

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.03.017

论著·实验研究

## 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对哮喘小鼠肺内高迁移率族蛋白 B1 及 Toll 样受体 4 表达的影响

谷惠茹 栾斌 乔俊英 王亚哲 李倩

(郑州大学三附院儿内科, 河南 郑州 450052)

**【摘要】** **目的** 观察 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对哮喘小鼠气道重塑、肺组织高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 及 Toll 样受体 4 (TLR4) 表达的影响。**方法** 30 只雌性 BALB/c 小鼠随机分为对照组、哮喘组和 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预组。采用卵清蛋白腹腔注射致敏联合雾化吸入激发建立哮喘小鼠模型, 干预组于每次激发前 0.5 h 给予腹腔内注射 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 对照组以生理盐水代替。苏木精-伊红染色观察小鼠气道结构变化; 采用 RT-PCR 法从 mRNA 水平及免疫组化法从蛋白质水平检测 HMGB1 及 TLR4 表达的变化; 同时对相关变量进行 Pearson 相关分析。**结果** 哮喘组气道壁厚度较对照组明显增厚, 干预组较哮喘组气道壁增厚程度明显减轻 ( $P<0.05$ )。哮喘组 HMGB1、TLR4 的 mRNA 和蛋白表达水平均较对照组增高 (均  $P<0.05$ ); 而干预组 HMGB1、TLR4 的 mRNA 和蛋白表达水平均较哮喘组降低, 但仍高于对照组 (均  $P<0.05$ )。肺组织内 HMGB1 蛋白与 TLR4 蛋白的表达呈正相关 ( $P<0.01$ ), HMGB1 mRNA 及 TLR4 mRNA 的表达亦呈正相关 ( $P<0.01$ )。**结论** 在哮喘气道重塑模型中, HMGB1 及 TLR4 可能参与哮喘气道重塑过程; 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可改善哮喘小鼠气道重塑, 其机制可能与降低哮喘小鼠肺内 HMGB1 及 TLR4 的表达有关。  
[中国当代儿科杂志, 2014, 16(3): 301-305]

**【关键词】** 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; 哮喘; 高迁移率族蛋白 B1; Toll 样受体 4; 小鼠

### Effect of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on expression of HMGB1 and TLR4 in the lungs of asthmatic mice

GU Hui-Ru, LUAN Bin, QIAO Jun-Ying, WANG Ya-Zhe, LI Qian. Department of Pediatrics, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Luan B, Email: LUANBP117@163.com)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on the airway remodeling and expression of high-mobility group box 1 (HMGB1) and Toll-like receptor 4 (TLR4) in the lungs among asthmatic mice. **Methods** Thirty female mice (BALB/c strain) were randomly divided into control, asthma and 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> intervention groups. An asthmatic mouse model was established by intraperitoneal injection and aerosol inhalation of ovalbumin. The intervention group was given 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> by intraperitoneal injection 0.5 hour before each aerosol inhalation, while the control group used normal saline instead. The hematoxylin-eosin staining was used to observe the mouse airway structural changes. The mRNA and protein expression of HMGB1 and TLR4 was measured by RT-PCR and immunohistochemistry, respectively. Pearson correlation analysis was performed. **Results** The asthma group had a significantly increased airway wall thickness compared with the control group ( $P<0.05$ ); the intervention group had a significantly lower increase in airway wall thickness than the asthma group ( $P<0.05$ ). The mRNA and protein expression of HMGB1 and TLR4 was significantly higher in the asthma group than in the control group ( $P<0.05$ ); the mRNA and protein expression of HMGB1 and TLR4 in the intervention group was significantly lower than that in the asthma group, but still higher than that in the control group ( $P<0.05$ ). A positive correlation was found between the protein expression of HMGB1 and TLR4 ( $P<0.01$ ), and so was their mRNA expression ( $P<0.01$ ). **Conclusions** HMGB1 and TLR4 may be involved in asthmatic airway remodeling. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> can reduce the airway remodeling in asthmatic mice, which may be related to the downregulation of HMGB1 and TLR4 expression in the lungs of asthmatic mice.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(3): 301-305]

**Key words:** 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; Asthma; High-mobility group box 1; Toll-like receptor 4; Mice

[收稿日期] 2013-08-06; [接受日期] 2014-02-21

[作者简介] 谷惠茹, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 栾斌, 男, 主任医师。

哮喘是由包括呼吸道炎性细胞、结构细胞等多种细胞和细胞组分共同参与的慢性呼吸道炎症性疾病。以气道高反应性、慢性气道炎症、气道重塑为主要病理特征,其发病机制复杂,目前尚未明确。近年来儿童哮喘的发病率及病死率逐年提高,严重影响儿童的健康及生活质量。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是一种高度保守的普遍存在的核蛋白,主要由巨噬细胞、单核细胞、垂体细胞等在炎症因子刺激下主动释放,也可由坏死细胞主动释放。HMGB1 作为一种免疫调节因子,当其释放出细胞外会激发免疫系统产生炎症反应,免疫细胞受到 HMGB1 的刺激后同样会产生特定的应激反应<sup>[1]</sup>。HMGB1 作为一种晚期炎症因子,即参与多种细胞因子、血管黏附分子促炎细胞趋化等相互作用引起的炎症反应又参与信号转导过程<sup>[2]</sup>。在信号转导的机制中研究证实:HMGB1 可与其受体 Toll 样受体 4 (toll like receptors 4, TLR4) 相互作用,通过激活 NF- $\kappa$ B,引起下游炎症介质释放。1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 是维生素 D<sub>3</sub> 的活性形式,除有调节钙、磷代谢作用,还具有调节免疫作用,主要通过活化的单核细胞及树突状细胞 (dendritic cell, DC) 来影响免疫状态<sup>[3-4]</sup>,影响多种细胞的生长和分化。目前其对哮喘中的作用尚不明确,本研究通过建立小鼠哮喘模型,并用 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预,观察其对小鼠气道重塑及 HMGB1 和 TLR4 表达的影响,以探求哮喘的发病机制,并为哮喘的治疗寻求新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及主要试剂

30 只 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠,6 周龄,体重 20 ± 2 g,购于河南省实验动物中心 [许可证号:SCXK (豫) 2010-0002],1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和鸡卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 购于 Sigma 公司,免疫组化一抗购于北京博奥森生物技术有限公司,二抗及显色剂购于北京中杉金桥生物技术有限公司,TRIzol、反转录试剂盒和 PCR 试剂购于北京全式金生物技术有限公司。

### 1.2 动物分组和哮喘小鼠模型的制备

将 30 只 BALB/c 小鼠随机分为对照组、哮喘组和 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预组,每组 10 只。适应性饲

养 1 周后,参照文献<sup>[5]</sup>制备动物模型:在第 1、8、15 天哮喘组和干预组小鼠分别腹腔内注射抗原混合液 0.2 mL (含 10% 氢氧化铝 0.15 mL、OVA 50  $\mu$ g 和生理盐水 0.05 mL) 致敏,对照组给予 0.2 mL 生理盐水腹腔注射;第 22 天开始,哮喘组和干预组小鼠雾化吸入 1% OVA 激发,每日 1 次,每次 30 min,持续至第 35 天,共计 14 次;干预组在每次激发前 0.5 h 给予腹腔内注射 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 混合液 0.08 mL [含 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 0.08  $\mu$ g、无水乙醇 2.0  $\mu$ L、生理盐水 0.08 mL],哮喘组每次激发前 0.5 h 给予腹腔注射生理盐水 0.08 mL;对照组激发前 0.5 h 腹腔注射和雾化激发均用生理盐水替代。

### 1.3 肺组织标本制备

各组小鼠于末次雾化激发结束后 24 h 内以乙醚吸入麻醉,开胸、结扎左肺门、取出左肺,冻存于液氮中,用于 RT-PCR 检测。经右心室插管至肺动脉,用生理盐水快速冲洗至无血液流出,肺叶颜色呈白色后,换 4% 甲醛溶液冲洗,进行内固定,取出右肺,置于 4% 甲醛溶液中行外固定 48 h,酒精梯度脱水,石蜡包埋,采用连续切片,4  $\mu$ m 厚度切片,每隔 3 张切片选取 1 张,用于苏木精-伊红 (HE) 染色及免疫组织化学染色。

### 1.4 HE 及免疫组化染色

随机选取每只小鼠肺组织 3 张石蜡切片,脱蜡后行 HE 染色,观察支气管壁的形态学改变,每张切片随机选取 5 个以上高倍镜视野,采用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件测定相同级别支气管横断面气道壁厚度变化。另随机选取每只小鼠肺组织 3 张石蜡切片,脱蜡后依次滴加山羊抗小鼠一抗、二抗、辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素,DBA 显色、苏木素复染、盐酸分化、脱水封片,然后进行免疫组化操作,观察阳性细胞中 HMGB1 和 TLR4 蛋白的表达,每张切片随机选取 5 个以上高倍镜视野,应用计算机病理图像分析系统测定平均 IOD 值作为该片的蛋白半定量结果。

### 1.5 RT-PCR 检测 HMGB1 及 TLR4 mRNA 表达

采用 TRIzol 提取左肺组织总 RNA,使用逆转录试剂盒合成单链 cDNA,再设计引物,扩增目的基因 HMGB1 上游引物为:5'-CGGATGCTTCTGTC-AACT-3',下游引物为:5'-TCAGCTTGGCAGCTTTCT-3',产物大小为 360 bp;目的基因 TLR4 上游引物为:5'-GGTGAGAAATGAGCTGGTA-3',下游

引物为: 5'-TCTGCTAAGAAGGCGATA-3', 产物大小为 313 bp; 内参 GAPDH 上游引物为: 5'-CCAC-TTGAAGGTGGAGC-3', 下游引物为: 5'-TGAAGT-CGCAGGAGACAA-3', 产物大小为 530 bp。反应体系为 50  $\mu$ L, 其中 cDNA 2  $\mu$ L、上下游引物各 1  $\mu$ L、缓冲液 (含  $Mg^{2+}$ ) 5  $\mu$ L、dNTPs 4  $\mu$ L、DNA 聚合酶 1  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 36  $\mu$ L。反应条件: 94  $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上进行电泳, 并采用凝胶电泳成像系统观察目的基因, 目的基因 HMGB1 或 TLR4 mRNA 的表达量以 HMGB1 或 TLR4 的 DNA 条带与内参 GAPDH 的 DNA 条带灰度值的比值表示。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多个样本均数的比较采用单因素方差分析, 组间数据两两比较采用 LSD-*t* 法, 两变量的相关分析采用 Pearson 相关分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠肺组织病理形态学观察

对照组小鼠支气管壁结构完整光滑, 上皮细胞排列整齐, 气道壁厚度适中 ( $46 \pm 4 \mu\text{m}$ ), 少量炎症细胞浸润; 哮喘组小鼠支气管壁受损, 上

皮细胞排列紊乱、脱落, 气道壁增厚 ( $134 \pm 7 \mu\text{m}$ ), 管腔狭窄, 支气管周围较多炎性细胞浸润; 干预组气道壁厚度 ( $84 \pm 5 \mu\text{m}$ ) 及炎症细胞浸润数量较哮喘组减少, 细胞排列程度较哮喘组规则 (图 1)。3 组气道壁厚度比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

### 2.2 小鼠 HMGB1 和 TLR4 在肺组织中的表达

HMGB1 和 TLR4 蛋白均主要定位于炎症细胞及上皮细胞的细胞核、胞浆。对照组小鼠 HMGB1 及 TLR4 蛋白表达较弱; 哮喘组小鼠 HMGB1 及 TLR4 蛋白呈强阳性表达, 与对照组相比差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ); 干预组小鼠 HMGB1 及 TLR4 蛋白的表达明显低于哮喘组, 但仍高于对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。见图 2、表 1。

### 2.3 小鼠肺内 HMGB1 及 TLR4 mRNA 表达情况

RT-PCR 检测结果显示, 哮喘组小鼠肺内 HMGB1 和 TLR4 mRNA 相对表达量均较对照组显著增高 (均  $P < 0.05$ ); 干预组小鼠肺内 HMGB1 和 TLR4 mRNA 相对表达量较哮喘组明显降低, 但仍高于对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。见图 3-4、表 1。

### 2.4 相关性分析

肺组织内 HMGB1 蛋白与 TLR4 蛋白的表达呈正相关 ( $r = 0.742, P < 0.01$ ), HMGB1 mRNA 与 TLR4 mRNA 的表达亦呈正相关 ( $r = 0.940, P < 0.01$ )。

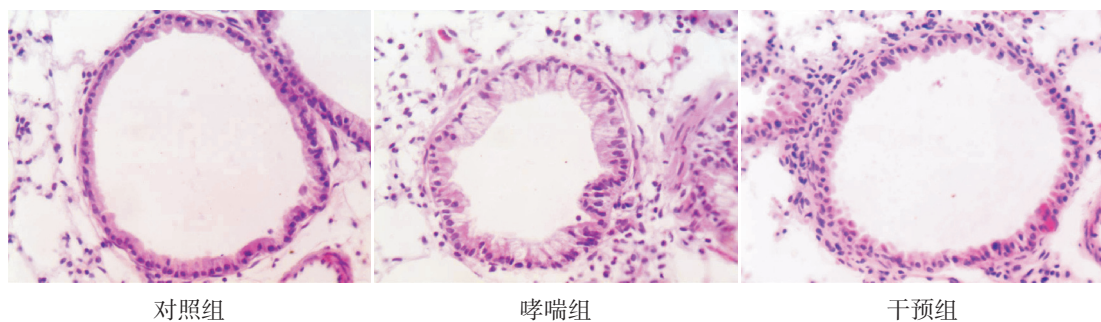


图 1 各组小鼠肺组织病理形态学改变 (苏木精-伊红染色,  $\times 400$ ) 对照组气道壁厚度适中, 无管腔狭窄, 上皮细胞排列规则, 少量炎症细胞浸润; 哮喘组气道壁厚度较对照组明显增加, 管腔狭窄, 上皮细胞排列紊乱、脱落, 炎症细胞浸润增多; 与哮喘组相比, 干预组气道壁厚度明显减小, 细胞排列更为规则, 炎症细胞大量减少。



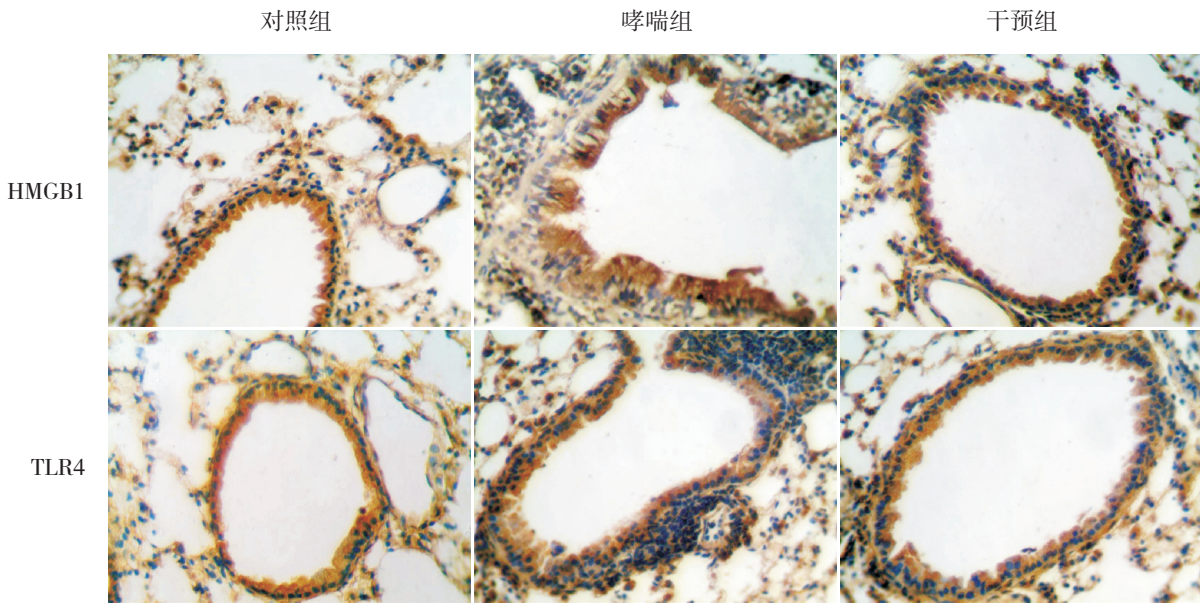


图2 各组小鼠 HMGB1 和 TLR4 在肺组织中的表达 (DAB 显色, ×400) 对照组 HMGB1 和 TLR4 表达较弱, 而在哮喘组两者均呈强阳性表达; 干预组 HMGB1 和 TLR4 表达较哮喘组降低, 但仍高于对照组。深棕黄色为 HMGB1 或 TLR4 表达阳性细胞。

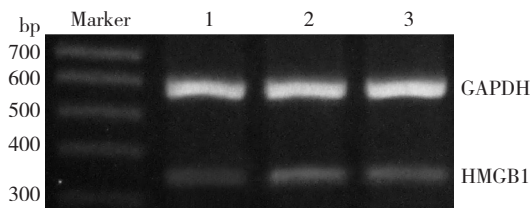


图3 各组小鼠 HMGB1 mRNA 在肺组织中的表达

M: DNA marker; 1: 对照组; 2: 哮喘组; 3: 干预组。

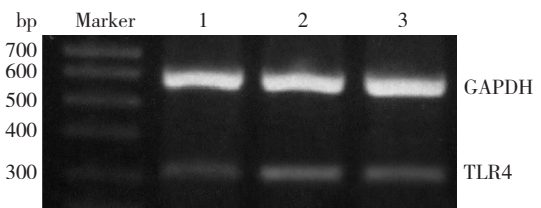


图4 各组小鼠 TLR4 mRNA 在肺组织中的表达

M: DNA marker; 1: 对照组; 2: 哮喘组; 3: 干预组。

表1 各组小鼠气道壁厚度、肺组织 HMGB1 和 TLR4 mRNA 及蛋白的表达变化 (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	气道壁厚度 (μm)	HMGB1 mRNA	TLR4 mRNA	HMGB 蛋白	TLR4 蛋白
对照组	46 ± 4	0.054 ± 0.005	0.082 ± 0.012	38.9 ± 2.6	52 ± 9
哮喘组	134 ± 7 <sup>a</sup>	0.296 ± 0.026 <sup>a</sup>	0.435 ± 0.042 <sup>a</sup>	65.5 ± 6.0 <sup>a</sup>	80 ± 9 <sup>a</sup>
干预组	84 ± 5 <sup>a,b</sup>	0.205 ± 0.022 <sup>a,b</sup>	0.231 ± 0.028 <sup>a,b</sup>	51.0 ± 4.9 <sup>a,b</sup>	62 ± 6 <sup>a,b</sup>
F 值	2175.739	871.639	492.050	262.839	93.004
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: a 为与对照组比较, P<0.05; b 为与哮喘组比较, P<0.05。

### 3 讨论

HMGB1 在外源性微生物侵入或内源性组织损伤发生时, 可以作为应激信号和炎性介质通过两种方式释放到胞外, 一种是由活化的巨噬细胞和 DC 等免疫细胞主动分泌到胞外, 另一种由多种病理过程中组织细胞的坏死、损伤使核内的 HMGB1 释放至细胞外。HMGB1 的主要生物学功能包括:

(1) 作为促炎细胞因子, HMGB1 可以促进炎

性细胞活化以及刺激促炎因子的产生和分泌, 如 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8 表达, 这些介质又能够加强 HMGB1 的分泌效应, 形成一个复杂的细胞因子分泌调节网络<sup>[6]</sup>。(2) HMGB1 能诱导 DC 成熟并分泌多种促炎细胞因子, 促进 DC 表面共刺激分子 CD80、CD83、CD86 和 MHC II 表达上调<sup>[7-8]</sup>。(3) HMGB1 信号通过 RAGE、TLR2 和 TLR4 激活一些与 NF-κB 和丝裂霉素激活蛋白激酶 P38 有关的途径。

TLRs 是一类模式识别受体,TLRs 在免疫调节、炎症反应方面具有重要作用,在固有免疫与适应性免疫间起桥梁作用<sup>[9-10]</sup>。TLR4 是被发现的第一个哺乳动物 TLR,该蛋白在不同细胞中表达,如气道上皮细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞、骨骼肌细胞<sup>[11]</sup>。HMGB1 在细胞坏死或某些炎症因子刺激下,被动或主动地释放至细胞外液,演变为重要促炎细胞因子,并作为危险相关的分子模式与 TLR4 等结合,启动相关信号途径而激活 NF-κB 诱导炎症因子的表达,促进细胞增殖并增强细胞抗凋亡作用, HMGB1 还影响 DC 的成熟及迁移。目前有关 HMGB1 和 TLR4 在哮喘方面的研究较少,本研究结果显示:哮喘组小鼠支气管上皮细胞、单核巨噬细胞、B 细胞、T 细胞及 DC 的 HMGB1 及 TLR4 的表达量显著增多,由此推断, HMGB1-TLR4-NF-κB 信号通路可能参与哮喘气道炎症及气道重塑过程。

1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 通过与细胞内的维生素 D 受体 (VDR) 结合发挥生物学效应,除了维持机体钙、磷平衡,它还具有免疫调节作用。VDR 广泛分布于全身各处<sup>[12]</sup>,VDR 几乎表达于所有免疫细胞,包括活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、B 细胞、中性粒细胞和抗原递呈细胞(如巨噬细胞和 DC)<sup>[13]</sup>。维生素 D<sub>3</sub> 与固有和适应性免疫应答均有密切关系<sup>[14]</sup>。据报道,由于日照不足或维生素 D<sub>3</sub> 摄取不够导致维生素 D<sub>3</sub> 缺乏可引起多种自身免疫病的发病,如:1 型糖尿病、多发性硬化症、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎和炎症性肠病等<sup>[15]</sup>。动物实验证明:向小鼠体内注入 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的类似物骨化三醇可抑制 DC 的成熟与活性,使 DC 低表达其成熟标记 CD86、CD40 等共刺激分子和 MHC-II 类分子,从而影响 Th1/Th2 细胞的增殖<sup>[16]</sup>。本次实验研究结果显示:1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预不仅能有效减少哮喘炎症细胞浸润,还可降低气道壁厚度,从而减轻哮喘小鼠的气道重塑。提示 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预治疗能有效减轻哮喘气道炎症,改善气道重塑。RT-PCR 及免疫组化结果显示:干预组小鼠肺组织 HMGB1 和 TLR4 mRNA 及蛋白水平均明显低于哮喘组。提示 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可能是通过阻断 HMGB1-TLR4-NF-κB 信号传导通路来抑制下游炎症因子的释放,从而减轻哮喘小鼠气道炎症及气道重塑。

本次实验研究表明 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 能有效减轻气道炎症细胞的浸润及气道重塑,其作用于 HMGB1-TLR4-NF-κB 通路的具体作用机制,有待于进一步研究,以为哮喘的治疗提供新的靶点和途经。

#### [参 考 文 献]

- [1] 逢越,胡明,刘欣,等.高迁移率族蛋白 B1 启动免疫应答的重要信号分子[J].免疫学杂志,2010,26(8):735-738.
- [2] 张婷,夏敏.高迁移率族蛋白 B1 信号转导通路的研究进展[J].医学综述,2011,17(2):195-198.
- [3] Hansdottir S, Monick MM. Vitamin D effects on lung immunity and respiratory diseases[J]. Vitam Horm, 2011, 86: 217-317.
- [4] 马秀丽,甄艳芬.支气管哮喘儿童血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 和总免疫球蛋白 E 的变化[J].中国当代儿科杂志,2011,13(7):551-553.
- [5] 王亚哲,栾斌,张艳丽,等.1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对哮喘小鼠肺内 TIM-4 表达的影响[J].中国当代儿科学杂志,2013,15(1):68-70.
- [6] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation[J]. Nature, 2002, 418(6894):191-195.
- [7] Messmer D, Yang H, Telusma G, et al. High mobility group box 1 (HMGB1) is an endogenous Th1 polarizing signal for dendritic cell maturation[J]. J Immunol, 2004, 173(1):307-313.
- [8] Dumitriu IE, Bianchi ME, Bacci M, et al. The secretion of HMGB1 is required for the migration of maturing dendritic cells[J]. J Leukoc Biol, 2007, 81(1):84-91.
- [9] Crespo-Lessmann A, Juarez-Rubio C, Plaza-Moral V. Role of Toll like receptors in respiratory diseases[J]. Arch Bronconeumol, 2010, 46(3):135-142.
- [10] Lafferty EI, Qureshi ST, Schnare M. The role of toll like receptors in acute and chronic lung inflammation[J]. J Inflamm(Lond), 2010, 7:57.
- [11] Ojaniemi M, Lijieros M, Harju K, et al. TLR-2 is upregulated and mobilized to the hepatocyte plasma membrane in the space of Disse and to the Kupffer cells TLR-4 dependently during acute endotoxemia in mice[J]. Immunol Lett, 2006, 102(2):158-168.
- [12] Hewison M. Vitamin D and immune function: an overview[J]. Proc Nutr Soc, 2012, 71(1):50-61.
- [13] Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences[J]. Am J Clin Nutr, 2008, 87(4):1080S-1086S.
- [14] Back O, Blomquist HK, Hernell O, et al. Does vitamin D intake during infancy promote the development of atopic allergy? [J]. Acta Derm Venereol, 2009, 89(1):28-32.
- [15] Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxy vitamin D3 analogs as immunomodulatory agents[J]. Trends Mol Med, 2002, 8(4):174-179.
- [16] Eftekharian MM, Zarnani AH, Moazzeni SM. In vivo effects of calcitriol on phenotypic and functional properties of dendritic cells[J]. Iran J Immunol, 2010, 7(2):74-82.

(本文编辑:程庆梅)