

DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2012.09.004

粉尘螨Ⅲ类重组变应原致敏的小鼠哮喘模型致敏效果分析*

唐小牛, 马红丹, 姜玉新, 李朝品

摘要:目的 探讨粉尘螨Ⅲ类重组变应原(Der f 3)诱导的小鼠哮喘模型的致敏效果。方法 30只6~8周龄雌性SPF级BALB/c小鼠随机分为PBS组(阴性对照组)、卵清蛋白(OVA)组(阳性对照组)和Der f 3组(实验组),OVA组和Der f 3组分别使用OVA和纯化Der f 3蛋白于第0、7、14 d进行腹腔注射致敏,于第21 d开始雾化吸入,连续7 d,PBS组则换成PBS进行腹腔注射和雾化吸入。最后一次雾化吸入24 h后,分别观察肺组织病理变化、支气管肺泡灌洗液(BLAFL)中的白细胞计数,酶联免疫吸附试验(ELISA)测定BLAFL和脾细胞培养上清中IL-4、IL-2、IL-17和IFN-γ的含量及血清中IgG1、IgE抗体水平变化。**结果** OVA组和Der f 3组小鼠肺部支气管、血管粘膜下及周围肺组织有明显的炎性细胞浸润、支气管上皮细胞部分断裂及脱落,血管壁明显水肿等,而PBS组未见明显病理改变;Der f 3组的BALF中白细胞总数[(19.99±1.03)×10⁶/mL]及嗜酸性粒细胞(EOS)[(1.81±0.07)×10⁶/mL]计数均明显高于PBS组($P<0.01$);与PBS组相比:BALF中IL-4[(80.99±9.06) pg/mL]、IL-17[(209.69±31.86) pg/mL]呈高水平表达($P<0.01$),而IL-2[(8.29±1.27) pg/mL]和IFN-γ[(55.04±18.85) pg/mL]含量则显著下降($P<0.01$);上述指标在脾细胞培养上清中出现类似的变化。Der f 3组血清中IgE[(31.92±2.68) U/mL]、IgG1[(16.46±4.32) μg/mL]的含量表现为Th2型反应增强趋势;但OVA组和Der f 3组间所有指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 粉尘螨重组Der f 3蛋白可成功建立小鼠变态反应性气道及肺部炎症动物模型。

关键词:粉尘螨; 重组Der f 3蛋白; 致敏效果; 哮喘模型

中图分类号:R384.4

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2012)09-0880-05

Allergenic effect of recombinant group 3 allergen from *Dermatophagoides farinae*

TANG Xiao-niu, MA Hong-dan, JIANG Yu-xin, LI Chao-pin

(Department of Medical Parasitology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

ABSTRACT: The aim of this study is to analyze the sensitized effect of murine asthma model induced by recombinant Der f 3 allergen from *Dermatophagoides farinae*. Thirty female BALB/c mice were randomly divided into 3 groups: PBS group (negative controls), ovalbumin (OVA) group (positive controls) and Der f 3 group (experimental group). OVA and Der f 3 groups were initially immunized intraperitoneally injection three times with OVA and purified Der f 3 protein on 0, 7 and 14 d respectively. Subsequently, OVA and Der f 3 solution was inhaled for 30 min/d from day 21 to 27. The PBS group was injected and inhaled with PBS solution respectively at the same time after 24 h of the last time of inhalation. Differential cells in Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) were counted and bronchopulmonary tissues were observed histopathologically. IL-2, IL-4, IL-17 and IFN-γ in BALF and supernatants of spleen cells, allergen-specific IgG1 and IgE in serum were also measured by ELISA. The results showed that in the OVA and Der f 3 groups, eosinophils infiltrated into bronchial mucosa, blood vessels and the surrounding lung tissue. The bronchial epithelium cells fell off, and the hema wall swelled obviously. No significant pathological change has been seen in the PBS group. The number of total cells [(19.99±1.03)×10⁶/mL] and eosinophils [(1.81±0.07)×10⁶/mL] in BALF were significantly different in PBS and Der f 3 groups ($P<0.01$). At the same time, the levels of IL-4 [(80.99±9.06) pg/mL] and IL-17 [(209.69±31.86) pg/mL] in BALF from OVA and Der f 3 groups were increased obviously ($P<0.01$), comparing with that in PBS group. On the contrary, levels of IL-2 [(8.29±1.27) pg/mL] and IFN-γ [(55.04±18.85) pg/mL] in BALF were reduced significantly ($P<0.01$). The same trends of cytokines above were also detected in the supernatants of spleen cell cultures. Moreover, the levels of IgE [(31.92±2.68) U/mL] and IgG1 [(16.46±4.32) g/mL] in OVA and Der f 3 groups were also significantly increased in serum, comparing with those in PBS group ($P<$

* 国家自然科学基金(No. 30872367)和安徽省自然科学基金(No. 070413088)资助

作者单位:皖南医学院医学寄生虫学教研室, 芜湖 241002;

Email: txniu@163.com

so detected in the supernatants of spleen cell cultures. Moreover, the levels of IgE [(31.92±2.68) U/mL] and IgG1 [(16.46±4.32) g/mL] in OVA and Der f 3 groups were also significantly increased in serum, comparing with those in PBS group ($P<$

0.01). The phenomenon indicated that Th2-type immune response was enhanced and Th1-type immune response was reduced, and no statistically significant difference was occurred between OVA and Der f 3 groups ($P>0.05$). In conclusion, the murine asthma model of allergic airway and lung inflammation induced by recombinant Der f 3 has been established successfully.

KEY WORDS: *Dermatophagoides farinae*; recombinant Der f 3 protein; allergic effect; animal model of asthma

Supported by the National Natural Science Foundation (No. 30872367) and the Anhui Province Natural Science Foundation (No. 070413088)

尘螨是普遍存在于人类居住环境中的最常见气传变应原之一。与人类过敏性疾病关系最密切的主要是粉尘螨(*Dermatophagoides farinae*)和屋尘螨(*Dermatophagoides pteronyssinus*)。尘螨变应原有近30种,每一种的分子量、酶的功能、IgE的结合率及含量等均有一定的差异,粉尘螨和屋尘螨的I、II类变应原的致敏性较强,是两类重要的气传变应原而备受关注。但迄今为止,国内外关于粉尘螨的III类变应原Der f 3的研究报道较少,Der f 3具有胰蛋白酶活性,可引起过敏体质者的过敏反应。其与哮喘患者血清IgE的特异性结合率为16%~100%^[1],也是一类较重要的变应原。探讨该变应原的致敏性及其机理,对今后特异性免疫治疗相关疫苗的开发具有重要意义。

鉴于此,本研究拟以已制备的重组Der f 3蛋白为抗原致敏BALB/c小鼠,建立哮喘模型,检测小鼠哮喘模型的各相关指标,包括肺组织的病理变化、肺泡灌洗液的白细胞总数及嗜酸性粒细胞(EOS)计数、肺泡灌洗液及脾细胞上清中相关细胞因子的检测以及血清中特异性IgE、IgG1的检测等,分析粉尘螨III类重组变应原的致敏效果,为螨性哮喘的研究及治疗奠定基础。

1 材料及方法

1.1 实验动物 6~8周龄雌性SPF级BALB/c小鼠30只,体质量(20±2)g,购于扬州大学比较医学中心。

1.2 主要试剂 重组粉尘螨Ⅲ类变应原为本实验制备;RMPI-1640培养液购自杭州吉诺生物医药技术有限公司;胎牛血清购自杭州四青生物工程材料公司;小鼠IgE、IgG1、IL-4、IL-2、IL-17、IFN-γ等ELISA检测试剂盒购自上海今迈生物科技有限公司(进口分装);Ampicillin、Streptomycin、鸡卵清蛋白(OVA)购自Sigma公司产品;台盼蓝购自生工生物工程(上海)有限公司。其他均为国产分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组 30只BALB/c小鼠随机分

为3组,PBS组(阴性对照组),卵清蛋白(OVA)组(阳性对照组)和Der f 3组(实验组),每组10只。

1.3.2 小鼠致敏模型建立及给药方法 3组小鼠分别在第0、7、14d进行腹腔注射,方法:Der f 3组小鼠每只腹腔注射200μL致敏液(含Der f 3 10μg,氢氧化铝AL(OH)₃ 4mg,溶于PBS,pH7.2);OVA组每只腹腔注射200μL致敏液(含OVA 10μg,AL(OH)₃ 4mg,溶于PBS,pH7.2);PBS组则以PBS代替致敏液注射,部位及注射剂量与上两组相同。第21d起,将Der f 3组小鼠置于自制小鼠雾化吸入箱中,由402AI超声雾化器提供动力,以10μg/mL重组Der f 3蛋白溶液(以PBS稀释)雾化吸入激发,每天雾化30min,连续雾化7d,观察并记录小鼠哮喘发作情况;OVA组以1%(m/v)OVA(以PBS稀释)进行雾化吸入激发;PBS组给以PBS液雾化吸入。

1.3.3 血清和脾细胞悬液制备及检测 各组小鼠分别取4只,最后一次雾化吸入激发后24h内摘眼球取血,留取血清,-80℃保存待检血清IgG1、IgE。取血后将小鼠脱臼处死,75%的乙醇消毒10min后,无菌条件下分离脾脏并剪碎,过300目不锈钢细胞筛制成脾细胞单细胞悬液(用D-Hank's液);移入1.5mL离心管中,加EDTA-NH₄Cl红细胞裂解液裂解红细胞,静置5min,1000r/min离心5min;弃上清,沉淀用RPMI-1640完全培养基重悬脾细胞制成脾细胞悬液。台盼蓝染色,活细胞大于98%者可供实验使用。调整细胞密度为1×10⁶个/mL。取调整好的脾细胞悬液1mL加入到无菌平底24孔细胞培养板中,OVA组、Der f 3组各孔分别加入相应的抗原(OVA/Der f 3)溶液至终浓度为25μg/mL。CO₂恒温培养箱(37℃,5%CO₂)培养72h,收集上清,ELISA法检测脾细胞上清中抗原特异性细胞因子IL-4、IL-2、IL-17和IFN-γ的含量。

1.3.4 支气管肺泡灌洗液(BALF)制备及检测 分别将各组小鼠的6只腹腔注射10%水合氯醛0.2~0.3mL麻醉,切开气管,插管、固定,注入1mL无菌预冷的PBS进行支气管肺泡灌洗,按0.4mL、

0.3 mL、0.3 mL灌洗3次,回收支气管肺泡灌洗液(BALF),回收率>90%。2 000 r/min离心5 min,收集细胞沉淀,用1 mL PBS重悬并对其进行白细胞及嗜酸性粒细胞计数。同时上清液-80℃冻存,ELISA法检测BALF特异性细胞因子IL-4、IL-2、IL-17和IFN- γ 。

1.3.5 肺组织切片HE染色 取出其肺组织浸于10%甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规切片,HE染色,光学显微镜观察并拍照。

1.3.6 统计学分析 实验结果用SPSS16.0进行单因素方差分析,各组数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 者为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠症状和体征的改变 OVA组、Der f 3组小鼠在第21 d(激发第1 d)雾化吸入约10~15 min后,出现不同程度的喘息、呼吸加深加快、烦躁不安等现象;在以后的激发过程中,该两组小鼠均出现不同程度的喘息、呼吸加深加快、烦躁不安、抓耳挠腮、毛发竖起、点头样呼吸、腹肌抽搐等现象,且每次开始出现的时间逐渐提前。停止雾化后小鼠主要的哮喘症状消失,但仍有喘息,数分钟之后恢复正常。PBS组小鼠在雾化激发阶段仅出现轻微烦躁及抓耳挠腮的症状,未见有明显哮喘症状出现。

2.2 ELISA法测定血清中特异性抗体含量 为了观察重组Der f 3抗原致敏的小鼠哮喘模型血清中特异性IgG1和IgE的变化,最后一次激发24 h后,收集血清,用ELISA法检测小鼠血清中特异性IgG1和IgE的含量。结果显示:重组Der f 3抗原

能诱导小鼠产生高水平的抗原特异性IgG1、IgE抗体,与PBS组相比,差异有显著统计学意义($P<0.01$);而OVA组、Der f 3组间差异无统计学意义($P>0.05$)(图1)。这说明重组Der f 3蛋白能够诱导哮喘小鼠血清中IgG1和IgE的高表达。

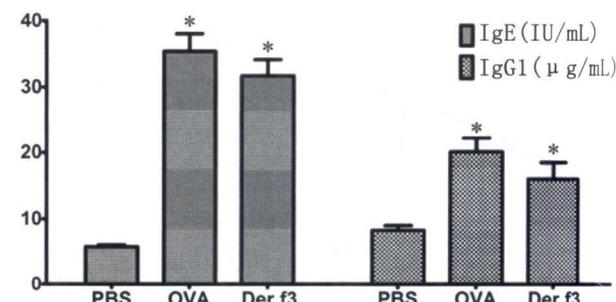


图1 血清中各组IgG1、IgE抗体水平变化

注:*,与PBS组比较, $P<0.01$;

Fig. 1 Changes of IgG1 and IgE in the serum

Note: *, vs PBS group, $P<0.01$

2.3 脾细胞抗原特异性因子的含量变化 为观察Der f 3抗原对小鼠脾细胞产生抗原特异性IL-4、IL-17、IL-2和IFN- γ 的影响,分离并培养脾细胞,同时用抗原进行刺激,72 h后收集细胞培养上清并用ELISA检测了上述指标。结果显示:Der f 3组小鼠脾细胞上清中抗原特异性IL-4、IL-17的含量明显高于对照组($P<0.01$),而IL-2、IFN- γ 的含量则显著低于PBS组($P<0.01$),其差异具有显著统计学意义,而OVA组、Der f 3组间差异均无统计学意义($P>0.05$)(表1);表明重组Der f 3蛋白能刺激小鼠脾细胞表现以Th2为主的过敏反应。

表1 小鼠脾细胞培养上清IL-4、IL-17、IL-2和IFN- γ 的变化($\bar{x}\pm s$, pg/mL, n=4)

Tab. 1 Change of IL-4, IL-17, IL-2 and IFN- γ in the cultured splenocyte supernatants($\bar{x}\pm s$, pg/mL, n=4)

	IL-4	IL-17	INF- γ	IL-2
PBS group	31.93±2.47	116.53±17.79	94.31±18.01	100.46±11.90
OVA group	80.91±3.06*	333.70±37.30*	49.08±8.35*	58.64±12.27*
Der f 3 group	78.88±1.02*	320.93±17.79*	46.82±10.34*	49.30±10.82*

注:*,与PBS组比较, $P<0.01$

Note: *, vs PBS group, $P<0.01$

2.4 支气管肺泡灌洗液(BALF)炎症细胞计数 对BALF进行白细胞计数结果表明:Der f 3组BALF中白细胞总数以及嗜酸性粒细胞(EOS)计数与阴性对照组相比明显增多($P<0.01$),差异有统计学意义;而OVA组、Der f 3组间差异均无统计学意义($P>0.05$)(表2)。该结果表明,重组Der f 3蛋白可诱导BALB/c小鼠肺部产生炎症反应,导致

肺组织炎性细胞浸润,而致BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞增多等与哮喘一致的症状。

2.5 ELISA法检测支气管肺泡灌洗液(BALF)特异性细胞因子含量 ELISA法检测重组Der f 3蛋白致敏和激发小鼠后肺泡灌洗液中抗原特异性IL-4、IL-2、IL-17和IFN- γ 的变化。结果显示:Der f 3组小鼠BALF中抗原特异性IL-4、IL-17的含量明

表 2 BALF 中细胞数的变化 ($\times 10^8/L$)Tab. 2 Change of inflammatory cells in the BALF ($\times 10^8/L$)

	白细胞总数 (Total leucocytes)	嗜酸性粒细胞计数 (Eosinophils count)
PBS group	3.96±0.11	0.14±0.06
OVA group	20.59±2.43*	1.82±0.09*
Der f 3 group	19.99±1.03*	1.81±0.07*

注: * , 与 PBS 组比较, $P < 0.01$

Note: * , vs PBS group, $P < 0.01$

显著高于 PBS 组 ($P < 0.01$), 而 IL-2、IFN- γ 的含量明显低于 PBS 组 ($P < 0.01$), 其差异均具有统计学意义, 而 OVA 组、Der f 3 组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 3)。该结果亦表明重组 Der f 3 蛋白致敏和激发 BALB/c 小鼠可诱导其肺部细胞因子

呈 Th2 型反应。

2.6 肺组织切片 HE 染色 实验小鼠肺组织切片经苏木精-伊红染色后可见, OVA 组、Der f 3 组小鼠支气管、血管粘膜下及周围肺组织有明显的炎性细胞浸润(以嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞为主), 大量炎症细胞向小支气管及血管迁移, 肺间质及肺泡内也可见炎性细胞浸润, 支气管上皮细胞部分断裂及脱落, 血管壁明显水肿, 支气管壁轻度增厚, 偶见纤维化增生, 部分可见粘液栓。而 PBS 组小鼠肺组织切片无明显病理改变, 各级支气管及肺泡结构规则且完整, 小支气管及血管周围无明显炎性细胞浸润, 支气管管壁粘膜完整无断裂及脱落(图 2)。

表 3 小鼠 BALF 中 IL-4、IL-17、IL-2 和 IFN- γ 的变化 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, n=6)Tab. 3 Change of IL-4, IL-17, IL-2 and IFN- γ in the BALF ($\bar{x} \pm s$, pg/mL, n=6)

	IL-4	IL-17	IFN- γ	IL-2
PBS group	19.18±5.26	108.63±21.76	95.31±11.16	18.82±1.39
OVA group	86.29±9.03*	217.13±37.99*	47.31±15.53*	10.42±2.06*
Der f 3 group	80.99±9.06*	209.69±31.86*	55.04±18.85*	8.29±1.27*

注: * 与 PBS 组比较, $P < 0.01$

Note: * vs PBS group, $P < 0.01$

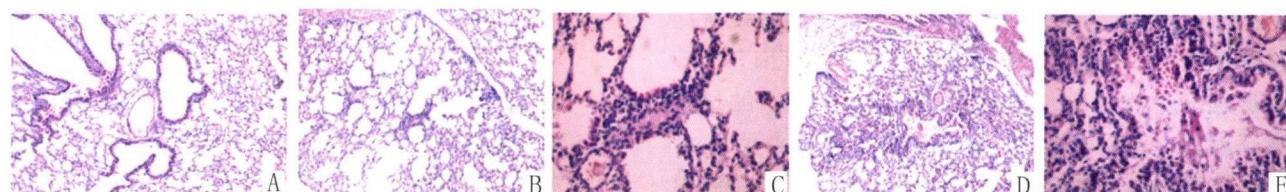


图 2 肺组织病理切片结果(HE 染色)

A: PBS 组 ($\times 100$); B: OVA 组 ($\times 100$); C: OVA 组 ($\times 400$); D: Der f 3 组 ($\times 100$); E: Der f 3 组 ($\times 400$)

Fig. 2 Pathological section results of lung tissue among groups (H&E staining)

A: PBS group ($\times 100$); B: OVA group ($\times 100$); C: OVA group ($\times 400$); D: Der f 3 group ($\times 100$); E: Der f 3 group ($\times 400$)

3 讨 论

变态反应性疾病被 WHO 列为 21 世纪重点防治的 3 大疾病之一, 在世界各国的总发病率高达 10%~30%^[2], 日本约有 3% 的人患有螨原性变态反应病, 我国也有 1%~4% 的人受其困扰^[3-4]。尘螨是变态反应性疾病(尤其是哮喘)的主要致敏原之一。尘螨变应原主要存在于螨体及其代谢产物中, 这些变应原均可引起螨性哮喘、过敏性鼻炎、螨性皮炎等变态反应性疾病。随着尘螨作为吸入性变应原逐渐受到重视, 人们对其的研究也逐步深入^[3, 5-9]。粉尘螨变应原粗提浸液中有 30 多种变应原, 其中第 1、2、3、9、11、14 和 15 组分是与 IgE 结合的主要变应原^[10-11]。粉尘螨变应原第 3 组份是一种由 259 个

氨基酸组成、具有糜蛋白酶活性和细胞外疏水性的蛋白, 尽管第 3 组份的生理作用尚未明确, 但已证实其可激活人体激肽释放酶-激肽 (Kallikrein-kinin system) 系统, 引起外周血特异性 IgE 升高^[11]。

支气管哮喘是临床常见病和多发病, 是一种以肺部嗜酸粒细胞浸润和对各种激发因子产生气道高反应为特征的慢性气道炎性疾病, 本研究中肺组织的 H&E 染色显示, Der f 3 抗原可引起明显的嗜酸性粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞等炎性细胞浸润。而对 BALF 中白细胞及 EOS 计数表明, 实验组中的白细胞和 EOS 亦明显高于对照组, 这说明 Der f 3 抗原可引起实验小鼠产生肺部产生炎症反应。这与吴奎^[12]、李国平^[13]、Clarke^[14]等所用屋尘螨粗浸

液、重组变应原 Der p 2 和 Der p 1 致敏小鼠构建的哮喘模型阳性表现基本一致。

哮喘的发病机制尚未完全阐明, 目前认为主要是由于 CD4⁺ T 细胞亚型 Th1/Th2 比例失衡所致。Th1 细胞分泌 IFN-γ 和 IL-2 等细胞因子, 诱导细胞介导的炎症应答, 通过活化巨噬细胞清除胞内病原微生物并介导迟发型变态反应, Th1 型免疫反应失调, 出现组织损伤和慢性炎症; Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5 和 IL-13 等细胞因子, 参与 B 细胞介导的免疫应答, 介导由嗜酸性粒细胞引起的炎性反应, 清除细胞外病原微生物并参与变态反应。Th2 型免疫反应失调, 则导致过敏和哮喘疾病的发生^[15]。后来发现另一 CD4⁺ T 细胞亚型 Th17 细胞(分泌促炎性介质 IL-17^[16])也可能参与了哮喘的发生^[17], 哮喘患者的血清及组织中检测到 IL-17 的高表达^[18]。Th2 型细胞因子 IL-4 和 Th17 型细胞因子 IL-17 的增高、Th1 型细胞因子 IFN-γ、IL-2 的降低在哮喘发病中具有重要作用, 是哮喘肺部变应性炎症的重要特征。本研究针对重组粉尘螨 Der f 3 变应原致敏的小鼠哮喘动物模型中 BALF 及脾细胞培养上清的 IL-4、IL-17 检测发现, 二者表达显著高于对照组, 而 IFN-γ、IL-2 的表达则明显降低, 这提示 Der f 3 变应原致敏的小鼠产生的也是以 Th2 型免疫反应增强而 Th1 型免疫反应减弱为主, 同时 Th17 反应亦增强的炎症反应。而对血清中 IgE、IgG1 的检测亦证明这一点。

总之, 本研究所获得的 Der f 3 变应原采用腹腔注射致敏和雾化吸入激发的方法, 可致敏小鼠产生明显的哮喘反应症状, 表明已成功构建 BALB/c 小鼠尘螨变应性气道及肺部炎症模型, 为螨性变态反应性疾病诊断和疫苗制备等后续研究提供实验基础。

参 考 文 献:

- [1] Nishiyama C, Yasuhara T, Yuuki T, et al. Cloning and expression in *Escherichia coli* of cDNA encoding house dust mite allergen Der f 3, serine protease from *Dermatophagoides farinae* [J]. FEBS Lett, 1995, 377(1): 62-66. DOI: 10.1016/0014-5793(95)01291-5
- [2] Vargas MH, Diaz-Mejia GS, Furuya ME, et al. Trends of asthma in Mexico: an 11-year analysis in a nationwide institution[J]. Chest, 2004, 125(6): 1993-1997. DOI: 10.1378/chest.125.6.1993
- [3] Meng YC, Li CP, Liang GG. The relationship between ticks and mites and human diseases[M]. Hefei: University of Science & Technology of China Press, 1995, 329-367. (in Chinese)
- 孟阳春, 李朝品, 梁国光. 蟑螂与人类疾病[M]. 中国科学技术大学出版社, 1995, 329-367.
- [4] Incorvaia C, Mauro M, Riario-Sforza GG, et al. Current and future applications of the anti-IgE antibody omalizumab[J]. Biologics, 2008, 2(1): 67-73.
- [5] Li CP, Wang J. Intestinal acacias in Anhui Province[J]. World J Gasteroenterol, 2000, 6(4): 597-600.
- [6] Li CP, Cui YB, Wang J, et al. Acaroid mite, intestinal and urinary acariasis[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(4): 874-877.
- [7] Li CP. An epidemiological survey of pulmonary acariasis in different occupations[J]. Chin Occup Med, 2000, 27(3): 23-24. (in Chinese)
- 李朝品. 肺螨病在不同职业人群中流行情况的研究[J]. 中国职业医学, 2000, 27(3): 23-24.
- [8] Tanyaratsrisakul S, Malainual N, Jirapongsananuruk O, et al. Structural and IgE binding analyses of recombinant Der p 2 expressed from the hosts *Escherichia coli* and *Pichia pastoris*[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2010, 151(3): 190-198. DOI: 10.1159/000242356
- [9] Astuias JA, Ibarrola I, Arilla MC, et al. Engineering of major house dust mite allergens Der p 1 and Der p 2 for allergen specific immunotherapy[J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39(7): 1088-1098. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2009.03264.x
- [10] Fernández Caldas E, Iraola Calvo V. Mite allergens[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2005, 5(5): 402-410. DOI: 10.1007/s11882-005-0014-z
- [11] Thomas WR, Smith WA, Hales BJ, et al. Characterization and immunobiology of house dust mite allergens[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2002, 129(1): 1-18. DOI: 10.1159/000065179
- [12] Wu K, Bi YT, Sun K, et al. Comparative study of allergic pulmonary inflammation of BALB/c and C57BL/6 mice sensitized and challenged with house dust mite extracts[J]. Acta Acad Med Militaris Tertiae, 2005, 27(17): 1756-1759. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-5404. 2005, 17, 012 (in Chinese)
- 吴奎, 毕玉田, 孙鰲, 等. 屋尘螨提取液致敏 BALB/c 与 C57BL/6 小鼠肺部变应性炎症模型的比较[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(17): 1756-1759. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-5404. 2005, 17, 012
- [13] Li GP, Liu ZG, Zhong NS. The development of a murine model of recombinant Der p 2-induced allergic asthma[J]. Chin J Microbiol Immunol, 2005, 25(7): 564-569. (in Chinese)
- 李国平, 刘志刚, 钟南山. 重组 Der p2 变应原诱导小鼠变态反应气道炎症动物模型的建立[J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2005, 25(7): 564-569.
- [14] Clarke AH, Thomas WR, Rolland JM, et al. Murine allergic respiratory responses to the major house dust mite allergen Der p 1[J]. Int Arch Allergy Immunol, 1999, 120(2): 126-134.
- [15] Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, et al. Transforming growth factor-beta of the Th17 lineage[J]. Nature, 2006, 441(7090): 231-234. DOI: 10.1038/nature04754
- [16] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4⁺ T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 [J]. Nat Immunol, 2005, 6(11): 1133-1141. DOI: 10.1038/ni1261
- [17] Cheung PF, Wong CK, Lam CW. Molecular mechanisms of cytokine and chemokine release from eosinophils activated by IL-17A, IL-17F, and IL-23: implication for Th17 lymphocytes-mediated allergic inflammation[J]. J Immunol, 2008, 180(8): 5625-5635.
- [18] Hashimoto T, Akiyama K, Kobayashi N, et al. Comparison of IL-17 production by helper T cells among atopic and nonatopic asthmatics and control subjects[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2005, 137(Suppl 1): 51-54. DOI: 10.1159/00008543