

糖皮质激素对哮喘小鼠 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 表达调控的研究*

朱 好^{1△}, 刘金玲², 王建华², 王晓艾¹

(浙江大学医学院附属儿童医院¹中医科,²呼吸科, 浙江 杭州 310012)

[摘要] 目的: 探讨糖皮质激素对哮喘小鼠 CD4⁺ T 细胞中微小 RNA-155 (miRNA-155) 表达调控的影响。方法: 使用糖皮质激素对卵清蛋白诱导的小鼠哮喘模型进行治疗, 观察糖皮质激素对哮喘小鼠肺组织病理学、肺组织及 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 表达和支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中细胞因子含量的影响。结果: RT-qPCR 结果显示, 哮喘小鼠肺组织和脾脏 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 表达显著升高, 随着接触过敏原时间的增加, CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 水平显著升高 ($P < 0.01$)。HE 和 PAS 染色显示, 与对照组相比, 模型小鼠肺组织中炎性细胞浸润显著增加, 给予糖皮质激素治疗后可明显减轻支气管周围和血管周围炎症, 减少增生杯状细胞的黏液分泌。糖皮质激素治疗后哮喘小鼠肺组织中的 miRNA-155 水平显著降低, CD4⁺ T 细胞中的 miRNA-155 水平显著下调。糖皮质激素治疗可抑制哮喘小鼠的脾脏中 CD4⁺ CD8⁻ 细胞比例的增加, 减少哮喘小鼠肺组织中 CD4⁺ T 细胞的聚集。糖皮质激素治疗后 BALF 中白细胞介素 4 (IL-4)、IL-5 和 IL-13 水平下降, 干扰素 γ 水平显著增加。结论: 糖皮质激素可抑制哮喘小鼠肺组织中 CD4⁺ T 细胞的聚集, 并可降低肺组织和脾脏中 CD4⁺ T 细胞的 miRNA-155 的表达。

[关键词] 糖皮质激素; 哮喘; CD4⁺ T 细胞; 微小 RNA-155

[中图分类号] R562.2⁺5; R363.2 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.03.030

Effects of glucocorticoid on miRNA-155 expression in CD4⁺ T cells of asthmatic mice

ZHU Yu¹, LIU Jin-ling², WANG Jian-hua², WANG Xiao-ai¹

(¹Department of Traditional Chinese Medicine, ²Department of Respiratory Medicine, The Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310012, China. E-mail: 6504036@zju.edu.cn)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effects of glucocorticoid on the regulation of microRNA-155 (miRNA-155) expression in the CD4⁺ T cells of asthmatic mice. **METHODS:** The ovalbumin (OVA)-induced asthma mouse model was established and the mice were treated with glucocorticoid. The effects of glucocorticoid on the pulmonary histopathological changes, the expression of miRNA-155 in the lung tissues and CD4⁺ T cells, and the levels of cytokines in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were evaluated. **RESULTS:** The results of RT-qPCR showed that the expressions of miRNA-155 in the lung tissues and CD4⁺ T cells from the spleen of asthmatic mice were significantly increased, and the level of miRNA-155 in the CD4⁺ T cells was significantly increased with the increase in the allergen exposure time ($P < 0.01$). HE and PAS staining showed that OVA significantly increased inflammatory cell infiltration as compared with control group, and the peribronchial and perivascular inflammation and mucus secretion of proliferative goblet cells were significantly reduced after glucocorticoid treatment. Glucocorticoid treatment inhibited the increase in the proportion of CD4⁺ CD8⁻ cells in the spleen and decreased the accumulation of CD4⁺ T cells in the lung tissues of asthmatic mice ($P < 0.01$). After glucocorticoid treatment, the levels of interleukin-4 (IL-4), IL-5 and IL-13 in BALF were decreased, while the level of interferon- γ was increased significantly ($P < 0.01$). **CONCLUSION:** Glucocorticoid reduces the accumulation of CD4⁺ T cells and inhibits the expression of miRNA-155 in the lung tissues and spleen CD4⁺ T cells of asthmatic mice.

[KEY WORDS] Glucocorticoids; Asthma; CD4⁺ T cells; MicroRNA-155

[收稿日期] 2018-12-10 [修回日期] 2019-01-17

* [基金项目] 浙江省教育厅科研项目 (No. Y201534178)

△通讯作者 Tel: 0571-88873294; E-mail: 6504036@zju.edu.cn

哮喘是一种以气道高反应性和气道炎症为特征的辅助性 T 淋巴细胞 2 (T helper cell 2, Th2) 介导的慢性炎症性疾病^[1]。越来越多的证据表明,微小 RNA (microRNA, miRNA) 参与了哮喘的发病环节^[2-3]。miRNA 是一种通过促进 mRNA 降解或阻断蛋白质翻译而起到基因转录后调节剂作用的短链非编码 RNA^[4], 可通过抑制数百个靶 mRNA 来调节多种生物学功能。miRNA 是免疫系统中基因表达的重要调节因子, miRNA 表达失调与炎症性疾病密切相关^[5-6]。miRNA-155 在肺部各类疾病的发生发展中起到了重要的作用, 并可通过调节靶向免疫系统中基因表达来参与如哮喘、肺癌、肺炎及肺纤维化等肺部疾病的发展形成^[7-8]。已有研究发现 miRNA-155 在哮喘小鼠肺组织中高表达, 具有调节免疫稳态的功能, 是哮喘小鼠肺组织中表达最高的 miRNA 之一^[9]。

免疫系统中的 CD4⁺ T 细胞在过敏性炎症中起中心作用^[10], 但 miRNA-155 在 CD4⁺ T 细胞中的生物学作用尚未得到充分研究。本研究旨在通过观察哮喘小鼠 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 表达及被糖皮质激素 (glucocorticoid, GC) 调节的过程来探讨糖皮质激素对哮喘小鼠 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 表达调控的影响, 以期对加深理解它们在致敏发病机制中的作用以及为寻找潜在的抗炎治疗靶点提供新的证据。

材 料 和 方 法

1 动物

60 只雌性 BALB/c 小鼠 (体重 18 ~ 20 g; 4 ~ 6 周龄) 购自北京维通利华动物实验有限公司 [SCXK (京) 2014-0001]。所有小鼠在室温和恒湿 (55% ± 5%) 条件下, 以 12 h 光/暗循环在 EVC 笼具中饲养。小鼠可随意饮水和食物。浙江大学动物实验中心 [SYXK (浙) 2018-0001] 动物伦理委员会批准了本研究的动物实验方案。

2 方法

2.1 哮喘模型的建立 采用卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 激发致敏鼠, 按文献报道^[11]的方法建立哮喘模型。在第 0 天和第 14 天, 用 100 μg 的 OVA (S7951, Sigma) 和 1 mg 的氢氧化铝 (77161, Thermo) 溶解在 200 μL 的生理盐水中腹腔内注射免疫刺激小鼠。然后于第 22、23 和 24 天, 再次腹腔注射注入 200 μg 卵清蛋白。治疗组治疗时, 每次激发前 1 h 腹腔注射 0.2 mg/kg 地塞米松 (Sigma)。对哮喘发病过程进行观察时, 在造模后 0、3、7 d 各取 8 只小鼠检测。造模并使用地塞米松治疗时, 密切观察动物

机体状态, 选取造模成功的存活小鼠进行检测实验并确保每组最终至少 5 只造模成功的存活小鼠。

2.2 肺组织病理学观察 获得支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 后, 收集肺组织。肺组织用 4% 的多聚甲醛固定 24 h, 包埋在石蜡中。4 μm 厚度切片, 按照苏木精和伊红 (HE) 染色步骤进行染色观察。PAS (Sigma) 染色中使用 6 μm 厚度切片以观察量化杯状细胞增生。染色后在 Nikon 显微镜上获取图像。

2.3 流式细胞术分选细胞 用 5 mL 红细胞裂解缓冲液将小鼠脾脏组织切成小块, 4 °C、1 500 r/min 离心 7 min, 离心后丢弃上清, 用 PBS 洗涤细胞颗粒。用细胞冷冻培养基 (1 × 10¹⁰/L) 对细胞进行再悬浮, 保存于液氮罐中。使用 MoFlo (Beckman) 对细胞进行染色分类。将 FACS 管中的液体体积调节到 50 μL, 并加入荧光标记的 CD4 和 CD8 抗体。细胞与 Fc 阻断剂一起孵育 5 min, 然后用抗 CD4 (0.1 g) 和 CD8 (0.2 g) 抗体对 1 × 10⁶ 细胞进行染色。CD8 抗体标记 PerCP, CD4 抗体标记 FITC (BD Biosciences)。将分选的细胞收集后进行进一步分析

2.4 RT-qPCR 分析 使用 TRIzol (Invitrogen) 从各组织细胞中提取总 RNA。为了进行 qPCR 分析, 使用 qScript microRNA cDNA 合成试剂盒 (Quanta Bio-Sciences) 将总 RNA 逆转录为 cDNA。用 CFX384 实时系统定量 PCR (qPCR) 对 miRNA 进行定量分析, 并使用 U6 作为内参照。所有使用的引物均由上海生工生物工程有限公司 (miRNA-155, Q0000165-1-2; U6, MQP-0201) 提供, miRNA-155 的正向引物序列为 5'-GCCTTAATGCTAATCGTGATAG-3', 反向引物序列为 3'-TTCCGTATGCATCATGTGAGTA-5'; U6 的正向引物序列为 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3', 反向引物序列为 5'-AAGAAACGATACAGATTG-GAGTA-3'。分别在 42 °C 和 70 °C 下进行 60 min 热循环, 进行逆转录和变性, 随后进行 40 个扩增周期, 包括 95 °C 5 s (变性) 和 60 °C 30 s (延长)。采用 2^{-ΔΔCt} 方法将 miRNA-155 进行量化分析。

2.5 免疫组化染色 对各组小鼠肺组织的石蜡切片进行 CD4 的免疫组织化学染色。采用 EnVision 二步法进行免疫组化染色并用 3,3'-二氨基联苯胺显色法显色, NIKON 显微镜成像后使用 IPP 图像分析软件图计数和尺寸工具用于计算 CD4⁺ T 细胞密度, 定量组织切片中阳性免疫信号强度。

2.6 ELISA 实验 按照 ELISA 试剂盒 (BD) 说明书中描述方法, 测定 BALF 中白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4)、IL-5、IL-13 和干扰素 γ (interferon-γ, IFN-γ)

水平。

3 统计学分析

使用 GraphPad Prism 7.0 软件对数据进行分析。数据以均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 方差分析后进行单因素方差分析或非配对 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 miRNA-155 在哮喘小鼠中表达上调

哮喘小鼠肺组织切片病理学检查, HE 染色结果显示, 与对照组比较, 哮喘小鼠气道炎症和黏液分泌

增强, 见图 1A。哮喘小鼠肺组织中的 miRNA-155 检测结果显示哮喘组肺中 miRNA-155 显著上调 ($P < 0.01$), 见图 1B。RT-qPCR 分析结果表明, 与总外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 相比, miRNA-155 在流式细胞术分选的 $CD4^+$ T 细胞中的表达升高 ($P < 0.01$), 见图 1C, 并随接触过敏原时间的增加, miRNA-155 水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见图 1D。相关性分析显示, 随着造模时间的延长, 动物疾病症状加重, $CD4^+$ T 细胞中 miRNA-155 水平的表达升高与疾病进程呈正相关, 见图 1E。

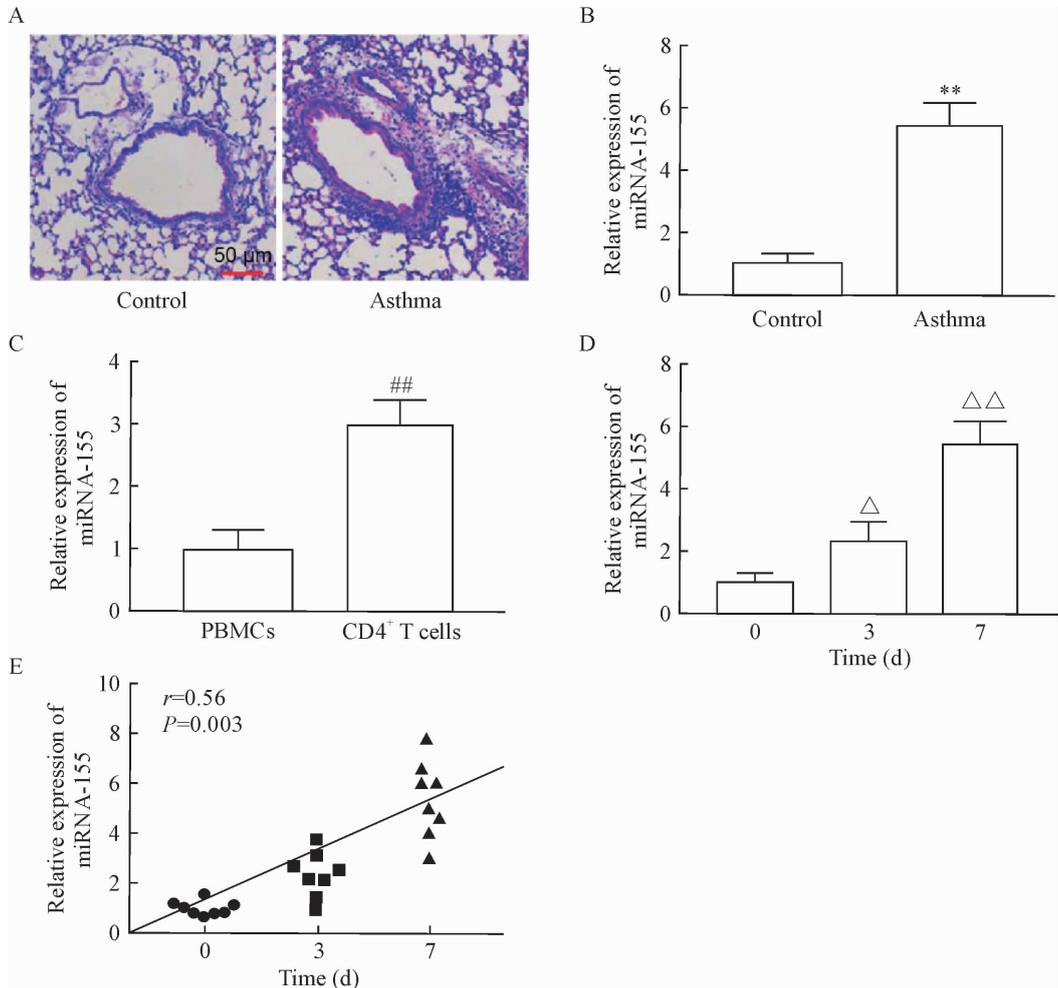


Figure 1. Up-regulated expression of miRNA-155 in lung tissues and $CD4^+$ T cells of the asthmatic mice. A: HE staining of the lung tissues after modeling; B: RT-qPCR was used to analyze the expression of miRNA-155 in the lung tissues; C: the expression of miRNA-155 in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and $CD4^+$ T cells from the spleen of the asthmatic mice; D: the expression of miRNA-155 in the splenic $CD4^+$ T cells of the mice sensitized for 3 d or 7 d; E: the relationship between the expression of miRNA-155 in $CD4^+$ T cells of mouse spleen and disease progression. Mean ± SD. $n = 6 \sim 8$. ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs PBMCs; △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$ vs 0 d.

图 1 miRNA-155 在哮喘小鼠肺组织和 $CD4^+$ T 细胞中表达上调

2 糖皮质激素治疗改善哮喘小鼠肺炎症反应并降低 miRNA-155 的表达

HE 和 PAS 染色显示, 与对照组相比, 哮喘组小

鼠的肺组织炎性浸润显著, 给予糖皮质激素治疗后明显减轻支气管周围和血管周围炎症, 减少增生杯状细胞的黏液分泌, 见图 2A、B。RT-qPCR 结果发

现糖皮质激素治疗后哮喘小鼠肺组织中的 miRNA-155 水平显著降低 ($P < 0.01$), 见图 2C。对分选的脾脏 CD4⁺ T 细胞中的 miRNA-155 表达情况检测结果

显示, 糖皮质激素治疗后 CD4⁺ T 细胞中的 miRNA-155 显著下调 ($P < 0.01$), 见图 2D。

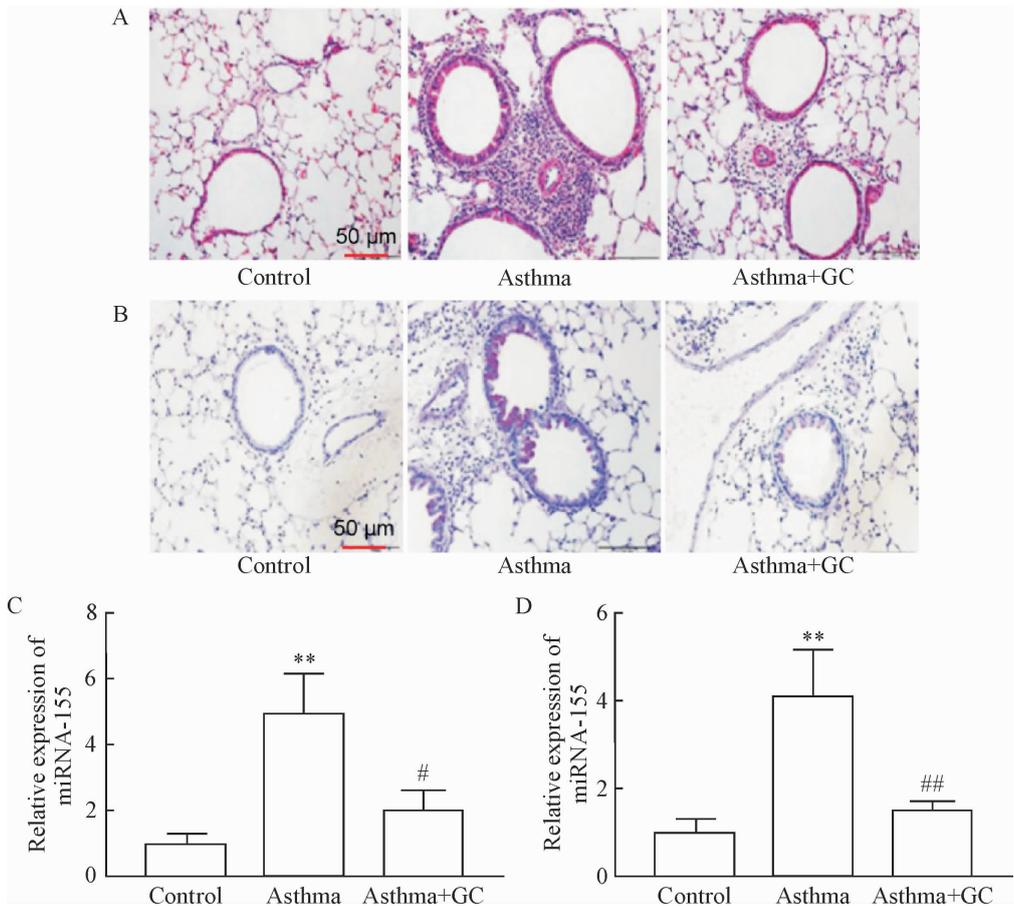


Figure 2. Glucocorticoid (GC) therapy reduced pulmonary inflammatory responses and the expression of miRNA-155 in the asthmatic mice. A: HE staining of the lung tissues after GC treatment; B: PAS staining of the lung tissues after GC treatment; C: the expression of miRNA-155 in the lung tissues after GC treatment; D: the expression of miRNA-155 in CD4⁺ T cells of mouse spleen after GC treatment. Mean ± SD. $n = 6 \sim 8$. ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs asthma group.

图 2 糖皮质激素治疗改善哮喘小鼠肺炎反应并降低 miRNA-155 表达

3 糖皮质激素治疗抑制脾脏中 CD4⁺ T 细胞的水平

通过流式细胞分选对脾脏中 CD4⁺ T 细胞的数量进行检测,发现糖皮质激素可抑制哮喘组小鼠脾脏中的 CD4⁺ CD8⁻ 细胞比例增加 ($P < 0.01$),改善了 Th1/Th2 失衡,见图 3。

4 糖皮质激素治疗抑制肺组织中 CD4⁺ T 细胞的聚集

CD4 免疫组化染色结果显示,糖皮质激素治疗可改善哮喘造模引起的肺组织中 CD4⁺ T 细胞的聚集 ($P < 0.01$),改善肺组织中免疫炎症细胞的浸润,见图 4。

5 糖皮质激素治疗改变 BALF 中细胞因子的水平

哮喘组小鼠 BALF 中 IL-4、IL-5 和 IL-13 水平升高,用糖皮质激素治疗后, BALF 中 IL-4、IL-5 和 IL-

13 水平下降 ($P < 0.01$)。相比于对照组,哮喘组 BALF 的 IFN- γ 水平未改变,糖皮质激素治疗后, IFN- γ 水平显著增加 ($P < 0.01$),见图 5。

讨 论

过敏性疾病如哮喘和过敏性鼻炎,是造成重大卫生保健负担的常见疾病^[12]。哮喘是一种以低气道炎症为特征的综合症,它影响着全世界大约 3 亿人^[13],这些疾病的特点是发病率高、费用高、生活质量差,估计每年治疗费用超过 560 亿美元^[14]。哮喘发病机制至今尚不明确,关于哮喘炎症途径的调节是未来医疗防治的重点方向。治疗哮喘的一线药物是糖皮质激素^[15],它可控制哮喘的发作、缓解气道炎症反应^[16],但其作用机制尚不完全清楚。本研究希

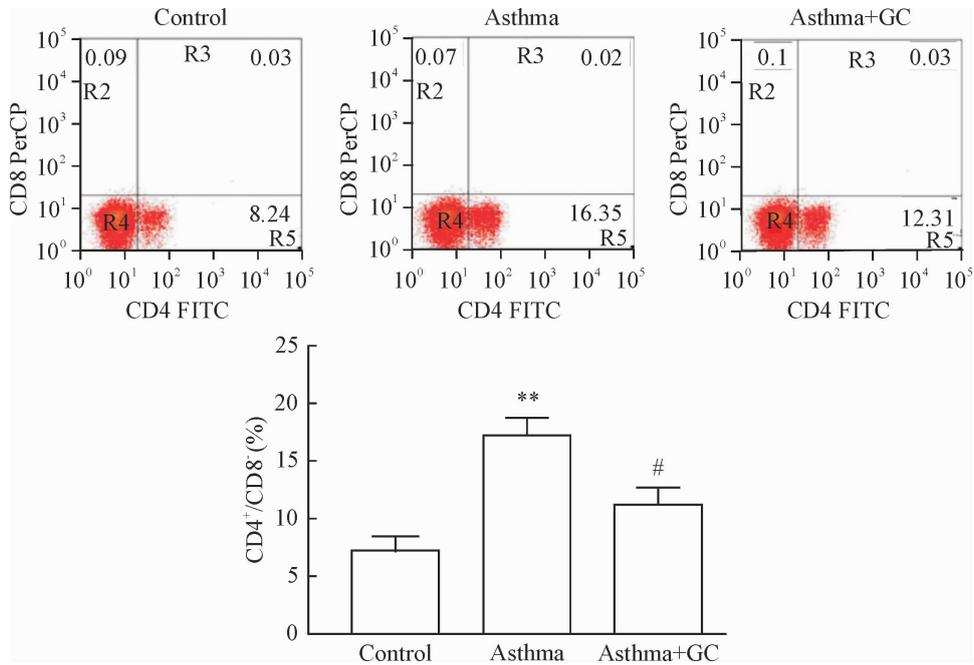


Figure 3. Glucocorticoid (GC) therapy inhibited the levels of CD4⁺ T cells in the spleen. Mean ± SD. n = 6 ~ 7. ** P < 0.01 vs control group; # P < 0.05 vs asthma group.

图3 糖皮质激素治疗抑制脾脏中 CD4⁺ T 细胞的生成

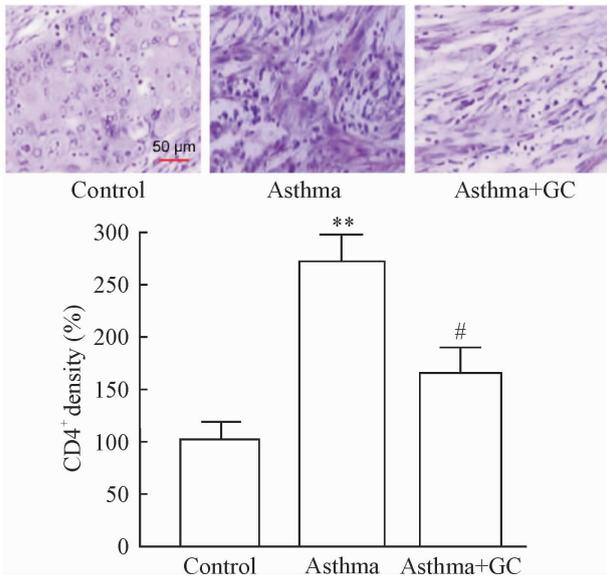


Figure 4. Glucocorticoid (GC) therapy inhibited CD4⁺ T cell accumulation in the lung tissues. Mean ± SD. n = 5 ~ 7. ** P < 0.01 vs control group; # P < 0.05 vs asthma group.

图4 糖皮质激素治疗抑制肺组织中 CD4⁺ T 细胞的聚集

望阐明糖皮质激素对哮喘小鼠 CD4⁺ T 细胞中 miRNA-155 表达调控的影响。

在免疫系统中 miRNAs 可调节编码各种细胞因子和炎性介质的 mRNA 表达^[17], 提示它们可能具有作为炎症和免疫反应调节因子的功能。miRNA 已成为用于诊断和治疗许多过敏炎症疾病免疫监测中的

分子标志物^[18]。有研究发现 miRNA-155 的表达与哮喘有关^[19]。miRNA-155 来源于原癌基因 B 细胞整合簇的非编码转录本^[20], 对于正常 B 细胞分化和抗体产生是必不可少的。我们的研究发现 miRNA-155 在哮喘小鼠肺组织及脾脏 CD4⁺ T 细胞中的表达升高, 并且随着接触过敏原时间的增加水平显著升高, 提示哮喘发病过程中 CD4⁺ T 细胞内存在 miRNA-155 的内在调节作用。对哮喘组小鼠进行了糖皮质激素的治疗后, 可明显减轻支气管周围和血管周围炎症, 减少增生杯状细胞的黏液分泌。糖皮质激素治疗后哮喘小鼠肺组织和脾脏 CD4⁺ T 细胞中的 miRNA-155 表达量显著降低, 提示 miRNA-155 可能是糖皮质激素治疗作用中的一个靶点, 有望鉴定为哮喘患者血浆中的一种可能的生物标志物。

我们发现糖皮质激素治疗后, 脾脏中 CD4⁺/CD8⁻ 细胞比例降低, 肺组织中 CD4⁺ T 细胞的聚集减少且肺泡中 IL-4、IL-5 和 IL-13 水平下降。CD4⁺ T 细胞及其效应细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 在变应性炎症的病理生理过程中起重要作用^[21]。IL-4 和 IL-5 促进 Th2 细胞分化、细胞增殖和 IgE 产生^[22], 而 IL-13 是介导哮喘黏蛋白产生和气道高反应性的有效细胞因子^[23]。糖皮质激素可能通过调节 miRNA-155 的表达从而影响 CD4⁺ T 细胞对细胞因子的调节功能, 最终起到细胞因子免疫调节作用从而减缓炎症反应的发生。

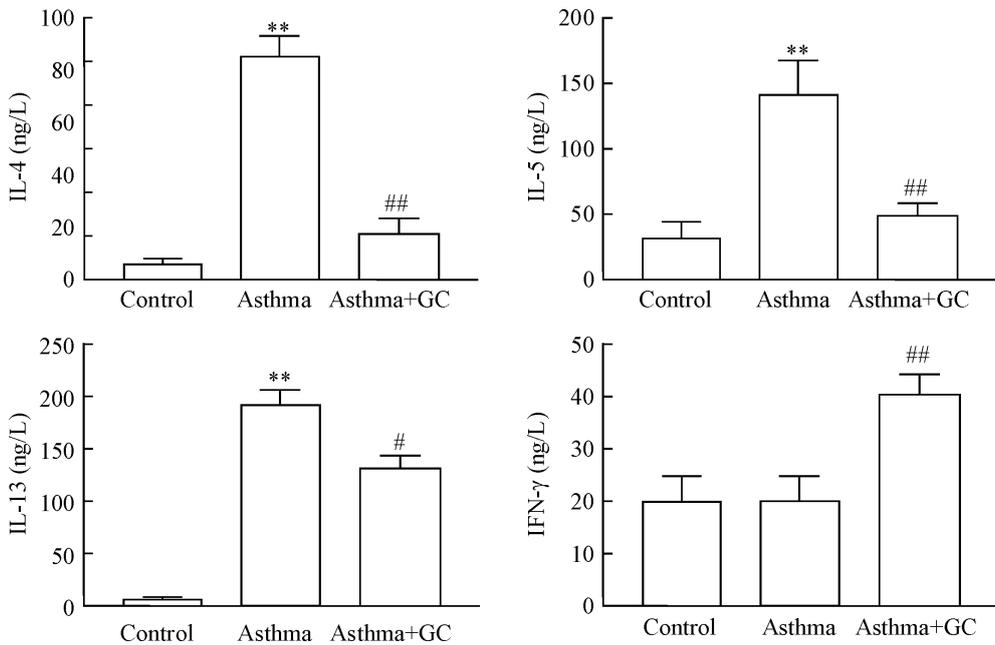


Figure 5. Glucocorticoid (GC) therapy altered the levels of cytokines in the bronchoalveolar lavage fluid. Mean \pm SD. $n = 5 \sim 7$.
 ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs asthma group.

图5 糖皮质激素治疗改变支气管肺泡灌洗液中的细胞因子的水平

总之,miRNA-155 在 OVA 诱导的过敏性哮喘小鼠的肺组织和脾中 CD4⁺ T 细胞表达升高,而糖皮质激素可抑制过敏性哮喘小鼠的肺组织和脾中 CD4⁺ T 细胞 miRNA-155 表达。这些发现提示了 miRNA-155 可能是糖皮质激素治疗过敏性哮喘疾病的一个潜在的治疗靶点。

[参 考 文 献]

[1] Wei J, Ma L, Wang J, et al. Airway reversibility in asthma and phenotypes of Th2-biomarkers, lung function and disease control[J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2018, 14:89.

[2] 穆清爽,张慧,汪文娟,等. miRNA-126 在支气管哮喘中的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(11):2730-2732.

[3] Fekonja S, Korošec P, Rijavec M, et al. Asthma microRNA regulome development using validated miRNA-target interaction visualization[J]. OMICS, 2018, 22(9):607-615.

[4] Pillai RS, Artus CG, Filipowicz W. Tethering of human Ago proteins to mRNA mimics the miRNA-mediated repression of protein synthesis[J]. RNA, 2004, 10(10):1518-1525.

[5] 胡朝恩,艾智华. miRNA 调控炎症和免疫反应 TLR 信号通路的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(1):76-79.

[6] 肖斌,毛旭虎,邹全明. 微小 RNA 在免疫调节中的作用研究进展[J]. 医学研究生学报, 2009, 22(3):303-305.

[7] Plönes T, Elze M, Kayser G, et al. mRNA and miRNA analyses in cytologically positive endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration; implications for molecular staging in lung cancer patients[J]. Cancer Cytopathol, 2014, 122(4):292-298.

[8] Conicx G, Avila Cobos F, van den Berge M, et al. microRNA profiling in lung tissue and bronchoalveolar lavage of cigarette smoke-exposed mice and in COPD patients; a translational approach[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):12871.

[9] 汪成伟,王飞,李冬涛,等. miR-155 在哮喘患儿痰液中的表达及对哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. 解剖科学进展, 2017, 23(5):471-474.

[10] van Neerven RJ, Wikborg T, Lund G, et al. Blocking antibodies induced by specific allergy vaccination prevent the activation of CD4⁺ T cells by inhibiting serum-IgE-facilitated allergen presentation[J]. J Immunol, 1999, 163(5):2944-2952.

[11] 蔡霜,邹文静,王婷,等. Brg1 通过 STAT6 促进哮喘气道黏液高分泌[J]. 南方医科大学学报, 2018, 38(1):42-47.

[12] Khan DA. Allergic rhinitis and asthma: epidemiology and common pathophysiology[J]. Allergy Asthma Proc, 2014, 35(5):357-361.

[13] 林江涛,裘若帆. 重视支气管热成形术治疗重度支气管哮喘的适宜人群及作用机制研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(3):161-163.

[14] Fitzgerald JM. Asthma guidelines: global to local[J]. Ann Thorac Med, 2009, 4(4):161-162.

a possible highway in the spreading of tau and other prion-like proteins in neurodegenerative diseases [J]. Prion, 2016, 10(5):344-351.

[28] Tardivel M, Bégard S, Bousset L, et al. Tunneling nanotube (TNT)-mediated neuron-to neuron transfer of pathological Tau protein assemblies[J]. Acta Neuropathol Commun, 2016, 4(1):117-131.

[29] Pooler AM, Polydoro M, Maury EA, et al. Amyloid accelerates tau propagation and toxicity in a model of early Alzheimer's disease [J]. Acta Neuropathol Commun, 2015, 3:14.

[30] He Z, Guo JL, McBride JD, et al. Amyloid-β plaques enhance Alzheimer's brain tau-seeded pathologies by facilitating neuritic plaque tau aggregation [J]. Nat Med, 2018, 24(1):29-38.

[31] Vasconcelos B, Stancu IC, Buist A, et al. Heterotypic seeding of tau fibrillization by pre-aggregated abeta provides potent seeds for prion-like seeding and propagation of Tau-pathology *in vivo* [J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(4):549-569.

[32] Kanmert D, Cantlon A, Muratore CR, et al. C-terminally truncated forms of Tau, but not full-length Tau or its C-terminal fragments, are released from neurons independently of cell death [J]. J Neurosci, 2015, 35(30):10851-10865.

[33] Bero AW, Yan P, Roh JH, et al. Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid-β deposition [J]. Nat Neurosci, 2011, 14(6):750-756.

[34] Wu JW, Hussaini SA, Bastille IM, et al. Neuronal activity enhances tau propagation and tau pathology *in vivo* [J]. Nat Neurosci, 2016, 19(8):1085-1092.

[35] Asai H, Ikezu S, Tsunoda S, et al. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation [J]. Nat Neurosci, 2015, 18(11):1584-1593.

[36] Martini-Stoica H, Cole AL, Swartzlander DB, et al. TFEB enhances astroglial uptake of extracellular tau species and reduces tau spreading [J]. J Exp Med, 2018, 215(9):2355-2377.

[37] Mohamed NV, Plouffe V, Rémillard-Labrosse G, et al. Starvation and inhibition of lysosomal function increased tau secretion by primary cortical neurons [J]. Sci Rep, 2014, 4:5715.

[38] 魏伟, 陆大祥, 戚仁斌, 等. 叶酸和维生素 B12 减轻高同型半胱氨酸血症诱导的老年大鼠阿尔茨海默样病变 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(8):1436-1440.

[39] Purro SA, Farrow MA, Linehan J, et al. Transmission of amyloid-β protein pathology from cadaveric pituitary growth hormone [J]. Nature, 2018, 564(7736):415-419.

(责任编辑: 卢萍, 宋廷君)

(上接第 570 页)

[15] 黄花荣, 刘甜甜, 魏菁, 等. 糖皮质激素吸入对哮喘患儿外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞水平的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(11):2204-2207.

[16] Harrison T, Bradshaw L, McKeever T. Inhaled glucocorticoids in asthma [J]. N Engl J Med, 2018, 378(21):2051-2052.

[17] 薛茜, 杨安钢. miRNA 在免疫系统中的研究进展 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(1):93-95.

[18] Milger K, Götschke J, Krause L, et al. Identification of a plasma miRNA biomarker signature for allergic asthma: a translational approach [J]. Allergy, 2017, 72(12):1962-1971.

[19] Zhou H, Li J, Gao P, et al. miR-155: a novel target in allergic asthma [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(10):E1773.

[20] 夏启胜, 石垣靖人, 孙立, 等. 抗癌药物对人胰腺癌细胞小分子 RNA 155 及 B 细胞整合簇表达的影响 [J]. 中华医学杂志, 2010, 90(2):123-127.

[21] Kelly BL, Locksley RM. Coordinate regulation of the IL-4, IL-13, and IL-5 cytokine cluster in Th2 clones revealed by allelic expression patterns [J]. J Immunol, 2000, 165(6):2982-2986.

[22] Harris DP, Goodrich S, Mohrs K, et al. Cutting edge: the development of IL-4-producing B cells (B effector 2 cells) is controlled by IL-4, IL-4 receptor α, and Th2 cells [J]. J Immunol, 2005, 175(11):7103-7107.

[23] 魏亚强, 王丽丽, 赵红, 等. 抗 IL-5 抗体联合抗 IL-13 抗体对支气管哮喘小鼠气道炎症及气道高反应性的影响 [J]. 中华哮喘杂志: 电子版, 2010, 4(6):321-324.

(责任编辑: 林白霜, 罗森)