

## 五虎汤抑制 STAT3 蛋白调控树突细胞自噬治疗 RSV 诱发哮喘小鼠

丁伊<sup>1</sup>, 王孟清<sup>2\*</sup>, 罗银河<sup>1\*</sup>, 胡燕<sup>2</sup>, 江智豪<sup>1</sup>, 张鑫<sup>1</sup>, 李英<sup>2</sup>, 罗菁<sup>3</sup>, 邓羿馥<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007;

3. 深圳市南山区蛇口人民医院, 广东深圳 154100)

**[摘要]** 目的:探讨五虎汤对呼吸道合胞病毒(RSV)诱发哮喘小鼠模型的治疗作用机制、肺组织信号传导及转录激活因子3(STAT3)蛋白表达的影响。方法:100只SPF级雌性BALB/c小鼠,用RSV复合鸡卵清蛋白(OVA)雾化吸入激发哮喘,造模成功后随机分为正常组、模型组、阳性药组(地塞米松,1.82 mg·kg<sup>-1</sup>),STAT3抑制剂组(STAT3i,3.75 mg·kg<sup>-1</sup>),STAT3诱导剂组(colivelin,1.0 mg·kg<sup>-1</sup>)及五虎汤低、中、高剂量组(1.6,3.2,6.4 g·kg<sup>-1</sup>),并给予相应药物干预2周。使用动物呼吸机检测小鼠气道反应性值;采用苏木素-伊红(HE),过碘酸希夫(PAS)及马松(Masson)染色分别观察小鼠肺组织病理学改变、杯状细胞分泌黏液和气道胶原沉积情况;酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清中白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10),白细胞介素-17(IL-17)含量;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)测定转化生长因子-β<sub>1</sub>(TGF-β<sub>1</sub>),α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)mRNA在肺组织中的表达;透射电镜检查肺组织自噬体;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肺组织树突细胞(DC)中自噬相关蛋白5(ATG5),Sequestosome 1(SQSTM1)蛋白表达及肺组织中STAT3,磷酸化(p)-STAT3蛋白表达情况。结果:与正常组比较,模型组小鼠气道反应性增高(P<0.01),肺组织周围炎性细胞浸润,杯状上皮细胞过度化生和气道胶原广泛沉积,血清中IL-6和IL-17含量显著升高,IL-10含量显著降低(P<0.01),肺组织中TGF-β<sub>1</sub>,α-SMA mRNA表达增加(P<0.01),肺组织自噬体数量增加,肺组织DC中ATG5蛋白表达上升,SQSTM1表达降低(P<0.01),肺组织中STAT3,p-STAT蛋白表达水平显著升高(P<0.01);与模型组比较,五虎汤和STAT3i均可明显降低哮喘小鼠气道高反应性(P<0.05,P<0.01),有效缓解RSV诱发哮喘小鼠肺组织病理情况,降低血清中IL-6和IL-17表达含量(P<0.01),升高哮喘保护细胞因子IL-10含量(P<0.01),降低肺组织中TGF-β<sub>1</sub>,α-SMA mRNA水平(P<0.01),进一步增加自噬小体数量,显著增强肺组织DC中ATG5水平及下调SQSTM1水平(P<0.05,P<0.01),并可下调肺组织中STAT3及p-STAT3水平(P<0.01)。结论:五虎汤可能通过抑制STAT3蛋白,上调肺组织DC自噬水平,从而有效改善RSV诱发哮喘小鼠气道炎症、气道重塑,降低气道高反应性。

**[关键词]** 五虎汤;哮喘;呼吸道合胞病毒;树突细胞;自噬;信号传导及转录激活因子3(STAT3)

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)09-0009-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210602

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210308.1158.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-3-8 14:05

## Wuhutang Alleviates Respiratory Syncytial Virus-induced Asthma in Mice by Inhibiting STAT3 Protein and Regulating Dendritic Cell Autophagy

DING Yi<sup>1</sup>, WANG Meng-qing<sup>2\*</sup>, LUO Yin-he<sup>1\*</sup>, HU Yan<sup>2</sup>, JIANG Zhi-hao<sup>1</sup>, ZHANG Xin<sup>1</sup>,

LI Ying<sup>2</sup>, LUO Jing<sup>3</sup>, DENG Yi-jue<sup>1</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China;

**[收稿日期]** 20201213(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81774368,81674025);校级科研基金一般项目(2019XJJ051);湖南省研究生创新课题项目(2020CX16);湖南中医药大学中医学国内一流建设学科项目(4901-020000200207)

**[第一作者]** 丁伊,在读博士,从事中医药防治小儿肺系疾病,E-mail:799166993@qq.com

**[通信作者]** \*王孟清,博士,教授,从事中医药防治小儿肺系疾病,E-mail:wmqwmq2009@sina.com;

\*罗银河,博士,副教授,从事中医药防治小儿肺系疾病,E-mail:1286313109@qq.com

3. Shenzhen Shekou People's Hospital, Shenzhen 154100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the therapeutic mechanism of Wuhutang on respiratory syncytial virus (RSV)-induced asthma in mice and its influence on the expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in lung tissue. **Method:** One hundred female BALB/c mice of SPF grade were randomly divided into a normal group and an experimental group. After successful modeling via aerosol inhalation of RSV and ovalbumin (OAV), the mice in the experimental group were further randomized into the following seven groups: model, positive control (dexamethasone,  $1.82 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), STAT3 inhibitor (STATIC,  $3.75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), STAT3 inducer (colivelin,  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and low-, medium-, and high-dose ( $1.6$ ,  $3.2$ , and  $6.4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , respectively) Wuhutang groups. The corresponding drugs were administered for two weeks, followed by the detection of airway reactivity using a small animal ventilator, the pathological changes in lung tissue, mucus secretion by goblet cells and collagen deposition in airway were observed by hematoxylin-eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS) and Masson staining, the serum levels of interleukin-6 (IL-6), IL-10, and IL-17 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA expression levels of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA in lung tissue were detected by fluorescence-based real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR), autophagosomes present in lung tissue were examined by transmission electron microscopy, the protein expression levels of ATG5 and SQSTM1 in dendritic cells (DCs) and STAT3 and p-STAT3 in lung tissue were detected by Western blot. **Result:** The airway reactivity of the model group was enhanced in contrast to that in the normal group ( $P<0.01$ ), manifested as inflammatory cell infiltration around the lung tissue, excessive metaplasia of goblet cells, and extensive deposition of airway collagen, the expression levels of serum IL-6 and IL-17 were increased ( $P<0.01$ ), while that of IL-10 declined ( $P<0.01$ ), the mRNA expression levels of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA were elevated ( $P<0.01$ ), the number of autophagosomes in the lung tissue increased. The protein expression levels of ATG5, STAT3, and p-STAT were up-regulated, while that of SQSTM1 was down-regulated ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, Wuhutang and STATIC significantly reduced the airway hyperresponsiveness of asthmatic mice ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), alleviated RSV-induced pathological changes in lung tissue, reduced the contents of serum IL-6 and IL-17 ( $P<0.01$ ), increased serum IL-10 and ATG5 in DCs ( $P<0.01$ ), down-regulated the mRNA expression levels of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA as well as the protein expression levels of SQSTM1, STAT3 and p-STAT3 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and elevated the number of autophagosomes. **Conclusion:** Wuhutang relieves airway inflammation, improves airway remodeling and reduces airway hyperresponsiveness in RSV-induced asthmatic mice by inhibiting STAT3 protein and up-regulating DC autophagy in lung tissue.

**[Key words]** Wuhutang; asthma; respiratory syncytial virus; dendritic cells (DCs); autophagy; signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)

支气管哮喘是以慢性气道炎症、气道重塑及气道高反应性为主要病理特征的呼吸系统疾病。近年来,儿童哮喘已成为呼吸系统最常见的慢性疾病之一,并已成为全球公共卫生问题<sup>[1]</sup>。呼吸道合胞病毒(RSV)感染与儿童哮喘急性发作或加重有关<sup>[2]</sup>。目前,长期吸入皮质类固醇激素是儿童哮喘的主要治疗方法,虽可大大减轻患儿病情,但长期使用会引起激素抵抗或依赖,诱发相关并发症<sup>[3]</sup>。因此,寻找有效安全的药物成为临床研究者的关注热点。

自噬是为完成自身代谢及细胞器更新,利用溶酶体消耗受损的细胞器和大分子蛋白的过程<sup>[4]</sup>。自噬是哮喘发病机制中的关键调节剂,影响先天性免疫反应,促进程序性细胞死亡,同时也是人体免疫病毒侵袭的重要途径,在病原体感染期间,宿主细胞会通过自噬清除宿主病原体<sup>[5]</sup>,这提示自噬可能成为防治哮喘的新靶点。树突细胞(DC)作为目前已知功能最强的抗原递呈细胞,作用于哮喘的起始阶段。在人体感染RSV后,自噬可能通过对病毒复制,DC激活等病理生理过程的影响,在哮喘的发生

发展中发挥作用<sup>[6]</sup>。信号传导及转录激活因子3 (STAT3)可被上游生长因子激酶、细胞因子受体和非受体酪氨酸激酶等激活,具有多种生物学效应,包括调控细胞增殖、存活及凋亡<sup>[7]</sup>。体外T,B及DC分化成熟需要依赖STAT3的转导,从而提示STAT3在炎症反应和维持机体正常免疫反应中起重要作用<sup>[8]</sup>。STAT3通过转录信号通路调控自噬相关基因发挥抗自噬作用<sup>[9]</sup>。同时,STAT3蛋白的激活参与Th2和Th17细胞因子的产生,与哮喘的发生关系密切<sup>[10]</sup>。

传统古方五虎汤出自《幼科发挥》,防治哮喘历史悠久,该方由麻黄、杏仁、石膏、甘草、细茶叶等组成,具有清肺涤痰平喘作用。朱丹溪谓此方为“发散之剂,一服神效”(《医部全录·小儿嗽喘门》)。笔者前期临床研究已证实五虎汤能明显减少RSV毛细支气管炎发展成为典型哮喘<sup>[11]</sup>;实验研究已证明五虎汤改善RSV诱发哮喘小鼠发生发展的作用可能与其上调哮喘小鼠肺组织中DC自噬水平有关<sup>[12]</sup>,但其分子机制目前尚不明确,因此,本研究建立RSV复合鸡卵清蛋白(OVA)哮喘小鼠模型,旨在探讨五虎汤对RSV诱发哮喘小鼠模型的治疗作用及机制,为五虎汤治疗哮喘提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级雌性BALB/c小鼠100只,4~6周龄,体质量15~18 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物合格证号SCXK(湘)2019-0004。实验方案经湖南中医药大学第一附属医院动物实验伦理委员会批准,伦理审批号ZYFY20200712。

**1.2 药物** 五虎汤组成为麻黄(不去节)2.4 g,杏仁(去尖皮)6.0 g,生石膏9.0 g,生甘草2.4 g,细茶叶4.8 g,所有药材由湖南中医药大学第一附属医院张裕民教授鉴定合格。将所有药物混合加入5倍量的蒸馏水,先浸泡30 min,再回流提取40 min,滤净煎煮液后再加入5倍量蒸馏水,回流提取40 min,将2次煎液混匀,用旋转蒸发仪浓缩成 $2.46 \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,将药液按100 mL密封分装,保存于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱保存。

**1.3 试剂** RSV Long株及人喉癌上皮细胞(Hep-2),由武汉大学医学部病毒学研究所提供。地塞米松(美国Sigma公司,批号D1756);STAT3抑制剂(STATIC),STAT3诱导剂(colivelin)(美国MCE公司,批号分别为HY-13818, HY-P1061A);OVA,马松(Masson)和过碘酸希夫(PAS)染色液(北京Solarbio公司,批号分别为9006-59-1, G1285, G1243);氯化

乙酰胆碱(美国Selleck公司,批号2260-50-6);苏木素-伊红(HE)染色液(湖南Auragene公司,批号P032IH);白细胞介素-6(IL-6), IL-10, IL-17酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海晶天生物科技有限公司,批号分别为E20191109022, E20191109027, E20190713021); $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体,山羊抗兔二抗(美国Proteintech公司,批号分别为10253-2-AP, SA00001-2);自噬相关蛋白5(ATG5), Sequestosome 1 (SQSTM1), STAT3, 磷酸化(p)-STAT3抗体(美国Abcam公司,批号分别为ab108327, ab56416, ab119352, ab76315);trizol试剂(美国Ambion公司,批号15596026);逆转录试剂盒(美国Thermo公司,批号K1622);实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time PCR)试剂盒(上海近岸生物科技有限公司,批号PA0025)。

**1.4 仪器** S888E型超声雾化器(南京道芬电子有限公司);DHX-50型小动物呼吸机与WESTERN BLOTP型气道阻力和肺顺应性分析软件(美国Buxco公司);HT7700型透射电子显微镜(日立高新技术公司);12008007型台式离心机(金坛市大地自动化仪器厂);CFX型Real-time PCR仪(美国Bio-Rad公司);DYY-6C型电泳仪及DYCZ-40D型转膜仪(北京六一生物科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 造模及动物分组** SPF级雌性BALB/c小鼠100只,随机分20只为正常组,其余80只为模型组。参照前期文献制备模型<sup>[13]</sup>,实验前2 d,模型组每只小鼠鼻腔滴入RSV 0.05 mL和腹腔注射1%OVA 0.25 mL,正常组予以等容积Hep-2细胞滴鼻,同时皮下注射等体积生理盐水。自实验第9天起,将模型组小鼠放入自制不完全封闭的雾化吸入箱中予以1%OVA雾化30 min,正常组予同样体积生理盐水雾化,隔天1次,持续2周。雾化结束后,模型组小鼠呈现气短、喘息,腹肌紧张,甚至站立不稳而扑倒,提示造模成功,并从正常组和模型组小鼠中分别随机抽取10只进行气道反应性测定,见表1,观察到造模后小鼠气道反应性值显著高于正常组,提示造模成功。将正常组及造模成功后的小鼠按随机分成8组,每组10只,分别为正常组,模型组,五虎汤低、中、高剂量组,阳性药组(地塞米松),STAT3抑制剂组(STATIC),STAT3诱导剂组(colivelin)。

**2.2 给药** 根据课题组前期实验研究及参照《药理实验方法学》<sup>[14]</sup>换算小鼠用药量,拟定五虎汤高、中、低剂量组小鼠灌胃剂量分别为6.4, 3.2,

1.6 g·kg<sup>-1</sup>,并腹腔注射0.9%生理盐水10 mL·kg<sup>-1</sup>;地塞米松组腹腔注射地塞米松1.82 mg·kg<sup>-1</sup>,并灌胃等容积生理盐水;STAT3抑制剂组腹腔注射STAT3 3.75 mg·kg<sup>-1</sup>,并灌胃等容积生理盐水;STAT3诱导剂组腹腔注射colivelin 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>,并灌胃等容积生理盐水;正常组及模型组均灌胃并腹腔注射相同体积生理盐水,每日1次,连续给药2周。

**2.3 气道反应性测定** 小鼠末次给药后24 h,麻醉行气管插管后,把小鼠放入体描箱中,连接呼吸机,调整呼吸机参数,频率为75次/min,潮气量为8 mL·kg<sup>-1</sup>记录初始的气道压力、流速以及潮气量变化,待小鼠气道压力平稳后,雾化吸入0.1 mL不同质量分的乙酰胆碱0, 6.25, 12.5, 25, 50 μg·kg<sup>-1</sup>,每次吸入乙酰胆碱后,收集吸入后5 s~1 min的数据,并计算最大肺阻力(RL)。

**2.4 HE, PAS及Masson染色检测** 实验结束后取小鼠右肺组织浸入多聚甲醛中固定,常规石蜡包埋,切片,分别进行HE, PAS及Masson染色,各梯度脱水,透明切片滴上树胶,盖破片盖上并进行镜检,并拍照。

**2.5 ELISA检测小鼠血清中IL-6, IL-10, IL-17含量** 加样设置空白孔、阴性孔及阳性孔,置37℃温培60 min,洗涤。于各反应孔中,加入新鲜稀释的酶标抗体0.1 mL,37℃孵育30~60 min,洗涤。加入临时配制的TMB底物溶液0.1 mL显色,混匀,37℃避光显色10 min。加入2 mol·L<sup>-1</sup>硫酸0.05 mL,终止反应。使用酶标比色仪测定,将空白孔调零后于波长450 nm处,测量各孔吸光度,测定需在加终止液10 min内进行,最后计算出标准曲线的直线回归方程及对应的样品浓度。

**2.6 Real-time PCR检测TGF-β<sub>1</sub>和α-SMA mRNA表达** 采用trizol法提取肺组织总RNA,取测定样品的浓度1 μL,以20 μL体系将1 μg RNA反转录成cDNA,并以此为模板,设定程序为两步法Real-time PCR定量,预变性95℃10 min,之后每一步变性95℃15 s,60℃退火延伸60 s,共进行40次循环,每次在延伸阶段读取荧光值。通过观察溶解曲线和扩增曲线衡量结果,并以β-actin为内参,用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>方法来对结果进行分析。引物由长沙维世尔生物科技有限公司合成,见表1。

**2.7 透射电镜观察肺组织自噬体** 取肺组织,用2.5%戊二醛,0.22 mmol·L<sup>-1</sup>蔗糖的磷酸盐缓冲液(PBS)电镜固定4 h,使用0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS进行3次

表1 PCR引物序列

Table 1 Primer sequence for PCR

引物	序列(5'-3')	长度/bp
TGF-β <sub>1</sub>	上游 GCCTTTCCTGCTTCTCATGG	101
	下游 TCCTTGCGGAAGTCAATGTAC	
α-SMA	上游 CCGAGACATCAGGGAGTAATGG	143
	下游 TCTATCGGATACTTCAGCGTCA	
β-actin	上游 ACTGGAACGGTGAAGGTGACA	93
	下游 TCGCCACATTGCAGAACT	

漂洗,每次10~15 min,1%锇酸后稳固2 h,逐级乙醇脱水、环氧树脂包埋,30℃烘箱过夜,60℃烘箱内烘12 h,使用超薄切片机切片,厚度为50~100 nm,使用醋酸铀以及硝酸铅双染色后,采用透射电镜进行肺组织自噬体检查。

**2.8 磁珠分选法分离肺组织DC** 使用MACS小鼠肺脏解离盒中的Buffer S, Enzyme D和Enzyme A制备成混合酶悬液。通过右心室灌注肺脏以去除红细胞,将小鼠肺脏剪成小块,使用PBS冲洗肺叶,将肺叶加入混合酶悬液中,37℃摇床中孵育40 min,短暂离心后,重悬样本使用滤器过滤,收集细胞悬液,冲洗后弃去滤器,将细胞悬液300×g离心5 min,彻底弃去上清,重悬获得单细胞悬液,以300×g离心细胞悬浮液10 min,完全吸出上清液,每1×10<sup>8</sup>总细胞在400 μL缓冲液中重悬细胞沉淀。每1×10<sup>8</sup>总细胞加入CD11c MicroBeads UltraPure 100 μL。充分混合并在黑暗中于冰箱中(2~8℃)孵育10 min。每1×10<sup>8</sup>细胞加入缓冲液10 mL洗涤细胞,以300×g离心10 min后,完全吸出上清液,使用500 μL缓冲液重悬后备用。随后将色谱柱放在MACS分离器磁场中,用适量缓冲液冲洗液相色谱柱后,将细胞悬浮液注入柱中,待液体流净,用适量缓冲液洗涤柱子3次,从分离器中取出色谱柱并将其放在合适的收集管上。移取缓冲液5 mL到色谱柱中,并立即将柱塞牢固地推入柱中,冲洗磁性标记的细胞。使用新色谱柱重复上述磁分离步骤2次,获得DC。

**2.9 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测STAT3, p-STAT3, SQSTM1, ATG5蛋白表达** 在肺组织中提取总蛋白,BCA法进行蛋白定量,每组取50 μg的总蛋白,按1:4将SDS上样缓冲液加入,加热5 min后加入样本,进行电泳、转膜,封闭1 h,分别加入STAT3(1:2 000), p-STAT3(1:1 000), SQSTM1(1:1 000), ATG5兔抗多克隆抗体(1:1 000)和内参β-actin(1:5 000)孵育过夜, TBST进行洗涤3次,每

次 10 min, 加入二抗(1:6 000), 孵育 1 h, 再进行 TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min。扫描后用 Quantity One 灰度分析软件, 相应目的蛋白表达量指标为目的蛋白条带与内参  $\beta$ -actin 的比值。

**2.10 统计学分析** 应用 SPSS 20.0 进行数据统计分析, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 并进行正态分布检验, 若满足正态分布, 采用单因素方差分析进行任意两组均数的比较, 方差齐者采用 LSD 检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对哮喘小鼠气道反应性的影响** 与正常组比较, 随着乙酰胆碱浓度的增加, 模型组的 RL 值显著

上升( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 五虎汤中、高剂量组、地塞米松组及 STATTIC 组的小鼠 RL 值均显著降低( $P < 0.01$ ), colivelin 组与模型组比较差异无统计学意义。见表 2, 3。

表 2 两组小鼠气道高反应性比较 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Comparison of airway hyperresponsiveness in two groups of mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	RL/cmH <sub>2</sub> O/mL·s				
	0	6.25 mg·L <sup>-1</sup>	12.5 mg·L <sup>-1</sup>	25 mg·L <sup>-1</sup>	50 mg·L <sup>-1</sup>
正常	2.07±0.18	4.38±0.44	7.31±0.36	9.51±0.94	12.73±0.86
模型	2.33±0.20	11.96±1.45 <sup>1)</sup>	15.46±1.80 <sup>1)</sup>	21.27±1.24 <sup>1)</sup>	27.41±0.51 <sup>1)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ 。

表 3 五虎汤对不同浓度乙酰胆碱激发下的气道反应性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

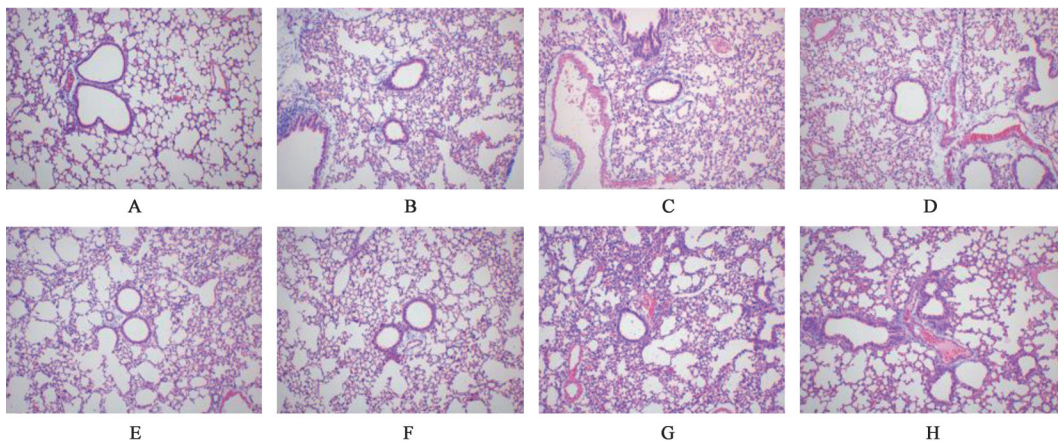
Table 3 Effect of Wuhutang on airway reactivity induced by different concentrations of acetylcholine ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	RL/cmH <sub>2</sub> O/mL·s				
		0	6.25 mg·L <sup>-1</sup>	12.5 mg·L <sup>-1</sup>	25 mg·L <sup>-1</sup>	50 mg·L <sup>-1</sup>
正常		1.14±0.12	1.41±0.03	1.62±0.02	1.81±0.01	3.30±0.26
模型		1.28±0.04	4.18±0.30 <sup>1)</sup>	5.23±0.21 <sup>1)</sup>	6.17±0.15 <sup>1)</sup>	9.15±0.16 <sup>1)</sup>
五虎汤	1.6	1.10±0.11	3.37±0.32 <sup>2)</sup>	3.62±0.02 <sup>3)</sup>	4.10±0.10 <sup>3)</sup>	5.38±0.49 <sup>3)</sup>
	3.2	1.12±0.12	2.43±0.11 <sup>3)</sup>	2.51±0.01 <sup>3)</sup>	3.16±0.14 <sup>3)</sup>	4.65±0.39 <sup>3)</sup>
	6.4	1.12±0.11	3.09±0.13 <sup>3)</sup>	3.60±0.48 <sup>3)</sup>	4.30±0.26 <sup>3)</sup>	5.13±0.15 <sup>3)</sup>
地塞米松	0.001 82	1.18±0.08	2.18±0.17 <sup>3)</sup>	2.70±0.05 <sup>3)</sup>	3.40±0.16 <sup>3)</sup>	4.23±0.25 <sup>3)</sup>
STATTIC	0.003 75	1.19±0.09	2.39±0.53 <sup>3)</sup>	2.87±0.21 <sup>3)</sup>	4.10±0.17 <sup>3)</sup>	5.51±0.37 <sup>3)</sup>
colivelin	0.001	1.24±0.05	4.23±0.25	4.93±0.90	5.63±0.55	9.07±0.06

注: 与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表 4~7 同)。

**3.2 对哮喘小鼠肺组织病理学形态的影响** 正常组小鼠支气管、血管形态规则, 无明显炎性细胞浸润; 模型组支气管管腔狭窄, 上皮细胞肿胀或脱落, 血管和支气管周围出现大量炎性细胞浸润, 上皮杯

状细胞明显增生, 气道增厚; 与模型组比较, 五虎汤低、中、高剂量组、地塞米松组和 STATTIC 组肺组织损伤情况及炎性细胞浸润情况均有改善, 以五虎汤中剂量组效果最佳。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C~E. 五虎汤低、中、高剂量组; F. 地塞米松组; G. STATTIC 组; H. colivelin 组(图 2~6 同)

图 1 五虎汤对哮喘小鼠肺组织形态的影响(HE, ×100)

Fig. 1 Effect of Wuhutang on lung tissue morphology of asthmatic mice(HE, ×100)

**3.3 对哮喘小鼠血清中 IL-6, IL-10, IL-17 含量的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清中 IL-6, IL-17 显著增加 ( $P<0.01$ ), IL-10 显著下降 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较,五虎汤各剂量组、地塞米松组和

STATTC 组 IL-6 和 IL-17 表达含量显著降低 ( $P<0.01$ ), IL-10 表达含量显著升高 ( $P<0.01$ ), colivelin 组对 IL-6, IL-10 和 IL-17 表达含量无明显统计学意义。见表 4。

表 4 五虎汤对小鼠血清中 IL-6, IL-10, IL-17 含量的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 4 Effect of Wuhutang on contents of IL-6, IL-10 and IL-17 in serum of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ ) ng·L<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-6	IL-10	IL-17
正常		15.14±0.67	56.73±2.50	22.95±1.84
模型		35.70±0.50 <sup>1)</sup>	32.99±1.57 <sup>1)</sup>	66.85±4.32 <sup>1)</sup>
五虎汤	1.6	27.61±0.71 <sup>3)</sup>	39.06±2.06 <sup>3)</sup>	53.40±1.12 <sup>3)</sup>
	3.2	20.41±0.72 <sup>3)</sup>	45.19±1.05 <sup>3)</sup>	35.78±2.16 <sup>3)</sup>
	6.4	25.26±0.36 <sup>3)</sup>	42.67±1.86 <sup>3)</sup>	42.07±0.88 <sup>3)</sup>
地塞米松	0.001 82	18.96±0.82 <sup>3)</sup>	38.31±0.58 <sup>3)</sup>	35.74±2.10 <sup>3)</sup>
STATTC	0.003 75	19.58±1.35 <sup>3)</sup>	39.50±1.28 <sup>3)</sup>	34.07±3.07 <sup>3)</sup>
colivelin	0.001	34.96±0.95	32.60±1.06	65.51±5.40

**3.4 对哮喘小鼠肺组织气道黏液储备和胶原沉积情况的影响** 与正常组比较,模型组小鼠出现气道杯状上皮细胞过度增生和广泛沉积;与模

型组比较,五虎汤及 STATTC 治疗可减轻哮喘小鼠气道黏液分泌和改善气道上皮细胞下胶原沉积情况,而 colivelin 组无明显改善。见图 2, 3。

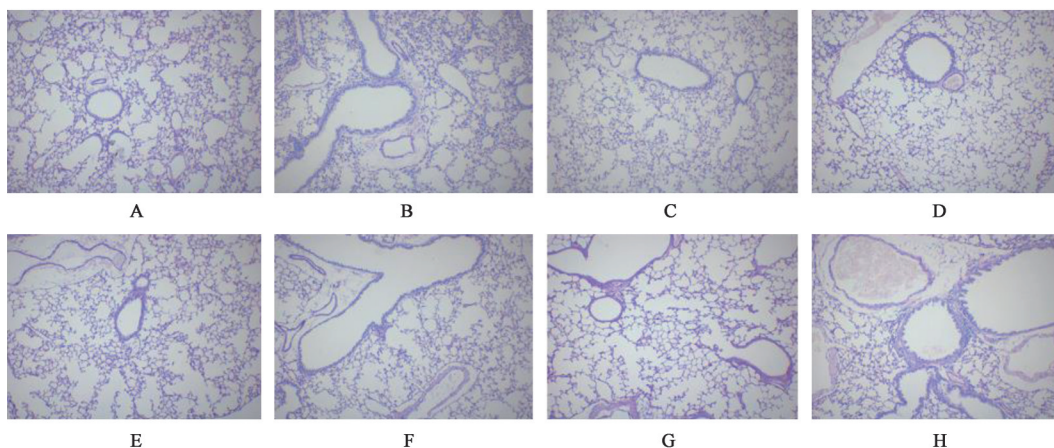


图 2 五虎汤对小鼠气道黏液储备情况的影响 (PAS, ×100)

Fig. 2 Effect of Wuhutang on airway mucus reserve in mice (PAS, ×100)

**3.5 对哮喘小鼠肺组织中 TGF-β<sub>1</sub>, α-SMA mRNA 表达水平的影响** 与正常组比较,模型组小鼠肺组织中 TGF-β<sub>1</sub>, α-SMA mRNA 表达水平显著上升 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较,经五虎汤、地塞米松、STATTC 治疗后,肺组织中 TGF-β<sub>1</sub>, α-SMA mRNA 表达显著降低 ( $P<0.01$ ), colivelin 组无明显统计学意义。见表 5。

则几乎无自噬小体。见图 4。

**3.6 对 RSV 诱导的哮喘小鼠 DC 自噬水平的影响** 正常组小鼠肺组织 DC 自噬小体数量较少,与正常组比较,模型组肺组织 DC 自噬小体数量明显增多;与模型组比较,五虎汤低、中、高剂量组和 STATTC 组肺组织 DC 自噬小体显著增加, colivelin

正常组肺组织 DC 中 ATG5, SQSTM1 自噬水平较低,与正常组比较,模型组 DC 中 ATG5 水平显著升高 ( $P<0.01$ ), SQSTM1 水平显著下降 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较,五虎汤低、中、高剂量组和 STATTC 组 ATG5 蛋白表达水平明显上升 ( $P<0.05, P<0.01$ ), SQSTM1 水平明显下降 ( $P<0.05, P<0.01$ ), 地塞米松组 ATG5, SQSTM1 水平无明显差异, colivelin 组 ATG5 水平显著下降 ( $P<0.01$ ), SQSTM1 水平显著上升 ( $P<0.01$ )。见图 5, 表 6。

**3.7 对哮喘小鼠肺组织中 STAT3 蛋白水平表达的影响** 与正常组比较,模型组小鼠肺组织中

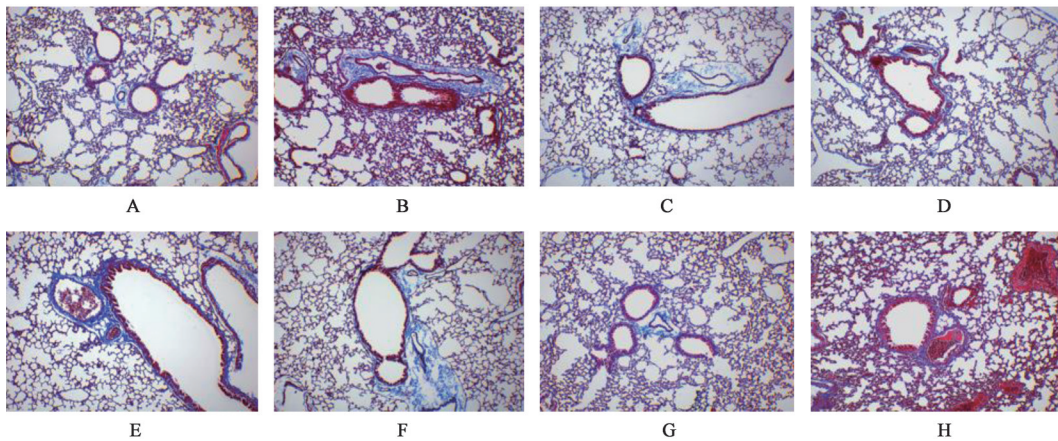


图3 五虎汤对气道胶原沉积情况的影响(Masson, ×100)

Fig. 3 Effect of Wuhutang on collagen deposition in airway(Masson, ×100)

表5 五虎汤对小鼠肺组织中TGF-β<sub>1</sub>, α-SMA mRNA表达含量的影响(̄x±s, n=10)

Table 5 Effect of Wuhutang on expression of TGF-β<sub>1</sub> and α-SMA mRNA in lung tissue of mice (̄x±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	TGF-β <sub>1</sub>	α-SMA
正常		2.32±0.68	1.10±0.05
模型		9.87±0.49 <sup>1)</sup>	3.49±0.04 <sup>1)</sup>
五虎汤	1.6	7.83±1.10 <sup>3)</sup>	2.77±0.20 <sup>3)</sup>
	3.2	4.80±0.59 <sup>3)</sup>	1.91±0.14 <sup>3)</sup>
	6.4	7.77±0.59 <sup>3)</sup>	2.53±0.10 <sup>3)</sup>
地塞米松	0.001 82	6.07±0.49 <sup>3)</sup>	1.86±0.15 <sup>3)</sup>
STATTC	0.003 75	5.70±1.07 <sup>3)</sup>	2.03±0.05 <sup>3)</sup>
colivelin	0.001	9.00±0.59	3.50±0.10

p-STAT3/STAT3表达水平显著上升( $P < 0.01$ );与模型组比较,五虎汤低、中、高剂量组、地塞米松组及STATTC组p-STAT3/STAT3表达水平显著下降( $P < 0.01$ ),colivelin组显著上升( $P < 0.01$ ),差异有显著统计学意义。见图6,表7。

#### 4 讨论

支气管哮喘是由多种细胞,包括炎性细胞、结构细胞及细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病<sup>[15]</sup>。慢性炎症导致气道高反应性,形成可逆性气流受限,引起反复喘息、呼吸急促、胸闷或咳嗽等症状<sup>[16]</sup>。治哮名方五虎汤临床疗效显著,方中麻黄为君药,宣肺气、平咳喘;杏仁,肃降兼宣发肺气,助麻黄止咳平喘,石膏降气平喘,清泻肺热,均为臣药;佐以细茶清肺化痰,健脾消食;甘草为使药,可补气健脾,祛痰止咳,调和诸药。故全方具有清泻肺热、止咳平喘之功,但目前现代药理机制尚不明确,故本研究采用RSV复合OVA雾化吸入的方法构建哮喘小鼠模型,观察五虎汤能否通过抑制STAT3蛋白上调DC自噬对RSV诱发哮喘小鼠产生干预作用。

本实验结果显示模型组小鼠气道反应性增高,肺组织血管及支气管周围炎性细胞浸润,证明造模成功。同时,五虎汤、地塞米松及STATTC均可降低哮喘小鼠气道高反应性,减轻肺组织损伤。Th17细胞可以促进T细胞的激活、刺激免疫细胞产生多

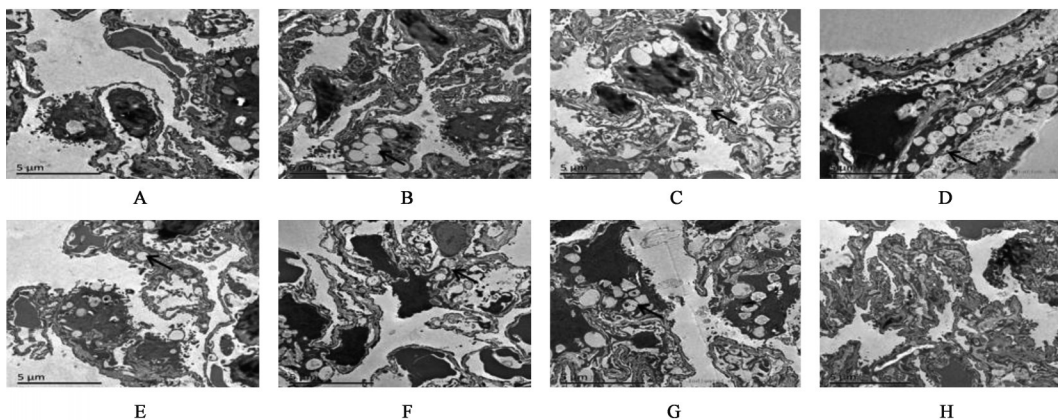


图4 五虎汤小鼠肺组织树突细胞自噬小体数量的影响(电镜扫描, ×2 000)

Fig. 4 Effect of Wuhutang on number of autophagy bodies in dendritic cells of lung tissue of mice (电镜扫描, ×2 000)

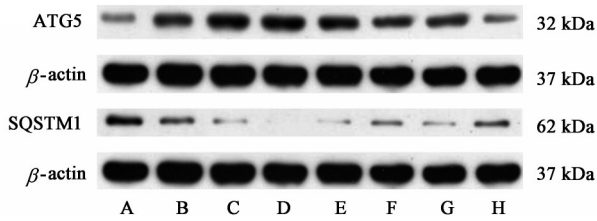


图5 各组小鼠肺组织DC中自噬相关ATG5, SQSTM1蛋白表达电泳

Fig. 5 Electrophoretic analysis of autophagy related ATG5 and SQSTM1 protein expression in lung DC of each groups mice

表6 五虎汤对小鼠肺组织中DC中自噬相关ATG5, SQSTM1蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 6 Effect of Wuhutang on expression of autophagy related ATG5 and SQSTM1 proteins in DC of mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	ATG5/ $\beta$ -actin	SQSTM1/ $\beta$ -actin
正常		0.10±0.03	0.39±0.01
模型		0.29±0.04 <sup>1)</sup>	0.26±0.04 <sup>1)</sup>
五虎汤	1.6	0.45±0.08 <sup>2)</sup>	0.19±0.01 <sup>2)</sup>
	3.2	0.65±0.06 <sup>3)</sup>	0.15±0.00 <sup>3)</sup>
	6.4	0.64±0.10 <sup>3)</sup>	0.16±0.00 <sup>3)</sup>
地塞米松	0.001 82	0.28±0.06	0.30±0.03
STATTC	0.003 75	0.59±0.04 <sup>3)</sup>	0.16±0.01 <sup>3)</sup>
colivelin	0.001	0.14±0.01 <sup>3)</sup>	0.48±0.10 <sup>3)</sup>

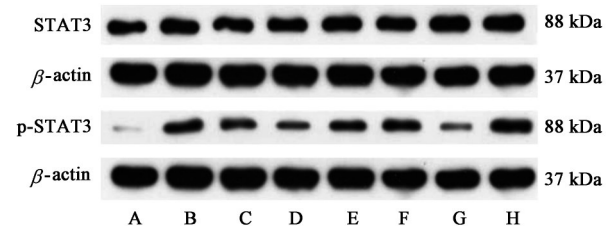


图6 各组小鼠肺组织中STAT3蛋白表达电泳

Fig. 6 Expression and electrophoresis of STAT3 protein in lung tissue of each groups mice

表7 五虎汤对小鼠肺组织中STAT3蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 7 Effect of Wuhutang on STAT3 protein expression in lung tissue of mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	STAT3 / $\beta$ -actin	p-STAT3 / $\beta$ -actin	p-STAT3 /STAT3
正常		0.36±0.03	0.13±0.00	0.36±0.03
模型		0.94±0.05 <sup>1)</sup>	0.49±0.01 <sup>1)</sup>	0.52±0.03 <sup>1)</sup>
五虎汤	1.6	0.66±0.03 <sup>3)</sup>	0.22±0.02 <sup>3)</sup>	0.34±0.02 <sup>3)</sup>
	3.2	0.51±0.06 <sup>3)</sup>	0.14±0.01 <sup>3)</sup>	0.27±0.04 <sup>3)</sup>
	6.4	0.64±0.06 <sup>3)</sup>	0.20±0.02 <sup>3)</sup>	0.31±0.06 <sup>3)</sup>
地塞米松	0.001 82	0.52±0.03 <sup>3)</sup>	0.19±0.01 <sup>3)</sup>	0.36±0.02 <sup>3)</sup>
STATTC	0.003 75	0.46±0.09 <sup>3)</sup>	0.14±0.01 <sup>3)</sup>	0.30±0.03 <sup>3)</sup>
colivelin	0.001	1.24±0.04 <sup>3)</sup>	0.97±0.04 <sup>3)</sup>	0.79±0.04 <sup>3)</sup>

种细胞因子, 标志性细胞因子IL-17和IL-6与哮喘的发生有关<sup>[17]</sup>。IL-10通过直接抑制炎症细胞活化和增殖、细胞因子分泌, 抑制T细胞应答和特异性IgE分泌从而抑制气道炎症<sup>[18]</sup>, 本研究显示五虎汤、STATTC显著降低IL-6和IL-17表达含量, 升高哮喘保护因子IL-10表达水平。反复气道炎症引起气道壁结构变化, 包括气道上皮细胞损伤脱落、杯状细胞化生、气道壁增厚等病理变化, 最终导致气道重塑<sup>[19]</sup>。TGF- $\beta$ 和 $\alpha$ -SMA是公认的致纤维化关键因子<sup>[20-21]</sup>, TGF- $\beta$ <sub>1</sub>可抑制上皮细胞增殖并诱导其凋亡和上皮间质转化<sup>[22]</sup>。 $\alpha$ -SMA促进胶原沉积、纤维化, 诱导肺成纤维细胞聚集导致细胞外基质过度沉积, 加速气道重塑的形成<sup>[23]</sup>。本研究发现经五虎汤、STATTC治疗后哮喘小鼠肺组织中TGF- $\beta$ <sub>1</sub>,  $\alpha$ -SMA mRNA水平下降, 提示五虎汤及STATTC可能通过调节肺组织中TGF- $\beta$ <sub>1</sub>及 $\alpha$ -SMA水平发挥治疗作用。以上研究结果均证明五虎汤, STATTC可以缓解RSV诱发哮喘小鼠气道炎症、气道重塑, 降低气道高反应性。

自噬调节病毒在宿主细胞中的复制与增殖, 支持病毒感染过程中抗原呈递细胞与T细胞之间的相互作用, 促进DC活化和成熟, 同时也是人体免受病毒侵袭的重要途径, 这种矛盾的生物学效应可能与被感染病毒的特异性有关, 也与人体自身所处的免疫微环境有关<sup>[24]</sup>。相关研究证明许多基因参与并调节了哮喘的发病机制, 包括一些自噬相关基因, 如ATG5, SQSTM1<sup>[25]</sup>。本实验中透射电镜和Western blot结果显示, RSV感染小鼠后肺组织DC中ATG5水平上升, SQSTM1水平下降, 提示DC自噬在RSV诱发哮喘小鼠中水平提高, 参与哮喘发生过程, 同时, 经五虎汤, STATTC灌胃治疗后, DC自噬水平进一步上升, 表明五虎汤及STATTC治疗RSV诱发哮喘机制可能与增强肺组织中DC自噬水平相关。

STAT3可被IL-10, IL-6等细胞因子介导, 是T细胞分化通路上的关键因子, 也是Th17细胞的基本调节者, 调节不同类型的炎症反应和免疫应答<sup>[26]</sup>。STAT3结合启动子, 转录启动靶基因, 依据胞内炎症基因编码蛋白质后释放至细胞外, 从而扩增炎症反应, 是哮喘炎症基因表达的基础, 在哮喘气道炎症及气道重塑中发挥重要作用<sup>[27]</sup>。在模型小鼠肺组织中STAT3, p-STAT3蛋白表达水平明显上升, 提示STAT3蛋白的过度表达和持续激活。GAVINO等<sup>[28]</sup>证明STAT3抑制剂可以通过阻断Th2和Th17淋巴

细胞的积聚和细胞因子的产生来阻止小鼠哮喘模型中气道炎症和重塑的发展,与本实验的研究结果一致。STAT3蛋白主要存在于细胞质中,在细胞质中发生自噬过程,STAT3抑制剂被鉴定为自噬的有效激活剂<sup>[9]</sup>。MELILLO等<sup>[29]</sup>证实了STAT3在DC中内在的负调节作用,可以抑制细胞因子的产生和气道炎症。本研究中五虎汤及STAT3抑制剂抑制了肺组织中STAT3的活化与磷酸化,促进了肺组织DC自噬,降低了气道高反应性,减轻了气道炎症和气道重塑,提示抑制STAT3表达可能是五虎汤调节DC自噬对RSV诱发哮喘治疗作用的重要靶点。

本研究成功建立了RSV诱导哮喘小鼠模型,本实验结果显示五虎汤降低气道反应性,减轻肺组织损伤,改善气道炎症,降低肺组织中 $\alpha$ -SMA和TGF- $\beta_1$ ,延缓气道重塑,可能与抑制STAT3蛋白从而负向调节DC自噬有关。但本实验尚有不足,针对五虎汤在哮喘小鼠的治疗作用机制尚浅,后续将继续从分子水平进一步对其进行深入研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] FEITOSA C A, SANTOS D N, barreto do carmo M B, et al. Behavior problems and prevalence of asthma symptoms among Brazilian children[J]. *J Psychosom Res*, 2011, 71(3): 160-165.
- [2] MIKHAIL I, GRAYSON M H. Asthma and viral infections: an intricate relationship[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2019, 123(4): 352-358.
- [3] MÉNARD S, JBILOU J, LAUZIER S. Family caregivers' reported nonadherence to the controller medication of asthma in children in Casablanca (Morocco): extent and associated factors[J]. *J Asthma*, 2018, 55(12): 1362-1372.
- [4] ZEKI A A, YEGANEH B, KENYON N J, et al. Autophagy in airway diseases: a new frontier in human asthma?[J]. *Allergy*, 2016, 71(1): 5-14.
- [5] LI B B, CHEN Y L, PANG F. MicroRNA-30a targets ATG5 and attenuates airway fibrosis in asthma by suppressing autophagy[J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 44-53.
- [6] MORRIS S, SWANSON M S, LIEBERMAN A, et al. Autophagy-mediated dendritic cell activation is essential for innate cytokine production and APC function with respiratory syncytial virus responses[J]. *J Immunol*, 2011, 187(8): 3953-3961.
- [7] SUBRAMANIAM A, SHANMUGAM M K, PERUMAL E, et al. Potential role of signal transducer and activator of transcription (STAT) 3 signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1835(1): 46-60.
- [8] HILLMER E J, ZHANG H, LI H S, et al. STAT3 signaling in immunity[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31(21): 1-15.
- [9] YOU L, WANG Z, LI H, et al. The role of STAT3 in autophagy[J]. *Autophagy*, 2015, 11(5): 729-739.
- [10] LIM H, CHO M, CHOI G, et al. Dynamic control of Th2 cell responses by STAT3 during allergic lung inflammation in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(2): 846-853.
- [11] 黄婷,王孟清,罗银河,等. 五虎汤对婴幼儿哮喘患儿外周血树突状细胞表面共刺激分子表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2009, 29(10): 889-891.
- [12] 周民. RSV诱导的树突状细胞自噬对哮喘小鼠炎症细胞因子的影响及五虎汤的干预作用[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2019.
- [13] 帅云飞,李鑫,王孟清,等. 五虎汤对病毒诱发幼年哮喘大鼠炎症细胞因子表达影响[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(1): 145-146.
- [14] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 1238.
- [15] HYLAND M E, LANARIO J W, POOLER J, et al. How patient participation was used to develop a questionnaire that is fit for purpose for assessing quality of life in severe asthma[J]. *Health Qual Life Outcomes*, 2018, 16(1): 24-33.
- [16] YAN W. Toward better management for asthma: from smart inhalers to injections to wearables, researchers are finding new ways to improve asthma treatment[J]. *IEEE Pulse*, 2018, 9(1): 28-33.
- [17] RAMAKRISHNAN R K, AL HEIALY S, HAMID Q. Role of IL-17 in asthma pathogenesis and its implications for the clinic[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2019, 13(11): 1057-1068.
- [18] BRANCHETT W J, STÖLTING H, OLIVER R A, et al. A T cell-myeloid IL-10 axis regulates pathogenic IFN- $\gamma$ -dependent immunity in a mouse model of type 2-low asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(2): 666-678.
- [19] BOULET L P. Airway remodeling in asthma: update on mechanisms and therapeutic approaches[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2018, 24(1): 56-62.
- [20] 林远灿,骆海莺,刘慧芳,等. 垂盆草总黄酮调控Smads通路抑制肝星状细胞活化的抗肝纤维化机制

- 研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 631-635.
- [21] 徐明杭, 蒙艳丽, 王晓溪, 等. 黄芩苷对肺纤维化小鼠组织中纤维化因子 TGF- $\beta$ 1 及 mmp2, timp2 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5738-5744.
- [22] CHEN S, HAN Y, CHEN H, et al. Bcl11b regulates IL-17 through the TGF- $\beta$ /Smad pathway in HDM-induced asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2018, 10(5): 543-554.
- [23] CHENG Z, WANG X, DAI L L, et al. Thymic stromal lymphopoietin signaling pathway inhibition attenuates airway inflammation and remodeling in rats with asthma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4): 1482-1496.
- [24] PAINTER J D, GALLE-TREGER L, AKBARI O. Role of autophagy in lung inflammation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11(21): 1337-1387.
- [25] SETO S, TSUJIMURA K, HORII T, et al. Autophagy adaptor protein p62/SQSTM1 and autophagy-related gene Atg5 mediate autophagosome formation in response to Mycobacterium tuberculosis infection in dendritic cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): 86017-86023.
- [26] KASEMBELI M M, BHARADWAJ U, ROBINSON P, et al. Contribution of STAT3 to inflammatory and fibrotic diseases and prospects for its targeting for treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 879-888.
- [27] ALMEIDA-OLIVEIRA A R, AQUINO-JUNIOR J, ABBASI A, et al. Effects of aerobic exercise on molecular aspects of asthma; involvement of SOCS-JAK-STAT [J]. *Exerc Immunol Rev*, 2019, 25(21): 50-62.
- [28] GAVINO A C, NAHMOD K, BHARADWAJ U, et al. STAT3 inhibition prevents lung inflammation, remodeling, and accumulation of Th2 and Th17 cells in a murine asthma model [J]. *Allergy*, 2016, 71(12): 1684-1692.
- [29] MELILLO J A, SONG L, BHAGAT G, et al. Dendritic cell (DC)-specific targeting reveals Stat3 as a negative regulator of DC function [J]. *J Immunol*, 2010, 184(5): 2638-2645.

[责任编辑 周冰冰]