

· 基础研究 ·

骨化三醇对哮喘小鼠气道重塑及气道上皮细胞凋亡的影响

张路 林江涛 郭静 孙维梁 潘琳

【摘要】 目的 观察骨化三醇对支气管哮喘(简称哮喘)小鼠气道重塑及气道上皮细胞(AECs)凋亡的影响。**方法** 24 只雌性清洁级 Balb/c 小鼠按随机数字表法均分为对照组、慢性哮喘组、骨化三醇干预组各 8 只:(1)慢性哮喘组:于第 1、14 天小鼠腹腔注射 0.1 ml 致敏液[卵清白蛋白(OVA, 20 μg) + 氢氧化铝凝胶(50 μl)],从第 21 天开始雾化吸入 1% OVA 溶液 10 ml 进行激发,30 min/次,3 次/周,连续 8 周;(2)骨化三醇干预组:OVA 致敏和激发同慢性哮喘组,每次激发前 30 min 予以 100 ng 骨化三醇腹腔注射;(3)对照组:使用生理盐水代替 OVA 进行致敏及激发。末次激发后 24 h 内处死小鼠,取左肺多聚甲醛固定后石蜡包埋切片,分别行 HE 染色、阿利辛兰-过碘酸雪夫(AB-PAS)染色、Masson 染色、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)免疫组织化学染色,图像分析软件测定支气管基底膜周径、管壁总面积及 AB-PAS、Masson、 α -SMA 染色阳性面积,结果均以基底膜周径将其标准化。石蜡切片经末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记测定法(TUNEL)检测气道上皮细胞凋亡,B 细胞淋巴瘤/白血病 2(Bcl-2)免疫组织化学染色法检测 Bcl-2 蛋白在气道上皮组织中的相对表达量。**结果** 慢性哮喘组、骨化三醇干预组小鼠出现慢性哮喘气道炎症及气道重塑典型改变。骨化三醇干预组管壁总面积及 AB-PAS、Masson、 α -SMA 染色阳性面积与基底膜周径的比值分别为(14.12 $\pm$ 2.13)、(3.72 $\pm$ 0.57)、(4.31 $\pm$ 0.65)、(3.27 $\pm$ 0.46) $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$,均显著低于慢性哮喘组的(19.24 $\pm$ 1.70)、(5.23 $\pm$ 0.90)、(7.63 $\pm$ 1.55)、(5.40 $\pm$ 0.69) $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$ 而高于对照组的(7.79 $\pm$ 1.01)、(0.05 $\pm$ 0.03)、(1.37 $\pm$ 0.25)、(1.40 $\pm$ 0.24) $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$ (均 $P < 0.01$)。骨化三醇干预组气道上皮细胞凋亡指数显著低于慢性哮喘组而高于对照组[(14.89 $\pm$ 1.75)%比(29.73 $\pm$ 5.74)%、(0.45 $\pm$ 0.38)% ,均 $P < 0.01$]。骨化三醇干预组 Bcl-2 蛋白相对表达量显著高于慢性哮喘组而低于对照组(0.114 $\pm$ 0.009 比 0.091 $\pm$ 0.023、0.160 $\pm$ 0.021,均 $P < 0.05$)。**结论** 骨化三醇可减轻慢性哮喘小鼠的气道重塑及气道上皮细胞凋亡;其减少哮喘小鼠气道上皮细胞凋亡的机制涉及机体对线粒体凋亡途径重要分子 Bcl-2 的调控。

【关键词】 哮喘; 骨化三醇; 气道重构; 细胞凋亡

Effects of 1, 25-(OH)₂D₃ on airway remodeling and airway epithelial cell apoptosis in a murine model of asthma Zhang Lu*, Lin Jiangtao, Guo Jing, Sun Weiliang, Pan Lin. * Graduate School of Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China
Corresponding author: Lin Jiangtao, Department of Respiratory Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China, Email: jiangtao_l@263.net

【Abstract】 Objective To investigate the effects of calcitriol on airway remodeling and airway epithelial cell apoptosis in a murine model of bronchial asthma. **Methods** Twenty-four SPF female Balb/c mice were randomly allocated into three groups according to a random digits table with 8 mice in each group: the control group, the chronic asthma group and the calcitriol intervention group. (1) The chronic asthma group: the mice were sensitized by intraperitoneal injection of Ovalbumin (OVA, 20 μg) and aluminium hydroxide (50 μl) on days 1 and 14. From day 21, the mice were challenged by inhalation of 1% OVA solution (10 ml, 30 min/time, three times a week for consecutively 8 weeks). (2) The calcitriol intervention group: the mice were sensitized and challenged as above, and were given calcitriol 100 ng through

DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2015.48.016

作者单位:100730 中国医学科学院 北京协和医学院研究生院(张路);中日友好医院呼吸内科(林江涛),中日友好临床医学研究所(郭静、孙维梁、潘琳)

通信作者:林江涛,Email:jiaingtao_l@263.net

intraperitoneal injection 30 min before every inhalation. (3) The control group; the mice were sensitized and challenged by saline instead of OVA. The mice were sacrificed 24 hours after the last challenge, and the left lung were removed, fixed with paraformaldehyde, embedded with paraffin and sectioned. HE staining, Alcian blue and Periodic acid Schiff (AB-PAS) staining, Masson staining, and α -smooth muscle actin (α -SMA) immunohistochemistry staining were conducted. Bronchial basement membrane perimeter (Pbm), total bronchial wall area and positive areas of AB-PAS staining, Masson staining, and α -SMA staining were determined with image analysis software. The results were standardized with the basement membrane perimeter. Paraffin sections of mice lung tissue were detected with terminal transferase deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick end labeling enzyme mediated method (TUNEL) for apoptosis of airway epithelial cells and with immunohistochemistry staining for expression of B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) in the airway epithelium. **Results** The mice in the chronic asthma group and calcitriol intervention group showed characteristic airway inflammation and airway remodeling of asthma. The ratios between the total bronchial wall area and positive areas of AB-PAS staining, Masson staining and α -SMA staining and the basement membrane perimeter in the calcitriol intervention group were (14.12 ± 2.13) , (3.72 ± 0.57) , (4.31 ± 0.65) and $(3.27 \pm 0.46) \mu\text{m}^2/\mu\text{m}$, respectively, all of them were significantly lower than (19.24 ± 1.70) , (5.23 ± 0.90) , (7.63 ± 1.55) and $(5.40 \pm 0.69) \mu\text{m}^2/\mu\text{m}$ in the chronic asthma group and higher than (7.79 ± 1.01) , (0.05 ± 0.03) , (1.37 ± 0.25) and $(1.40 \pm 0.24) \mu\text{m}^2/\mu\text{m}$ in the control group (all $P < 0.01$). The airway epithelial cell apoptosis index in the calcitriol intervention group was significantly lower than that in the chronic asthma group and higher than the control group [$(14.89 \pm 1.75)\%$ vs $(29.73 \pm 5.74)\%$ and $(0.45 \pm 0.38)\%$, both $P < 0.01$]. The relative expression of Bcl-2 in the calcitriol intervention group was significantly higher than that in the chronic asthma group and lower than the control group (0.114 ± 0.009 vs 0.091 ± 0.023 and 0.160 ± 0.021 , both $P < 0.05$). **Conclusions** Calcitriol attenuates airway remodeling and reduces the apoptosis of airway epithelial cells in a murine model of chronic asthma. The mechanism of calcitriol in reducing apoptosis of airway epithelial cells is by regulation of expression of the important molecule Bcl-2 protein in mitochondrial apoptotic pathway.

【Key words】 Asthma; Calcitriol; Airway remodeling; Apoptosis

气道重塑被认为是导致支气管哮喘(简称哮喘)难治的病理基础,目前对于改善或延缓气道重塑尚缺乏有效对策。近年来,骨化三醇骨代谢之外的作用受到重视,已有研究表明骨化三醇可能有抑制哮喘气道重塑的作用^[1-4],但尚需要进一步证实。气道上皮损伤在哮喘发病机制中的作用越来越受到重视,凋亡是细胞受损后表现形式的其中一种,目前研究对哮喘中气道上皮细胞(AECs)凋亡程度报道不一致。研究显示骨化三醇对细胞凋亡的作用呈现双向性,在恶性肿瘤领域主要表现为诱导细胞凋亡,也有研究发现其有抑制细胞凋亡的作用^[5-6],而骨化三醇对 AECs 凋亡的影响目前报道较少。本研究通过建立慢性哮喘气道重塑小鼠模型,观察骨化三醇对哮喘小鼠气道重塑及 AECs 凋亡的影响。

材料与方法

一、实验动物及材料

1. 动物:6 周龄雌性 SPF 级 Balb/c 小鼠 24 只(北京维通利华生物有限公司提供),体质量 17 ~ 19 g,于平均温度 22 ~ 28 °C、相对湿度 50% ~ 60% 的清洁环境中分笼饲养,光照明暗交替时间为 12 h(饲养于中日友好临床医学研究所动物房)。

2. 主要材料:卵清白蛋白(OVA, V 级,纯度 > 98%, 美国 Sigma 公司);氢氧化铝凝胶(美国

Thermo Scientific 公司);骨化三醇(美国 Cayman Chemical 公司);阿利辛兰-过碘酸雪夫(AB-PAS)染色试剂盒、鼠抗人 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠和羊抗兔抗体(北京中杉金桥生物试剂有限公司)、3, 3'-二氨基联苯胺(北京中杉金桥生物技术有限公司);脱氧尿苷三磷酸(dUTP)缺口末端标记测定法(TUNEL)检测试剂盒(美国 Roche 公司);兔多克隆抗 B 细胞淋巴瘤/白血病 2(Bcl-2)抗体(英国 Abcam 公司);生物素标记的山羊抗兔 IgG(北京鼎国昌盛生物技术有限公司);辣根过氧化物酶标记链霉亲和素(北京鼎国昌盛生物技术有限公司);超声雾化器(亚都医用超声雾化器, YC-Y800 型);雾化箱(50 cm × 40 cm × 30 cm 封闭透明玻璃箱);Image Pro Plus 6.0 医学图像分析软件。

二、方法

1. 动物分组与模型构建:小鼠经适应性饲养 1 周后按随机数字表法分为 3 组各 8 只,按照文献[7]方法稍加改动建立哮喘模型:(1)慢性哮喘组:分别于第 1、14 天腹腔注射 0.1 ml 致敏液[OVA (20 μg) + 氢氧化铝凝胶(50 μl)];从第 21 天开始激发,将小鼠置于雾化箱中,超声雾化吸入 1% OVA 溶液 10 ml, 30 min/次, 3 次/周,连续 8 周。每次雾化前 30 min 腹腔注射生理盐水 0.1 ml;(2)骨化三

醇干预组:OVA 致敏和激发同慢性哮喘组,每次激发前 30 min 腹腔注射 100 ng 骨化三醇;(3)对照组:用生理盐水代替 OVA 进行致敏及激发。每次雾化前 30 min 腹腔注射生理盐水 0.1 ml。

2. 组织学检查:末次激发后 24 h 内处死小鼠,取左肺组织用 4% 多聚甲醛溶液固定后石蜡包埋。行肺组织 HE 染色、AB-PAS 染色、Masson 染色、 α -SMA 免疫组织化学染色,观察肺部病理、气道黏液分泌、胶原纤维沉积及气道平滑肌厚度。石蜡切片经 TUNEL 检测 AECs 凋亡,免疫组织化学染色检测气道上皮组织中 Bcl-2 蛋白的相对表达量。

3. 结果分析:400 $\times$ 光镜下观察肺组织病理学改变。200 $\times$ 光镜下每只动物切片随机选取 5 个无软骨且平滑肌成环的完整细支气管横断面,气管最小径/最大径 ≥ 0.5 ,采用 Image Pro Plus 6.0 测定支气管基底膜周径、管壁总面积、AB-PAS 染色阳性面积(上皮内)、Masson 染色阳性面积(基底膜下的气管壁处,在有经验的病理医师指导下选择)、 α -SMA 免疫组化染色阳性面积(气管平滑肌处),所测结果均以基底膜周径进行标准化。400 $\times$ 光镜下在每只动物切片管壁完整、细胞核染色清晰的气管中随机选取 5 支气管,计数每支气管上皮细胞凋亡指数(凋亡细胞数/总细胞数 $\times 100\%$)及使用 Image Pro Plus 6.0 计算 Bcl-2 免疫组化染色阳性部位的平均光密度值作为 Bcl-2 蛋白相对表达量。以上数值取平均值代表该只动物相应指标。

三、统计学方法

采用 Prism 5.0 软件行统计学分析。正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组样本均数比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),多组样本均数两两比较采用 Bonferroni 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. OVA 激发时各组小鼠反应:对照组小鼠活动敏捷,未见明显异常。慢性哮喘组、骨化三醇干预组小鼠在 OVA 激发后 10 min 左右出现搔抓身体、烦躁不安表现,部分小鼠呼吸急促、腹部翕动、发绀、活动减少、站立不稳。两组小鼠表现无明显差别。

2. HE 染色结果:对照组小鼠支气管黏膜上皮、黏膜肌层、肺组织结构完整,支气管腔规则,支气管黏膜上皮整齐,无明显炎症细胞浸润;慢性哮喘组小鼠管腔狭窄,气道壁明显增厚,支气管黏膜皱褶增多、延长,有时可见黏液栓堵塞,支气管周围及黏膜

下有大量炎症细胞浸润;骨化三醇干预组以上病变较慢性哮喘组轻(图 1)。三组支气管管壁总面积/基底膜周径见表 1。统计学分析显示慢性哮喘组、骨化三醇干预组管壁总面积/基底膜周径较对照组明显增高($t = 11.78, 6.51$, 均 $P < 0.001$),骨化三醇干预组低于慢性哮喘组($t = 5.26, P = 0.001$)。

3. AB-PAS 染色结果:对照组不见或仅见点状 AB-PAS 染色阳性区域;慢性哮喘组气管上皮内 AB-PAS 染色阳性区域面积明显增加;骨化三醇干预组较对照组也明显增加,但较慢性哮喘组有所减少(图 2)。慢性哮喘组、骨化三醇干预组 AB-PAS 染色阳性面积/基底膜周径均显著高于对照组($t = 14.56, 10.33$, 均 $P < 0.001$),骨化三醇干预组显著低于慢性哮喘组($t = 4.23, P = 0.004$)(表 1)。

4. Masson 染色结果:对照组胶原纤维为极薄一层环绕气管;慢性哮喘组气道上皮皮下胶原沉积明显增加,形成一较厚致密层;骨化三醇干预组胶原沉积较对照组也明显增加,但较慢性哮喘组减少(图 3)。慢性哮喘组、骨化三醇干预组 Masson 染色阳性面积/基底膜周径均显著高于对照组($t = 11.02, 5.18$, 均 $P < 0.001$),骨化三醇干预组显著低于慢性哮喘组($t = 5.83, P = 0.001$)(表 1)。

5. α -SMA 免疫组织化学染色结果:对照组 α -SMA 免疫组织化学染色阳性可见;慢性哮喘组、骨化三醇干预组 α -SMA 免疫组织化学染色阳性区域厚度明显增高,骨化三醇干预组较慢性哮喘组减低(图 4)。慢性哮喘组、骨化三醇干预组 α -SMA 染色阳性面积/基底膜周径均显著高于对照组($t = 13.89, 6.50$, 均 $P < 0.001$),骨化三醇干预组低于慢性哮喘组($t = 7.38, P < 0.001$)(表 1)。

6. TUNEL 检测结果:对照组 AECs 不见或偶见 TUNEL(+)细胞;慢性哮喘组、骨化三醇干预组 AECs 中 TUNEL(+)细胞显著增多;骨化三醇干预组 TUNEL(+)细胞比率低于慢性哮喘组(图 5)。慢性哮喘组、骨化三醇干预组气管上皮细胞凋亡指数均显著高于对照组($t = 11.53, 6.32$, 均 $P < 0.001$),骨化三醇干预组显著低于慢性哮喘组($t = 5.20, P = 0.001$)(表 2)。

7. Bcl-2 免疫组织化学染色结果:阳性染色于胞核及胞质中可见。气道上皮组织中,对照组表达较多 Bcl-2 蛋白;慢性哮喘组 Bcl-2 表达很少;骨化三醇干预组可见 Bcl-2 表达,但量低于对照组(图 6)。慢性哮喘组和骨化三醇干预组 Bcl-2 蛋白相对表达

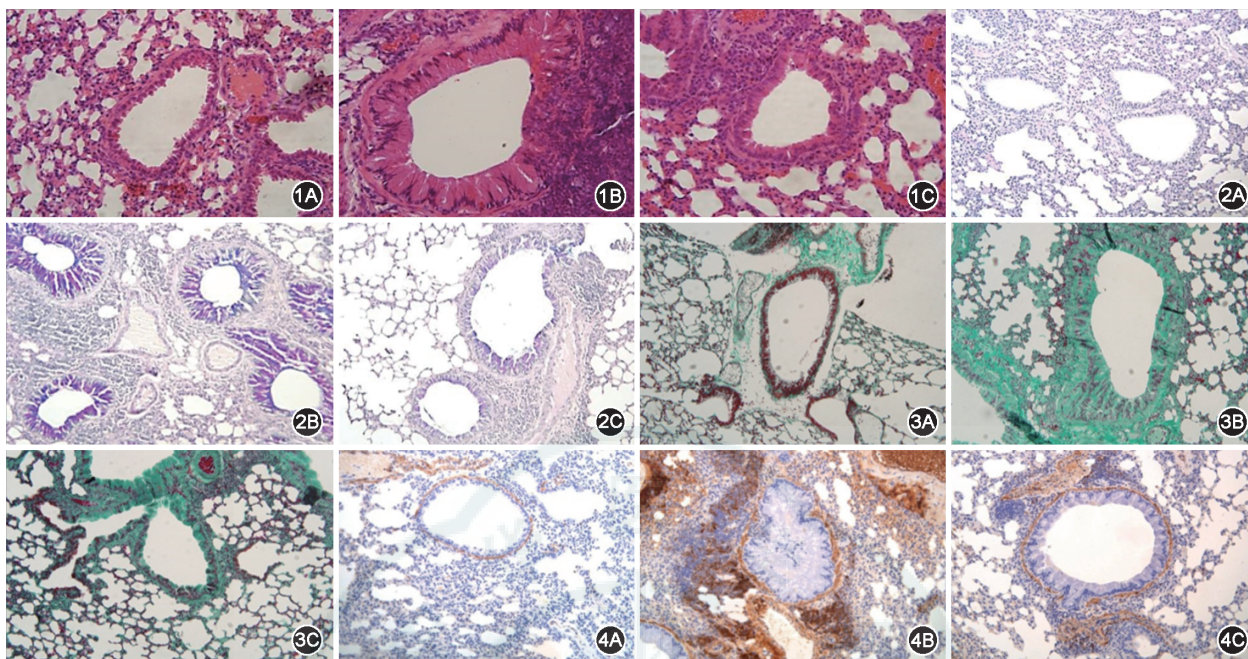


图 1 三组小鼠肺组织 HE 染色结果(×400):1A. 对照组:支气管腔规则,管壁结构完整,未见炎症细胞浸润;1B. 慢性哮喘组:支气管腔狭窄,上皮层及平滑肌层明显增厚,管壁及周围大量炎症细胞浸润;1C. 骨化三醇干预组:气道壁增厚及炎症细胞浸润程度均较慢性哮喘组减轻 **图 2** 三组小鼠肺组织阿利辛兰-过碘酸雪夫(AB-PAS)染色结果(×200):2A. 对照组:支气管壁黏液分泌不明显;2B. 慢性哮喘组:支气管壁黏液分泌明显增加;2C. 骨化三醇干预组:支气管壁黏液分泌较对照组增加,较慢性哮喘组减轻 **图 3** 三组小鼠肺组织 Masson 染色结果(×200):3A. 对照组:支气管周围少许胶原纤维;3B. 慢性哮喘组:支气管周围胶原纤维明显沉积;3C. 骨化三醇干预组:支气管周围胶原纤维沉积较对照组增加,较慢性哮喘组减轻 **图 4** 三组小鼠肺组织 α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)免疫组织化学染色结果(×200):4A. 对照组:气道平滑肌呈极薄一层环绕气管;4B. 慢性哮喘组:气道平滑肌层明显增厚;4C. 骨化三醇干预组:气道平滑肌层较对照组增厚,较慢性哮喘组减轻

表 1 三组小鼠气道形态学指标($\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	管壁总面积/ 基底膜周径	AB-PAS 染色阳性 面积/基底膜周径	Masson 染色阳性 面积/基底膜周径	α-SMA 染色阳性 面积/基底膜周径
对照组	8	7.79 ± 1.01	0.05 ± 0.03	1.37 ± 0.25	1.40 ± 0.24
慢性哮喘组	8	19.24 ± 1.70 ^a	5.23 ± 0.90 ^a	7.63 ± 1.55 ^a	5.40 ± 0.69 ^a
骨化三醇干预组	8	14.12 ± 2.13 ^{ab}	3.72 ± 0.57 ^{ab}	4.31 ± 0.65 ^{ab}	3.27 ± 0.46 ^{ab}
<i>F</i> 值		69.64	112.20	60.80	96.64
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:AB-PAS:阿利辛兰-过碘酸雪夫;α-SMA:α-平滑肌肌动蛋白;与对照组比较,^a*P* < 0.01;与慢性哮喘组比较,^b*P* < 0.01

量均显著低于对照组($t = 7.44, P < 0.001$ 和 $t = 3.52, P = 0.010$);骨化三醇干预组显著高于慢性哮喘组($t = 3.92, P = 0.006$)(表 2)。

表 2 三组小鼠气管上皮细胞凋亡指数及 Bcl-2 蛋白相对表达量($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	气管上皮细胞 凋亡指数(%)	Bcl-2 蛋白 相对表达量
对照组	8	0.45 ± 0.38	0.160 ± 0.021
慢性哮喘组	8	29.73 ± 5.74 ^a	0.091 ± 0.023 ^a
骨化三醇干预组	8	14.89 ± 1.75 ^{ab}	0.114 ± 0.009 ^{ab}
<i>F</i> 值		66.70	27.73
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:Bcl-2:B 细胞淋巴瘤/白血病 2;与对照组比较,^a*P* < 0.05;与慢性哮喘组比较,^b*P* < 0.01

讨 论

研究发现,用骨化三醇处理以哮喘患者血清预先致敏的气道平滑肌细胞,可有效抑制平滑肌细胞增殖细胞核抗原的表达^[1]。予以骨化三醇后,气道平滑肌细胞中血管内皮生长因子基因、白细胞介素 6 基因、FN1 基因等重塑相关基因表达发生改变^[2]。同野生型小鼠相比,维生素 D 受体基因敲除的小鼠肺组织中基质金属蛋白酶(MMPs)-2、MMP-9、MMP-12 水平更高^[3]。有研究于小鼠哮喘模型上观察到骨化三醇有抑制气道重塑的作用^[4]。

本研究造模成功,结果显示,骨化三醇干预组气

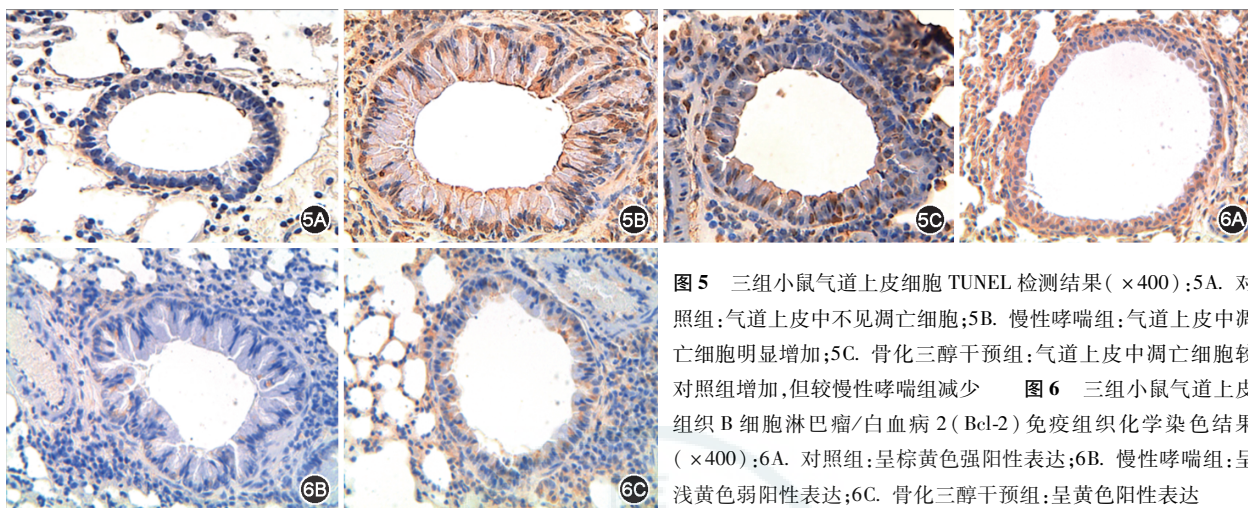


图5 三组小鼠气道上皮细胞 TUNEL 检测结果 ($\times 400$): 5A. 对照组: 气道上皮中不见凋亡细胞; 5B. 慢性哮喘组: 气道上皮中凋亡细胞明显增加; 5C. 骨化三醇干预组: 气道上皮中凋亡细胞较对照组增加, 但较慢性哮喘组减少。图6 三组小鼠气道上皮组织 B 细胞淋巴瘤/白血病 2 (Bcl-2) 免疫组织化学染色结果 ($\times 400$): 6A. 对照组: 呈棕黄色强阳性表达; 6B. 慢性哮喘组: 呈浅黄色弱阳性表达; 6C. 骨化三醇干预组: 呈黄色阳性表达

道壁厚度更低、气道黏液分泌更少、气道平滑肌增厚更不明显、基底膜下胶原纤维沉积更少。

哮喘气道上皮受损以柱状上皮细胞脱落为特征。重度哮喘患者可见 AECs 过度丢失致基底膜裸露, 轻度哮喘患者中 AECs 脱落也很常见, 脱落细胞主要为柱状上皮细胞^[8]。有研究认为 AECs 脱落增加是缘于 AECs 凋亡增多^[9], 但有研究发现哮喘患者支气管活检组织中 AECs 凋亡未增加^[10]。本研究经 TUNEL 法证实慢性哮喘组 AECs 凋亡率显著高于对照组。

哮喘中 AECs 的过度凋亡与气道重塑有关。AECs 凋亡后容易脱落, 脱落后上皮出现快速修复以维持其完整性。然而哮喘中上皮损伤后的修复过程出现障碍^[11], 损伤修复不全时气道会出现“慢性伤口”, 在其反复修复此的过程中促纤维化介质产生增多, 促使成纤维细胞及肌成纤维细胞释放胶原、弹性纤维、蛋白聚糖、糖蛋白等, 使气道壁增厚^[12]。有证据表明上皮细胞脱落后可启动上皮-间充质转化过程导致气道重塑^[8]。AECs 凋亡同黏液分泌过度、胶原沉积、平滑肌层增厚有关。本研究结果显示, 骨化三醇干预组气道重塑较慢性哮喘组轻, 同时 AECs 凋亡较少, 骨化三醇减轻哮喘小鼠气道重塑的作用可能是通过减少气道上皮细胞凋亡来介导。细胞凋亡的调控因素中, Bcl-2 家族基因备受瞩目, 其中 Bcl-2 基因抑制细胞凋亡。本研究中, 骨化三醇干预组气道上皮 Bcl-2 表达高于慢性哮喘组, 这可能是骨化三醇减少 AECs 凋亡的机制。

参 考 文 献

[1] Song Y, Qi H, Wu C. Effect of 1, 25-(OH)₂D₃ (a vitamin D

- analogue) on passively sensitized human airway smooth muscle cells [J]. *Respirology*, 2007, 12(4): 486-494.
- [2] Bosse Y, Maghni K, Hudson TJ. 1 α , 25-dihydroxy-vitamin D₃ stimulation of bronchial smooth muscle cells induces autocrine, contractility, and remodeling processes [J]. *Physiol Genomics*, 2007, 29(2): 161-168.
- [3] Sundar IK, Hwang JW, Wu S, et al. Deletion of vitamin D receptor leads to premature emphysema/COPD by increased matrix metalloproteinases and lymphoid aggregates formation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 406(1): 127-133.
- [4] 宋颖芳, 赖国祥, 柳德灵, 等. 1, 25-二羟维生素 D₃ 对支气管哮喘小鼠气道重塑的影响及其机制 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36(2): 119-121.
- [5] 王安平, 李霞, 超晨, 等. 1 α , 25-二羟维生素 D₃ 对胰岛 β 细胞的保护作用及其机制探讨 [J]. *中华医学杂志*, 2012, 92(10): 695-699.
- [6] Yao T, Ying X, Zhao Y, et al. Vitamin d receptor activation protects against myocardial reperfusion injury through inhibition of apoptosis and modulation of autophagy [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(8): 633-650.
- [7] Locke NR, Royce SG, Wainwright JS, et al. Comparison of airway remodeling in acute, subacute, and chronic models of allergic airways disease [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(5): 625-632.
- [8] Davies DE, Wicks J, Powell RM, et al. Airway remodeling in asthma: new insights [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(2): 215-225.
- [9] Zhou C, Yin G, Liu J, et al. Epithelial apoptosis and loss in airways of children with asthma [J]. *J Asthma*, 2011, 48(4): 358-365.
- [10] Vignola AM, Chiappara G, Siena L, et al. Proliferation and activation of bronchial epithelial cells in corticosteroid-dependent asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(5): 738-746.
- [11] Hackett TL, Singhera GK, Shaheen F, et al. Intrinsic phenotypic differences of asthmatic epithelium and its inflammatory responses to RSV and air pollution [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(5): 1090-1100.
- [12] Holgate ST, Davies DE, Lackie PM, et al. Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 105(2 Pt 1): 193-204.

(收稿日期: 2015-05-06)

(本文编辑: 宋国营)