

## 变应性鼻炎屋尘螨特异性皮下免疫治疗 小鼠模型的构建及评价

李佳颖<sup>▲</sup> 郑耀明<sup>▲</sup> 周纯 陈柏文 李华斌 娄鸿飞<sup>△</sup>

(复旦大学附属眼耳鼻喉科医院耳鼻喉科 上海 200031)

**【摘要】** 目的 建立变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)屋尘螨(house dust mite, HDM)特异性皮下免疫治疗小鼠模型,并评价其疗效。方法 将30只雌性C57小鼠随机分为对照组、变应性鼻炎组(AR组)和免疫治疗组(AIT组),每组10只。小鼠在HDM致敏后,AR组每天经鼻滴HDM进行鼻部激发,AIT组小鼠在激发前于侧背部皮下注射HDM进行免疫治疗。评估小鼠体质量、鼻部症状、鼻部和肺部炎症状态;取肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)进行细胞分类计数;检测血清HDM特异性免疫球蛋白E(HDM specific immunoglobulin E, HDM-sIgE), IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和干扰素- $\gamma$ (interferon-gamma, IFN- $\gamma$ )水平,并进行组间比较。结果 与对照组小鼠比较,AR组小鼠体质量减轻,抓挠鼻及喷嚏症状加重,鼻黏膜上皮层增厚,鼻部杯状细胞及嗜酸性粒细胞增加,肺部炎症细胞和杯状细胞增加,BALF中总细胞数、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数量增多,血清HDM-sIgE、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 升高,差异均有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。与AR组小鼠比较,经AIT治疗后的小鼠体质量增加,鼻部症状缓解,鼻黏膜上皮层厚度降低,鼻部杯状细胞及嗜酸性粒细胞减少,肺部炎症细胞浸润和杯状细胞化生明显减轻,BALF中总细胞数、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数量明显减少,血清IL-4、IL-5、IL-6、IL-10明显降低,IFN- $\gamma$ 明显升高,差异均有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。结论 对HDM特异性AR小鼠进行侧背部皮下注射HDM,免疫治疗效果良好。该方法操作简单,周期短,可作为研究HDM特异性免疫治疗的AR动物模型。

**【关键词】** 变应性鼻炎(AR); 屋尘螨; 免疫治疗; 皮下注射; 免疫球蛋白E(IgE); 小鼠

**【中图分类号】** R765.21 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2026.02.002

## Establishment and evaluation of a house dust mite-specific subcutaneous immunotherapy mouse model for allergic rhinitis

LI Jia-ying<sup>▲</sup>, ZHENG Yao-ming<sup>▲</sup>, ZHOU Chun, CHEN Bai-wen, LI Hua-bin, LOU Hong-fei<sup>△</sup>

(Department of Otorhinolaryngology, Eye and ENT Hospital, Fudan University, Shanghai 200031, China)

**【Abstract】** **Objective** To establish and evaluate a house dust mite (HDM) -specific subcutaneous allergen immunotherapy (AIT) mouse model for allergic rhinitis (AR). **Methods** Thirty female C57 mice were randomly divided into control group, AR group and AIT group, with 10 mice in each group. In AR group, mice were sensitized with HDM, followed by nasal challenge with HDM. Mice in the AIT group received HDM sensitization, followed by subcutaneous injection of HDM on the lateral back as immunotherapy, and then received nasal challenge with HDM. Body weight, nasal symptoms, inflammation status of nasal and lung tissue, the number of total cells, eosinophils, neutrophils, lymphocytes and macrophages in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), serum HDM-sIgE, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  levels among three groups of mice were measured and compared. **Results**

国家自然科学基金(82271139, 82271138, 82371827, 82521001)

<sup>▲</sup>LI Jia-ying and ZHENG Yao-ming contributed equally to this work

<sup>△</sup>Corresponding author E-mail: allergy1hf@163.com

网络首发时间:2026-02-04 11:03:48 网络首发地址:https://link.cnki.net/urlid/31.1885.R.20260203.2245.003

Compared with control group, AR group showed significant weight loss, worsening of nasal scratching and sneezing symptoms, thickening of nasal mucosa, significant increase in nasal goblet cells and eosinophils, obvious increase in pulmonary inflammatory cells and goblet cells, and significant increase in total cells, eosinophils, neutrophils, and lymphocytes in BALF (all  $P < 0.05$ ). Serum HDM-sIgE, IL4, IL5, IL6, IL10 AND IFN- $\gamma$  levels were significantly elevated (all  $P < 0.05$ ). Moreover, compared with AR group, AIT group showed significant weight gain, relief of AR symptoms, reduction in nasal mucosa thickness, decrease in nasal goblet cells and eosinophils, significant reduction in pulmonary inflammatory cell infiltration and goblet cell metaplasia, significant reduction in total cells, eosinophils, neutrophils, and lymphocytes in BALF, significant decrease in serum IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10, and significantly elevated serum IFN- $\gamma$  level (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Establishment of the mouse model for HDM-specific subcutaneous immunotherapy in AR was successful, it can be used as an efficient, convenient and feasible animal model to further explore immunotherapy.

**【Key words】** allergic rhinitis (AR); house dust mite; immunotherapy; subcutaneous injection; immunoglobulin E (IgE); mouse

\* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82271139, 82271138, 82371827, 82521001).

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是特应性个体接触过敏原后,由免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)介导的鼻黏膜慢性炎症,以鼻痒、发作性喷嚏、清水样涕和鼻塞为主要临床表现<sup>[1-2]</sup>。AR影响全球10%~40%的成年人和2%~25%的儿童,对患者社会生活、学习和工作产生不利影响<sup>[2]</sup>。近年来AR患病率逐年增高,我国成年人群AR患病率从2005年的11.1%上升到了2011年的17.6%<sup>[2-4]</sup>。过敏原特异性免疫治疗(allergen immunotherapy, AIT)是公认的AR对因治疗方式,可以预防变应性疾病继续进展,改变疾病进程<sup>[5]</sup>。然而,AIT治疗周期较长,有出现局部或全身不良反应的可能,且不同患者间疗效差异大,因此对AIT机制和疗效预测指标的研究仍在不断深化<sup>[6]</sup>。

动物模型在研究疾病机制中起着重要作用。既往报道中,Zhu等<sup>[7]</sup>用屋尘螨(house dust mite, HDM)进行小鼠颈背部皮下免疫治疗,总造模时间为49天;赵振安等<sup>[8]</sup>用卵清蛋白(ovalbumins, OVA)进行小鼠腹股沟皮下免疫治疗,总造模时间为62天。虽然其免疫治疗效果尚可,但是造模时间较长。本研究拟建立新的HDM侧背部皮下注射特异性免疫治疗的小鼠模型,缩短造模时间,并评估该造模方法的可行性和有效性。

## 材料和方法

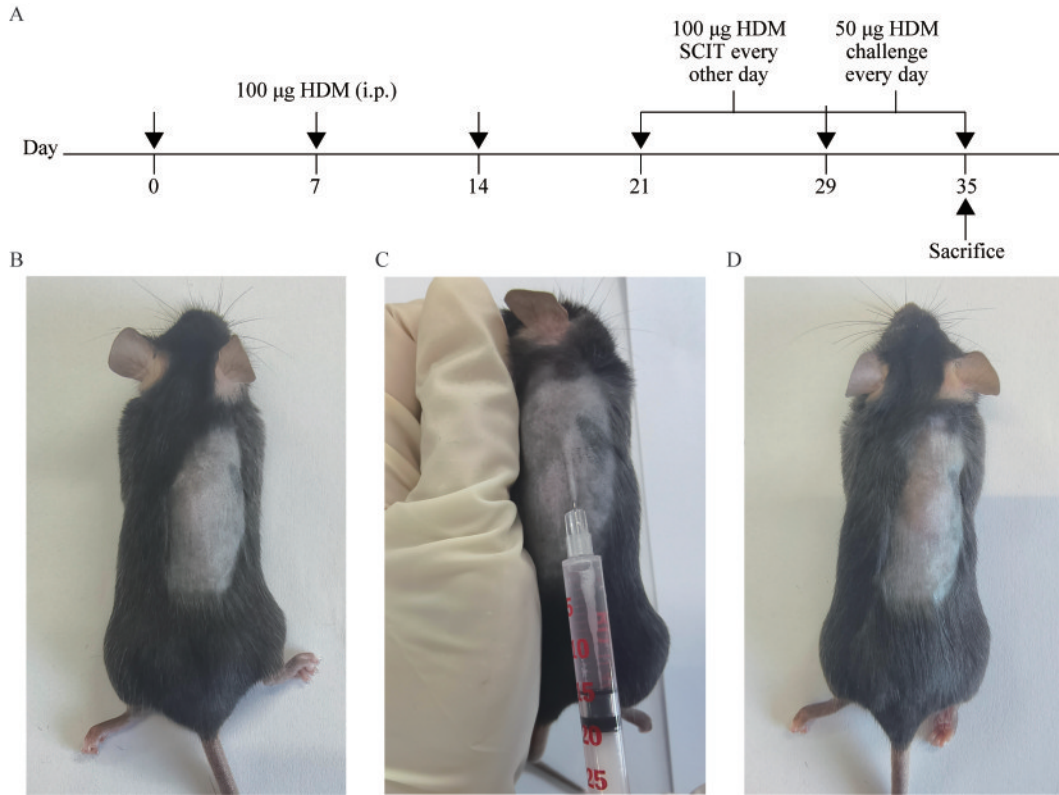
**实验试剂和动物** HDM购自美国Greer labs

公司;氢氧化铝凝胶购自美国Thermo公司;小鼠IL4、IL5、IL6、IL10、IFN- $\gamma$  ELISA试剂盒购自杭州联科生物技术有限公司;山羊抗小鼠IgE-HRP购自美国Southernbiotech公司;TMB显色液和TMB显色终止液购自上海碧云天生物技术股份有限公司;嗜酸性粒细胞染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。30只清洁级6~8周龄的C57雌性小鼠购自上海灵畅生物科技有限公司。本研究所有动物实验均获得复旦大学附属眼耳鼻喉科医院伦理委员会批准(批准号:2022154-1)。

**建立动物模型** 将小鼠通过简单随机化法分为对照组、AR组和AIT组,每组10只(图1A)。(1)致敏阶段:AR组和AIT组每只小鼠给予100  $\mu\text{g}$  (1 mg/mL) HDM+2 mg (40 mg/mL)氢氧化铝凝胶,用PBS配成150  $\mu\text{L}$ ,分别在0、7、14天进行腹腔注射,对照组用等体积PBS进行腹腔注射。(2)皮下免疫治疗阶段:第21~29天,隔天一次进行皮下免疫治疗,AIT组每只小鼠给予100  $\mu\text{g}$  (1 mg/mL) HDM,溶于100  $\mu\text{L}$  PBS进行侧背部皮下注射,对照组和AR组每只小鼠皮下注射等体积的PBS。(3)激发阶段:第29~35天,每天一次进行滴鼻激发,AR组和AIT组每只小鼠给予50  $\mu\text{g}$  (1.25 mg/mL) HDM,进行双侧鼻腔滴鼻激发,对照组用等体积PBS进行双侧鼻腔滴鼻。(4)侧背部皮下注射方法:将小鼠侧背部毛发清除,暴露皮肤,约30°角进针,将针头推至皮下后进行推注,进针后针头可轻松地左

右摆动,说明针头在皮下,注射处的局部隆起在注射后 1 min 内基本消失(图 1B~D)。每周对小鼠进

行称重。在第 29、32、34 天,小鼠进行鼻腔激发后 5 min 内,记录每只小鼠挠鼻和喷嚏次数。



A: Schematic representation of AIT mouse modeling; B-D: Subcutaneous injection process on the lateral back of mice. AIT: Allergen immunotherapy; HDM: House dust mite; SCIT: Subcutaneous immunotherapy.

图 1 AIT 小鼠动物模型示意图

Fig 1 Schematic representation of AIT mouse modeling

**标本采集** 在第 35 天,鼻腔激发后 3 h 处死小鼠,收样取材。小鼠麻醉后经眼眶静脉丛采血,血液于室温静置 2~3 h,随后室温条件下 2 000 r/min (离心半径 106 mm)离心 10 min,取上清。小鼠处死后进行肺部灌洗,每只小鼠用 2 mL PBS 灌洗 3 次,肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)于 4 °C 条件下 800×g 离心 10 min,细胞沉淀用 1 mL PBS 重悬后,取 50 µL 于 700 r/min (离心半径 178 mm)离心 3 min,进行甩片。甩片晾干后于 4% 多聚甲醛固定 15 min,进行苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色。肺部灌洗后取肺部组织固定于 4% 多聚甲醛,4 °C、48 h,石蜡包埋,切片,进行 HE 染色和过碘酸雪夫氏染色(periodic acid-shiff staining, PAS)。取小鼠鼻部组织固定于 4% 多聚甲醛,4 °C、48 h,进行脱钙处理后,石蜡包埋,切片,进行 HE 染色, PAS 染色和嗜酸性粒细胞(eosinophil staining, EOS)染色。

**标本检测**

**组织学检查** HE 染色镜下观察小鼠鼻黏膜上皮层厚度及组织学形态、肺部炎症细胞浸润情况及 BALF 白细胞总数及分类情况。PAS 染色镜下观察小鼠鼻部及肺部气道杯状细胞化生情况。EOS 染色镜下观察小鼠鼻部嗜酸性粒细胞浸润情况。经 EOS 染色(天狼星红法)后,细胞核呈蓝色,嗜酸性粒细胞胞质中的嗜酸性颗粒呈明显的红色,其他细胞胞质呈粉色,便于区分嗜酸性粒细胞并进行计数。对小鼠鼻部、肺部及 BALF 染色切片或甩片分别选取 3 个高倍镜(×400 倍)视野,对杯状细胞、炎症细胞、嗜酸性粒细胞或各类白细胞进行计数或评分。

**血清特异性 HDM-sIgE 测定** 用稀释的 HDM 包被 96 孔酶标板,每孔 100 µL, HDM 终浓度为 7.5 µg/mL,封板胶封板,4 °C 放置过夜。用含 0.05% 吐温-20 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered

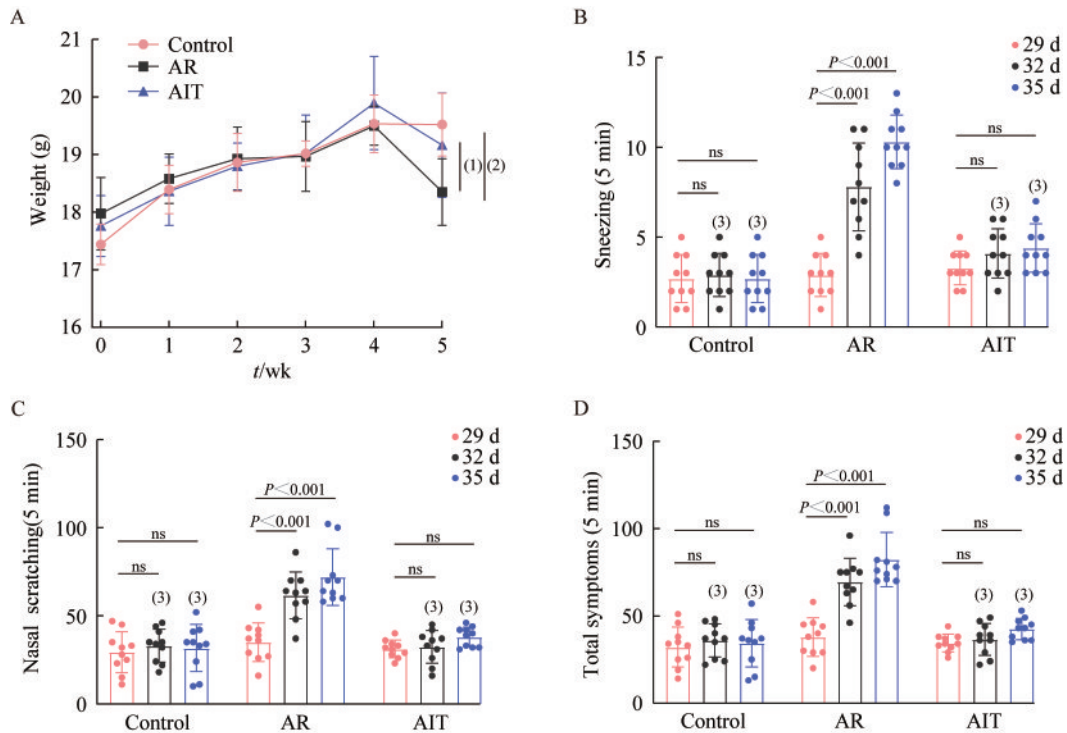
saline with Tween 20, PBST)洗板5次后,用含5%脱脂蛋白的PBST溶液,每孔200  $\mu\text{L}$ 封闭特异性结合位点,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。PBST洗板5次后,加入按梯度稀释好的待测血清,每孔100  $\mu\text{L}$ ,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h;PBST洗板5次后,加入按说明书建议浓度稀释好的山羊抗小鼠IgE-HRP,每孔100  $\mu\text{L}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。PBST洗板7次后加入TMB显色液,每孔50  $\mu\text{L}$ ,室温避光孵育5~15min后,加入TMB显色终止液,每孔50  $\mu\text{L}$ ,终止反应。全自动酶标仪在450 nm和570 nm波长下测定吸光度值(D值)。

血清IL4、IL5、IL6、IL10、IFN- $\gamma$ 水平测定根据ELISA试剂盒说明书进行操作。

**统计学分析** 用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析。3组均数比较采用单因素ANOVA检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 小鼠体质量变化及症状评估 造模期间所有



A: Weight changes weekly; B-D: Number of sneeze, rubbing and total symptoms. AR: Allergic rhinitis; AIT: Allergen immunotherapy. ns: Not significant. vs. AR group in the same day, <sup>(1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>(2)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(3)</sup> $P < 0.001$ .

### 图2 AIT减轻HDM诱导的体质量下降及鼻部症状

Fig 2 AIT attenuated HDM-induced body weight loss and AR symptoms in mice

**组织病理学改变** 小鼠鼻黏膜组织切片分别经HE染色、PAS染色和EOS染色后,观察鼻黏膜

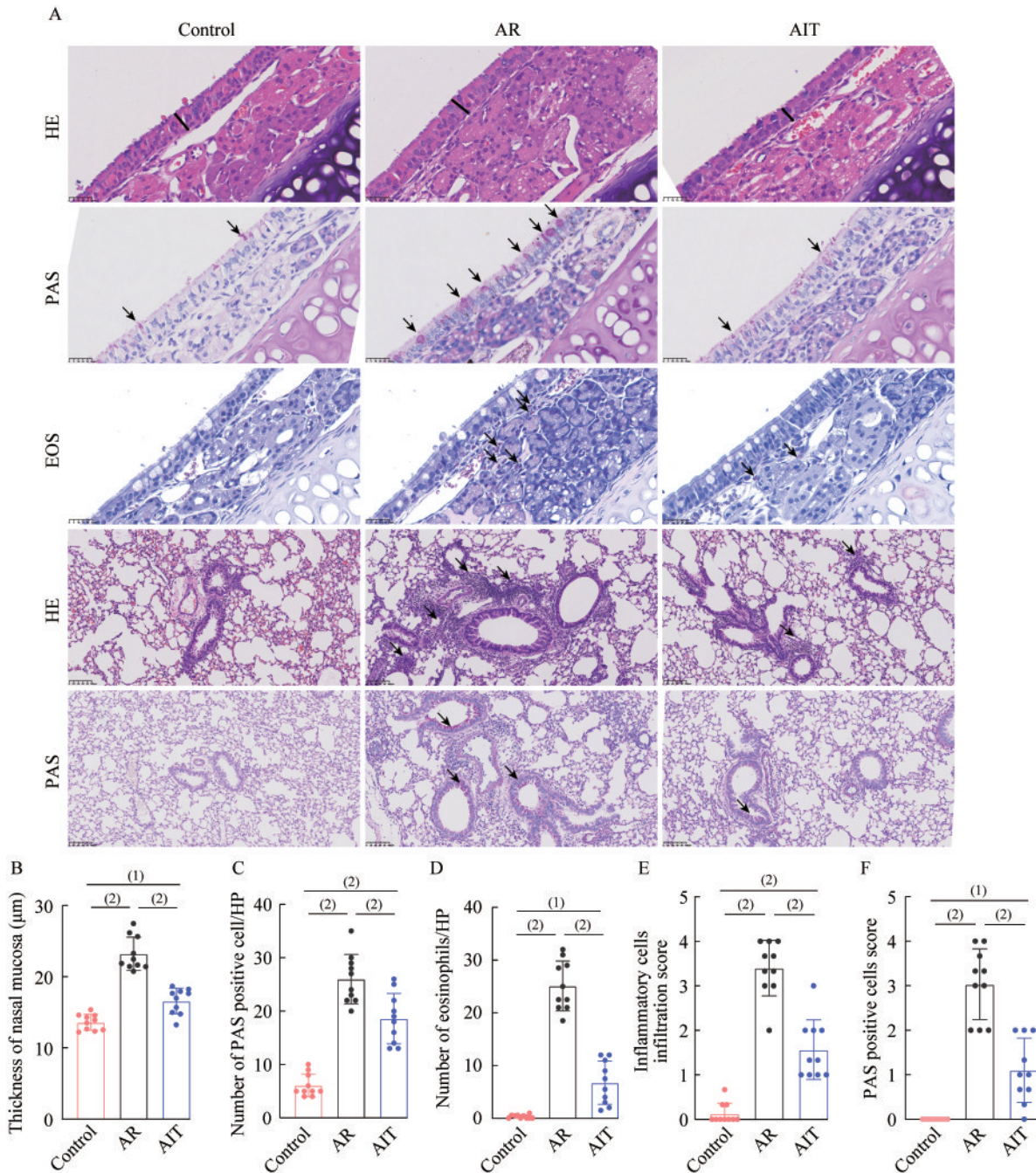
小鼠状态良好,无一死亡。小鼠侧背部进行皮下注射处未见明显红肿、硬结等局部过敏反应。

每周对小鼠进行称重。0~4周时3组小鼠间体质量无明显差异;在第5周鼻腔激发后,AR组较对照组小鼠体质量明显减轻( $F=7.425, P=0.001$ ),AIT组相较AR组体质量明显增加( $F=7.425, P=0.014$ )(图2A);在第29、32、34天,经鼻激发后5 min内观察小鼠喷嚏和挠鼻的症状。在鼻腔激发进程中,AR组小鼠鼻部症状逐渐加重。与第29天相比,AR组小鼠第32天和第34天喷嚏、挠鼻和鼻部总症状明显增加( $F_{\text{喷嚏}}=44.179, F_{\text{挠鼻}}=19.802, F_{\text{鼻部症状}}=28.724, P$ 均 $<0.001$ ),对照组和AIT组小鼠在激发过程中鼻部症状无明显加重;在第32和34天经鼻腔激发后,与AIT组和对照组小鼠相比,AR组小鼠出现频发喷嚏及剧烈挠鼻的症状( $F_{\text{喷嚏}_{32\text{d}}}=21.119, F_{\text{挠鼻}_{32\text{d}}}=23.976, F_{\text{鼻部症状}_{32\text{d}}}=30.744, F_{\text{喷嚏}_{34\text{d}}}=81.667, F_{\text{挠鼻}_{34\text{d}}}=30.174, F_{\text{鼻部症状}_{34\text{d}}}=42.736, P$ 均 $<0.001$ )(图2B~D)。

组织形态学改变。镜下见AR组鼻黏膜上皮明显增生,杯状细胞化生,大量嗜酸性粒细胞浸润;AIT组

鼻黏膜组织形态学改变较AR组轻(图3A)。与对照组相比,AR组小鼠鼻黏膜上皮层厚度明显增加,杯状细胞和嗜酸性粒细胞数量明显增多( $F$ 值分别为51.274, 48.157, 97.188,  $P$ 均 $<0.001$ );经AIT治

疗后,小鼠鼻黏膜上皮层厚度较AR组明显降低,鼻黏膜杯状细胞和嗜酸性粒细胞数量亦较AR组明显减少( $F$ 值分别为51.274, 48.157, 97.188,  $P$ 均 $<0.001$ )(图3B~D)。



A: Morphology of nasal mucosa thickness, goblet cell metaplasia and eosinophil infiltration with HE, PAS and EOS staining ( $\times 800$ ); B: Thickness of the nasal mucosa in mice; C: Number of goblet cell in mice; D: Number of eosinophils in nasal mucosa; E: Inflammatory cells infiltration score in lung; F: Goblet cells metaplastic score in lung. AR: Allergic rhinitis; AIT: Allergen immunotherapy; HE: Hematoxylin-eosin staining; PAS: Periodic acid-shiff staining; EOS: Eosinophil staining. <sup>(1)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(2)</sup> $P < 0.001$ .

图3 AIT减轻HDM诱导的小鼠气道炎症和黏液分泌

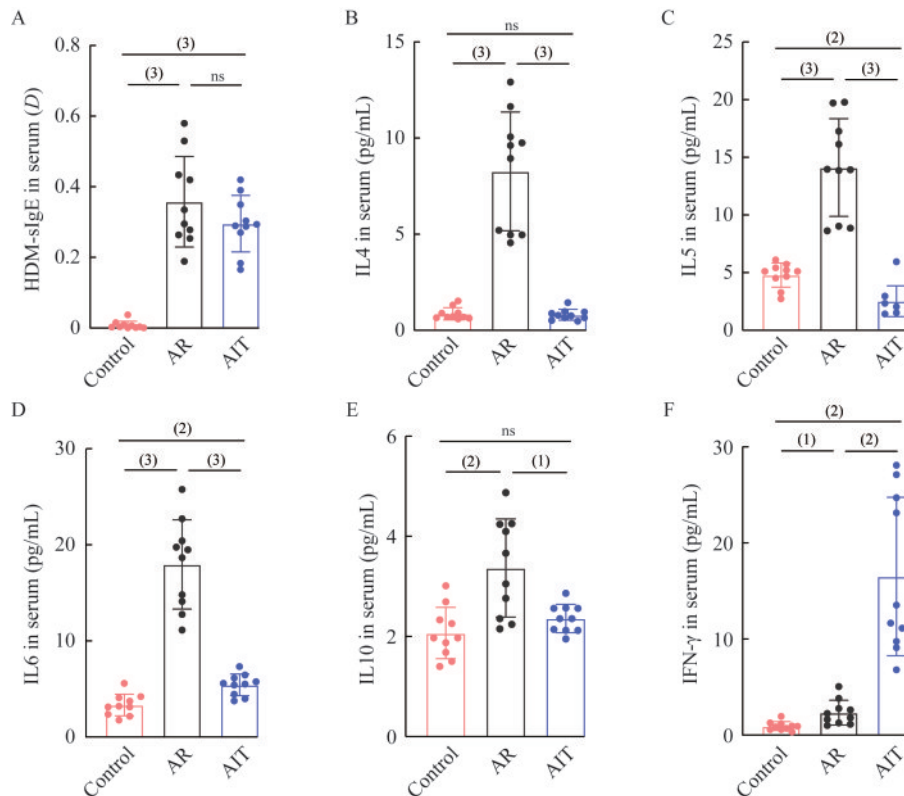
Fig 3 AIT attenuated HDM-induced airway inflammation and mucus secretion in mice

肺组织切片经HE和PAS染色后观察其形态学改变。AR组肺泡隔增厚、断裂,管壁平滑肌增厚,肺泡隔和支气管、血管周围炎症细胞浸润严重;AIT组肺泡隔轻度增宽,肺泡隔和支气管旁少量炎症细胞浸润(图3A)。相较于对照组,AR组小鼠肺部炎症细胞和杯状细胞数量明显增加( $F$ 值分别为90.362,61.616, $P$ 均 $<0.001$ );AIT组相较于AR组肺部炎症细胞和杯状细胞数量明显减少( $F$ 值分别为90.362,61.616, $P$ 均 $<0.001$ )(图3E、3F)。

#### 血清特异性HDM-sIgE及细胞因子水平测定

相较于对照组,AR组小鼠血清HDM-sIgE明显升高( $F=45.485, P<0.001$ );经AIT治疗后,小鼠血清

HDM-sIgE有下降趋势,但差异无统计学意义(图4A)。相较于对照组,AR组小鼠血清IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 水平升高( $F$ 值分别为56.955,54.333,77.843,10.707,31.745, $P_{IL-4}<0.001, P_{IL-5}<0.001, P_{IL-6}<0.001, P_{IL-10}=0.007, P_{IFN-\gamma}=0.023$ )。与AR组相比,AIT组血清IL-4、IL-5、IL-6、IL-10显著下降( $F$ 值分别为56.955,54.333,77.843,10.707, $P_{IL-4}<0.001, P_{IL-5}<0.001, P_{IL-6}<0.001, P_{IL-10}=0.03$ ),IFN- $\gamma$ 水平明显升高( $F=31.745, P=0.001$ )。AIT组血清IL-5、IL-6、IFN- $\gamma$ 水平高于对照组,差异有统计学意义( $F$ 值分别为54.333,77.843,31.745, $P_{IL-5}=0.002, P_{IL-6}=0.002, P_{IFN-\gamma}=0.001$ )(图4B~F)。



A: OD value of specific HDM-sIgE in mouse serum; B-F: Concentration of IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$  in mouse serum. AR: Allergic rhinitis; AIT: Allergen immunotherapy; ns: Not significant. <sup>(1)</sup> $P<0.05$ , <sup>(2)</sup> $P<0.01$ , <sup>(3)</sup> $P<0.001$ .

#### 图4 AIT改变了AR小鼠血清HDM-sIgE、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 水平

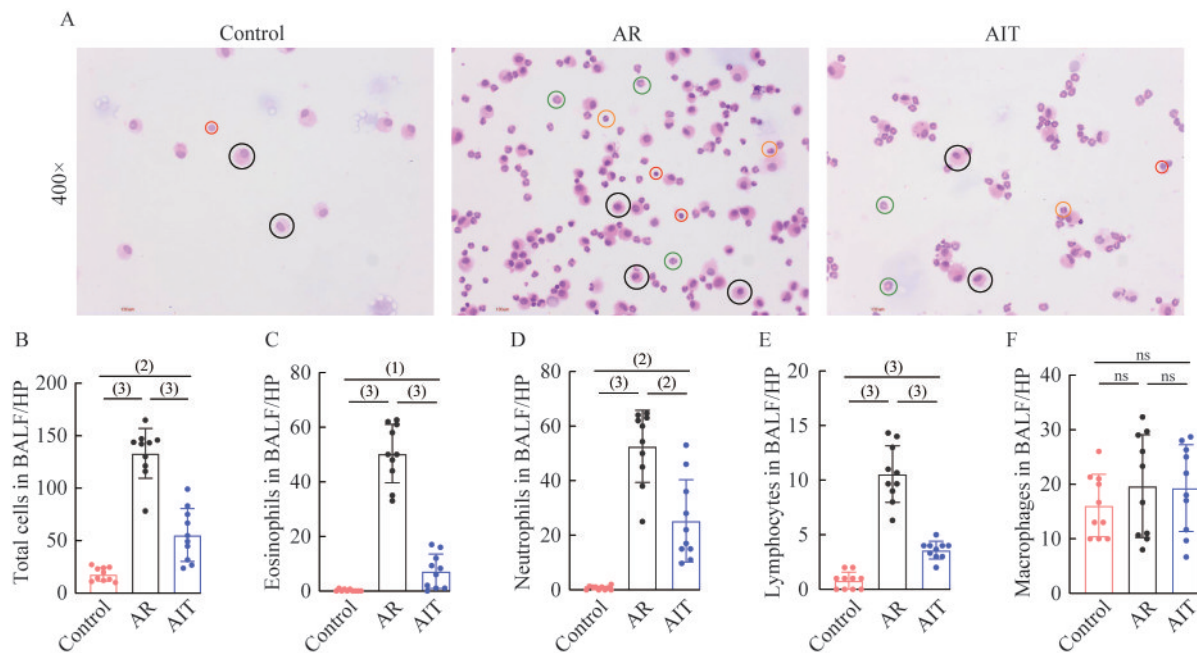
Fig 4 AIT changed the secretion of HDM-sIgE, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$  in the serum of AR mice

**BALF炎症细胞浸润变化** BALF细胞甩片HE染色后在镜下观察其中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的数量(图5A)。AR组小鼠BALF中的总细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数量均显著多于AIT组和对照组( $F$ 值分别为83.573,141.786,50.107,94.545, $P_{total-AIT}<0.001, P_{eos-AIT}<0.001, P_{neut-AIT}=0.001, P_{lym-AIT}<0.001, P_{total-Control}$

$<0.001, P_{eos-Control}<0.001, P_{neut-Control}<0.001, P_{lym-Control}<0.001$ ),而巨噬细胞无明显差异(图5B~F)。

## 讨 论

AR作为我国六大慢性疾病之一,严重影响了患者生活质量,并造成了沉重的社会经济负担。



A: Morphology of eosinophils (yellow circle), neutrophils (green circle), lymphocytes (red circle) and macrophages (black circle) with HE staining in BALF; B-F: Number of total cell, eosinophil, neutrophil, lymphocyte and macrophage in BALF. AR: Allergic rhinitis; AIT: Allergen immunotherapy; HE: Hematoxylin-eosin staining; ns: Not significant. <sup>(1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>(2)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(3)</sup> $P < 0.001$ .

#### 图5 AIT减轻了AR小鼠BALF中炎症细胞浸润

Fig 5 AIT attenuated inflammatory cells infiltration in BALF of AR mice

AR的规范化治疗包括环境控制、抗过敏药物治疗、特异性免疫治疗和健康教育<sup>[9]</sup>。尽管避免接触过敏原,使用口服抗组胺药和鼻用激素对患者日常的症状控制十分重要,但是此类治疗方法并不能改变变应性疾病的自然进程或预防新发致敏的出现<sup>[10-11]</sup>。AIT作为唯一可能根治AR的对因治疗方法,能够减少药物使用剂量,预防AR进一步发展成哮喘,且在治疗终止后其疗效至少会持续数年<sup>[12]</sup>。AIT包括皮下免疫治疗(subcutaneous immunotherapy, SCIT)和舌下免疫治疗(sublingual immunotherapy, SLIT),疗程较长,通常至少需要3年的治疗周期,期间可能出现不良反应,而且不是所有患者都能获得预期的疗效,因此部分患者不能完成治疗全程<sup>[5]</sup>。

在临床实际应用中,HDM-SCIT和HDM-SLIT是最常用于变应性疾病如AR和哮喘的特异性免疫治疗之一,可以有效改善AR和哮喘的长期控制效果,并降低哮喘发作的风险<sup>[13]</sup>。动物模型是研究AR和AIT的重要工具,目前应用最广泛的动物模型是OVA致敏的AR小鼠模型。另一方面,尘螨作为AR患者的主要过敏原,HDM致敏的AR小鼠模型也常用于研究<sup>[14-16]</sup>。常用的AIT动物模型包括OVA-SCIT和OVA-SLIT小鼠模型,其中SCIT

可以颈背部或腹股沟作为皮下注射点,而SLIT则需要将OVA涂抹于舌下,操作相对复杂<sup>[8,17-18]</sup>。Shahgordi等<sup>[19]</sup>曾报道,小鼠经0~14天OVA腹腔致敏,21~24天鼻腔激发,28~88天OVA皮下免疫治疗,90~91天再次鼻腔激发后,与PBS治疗组相比,5 μg OVA皮下免疫治疗组小鼠血清总IgE明显降低,鼻腔灌洗液总细胞数和嗜酸性粒细胞数降低,鼻部切片炎症明显好转,说明OVA皮下免疫治疗有效。而HDM特异性免疫治疗动物模型相关报道较少。有研究将BALB/c雌鼠经HDM腹腔致敏3次后,用250 μg HDM进行3次颈背部SCIT,再用25 μg HDM进行3次经鼻激发,结果显示SCIT能明显改善AR小鼠的鼻部症状,减轻鼻黏膜损伤程度和炎性细胞浸润,但SCIT未能明显降低AR小鼠血清HDM-sIgE,该造模方法共需49天,造模周期长<sup>[7]</sup>。赵振安等<sup>[8]</sup>曾用OVA经腹股沟和颈背部进行皮下注射,包括0、7、14天致敏,21~24天鼻腔激发,25~55天脱敏治疗,56~62天鼻腔激发,造模方案总共62天。本研究在此基础上进行了优化。在0、7、14天进行致敏后,先在21~29天进行皮下免疫治疗,再在29~35天进行鼻腔激发。

本研究结果表明,与对照组相比,AR组小鼠体

质量减轻,鼻部症状明显,鼻黏膜上皮层厚度明显增加,气道杯状细胞化生和嗜酸性粒细胞浸润明显增加,血清IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和HDM-sIgE显著升高,BALF中总细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量增多,表明AR造模成功。皮下注射5次HDM进行免疫治疗后,AR组小鼠挠鼻和打喷嚏次数明显减少,鼻部和肺部组织病理形态学也明显改善,BALF各类炎性细胞数量明显减少,证明本研究中的AIT方案可以改善AR小鼠气道的炎症浸润。

经鼻腔激发后,AR组小鼠体质量较对照组显著下降,而AIT组与AR组相比体质量升高,但与对照组无差异,说明AR造模成功且AIT有治疗作用。我们推测AR组小鼠体质量下降的可能原因为反复的喷嚏和挠鼻症状一方面影响了小鼠进食,另一方面使小鼠能量消耗较大。AR组小鼠鼻黏膜增厚,鼻部杯状细胞化生,嗜酸性粒细胞浸润严重,肺组织切片肺泡隔和支气管、血管周围炎症细胞浸润严重,杯状细胞化生明显,BALF中炎症细胞浸润显著增加,血清IL-4、IL-5、IL-6、IL-10明显升高,IFN- $\gamma$ 轻度升高,推测HDM刺激呼吸道黏膜后,发生了局部上皮细胞的重塑,即杯状细胞增生及其向细支气管黏膜的延伸、黏液分泌亢进,并伴随大量炎性细胞浸润,释放出多种炎症介质和细胞因子,从而引起黏液纤毛清除系统功能障碍,使得变应原和毒性物质无法排除,气道炎症不断加重。而AIT组鼻部和肺部炎症表现较轻,血清IFN- $\gamma$ 明显升高,IL-4、IL-5、IL-6、IL-10水平下降,说明AIT减轻了炎症病理反应的发生和发展。鼻部和肺部组织病理学的表现也提示上下呼吸道在过敏性炎症和免疫治疗中存在着一致性,这与“同一气道,同一疾病”的概念一致<sup>[20]</sup>。Th1细胞产生IFN- $\gamma$ ,Th2细胞产生IL-4和IL-5,Th1和Th2细胞之间的平衡在过敏性疾病中起着重要作用<sup>[21]</sup>。AR是一种主要由Th2免疫反应引起的过敏性炎症,特异性个体吸入过敏原后机体出现Th1/Th2免疫失衡<sup>[22]</sup>。本实验结果表明,AR组小鼠血清中Th2细胞因子水平升高,而Th1细胞因子水平表达较低,这与AR的发病机制,即Th1/Th2失衡理论一致。AIT组Th1/Th2细胞失衡得到改善,免疫耐受得到诱导,这与免疫治疗临床研究结果一致<sup>[23]</sup>。IL-6是免疫反应的关键调节因子,限制Th1反应,同时促进Th2反应<sup>[24]</sup>。过度的

Th2炎症反应在免疫治疗后受到抑制,Th2炎症响应的关键调节因子IL-6也随之下落。IL-10是一种具有免疫调节功能的细胞因子。有临床研究证实,SCIT和SLIT治疗10个月可诱导IL-10的短暂上升,但在治疗12个月后IL-10的上升趋势消退<sup>[24]</sup>。在本实验中,AR组血清IL-10升高,而AIT组血清IL-10较AR组明显下降。我们考虑可能是高浓度的变应原刺激AR小鼠进入免疫调节状态而诱导IL-10产生,而AIT组小鼠在取材收样时,可能已经经历了IL-10分泌的高峰,处于IL-10浓度较低的阶段,具体机制有待进一步实验证明。本研究中,相较于AR组,AIT组小鼠血清HDM-sIgE有下降趋势,但差异无统计学意义,此结果与临床实践中AR患者经AIT治疗后血清HDM-sIgE变化趋势一致。一项RCT研究结果显示,SCIT治疗患者的血清HDM-sIgE在治疗1年内持续升高,1年后逐渐下降,2~3年内稍有回升并趋于稳定<sup>[25]</sup>。另有临床报道,sIgE在AIT患者治疗初期升高,随后缓慢下降,且sIgE的下降与患者临床症状的改善无明显相关性,sIgE作为诊断AR的指标,却不能作为预测免疫治疗疗效的指标,相关生物学标志物仍在探究中<sup>[26]</sup>。赵振安等<sup>[8]</sup>也报道HDM-sIgE在AR小鼠中升高,但在SCIT后未明显下降,与本文结果类似。

本研究建立的HDM特异性皮下免疫治疗AR小鼠模型疗效良好,操作简单,在免疫学和临床表现上与HDM致敏的AR患者和临床实践中AIT治疗相似,且相较以往的动物模型缩短了造模周期,可用于进一步探究AIT的机制,寻找更有效的AIT临床标志物。

**作者贡献声明** 李佳颖 动物造模与取材,样本检测,数据分析,论文撰写。郑耀明 动物造模与取材,数据分析。周纯 动物造模。陈柏文 数据分析。李华斌 论文指导和修订。娄鸿飞 实验设计,论文指导和修订。

**利益冲突声明** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] WISE SK, DAMASK C, ROLAND LT, *et al.* International consensus statement on allergy and rhinology: allergic rhinitis-2023[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2023,

- 13(4):293-859.
- [ 2 ] ZHANG Y, ZHANG L. Increasing prevalence of allergic rhinitis in China[J].*Allergy Asthma Immunol Res*, 2019, 11(2):156-169.
- [ 3 ] LI X, XU X, LI J, *et al.* Direct and indirect costs of allergic and non-allergic rhinitis to adults in Beijing, China[J].*Clin Transl Allergy*, 2022, 12(4):e12148.
- [ 4 ] GREINER AN, HELTINGS PW, ROTIROTI G, *et al.* Allergic rhinitis[J].*Lancet*, 2011, 378(9809):2112-2222.
- [ 5 ] PAVÓN-ROMERO GF, PARRA-VARGAS MI, RAMÍREZ-JIMÉNEZ F, *et al.* Allergen immunotherapy: current and future trends[J].*Cells*, 2022, 11(2):212.
- [ 6 ] LAYHADI JA, LALIOTI A, PALMER E, *et al.* Mechanisms and predictive biomarkers of allergen immunotherapy in the clinic[J].*J Allergy Clin Immunol Pract*, 2024, 12(1):59-66.
- [ 7 ] ZHU Y, YU J, ZHU X, *et al.* Experimental observation of the effect of immunotherapy on CD4+ T cells and Th1/Th2 cytokines in mice with allergic rhinitis[J].*Sci Rep*, 2023, 13(1):5273.
- [ 8 ] 赵振安,戴吉,赵婉君,等.腹股沟皮下注射法免疫治疗小鼠变应性鼻炎的实验研究[J].*中国免疫学杂志*, 2015, 31(6):785-789.
- [ 9 ] 王洪田,杨钦泰,叶菁,等.变应性鼻炎防治中环境控制和健康教育的中国专家共识(2024,北京)[J].*中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2024, 30(4):1-11.
- [10] HOANG MP, SAMUTHPONGTORN J, CHITSUT-HIPAKORN W, *et al.* Allergen-specific immunotherapy for local allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis[J].*Rhinology*, 2022, 60(1):11-19.
- [11] BOUSQUET J, KHALTAEV N, CRUZ AA, *et al.* Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA (2) LEN and AllerGen) [J].*Allergy*, 2008, 63(Suppl 86):8-160.
- [12] NAKAGOME K, NAGATA M. Allergen immunotherapy in asthma[J].*Allergol Int*, 2024, 73(4):487-493.
- [13] MASCARELL L, SAINT-LU N, MOUSSU H, *et al.* Oral macrophage-like cells play a key role in tolerance induction following sublingual immunotherapy of asthmatic mice[J].*Mucosal Immunol*, 2011, 4(6):638-647.
- [14] XU J, TANG Y, SHEN C, *et al.* Melastoma dodecandrum polysaccharide alleviates allergic rhinitis in mice through modulating NLRP3 and IL-17 axis[J].*Int Immunopharmacol*, 2025, 161:115054.
- [15] ZHENG Y, XIE Y, LI J, *et al.* CMPK2 promotes NLRP3 inflammasome activation via mtDNA-STING pathway in house dust mite-induced allergic rhinitis[J].*Clin Transl Med*, 2025, 15(1):e70180.
- [16] 刘湘,楼响瑜,高月秋,等.变应性鼻炎患者变应原谱及舌下免疫治疗分析[J].*中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2019, 26(9):491-494.
- [17] CHANG YS, KIM YK, KIM SH, *et al.* Murine subcutaneous immunotherapy models with beneficial immunological and physiological effects [J].*Asia Pac Allergy*, 2013, 3(1):50-58.
- [18] KESHAVARZ SHAHBAZ S, VARASTEHR AR, KOUISHKI K, *et al.* Sublingual dendritic cells targeting by aptamer: possible approach for improvement of sublingual immunotherapy efficacy [J].*Int Immunopharmacol*, 2020, 85:106603.
- [19] SHAHGORDI S, SANKIAN M, YAZDANI Y, *et al.* Immune responses modulation by curcumin and allergen encapsulated into PLGA nanoparticles in mice model of rhinitis allergic through sublingual immunotherapy [J].*Int Immunopharmacol*, 2020, 84:106525.
- [20] CRETICOS PS, GUNAYDIN FE, NOLTE H, *et al.* Allergen immunotherapy: the evidence supporting the efficacy and safety of subcutaneous immunotherapy and sublingual forms of immunotherapy for allergic rhinitis/conjunctivitis and asthma [J].*J Allergy Clin Immunol Pract*, 2024, 12(6):1415-1427.
- [21] DONG F, TAN J, ZHENG Y. Chlorogenic acid alleviates allergic inflammatory responses through regulating Th1/Th2 balance in ovalbumin-induced allergic rhinitis mice[J].*Med Sci Monit*, 2020, 26:e923358.
- [22] SCADDING GK, SCADDING GW. Innate and adaptive immunity: ILC2 and Th2 cells in upper and lower airway allergic diseases[J].*J Allergy Clin Immunol Pract*, 2021, 9(5):1851-1857.
- [23] LI CW, LU HG, CHEN DH, *et al.* *In vivo* and *in vitro* studies of Th17 response to specific immunotherapy in house dust mite-induced allergic rhinitis patients[J].*PLoS One*, 2014, 9(3):e91950.
- [24] SCHULTEN V, TRIPPLE V, AASBJERG K, *et al.* Distinct modulation of allergic T cell responses by subcutaneous vs. sublingual allergen-specific immunotherapy [J].*Clin Exp Allergy*, 2016, 46(3):439-448.
- [25] SCADDING GW, CALDERON MA, SHAMJI MH, *et al.* Effect of 2 years of treatment with sublingual grass pollen immunotherapy on nasal response to allergen challenge at 3 years among patients with moderate to severe seasonal allergic rhinitis: the GRASS randomized clinical trial [J].*JAMA*, 2017, 317(6):615-625.
- [26] BREITENEDER H, PENG YQ, AGACHE I, *et al.* Biomarkers for diagnosis and prediction of therapy responses in allergic diseases and asthma[J].*Allergy*, 2020, 75(12):3039-3068.

(收稿日期:2025-06-29;编辑:张秀峰)