

哮喘中 Th_1/Th_2 类细胞因子免疫失衡 对神经生长因子表达的影响

欧阳若芸^{1,2}, 胡成平¹, 陈 平², 朱锦琪¹, 黄信刚²

(中南大学 1. 湘雅医院呼吸内科, 长沙 410008; 2. 湘雅二医院呼吸内科, 长沙 410011)

[摘要] 目的:初步探讨支气管哮喘 Th_1/Th_2 类细胞因子免疫失衡对脾淋巴细胞神经生长因子(*NGF*) mRNA 表达的影响。方法:采用鸡清卵蛋白建立 SD 大鼠哮喘模型,分离脾淋巴细胞并培养,通过逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)半定量法测定细胞在刀豆素 A (ConA)刺激下表达 *NGF* mRNA 的基础水平,并观察予 γ -干扰素(*IFN- γ*)和白细胞介素-4(*IL-4*)干预后 *NGF* mRNA 表达的改变。结果哮喘大鼠脾淋巴细胞在基础状态下具有表达 *NGF* mRNA 的功能,并在 ConA 刺激下呈时间依赖性增强。50 $\mu\text{g/L}$ *IL-4* 干预 12 h、24 h、36 h 及 48 h 时 *NGF* mRNA 相对表达量随时间延长逐渐增高,并分别与同时时间点的基础值比较有统计学意义(均 $P < 0.01$);0, 10, 50, 100 $\mu\text{g/L}$ 的 *IL-4* 干预 24 h 时 *NGF* mRNA 表达量依次增高,分别比前一梯度低浓度干预组有显著增高($P < 0.05$)。10 $\mu\text{g/L}$ *IFN- γ* 干预 12 h、24 h、36 h、48 h 时 *NGF* mRNA 相对表达量分别与同时时间点的基础值相比有显著下降(均 $P < 0.01$);0, 1, 10, 50 $\mu\text{g/L}$ 的 *IFN- γ* 干预 24 h 时 *NGF* mRNA 表达量依次减低,分别比前一梯度低浓度干预组有显著降低($P < 0.05$)。结论:在哮喘中 Th_2 类细胞因子 *IL-4* 可上调淋巴细胞 *NGF* mRNA 表达, Th_1 类细胞因子 *IFN- γ* 可下调淋巴细胞 *NGF* mRNA 表达,两者均呈时间和浓度依赖性; Th_1/Th_2 类细胞因子免疫失衡可能通过调控 *NGF* mRNA 表达间接促进其诱导神经源性炎症。

[关键词] 哮喘; 神经生长因子; 白细胞介素-4; γ -干扰素; Th_1/Th_2 细胞

[中图分类号] R562.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-7347(2007)01-0119-05

Effect of Th_1/Th_2 cytokine immune imbalance on the expression of nerve growth factors in asthma

OUYANG Ruo-yun^{1,2}, HU Cheng-ping¹, CHEN Ping², ZHU Jin-qi¹, HUANG Xin-gang²

(1. Department of Respiratory Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008;

2. Department of Respiratory Medicine, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of Th_1/Th_2 cytokines on the expression of nerve growth factor (*NGF*) in splenic lymphocytes in asthmatic model. **Methods** Four SD rats were sensitized and challenged with ovalbumin to establish an asthmatic model, and the rat splenic lymphocytes were isolated and cultured with ConA. The expressions of *NGF* mRNA were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and were observed after the lymphocytes were exogenously added with interferon- γ (*IFN- γ*) or interleukin-4 (*IL-4*). **Results** The lymphocytes of the asthmatic model stimulated by ConA in vitro expressed *NGF* mRNA in a time-dependent manner. After the lymphocytes had been cultured with *IL-4* for 12 h, 24 h, 36 h, and 48 h, 50 $\mu\text{g/L}$ *IL-4* upregulated the expressions of *NGF* mRNA in a time-dependent manner and all the *NGF* mRNA ex-

①收稿日期(Date of reception) 2005-12-10

作者简介(Biography) 欧阳若芸(1973-),女,湖南道县人,副教授,博士,主要从事哮喘和慢性阻塞性肺疾病方面的研究。

通讯作者(Corresponding author) 胡成平, E-mail: huchengp28@hotmail.com

基金项目(Foundation items) 湖南省卫生厅科研基金 This subject was supported by Department of Public Health of Hunan Province

pressions were significantly higher than the basal values at the same time (all $P_s < 0.01$). After 0, 10, 50, and 100 $\mu\text{g/L}$ IL-4 had been added for 24 h, IL-4 upregulated the expressions of *NGF* mRNA in a dose-dependent manner and the *NGF* mRNA expressions were all significantly higher than the values of the lower dose IL-4 (all $P_s < 0.05$). After the lymphocytes had been cultured with 10 $\mu\text{g/L}$ IFN- γ for 0 h, 12 h, 24 h, 36 h, and 48 h, IFN- γ downregulated the expressions of *NGF* mRNA in a time-dependent manner and all the *NGF* mRNA expressions were significantly lower than the basal values at the same time (all $P_s < 0.01$). After 0, 1, 10, and 50 $\mu\text{g/L}$ IFN- γ have been added for 24 h, IFN- γ downregulated the expressions of *NGF* mRNA in a dose-dependent manner and all the *NGF* mRNA expressions were significantly lower than the values of the lower IFN- γ dose (all $P < 0.05$). **Conclusion** In the splenic lymphocytes of asthmatic rats, IL-4, one of the Th_2 cytokines, can upregulate the expressions of NGF; IFN- γ , one of the Th_1 cytokines, can downregulate the expressions of NGF both in a time-dependent manner and in a dose-dependent manner. Th_1/Th_2 cytokine immune imbalance may indirectly induce the airway neurogenic inflammation by regulating the *NGF* mRNA expression.

Key words: asthma; nerve growth factor; interleukin-4; interferon- γ ; Th_1/Th_2 cell
[J Cent South Univ (Med Sci), 2007, 32(1):0119-05]

哮喘是一种由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性非特异性炎症。许多研究已证实 T_1 亚群辅助细胞/ T_2 亚群辅助细胞 (Th_1/Th_2) 平衡失调、 Th_2 细胞活化亢进是哮喘发病机制中关键的中心环节^[1], 然而, 在 Th_1/Th_2 失衡中占主导作用的免疫细胞与其他细胞, 尤其是与神经元的相互作用十分复杂, 其机制仍未清楚。

神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是神经营养因子家族中的成员之一, 其主要功能是调控神经元的生长与分化^[2]。研究表明, NGF 作为神经可塑性调控因子, 通过诱导神经源性炎症反应参与哮喘发病^[3,4]。那么, 哮喘中 Th_1/Th_2 免疫失衡和 NGF 之间相互作用如何? T 淋巴细胞介导的免疫失衡是否影响 NGF 的表达? 大鼠脾是含有 T 淋巴细胞最丰富的器官, 由此笔者以大鼠脾淋巴细胞为实验对象进行了研究, 以探讨大鼠哮喘模型体内 Th_1/Th_2 免疫失衡和神经源性炎症的之间的相互作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 4 只雄性 SD 大鼠由中南大学湘雅医学院动物室提供, 周龄 4~6 周, 质量 120~200 g, 饲养 1 周后建立大鼠哮喘模型。

1.1.2 主要试剂 大鼠白细胞介素-4 (IL-4)、 γ -干扰素 (IFN- γ) 购于英国 Peprotech 公司; Ficoll-

Hypaque 分层液及刀豆素 (ConA) 购于美国 Sigma 公司; Trizol 试剂购于美国 Molecular Research Center; 逆转录试剂盒及 Taq DNA 聚合酶试剂均购于 Fermentas 公司。NGF 的 ELISA 试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.1.3 仪器 PE4500 PCR 热循环仪系美国 Sigma 公司出品; Avant 30 低温高速离心机和 Du-70 全自动紫外分光光度计系美国 Beckman 公司出品。

1.2 方法

1.2.1 哮喘模型的建立 每只大鼠腹腔内注射抗原液 1 mL (其中含鸡卵蛋白 100 mg, 灭活百日咳杆菌疫苗 5×10^9 个和氢氧化铝干粉 100 mg) 致敏, 2 周后开始用超声雾化器每日给予 1% 鸡卵蛋白雾化吸入 60 min 激发哮喘, 观察症状, 连续 2 周, 建立哮喘模型^[5]。取肺组织行病理检测。

1.2.2 细胞分离、培养及干预

1.2.2.1 脾淋巴细胞分离 以颈锥脱臼法处死大鼠, 放入盛 75% 乙醇的烧杯中浸泡 2~3 min 后置超净工作台上, 用无菌眼科剪和眼科组织弯钳取脾, 并置于盛有冷 *D*-Hanks 液 (10 mL) 培养皿中的筛网上, 剪成 2~3 段, 用 2 mL 注射针芯捻碎。将细胞悬液移入 10 mL 离心管中, 离心 (1 500 r/min $\times$ 5 min), 弃上清后加入 6 mL Tris- NH_4Cl 破坏红细胞, 用吸管吹打混匀后室温下放置 5 min, 离心 (1 500 r/min $\times$ 5 min), 弃上清, *D*-Hanks 液重悬细胞; 取 5 mL Ficoll-Hypaque 分层液 (比重为 1.087) 于另一离心管底部, 将细胞悬液轻铺分

层液表面,400 r/min × 20 min,吸取单核细胞层;D-Hanks 液洗涤细胞 3 次,加 RPMI-1640 培养液 10 mL 悬浮细胞,将脾单核细胞悬液移入培养皿中,置 37 ℃ 培养箱中贴壁 1 h,使单核/巨噬细胞黏附于玻璃壁上,用毛细吸管吸出未贴壁的淋巴细胞悬液。取 100 μg 脾淋巴细胞悬液稀释后用 0.4% 的台盼蓝染色,计数并观察细胞活力;调整脾细胞浓度为 5 × 10⁷/mL。

1.2.2.2 脾淋巴细胞培养孵育及干预 脾淋巴细胞以终浓度 5 × 10⁶/mL 的密度接种于 24 孔培养板中,培养在含有 10% 小牛血清、青霉素、链霉素各 100 U/mL、ConA 为 10 μg/mL 的 1640 细胞培养基中,每孔细胞总体积均为 1 mL,置于 37 ℃,5% CO₂ 的培养箱中培养。不同时间干预实验:分为 IL-4 组(含 IL-4 终浓度为 50 μg/L)、IFN-γ 组(IFN-γ 终浓度为 10 μg/L)、空白对照组(仅含上述培养基),每组 20 个复孔。分别于细胞培养 0 h,12 h,24 h,36 h,48 h 时各留取 4 孔标本检测。不同浓度干预实验:IL-4 干预组浓度分别为 10 μg/L(低浓度亚组),50 μg/L(中浓度亚组),100 μg/L(高浓度亚组)^[6];IFN-γ 干预组浓度分别为 1 μg/L(低浓度亚组),10 μg/L(中浓度亚组),50 μg/L(高浓度亚组)^[7];两组采用同一空白对照组,即 IL-4 和 IFN-γ 浓度均为 0 μg/L,每组设 4 个复孔,7 组共 28 孔,刺激 24 h 留取标本。标本离心后细胞沉淀用于半定量检测 NGF mRNA。

1.2.3 RT-PCR 方法检测脾淋巴细胞 NGF mRNA 表达 按照 GenBank 序列设计引物:NGF 上游引物,5'-TCCAGGTGCATAGCGTAATG-3',下游引物,5'-CTCCGGTGAGTCCTGTTGAA-3',扩增片段为 376 bp;β-actin 上游引物,5'-ACCCACACTGTGCCATCTAT-3';下游引物,5'-GGACTCATCGTACTCTGCTTG-3',扩增片段为 618 bp。使用 Trizol 试剂从脾淋巴细胞中抽提总 RNA。2 μg RNA 经 Oligo(dT)引物和 AMV 逆转录酶合成 cDNA。2 μL cDNA 样品加入 10 × PCR 标准缓冲液 2.5 μL,10 mmol/L 的 dNTPs 0.5 L,10 μmol/L 上下游引物各 1 μL,25 mmol/L 氯化镁(MgCl₂) 2 μL,1 U/μL TaqDNA 聚合酶 1 μL,加 DEPC 至总反应体系 25 μL。PCR 反应条件:94 ℃ 5 min,94 ℃ 30 s,52 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min,共 35 个循环,72 ℃ 延伸 10 min。扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳后,将凝胶在 Eagle Eye II 图像处理系统上分析出每个 PCR 扩增产物 DNA 带的吸光度(A)值,以 β-actin PCR

产物的 A 值为内对照,NGF 产物与 β-actin 的 A 值的比值百分比(%)对 NGF mRNA 的含量行半定量分析。

1.3 统计学处理 所有数据用 SPSS12.0 统计软件处理。结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多个样本均数比较采用方差分析,多样本均数间两两比较采用 *q* 检验,*t* 检验,检验水准 α = 0.05。

2 结 果

2.1 哮喘大鼠模型建立 大鼠在抗原激发 30~60 min 后则可出现呼吸急促、腹肌收缩、轻度发绀、行动迟缓及反应迟钝等;肺组织病理示大鼠支气管管壁周围有较多淋巴细胞浸润,有嗜酸性粒细胞浸润,还可见支气管管道上皮脱落,杯状细胞增生,黏液栓增多等变化。

2.2 哮喘大鼠脾淋巴细胞表达 NGF mRNA 的基础水平 空白对照组培养脾淋巴细胞 0 h,12 h,24 h,36 h,48 h 时基础 NGF mRNA 表达量随着时间的延长逐渐升高,至 48 h 略有减低,但与前一时间点无显著差异(表 1)。

2.3 IL-4 对哮喘大鼠脾淋巴细胞 NGF mRNA 表达的影响 随着时间的延长,IL-4 组 NGF mRNA 表达相对值逐渐升高,并且至 12 h 后分别显著高于各时间点的空白对照组(均 *P* < 0.01)(表 1,图 1)。同时随着 IL-4 干预浓度的依次增高,NGF mRNA 表达相对值逐渐升高,并且分别与前一梯度低浓度处理组相比较有显著差异(均 *P* < 0.05)(表 2,图 2)。

表 1 不同时间 IL-4 组和 IFN-γ 组 NGF mRNA 表达相对值比较($\bar{x} \pm s$,%)

干预时间(h)	空白对照组	IL-4 组	IFN-γ 组
0	11.3 ± 1.7	11.0 ± 1.4	10.8 ± 1.0
12	37.5 ± 2.9 [#]	44.5 ± 1.7 ^{**}	29.0 ± 4.7 ^{**}
24	42.3 ± 2.9 [#]	56.5 ± 6.0 ^{**}	31.8 ± 2.4 ^{**}
36	41.8 ± 0.3	69.0 ± 7.0 ^{**}	29.0 ± 2.2 ^{**}
48	39.8 ± 2.2	81.0 ± 4.3 ^{**}	26.5 ± 3.0 ^{**}

与空白对照组同时时间点比较, ** *P* < 0.01;与空白对照组前一时间点比较,# *P* < 0.05,## *P* < 0.001

表 2 不同浓度 IL-4 和 IFN-γ 干预组 NGF mRNA 表达相对值变化($\bar{x} \pm s$,%)

不同浓度亚组	IL-4 干预组	IFN-γ 干预组
空白对照组	42.5 ± 1.3	42.5 ± 1.3
低浓度亚组	49.8 ± 0.5 ^{##}	36.5 ± 2.1 ^{##}
中浓度亚组	56.3 ± 2.2 [*]	31.5 ± 2.1 [*]
高浓度亚组	77.3 ± 7.4 [*]	23.8 ± 1.7 [*]

与前一低浓度处理组比较,* *P* < 0.05;与空白对照组比较,## *P* < 0.01

2.4 IFN- γ 对哮喘大鼠脾淋巴细胞 *NGF* mRNA 表达的影响 随着时间的延长,IFN- γ 组 *NGF* mRNA 表达相对值分别与同时时间点的基础值相比有显著下降(均 $P < 0.05$)(表 1,图 3)。同时随

着 IFN- γ 干预浓度的依次增高,*NGF* mRNA 表达相对值逐渐减低,*NGF* mRNA 表达量逐渐降低,并且分别比前一梯度低浓度干预组有显著降低($P < 0.05$)(表 2,图 4)。

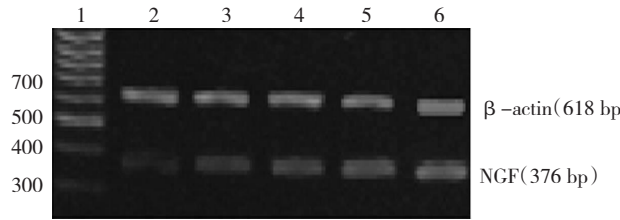


图 1 不同时间 IL-4 干预对脾淋巴细胞 *NGF* mRNA 表达的影响 1:分子质量标记;2~6:分别为 IL-4 干预 0 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h 后的 PCR 产物电泳结果

Fig. 1 Effect of IL-4 on *NGF* mRNA of splenic lymphocytes at different time Lane 1: 100 bp DNA marker; Lane 2~6: PCR products of *NGF* effected by IL-4 for 0 h, 12 h, 24 h, 36 h, and 48 h, respectively

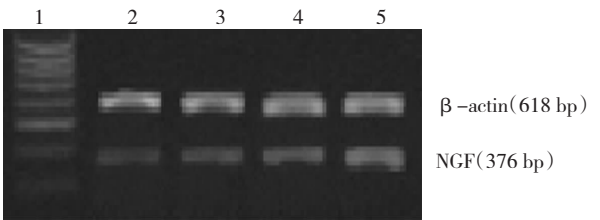


图 2 不同浓度 IL-4 干预对脾淋巴细胞表达 *NGF* mRNA 的影响 1:分子质量标记;2~5:分别为 0 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$, 100 $\mu\text{g/L}$ IL-4 干预 24 h 后的 PCR 产物

Fig. 2 Effect of IL-4 on *NGF* mRNA of splenic lymphocytes at different dosage Lane 1: 100 bp DNA marker; Lane 2~5: PCR products of *NGF* effected by IL-4 with 0 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$ and 100 $\mu\text{g/L}$, respectively

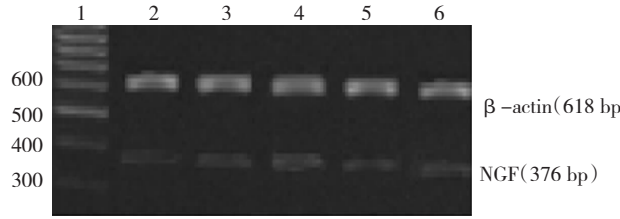


图 3 不同时间 IFN- γ 干预对脾淋巴细胞 *NGF* mRNA 表达的影响 1:分子质量标记;2~6:分别为 IFN- γ 干预 0 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h 后的 PCR 产物

Fig. 3 Effect of IFN- γ on *NGF* mRNA of splenic lymphocytes at different time Lane 1: 100 bp DNA marker; Lane 2~6: PCR products of *NGF* effected by IFN- γ for 0 h, 12 h, 24 h, 36 h, and 48 h, respectively

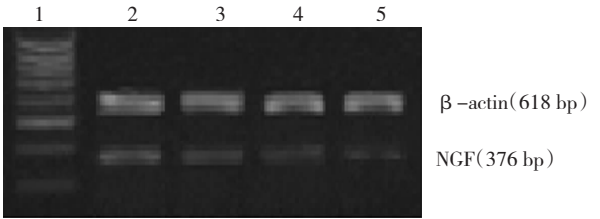


图 4 不同浓度 IFN- γ 干预对脾淋巴细胞表达 *NGF* mRNA 的影响 1:分子质量标记;2~5:分别为对照组(0 $\mu\text{g/L}$), 1 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$ IFN- γ 干预 24 h 后的 PCR 产物

Fig. 4 Effect of IFN- γ on *NGF* mRNA of splenic lymphocytes at different dosage Lane 1: 100 bp DNA marker; Lane 2~5: PCR products of *NGF* effected by IFN- γ with 0 $\mu\text{g/L}$, 1 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$, and 50 $\mu\text{g/L}$, respectively

3 讨 论

研究证实, Th_1/Th_2 免疫失衡参与哮喘的发生发展需要 Th_1/Th_2 细胞因子的功能活性来实现^[1]。IL-4 在哮喘炎症过程中被认为是起主导作用的 Th_2 淋巴细胞因子; IFN- γ 则被认为是一种非常重要的抗支气管哮喘的 Th_1 淋巴细胞因子^[8, 9]。而笔者前期的研究证实, NGF 可上调速激肽受体的表达^[10]; 研究还发现 NGF 增加产生速激肽的神经元的数目, 以及降低神经反应的阈值^[11], 通过上述分子及细胞机制, 诱发神经源性炎症而参与哮喘的

发病^[4]。 Th_1/Th_2 免疫平衡失调和 NGF 介导的气道神经源性炎症是目前备受关注的哮喘的主要发病机制, 但上述两种不同发病机制之间的内在联系和相互影响的研究则少见报道。笔者同期的另一组研究发现 NGF 可上调哮喘大鼠肺组织 IL-4 mRNA 表达, 下调 IFN- γ mRNA 表达^[12], 这表明 NGF 可能通过双重途径参与哮喘的发病: 一方面通过改变神经可塑性, 诱发神经源性炎症; 另一方面通过调控 Th_1/Th_2 类细胞因子的表达, 改变免疫可塑性。而哮喘中 Th_1/Th_2 免疫失衡反过来是否间接调控 NGF 介导的神经源性炎症, 则是本组研究的目的。

本研究成功建立大鼠哮喘模型后, 笔者发现: 在无外源性 IL-4 和 IFN- γ 的干预下, 哮喘大鼠脾淋巴细胞在基础状态下可表达 *NGF* mRNA, 并在 ConA 刺激下呈时间依赖性递增表达 *NGF*, 证实哮喘体内淋巴细胞不仅是体现 *NGF* 功能活性的靶细胞之一, 也是 *NGF* 重要的细胞来源之一。有关 Th₁/Th₂ 相关细胞因子对淋巴细胞 *NGF* 的表达的影响尚未见报道, 笔者将 IFN- γ 和 IL-4 分别作为 Th₁ 和 Th₂ 细胞的特征性细胞因子, 分别干预致敏哮喘大鼠的脾淋巴细胞, 通过检测细胞的 *NGF* mRNA 表达的变化来间接反映 Th₁/Th₂ 的免疫应答失衡对 *NGF* 的影响。结果发现, 除了参与 Th₁/Th₂ 免疫失衡外, Th₂ 细胞因子 IL-4 可显著促进哮喘大鼠脾淋巴细胞 *NGF* 的表达并呈浓度和时间依赖性; 而 Th₁ 细胞因子 IFN- γ 明显下调 *NGF* 的表达也呈浓度和时间依赖性。该结果强烈提示: 哮喘中 Th₂ 免疫活性增强, 产量增多和功能增强的 IL-4 促进淋巴细胞自身 *NGF* mRNA 表达的效应也可能增强; 与之相反, Th₁ 免疫活性减弱, IFN- γ 下调 *NGF* 的表达也可能被阻抑, Th₁/Th₂ 免疫失衡最终会导致淋巴细胞中 *NGF* 的表达增强。由此可以推测, 通过增强 *NGF* 的表达, Th₁/Th₂ 类细胞因子免疫失衡可能间接放大由 *NGF* 诱导的哮喘另一发病机制: 气道神经源性炎症。

综上所述, *NGF* 可通过以上正反馈的模式促进和放大哮喘的 Th₁/Th₂ 免疫失衡, Th₁/Th₂ 类细胞因子免疫失衡也以正反馈的模式调控 *NGF* 的表达, 进而可促进 *NGF* 介导的神经源性炎症。故 Th₁/Th₂ 免疫失衡和神经源性炎症作为哮喘两个重要的发病机制, 在哮喘发生发展中, 不仅互为因果, 相辅相存; 而且更有相互促进和放大的功能效应, 在这种相互作用过程中, *NGF* 起着极为重要的桥梁作用。

参考文献:

- [1] Ngoc P L, Gold D R, Tzianabos A O, et al. Cytokines, allergy, and asthma [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2005, 5(2): 161-166.
- [2] Lewin G R, Barde Y A. Physiology of the neurotrophins [J]. *Annu Rev Neurosci*, 1996, 19: 289-317.
- [3] Braun A, Lommatzsch M, Renz H. The role of neurotrophins in allergic bronchial asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30(2): 178-186.
- [4] 欧阳若芸, 胡成平, 朱锦琪, 等. 神经生长因子及其受体在哮喘大鼠肺组织的变化以及对气道炎症的影响 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2005, 30(6): 660-665.
- OUYANG Ruo-yun, HU Cheng-ping, ZHU Jin-qi, et al. Changes of nerve growth factor and its receptors in the lung tissues in asthmatic rats and their effects on the airway inflammation [J]. *J Cent South Univ (Med Sci)*, 2005, 30(6): 660-665.
- [5] 林敏娟, 胡成平, 吴鄂生, 等. 支气管哮喘大鼠肺组织中白血病抑制因子的表达变化 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2003, 26(11): 727-728.
- LIN Min-juan, HU Cheng-ping, WU E-sheng, et al. Changes of the expression of Leukemia inhibitory factor in the lung tissues in asthmatic rats [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2003, 26(1): 727-728.
- [6] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养 [M]. 西安: 世界图书出版西安公司, 2004: 21.
- SITU Zhen-qiang, WU Jun-zheng. *Cell Culture* [M]. Xi'an: World Publishing Company in Xi'an, 2004: 21.
- [7] Lugo-Villarino G, Maldonado-Lopez R, Possemato R, et al. T-bet is required for optimal production of IFN- γ and antigen-specific T cell activation by dendritic cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(13): 7749-7754.
- [8] Kon O M, Kay A B. T cells and chronic asthma [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 1999, 118(2-4): 133-135.
- [9] Randolph D A, Stephens R, Carruthers C J, et al. Cooperation between Th₁ and Th₁ cells in a murine model of eosinophilic airway inflammation [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(8): 1021-1029.
- [10] Hu C P, Katrin W, Alexandert A, et al. Nerve growth factor and nerve growth factor receptors in respiratory syncytial virus-infected lungs [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283(2): L494-L502.
- [11] Hoyle G W, Graham R M, Finkelstein J B, et al. Hyperinnervation of the airways in transgenic mice overexpressing nerve growth factor [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, 18(2): 149-157.
- [12] 欧阳若芸, 胡成平, 陈平, 等. 神经生长因子对哮喘大鼠 Th₁/Th₂ 类细胞因子表达的调控研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2006, 26(20): 1613-1616.
- OUYANG Ruo-yun, HU Cheng-ping, CHEN-ping, et al. Study on the effect of nerve growth factor on Th₁/Th₂ cell immune imbalance in asthmatic rats [J]. *Chin J Prac Intern Med*, 2006, 26(20): 1613-1616.

(本文编辑 陈丽文)