

论著·实验研究

孟鲁司特钠对哮喘小鼠气道重塑及 Th17/ CD4⁺CD25⁺Treg 表达的影响

李丽¹ 姜春艳² 李敏³ 张剑波⁴ 陈杰⁴

(1. 四川省医学科学院 / 四川省人民医院城东病区儿科, 四川 成都 610110;

2. 河南大学淮河医院儿科, 河南 开封 475000;

四川省医学科学院 / 四川省人民医院 3. 儿科; 4. 中心实验室, 四川 成都 610072)

[摘要] **目的** 探讨白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠干预哮喘小鼠后气道重塑及 Th17 细胞/CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞 (CD4⁺CD25⁺Treg) 表达的动态变化及其相关性。**方法** 将 Balb/c 小鼠随机分成空白组、哮喘组、孟鲁司特钠组, 每组经腹腔注射鸡卵清蛋白 (OVA) 和氢氧化铝混悬液致敏并雾化吸入 2.5% OVA 以制备哮喘气道重塑模型, 空白组以生理盐水替代; 孟鲁司特钠组雾化前给予孟鲁司特钠混悬液灌胃, 空白组及哮喘组以生理盐水代替。3 组分别在雾化 2 周、4 周及 8 周后的 24 h 内随机处死 8 只小鼠。肺组织病理切片观察气道重塑程度; 流式细胞技术检测脾组织中 Th17、CD4⁺CD25⁺Treg 细胞占 CD4⁺T 细胞百分比。**结果** 各时间点哮喘组和孟鲁司特钠组支气管总管壁厚度、平滑肌厚度均高于空白组 ($P<0.05$), 干预 8 周时孟鲁司特钠组较哮喘组上述变化明显减轻 ($P<0.05$)。与空白组比较, 各时间点哮喘组和孟鲁司特钠组均显示 Th17 细胞数增加, 与气道重塑呈正相关 ($P<0.05$); 而 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数逐渐降低, 与气道重塑呈负相关 ($P<0.05$)。干预 8 周时孟鲁司特钠组与哮喘组比较, Th17 细胞数显著下降 ($P<0.05$); 而 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数明显增加 ($P<0.05$)。**结论** 孟鲁司特钠干预哮喘小鼠后能减轻气道重塑的发生, 且随着用药时间延长, 改善越明显; 机制可能是通过改善哮喘小鼠体内 Th17/CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫紊乱, 抑制气道炎症反应从而减轻或延缓气道重塑来起作用的。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(11): 1174-1180]

[关键词] 哮喘; 白三烯受体拮抗剂; Th17 细胞; CD4⁺CD25⁺Treg 细胞; 小鼠

Effect of montelukast sodium intervention on airway remodeling and percentage of Th17 cells/CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in asthmatic mice

LI Li, LOU Chun-Yan, LI Min, ZHANG Jian-Bo, CHEN Jie. Department of Pediatrics, The East Ward of Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610110, China (Li M, Email: lmscsy@aliyun.com.cn)

Abstract: Objective To study the dynamic changes in the percentage of Th17 cells/CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells after intervention with montelukast sodium, a leukotriene receptor antagonist, in asthmatic mice and the association between them. **Methods** Balb/c mice were randomly divided into blank group, asthma group, and montelukast sodium group. The asthmatic mouse model of airway remodeling was established by sensitization with intraperitoneal injection of chicken ovalbumin (OVA) and aluminum hydroxide suspension and aerosol inhalation of OVA. The mice in the blank group were given normal saline, and those in the montelukast sodium group were given montelukast sodium by gavage before aerosol inhalation. Eight mice were randomly sacrificed within 24 hours after 2, 4, and 8 weeks of aerosol inhalation. The pathological sections of lung tissue were used to observe the degree of airway remodeling. Flow cytometry was used to measure the percentages of Th17 cells and CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in CD4⁺ T cells. **Results** The asthma group and the montelukast sodium group had significantly higher bronchial wall thickness and smooth muscle thickness at all time points compared with the blank group ($P<0.05$). At 8 weeks of intervention, the

[收稿日期] 2016-06-01; [接受日期] 2016-08-09

[基金项目] 四川省卫生厅科研项目 (070089)。

[作者简介] 李丽, 女, 硕士, 医师。

[通信作者] 李敏, 女, 主任医师。

montelukast sodium group had significantly greater improvements in the above changes compared with the asthma group ($P<0.05$). Compared with the blank group, the asthma group and the montelukast sodium group had significant increases in Th17 cells (positively correlated with airway remodeling) and significant reductions in $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells (negatively correlated to airway remodeling) at all time points ($P<0.05$). At 8 weeks of intervention, the montelukast sodium group had a significant reduction in the number of Th17 cells and a significant increase in the number of $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells compared with the asthma group ($P<0.05$). **Conclusions** Montelukast sodium intervention can alleviate airway remodeling and achieve better improvements over the time of intervention. The possible mechanism may be related to the improvement of immunologic derangement of $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells and inhibition of airway inflammation.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(11): 1174-1180]

Key words: Asthma; Leukotriene receptor antagonist; Th17 cell; $CD4^+CD25^+$ regulatory T cell; Mice

哮喘发生过程中最重要的病理特征是气道炎症和气道重塑。随着气道炎症的发展,进一步导致持续性气道高反应和气道管腔狭窄,引起气道重塑的发生,造成气道不可逆气流阻塞,最终导致哮喘慢性化。越来越多的文献报道哮喘小鼠体内 Th17 细胞及 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞 (Treg) 表达失衡与气道炎症和气道重塑的发生相关^[1-3]。半胱氨酰白三烯 (CysLTs) 作为哮喘发病机制中的重要炎症递质,能够引起呼吸道平滑肌收缩,促进呼吸道结构细胞增殖^[4],参与哮喘气道重塑的发生。为探讨孟鲁司特钠干预后哮喘气道重塑的动态变化过程对 Th17 与 $CD4^+CD25^+$ Treg 免疫平衡的影响,为临床更好地预防和控制哮喘提供实验室依据,本课题组进行了该实验,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 Balb/c 雌性小鼠 72 只,4~6 周龄,体重 14 ± 2 g,由成都达硕生物有限公司提供(质量合格证 NO-0016815),饲养于四川省人民医院动物房,SPF 级环境,喂养不含过敏原的无菌食物,专用动物饮水。

1.2 主要实验仪器与试剂

SW-CJ-2FD 超净工作台(苏州净化设备厂);CYTOMICSFC500 流式细胞仪(美国 BACK MAN COULTER 公司);细胞记数板(上海求精生化试剂仪器有限公司);Apex 雾化器(台湾雅博股份有限公司);离心机(科大创新股份有限公司);数码三目摄像显微摄像系统(麦克奥迪实业集团有限公司);Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

孟鲁司特钠咀嚼片 4 mg/片(杭州默沙东制药有限公司);卵清蛋白(OVA)、离子霉素(美

国 Sigma 公司);兔抗鼠 IL-17 单克隆抗体(PE 标记)、兔抗鼠 CD4 单克隆抗体(FITC 标记)、兔抗鼠 CD25 单克隆抗体(PE 标记)均购自美国 Biolegend 公司。

1.3 哮喘小鼠模型的建立及药物干预方法

将 Balb/c 小鼠随机分成空白组、哮喘组、孟鲁司特钠组,每组 24 只。依据沈华浩等^[5]、Temelkovski 等^[6]方案加以调整,自制小鼠雾化吸入箱(30 cm × 24 cm × 20 cm),利用 OVA 被动致敏并激发的方法建立哮喘小鼠气道重塑模型。哮喘组、孟鲁司特钠组分别在实验开始和实验第 14 天经腹腔注射 0.2 mL 致敏混悬液(含 20 μg OVA 和 100 μg 氢氧化铝)致敏,空白组经腹腔注射等量生理盐水致敏。第 21 天起,哮喘组、孟鲁司特钠组给予 2.5% OVA 混悬液雾化激发,每次约 30 min,隔天 1 次,空白组给予等量生理盐水雾化激发。孟鲁司特钠组在每次雾化前给予 0.1 mL 白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠混悬液(1 mg/kg)灌胃,孟鲁司特钠药物剂量根据陈奇等^[7]关于药物剂量估换计算公式推算出,空白组和哮喘组以等量生理盐水代替。最长雾化时间 8 周。

1.4 标本制备及检测

3 组小鼠分别在雾化 2 周、4 周及 8 周后的 24 h 内随机处死 8 只小鼠,然后固定在解剖台上,充分暴露肺部组织,取适量事先准备好的 10% 多聚甲醛经气管注入灌洗肺部组织;取左肺固定在 10% 的多聚甲醛中 72 h 以上,再取出依次经清水及浓度梯度乙醇溶液脱水,用氯仿进行透明化处理,电热恒温箱内浸蜡,石蜡包埋,制备成 5 μm 厚的肺组织样本;并制作成载玻片贴片,再经纯酒精及梯度酒精蒸馏水化,经苏木精染色,观察肺组织形态结构及炎症情况。每个标本随机选取 3 张切片,每张切片先于光学显微镜放大 100 倍下观察全部组织病理变化,再根据组织大小及表达

情况分别选取3个区域放大200倍采集图像；应用医学图像分析软件Image-Pro Plus 6.0，测定支气管基底周径（Pbm）、总管壁厚度（Wat）、平滑肌厚度（Wam），并用Pbm进行标准化，若每张切片采集多张图像，则取平均值，进行统计学分析。

同时暴露并取下脾脏组织放在准备好的PRMI1640培养液中进行冲洗；将取好的脾组织剪碎置于细胞过滤筛网上研磨、过滤，并加入小鼠淋巴细胞分离液，利用密度梯度离心法分离制备脾组织单个核细胞悬液，上流式细胞仪检测Th17细胞、CD4⁺CD25⁺Treg细胞和CD4⁺T细胞的百分比。

1.5 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件对数据进行统计学分析，符合正态分布的计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示，多组数据比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用SNK-*q*检验；采用Pearson直线相关对双变量间进行相关性分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠哮喘发作的特点

与空白组相比，哮喘组、孟鲁司特钠组小鼠在实验期间均出现毛发失去光泽、少动、活动进

食减少、反应迟钝等表现，在雾化激发过程中出现烦躁、骚鼻、呼吸急促或呼吸困难、点头呼吸、口唇青紫、毛发竖起、腹部肌肉痉挛、二便失禁等急性哮喘发作的症状，其中孟鲁司特钠组上述症状较哮喘组明显减轻。

2.2 各组小鼠肺组织的病理学变化

空白组小鼠的气道黏膜平整、连续，没有皱褶，黏膜下炎症细胞不多，支气管肺组织结构正常，未见杯状细胞的异常增生及黏液分泌，平滑肌层均匀，气道管壁没有增厚。哮喘组小鼠在激发2周后可见支气管壁及血管周围有大量炎性细胞浸润，上皮细胞肿胀，部分变性、坏死、脱落，气道平滑肌层增厚，杯状细胞增生伴黏液高分泌，部分可见黏液栓堵塞，基底膜增厚；随着激发时间的延长，气道平滑肌细胞增生及气道管壁增厚更明显，即8周组气道病理损害重于4周组及2周组，4周组又重于2周组。孟鲁司特钠组小鼠在激发2周、4周、8周后仍可见支气管及血管周围炎性细胞浸润，杯状细胞黏液分泌，上皮细胞脱落不全，基底膜及气道平滑肌增厚等病理变化；且随着激发时间的延长，这些变化有加重趋势；但与模型组比较，小鼠气道的病理损害均有明显减轻。见图1。

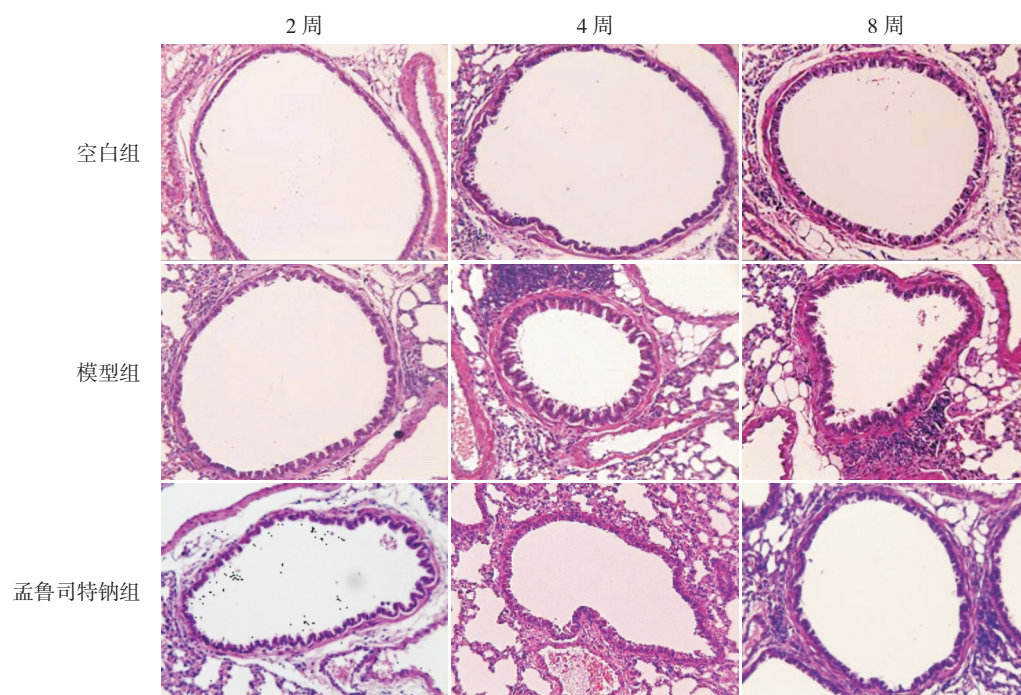


图1 各组不同时间点肺组织病理切片（苏木精-伊红染色， $\times 100$ ） 空白组未见气道炎症改变；模型组细支气管及血管周围均可见大量炎性细胞浸润；孟鲁司特钠组炎症改变较哮喘组明显减轻。

2.3 各组小鼠气道形态学参数分析

哮喘组及孟鲁司特钠组激发 2 周后支气管 Wat、Wam 开始增厚，与空白组比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)，至 8 周时哮喘组增厚更明显 ($P<0.05$)；孟鲁司特钠组支气管 Wat、Wam 均

较同期哮喘组减轻，但仅 8 周时差异有统计学意义 ($P<0.05$)；提示用孟鲁司特钠干预哮喘小鼠后能减轻气道重塑的发生，且随着用药时间延长，改善越明显。见表 1。

表 1 各组小鼠各时间点肺组织气道重塑情况 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$, $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$)

组别	支气管总管壁厚度			平滑肌厚度		
	2 周	4 周	8 周	2 周	4 周	8 周
空白组	45 ± 4	42 ± 5	46 ± 8	7.0 ± 0.8	6.0 ± 1.4	5.9 ± 1.8
哮喘组	72 ± 7 ^a	69 ± 11 ^a	101 ± 7 ^a	8.2 ± 0.8 ^a	8.4 ± 1.7 ^a	11.0 ± 2.1 ^a
孟鲁司特钠组	69 ± 6 ^a	65 ± 9 ^a	57 ± 7 ^{a,b}	8.0 ± 1.2 ^a	8.1 ± 1.6 ^a	8.0 ± 1.2 ^{a,b}
<i>F</i> 值	52.340	23.350	118.902	3.798	5.663	17.037
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.039	0.011	<0.001

注：a 示与空白组比较， $P<0.05$ ；b 示与哮喘组比较， $P<0.05$ 。

2.4 各组小鼠脾组织中 Th17 细胞及 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞的百分比

各时间点哮喘组、孟鲁司特钠组 Th17 细胞占 CD4⁺T 细胞百分比均较空白组升高 ($P<0.05$)；且孟鲁司特钠组 Th17 细胞占 CD4⁺T 细胞百分比均较同期哮喘组减少，但仅 8 周时差异有统计学意义 ($P<0.05$)。各时间点哮喘组、孟鲁司特钠组 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞百分比均较空白组降低 ($P<0.05$)；且孟鲁司特钠组 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞百分比均较同期哮喘组增加，但仅 8 周时差异有统计学意义 ($P<0.05$)。提示用孟鲁司特钠干预哮喘小鼠后可改善 Th17 细胞、

CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的表达异常，且随着用药时间延长，改善越明显。见表 2，图 2~3。

2.5 孟鲁司特钠组 Th17 细胞、CD4⁺CD25⁺Treg 细胞与气管形态学变化的相关分析

孟鲁司特钠组小鼠在 2 周、4 周、8 周时 Th17 细胞数与支气管 Wat、Wam 分别呈正相关 (Wat: $r=0.911$ 、 0.854 、 0.971 ，均 $P<0.01$ ；Wam: $r=0.977$ 、 0.936 、 0.937 ，均 $P<0.01$)。CD4⁺CD25⁺Treg 细胞与支气管 Wat、Wam 分别呈负相关 (Wat: $r=-0.895$ 、 -0.876 、 -0.971 ，均 $P<0.01$ ；Wam: $r=-0.975$ 、 -0.944 、 -0.953 ，均 $P<0.01$)。

表 2 各组小鼠各时间点脾组织中 Th17 细胞和 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞百分比比较 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$, %)

组别	IL-17			CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg		
	2 周	4 周	8 周	2 周	4 周	8 周
空白组	0.49 ± 0.10	0.44 ± 0.09	0.49 ± 0.12	15.4 ± 1.3	14.9 ± 0.8	14.7 ± 1.1
哮喘组	0.82 ± 0.07 ^a	1.36 ± 0.09 ^a	2.36 ± 0.10 ^a	12.1 ± 1.7 ^a	9.2 ± 0.9 ^a	7.0 ± 1.0 ^a
孟鲁司特钠组	0.79 ± 0.12 ^a	1.26 ± 0.12 ^a	1.30 ± 0.12 ^{a,b}	13.9 ± 1.3 ^a	10.1 ± 1.1 ^a	10.1 ± 1.3 ^{a,b}
<i>F</i> 值	28.119	194.247	537.568	10.453	90.491	91.845
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001

注：a 示与空白组比较， $P<0.05$ ；b 示与哮喘组比较， $P<0.05$ 。

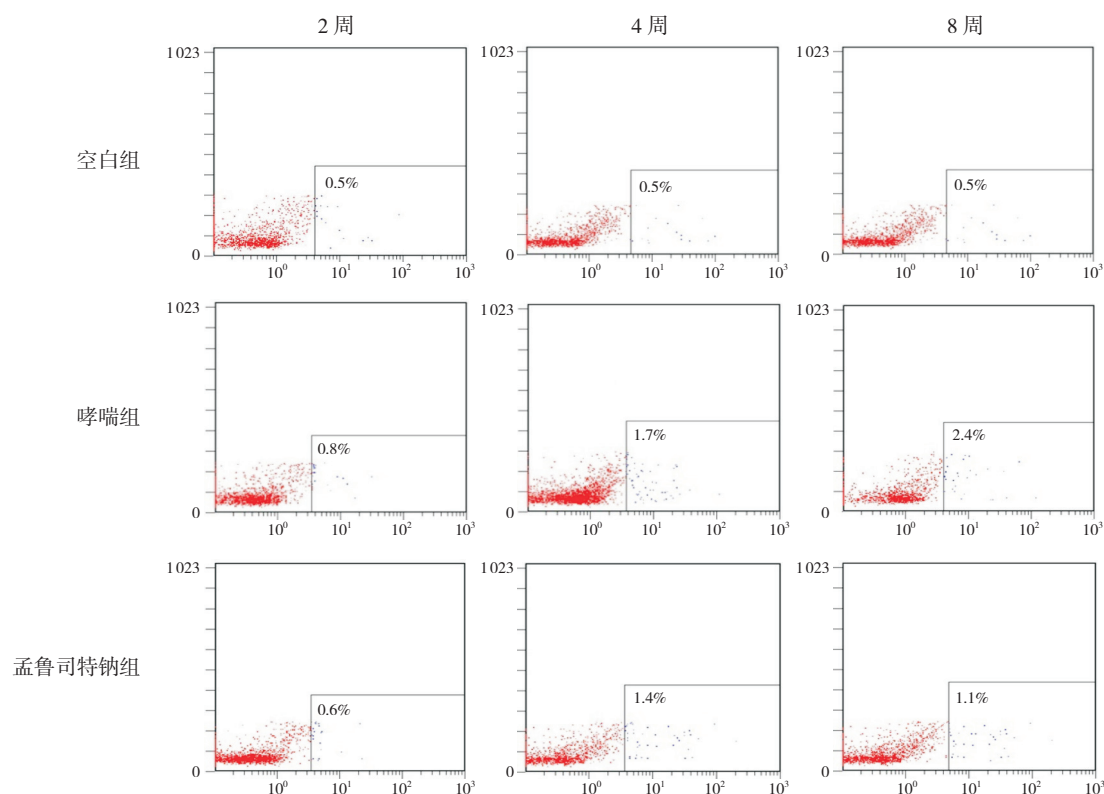


图 2 各组小鼠不同时间点脾组织中 Th17 细胞占 CD4⁺T 细胞百分比的流式细胞仪分析图 随着干预时间延长, 孟鲁司特钠组 Th17 细胞百分比均较同期哮喘组减少。右下角方框所示为 Th17 细胞占 CD4⁺T 细胞百分比。图中横轴为 IL-17A PE, 纵轴为 SSlin。

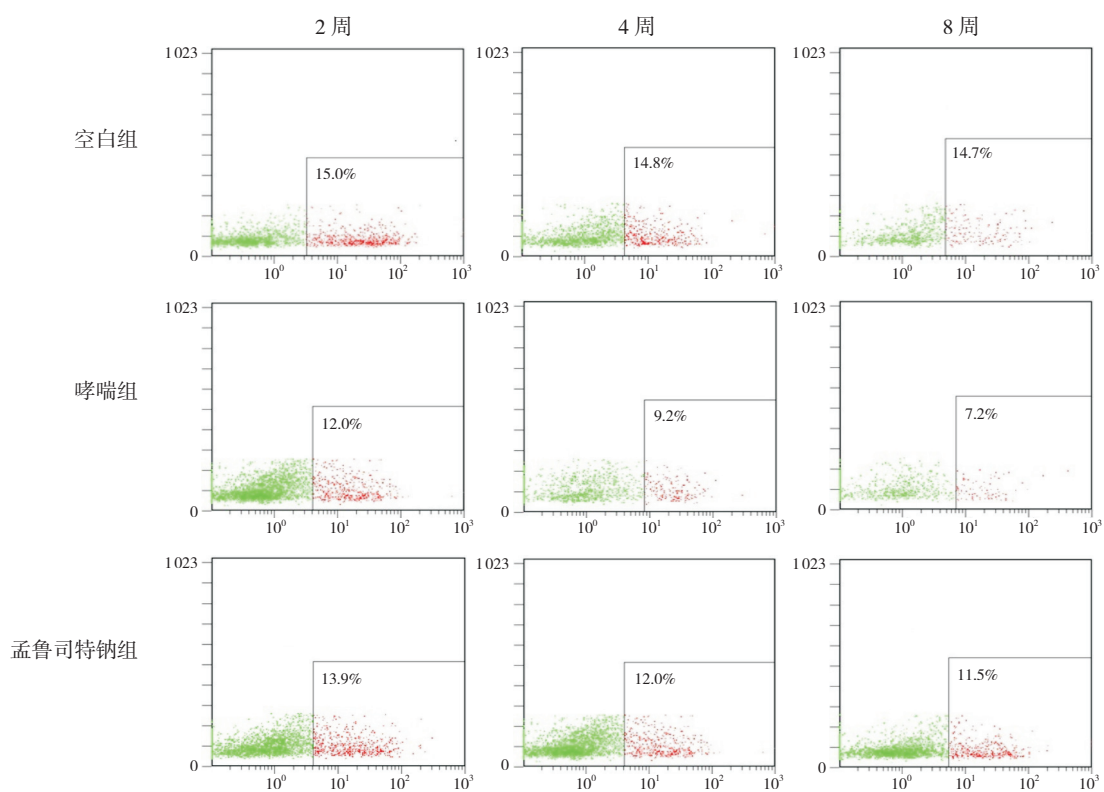


图 3 各组小鼠不同时间点脾组织中 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞百分比的流式细胞仪分析图 随着干预时间延长, 孟鲁司特钠组 CD4⁺CD25⁺Treg 百分比均较同期哮喘组增加。右下角方框所示为 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞百分比。图中横轴为 CD25 PE, 纵轴为 SSlin。

3 讨论

哮喘是一种免疫功能异常导致的变态反应性疾病,涉及多种炎症细胞及其分泌的介质参与其炎症过程。长期的慢性气道炎症导致持续气道高反应性和气道重塑,是引起哮喘患者不可逆性呼吸道阻塞和难治性哮喘的病理基础和重要原因之一。本课题组的前期研究证实,若不进行干预,哮喘小鼠气道重塑的病理变化呈进行性加重^[8]。近年来研究者们发现 Th17/CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的免疫紊乱在哮喘发生发展和疾病过程中起着重要的作用。IL-17 作为 Th17 细胞的主要效应因子,刺激结构细胞高表达 IL-6、TGF- β 、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、基质金属蛋白酶 MMP-9 等,通过多种方式参与气道重塑^[9]。胸腺源性 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞具有免疫抑制和免疫无能性,可通过分泌 IL-10 和 TGF- β , 转录 Foxp3⁺ 细胞因子发挥特异性调控作用。本实验发现在哮喘小鼠 Th17 细胞数增加的同时气道 Wat 和 Wam 亦增加,且呈正相关;而 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数逐渐下降,且与气道 Wat 和 Wam 呈负相关。提示哮喘小鼠中确实存在 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数减少同时 Th17 细胞数目增加的免疫失衡。因此及时有效的治疗是避免和减轻气道重塑的关键。

白三烯是参与哮喘发病非常重要的炎症介质之一,尤其是 CysLTs,具有强大的促气道上皮细胞增殖的作用,Wilson 等^[10]的研究提示 LTC4 能强烈诱导人肺成纤维细胞表达,产生 TGF- β 、IL-4 和 IL-13 等,引起平滑肌增生肥大,高水平的 TGF- β 进一步导致网状基底膜增厚^[11]。由此可见 CysLTs 可通过多种途径介导炎症反应致使气道管壁的增厚。吸入糖皮质激素(ICS)作为哮喘治疗的一线药在气道重塑治疗中的作用存在诸多争议,目前大部分文献报道认为它对气道重塑的防治作用甚微,可能与 ICS 不能覆盖各级支气管有关^[12]。也有研究认为激素类药物不能抑制哮喘患者体内与气道重塑的发生密切相关的炎性介质白三烯的产生及释放。所以 CysLTs 受体拮抗剂孟鲁司特钠作为新型非激素类抗炎药能阻断 CysLTs 与受体结合,抑制白三烯的生物学活性,弥补糖皮质激素治疗的不足,在抑制气道重塑中发挥一定的作用。2015 年修订的 GINA 再次指出白三烯调节剂可作

为除吸入性糖皮质激素外,唯一可以单独应用的长期控制药物^[13]。目前许多临床研究证实 CysLTs 受体拮抗剂孟鲁司特钠能够改善哮喘患者的临床症状,抑制气道重塑,发挥有效的临床作用^[14]。

近年来诸多研究均显示 CysLTs 受体拮抗剂孟鲁司特钠应用后可抑制气道的炎症反应及黏液的分泌,阻止气道结构细胞增生,上皮下胶原的沉积以及上皮下纤维化,能够有效抑制气道重构。如 Shin 等^[15]、Souza 等^[16]及 Yamakawa 等^[17]研究结果均显示 CysLTs 受体拮抗剂使 IL-4 的浓度下降,既可减少 TGF- β 的生成,抑制 CysLTs 受体 1 mRNA 及其蛋白的表达,还可抑制嗜酸性粒细胞趋化因子-3 的表达,减少嗜酸性粒细胞的合成及 IgE 生成,抑制免疫反应,同时减少初始 CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞的分化,从而减少炎症因子 IL-17 的产生,达到控制炎症反应,抑制气道重塑的目的。另外有研究认为孟鲁司特钠能通过提高 IFN- γ 表达,反馈性抑制 IL-17 的生成,抑制气道重塑的发生^[18]。国内也有相应研究的报道,如王涛等^[19]的动物实验研究提示用孟鲁司特钠干预哮喘大鼠后,其哮喘的症状有所改善,气道病理学检测支气管周围炎性细胞浸润,气道杯状细胞占上皮细胞百分比,胶原沉积和平滑肌增生面积均低于模型组。杨洋等^[20]用流式细胞技术检测使用孟鲁司特钠干预哮喘大鼠后,肺组织中 Th17 细胞数降低,CD4⁺CD25⁺Treg 细胞表达水平增加,并借此进一步减轻呼吸道炎症,抑制气道重塑。另有研究提示,孟鲁司特钠可通过增加肺组织 IL-10 的水平来调控 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的表达^[21]。本实验在此基础上进行了长达 8 周的动态变化观察,研究结果进一步证实了用孟鲁司特钠干预哮喘小鼠后肺组织气道重塑程度减轻、CD4⁺CD25⁺Treg 表达增加、Th17 细胞的表达降低,且随着用药时间延长,改善越明显。说明长期运用白三烯受体拮抗剂后能延缓哮喘气道重塑的发生,减轻已发生的气道重塑的严重程度,但并不能使这种病理变化完全逆转,这与周卫芳等^[22]的研究结果一致。

总之,实验进一步证实, Th17/CD4⁺CD25⁺Treg 的表达异常、免疫平衡被打乱是哮喘发病的重要原因之一,也与气道重塑的发生和发展密切相关;而给予孟鲁司特钠干预后这一免疫失衡得到改善,气道重塑的病理变化得到抑制和减轻,且随着用

药时间延长,改善越明显。鉴于孟鲁司特钠具有口服方便、安全,不良作用少的优点,系非激素类药物,易于患儿和家长接受。有望在哮喘的预防和治疗儿童哮喘特别是在防止哮喘患儿气道不可逆性的损害中发挥更重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] 姚斌,李敏,庞英. 草分枝杆菌对哮喘小鼠 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞和 Th17 细胞平衡的影响 [J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(11): 1018-1022.
- [2] Segura V, Pérez-Aso M, MontóF, et al. Differences in the signaling pathways of $\alpha(1A)$ - and $\alpha(1B)$ -adrenoceptors are related to different endosomal targeting[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64996.
- [3] Kearley J, Robinson DS, Lloyd CM. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells reverse established allergic airway inflammation and prevent airway remodeling[J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 122(3): 617-624.
- [4] Poulin S, Thompson C, Thivierge M, et al. Cysteinyl-leukotrienes induce vascular endothelial growth factor production in human monocytes and bronchial smooth muscle cells[J]. Clin Exp Allergy, 2011, 41(2): 204-217.
- [5] 沈华浩,王莘莉. 支气管哮喘小鼠模型应用评价 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(4): 284-286.
- [6] Temelkovski J, Hogan SP, Shepherd DP, 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(10): 849-856.
- [7] 陈奇,孙瑞元,邓文龙,等. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 33-34.
- [8] 娄春艳,李敏,李丽. 哮喘小鼠气道重塑过程中 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞和 Th17 细胞表达的动态变化 [J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(9): 994-1000.
- [9] Brembilla NC, Montanari E, Truchetet ME, et al. Th17 cells favor inflammatory responses while inhibiting type I collagen deposition by dermal fibroblasts: differential effects in healthy and systemic sclerosis fibroblasts[J]. Arthritis Res Ther, 2013, 15(5): R151.
- [10] Wilson MS, Wynn TA. Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation[J]. Mucosal Immunol, 2009, 2(2): 103-121.
- [11] Makinde T, Murphy RF, Agrawal DK. The regulatory role of TGF-beta in airway remodeling in asthma[J]. Immunol Cell Biol, 2007, 85(5): 348-356.
- [12] Diamant Z, Mantzouranis E, Bjermer L. Montelukast in the treatment of asthma and beyond[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2009, 5(6): 639-658.
- [13] Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention[EB/OL]. (2015-05-19)[2016-04-29]. http://ginasthma.org/wp-content/uploads/2016/01/GINA_Appendix_2015_May19.pdf.
- [14] Singh RK, Tandon R, Dastidar SG, et al. A review on leukotrienes and their receptors with reference to asthma[J]. J Asthma, 2013, 50(9): 922-931.
- [15] Shin IS, Jeon WY, Shin HK, et al. Effects of montelukast on subepithelial/peribronchial fibrosis in a murine model of ovalbumin induced chronic asthma[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 17(3): 867-873.
- [16] Souza FC, Gobbato NB, Maciel RG, et al. Effects of corticosteroid, montelukast and iNOS inhibition on distal lung with chronic inflammation[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2013, 185(2): 435-445.
- [17] Yamakawa Y, Ohtsuka Y, Ohtani K, et al. Effects of leukotriene receptor antagonists on peripheral eosinophil counts and serum IgE levels in children with food allergy[J]. Drugs R D, 2010, 10(3): 147-154.
- [18] Han J, Jia Y, Takeda K, et al. Montelukast during primary infection prevents airway hyperresponsiveness and inflammation after reinfection with respiratory syncytial virus[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(4): 455-463.
- [19] 王涛,何庆南,李红梅. 槐杞黄联合孟鲁司特钠干预对哮喘大鼠气道炎症以及 IL-17 表达的影响 [J]. 中国医师杂志, 2011, 13(11): 1484-1488.
- [20] 杨洋,郭悦鹏,袁晓梅,等. 孟鲁司特对支气管哮喘大鼠辅助性 T 细胞 17/ 调节性 T 细胞平衡的影响及意义 [J]. 新乡医学院学报, 2015, 32(1): 24-27, 31.
- [21] Yüksel B, Aydemir C, Ustündag G, et al. The effect of treatment with montelukast on levels of serum interleukin-10, eosinophil cationic protein, blood eosinophil counts, and clinical parameters in children with asthma[J]. Turk J Pediatr, 2009, 51(5): 460-465.
- [22] 周卫芳,邓海贞,季伟. 扎鲁司特对哮喘豚鼠气道平滑肌厚度的影响 [J]. 苏州大学学报 (医学版), 2003, 23(6): 655-657.

(本文编辑: 万静)