneration, vasodilatation and hyperemia, and the pathological damage of mucosa layer was severe. After administration, the degree of pathological damage of the nasal mucosa in Xiao'er Biyan tablets high-dose (1.32 g/kg) and medium-dose (0.66 g/kg) group decreased significantly compared with the model group, and the pathological grade was significantly different from the model group (P<0.05). The rate of carbon granular clearance in the mice with high-dose (1.98 g/kg), medium-dose (0.99 g/kg) and low-dose (0.50 g/kg) Xiao'er Biyan tablets was significantly higher than that of the model group, and the differences were statistically significant (P<0.05). Compared with the model group, the dry weight of cotton granuloma in Xiao'er Biyan tablets high-dose (1.32 g/kg), medium-dose (0.66 g/kg) and low-dose group (0.33 g/kg) decreased significantly, and the differences were statistically significant (P<0.05). **Conclusion**: Xiao'er Biyan tablets can significantly improve the chronic rhinitis induced by sulfur dioxide in young rats, and has a certain protective effect on the nasal mucosa. Meanwhile, it can inhibit the formation of cotton ball granuloma in rats to varying degrees and strengthen the reticuloendothelial in mice. The defensive capacity of the phagocytic system has a certain immune protection effect, which may be one of the mechanisms of treatment of chronic rhinitis.

[**Keywords**] Xiao'er Biyan tablets; chronic rhinitis; cotton ball granuloma; carbon clearance; young rats; young mice

随着人们生活环境和膳食结构的改变,慢性鼻炎已经成为临床耳鼻咽喉科十分常见的疾病之一。儿童时期机体各器官的形态发育和生理功能不完善,造成儿童抵抗力和对外界适应力较差,因此儿童更容易引发慢性

作者简介:靳冉(1982.08-),女,硕士,副研究员,主要从事中药新药药效及毒理学研究,E-mail:jr_sun82@tom.com。
通迅作者:陈加富(1968.09-),男,硕士,主管药师,主要从事中药研究管理工作,E-mail:chentiantian2001@163.com。

鼻炎。小儿慢性鼻炎以鼻塞、嗅觉失灵为特征,其症状主要是间歇性、交替性鼻阻塞,鼻涕增多,常流脓鼻涕[1]。现代医学对慢性鼻炎的治疗多采用抗生素、鼻内激素等局部对症治疗为主,但治疗效果欠佳[2]、门诊复诊率高,给患者日常生活带来很大的影响。临床应用中发现,小儿鼻炎片无论是在改善慢性鼻炎症状方面,还是在调节机体免疫力方面,均比西药有优势,且副作用小、使用方便、依从性好。本研究通过建立幼龄大鼠慢性鼻炎模型、幼龄大鼠棉球肉芽肿模型和幼龄小鼠碳粒廓清试验观察小儿鼻炎片对鼻炎的改善作用,并初步探讨其作用机制,为临床应用提供参考。

1　材料和方法

1.1　实验动物

SPF 级 SD 幼龄大鼠 72 只,雌雄各半,体质量 60 ~ 80 g;SPF 级 ICR 幼龄小鼠 60 只,雌雄各半,体质量 10 ~ 12 g;SPF 级 SD 幼龄大鼠 60 只,雄性,体质量 60 ~ 80 g。以上实验动物均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号 SCXK(京)2012-0001。动物饲养于 SPF 级动物室内,日光灯照明,12 h 明暗周期,自由饮水、饮食,温度 20 ~ 26 ℃,送风每小时 6 ~ 10 次,湿度 40% ~ 70%。

1.2　药物与试剂

小儿鼻炎片(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号 12121273);辛夷鼻炎丸(广州白云山中一药业有限公司,批号 T00048);醋酸地塞米松片(天津药业集团新郑股份有限公司,批号 140421);二氧化硫(SO_2)纯度≥99.9%(北京市北氧特种气体研究所有限公司);苯甲酸雌二醇(阿拉丁化学试剂公司,批号 45131)。印度墨汁(北京西中华工厂,批号 820501);肝素钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20090416);无水碳酸钠(分析纯,购自北京化工厂,批号 20100514)。

1.3　方法

1.3.1　剂量设置　小儿鼻炎片根据药品说明书进行剂量设定,以 10 岁儿童日用量为参考标准,即 5 片×2 次×0.3 g/片=3 g,小儿体质量计算公式[3]=年龄×2+8,10 岁儿童体质量=10×2+8=28 kg,即 3 g/28 kg=0.11 g/kg。人与大鼠换算系数为 6[4],则折算大鼠的灌服剂量 0.11 g/kg×6=0.66 g/kg,此临床等效剂量设为中剂量,以中剂量的 2 倍 1.32 g/kg 为高剂量,减半 0.33 g/kg 为低剂量,共设 3 个剂量组。人与小鼠换算系数为 9[4],则小鼠的灌胃剂量为 0.99 g/kg,此临床等效剂量设为中剂量,以 1.98 g/kg 为高剂量,减半 0.50 g/kg 为低剂量。

1.3.2　幼龄大鼠慢性鼻炎模型的建立与给药　72 只幼龄大鼠随机分为 6 组,分别为空白对照组、模型组、辛夷鼻炎丸组和小儿鼻炎片高(1.32 g/kg)、中(0.66 g/kg)、低(0.33 g/kg)剂量组,每组各 12 只。除空白对照组外,其余各组实验动物分别置于染毒箱中,通入 SO_2,使染毒箱中的气体浓度达 0.096 2 mol/m^3,染毒 5 min,每日 1 次,周日停,共染毒 4 周;当染毒进行到最后 1 周时,在染毒的同时肌肉注射苯甲酸雌二醇 2 mg/kg,1 次/天,共 7 d[5-6]。大鼠慢性鼻炎造模成功后,给药组连续灌胃给予相应受试药物,1 次/日,连续 10 d,空白对照组和模型组给予等体积蒸馏水。

1.3.3　慢性鼻炎幼龄大鼠的状态观察　模型大鼠 SO_2 染毒后,每日对动物的毛色、体质量、活动等一般状态进行观察。

1.3.4　慢性鼻炎幼龄大鼠鼻黏膜的病理观察　大鼠末次给药结束后 1 h,股动脉放血处死大鼠,断头,剔除头面部软组织,去除下颌骨,将剩余颅骨置于 4% 甲醛溶液中固定 24 h,然后放于 10% 乙二胺四乙酸二钠内脱钙,每 2 d 更换 1 次脱钙液,以大头针能刺入骨密质视为脱钙完全。去除鼻的前部和脑组织,保留鼻窦结构,对取材后的鼻窦结构依次梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋、前后冠状位连续切片,片厚 3 μm。石蜡包埋,苏木素-伊红染色制作 HE 切片,光镜下观察鼻黏膜的连续性、上皮细胞、杯状细胞、黏膜下腺体及黏膜与黏膜下层的充血水肿状况,评价药物对模型大鼠鼻黏膜病理组织学变化的影响。大鼠鼻黏膜的病理改变及炎细胞浸润情况评分标准见表 1。

表 1　大鼠鼻黏膜的病理改变及炎细胞浸润情况评分标准

项目	0 分	1 分	2 分	3 分	4 分
表现	正常	轻度组织水肿,但无嗜酸粒细胞浸润	水肿较严重,血管扩张,可见肥大细胞和嗜酸粒细胞在上皮下和血管周围浸润	水肿严重,血清渗出,动脉血管严重扩张,嗜酸粒细胞大量浸润	组织破坏严重,部分区域坏死,炎性细胞布满视野

1.3.5　幼龄小鼠碳粒廓清率的测定　60 只幼龄小鼠随机分为 5 组,分别为模型组、辛夷鼻炎丸组和小儿鼻炎片高(1.98 g/kg)、中(0.99 g/kg)、低(0.50 g/kg)剂量组,每组各 12 只,分别经口灌胃给予相应剂量的药物,模型组灌胃给予等体积的蒸馏水。按设定剂量灌胃给药,1 次/日,连续给药 5 d。于末次给药后 40 min,各组小鼠尾静脉注射稀释 10 倍的印度墨汁 0.1 mL/10 g,分别于注射后 2、10 min 用预先被肝素溶液湿润的采血管从眼眶后静脉丛取血 1 ~ 2 滴放置于载玻片上,立即用肝素钠预先湿润的枪头吸取 20 μL 血液,溶于 2 mL 0.1% Na_2CO_3 溶液中,枪头于该溶液中吸入、吹出数次,以充分洗出枪头内壁吸附的血液。摇匀后在波长 630 nm 处测定吸光度,最后将小鼠颈椎脱臼处死,分别称取肝脏、脾脏质量[7]。廓清指数与校正廓清指数(吞噬指

数)的计算公式分别为:廓清指数 $k=(lgA1-lgA2)/(t2-t1)$;校正廓清指数 $a=\sqrt[3]{k}\times$体质量/(肝脏质量+脾脏质量)。A1、A2 分别为在时间 t1、t2 时所取血样的吸光度;t2-t1 为取两血样的时间差。

1.3.6 幼龄大鼠棉球肉芽肿的测定 60 只幼龄雄性大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉,0.3 mL/100 g 体质量,每只大鼠左、右侧腹股沟部皮下各植入 20 mg 高压灭菌棉球(每个棉球加青霉素钠 1 mg/0.1 mL,60 ℃烘箱烤干)。术后随机分为 6 组,每组 10 只,分别为模型组、地塞米松组(1.2 mg/kg)、辛夷鼻炎丸组(灌服剂量 1.5 g/kg)和小儿鼻炎片高(1.32 g/kg)、中(0.66 g/kg)、低(0.33 g/kg)剂量组。手术次日起各组动物按相应剂量灌胃给药,连续 7 d,模型组给予等体积的蒸馏水。植入棉球后的大鼠于末次给药后 1 h,将棉球连同周围结缔组织一起取出,剔除脂肪组织,放 60 ℃烘箱中烘干 24 h,称重。肉芽肿重量=称得重量-棉球原重量[8]。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 13.0 软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。数据先进行方差齐性检验,方差齐选用 One-Way ANOVA LSD 法进行各组间比较;方差不齐选用独立样本 t' 检验进行组间比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性鼻炎幼龄大鼠一般情况观察

SO_2 熏蒸造模后,动物均见毛色发黄,鼻孔处有液体流出,体质量较正常组减轻,食欲降低,活动减少,精神略萎靡,大鼠常有搔鼻动作,表明慢性鼻炎造模成功。

2.2 慢性鼻炎幼龄大鼠鼻黏膜病理结果

空白组大鼠鼻黏膜上皮细胞完整无破坏,血管、腺体无充血水肿,未见炎细胞浸润,无异常表现;模型组大鼠鼻黏膜上皮变性、损伤、破坏,腺体水肿增生,血管扩张充血,黏膜层可见炎性细胞浸润,以嗜酸粒细胞为主。小儿鼻炎片高剂量组和中剂量组大鼠鼻腔黏膜病理损伤积分与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2、图 1。

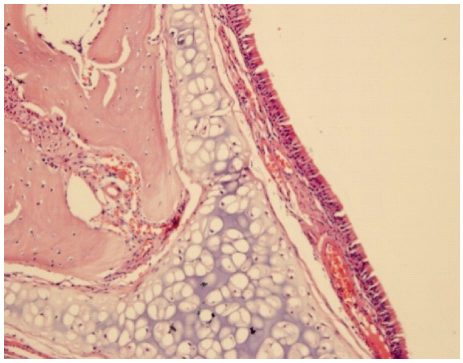
表 2 小儿鼻炎片对慢性鼻炎动物黏膜损伤病理积分的影响

组别	只数	剂量/(g/kg)	病理积分
空白组	12	-	0.25±0.62**
模型组	12	-	2.50±1.17
辛夷鼻炎丸组	11	1.50	1.36±1.03*
小儿鼻炎片高剂量组	12	1.32	1.58±0.90**
小儿鼻炎片中剂量组	12	0.66	1.58±0.79*
小儿鼻炎片低剂量组	12	0.33	2.33±0.89

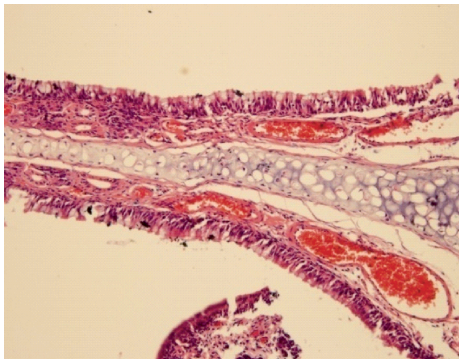
注:* 与模型组比较,$P<0.05$;** 与模型组比较,$P<0.01$

2.3 幼龄小鼠碳粒廓清指数测定结果

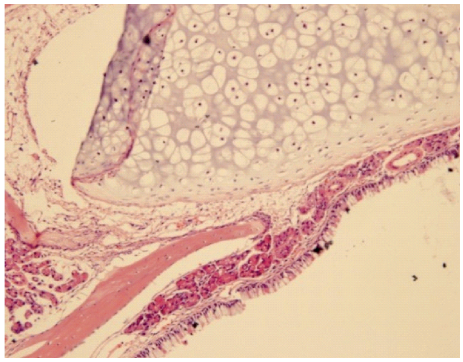
与模型组比较,小儿鼻炎片高、中、低各剂量组均可显著提高小鼠碳粒廓清能力,其碳粒廓清指数 k 高于模型组($P<0.05$)。小儿鼻炎片各剂量组的矫正廓清指数与模型组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。



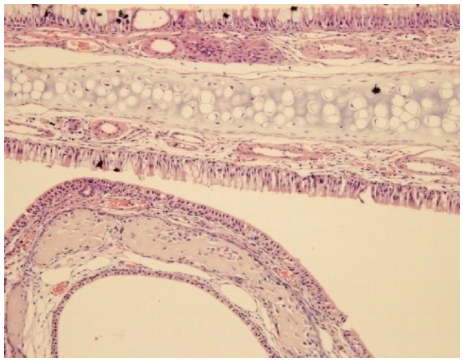
正常对照组



模型组



小儿鼻炎片高剂量组



小儿鼻炎片中剂量组

图 1 各组幼龄大鼠鼻黏膜组织病理形态(HE 染色,×200)

2.4 幼龄大鼠棉球肉芽肿观察结果

小儿鼻炎片高、中、低剂量组均可不同程度地抑制大鼠棉球肉芽肿的形成,其质量与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),见表 4。

表 3　小儿鼻炎片对小鼠碳粒廓清指数的影响

组别	只数	剂量/(g/kg)	廓清指数/k	吞噬指数/a
模型组	11	-	0.041 8±0.018 2	6.654±0.705
辛夷鼻炎丸组	10	2.25	0.052 2±0.013 0*	7.239±1.131
小儿鼻炎片高剂量组	12	1.98	0.051 6±0.009 0*	7.357±0.624*
小儿鼻炎片中剂量组	10	0.99	0.058 0±0.005 3**	7.651±0.617**
小儿鼻炎片低剂量组	11	0.50	0.056 1±0.007 9**	7.643±0.569**

注：*与模型组比较，$P<0.05$；**与模型组比较，$P<0.01$

表 4　小儿鼻炎片对大鼠棉球肉芽肿形成的影响

组别	只数	剂量/(g/kg)	棉球肉芽肿干重/mg
模型组	10	-	46.7±19.4
地塞米松组	10	0.0012	16.8±4.0**
辛夷鼻炎丸组	9	1.50	28.9±11.9**
小儿鼻炎片高剂量组	10	1.32	26.2±6.6**
小儿鼻炎片中剂量组	10	0.66	27.0±5.4**
小儿鼻炎片低剂量组	9	0.33	32.7±5.3*

注：*与模型组比较，$P<0.01$；**与模型组比较，$P<0.01$

3　讨论

儿童慢性鼻炎为耳鼻喉科常见病和多发病，是鼻黏膜及黏膜下层的慢性炎症病变，该病治疗方法较多，但疗效均不满意，复发率高[9]。儿童慢性单纯性鼻炎多为急性鼻炎延误治疗所致，因长期嗅觉减退，间歇性鼻塞流涕，常致食欲不振、头晕、免疫功能下降、睡眠质量差、情绪不稳等，若未采取有效方案治疗，预后欠佳[10]。临床上主要以药物冲洗、口服用药进行治疗[11-12]，但儿童由于年龄较小，对于鼻腔冲洗的治疗配合度不高，且长期采用鼻腔冲洗治疗，对于患儿鼻腔、黏膜的影响较大，无法从整体上改善患者的治疗效果。局部西药治疗多采取血管收缩剂，为治标之法，效果有限，且长期应用，可诱导药物性鼻炎的发生[13]。

中医临床将儿童慢性单纯性鼻炎作为肺脾气虚证研究和治疗。中医认为儿童慢性单纯性鼻炎患儿的疾病特点在于气滞血瘀、虚实夹杂[14]，在治疗过程中应依据病因、病机实施辨证论治，治以宣肺通窍、清热散邪，同时提高机体的免疫力为主。小儿鼻炎片由藁本、防风、白芷、苍耳子等组成，其功效为散风、清热，临床用于治疗小儿慢性鼻炎，效果显著。方中苍耳子温和疏达，味辛散风，善通鼻窍以除鼻塞；白芷味辛祛风，温通燥湿，可宣利肺气，升阳明清气，通鼻窍而止痛。两药配伍散风邪、升清阳、化湿浊、通鼻窍，共为君药。其余诸药合用，共奏散风清热、通窍止痒之功。幼龄大鼠经 SO_2 造模后，鼻腔黏膜肿胀，分泌物增多，鼻黏膜上皮出现变性，血管扩张充血，黏膜层病理损伤较重，与慢性鼻炎临床表现较为接近。本研究结果显示，小儿鼻炎片可改善 SO_2 造模幼龄大鼠鼻腔黏膜的肿胀程度，对鼻黏膜组织的病理学改变有较好的保护作用；对幼龄大鼠棉球肉芽肿增生慢性炎症反应有较好的改善作用，在非特异性慢性炎症的发展和增生过程有一定的抑制作用。

网状内皮吞噬系统（单核巨噬细胞系统）是机体内最重要的防御系统，它具有强大而迅速的吞噬廓清异物颗粒或某些可溶性异物的能力，并能迅速清除体内产生的某些有害物质，是保持机体内环境稳定的最重要的系统之一[15]。丁锋等[16]发现，中药复方可通过抗变态反应和调节免疫力作用进一步改善患儿慢性鼻炎的临床症状。本实验结果显示，小儿鼻炎片可增强幼龄小鼠网状内皮吞噬系统的防御能力；在非特异性细胞免疫方面，能提高碳粒廓清能力。

综上所述，小儿鼻炎片对 SO_2 慢性鼻炎模型幼龄大鼠的慢性鼻炎具有较好的治疗作用，对非特异性慢性炎症反应的抑制作用可能是其治疗慢性鼻炎的主要机制，其免疫保护作用亦可在一定程度上提高药物的疗效，但其具体作用机制有待深入研究。

参考文献：

[1] 付杰娜，张卫丹，李华. 针刺联合推拿治疗小儿慢性鼻炎 20 例[J]. 中医研究，2015，28(8)：52-53.

[2] 陈少茹，王挥戈. 鼻渊舒加强力稀化粘素治疗儿童慢性鼻窦炎[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志，2005，13(4)：206-208.

[3] 田莉莉. 小儿药物治疗的特点[J]. 中国药物应用与监测，2006，3(3)：51-53.

[4] 徐淑云，卞如濂，陈修. 药理实验方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，2005：203.

[5] 杨聪娴，李振华，史雪，等. 应用 NO_2 和雌激素建立慢性鼻炎动物模型[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报，2005，19(6)：364-367.

[6] 谢庆凤，赖平，黎玉翠，等. 清开消炎方及其组方药物对慢性鼻炎大鼠的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2012，18(1)：149-153.

[7] 汪明德，许浩，姜萍，等. 盆宁颗粒免疫调节作用的实验研究[J]. 中国中医药科技，2009，16(4)：306-307.

[8] 杨清，李建荣，姜孝芳，等. 辛芷鼻敏胶囊对变应性鼻炎大鼠的药效学实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2009，15(6)：66-68.

[9] 林淑平. 鼻渊舒口服液雾化吸入治疗儿童慢性鼻炎疗效观察[J]. 儿科药学杂志，2006，12(2)：51-52.

[10] 王军仓. 乌梅苍耳子散加减治疗小儿过敏性鼻炎 40 例[J]. 中医研究，2012，2(7)：21-23.

[11] 杜毅，麻瑞平，孟凡红. 苍耳子药用研究进展[J]. 光明中医，2015，22(12)：2692-2694.

[12] 徐昂，丛品. 丛品治疗儿童鼻窦炎经验[J]. 浙江中医杂志，2016，23(1)：24-25.

[13] 王亚芳，李建红，崔莉. 声反射鼻腔测量在儿童慢性鼻炎诊断中的价值[J]. 河北医药，2009，31(3)：318.

[14] 汪满霞，袁青，杨益宗，等. 针灸配合经络注血疗法治疗过敏性鼻炎 36 例临床研究[J]. 亚太传统医药，2016，12(6)：129-130.

[15] 钟海雁，敖常伟，李忠海. 松乳菇多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中南林学院学报，2006，26(4)：52-55.

[16] 丁锋，王然然，徐宝丽，等. 糠酸莫米松鼻喷雾剂联合鼻渊通窍颗粒治疗儿童腺样体肥大疗效观察[J]. 儿科药学杂志，2019，25(1)：23-26.

（编辑：曾敏莉）

（收稿日期：2018-12-27　修回日期：2019-03-27）