

本文引用:周洁,吉玲,王新华,等. 细胞间黏附分子-1在支气管哮喘儿童支气管黏膜中的表达及其对支气管上皮细胞凋亡的影响[J]. 新乡医学院学报,2019,36(2):126-130,135. DOI:10.7683/xyxyxb.2019.02.006.

【基础研究】

细胞间黏附分子-1在支气管哮喘儿童支气管黏膜中的表达及其对支气管上皮细胞凋亡的影响

周洁¹, 吉玲², 王新华¹, 周栩平¹
(1.驻马店市中心医院新生儿科,河南 驻马店 463000;2.郑州大学第三附属医院新生儿科,河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 探讨细胞间黏附分子-1(ICAM-1)在支气管哮喘儿童支气管黏膜中的表达及其对支气管上皮细胞凋亡的影响。**方法** 收集驻马店市中心医院2014年5月至2017年12月收治的28例哮喘儿童的支气管黏膜组织标本,同时选取28例支气管扩张非哮喘儿童的支气管黏膜组织作为对照;采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)和Western blot法检测支气管哮喘儿童支气管黏膜组织中ICAM-1 mRNA和蛋白表达。将正常培养的支气管上皮细胞16HBE分为对照组、感染组、阴性组和干扰组。对照组细胞正常培养,不做任何处理;感染组细胞感染呼吸道合胞病毒(RSV),但不进行转染;阴性组细胞转染 siRNA-control 后感染 RSV;干扰组细胞转染 ICAM-1 siRNA 后感染 RSV。采用 qRT-PCR 和 Western blot 法检测各组细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达,流式细胞术检测细胞凋亡情况,酶联免疫吸附试验检测细胞培养基上清液中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,Western blot 法检测细胞中活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(Cleaved Caspase-3)、核因子- κ B p65(NF- κ B p65)表达。**结果** 哮喘支气管黏膜组织中 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达显著高于正常支气管黏膜组织($P < 0.05$)。感染组、阴性组、干扰组细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达显著高于对照组($P < 0.05$)。干扰组细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达显著低于感染组和阴性组($P < 0.05$)。感染组、阴性组、干扰组细胞凋亡率显著高于对照组($P < 0.05$)。干扰组细胞凋亡率显著低于感染组和阴性组($P < 0.05$)。感染组、阴性组、干扰组细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平显著高于对照组($P < 0.05$)。干扰组细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平显著低于感染组和阴性组($P < 0.05$)。感染组、阴性组、干扰组细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平显著高于对照组($P < 0.05$)。干扰组细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平显著低于感染组和阴性组($P < 0.05$)。**结论** ICAM-1 在哮喘儿童支气管黏膜组织中表达上调,抑制 ICAM-1 可以降低 RSV 诱导的支气管上皮细胞凋亡,降低支气管上皮细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白表达,减少细胞分泌炎症因子。

关键词: 哮喘;细胞间黏附分子-1;支气管上皮细胞;细胞凋亡
中图分类号: R562.2⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2019)02-0126-06

Expression of intercellular adhesion molecule-1 in bronchial mucosa of asthmatic children and its effect on apoptosis of bronchial epithelial cells

ZHOU Jie¹, JI Ling², WANG Xin-hua¹, ZHOU Xu-ping¹

(1. Department of Neonatology, the Central Hospital of Zhumadian City, Zhumadian 463000, Henan Province, China;
2. Department of Neonatology, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in bronchial mucosa of asthmatic children and its effect on the apoptosis of bronchial epithelial cells. **Methods** Twenty-eight bronchial mucosa of asthmatic children in the Central Hospital of Zhumadian City from May 2014 to December 2017, and twenty-eight bronchial mucosa of bronchiectasis without asthmatic children were selected as control. The expression of ICAM-1 mRNA and protein in bronchial mucosa of asthmatic children were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot. The bronchial epithelial cells who was cultured normally were divided into control group, infection group, negative group and interference group. The cells in the control group were cultured normally without any treatment. The cells in the infection group were infected with *respiratory syncytial virus* (RSV), but they were not transfected. The cells in the negative group were transfected with siRNA-control and then they were infected with RSV. The cells in the interference group

were transfected with ICAM-1 siRNA and then they were infected with RSV. The expressions of ICAM-1 mRNA and protein in each group were determined by qRT-PCR and Western blot, and the cell apoptosis was measured by flow cytometry. The interleukin (IL)-1 β and tumor necrosis factor(TNF)- α levels in supernatant of cell culture medium were detected by enzyme linked immunosorbent assay. The expressions of cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase (Cleaved Caspase-3) and nuclear factor κ B (NF- κ B) p65 in cells were determined by Western blot. **Results** The expressions of ICAM-1 mRNA and protein in bronchial mucosa of asthmatic patients were significantly higher than those in normal bronchial mucosa ($P<0.05$). The expressions of ICAM-1 mRNA and protein in the infection group, negative group and interference group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The expressions of ICAM-1 mRNA and protein in the interference group were significantly lower than those in the infection group and the negative group ($P<0.05$). The cell apoptosis rate of the infection group, negative group and interference group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). The cell apoptosis rate in the interference group was significantly lower than that in the infection group and the negative group ($P<0.05$). The levels of IL-1 β and TNF- α in supernatant of cell culture medium in the infection group, the negative group and the interference group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The levels of IL-1 β and TNF- α in supernatant of cell culture medium in the interference group were significantly lower than those in the infection group and the negative group ($P<0.05$). The levels of Cleaved Caspase-3 and NF- κ B p65 protein in the infection group, the negative group and the interference group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The levels of Cleaved Caspase-3 and NF- κ B p65 protein in the interference group were significantly lower than those in the infection group and the negative group ($P<0.05$). **Conclusion** The ICAM-1 expression in bronchial mucosa of asthmatic children is up-regulated. Inhibiting ICAM-1 can reduce the level of apoptosis induced by RSV in bronchial epithelial cells, down-regulate the levels of Cleaved Caspase-3 and NF- κ B p65 protein in bronchial epithelial cells, and reduce the secretion of inflammatory factors.

Key words: asthma; intercellular adhesion molecule-1; bronchial epithelial cells; apoptosis

哮喘是一种常见的呼吸系统疾病,其发病率呈上升趋势,给患者及其家庭带来严重影响^[1-4]。哮喘的发生与支气管上皮细胞凋亡有关,研究支气管上皮细胞凋亡水平对探讨哮喘的发病机制具有重要作用^[5]。细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule, ICAM-1) 属于免疫球蛋白超家族的成员之一,在呼吸道上皮反应中起重要作用,其在白细胞渗出、细胞信号转导、转录因子活化等过程中均起作用^[6]。呼吸道合胞病毒 (*respiratory syncytial virus*, RSV) 是诱发支气管炎、肺炎等呼吸系统疾病的主要原因,严重威胁免疫低下患者的生命健康^[7]。有研究显示,ICAM-1 在支气管上皮细胞黏附和炎症反应中具有重要作用,其还是多种病毒的受体蛋白^[8-9]。目前,ICAM-1 在支气管上皮细胞凋亡中的作用尚不清楚。本研究通过检测哮喘儿童支气管黏膜组织中 ICAM-1 水平,并用 RSV 感染支气管上皮细胞,探讨 ICAM-1 在哮喘支气管上皮细胞凋亡中的作用,以期研究哮喘的发病机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 收集驻马店市中心医院 2014 年 5 月至 2017 年 12 月收治的 28 例支气管哮喘儿童的支气管黏膜组织标本,男 16 例,女 12 例,年龄 4 ~ 13 (8.0 \pm 0.3) 岁;同时选取 28 例支气管扩张非哮喘儿童的支气管黏膜组织作为对照,男 13 例,女 15 例,年龄 6 ~ 14 (10.0 \pm 0.8) 岁。支气管黏膜组织来

源于纤维支气管镜检查,组织标本采集均征得患者及家属同意,并经医院医学伦理委员会批准同意。

1.2 细胞、试剂与仪器 支气管上皮细胞 16HBE 购自上海歌凡生物细胞库,RSV 由购自上海邦奕生物科技有限公司的酶联免疫吸附试验 (enzymelinked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒保存; ICAM-1 siRNA 购自上海西宝生物科技股份有限公司,反转录试剂盒购自德国 Qiagen 公司,实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒购自北京天根生化科技有限公司,白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 检测试剂盒购自美国 Abcam 公司,活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3 (cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase, Cleaved Caspase-3) 抗体、核因子- κ B p65 (nuclear factor- κ B p65, NF- κ B p65) 抗体购自美国 CTS 公司;紫外分光光度计 UV-2450 购自日本岛津公司,6 孔板细胞爬片购自上海晶安生物科技有限公司,流式细胞仪购自美国 Beckman 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 qRT-PCR 检测支气管黏膜组织中 ICAM mRNA 表达 按照 RNA 提取试剂盒说明书提取正常支气管黏膜组织和哮喘支气管黏膜组织中的 RNA,紫外分光光度计检测提取的 RNA 的浓度和纯度, -80 $^{\circ}$ C 保存。使用 cDNA 合成试剂盒进行反转

录,qRT-PCR 测定不同支气管黏膜组织中 ICAM-1 mRNA 的表达。ICAM-1 上游引物序列为 5'-GCGACCACGGACGGAATTTCT-3',下游引物序列为 5'-TCAGGACCCTAGTCGGAAGATCGA-3'。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)上游引物序列为 5'-CGGAGTCAA-CGGATTTGGTCGTAT-3',下游引物序列为 5'-AGC-CTTCTCCATGGTGGTGAAGAC-3'。qRT-PCR 反应程序为:94 ℃,45 s;58 ℃,60 s;72 ℃,80 s,共 35 个循环。以 GAPDH 为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算不同支气管黏膜组织中 ICAM-1 mRNA 表达水平。

1.3.2 Western blot 法检测支气管黏膜组织中 ICAM-1 蛋白表达 用蛋白提取试剂盒提取正常支气管黏膜组织和哮喘支气管黏膜组织中的总蛋白。用二喹啉甲酸法对蛋白进行定量检测。使用 6 孔板,每孔添加 30 μ g 的蛋白样品,与 Loading buffer 以同体积混合,100 ℃煮沸 5 min。给予 90 V 电压,电泳至溴酚蓝达到分离胶和浓缩胶边缘时,将电压调整至 120 V,继续电泳至溴酚蓝进入分离胶的底部。在室温条件下,50 g · L⁻¹ 牛血清白蛋白封闭 90 min,同时分别加入 ICAM-1 一抗(1:1 000)、GAPDH 一抗(1:1 000),4 ℃下反应过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2 000)室温孵育 90 min。Osyssey 扫描图像,ICAM-1 蛋白相对表达量 = ICAM-1 灰度值/GAPDH 灰度值。

1.3.3 细胞培养与分组 支气管上皮细胞 16HBE 用含体积分数 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养。将正常培养的支气管上皮细胞 16HBE 分为对照组、感染组、阴性组和干扰组。对照组细胞正常培养,不做任何处理;感染组细胞感染 RSV,但不进行转染;阴性组细胞转染 siRNA-control 后感染 RSV;干扰组细胞转染 ICAM-1 siRNA 后感染 RSV。当支气管上皮细胞 16HBE 融合为 60% 时,用 Lipofectamine 2000 进行转染,步骤参照转染试剂盒说明书。RSV 感染步骤参照文献[10],当 16HBE 细胞融合为 65% 左右时,加入不含血清的培养液洗涤 3 次,在细胞中添加感染复数 = 0.006 7 的 RSV 病毒悬浮液(用不含血清的培养液配制),37 ℃孵育 2 h。用不含血清的培养液洗涤细胞 2 次,加入细胞培养液继续培养。

1.3.4 qRT-PCR 和 Western blot 法检测各组细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白水平 各组细胞干预处理后继续培养 48 h,qRT-PCR 和 Western blot 法检测细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白水平,步骤同“1.3.1、1.3.2”项。

1.3.5 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况 对照组、感染组、阴性组、干扰组干预处理后继续培养

48 h,收集细胞,加入胰蛋白酶消化,1 000 r · min⁻¹离心 10 min,弃上清液,加入预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)将细胞重悬后,1 000 r · min⁻¹离心 10 min,弃上清液,加入 5 μ L 碘化丙啶(propidium iodide, PI)、5 μ L 膜联蛋白(Annexin)-V-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)(Annexin-V-FITC),室温、避光反应 20 min,再加入 400 μ L 结合缓冲液,1 h 内用流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况。

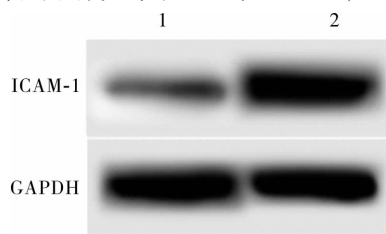
1.3.6 ELISA 法检测各组细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平 对照组、感染组、阴性组、干扰组细胞在干预处理后继续培养 48 h,收集各组细胞培养基上清液,ELISA 法测定培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平,严格按照 IL-1 β 和 TNF- α 检测试剂盒说明书进行操作。

1.3.7 Western blot 法检测各组细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平 对照组、感染组、阴性组、干扰组细胞在干预处理后继续培养 48 h,收集各组细胞,提取细胞中的总蛋白,用 Western blot 法检测细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平,Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 一抗分别以 1:800 和 1:600 稀释,其他步骤同“1.3.2”项。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 21.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著性差异 *t* 检验;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ICAM-1 mRNA 和蛋白在不同支气管黏膜中表达比较 结果见图 1。正常支气管黏膜组织和哮喘支气管黏膜组织中 ICAM-1 mRNA 的表达水平分别为 1.00 ± 0.13 和 2.64 ± 0.25 ,ICAM-1 蛋白表达水平分别为 0.32 ± 0.02 和 1.05 ± 0.14 。哮喘支气管黏膜组织中 ICAM-1 mRNA 和蛋白水平显著高于正常支气管黏膜组织,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。



1:正常支气管黏膜组织;2:哮喘支气管黏膜组织。

图 1 不同支气管黏膜组织中 ICAM-1 蛋白表达(Western blot)

Fig. 1 Expression of ICAM-1 protein in different bronchial mucosa tissues(Western blot)

2.2 各组支气管上皮细胞 16HBE 中 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达比较 结果见图 2。对照组、感染组、阴性组、干扰组细胞中 ICAM-1 mRNA 表达水平分别为 1.00 ± 0.12 、 2.17 ± 0.23 、 2.15 ± 0.20 、 1.58 ± 0.11 , ICAM-1 蛋白表达水平分别为 0.25 ± 0.03 、 1.03 ± 0.07 、 1.02 ± 0.09 、 0.47 ± 0.05 。感染组、阴性组、干扰组细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白表达水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干扰组细胞中 ICAM-1 mRNA 和蛋白水平均显著低于感染组和阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 各组支气管上皮细胞 16HBE 细胞凋亡率比较 结果见图 3。对照组、感染组、阴性组、干扰组细胞凋亡率分别为 $(7.62 \pm 0.71)\%$ 、 $(28.32 \pm 2.17)\%$ 、

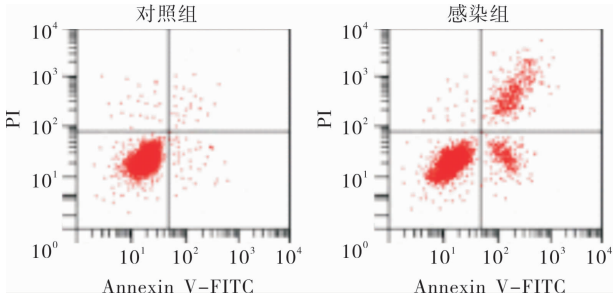
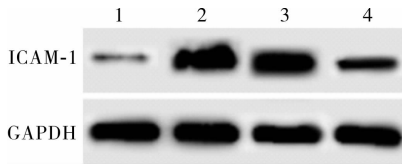


图 3 流式细胞术检测各组支气管上皮细胞细胞凋亡情况
Fig.3 Apoptosis of bronchial epithelial cells in each group detected by flow cytometry

2.4 各组支气管上皮细胞 16HBE 培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平比较 对照组、感染组、阴性组、干扰组细胞培养基上清液中 IL-1 β 水平分别为 1.11 ± 0.10 、 1.62 ± 0.08 、 1.66 ± 0.12 、 1.35 ± 0.08 , TNF- α 水平分别为 1.64 ± 0.13 、 2.38 ± 0.21 、 2.39 ± 0.20 、 2.01 ± 0.12 。感染组、阴性组、干扰组细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干扰组细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平显著低于感染组和阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

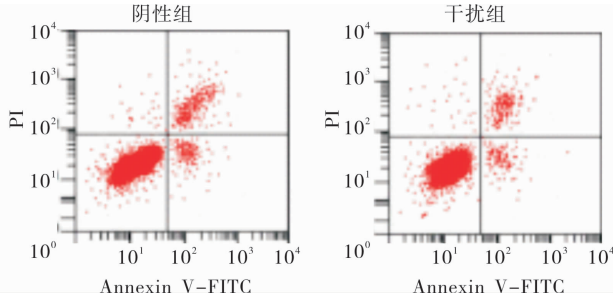
2.5 各组支气管上皮细胞 16HBE 中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平比较 结果见图 4。对照组、感染组、阴性组、干扰组细胞中 Cleaved Caspase-3 蛋白水平分别为 0.26 ± 0.05 、 0.84 ± 0.09 、 0.87 ± 0.04 、 0.48 ± 0.06 , NF- κ B p65 蛋白水平分别为 0.28 ± 0.04 、 0.89 ± 0.07 、 0.86 ± 0.06 、 0.64 ± 0.05 。感染组、阴性组、干扰组细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干扰组细胞 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平显著低于感染组和阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

$(27.49 \pm 2.40)\%$ 、 $(14.38 \pm 1.22)\%$ 。感染组、阴性组、干扰组细胞凋亡率显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);干扰组细胞凋亡率显著低于感染组和阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



1:对照组;2:感染组;3:阴性组;4:干扰组。
图 2 各组支气管上皮细胞中 ICAM-1 蛋白表达 (Western blot)

Fig. 2 Expression of ICAM-1 protein of bronchial epithelial cells in each group (Western blot)



1:对照组;2:感染组;3:阴性组;4:干扰组。
图 4 各组支气管上皮细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 蛋白表达 (Western blot)

Fig. 4 Expression of Cleaved Caspase-3 and NF- κ B p65 protein bronchial epithelial cells in each group (Western blot)

3 讨论

支气管哮喘是一种呼吸道免疫炎症相关的疾病,其发生与肥大细胞、T 淋巴细胞、呼吸道上皮细胞等多种细胞有关^[11-12]。ICAM-1 在内皮细胞、白细胞、上皮细胞等细胞中广泛表达,属于免疫球蛋白超家族,参与细胞的识别、信号转导、活化增殖与分化,以及细胞的伸展和转移、免疫应答、肿瘤转移等一系列重要的生理和病理过程^[13]。正常情况下,ICAM-1 表达水平较低,而在发生炎症反应时,多种细胞因子

作用于上皮细胞,诱导 ICAM-1 表达,进一步引起炎症因子释放^[14-15]。研究显示,大鼠敲除 ICAM-1 基因后,基因缺陷的大鼠呼吸道内炎症程度明显降低,提示抑制 ICAM-1 的表达可以降低哮喘呼吸道炎症细胞的浸润,减轻哮喘症状^[16]。唐力琼等^[17]研究表明,用 RSV 诱导大鼠发生哮喘后,大鼠肺组织中 ICAM-1 水平升高,使用咳嗽宁治疗后,哮喘大鼠肺组织中 ICAM-1 水平下降。本研究收集了哮喘儿童支气管黏膜组织和非哮喘儿童支气管黏膜组织,用 qRT-PCR 和 Western blot 检测发现,ICAM-1 在哮喘儿童支气管黏膜组织中的表达水平高于非哮喘儿童支气管黏膜组织,提示 ICAM-1 在哮喘儿童支气管黏膜组织中表达上调。

呼吸道上皮细胞能够将外界环境中的有害物质隔离,形成免疫屏障,也是机体对抗病毒等物质的机械屏障^[18]。正常情况下,呼吸道上皮完整的组织结构可以保护微环境的稳定。当受到外界环境刺激后,呼吸道上皮细胞作为效应细胞合成黏附因子等多种细胞分子,参与免疫反应^[19]。RSV 感染后可诱导呼吸道上皮细胞发生损伤,破坏细胞骨架,导致呼吸道上皮组织完整性受到破坏,引起肺炎、支气管炎、哮喘等疾病的发生^[20]。本研究结果显示,RSV 感染后的支气管上皮细胞凋亡率增加,细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平也升高,而下调 ICAM-1 后,细胞凋亡率有所降低,细胞培养基上清液中 IL-1 β 、TNF- α 水平下降,说明下调 ICAM-1 可以缓解 RSV 诱导的支气管上皮细胞损伤。

NF- κ B 与炎症因子、趋化因子等多种细胞因子的分泌有关,其在正常情况下以非活性形式存在于细胞质内,当细胞受到外界环境刺激后可以被激活进入到细胞核内,影响靶基因的转录,调控细胞的生长、凋亡等过程^[21]。NF- κ B p65 是 NF- κ B 发挥生物学活性所必需的亚单位^[22]。研究显示,NF- κ B p65 在哮喘儿童肺组织中表达上调,在呼吸道上皮细胞中广泛表达^[23]。Caspase-3 参与支气管上皮细胞的凋亡过程,是 Caspase 凋亡级联反应中的凋亡执行子,其活化成为 Cleaved Caspase-3 后可以诱导细胞凋亡的发生^[24-26]。本研究结果显示,RSV 感染后的支气管上皮细胞中 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 水平升高,而下调 ICAM-1 后,支气管上皮细胞经 RSV 感染,细胞中的 Cleaved Caspase-3、NF- κ B p65 水平下降,提示下调 ICAM-1 可以通过降低 Caspase-3 活化水平抑制 RSV 诱导的支气管上皮细胞凋亡,其作用机制还可能与 NF- κ B p65 有关。

综上所述,ICAM-1 在哮喘儿童支气管黏膜组织中过度表达,参与哮喘的发生,在 RSV 诱导的支气

管上皮细胞凋亡和炎症因子分泌中具有重要作用,而其具体作用机制仍需进一步研究。本研究为今后研究哮喘的发病机制及靶向 ICAM-1 减少哮喘支气管上皮细胞损伤提供了理论基础。

参考文献:

- [1] LIN Y L, CHEN S H, WANG J Y. Critical role of IL-6 in dendritic cell-induced allergic inflammation of asthma [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(1): 51-59.
- [2] 杨哲, 宋欣, 李硕, 等. 支气管哮喘控制患儿小气道功能状况及影响因素分析 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(16): 1244-1247.
- [3] SHIOBARA T, CHIBANA K, WATANABE T, et al. Dipeptidyl peptidase-4 is highly expressed in bronchial epithelial cells of untreated asthma and it increases cell proliferation along with fibronectin production in airway constitutive cells [J]. *Respir Res*, 2016, 17(1): 1-11.
- [4] 冯媛元, 李晓泳, 宋春兰, 等. ADRB2 基因多态性与儿童支气管哮喘易感及耐药的相关性 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(16): 1237-1241.
- [5] VIGNOLA A M, CHIAPPARA G, SIENA L, et al. Proliferation and activation of bronchial epithelial cells in corticosteroid-dependent asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(5): 738-746.
- [6] BLUME C, REALE R, HELD M, et al. Cellular crosstalk between airway epithelial and endothelial cells regulates barrier functions during exposure to double-stranded RNA [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2016, 5(1): 45-56.
- [7] 杨丽华, 张国成. 呼吸道合胞病毒感染与支气管哮喘发病机制研究进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(21): 1675-1677.
- [8] 邓艳凤, 朱黎明. ICAM-1 与支气管哮喘的研究进展 [J]. 临床与病理杂志, 2015, 35(1): 150-154.
- [9] 古力鲜·马合木提, 李新, 张慧, 等. VEGF、ICAM-1、IL-13 及 IL-17 在慢阻肺、支气管哮喘及慢阻肺合并哮喘患者中的表达及意义 [J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(9): 1563-1566.
- [10] GUO X, LIU T, SHI H, et al. Respiratory syncytial virus infection upregulates NLRC5 and MHC I expression through RIG-I induction in airway epithelial cells [J]. *J Virol*, 2015, 89(15): 7636-7645.
- [11] GOBEL J, GARTLAND M, GURLEY S H, et al. A phenotypic high-throughput screen with RSV-infected primary human small airway epithelial cells (SAECs) [J]. *Screen J Biomol*, 2015, 20(6): 729-738.
- [12] 马玉梅, 张建华. 鼻病毒感染与支气管哮喘研究进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(21): 1678-1680.
- [13] 李静, 葛心, 马建民, 等. 特发性眼眶炎性假瘤患者血清细胞间黏附分子-1 水平及其临床意义 [J]. 眼科新进展, 2015, 35(1): 39-41.
- [14] RELOVA A J, SHAHANA S, MAKEEVA N, et al. Effect of cytokines on ICAM-1 and ZO-1 expression on human airway epithelial cells [J]. *Cell Biol Int*, 2013, 29(9): 768-777.

(下转第 135 页)

[8]

HUSE J T, BRENNAN C, HAMBARDZUMYAN D, *et al.* The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis *in vivo* [J]. *Genes Dev*, 2009, 23 (11) : 1327.

[9]

JI J, SHI J, BUDHU A, *et al.* MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361 (15) : 1437.

[10]

KOTA J, CHIVUKULA R R, O'DONNELL K A, *et al.* Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model [J]. *Cell*, 2009, 137 (6) : 1005-1017.

[11]

SANDER S, BULLINGER L K, FIEDLER K, *et al.* MYC stimulates EZH2 expression by repression of its negative regulator miR-26a [J]. *Blood*, 2008, 112 (10) : 4202.

[12]

CIARAPICA R, RUSSO G, VERGINELLI F, *et al.* Deregulated expression of miR-26a and Ezh2 in Rhabdomyosarcoma [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8 (1) : 172-175.

[13]

李勇,徐卫星,徐军,等. miR-101 表达上调对视网膜母细胞瘤细胞的增殖及侵袭能力的抑制作用 [J]. 眼科新进展, 2018, 38 (6) : 527-532.

[14]

王永晶,李娜. miR-194 在葡萄膜黑色素瘤细胞系中的表达及对细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响 [J]. 眼科新进展, 2018, 38 (11) : 1033-1036.

[15]

王建民,高鹏,刘杰慧,等. miR-373 在视网膜母细胞瘤 Y79 细胞中的表达及其抑制侵袭及迁移能力的实验研究 [J]. 眼科新进展, 2018, 38 (10) : 947-950.

[16]

邓静静. MiR-26a 对胰腺癌生物学特性的影响及机制研究 [D]. 广州:第二军医大学, 2012.

[17]

赵文涛. miR-26a 抑制肝癌细胞增殖并促进其迁移及侵袭 [D]. 广州:南方医科大学, 2013.

[18]

杨璐西,翟东霞,张丹英,等. miR-26a 对子宫肌瘤细胞周期和增殖的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16 (22) : 4224-4227.

(本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博)

(上接第 130 页)

[15]

CAO J, WONG C K, YIN Y, *et al.* Activation of human bronchial epithelial cells by inflammatory cytokines IL-27 and TNF-alpha; implications for immunopathophysiology of airway inflammation [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 223 (3) : 788-797.

[16]

BOURDILLON M C, POSTON R N, COVACHO C, *et al.* ICAM-1 deficiency reduces atherosclerotic lesions in double-knockout mice (ApoE^{-/-}/ICAM-1^{-/-}) fed a fat or a chow diet [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 144 (12) : 2630-2635.

[17]

唐力琼,李英,罗银河,等. 咳喘宁对 RSV 诱发哮喘大鼠 ICAM-1 表达的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36 (10) : 27-30.

[18]

刘斌,刘鑫,罗晓青,等. 气道上皮细胞在哮喘中的作用 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13 (8) : 1583-1585.

[19]

HIROTA J A, KNIGHT D A. Human airway epithelial cell innate immunity; relevance to asthma [J]. *Curr Opin Immunol*, 2012, 24 (6) : 740-746.

[20]

YAMADA Y, MATSUMOTO K, HASHIMOTO N, *et al.* Effect of Th1/Th2 cytokine pretreatment on RSV-induced gene expression in airway epithelial cells [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2011, 154 (3) : 185-194.

[21]

WHITE S R, FISCHER B M, MARROQUIN B A, *et al.* Interleukin-1 beta mediates human airway epithelial cell migration via NF-kappaB [J]. *Am J Physiol Mol Physiol Cell Lung*, 2008, 295 (6) : 1018-1027.

[22]

ZHANG T, YANG S, DU J, *et al.* Platycodin D attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma by regulation NF-kB pathway [J]. *Inflammation*, 2015, 38 (3) : 1221-1228.

[23]

王金磊,李承德,孙宏伟,等. 黄芪多糖抑制 NF-kB/MAPK 信号通路和改善哮喘大鼠气道炎症的作用 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32 (4) : 489-493.

[24]

黄虎翔,张万明,王辉. 白细胞介素-4、干扰素-γ 及核因子-κB p65 在解淀粉芽孢杆菌致 BALB/c 小鼠哮喘模型中的表达 [J]. 新乡医学院学报, 2017, 34 (1) : 18-21.

[25]

MEURER S K, WEISKIRCHEN R. Primary peritoneal mast cells (PMC) reduce the fibrogenic response of hepatic stellate cells while inducing caspase 3 cleavage and activity [J]. *Zeitschrift Für Gastroenterologie*, 2016, 54 (12) : 1343-1404.

[26]

FANZO J C, REAVES S K, CUI L, *et al.* Zinc status affects p53, gadd45, and c-fos expression and caspase-3 activity in human bronchial epithelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 281 (3) : 751-757.

(本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博)