

## TLR4/NF- $\kappa$ B/ MUC5B 在过敏性鼻炎中的调控机制

王阿衡<sup>1)</sup>, 宋 镇<sup>1)</sup>, 杨广华<sup>2)</sup>, 何海燕<sup>1)</sup>

(1) 康复大学青岛中心医院头颈外科; 2) 门诊部, 山东 青岛 266000)

[摘要] 目的 探讨 TLR4/NF- $\kappa$ B/ MUC5B 在过敏性鼻炎中的调控机制。方法 建立过敏性鼻炎小鼠模型, 观察模型病理特征变化, 检测 TLR4 和 MUC5B 的表达。通过鼻内给药的方式降低 TLR4 的表达, 观察组织病理变化, MUC5B 的表达以及炎症因子浓度的变化。建立体外细胞模型, 通过细胞转染, 敲减 TLR4 后, 检测 MUC5B 的表达, 以及观察 NF- $\kappa$ B 和磷酸化 NF- $\kappa$ B (p-NF- $\kappa$ B) 的变化。结果 (1) TLR4 和 MUC5B 在过敏性鼻炎小鼠模型中高表达 ( $P < 0.05$ ); (2) 降低 TLR4 的表达可减少 MUC5B 和炎症因子的表达, 以及缓解过敏性鼻炎 ( $P < 0.05$ ); (3) 在体外, 敲减 TLR4 可降低 p-NF- $\kappa$ B 和 MUC5B 的表达 ( $P < 0.05$ )。结论 发现 TLR4/NF- $\kappa$ B/ MUC5B 在过敏性鼻炎中的调控作用, 为治疗过敏性鼻炎提供新的思路。

[关键词] 过敏性鼻炎; TLR4; MUC5B; NF- $\kappa$ B

[中图分类号] R765.21 [文献标志码] A [文章编号] 2095-610X(2024)11-0046-06

## Regulatory Mechanisms of TLR4/NF- $\kappa$ B/ MUC5B in Allergic Rhinitis

WANG Aheng<sup>1)</sup>, SONG Zhen<sup>1)</sup>, YANG Guanghua<sup>2)</sup>, HE Haiyan<sup>1)</sup>

(1) Dept. of Head and Neck Surgery; 2) Dept. of Outpatient, Qingdao Central Hospital of  
Rehabilitation University, Qingdao Shandong 266000, China)

[Abstract] Objective To explore the regulatory mechanism of TLR4/NF- $\kappa$ B/MUC5B in allergic rhinitis. Methods A mouse model of allergic rhinitis was established to observe the changes in pathological characteristics of the model and to detect the expression of TLR4 and MUC5B. By reducing the expression of TLR4 by intranasal administration, the histopathological changes of TLR4, the expression of MUC5B and the concentration of inflammatory factors were observed. An in vitro cell model was established to detect the expression of MUC5B as well as to observe the changes of NF- $\kappa$ B and phosphorylated NF- $\kappa$ B (p-NF- $\kappa$ B) after knockdown of TLR4 by cell transfection. Results (1) TLR4 and MUC5B were highly expressed in a mouse model of allergic rhinitis ( $P < 0.05$ ); (2) Lowering the expression of TLR4 could reduce the expression of MUC5B and inflammatory factors, as well as alleviated allergic rhinitis ( $P < 0.05$ ); (3) In vitro, knockdown of TLR4 could reduce the expression of p-NF- $\kappa$ B and MUC5B ( $P < 0.05$ ). Conclusion The regulatory mechanism of TLR4/NF- $\kappa$ B/ MUC5B in allergic rhinitis provides the new ideas for the treatment of allergic rhinitis.

[Key words] Allergic rhinitis; TLR4; MUC5B; NF- $\kappa$ B

过敏性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是在世界范围内呈上升趋势的呼吸道疾病之一, 据统计, 全球约有 30% 的人口受 AR 的影响<sup>[1]</sup>, 其特征之一

是鼻粘膜组织出现异常。引发 AR 的过敏源包括灰尘、花粉、皮屑等。出现过敏反应时, 鼻粘膜中出现大量炎症细胞, 也会导致免疫细胞例如嗜

[收稿日期] 2024-06-10

[基金项目] 青岛市科技惠民专项基金资助项目(24-2-8smjk-12-nsh)

[作者简介] 王阿衡(1992~), 女, 山东青岛人, 医学硕士, 住院医师, 主要从事鼻科学临床诊疗工作。

[通信作者] 何海燕, E-mail: hhy3027@163.com

酸性粒细胞、T 细胞、肥大细胞等过量释放<sup>[2]</sup>。临床上常见症状包括鼻塞、打喷嚏、流鼻涕等, 严重时部分患者会引发哮喘、结膜炎、鼻窦炎等并发症<sup>[3]</sup>。AR 作为 1 种慢性疾病, 会影响患者的睡眠质量和注意力。常用于治疗 AR 的药物主要有抗组胺药、类固醇药物、白三烯受体拮抗剂等<sup>[4]</sup>。尽管这些传统治疗药物缓解了 AR 的症状, 但是治疗效果仍然不理想。因此, 从其发病机制的角度开发新的治疗方式是迫切的。

在早期的研究中, AR 被认为是免疫球蛋白 E(IgE)介导的 I 型超敏反应<sup>[5]</sup>。体内 Th1 和 Th2 免疫应答失衡是 AR 典型的致病因素。Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)是 1 种能够参与先天性和获得性免疫反应的模式识别受体<sup>[6]</sup>, 在免疫相关的研究中起到重要调节作用。TLR4 与其配体结合后会导致 Th2 细胞的增加, 从而促进相关免疫类型疾病的发生<sup>[7]</sup>。已有研究证明 TLR4 在 AR 中高表达<sup>[8]</sup>。然而 TLR4 的具体作用和调控机制仍然需要大量的研究。本文主要探究了 TLR4 在体内和体外的调控机制, 旨在为治疗 AR 提供新的方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 AR 小鼠模型建立与分组

使用 BALB/C 小鼠(Cyagen, 中国), 每组 6 只进行实验。实验分组如下所示: (1) control 组: 正常对照, 使用生理盐水注射; (2) AR 组: 使用卵清蛋白诱导 AR 模型, 方法如下: 配制含有 0.5 mg/mL 卵清蛋白和 20 mg/mL 氢氧化铝的生理盐水, 在第 0, 7 和第 14 天通过腹腔注射在 AR 小组中致敏。在第 21 天, 使用 3% 的卵清蛋白在小鼠鼻内重复以上致敏操作 7 d, 以建立 AR 模型。实验二分组如下所示: (1) AR: 使用卵清蛋白诱导 AR 模型, 在进行过敏诱导的前 3 h, 使用生理盐水处理小鼠鼻腔内部; (2) AR+shRNA: 进行 AR 模型诱导前 3 h, 使用 20  $\mu$ L 的 sh-RNA(Santa Cruz Biotechnology, 美国), 通过鼻内给药的方式调控 TLR4 的表达; (3) AR+sh-TLR4, 进行 AR 模型诱导前 3 h, 使用 20  $\mu$ L 的 sh-TLR4(Santa Cruz Biotechnology, 美国), 通过鼻内给药的方式调控 TLR4 的表达。实验通过云南洛宇生物科技有限公司实验动物伦理委员会审批(PZ20240112)。

### 1.2 组织病理学检测

在第 28 天对小鼠进行最后 1 次鼻内致敏, 2 h

后对小鼠进行麻醉。将小鼠麻醉后, 分离出鼻粘膜, 固定到 4% 多聚甲醛(Beyotime, 中国)中备用。取出固定好的鼻黏膜, 脱水处理后进行石蜡包埋。将石蜡块切成 5  $\mu$ m 切片, 使用苏木精和伊红进行染色后, 观察病理学变化。

### 1.3 炎症因子水平检测

将组织切成小块, 匀浆并使用 RIPA 缓冲液进行裂解处理。组织裂解液在 4  $^{\circ}$ C 下以 2500 r/min 离心 10 min, 将样本储存备用。IL-10、IL-4、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  的浓度按照生产商的方案使用 ELISA 试剂盒(R&D Systems, 美国)在 450 nm 处测定吸光度, 后计算浓度。

### 1.4 免疫组织化学法

取出石蜡切片使用二甲苯进行脱蜡处理, 使用梯度浓度酒精进行脱水处理。在柠檬酸盐缓冲盐中进行抗原修复。使用 3% $H_2O_2$  处理以阻断过氧化酶, 加入 5%BSA 封闭后, 加入一抗 MUC5B(ab77995, Abcam, 1:2000, 美国)和 TLR4(ab22048, Abcam, 1:2000, 美国), 在 4  $^{\circ}$ C 下孵育过夜。滴加二抗(ab205723, Abcam, 1:2000, 美国), 在室温下孵育 30 min。加入二氨基联苯胺(DAB)显色。脱水透明后使用中性和树胶封片。

### 1.5 实时荧光定量 PCR(qPCR)

使用 Trizol(Sigma, 美国)提取组织和细胞中的总 RNA。使用试剂盒(Takara, 日本)将 RNA 样品逆转录合成 cDNA。加入引物后, 设定 PCR 扩增程序。TLR4 引物序列如下: 正向 5'-ATGG-CATGGCTTACACCACC-3', 反向 5'-GAGGCCAA-TTTTGTCTCCACA-3'GAGGCCAATTTTGTCT-CCACA。

### 1.6 细胞培养及处理

在 RPMI1640 培养基中培养 HNEpC 细胞(人鼻粘膜上皮细胞, Ocricebio, 中国), 在培养基中补充 2 Mm/L 的 L-谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素、100  $\mu$ g/mL 链霉素和 10% 胎牛血清。在温度为 37  $^{\circ}$ C, 湿度为 5% 的条件中, 待细胞汇合度达到 80%~90% 后培育传代。使用脂多糖 LPS 处理细胞 1 h。

### 1.7 细胞转染

将细胞接种到 6 孔板中, 在 RPMI 培养基(Sigma, 美国)中孵育过夜, 待细胞汇合, 加入 OPTI-MEN I 减血清培养基(Thermo Fisher, 美国)。使用 Invitrogen 进行细胞转染, 将 TLR4 siRNA 和 Lipofectamine 3000(Thermo Fisher, 美国)混合形成复合物。转染效率通过 qPCR 检测。

## 1.8 蛋白质印迹检测

使用 RIPA 缓冲液裂解细胞提取总蛋白, 通过 BCA 法对蛋白质进行定量。使用 SDS-PAGE 分离蛋白, 并转移到 PVDF 膜上。使用 5%BSA 封闭 1 h, 后加入一抗孵育。经 TBST 洗涤后, 加入二抗孵育。使用 Image J 对条带灰度值进行定量分析。抗体信息如下: MUC5B(ab77995, 1:1000, Abcam, 美国), TLR4(SAB5700684, 1:500, Merck, 美国),  $\beta$ -actin(ab8226, 1:1000, Abcam, 美国)

## 1.9 统计学处理

使用 GraphPad Prism 9.0 软件 (GraphPad Software, 美国) 进行统计分析。使用 *t* 检验进行 2 组之间的统计分析, 单因素方差分析 (ANOVA) 用于 2 组以上的统计分析。进一步两两比较采用 Tukey's 检验, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MUC5B 和 TLR4 在 AR 小鼠中高表达

对小鼠鼻粘膜组织的病理学变化进行了观察,

HE 染色结果显示, 在对照组中, 鼻粘膜表面纤毛排列整齐; 而 AR 组的表面纤毛紊乱, 上皮细胞脱落, 鼻粘膜厚度增加, 见图 1A。对组织切片进行炎症因子水平检测, 结果显示, 和 control 组相比, 在 AR 中炎症水平增加, 表现为 IL-10, IL-4 和 TNF- $\alpha$  增加, IFN- $\gamma$  减少, 见图 1B。在成功建立 AR 模型后, 通过免疫组织化学法检测了 MUC5B 和 TLR4 的阳性表达。结果发现 MUC5B 和 TLR4 在 AR 中的阳性率均高于对照组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 1C ~ 1E。

### 2.2 TLR4 在 AR 中的作用

为了评估 TLR4 在 AR 中的调节作用, 将 sh-RNA 和 sh-TLR4 进行鼻内给药。采用 qPCR 检测不同组中 TLR4 的表达, 与 AR 组和 AR+shRNA 组相比, sh-TLR4 组中的含量显著减少, 说明干预措施成功, TLR4 在 sh-TLR4 组中下调, 见图 2A。通过 HE 染色评估 TLR4 对鼻粘膜组织病理形态的影响。AR 和 AR+sh-RNA 组中, 鼻粘膜结构异常, 出现组织肿胀, 纤毛脱落, 排列紊乱等; 而在 TLR4 下调之后, 病理损伤缓解, 纤毛脱落面积较小, 见图 2B。通过 ELISA 测定了组织中的

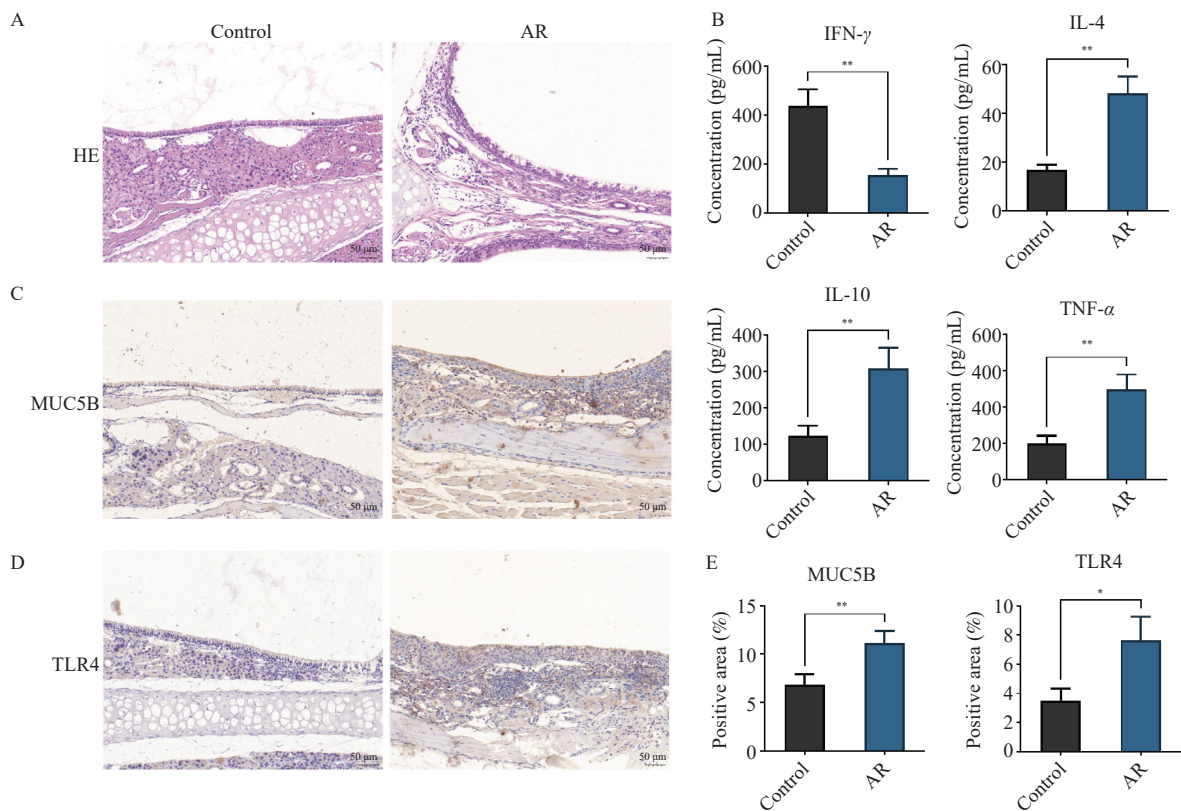


图 1 AR 小鼠模型中 MUC5B, TLR4 和炎症因子的表达

Fig. 1 Expression of MUC5B, TLR4 and inflammatory factors in an AR mouse model

A: HE 染色检测鼻粘膜病理变化; B: IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 和 TNF- $\alpha$  在组织中的表达; C: MUC5B 在组织中的阳性率; D: TLR4 在组织中的阳性率; E: MUC5B 和 TLR4 的阳性率的统计学分析; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

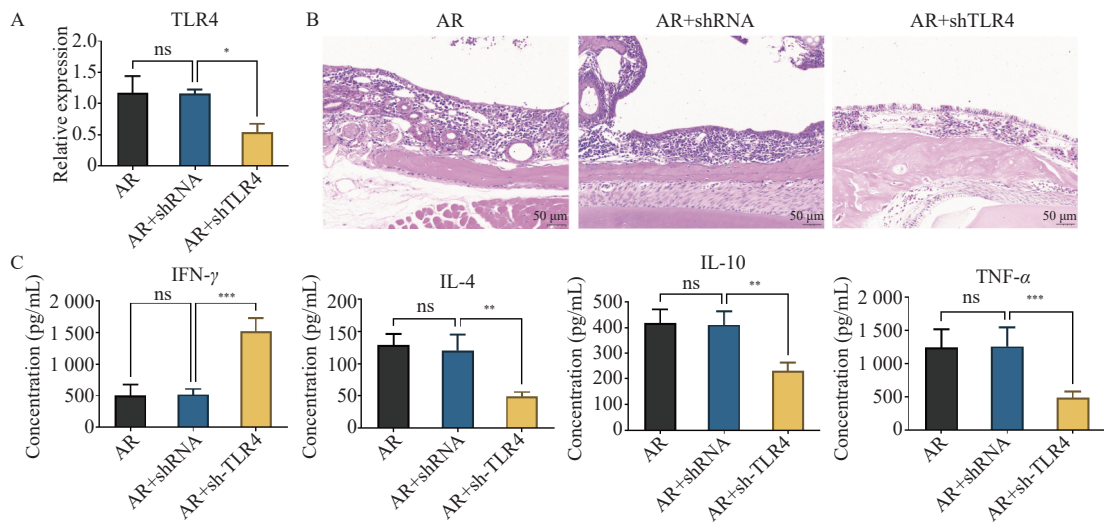


图 2 TLR4 敲减对小鼠 AR 和炎症因子的影响

Fig. 2 Effects of TLR4 knockdown on AR and inflammatory factors in mice

A: qPCR 检测 TLR4 的表达; B: HE 检测不同组的病理变化; C: IFN-γ, IL-4, IL-10 和 TNF-α 在组织中的水平变化; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001, ns not significant.

炎症因子水平, 与 AR 组和 AR+shRNA 组相比, 下调 TLR4 之后 IL-10, IL-4 和 TNF-α 水平降低, IFN-γ 水平增加, 见图 2C。

### 2.3 TLR4 在体外通过 NF-κB 调控 MUC5B 的表达

为了验证 TLR4 的调控机制, 笔者使用 HNEpC 细胞建立了体外模型。通过 qPCR 检测各组的转染效率, 在转染了 siTLR4 之后, 其表达降低, 见

图 3A。Western blot 实验发现, 在降低 TLR4 的表达之后, MUC5B 的表达下降, 见图 3B。另外, Western blot 检测 NF-κB 和磷酸化 NF-κB (p-NF-κB) 的表达, 实验结果发现 TLR4 表达下调之后, p-NF-κB 的表达随之下降。实验结果表明, 在体外, TLR4 在体外通过 NF-κB 通路调控 MUC5B 的表达, 见图 3C。

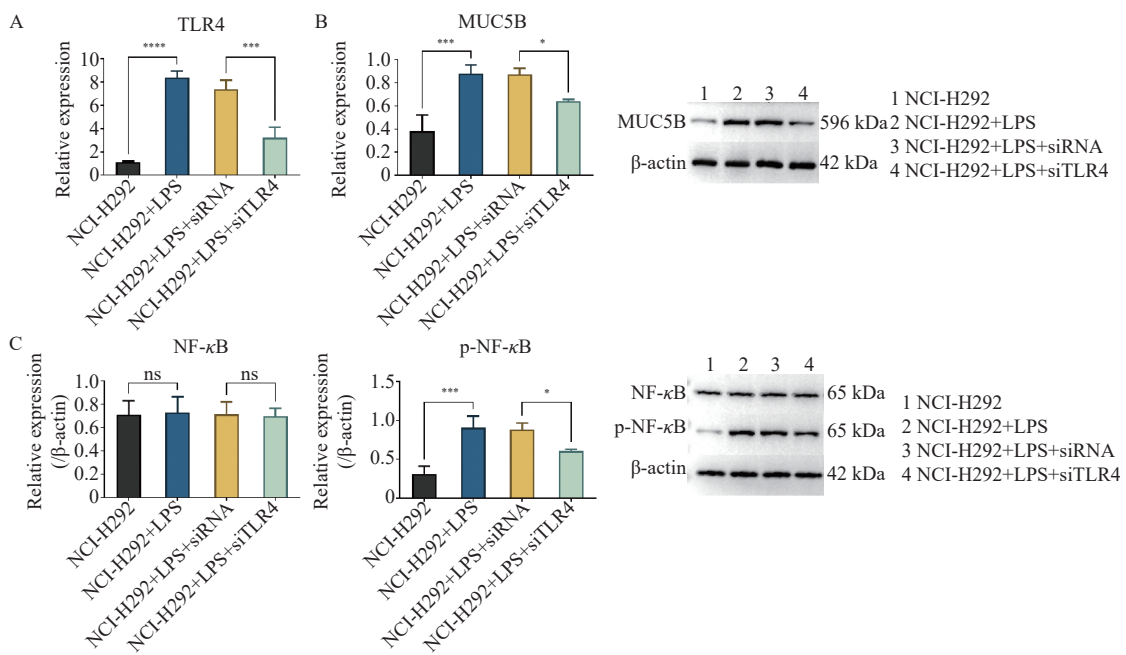


图 3 TLR4 通过 NF-κB 调控 MUC5B 的表达

Fig. 3 TLR4 regulates MUC5B expression through NF-κB

A: qPCR 检测 TLR4 的表达; B: Western blot 检测 MUC5B 的表达; C: Western blot 检测 NF-κB 通路表达变化; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001.

### 3 讨论

AR 是 1 种慢性疾病, 通常是由于鼻粘膜的特异性炎症反应引起。目前治疗通过药物干预, 例如: 鼻内抗组胺药, 鼻内类固醇等用于减轻 AR 患者的症状和改善生活质量, 但一些患者即使接受高剂量的药物治疗也无法缓解<sup>[9]</sup>。AR 多数和免疫失调相关, 现已有针对免疫功能的治疗方法, 例如: 过敏原特异性免疫疗法 (allergen immunotherapy, AIT)<sup>[10]</sup>。因此, 发现更多免疫相关的治疗方法是必要的。本研究发现参与免疫应答的模式识别受体 TLR4 在 AR 中具有重要调控作用, 为后续治疗提供了新的方向。

AR 的机制复杂, 涉及多种免疫细胞和炎症因子的释放。例如, 调节性 T 细胞 (Treg) 细胞、B 细胞、树突状细胞 (dendritic cells, DC) 等。其中 DC 在免疫应答中是关键免疫调节因子, 在 AR 中是有利的治疗靶点。Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 可在免疫通路包括先天免疫通路和适应性免疫通路中启动信号转导<sup>[11]</sup>。TLR 的免疫调节功能会激活 DC 成熟, 从而导致释放更多的炎症因子和趋化因子<sup>[12]</sup>。研究说明 TLR4 广泛分布在鼻粘膜上的 DC, 巨噬细胞等免疫细胞中<sup>[13]</sup>。TLR4 会导致免疫相关疾病的发生且和过敏性疾病密切相关。本研究发现, 在 AR 小鼠模型中, TLR4 呈现高表达的状态 ( $P < 0.05$ )。这和 1 项基于临床样本获得结果一致, 在 AR 患者中 TLR4 的 mRNA 表达量和免疫组织化学结果显著高于正常组 ( $P < 0.05$ )<sup>[14]</sup>。黏蛋白 5B (mucoprotein, MUC5B) 是气道黏蛋白的主要成分之一, 在呼吸道疾病中是关键调控因素。已被证明 MUC5B 在哮喘 (asthma) 和慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 中表达<sup>[15]</sup>。在慢性鼻窦炎中, MUC5B 受到炎症刺激, 从而表达增加<sup>[16]</sup>。在 1 项基因表达谱分析中, MUC5B 被证明是 AR 的关键基因之一<sup>[17]</sup>。在笔者的研究中, 发现在 AR 中 MUC5B 上调 ( $P < 0.05$ )。

TLR4 在急性肝损伤中被发现存在抑制炎症和调控细胞凋亡的功能<sup>[18]</sup>。在肠道炎症相关疾病中, 抑制 TLR4 被认为是 1 种有效的治疗方法<sup>[19]</sup>。在本次研究中, 笔者通过鼻腔内给药的方式, 降低 TLR4 的表达。抑制 TLR4 后, 小鼠 AR 模型的病理学特征得到缓解。此外, MUC5B 的表达和炎症因子的浓度均降低。先前, 已有文章表明 TLR4 参与 AR 的发病过程<sup>[20]</sup>。在 AR 免疫药理学的研

究中, 木犀草素被证明可通过调节 AR 大鼠中的 TLR4, 从而改善病理机制和炎症<sup>[21]</sup>。1 项早期关于皮质类固醇激素对 AR 的治疗作用研究中说明, 这类药物通过下调 MUC5B 的表达, 从而缓解病情<sup>[22]</sup>。本研究进一步证明, 靶向 TLR4 从而调控 MUC5B 表达的治疗方式是有潜力的。

TLR4 可通过脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 激活<sup>[23]</sup>。本研究使用 LPS 建立体外细胞模型, LPS 激活 TLR4 后, HNEpC 细胞中, TLR4 的表达增加。在转染了 siTLR4 之后, TLR4 表达降低。同时, 笔者检测了 MUC5B 在细胞中的表达, 和小鼠 AR 模型一致, 结果表明, 敲减 TLR4 的表达会导致 MUC5B 表达降低。为了进一步探究 TLR4 对 MUC5B 的调控机制, 在细胞模型中探究了 TLR4 的信号通路。核转录因子 kappaB (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 是 1 种调节免疫球蛋白基因表达的转录因子, 参与多种信号通路的调控, 被认为是典型的促炎信号通路<sup>[24]</sup>。NF- $\kappa$ B 信号通路主要受到白细胞介素 1 (interleukin 1, IL-1), 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) 和 TLR 的激活<sup>[25]</sup>。NF- $\kappa$ B 被激活后会诱导炎症因子和免疫细胞的产生, 从而引发炎症反应。NF- $\kappa$ B 在多种类型疾病中已被视为有效的药物靶点, 例如三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC), 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 和急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML)<sup>[26]</sup>。本实验结果发现, 在 HNEpC 细胞中, 降低 TLR4 的表达后, 磷酸化 NF- $\kappa$ B (p-NF- $\kappa$ B) 和 MUC5B 的表达也随之减少。这说明在体外, TLR4 通过 NF- $\kappa$ B 调控 MUC5B 的表达。和笔者的研究结果一致, 在 1 项关于治疗 AR 的中药研究中, 基于 NF- $\kappa$ B 的调控通路, 在大鼠模型中可改变 MUC5B 的表达从而缓解 AR<sup>[27]</sup>。在柚皮素对 AR 影响的研究中, 文章证实 TLR4/NF- $\kappa$ B 对 AR 大鼠鼻粘膜组织起到关键调控作用<sup>[28]</sup>。基于 AR 中 lncRNA 的研究, NF- $\kappa$ B 信号通路被证明参与自噬和巨噬细胞极化的过程<sup>[29]</sup>。本研究进一步为基于 NF- $\kappa$ B 治疗 AR 的方法提供了理论依据。

综上所述, TLR4 和 MUC5B 在 AR 中表现出高表达。TLR4 下调能够缓解 AR 以及降低 AR 小鼠模型中的炎症因子。此外, 在细胞模型中发现 TLR4 可通过 NF- $\kappa$ B 调控 MUC5B 的表达。笔者的研究证明, TLR4/NF- $\kappa$ B/MUC5B 在 AR 中是有研究潜力的调控途径, 该信号通路可能为 AR 的治疗提供新的思路。

## [参考文献]

- [1] Hoyte F C L, Nelson H S. Recent advances in allergic rhinitis[J]. *F1000Res*, 2018, 7(1): 1.
- [2] Cohen B. Allergic rhinitis[J]. *Pediatr Rev*, 2023, 44(10): 537–550.
- [3] Skoner D P. Complications of allergic rhinitis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 105(6 Pt 2): S605–609.
- [4] Chirakalwasan N, Ruxrungtham K. The linkage of allergic rhinitis and obstructive sleep apnea[J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2014, 32(4): 276–286.
- [5] Geng B, Dilley M, Anterasian C. Biologic therapies for allergic rhinitis and nasal polyposis[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2021, 21(6): 36.
- [6] Park B S, Lee J O. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes[J]. *Exp Mol Med*, 2013, 45(12): e66.
- [7] Yang L, Lian Z, Zhang B, et al. Effect of ligustrazine nanoparticles on Th1/Th2 balance by TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway in rats with postoperative peritoneal adhesion[J]. *BMC Surg*, 2021, 21(1): 211.
- [8] Wu J, Wu L, Zhang L, et al. Overexpression of miR-224-5p alleviates allergic rhinitis in mice via the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Exp Anim*, 2021, 70(4): 440–449.
- [9] Siddiqui Z A, Walker A, Pirwani M M, et al. Allergic rhinitis: Diagnosis and management[J]. *Br J Hosp Med (Lond)*, 2022, 83(2): 1–9.
- [10] Lim K H, Staudt L M. Toll-like receptor signaling[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(1): a011247.
- [11] Veneziani I, Alicata C, Moretta L, et al. Human toll-like receptor 8 (TLR8) in NK cells: Implication for cancer immunotherapy[J]. *Immunol Lett*, 2023, 261(1): 13–16.
- [12] Kang C, Li X, Liu P, et al. Tolerogenic dendritic cells and TLR4/IRAK4/NF- $\kappa$ B signaling pathway in allergic rhinitis[J]. *Front Immunol*, 2023, 14(1): 1276512.
- [13] Chen S N, Tan Y, Xiao X C, et al. Deletion of TLR4 attenuates lipopolysaccharide-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(10): 1610–1619.
- [14] Tam J S Y, Collier J K, Hughes P A, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists as potential therapeutics for intestinal inflammation[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2021, 40(1): 5–21.
- [15] Huang X, Guan W, Xiang B, et al. MUC5B regulates goblet cell differentiation and reduces inflammation in a murine COPD model[J]. *Respir Res*, 2022, 23(1): 11.
- [16] 李增沛, 李靖. 变应性鼻炎患者 TNF- $\alpha$ 、Tim-1 及 TLR4 变化与病情程度的相关性研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2023, 29(6): 50–53.
- [17] Dong J, Xu O, Wang J, et al. Luteolin ameliorates inflammation and Th1/Th2 imbalance via regulating the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in allergic rhinitis rats[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2021, 43(3): 319–327.
- [18] 唐进渝, 彭丽娟, 钟春燕, 等. 慢性鼻-鼻窦炎患者 HIF-1 $\alpha$ 、FoxM1 的表达及其与黏蛋白 MUC5AC、MUC5B 的相关性[J]. *西部医学*, 2023, 35(11): 1610–1614.
- [19] 龙小博, 甄宏韬, 彭璐, 等. 布地奈德对变应性鼻炎鼻黏膜黏蛋白 MUC5AC 和 MUC5B 表达的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2007, 36(5): 648–651, 704.
- [20] Pióciennikowska A, Hromada-Judycka A, Borzęcka K, et al. Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(3): 557–581.
- [21] Tak P P, Firestein G S. NF-kappa B: A key role in inflammatory diseases[J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(1): 7–11.
- [22] Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6): a001651.
- [23] Poma P. NF- $\kappa$ B and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 81–91.
- [24] Bousquet J, Anto J M, Bachert C, et al. Allergic rhinitis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 95.
- [25] 牛金明, 程莉雅, 吴美美. 柚皮素对过敏性鼻炎模型大鼠鼻黏膜组织 TLR4/NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$  信号通路的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2023, 27(4): 483–488.
- [26] Zhu X, Sun Y, Yu Q, et al. Exosomal lncRNA GAS5 promotes M1 macrophage polarization in allergic rhinitis via restraining mTORC1/ULK1/ATG13-mediated autophagy and subsequently activating NF- $\kappa$ B signaling[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 121(1): 110–450.
- [27] Tian B, Ma X, Jiang R. Daphnetin mitigates ovalbumin-induced allergic rhinitis in mice by regulating Nrf2/HO-1 and TLR4/NF-kB signaling[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2023, 37(1): 19–25.
- [28] Piao C H, Fan Y, Nguyen T V, et al. PM2.5 exposure regulates Th1/Th2/Th17 cytokine production through NF- $\kappa$ B signaling in combined allergic rhinitis and asthma syndrome[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 119(1): 110–254.
- [29] Zhao H, Yang J, Wang M, et al. Effect of IL-9 neutralising antibody on pyroptosis via SGK1/NF- $\kappa$ B/NLRP3/GSDMD in allergic rhinitis mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 177(1): 117–119.