

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.06.017

论著·实验研究

血管活性肠肽对哮喘小鼠气道炎症及 Th17/Treg 平衡的影响

柯莉芹¹ 王凤美² 罗运春³

(1. 浙江大学医学院附属儿童医院呼吸科, 浙江 杭州 310003; 2. 荆州市中心医院儿科, 湖北 荆州 432000; 3. 温州医科大学附属育英儿童医院呼吸科, 浙江 温州 325027)

[摘要] **目的** 探讨血管活性肠肽(VIP)对哮喘小鼠气道炎症的影响,以及对Th17细胞/调节性T细胞(Treg)失衡的调控作用。**方法** 将30只BALB/c小鼠随机分成对照组、哮喘组、VIP组,每组10只。利用卵白蛋白(OVA)致敏和激发制作急性哮喘小鼠模型;对照组致敏和激发阶段均以生理盐水代替OVA;VIP组每次OVA激发前,先以VIP溶液(20 μg/mL)雾化吸入30 min。留取各组小鼠支气管肺泡灌洗液、肺组织等标本。利用苏木精-伊红染色观察肺组织病理变化;ELISA法检测肺泡灌洗液中Th17/Treg相关细胞因子水平;免疫组化及Real-time PCR检测肺组织中Th17细胞特异性转录因子RORγt及Treg特异性转录因子Foxp3表达情况。**结果** 病理组织学结果显示VIP组小鼠肺组织气道炎症表现较哮喘组减轻。哮喘组小鼠BALF中IL-17浓度高于对照组($P<0.01$),VIP组IL-17浓度较哮喘组降低($P<0.01$),但仍高于对照组($P<0.01$)。哮喘组BALF中IL-10浓度低于对照组($P<0.01$),VIP组IL-10浓度较哮喘组升高($P<0.01$),但仍低于对照组($P<0.01$)。哮喘组小鼠肺组织RORγt mRNA及蛋白表达高于对照组($P<0.01$),Foxp3 mRNA及蛋白表达低于对照组($P<0.01$);VIP组肺组织RORγt mRNA及蛋白表达水平低于哮喘组($P<0.01$),Foxp3 mRNA及蛋白表达水平高于哮喘组($P<0.05$)。**结论** 哮喘小鼠存在Th17/Treg免疫失衡,VIP可通过调控Th17/Treg免疫失衡而改善哮喘小鼠气道炎症。
[中国当代儿科杂志, 2017, 19(6): 699-704]

[关键词] 血管活性肠肽;哮喘;Th17细胞;调节性T细胞;小鼠

Effects of vasoactive intestinal peptide on airway inflammation and Th17/Treg balance in asthmatic mice

KE Li-Qin, WANG Feng-Mei, LUO Yun-Chun. Department of Pulmonology, Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China (Luo Y-C, Email: luoyunchun501@163.com)

Abstract: Objective To investigate the effects of vasoactive intestinal peptide (VIP) on the airway inflammation and its regulatory effect on Th17/Treg imbalance in asthmatic mice. **Methods** A total of 30 BALB/c mice were equally and randomly divided into three groups: control, asthma, and VIP. An acute asthmatic mouse model was established by sensitization and challenge with ovalbumin (OVA). The control group received normal saline instead of OVA. Before the challenge with OVA, the VIP group was administered VIP (20 μg/mL) by aerosol inhalation for 30 minutes. The bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and the lung tissue were collected from mice. The pathological changes in the lung tissue were observed by hematoxylin and eosin staining. The levels of Th17/Treg-related cytokines in BALF were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The expression of retinoid-related orphan receptor gamma t (RORγt) and forkhead box P3 (Foxp3) were measured by real-time fluorescence quantitative PCR and immunohistochemistry. **Results** The histopathological results showed that the VIP group had milder symptoms of airway inflammation than the asthma group. The level of IL-17 in BALF in the asthma group was significantly higher than that in the control group and the VIP group ($P<0.01$), but the level of IL-17 in the control group was significantly lower than that in the VIP group ($P<0.01$). The level of IL-10 in BALF in the asthma group was significantly lower than that in the control group and the VIP group ($P<0.01$), but the level of IL-10 in the VIP group was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$).

[收稿日期] 2017-01-01; [接受日期] 2017-04-06

[作者简介] 柯莉芹,女,硕士,住院医师。

[通信作者] 罗运春,男,主任医师。

The asthma group showed significantly higher expression levels of ROR γ t mRNA and protein in the lung tissue and significantly lower expression levels of Foxp3 mRNA and protein than the control group ($P<0.01$). The VIP group had significantly lower expression levels of ROR γ t mRNA and protein in the lung tissue and significantly higher expression levels of Foxp3 mRNA and protein than the asthma group ($P<0.05$). **Conclusions** The Th17/Treg imbalance may be closely related to the airway inflammation in asthmatic mice. VIP can improve airway inflammation by regulating the Th17/Treg imbalance in asthmatic mice.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(6): 699-704]

Key words: Vasoactive intestinal peptide; Asthma; Th17 cell; Regulatory T cell; Mice

支气管哮喘（简称哮喘）是一种以慢性气道炎症为特征的异质性疾病^[1]，其发病机制复杂，迄今为止尚未完全清楚。既往认为 Th1/Th2 平衡对于哮喘的发生发展具有重要的作用，然而，近些年来研究发现，支气管哮喘的某些临床和实验现象与上述失衡学说不相符合，故并不能简单用 Th1/Th2 失衡学说来解释。Th17 细胞和调节性 T 细胞（Treg），以及其代表性细胞因子 IL-17、IL-10 等与哮喘发病存在复杂的相关关系，二者在分化上具有相关性，但在功能上相互拮抗，从而使机体处于一种精细而复杂的相对稳定状态。因此提出了 Th17/Treg 免疫失衡也是哮喘发病的重要机制之一^[2-3]。

非肾上腺素能非胆碱能抑制性神经递质有一氧化氮和血管活性肠肽（vasoactive intestinal peptide, VIP）等，可介导抗炎、扩张支气管及免疫抑制等作用。在呼吸系统中，VIP 可舒张肺血管，对抗其他炎症介质所致的气道痉挛，起到扩张支气管的作用^[4]；在免疫系统中，VIP 能够调节免疫系统来发挥内源性的调节作用，即能抑制抗原提呈细胞的促进炎症反应，调节 Th1/Th2 免疫平衡状态，并促进 Treg 的分化，抑制 Th17 细胞功能，在炎症动物模型如胶原诱导的关节炎和自身免疫性脑脊髓炎中都起到明显作用^[5-6]。在此基础上，本研究拟在复制急性哮喘小鼠模型，验证 Th17 细胞/Treg 失衡与哮喘气道炎症的关系，并探讨 VIP 在哮喘气道炎症中的防治前景。

1 材料与方法

1.1 实验动物

3~5 周龄 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠 30 只，体重 14~18 g，购于上海斯莱克实验动物有限责任公司，饲养于温州医科大学 SPF 级实验动物中心。

1.2 主要实验试剂及仪器

鸡卵白蛋白（OVA，美国 Sigma 公司），VIP（美国 Sigma 公司），小鼠 IL-17、IL-10 ELISA 试剂盒

（美国 R&D 公司），TRIzol（美国 Invitrogen 公司），RT-PCR 逆转录试剂盒（加拿大 Fementas 公司），SYBR Premix Ex TaqTM II（Perfect Real-Time）定量试剂盒（日本 TaKaRa 公司），PCR 特异性引物由上海基康生物技术有限公司合成，兔抗鼠维甲酸相关孤儿核受体 γ t（retinoid-related orphan receptor gamma t, ROR γ t）和叉状头/翅膀状螺旋转录因子 3（forkhead/winged helix transcription factor, Foxp3）抗体（英国 Abcam 公司）。Roche Light Cycler 480 实时定量 PCR 仪（瑞士罗氏集团），LKB-2088 型超薄切片机（瑞士 LKB 公司）。

1.3 动物模型的建立

将 30 只雄性 BALB/c 小鼠随机分成对照组、哮喘组、VIP 组，每组 10 只。模型制作参照文献^[7-8]方法并稍作改进，具体如下：（1）致敏阶段：哮喘模型于实验开始的第 1 天和第 13 天腹腔注射 0.1 mL 含 0.01%OVA 的 Al(OH)₃ 凝胶致敏，各 1 次，共 2 次。（2）激发阶段：于实验第 25 天开始每天将小鼠置密闭容器中雾化吸入 1%OVA 生理盐水溶液激发，每次雾化吸入时间约 30 min，连续激发 8 d。对照组致敏和激发阶段均以生理盐水代替 OVA；VIP 组每次 OVA 激发前，先以 VIP 溶液（20 μ g/mL）雾化吸入 30 min。

1.4 标本收集

末次激发后 24 h 内，取左肺中下肺段组织，固定、脱水、包埋、切片；另一部分肺组织分装后迅速置于液氮中，-80℃保存待检。取 PBS 缓冲液 1 mL 分 3 次缓慢冲洗右肺，收集支气管肺泡灌洗液（BALF），3000 r/min 离心 15 min，取上清液，于 -80℃冰箱保存待检。

1.5 病理组织学检查

取肺组织切片行苏木精-伊红染色，光镜下观察小鼠支气管黏膜下和周围肺组织炎性细胞浸润。

1.6 ELISA 检测 BALF 中 IL-17、IL-10 浓度

实验过程参照试剂盒说明书测定 BALF 中 IL-

17、IL-10 的水平,用酶标仪在 450 nm 处测吸光度 (OD) 值,根据样品的 OD 值确定其浓度。

1.7 Real-time PCR 检测肺组织 ROR- γ t、Foxp3 mRNA 的表达

肺组织用 TRIzol 试剂提取总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书操作步骤逆转录为 cDNA,之后进行内参 β -actin、ROR- γ t、Foxp3 产物扩增。引物序列: β -actin: 正义链 5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3', 反义链 5'-GTCGTTCGTCCTCATGCTACTCAG-3'; ROR- γ t: 正义链 5'-GAACCTTGGGAACCAAGACAG-3', 反义链 5'-CTTGGCAAACCTCCACCACATA-3'; Foxp3: 正义链 5'-AGTTCCTTCCCAGAGTTCTTCCA-3', 反义链 5'-GCTCAGGTTGTGGCGGATG-3'。PCR 反应体系总体积 20 μ L,包括 SYBR Premix Ex Taq™ (2 $\times$) 10.0 μ L,PCR 上游引物 (10 μ M) 0.4 μ L,PCR 下游引物 (10 μ M) 0.4 μ L,cDNA 模板 2.0 μ L,dH₂O 7.2 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 40 个循环; 溶解曲线 95 $^{\circ}$ C 1 s, 40 $^{\circ}$ C 1 s, 70 $^{\circ}$ C 1 s。应用 SYBR Green I 法进行 Real-Time PCR 反应,每个样本重复 3 次,反应完成后确认扩增和融解曲线,结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对 mRNA 水平进行相对定量,其中 $\Delta\Delta Ct = Ct(\text{样品}) - Ct(\text{基准})$ 。

1.8 免疫组化 SP 法检测肺组织中 ROR- γ t、Foxp3 蛋白的表达

一抗工作浓度均为 1:100,按试剂盒说明书操作,光镜下观察,阳性表达结果为细胞胞核或胞浆内出现棕黄色颗粒。每只小鼠肺组织标本随机选取 10 张切片,每张切片随机选择 5 个高倍镜视野 ($\times 400$),应用 Image-Pro Plus 图像分析软件测定阳性部位的平均吸光度 (MOD) 值,用以代

表阳性部位的蛋白表达水平。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK- q 检验;两变量的相关比较采用 Pearson 相关分析法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠急性哮喘发作特点比较

哮喘小鼠经致敏后在雾化激发阶段,表现出兴奋时烦躁不安和安静时少动,弓背,前肢抬起,头面部痉挛,伴呼吸加深加快,反应低下等哮喘急性期表现。对照组无上述表现,VIP 组亦出现上述症状,但程度较哮喘组轻。

2.2 各组小鼠肺组织病理学变化

对照组小鼠肺组织结构完整,支气管、肺泡形态规则,黏膜上皮完整,支气管腔内分泌物少或未见,支气管、肺泡隔及血管周围未见炎性细胞浸润。哮喘组小鼠支气管、肺泡内及血管周围出现较多炎性细胞浸润,黏液腺增生,气道上皮断裂,肺间质和支气管腔内可见炎性细胞渗出和分泌物,部分有黏液栓形成等。VIP 组肺组织炎性细胞浸润等病理改变较哮喘组减轻,但未完全消失。见图 1。

2.3 各组小鼠 BALF 中 IL-17、IL-10 浓度的变化

哮喘组小鼠 BALF 中 IL-17 浓度高于对照组 ($P < 0.01$),VIP 组 IL-17 浓度较哮喘组降低, ($P < 0.01$),但仍高于对照组 ($P < 0.01$)。哮喘组 BALF 中 IL-10 浓度低于对照组 ($P < 0.01$),VIP 组 IL-10 浓度较哮喘组升高 ($P < 0.01$),但仍低于对照组 ($P < 0.01$)。见表 1。

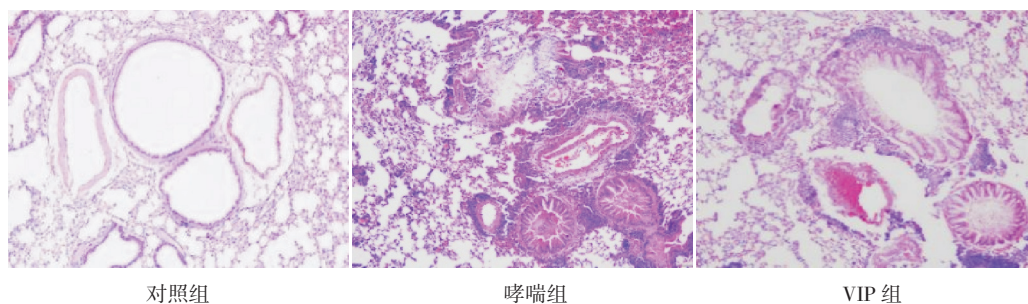


图 1 各组小鼠的肺组织病理切片 (苏木精-伊红染色, $\times 100$) 对照组未见气道炎症改变;哮喘组支气管、肺泡内及血管周围出现较多炎性细胞浸润;VIP 组炎症改变较哮喘组轻。

表1 各组小鼠 BALF 中 IL-17、IL-10 水平比较

($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	n	IL-17	IL-10
对照组	10	18 ± 3	170 ± 27
哮喘组	10	48 ± 3 ^a	60 ± 15 ^a
VIP 组	10	32 ± 5 ^{a,b}	96 ± 25 ^{a,b}
F 值		62.64	25.59
P 值		<0.01	<0.01

注: a 示与对照组比较, $P < 0.01$; b 示与哮喘组比较, $P < 0.01$ 。

表2 各组小鼠肺组织中 ROR γ t、Foxp3 mRNA 的表达比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ROR γ t mRNA	Foxp3 mRNA
对照组	10	1	1
哮喘组	10	12.05 ± 0.08 ^a	0.22 ± 0.05 ^a
VIP 组	10	2.23 ± 0.11 ^b	0.53 ± 0.07 ^b
F 值		98.561	52.332
P 值		<0.01	<0.01

注: [ROR γ t] 维甲酸相关孤儿核受体 γ t; [Foxp3] 叉状头/翅膀状螺旋转录因子 3。a 示与对照组比较, $P < 0.01$; b 示与哮喘组比较, $P < 0.01$ 。

2.4 小鼠肺组织中转录因子 ROR γ t 和 Foxp3 mRNA 的变化

哮喘组小鼠肺组织中 ROR γ t mRNA 表达较对照组显著增强 ($P < 0.01$) ; VIP 组小鼠肺组织中 ROR γ t mRNA 的表达低于哮喘组 ($P < 0.01$) , 且与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 。哮喘组小鼠肺组织中 Foxp3 mRNA 表达显著低于对照组 ($P < 0.01$) , VIP 组小鼠肺组织 Foxp3 mRNA 表达较哮喘组升高 ($P < 0.01$) , 且与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 。见表 2。

2.5 小鼠肺组织中转录因子 ROR γ t 和 Foxp3 蛋白表达情况

Th17 特异性转录因子 ROR γ t 表达于细胞胞浆和细胞核内, Treg 特异性转录因子 Foxp3 表达于细胞核内, 主要位于肺组织的淋巴细胞、气道周围和肺间质的炎性细胞内。见图 2~3。

哮喘组小鼠肺组织中 ROR γ t 蛋白呈强阳性表达, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$) ; VIP 组 ROR γ t 蛋白较哮喘组表达降低, 但仍高于对

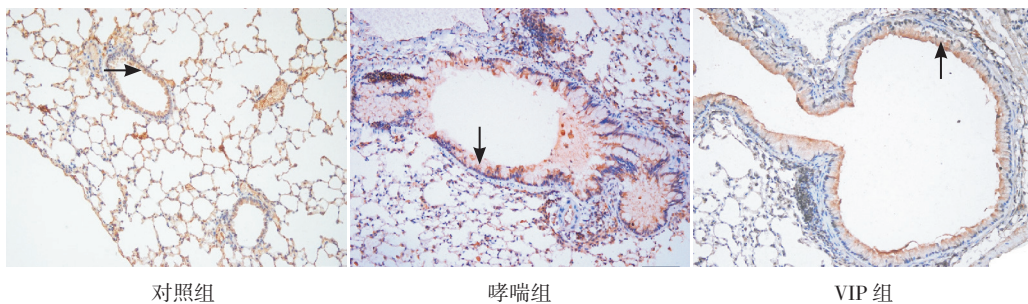


图2 各组小鼠肺组织 ROR γ t 蛋白表达情况(免疫组化染色, $\times 200$) 对照组支气管上皮细胞 ROR γ t 蛋白少量表达; 哮喘组支气管上皮细胞及周围炎性细胞有大量 ROR γ t 蛋白表达; VIP 组支气管上皮细胞及周围炎性细胞 ROR γ t 蛋白表达较哮喘组明显减少。箭头所示为 ROR γ t 蛋白阳性表达。

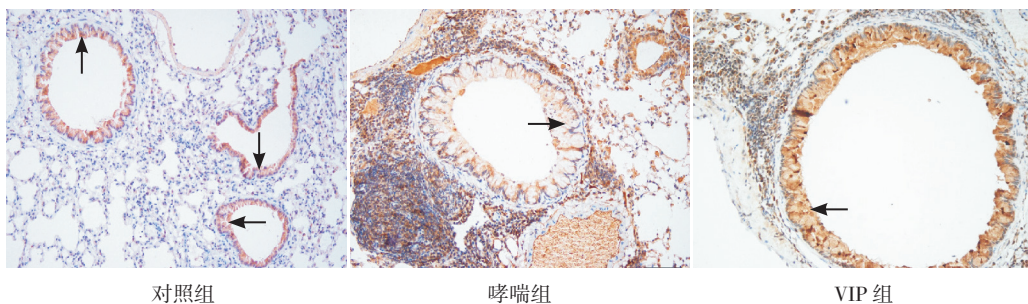


图3 各组小鼠肺组织 Foxp3 蛋白表达情况(免疫组化染色, $\times 200$) 对照组支气管上皮细胞 Foxp3 蛋白正常表达; 哮喘组支气管上皮细胞及周围炎性细胞 Foxp3 蛋白表达较对照组减少; VIP 组支气管上皮细胞及周围炎性细胞 Foxp3 蛋白表达较哮喘组明显增加。箭头所示为 Foxp3 蛋白阳性表达。

照组 ($P<0.01$)。哮喘组转录因子 Foxp3 蛋白表达较对照组降低 ($P<0.01$)；VIP 组 Foxp3 蛋白表达较哮喘组升高，但仍低于对照组 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 各组小鼠肺组织中 ROR γ t、Foxp3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ROR γ t 蛋白	Foxp3 蛋白	ROR γ t/Foxp3
对照组	10	0.259 $\pm$ 0.033	0.356 $\pm$ 0.018	0.73 $\pm$ 0.10
哮喘组	10	0.362 $\pm$ 0.032 ^a	0.234 $\pm$ 0.042 ^a	1.54 $\pm$ 0.26 ^a
VIP 组	10	0.304 $\pm$ 0.011 ^{a,b}	0.289 $\pm$ 0.031 ^{a,c}	1.06 $\pm$ 0.13 ^{a,b}
<i>F</i> 值		12.320	9.265	19.281
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01

注：[ROR γ t] 维甲酸相关孤独核受体 γ t；[Foxp3] 叉状头/翅膀状螺旋转录因子 3。a 示与对照组比较， $P<0.01$ ；b 示与哮喘组比较， $P<0.01$ ；c 示与哮喘组比较， $P<0.05$ 。

2.6 相关性分析

小鼠肺组织中 ROR γ t/Foxp3 蛋白比值与 Th17 细胞分泌特异性细胞因子 IL-17 浓度呈正相关 ($r=0.823$, $P<0.01$) (图 4)；与 Treg 分泌特异性细胞因子 IL-10 呈负相关 ($r=-0.714$, $P<0.01$) (图 5)。

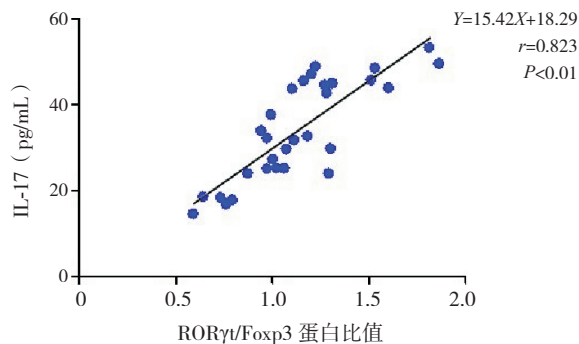


图 4 小鼠肺组织中 ROR γ t/Foxp3 蛋白比值与 BALF 中 IL-17 浓度相关性分析

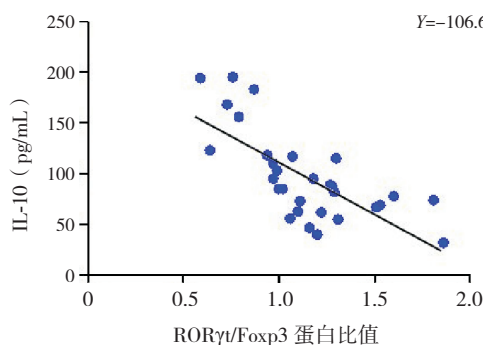


图 5 小鼠肺组织中 ROR γ t/Foxp3 蛋白比值与 BALF 中 IL-10 浓度相关性分析

3 讨论

哮喘的具体发病机制及病因较为复杂，传统理论认为机体内 Th2 细胞应答增强为主的 Th1/Th2 失衡对于哮喘的发生发展具有重要的作用^[9]。近年来研究发现哮喘的一些实验和临床病理生理现象并不能归因于经典的 Th1/Th2 失衡学说。CD4⁺T 淋巴细胞另一亚群—Th17 细胞，其分化、成熟受其上游转录因子 ROR γ t 基因表达水平的调控^[3]。Th17 细胞主要以分泌 IL-17 为特征，参与机体的一系列免疫反应，有研究表明，哮喘动物模型局部气道分泌的 IL-17 可以促进气道上皮细胞、平滑肌细胞和纤维母细胞的活化，高度表达炎症因子如 IL-6、IL-8 等，进而促进中性粒细胞趋化和活化，进一步加重气道炎症反应^[10-11]。Treg 是 CD4⁺T 淋巴细胞的重要亚型，分泌抑制性细胞因子如 IL-10、TGF- β 等多种细胞因子，发挥调节机体的免疫平衡及抗炎等功能。Foxp3 是促进 Treg 分化成熟的上游转录因子，它特异性表达在 Treg 中，其表达水平在一定程度上可以反映出 Treg 的数量和功能活性^[3]。

本研究发现，哮喘组较对照组肺组织 ROR γ t mRNA 表达水平明显升高，伴随着 Th17 特异性细胞因子 IL-17 表达增高；而 Foxp3 mRNA 表达降低，伴随 Treg 相关因子 IL-10 的表达下降；且 ROR γ t/Foxp3 蛋白比值增高，提示哮喘发生的可能机制与 Th17/Treg 免疫失衡有关。

VIP 是具有生物活性的小分子神经肽，是肺内非肾上腺素能非胆碱能抑制性神经递质，是目前发现最强的内源性支气管扩张剂。有研究结果显示急性哮喘发作或者持续加重时，利用 ELISA 测定 BALF 及肺组织中 VIP 含量显著降低^[6]。Szema 等^[12]报道，VIP 基因敲除小鼠吸入胆碱能药物后出现气道高反应性，气道周围及 BALF 中炎性细胞及炎症因子的浸润增加，通过额外给予 VIP 的干预能够逆转上述反应。最近越来越多的研究表明 VIP 还能通过改变 Th17 细胞和 Treg 的数量及功能参与免疫调节反应。动物实验证实，在胶原诱发性关节炎和非肥胖糖尿病小鼠模型中，VIP 通过改变 Th17 细胞/Treg 的数量及功能起到抗炎及免疫调节作用^[5,13]。最近，日本学者通过 VIP 衍生物干预 OVA 致敏哮喘小鼠，结果显示干预组 BALF、

血清及肺组织炎性细胞浸润明显减少^[14]。VIP 作为重要的神经递质和内分泌免疫调节肽,具有广泛的生物学功能,被认为是治疗自身免疫疾病和炎症性疾病最具前景的生物制剂之一,因此利用 VIP 及其衍生物在防治哮喘方面显示出了很大的潜能,另外 VIP 能否有利于急性哮喘小鼠炎症细胞的局限?是否能逆转哮喘模型的 Th17 细胞/Treg 平衡?目前国内外尚无相关研究报道。本研究通过雾化吸入 VIP 干预哮喘小鼠,结果显示肺组织气道炎症明显缓解, BALF 中 Th17 细胞因子 IL-17 较哮喘小鼠明显降低,而 Treg 细胞因子 IL-10 水平升高。同时 VIP 不仅能抑制肺组织 ROR γ t 基因的表达,还能提高 Foxp3 基因表达水平;提示雾化吸入 VIP 对哮喘小鼠气道炎症具有一定的调节作用,其可能机制是:(1) VIP 具有直接扩张哮喘小鼠气道作用;(2) VIP 与肺内受体结合,改善小鼠肺内转录因子 ROR γ t 和 Foxp3 基因的表达,逆转初始 T 细胞向 Th17 细胞分化,使得 Th17 细胞分泌炎症因子 IL-17 减少, Treg 分泌特异的抗炎细胞因子 IL-10 增多,维持哮喘小鼠体内 Th17/Treg 免疫平衡状态。

综上所述,本研究结果显示 Th17/Treg 免疫平衡参与哮喘气道炎症损伤过程,其作用机理可能是与特异转录因子 ROR γ t、Foxp3 失衡表达有关。另外,急性哮喘小鼠经雾化吸入 VIP 可通过逆转特异性转录因子 ROR γ t/Foxp3 的失衡表达,有效影响 Th17/Treg 免疫失衡,这可能是 VIP 改善哮喘小鼠气道炎症的作用机理之一。

[参 考 文 献]

- [1] Horak F, Doberer D, Eber E, et al. Diagnosis and management of asthma—Statement on the 2015 GINA Guidelines[J]. Wien Klin Wochenschr, 2016, 128(15-16): 541-554.
- [2] Zhao J, Lloyd CM, Noble A. Th17 responses in chronic allergic airway inflammation abrogate regulatory T-cell-mediated tolerance and contribute to airway remodeling[J]. Mucosal Immunol, 2013, 6(2): 335-346.
- [3] Jiang H, Wu X, Zhu H, et al. FOXP3(+)Treg/Th17 cell imbalance in lung tissues of mice with asthma[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(3): 4158-4163.
- [4] Groneberg DA, Springer J, Fischer A. Vasoactive intestinal polypeptide as mediator of asthma[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2001, 14(5): 391-401.
- [5] Jimeno R, Gomariz RP, Gutiérrez-Cañas I, et al. New insights into the role of VIP on the ratio of T-cell subsets during the development of autoimmune diabetes[J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(7): 734-745.
- [6] Olopade CO, Yu J, Abubaker J, et al. Catalytic hydrolysis of VIP in pregnant women with asthma[J]. J Asthma, 2006, 43(6): 429-432.
- [7] 聂颖, 杨邦坤, 盛安群, 等. PI3K 和 Notch 信号通路对哮喘小鼠 CD4⁺T 淋巴细胞活化及增殖的协同调控作用[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(44): 3532-3536.
- [8] Lee MY, Seo CS, Lee NH, et al. Anti-asthmatic effect of schizandrin on OVA-induced airway inflammation in a murine asthma model[J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(11): 1374-1379.
- [9] Noval Rivas M, Chatila TA. Regulatory T cells in allergic diseases[J]. J Allergy Clin Immunol, 2016, 138(3): 639-652.
- [10] Deng Y, Chen W, Zang N, et al. The antiasthma effect of neonatal BCG vaccination does not depend on the Th17/Th1 but IL-17/IFN- γ balance in a BALB/c mouse asthma model[J]. J Clin Immunol, 2011, 31(3): 419-429.
- [11] Gasch M, Goroll T, Bauer M, et al. Generation of IL-8 and IL-9 producing CD4⁺ T cells is affected by Th17 polarizing conditions and AHR ligands[J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014: 182549.
- [12] Szema AM, Hamidi SA, Lyubsky S, et al. Mice lacking the VIP gene show airway hyperresponsiveness and airway inflammation, partially reversible by VIP[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 291(5): L880-L886.
- [13] Deng S, Xi Y, Wang H, et al. Regulatory effect of vasoactive intestinal peptide on the balance of Treg and Th17 in collagen-induced arthritis[J]. Cell Immunol, 2010, 265(2): 105-110.
- [14] Onoue S, Matsui T, Kuriyama K, et al. Inhalable sustained-release formulation of long-acting vasoactive intestinal peptide derivative alleviates acute airway inflammation[J]. Peptides, 2012, 35(2): 182-189.

(本文编辑: 万静)