

论著·实验研究

# 孕期和哺乳期 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预对子代哮喘大鼠肺组织 TGF-β1 和 Smad3 表达的影响

陈凌燕 周小建 李霞 李臻 洪建国

(上海交通大学附属第一人民医院儿科,上海 201620)

**[摘要]** 目的 探讨孕期和哺乳期 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> [1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] 干预对子代哮喘大鼠肺组织中转化生长因子 β<sub>1</sub> (TGF-β1) 及 Smad<sub>3</sub> 表达的影响。方法 雌性 Wistar 大鼠 32 只,随机分为 4 组 (n=8): 低剂量、中剂量及高剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预组和对照组。受孕第 7 天起,以隔天灌胃的方式分别给予低、中剂量及高剂量组 2、10、20 μg/mL 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 对照组以生理盐水代替,直到子代大鼠生后 21 d 断乳为止。制备子代大鼠哮喘模型。采用 RT-PCR 和免疫组织化学方法分别从 mRNA 和蛋白水平检测 TGF-β1 和 Smad3 的表达变化。结果 (1) 各组仔鼠哮喘模型支气管炎程度不同,与对照组相比,低、中剂量组炎症反应减轻,而高剂量组则加重。(2) 免疫组织化学结果显示,与对照组相比,TGF-β1 及 pSmad3 在低、中剂量组表达明显降低 (P<0.05),而在高剂量组则表达明显增高 (P<0.05)。(3) 荧光定量 PCR 结果显示,与对照组相比,低、中剂量组 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 表达降低 (P<0.05),而高剂量组两者的 mRNA 表达增高 (P<0.05)。结论 在大鼠哮喘模型中,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可能通过维生素 D 受体信号通路,进而调节 TGF-β/Smad 信号通路相关蛋白的表达而发挥免疫调节作用。

[中国当代儿科杂志,2012,14(5):366-370]

**[关键词]** 哮喘;维生素 D;TGF-β1;Smad3;大鼠

**[中图分类号]** R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)05-0366-05

## Effect of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> supplementation during gestation and lactation on TGF-β1 and Smad3 expression in lungs of rat offspring with asthma

CHEN Ling-Yan, ZHOU Xiao-Jian, LI Xia, LI Zhen, HONG Jian-Guo. Department of Pediatrics, First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201620, China (Hong J-G, Email: hongjingguo@hotmail.com)

**Abstract: Objective** To study the effect of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> supplementation during gestation and lactation on TGF-β1 and Smad3 expression in lungs of rat offspring with asthma. **Methods** Thirty-two female Wistar rats were randomly divided into four groups: low-, medium- and high-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> supplementation and control groups (n=8 each). From the 7th day of gestation, the three 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> supplementation groups were administered with 2, 10 and 20 μg/mL of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> respectively every other day until weaning (rat offspring: 21 days old). The control group received normal saline instead. Then, bronchial asthma was induced in rat offspring from the 4 groups. The protein and mRNA expression of TGF-β1 and Smad3 in the lung tissue was measured by immunochemistry and RT-PCR. **Results** Eosinophil cell infiltration and airway inflammation decreased in rat offspring from the low- and medium-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> groups, but increased in rat offspring of the high-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> group compared with the control group. Immunohistochemistry of lung tissues showed that the expression of TGF-β1 protein and pSmad3 decreased in rat offspring from the low- and medium-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> groups (P<0.05), but increased significantly in rat offspring from the high-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> group compared with the control group (P<0.05). PCR showed that the expression of TGF-β1 and Smad3 mRNA in the lung tissue decreased in rat offspring from the low- and medium-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> groups (P<0.05), but increased significantly in rat offspring from the high-dose 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> group compared with the control group (P<0.05). **Conclusions** 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> supplementation plays a role in regulating the immune system in asthmatic rats. Its mechanism may be associated with regulation of the expression of TGF-β/Smad signal pathway-related proteins through the vitamin D receptor signal pathway. [Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(5):366-370]

**Key words:** Asthma; Vitamin D; TGF-β1; Smad3; Rats

[收稿日期]2011-11-17; [修回日期]2011-12-27

[作者简介]陈凌燕,女,硕士研究生。

[通信作者]洪建国,教授。

哮喘是一种以慢性气道炎症反应和气道重塑为基本特征的慢性疾病。许多研究证实 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路参与哮喘的发生及发展过程<sup>[1-4]</sup>。转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 是一种多功能细胞因子,参与多种细胞程序如细胞的增生、分化、存活以及细胞外基质的生成。TGF- $\beta$  分为 3 个亚型,其中 TGF- $\beta$ 1 的生物活性最高<sup>[5]</sup>。TGF- $\beta$  与其受体结合后可使下游的 Smad2 或 Smad3 磷酸化,后者与 Smad4 形成复合物进入细胞核内调节 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路相关蛋白表达<sup>[6]</sup>。近期研究显示生命早期维生素 D 干预与后期哮喘等过敏性疾病的发生有关<sup>[7-9]</sup>。本课题组的前期研究表明,胚胎期补充适量的 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> [1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] 可改善哮喘大鼠肺部炎症反应并减轻肺部病理改变,而过量则起有害作用,但对其通过何种机制来发挥作用仍不清楚<sup>[10-11]</sup>。

本研究假设不同剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预与 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路之间存在相互关系,通过建立大鼠哮喘模型,观察胚胎期和哺乳期不同剂量的 1,25-二羟维生素 D 干预对哮喘大鼠肺组织中 TGF- $\beta$ 1 及 Smad3 表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (Sigma 公司,美国),卵清蛋白(OVA) (Sigma 公司,美国),兔抗大鼠 pSmad3 多克隆抗体(Abcam),小鼠抗大鼠 TGF- $\beta$ 1 单克隆抗体(Abcam),HRP 标记的 IgG 二抗(Dako),DAB 染色液套装(上海仪涛),RNAiso Plus (Takara),荧光定量 PCR 试剂盒(Takara)。

### 1.2 大鼠哮喘模型制作和取材

清洁级成年雌性 Wistar 大鼠 32 只,体重在 170 ~ 200 g;雄性 Wistar 大鼠 16 只,体重在 200 ~ 250 g,均购自中国科学院上海实验动物中心。

雌性 Wistar 大鼠,随机分为 4 组,每组 8 只,各组大鼠与雄性 Wistar 大鼠按 2:1 比例合笼。每日清晨对雌性大鼠进行阴道涂片检查,以发现精子的当天为受孕第 1 天,在受孕第 7 天起,以隔天灌胃的方式给予不同浓度的 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (低剂量组 2  $\mu$ g/mL<sup>[12]</sup>,中剂量组 10  $\mu$ g/mL,高剂量组 20  $\mu$ g/mL<sup>[13]</sup>,对照组以生理盐水代替),每次灌胃前对雌鼠进行称重,再根据体重给予不同剂量(低剂量组 2  $\mu$ g/kg,中剂量组 10  $\mu$ g/kg,高剂量组 20  $\mu$ g/kg)的 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预,对照组以生理盐水(10 mL/kg)代替,直到子代大鼠生后 21 d 断

乳为止。参考文献<sup>[14-15]</sup>制备大鼠哮喘模型的方法,从各组子代大鼠中随机抽取 8 只,雌雄各半,在断乳后第 1 天和第 8 天分别给予腹腔注射 OVA 致敏液(1 mg OVA + 200  $\mu$ g 氢氧化铝 + 0.5 mL 生理盐水) 0.5 mL,第 15 天起以 1% OVA 雾化激发,每次 30 min,连续激发 7 d。末次激发后 24 h 进行麻醉,结扎左肺门,取左肺放入冻存管置于液氮中冻存,待行荧光定量 PCR;用 4% 中性福尔马林对大鼠进行全身灌注固定后,取右肺肺组织行免疫组化。

### 1.3 实验方法

1.3.1 支气管肺组织病理学观察 将右肺组织置于 4% 中性福尔马林中固定 24 h,脱水、石蜡包埋、切片、苏木精-伊红(HE)染色后在 200 倍光镜下观察支气管肺组织的病理变化。

1.3.2 肺组织中 TGF- $\beta$ 1 及 pSmad3 蛋白表达的检测 取右肺组织进行石蜡切片后,用免疫组织化学的方法(步骤按照说明书),依次对切片进行脱蜡、抗原修复、抗体孵育、DAB 显色、脱水、透明、封片等步骤,显微镜下观察组织染色情况。各组每只大鼠肺组织取 5 张切片,每张切片随机选择 10 个高倍镜支气管视野( $\times 400$ )。阴性对照以 PBS 代替一抗,其他条件相同,阳性表达为棕黄色颗粒,背景为蓝色。参照文献的方法<sup>[16-17]</sup>,使用 image pro plus 6.0 图像分析系统,计算气道上皮和气道周围细胞及细胞内免疫组化染成棕黄色(阳性染色)的积分光密度(IOD)值,换算成相同大小标准测量框内阳性染色 IOD 值,表示 TGF- $\beta$ 1 及 pSmad3 阳性蛋白表达,每张切片随机取 10 个高倍视野,取其平均值作为该片的 IOD 值。

1.3.3 支气管肺组织中 TGF- $\beta$ 1 及 Smad3 mRNA 的测定 应用 RT-PCR 技术检测,按照 RNAiso Plus 说明书抽提支气管肺组织的总 RNA,紫外分光光度计检测总 RNA 的浓度及吸光度 A260/A280 比值。按逆转录试剂盒操作说明,37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5 s,将 RNA 逆转录为 cDNA,-20 $^{\circ}$ C 保存。引物设计序列为 TGF- $\beta$ 1 (上游引物:5'-GAACCAAG-GAGACGGAATACAG-3',下游引物:5'-AACCCAG-GTCCTCCTAAAGTC-3',扩增产物 299 bp),Smad3 (上游引物:5'-TGAACACCAAGTGCATTACCA-3',下游引物:5'-TGACTGGCTGTAGGTCCAAGT-3',扩增产物 495 bp),GAPDH (上游引物:5'-GGTGAAG-GTCGGTGTGAACG-3',下游引物:5'-CTCGCTCCTG-GAAGATGGTG-3',扩增产物 233 bp)。应用 Takara 试剂操作说明,采用两步法 PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;PCR 反应:95 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 3 s,40 个循环;记录每个样本基因的 CT 值,mRNA 值 = 2<sup>- $\Delta$ ACT</sup>。

### 1.4 统计学分析

用相对表达软件工具-XL (REST-XL-version2) 对 RT-PCR 结果进行分析, 根据 Livak 等<sup>[18]</sup> 设计的一种通过比较阈值法来测定目的基因的相对表达, 由数学公式推导出目的基因的表达式量 =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , 表示的是实验组目的基因表达相对于对照组的变化倍数。采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析, 结果以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。若数据符合正态分布和方差齐性, 则多组间比较采用方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验, 否则将数据取算术平方根, 转换成正态分布和方差齐性再进行上述检验。若转

换后仍不符合正态分布或方差不齐, 则进行 Kruskal Wallis 秩和检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组仔鼠支气管肺组织的病理改变

各组仔鼠肺组织均出现炎症反应, 主要表现为支气管平滑肌痉挛, 气道上皮细胞增生, 管壁增厚, 管腔内炎症分泌物增多, 伴有周围淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞的浸润。见图 1。

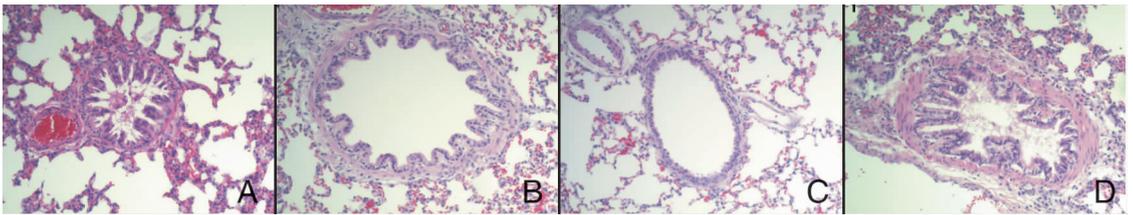


图 1 各组大鼠肺组织病理切片 (苏木精-伊红染色,  $\times 200$ ) A 为对照组, B 为低剂量组, C 为中剂量组, D 为高剂量组。各组炎症表现, 以中剂量组反应最轻; 与对照组相比, 低剂量组出现轻度的支气管痉挛、上皮细胞和平滑肌细胞增生, 管腔周围可见少量的炎症细胞浸润, 高剂量组则出现了明显的气道平滑肌痉挛, 上皮增生紊乱, 管壁增厚, 管腔内炎症分泌物增多, 管腔周围大量炎症细胞浸润。

### 2.2 各组仔鼠支气管肺组织中 TGF- $\beta 1$ 和 pSmad3 表达

与对照组相比, 低、中剂量组 TGF- $\beta 1$  的表达降低 ( $P < 0.05$ ), 但低、中剂量两组间差异无统计学意义, 高剂量组则表达明显增高 ( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, 低、中剂量组 pSmad3 的表达显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且中剂量组较低剂量组降低更明显 ( $P < 0.05$ ), 而高剂量组表达明显增高 ( $P < 0.05$ )。见表 1, 图 2。

表 1 各组仔鼠支气管肺组织中 TGF- $\beta 1$  和 pSmad3 的表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TGF- $\beta 1$ (IOD) 值	pSmad3 (IOD) 值
对照组	8	12.5 ± 6.1	10.6 ± 3.2
低剂量组	8	8.1 ± 2.5 <sup>a</sup>	7.7 ± 2.4 <sup>a</sup>
中剂量组	8	6.4 ± 7.9 <sup>a</sup>	4.2 ± 2.7 <sup>a,b</sup>
高剂量组	8	18.8 ± 9.2 <sup>a,b,c</sup>	13.6 ± 6.2 <sup>a,b,c</sup>
F 值		9.7	15.7
P 值		0.0	0.0

a: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与低剂量组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与中剂量组比较,  $P < 0.05$

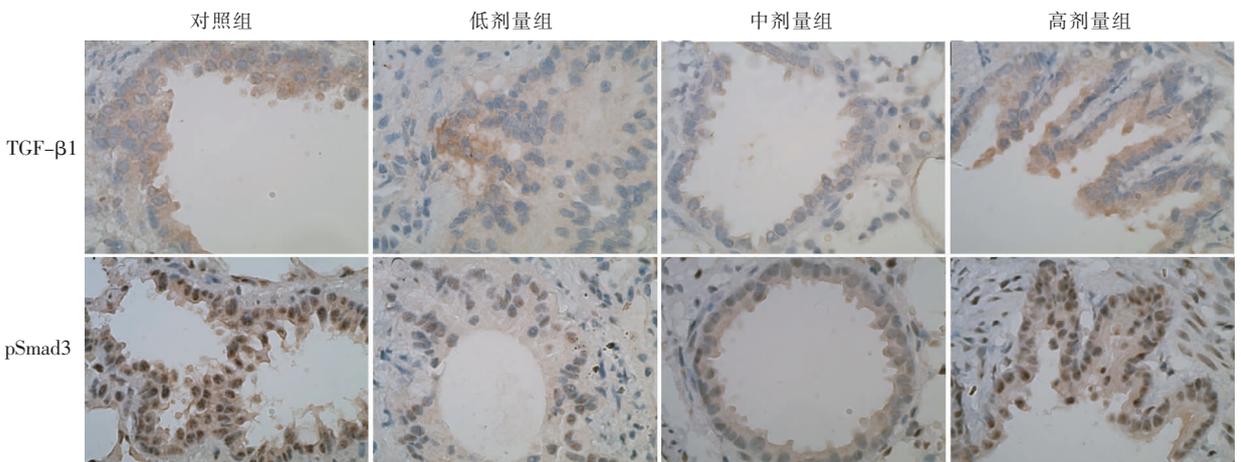


图 2 各组仔鼠肺组织中 TGF- $\beta 1$  和 pSmad3 免疫组化染色 (DAB,  $\times 400$ ) 与对照组相比, 低、中剂量组 TGF- $\beta 1$  和 pSmad3 表达明显降低, 而高剂量组则明显增高。图中棕黄色颗粒为阳性染色颗粒。

### 2.3 各组仔鼠支气管肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 的 mRNA 表达

与对照组比较,低剂量组与中剂量组仔鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 的 mRNA 表达相对倍数降低,而高剂量组仔鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 的 mRNA 相对表达倍数增高(表2)。REST-XL 2.0 软件统计分析结果表明,与对照组相比,低剂量组仔鼠肺组织中 TGF-β1 mRNA 表达降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 Smad3 mRNA 表达降低不明显,差异无统计学意义;中剂量组仔鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 表达明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );高剂量组仔鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 表达明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表3。

表2 各组仔鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TGF-β1	Smad3
对照组	8	1	1
低剂量组	8	0.6631 ± 0.3562	0.2246 ± 0.0810
中剂量组	8	0.5503 ± 0.4229	0.1699 ± 0.0682
高剂量组	8	2.3898 ± 0.9664	2.1578 ± 2.9961

表3 应用 REST-XL2.0 软件对各组仔鼠肺组织中 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 表达差异的比较分析 (n=8)

指标	表达	标准误	95% CI	P 值	结果
低剂量组					
GAPDH	1				
TGF-β1	0.615	0.399 ~ 0.857	0.368 ~ 1.476	0.029	降低
Smad3	0.393	0.148 ~ 1.259	0.100 ~ 2.853	0.051	
中剂量组					
GAPDH	1				
TGF-β1	0.452	0.176 ~ 0.963	0.125 ~ 1.548	0.028	降低
Smad3	0.324	0.157 ~ 0.873	0.109 ~ 1.975	0.013	降低
高剂量组					
GAPDH	1				
TGF-β1	2.043	1.217 ~ 3.618	0.595 ~ 5.642	0.033	增高
Smad3	2.255	1.091 ~ 4.801	0.744 ~ 10.672	0.034	增高

### 3 讨论

1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 被吸收后在体内转化为活性代谢产物 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 后者通过与维生素 D 受体结合调节多种生物学活性,其对哮喘免疫机制的调节已成为目前研究的热点之一<sup>[19-20]</sup>。本课题组的前期研究表明胚胎期不同剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预

可调节子代哮喘大鼠肺组织中维生素 D 受体的表达,并进一步调节哮喘大鼠肺组织的炎症反应程度,其中高剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (20 μg/kg) 干预可增加维生素 D 受体表达,并加重哮喘炎症反应,而低剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (2 μg/kg) 和中剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (10 μg/kg) 干预则可减少维生素 D 受体的表达,并减轻哮喘炎症反应。

本研究检测不同剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预后哮喘大鼠肺组织中 TGF-β/Smad 信号通路相关蛋白的表达变化,HE 染色结果显示:低剂量和中剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预组仔鼠肺组织的炎症反应明显较对照组轻,而高剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预组仔鼠肺组织炎症反应则较对照组严重。免疫组化结果显示中剂量组仔鼠支气管肺组织中 TGF-β1 及 pSmad3 表达最少,低剂量组其次,高剂量组表达较对照组增加。低剂量及中剂量组仔鼠肺组织中 TGF-β1 及 Smad3 mRNA 的表达较对照组和高剂量组明显降低,且中剂量组下降更加明显,而高剂量组哮喘仔鼠肺组织中 TGF-β1 及 Smad3 mRNA 的表达明显高于对照组。这与前期研究中相应不同剂量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预后的哮喘大鼠肺组织病理改变结果相一致,表明适量的 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预可调节哮喘大鼠肺组织中维生素 D 受体的表达,并通过与 TGF-β/Smad 信号通路的相互作用,抑制该通路的效应因子 TGF-β1、Smad3 等的表达,进而发挥其对哮喘的防治作用并减轻气道炎症反应。研究结果提示生命早期维生素 D 干预对以后哮喘等过敏性疾病的发生发展具有预防和治疗作用,其机制可能是通过 TGF-β1/Smad 信号通路进行信号传导。然而要进一步证实该研究,还需要应用维生素 D 受体阻断剂,阻断该信号通路后观察大鼠肺组织中 TGF-β/Smad 信号通路相关蛋白的表达变化,因此维生素 D 发挥免疫作用的机制与 TGF-β/Smad 信号通路之间的确切关系,仍待下一步研究探讨。

综上所述,生命早期适量 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预可减轻哮喘动物的炎症反应,且与剂量有相关性。其机制可能与 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预对 TGF-β/Smad 信号通路相关蛋白表达影响有关,这为临床预防哮喘等过敏性疾病提供了很好的理论基础。但 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 如何对 TGF-β/smard 信号通路发挥调节作用,仍需进一步的研究。

#### [参 考 文 献]

[1] 张建华, 郁志伟, 郭盛, 郝春莉, 陈凌, 徐敏, 等. 布地奈德对

- 哮喘小鼠 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路表达的影响[J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(7):679-684.
- [2] Chen M, Lv Z, Jiang S. The effects of triptolide on airway remodelling and transforming growth factor- $\beta$ /Smad signalling pathway in ovalbumin-sensitized mice [J]. Immunology, 2011, 132(3):376-384.
- [3] Xie S, Sukkar MB, Issa R, Khorasani NM, Chung KF. Mechanisms of induction of airway smooth muscle hyperplasia by transforming growth factor-beta[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 293(1): L245-L253.
- [4] Hackett TL, Warner SM, Stefanowicz D, Shaheen F, Pechkovsky DV, Murray LA, et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition in primary airway epithelial cells from patients with asthma by transforming growth factor-beta1 [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(2): 122-133.
- [5] Bossé Y, Stankova J, Rola-Pleszczynski M. Transforming growth factor-beta1 in asthmatic airway smooth muscle enlargement; is fibroblast growth factor-2 required? [J]. Clin Exp Allergy, 2010, 40(5): 710-724.
- [6] Yanagisawa J, Yanagi Y, Masuhiro Y, Suzawa M, Watanabe M, Kashiwagi K, et al. Convergence of transforming growth factor-beta and vitamin D signaling pathways on SMAD transcriptional coactivators[J]. Science, 1999, 283(5406): 1317-1321.
- [7] Hyppönen E, Sovio U, Wjst M, Patel S, Pekkanen J, Hartikainen AL, et al. Infant vitamin D supplementation and allergic conditions in adulthood; northern Finland birth cohort 1966 [J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1037: 84-95.
- [8] Wjst M, Dold S. Genes, factor X, and allergens: what causes allergic diseases? [J]. Allergy, 1999, 54(7): 757-759.
- [9] Milner JD, Stein DM, McCarter R, Moon RY. Early infant multi-vitamin supplementation is associated with increased risk for food allergy and asthma[J]. Pediatrics, 2004, 114(1): 27-32.
- [10] 张巧玲, 周小建, 洪建国. 生命早期补充维生素 D 对哮喘大鼠白细胞介素 10 和细胞间黏附分子 1 表达的影响[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(10):735-739.
- [11] 王晓芳, 洪建国, 周小建. 维生素 D 对大鼠哮喘模型气道炎症的影响[J]. 上海医学, 2008, 31(1):27-29.
- [12] Zittermann A, Dembinski J, Stehle P. Low vitamin D status is associated with low cord blood levels of the immunosuppressive cytokine interleukin-10 [J]. Pediatr Allergy Immunol, 2004, 15(3): 242-246.
- [13] Ludewig B, Graf D, Gelderblom HR, Becker Y, Kroczeck RA, Pauli G, et al. Spontaneous apoptosis of dendritic cells is efficiently inhibited by TRAP (CD40-ligand) and TNF-alpha, but strongly enhanced by interleukin-10 [J]. Eur J Immunol, 1995, 25(7): 1943-1950.
- [14] Martin JG, Suzuki M, Maghni K, Pantano R, Ramos-Barbón D, Ihaku D, et al. The immunomodulatory actions of prostaglandin E2 on allergic airway responses in the rat [J]. J Immunol, 2002, 169(7): 3963-3939.
- [15] 李庆云, 黄绍光, 周同, 程齐俭, 吴华成, 许海敏, 等. 吸烟致大鼠慢性支气管炎形成过程气道上皮 ICAM-1 表达的研究 [J]. 中国微循环杂志, 2005, 9(5):305-307.
- [16] Poon AH, Laprise C, Lemire M, Montpetit A, Sinnett D, Schurr E, et al. Association of vitamin D receptor genetic variants with susceptibility to asthma and atopy [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170(9): 967-973.
- [17] Raby BA, Lazarus R, Silverman EK, Lake S, Lange C, Wjst M, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with childhood and adult asthma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170(10): 1057-1065.
- [18] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-Delta Delta C(T)</sup> Method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [19] Majak P, Olszowiec-Chlebna M, Smejda K, Stelmach I. Vitamin D supplementation in children may prevent asthma exacerbation triggered by acute respiratory infection [J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127(5): 1294-1296.
- [20] Wittke A, Chang A, Froicu M, Harandi OF, Weaver V, August A, et al. Vitamin D receptor expression by the lung micro-environment is required for maximal induction of lung inflammation [J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 460(2): 306-313.

(本文编辑:王庆红)

· 消息 ·

## 全国儿童新药临床试验学术研讨会第一轮通知

随着对于儿童用药安全的日益关注,开展规范化的多中心儿童药物临床试验迫在眉睫。由中华医学会儿科学分会儿科临床药理学专业组主办、北京大学第一医院儿科和首都医科大学附属北京儿童医院承办的儿童新药临床试验学术研讨会将于2012年10月底在北京举行,会期预计3天。届时将邀请国内外专家进行讲座并讨论,内容涉及:新药临床试验概述及基本概念、我国新药临床药理评价与审批流程、临床试验质量管理规范(GCP)、实施GCP所需的基本条件、各期临床试验的设计与要求、涉及儿童药物临床试验的伦理学、群体药代动力学等方法在新药临床评价中的应用、成人药物临床试验的国内外现状、儿童药物临床试验的国内外现状以及儿童标签外用等多个主题。该研讨会为国家级继续教育项目(2012-06-04-039),授予国家级1类学分5分。欢迎广大儿科临床医师及临床药师参加会议。具体注册报名情况请关注后续的第二轮通知。

中华医学会儿科学分会儿科临床药理学专业组