

钙池操纵性钙通道抑制剂 SKF96365 对慢性哮喘小鼠气道重塑和气道高反应性的作用

武汉大学中南医院 曹欢 王泽民 谢宝娟 朱芳芳 李瑞婷 杨炯 高亚东*, 武汉 430071

摘要 目的:观察钙池操纵性钙通道抑制剂 SKF96365 对小鼠慢性哮喘模型气道重塑和气道高反应性的影响。方法:用鸡卵清白蛋白(OVA)致敏和激发小鼠,建立慢性哮喘模型,33 只雌性 BALB/c 小鼠随机分为 3 组:对照组、哮喘组、SKF96365 组,每组 11 只,其中 SKF96365 组于每次激发前 30 min 给予 SKF96365 (10mg/kg) 干预。哮喘组和 SKF96365 组于第 0、7、14 d 腹腔注射(i.p.)200 μ L 致敏液(含 OVA 粉剂 20 μ g、氢氧化铝凝胶 2 mg);自第 21 天起,腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(70mg 戊巴比妥钠/kg 小鼠体重)麻醉小鼠后,OVA(40 μ g)滴鼻(i.n.),连续 6 周,每周 3 次,共 18 次。对照组则在相同时间给予相应剂量的生理盐水腹腔注射和滴鼻。最后一次激发后 24 h,各组分别随机取 5 只小鼠用于检测组织病理学变化,另 6 只小鼠采用 Buxco 小动物肺功能仪检测气道高反应性。其中组织病理学检测计算杯状细胞(过碘酸希夫染色阳性,PAS+)、胶原细胞(Masson 阳性)和平滑肌细胞(α -SMA 阳性)阳染面积/支气管基底膜周长值来评估小鼠气道重塑;观察给予不同浓度乙酰甲胆碱雾化时的气道阻力(resistance index, RI)最大值,评估小鼠气道高反应性。结果:对照组未见 PAS 阳性染色区域,哮喘组和 SKF96365 组杯状细胞增生高于对照组($7.29 \pm 2.04, 4.49 \pm 1.70$ vs 0.00 ± 0.00 , 均 $P < 0.01$),且 SKF96365 组低于哮喘组($P < 0.05$)。Masson 染色显示哮喘组和 SKF96365 组上皮下胶原沉积高于对照组($9.23 \pm 1.41, 7.30 \pm 1.33$ vs 1.60 ± 0.77 , 均 $P < 0.01$),且 SKF96365 组低于哮喘组($P < 0.05$)。 α -SMA 免疫组化显示哮喘组和 SKF96365 组平滑肌增生肥大高于对照组($4.54 \pm 1.05, 3.15 \pm 0.57$ vs 1.97 ± 0.69 , 均 $P < 0.05$),且 SKF96365 组低于哮喘组($P < 0.05$)。当乙酰甲胆碱(Mch) ≤ 6.25 mg/mL 时,3 组小鼠气道阻力无显著差异($P > 0.05$),当 25 mg/mL $> \text{Mch} \geq 12.25$ mg/mL 时,哮喘组小鼠气道阻力明显大于对照组小鼠($P < 0.001$),当 $\text{Mch} \geq 25$ mg/mL 时,哮喘组小鼠气道阻力大于 SKF96365 组($P < 0.05$)。结论:采用 SKF96365 干预后,慢性哮喘小鼠气道重塑和气道高反应性指标均有改善,提示 SKF96365 可能对哮喘气道重塑和气道高反应性具有抑制作用。

关键词 哮喘; 气道重塑; 气道高反应性; 钙池操纵性钙通道; SKF96365

中图分类号 R562.2⁺5 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20180322

Effect of store-operated calcium blocker SKF96365 on airway remodeling and airway hyperresponsiveness in mice with chronic asthma CAO Huan, WANG Yi-min, XIE Bao-juan, ZHU Fang-fang, LI Rui-ting, YANG Jiong, GAO Ya-dong*. Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract Objective: To investigate the effects of store operated calcium channel blocker SKF96365 on airway remodeling and airway hyperresponsiveness in mice model of chronic asthma. Methods: Thirty-three female BALB/c mice were randomly divided into three groups (11 mice in each group): control group, asthma group and SKF96365 group. The animals in asthma group and SKF96365 group were sensitized and challenged with ovalbumin (OVA) to establish asthma model, and those in control group were given normal saline. The mice in the SKF96365 group were intraperitoneally injected with SKF96365 (10 mg/kg) 30 min before OVA challenge. The asthma group and SKF96365 group were intraperitoneally injected with 20 g OVA emulsified in 2 mg alum in a total volume of 200 on days 0, 7 and 14. These mice were then challenged by intranasal administration with OVA (40) for 6 weeks, 3 times per week after anesthesia. The control group received normal saline at the same time. After last challenge periodic acid-Schiff (PAS) staining was performed to evaluate goblet cell hyperplasia, and Masson-trichrome staining to evaluate the deposition of collagen matrix. In addition, immunohistochemistry on the α -smooth muscle actin (α -SMA) was applied to examine airway smooth muscle cell hyperplasia and hypertrophy. The positive staining with PAS, Masson, α -SMA areas vs homologous bronchial basement membrane perimeter ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$) was used to indicate the degree of airway remodeling. Airway resistance index (RI) of expiratory phase with different doses of acetyl- β -methylcholine chloride (Mch) was measured. Results: In the asthma group and the SKF96365 group, the degree of the goblet cell hyperplasia was significantly higher than that in the control group ($7.29 \pm 2.04, 4.49 \pm 1.70$ vs 0.00 ± 0.00 ,

* 通信作者:高亚东, E-mail: gaoyadong@whu.edu.cn

$P < 0.01$), and the level of goblet cell hyperplasia in the SKF96365 group was lower than that in the asthma group ($P < 0.05$). The Masson staining showed that the deposition of collagen in the asthma group and the SKF96365 group was significantly higher than that in the control group ($9.23 \pm 1.41, 7.30 \pm 1.33$ vs $1.60 \pm 0.77, P < 0.01$), and the collagen deposition in the SKF96365 group was further lower than that in the asthma group ($P < 0.05$). The α -SMA immunohistochemistry demonstrated that the expression of α -SMA in the asthma group and the SKF96365 group was significantly higher than that in the control group ($4.54 \pm 1.05, 3.15 \pm 0.57$ vs $1.97 \pm 0.69, P < 0.05$), and the level of α -SMA in the SKF96365 group was also lower than that in the asthma group ($P < 0.05$). The RI of the three groups showed no significant difference ($P > 0.05$) when Mch dose was below or equal to 6.25 mg/mL. Compared with the control group, the RI in the asthma group increased ($P < 0.001$) when Mch dose was more than or equal to 12.25 mg/mL. Compared with the asthma group, the RI in the SKF96365 group decreased ($P < 0.05$) when Mch dose was more than or equal to 25 mg/mL. Conclusion: Our findings suggest that SKF96365 has an inhibitory effect on airway remodeling and airway hyperresponsiveness in mice with allergic asthma, indicating a possible role of store operated calcium channel in airway remodeling and airway responsiveness of asthma.

Key words Asthma; Airway remodeling; Airway hyperresponsiveness; Store operated calcium channel; SKF96365

支气管哮喘是一种常见的慢性气道炎症性疾病^[1]。其主要特征包括气道炎症、气道高反应性、气道重塑等。哮喘气道重塑的结构变化包括上皮损伤、上皮下胶原沉积、气道平滑肌增生肥大、活化的成纤维细胞和肌成纤维细胞数量增加、杯状细胞增殖和黏液分泌增加、新生血管增多等^[2,3]。气道重塑会引起不可逆性气流受限和持续的气道高反应性^[4],且对激素治疗不敏感,是目前哮喘防控的难点。

钙池操纵性钙通道(store operated calcium channel, SOCC)是非兴奋细胞 Ca^{2+} 内流的主要通道,分布于平滑肌细胞、上皮细胞、内皮细胞、T 淋巴细胞等。SOCC 参与调控基因表达,调节免疫反应,也与平滑肌的收缩与增殖、血小板功能调节、细胞迁移及肿瘤、脑功能等有关^[5,6]。已有研究显示抑制 SOCC 可减轻哮喘气道炎症和气道高反应性,并提示 SOCC 可能参与哮喘气道重塑^[7]。高亚东等^[8-10]证实抑制 SOCC 可以减轻转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 和白介素 13 (Interleukin-13, IL-13) 介导的气道平滑肌细胞的增殖。Jairaman 等^[11]证实 SOCC 介导过敏原刺激气道上皮细胞产生气道炎症。SOCC 还可通过多种途径影响气道上皮细胞参与哮喘气道炎症和气道重塑^[12]。Xiao yi 等^[13]证实以 SOCC 抑制剂 SKF96365 干预小鼠肾纤维化模型,可减轻其肾纤维化程度。本研究观察 SOCC 抑制剂 SKF96365 对小鼠慢性哮喘模型

的干预作用,报道如下。

材料与方法

材料 鸡卵清白蛋白(OVA)粉剂(美国 Sigma-Aldrich 公司);SKF96365(美国 Selleck 公司);注射用氢氧化铝凝胶(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); α -SMA 鼠抗人多克隆抗体(丹麦 Dako 公司)。

动物分组及制模 SPF 级 6 ~ 8 周龄雌性 BALB/c 小鼠[购自北京维通利华实验动物技术有限公司 许可证号:SCXK(京)2016-0011],体重(20 ± 1)g,饲养于武汉大学 A3 实验动物中心。7 d 适应性饲养之后进行实验。33 只小鼠按随机数字表法分为 3 组,即对照组、哮喘组、SKF96365 组,每组 11 只。建立哮喘模型方法参照^[14]。哮喘组和 SKF96365 组于第 0、7、14 天腹腔注射(i.p.)200 μL 致敏液(含 OVA 粉剂 20 μg 、氢氧化铝凝胶 2 mg);自第 21 天起,腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(70 mg/kg 小鼠体重)麻醉小鼠后,OVA(40 μg)滴鼻(i.n.),连续 6 周,每周 3 次,共 18 次。对照组则在相同时间给予相应剂量的生理盐水腹腔注射和滴鼻。每次激发前 30 min,SKF96365 组腹腔注射溶于 PBS 的 SKF96365(10 mg/kg)。哮喘组和 SKF96365 组小鼠经 OVA 激发后,小鼠出现呛咳、喘息、呼吸困难,部分小鼠可闻及哮鸣音,哮喘急性发作症状较明显。哮喘模型建立及干预流程,见图 1。

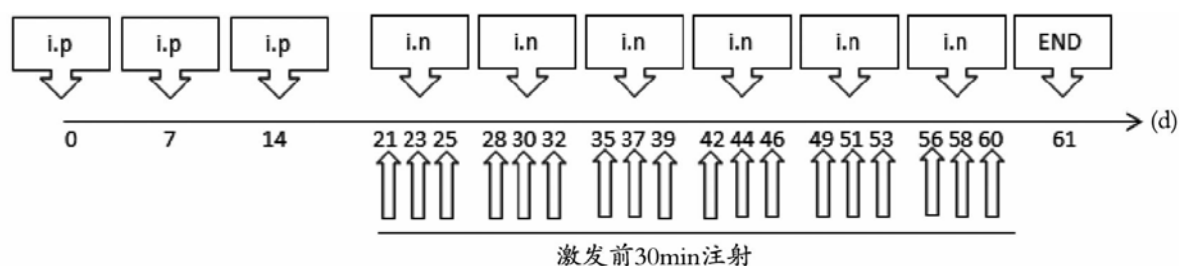


图1 慢性哮喘小鼠模型建立及干预过程

气道高反应性测定 采用 Buxco 小动物肺功能仪检测各组小鼠的气道高反应性。具体方法如下: 1% 戊巴比妥钠 (70 mg 戊巴比妥钠/kg 小鼠体重) 腹腔注射麻醉小鼠, 完全麻醉后行气管插管, 置于密闭体描箱中并将气管插管连接至微型呼吸机, 呼吸频率设置为 140 ~ 150 次/min, 流量调定以小鼠潮气量达到 0.13 ~ 0.15 mL 为准。随后给予 PBS 和不同浓度 (3.125 mg/mL、6.25 mg/mL、12.5 mg/mL、25 mg/mL、50 mg/mL) 的乙酰甲胆碱, 每次乙酰甲胆碱雾化 30 s, 反应记录时间为 3 min, 恢复至基线时间为 4 min。采用气道阻力指数 (RI) 评价气道高反应性。

标本制备 最后一次激发 24 h 后颈椎脱臼处死小鼠, 开胸取出肺组织, 4% 中性甲醛固定肺组织 24 h, 石蜡包埋, 切片机切取肺组织块制片, 行 PAS 染色、Masson 染色及 α -SMA 免疫组化测定^[15]。

杯状细胞 PAS 染色 石蜡切片脱蜡至水, 0.5% 高碘酸水溶液氧化 10 min。流水冲洗数分钟, 蒸馏水换洗 2 次。切片入雪夫试剂暗处浸染 15 ~ 30 min。流水冲洗 10 min。苏木素复染核 1 ~ 2 min。自来水洗, 1% 的盐酸酒精分化数秒, 自来水冲洗, 流水冲洗数分钟返蓝。脱水封片。显微镜 (Olympus, DP80) 下观察每张切片, 随机选择 3 个直径 150 ~ 300 μ m 且支气管结构较完整的图像 (高倍视野 200 $\times$)。使用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算 PAS 阳染面积/支气管基底膜周长比 ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$)^[16]。

胶原 Masson 染色 石蜡切片脱蜡至水, Weigert 氏铁苏木素染 5 min, 自来水洗, 1% 的盐酸酒精分化数秒, 自来水冲洗, 流水冲洗数分钟返蓝。丽春红酸性品红液染 10 min, 蒸馏水快速漂洗。磷钼酸水溶液处理约 5 min。苯胺蓝液复染 5 min。1% 冰醋酸处理 1 min。脱水封片。以上方法参考^[17]。使用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算 Masson 阳染面积/支气管基底膜周长比 ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$)。

支气管平滑肌 α -SMA 免疫组织化学染色 石

蜡切片置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘片 2 h, 脱蜡至水, 用 PBS 洗 3 次, 每次 5 min。切片置于 EDTA 缓冲液中微波修复, 中火至沸后断电, 间隔 10 min 低火至沸。自然冷却后 PBS 洗 3 次, 每次 5 min。切片置于 3% 过氧化氢溶液中, 室温下避光孵育 10 min。PBS 洗 3 次, 每次 5 min, 甩干后 5% BSA 封闭 20 min。去除 BSA 液, 每张切片加入约 50 μL 稀释鼠抗 α -SMA 抗体覆盖组织, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。PBS 洗 3 次, 每次 5 min。去除 PBS 液, 每张切片加 100 μL 过氧化物酶标记的 IgE 二抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 50 min。PBS 洗 3 次, 每次 5 min。去除 PBS 液, 每张切片加 50-100 μL 新鲜配制 DAB 溶液, 显微镜控制显色。显色完全后, 蒸馏水或自来水冲洗, 苏木素复染, 1% 盐酸酒精分化 (约 1 s), 自来水冲洗, 氨水返蓝, 流水冲洗。脱水、透明并封闭固定封片。使用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算 α -SMA 阳性面积/支气管基底膜周长比 ($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$)。

统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计学软件, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组均数间比较采用独立样本的 t 检验, 多组均数间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 GraphPad Prism 5 软件制作统计图。

结 果

支气管黏膜杯状细胞增生 杯状细胞 PAS 染色后呈紫色, 对照组未见 PAS 阳性区域, 哮喘组 (7.29 ± 2.04) 和 SKF96365 组 (4.49 ± 1.70) 较对照组 (0.00 ± 0.00) 杯状细胞增生均明显 (均 $P < 0.01$), 且 SKF96365 组杯状细胞增生情况较哮喘组明显减轻 ($P < 0.05$), 见图 2。

支气管上皮下胶原沉积 Masson 染色紫色区域即上皮下胶原。Masson 染色显示哮喘组 (9.23 ± 1.41) 和 SKF96365 组 (7.30 ± 1.33) 支气管上皮下胶原较对照组 (1.60 ± 0.77) 沉积均明显加重 (均 $P < 0.01$), 且 SKF96365 组较哮喘组明显减轻 ($P < 0.05$), 见图 3。

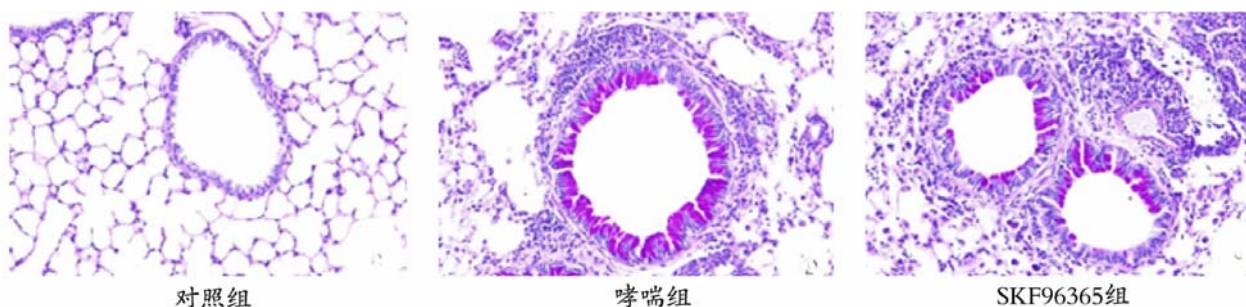


图 2 3 组小鼠支气管黏膜杯状细胞增生像 (PAS $\times 200$)

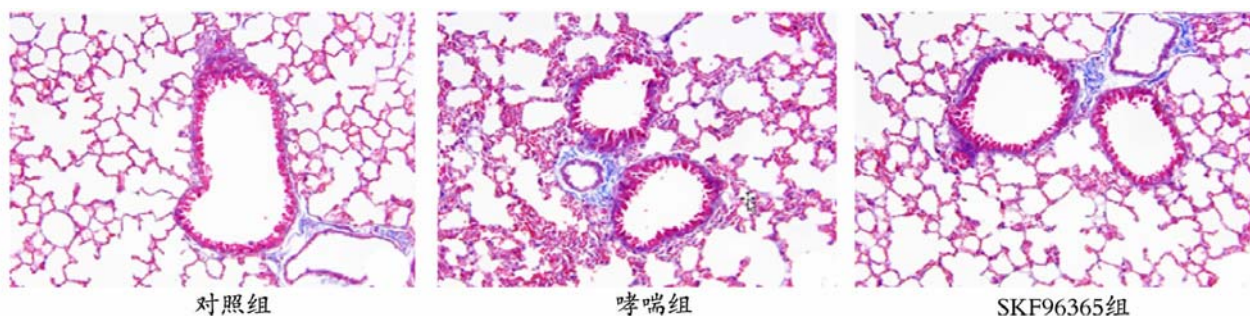
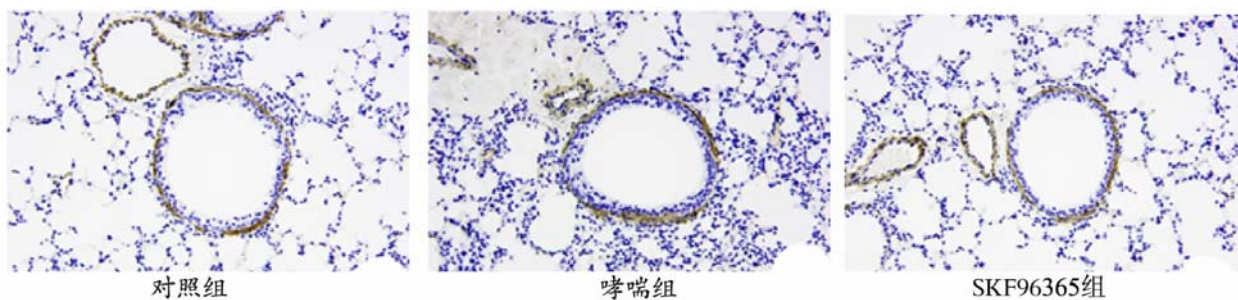


图3 3组小鼠支气管上皮胶原沉积(Masson ×200)

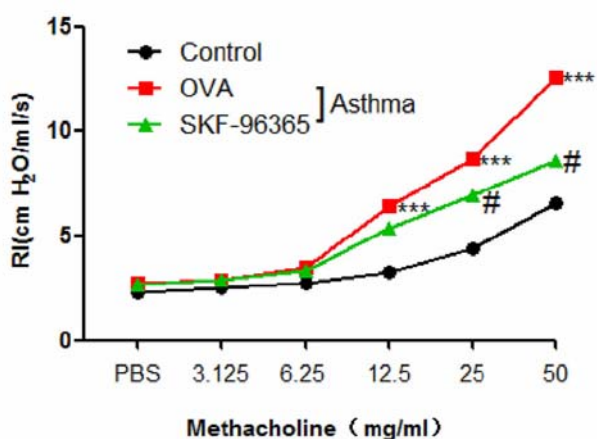
支气管平滑肌增生 支气管 α -SMA 阳性区域呈棕色。 α -SMA 免疫组化分析显示哮喘组(4.54 ± 1.05)和 SKF96365 组(3.15 ± 0.57)支气管平滑肌增生较对照组(1.97 ± 0.69)均明显加重(均 $P < 0.05$),且 SKF96365 组较哮喘组明显减少($P < 0.05$),见图 4。

哮喘小鼠气道高反应性的变化 RI 结果显示,

随着 Mch 浓度递增,RI 值逐渐增加,且哮喘组小鼠增加更为明显。Mch ≤ 6.25 mg/mL 时,各组小鼠 RI 值均无显著差异($P > 0.05$)。当 Mch ≥ 12.25 mg/mL 时,哮喘组小鼠气道阻力明显大于对照组小鼠($P < 0.001$)。当 Mch ≥ 25 mg/mL 时,哮喘组小鼠气道阻力大于 SKF96365 组($P < 0.05$),见图 5。



注:对照组仅有少量支气管平滑肌增生,SKF96365 组支气管平滑肌增生少于哮喘组

图4 3组小鼠支气管平滑肌 α -SMA 表达(DAB ×200)

注:气道阻力以 RI 表示,采用 Mch 按 2 倍浓度梯度进行激发。与对照组比较,* $P < 0.001$;与哮喘组比较,# $P < 0.05$

图5 3组小鼠气道反应性

讨论

气道重塑是哮喘的重要特征之一,也是导致不可逆性气流受限和哮喘高反应性的机制之一。气道平滑肌增殖、肥大、迁移是哮喘气道重塑最显著的特

征之一,这种特征在难治性哮喘和致死性哮喘中表现更为突出^[18,19]。气道平滑肌增殖导致气道管壁增厚,管腔狭窄,气道收缩力增强。气道杯状细胞增殖,气道黏液分泌增多是气道重塑的另一特征^[20]。气道黏液高分泌,特别是黏液栓形成,导致气道阻塞甚至窒息,与临床转归密切相关^[21]。气道上皮下胶原沉积、纤维化导致基底膜增厚,是气道狭窄、气道阻力增加的病理机制之一。所以抑制或者减轻气道重塑是哮喘防控的重要目标。

既往研究在细胞层面证实 SOCC 可通过影响气道平滑肌细胞、气道上皮细胞、树突状细胞和循环纤维细胞参与哮喘气道炎症,影响气道重塑^[8~10],但尚缺乏整体实验证明。本研究显示,相对于正常对照组,哮喘组小鼠上皮下胶原沉积增多,杯状细胞增殖,平滑肌肥大增殖,气道阻力增加,说明慢性哮喘模型制作成功,而 SKF96365 干预组气道重塑指标和哮喘高反应性轻于哮喘组,证实抑制钙池操纵性钙通道可减轻气道重塑,这种抑制效应可能分别通过影响参与哮喘发生的各种细胞而实现^[8~12,22]。

气道重塑与气道高反应性关系密切^[4],而气道平滑肌肥大增殖、气道上皮损伤对气道高反应性影响更为明显。平滑肌肥大增殖不仅导致气道狭窄,还对致敏原敏感性增强并产生更强的收缩力,这都是导致气道高反应性的重要原因^[23],而 SKF96365 可减轻气道平滑肌肥大增殖,进而降低气道高反应性。气道上皮损伤亦可导致气道高反应性,完整的气道上皮以及黏膜纤毛清除机制,使树突状细胞无法接触到过敏原并活化,从而避免其诱发的 Th2 型免疫反应,起到物理和生物屏障作用^[24];紧密连接和粘附连接是构成屏障完整性的基础,E-钙黏蛋白是构成粘附连接的主要成分,E-钙黏蛋白可抑制树突状细胞活化^[25]。哮喘患者气道上皮损伤,E-钙黏蛋白表达减少,这不仅会促使树突状细胞活化,增加胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin,TSLP)表达^[26],还会导致表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)通过受损的上皮屏障进入气道,与上皮细胞顶端膜上的 EGF 受体结合^[27],加重气道炎症,导致气道高反应性。既往研究证实抑制 SOCC,可减轻 TGF- β 1 导致的气道上皮细胞 E-钙黏蛋白表达降低^[28]。我们推测 SKF96365 降低气道高反应性可能部分因为抑制 SOCC 减少了气道上皮 E-钙黏蛋白的丢失,减轻了气道上皮损伤。

综上所述,SOCC 通过多种途径参与哮喘气道重塑和气道高反应性,抑制 SOCC 可减轻哮喘气道重塑和气道高反应性,这提示 SOCC 可能成为治疗哮喘的新靶点。但本研究也存在不足:①样本量较小;② SKF96365 是 SOCC 的非特异性抑制剂,SKF96365 尚可抑制受体门控的钙通道(receptor-operated calcium channels,ROC)。下一步我们将采用 SOCC 其他抑制剂,如 BTP-2,以及敲除 SOCC 组分的基因敲除小鼠进一步验证。

参考文献

- Gauthier M, Ray A, Wenzel SE. Evolving Concepts of Asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 192(6): 660-668.
- Girodet PO, Ozier A, Bara I, et al. Airway remodeling in asthma: new mechanisms and potential for pharmacological intervention[J]. Pharmacol Ther, 2011, 130(3): 325-337.
- Durrani SR, Viswanathan RK, Busse WW. What effect does asthma treatment have on airway remodeling? Current perspectives[J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 128(3): 439-448, 449-450.
- Sagani S, Lloyd CM. Novel concepts in airway inflammation and remodelling in asthma[J]. Eur Respir J, 2015, 46(6): 1796.
- Prakriya M, Lewis RS. Store-operated calcium channels[J]. Physiol Rev, 2015, 95(4): 1383-1436.
- Parekh AB. Store-operated CRAC channels: function in health and disease[J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(5): 399-410.
- Ohga K, Takezawa R, Yoshino T, et al. The suppressive effects of YM-58483/BTP-2, a store-operated Ca^{2+} entry blocker, on inflammatory mediator release in vitro and airway responses in vivo[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2008, 21(2): 360-369.
- Gao YD, Zheng JW, Li P, et al. Store-operated Ca^{2+} entry is involved in transforming growth factor- β 1 facilitated proliferation of rat airway smooth muscle cells[J]. J Asthma, 2013, 50(5): 439-448.
- Gao YD, Zou JJ, Zheng JW, et al. Promoting effects of IL-13 on Ca^{2+} release and store-operated Ca^{2+} entry in airway smooth muscle cells[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2010, 23(3): 182-189.
- Zou JJ, Gao YD, Geng S, et al. Role of STIM1/Orai1-mediated store-operated Ca^{2+} entry in airway smooth muscle cell proliferation[J]. J Appl Physiol, 2011, 110(5): 1256-1263.
- Jairaman A, Maguire CH, Schleimer RP, et al. Allergens stimulate store-operated calcium entry and cytokine production in airway epithelial cells[J]. Sci Rep, 2016, 6: 32311.
- Zhong J-n, Lan L, Chen Y-f, et al. IL-4 and Serum Amyloid P reversely regulate fibrocyte differentiation by targeting store-operated Ca^{2+} channels[J]. Pharmacol Rep, 2017: 22-28.
- Mai X, Shang J, Liang S, et al. Blockade of orai1 store-operated calcium entry protects against renal fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27(10): 3063.
- Jason Temelkovski S, Darren P Shepherd, Paul S Foster, et al. An improved murine model of asthma selective airway inflammation, epithelial lesions and increased methacholine responsiveness following chronic exposure to aerosolised allergen[J]. Thorax, 1998, 53: 849-866.
- 何光珍, 黄苹, 陈毅斐, 等. 白藜芦醇对哮喘小鼠气道重塑的抑制作用[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2017, 16(3): 223-227.
- Ren Y, Su X, Kong L, et al. Therapeutic effects of histone deacetylase inhibitors in a murine asthma model[J]. Inflamm Res, 2016, 65(12): 995-1008.
- Williamr, Henderson, Li-Outang, Shi-Jechu, et al. A role for cysteinyl leukotrienes in airway remodeling in a mouse asthma model[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165: 108-116.
- James A. Remodelling of airway smooth muscle in asthma: what sort do you have? [J]. Clin Exp Allergy, 2005, 35(6): 703-707.
- Benayoun L, Druilhe A, Dombret MC, et al. Airway structural alterations selectively associated with severe asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 167(10): 1360-1368.
- Tanabe T, Kanoh S, Tsushima K, et al. Clarithromycin inhibits interleukin-13-induced goblet cell hyperplasia in human airway cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 45(5): 1075-1083.
- 慢性气道炎症性疾病气道黏液高分泌管理中国专家共识编. 慢性气道炎症性疾病气道黏液高分泌管理中国专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2015, 38(10): 723-729.
- Geng S, Gao YD, Yang J, et al. Potential role of store-operated Ca^{2+} entry in Th2 response induced by histamine in human monocyte-derived dendritic cells[J]. Int Immunopharmacol, 2012, 12(2): 358-367.
- Wang KC, Le TC, Larcombe AN, et al. Independent and combined effects of airway remodelling and allergy on airway responsiveness[J]. Clin Sci, 2017: CS20171386.
- Lambrecht BN, Hammad H. The airway epithelium in asthma[J]. Nat Med, 2012, 18(5): 684-692.
- Hackett TL, Warner SM, Stefanowicz D, et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition in primary airway epithelial cells from patients with asthma by transforming growth factor- β 1[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(2): 122-133.
- Heijink IH, Kies PM, Kauffman HF, et al. Down-regulation of E-cadherin in human bronchial epithelial cells leads to epidermal growth factor receptor-dependent Th2 cell-promoting activity[J]. J Immunol, 2007, 178(12): 7678.
- Heijink IH, Oosterhout AV, Kapus A. Epidermal growth factor receptor signalling contributes to house dust mite-induced epithelial barrier dysfunction[J]. Eur Respir J, 2010, 36(5): 1016-1026.
- 岳喜磊, 成莹, 许继德, 等. TRPC1 在 TGF- β 1 诱导支气管上皮细胞间充质转化中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(3): 492-498.

(2018-03-01 收稿 2018-05-09 修回)