

本文引文格式:王明月,王薇,王圣民,等.腹腔注射鸡卵白蛋白对小鼠呼吸道致敏模型的影响[J].右江民族医学院学报,2023,45(3):439-444.

【论著与临床报道】

## 腹腔注射鸡卵白蛋白对小鼠呼吸道致敏模型的影响

王明月,王薇,王圣民,金光弼

(延边大学医学院,吉林 延吉 133002)

**摘要:**目的 探讨腹腔注射鸡卵白蛋白(ovalbumin,OVA)及OVA联合免疫佐剂对小鼠呼吸道接触OVA引起的致敏作用的影响。方法 将BALB/c小鼠分为空白对照组、阴性对照组(腹腔注射生理盐水)、OVA组(腹腔注射OVA)、OVA+Al(OH)<sub>3</sub>组[腹腔注射OVA和Al(OH)<sub>3</sub>] ,每组8只。腹腔注射后第12天,除空白对照组,其余3组小鼠气管滴下OVA,连续3d,第15天用流式细胞仪测定肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage,BAL)和肺纵膈淋巴结(mediastinal lymph node,MLN)中的免疫细胞(CD45<sup>+</sup>细胞)数目,中性粒细胞(Gr1<sup>+</sup>细胞)、T细胞(CD3<sup>+</sup>细胞)、B细胞(CD19<sup>+</sup>细胞)以及CD4<sup>+</sup>T细胞中调节性T细胞(CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>细胞)的百分比。**结果** 与空白对照组相比,气管滴下OVA后,阴性对照组、OVA组和OVA+Al(OH)<sub>3</sub>组BAL中CD45<sup>+</sup>细胞数目、CD45<sup>+</sup>细胞中中性粒细胞和T细胞的百分比以及数目显著增高( $P < 0.05$ );同时MLN的T和B细胞数目显著增多,T细胞百分比显著降低而B细胞百分比显著升高,CD4<sup>+</sup>T细胞中调节性T细胞百分比显著降低( $P < 0.05$ )。与阴性对照组相比,腹腔注射OVA和OVA联合Al(OH)<sub>3</sub>降低了MLN中T细胞百分比而升高了B细胞百分比( $P < 0.05$ )。与单独腹腔注射OVA相比,腹腔注射OVA联合Al(OH)<sub>3</sub>增加了MLN的T和B细胞的数目( $P < 0.05$ )。**结论** 在呼吸道接触OVA引起的小鼠致敏模型中,腹腔注射OVA没有影响呼吸道的免疫细胞构成比和数目,但影响了肺纵膈淋巴结的T和B细胞的百分比,而OVA联合免疫佐剂比单独注射OVA更增加了T和B细胞数目。

**关键词:**鸡卵白蛋白;小鼠;免疫细胞;呼吸道致敏

中图分类号:R562.25

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2023)03-0439-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.03.012

### Effect of intraperitoneal injection of ovalbumin on mouse respiratory sensitization model

Wang Mingyue, Wang Wei, Wang Shengmin, Jin Guangbi

(School of Medicine, Yanbian University, Yanji 133002, Jilin, China)

**Abstract:** **Objective** This study aims to investigate the effects of intraperitoneal injection of ovalbumin (OVA) alone or in combination with an immune adjuvant on sensitization caused by respiratory exposure to OVA in mice. **Methods** BALB/c mice were divided into the following groups: blank control group, negative control group (intraperitoneal injection of normal saline), OVA group (intraperitoneal injection of OVA), and OVA+Al(OH)<sub>3</sub> group [intraperitoneal injection of OVA and Al(OH)<sub>3</sub>], with eight mice in each group. On the 12th day after intraperitoneal injection, except for the blank control group, mice in the other three groups were exposed to OVA via tracheal drops for 3 consecutive days. On the 15th day, flow cytometry was used to measure the number of immune cells (CD45<sup>+</sup> cells) in bronchoalveolar lavage (BAL) and mediastinal lymph nodes (MLN). The percentages of neutrophils (Gr1<sup>+</sup> cells), T cells (CD3<sup>+</sup> cells), B cells (CD19<sup>+</sup> cells), and regulatory T cells (CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> cells) in CD4<sup>+</sup>T cells were also determined. **Results** Compared with the

第一作者简介:王明月(1996-),女,在读硕士研究生,研究方向:免疫毒理学, E-mail:1596848252@qq.com

通讯作者简介:金光弼(1963-),男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:免疫毒理学, E-mail:gbjin@ybu.edu.cn

blank control group, the negative control group, OVA group, and OVA+Al(OH)<sub>3</sub> group showed a significant increase in the number of CD45<sup>+</sup> cells in BAL, as well as in the percentage and number of neutrophils and T cells within CD45<sup>+</sup> cells after tracheal exposure to OVA ( $P < 0.05$ ). Moreover, the MLN exhibited a significant increase in the number of T and B cells, a significant decrease in the percentage of T cells, a significant increase in the percentage of B cells, and a significant decrease in the percentage of regulatory T cells within CD4<sup>+</sup> T cells ( $P < 0.05$ ). Compared with the negative control group, intraperitoneal injection of OVA and OVA+Al(OH)<sub>3</sub> resulted in a decrease in the percentage of T cells and an increase in the percentage of B cells in MLN ( $P < 0.05$ ). Furthermore, intraperitoneal injection of OVA combined with Al(OH)<sub>3</sub> increased the number of T and B cells in MLN compared to intraperitoneal injection of OVA alone ( $P < 0.05$ ). **Conclusion**

In the mouse model of respiratory sensitization induced by OVA exposure, intraperitoneal injection of OVA does not affect the composition and number of immune cells in the respiratory tract but influences the percentages of T and B cells in the mediastinal lymph nodes. Moreover, OVA combined with an immune adjuvant increase the number of T and B cells compared to OVA alone.

**Key words:** ovalbumin; mice; immune cells; respiratory sensitization

呼吸道过敏性疾病是常见的慢性气道炎症性疾病,其发病与吸入致敏原如环境污染物、尘螨、花粉及真菌等密切相关。呼吸道过敏性疾病主要由 CD4<sup>+</sup> T 细胞向辅助型 T(helper, Th) 细胞 2 分化并产生细胞因子,引起细胞分化和募集<sup>[1]</sup>。如白细胞介素(interleukin, IL)-5 介导嗜酸性粒细胞向气道的募集;IL-4 主要刺激和活化 B 细胞,刺激 T 细胞增殖,增强肥大细胞、嗜碱性粒细胞中 IgE 受体的亲和力,从而促进抗原特异性 IgE 的产生;IL-13 主要引起气道上皮细胞高反应性、杯状细胞肥大增生以及激活巨噬细胞等<sup>[2-4]</sup>。此外, B 细胞、Th17 细胞和 Th1 细胞与上皮细胞一起作用,导致气道重塑、支气管高反应性、气道狭窄、水肿和粘液高分泌等特征性变化<sup>[5-8]</sup>。据报道呼吸道接触花粉引起嗜酸性粒细胞浸润、肥大细胞脱颗粒、细胞因子大量分泌等过敏反应<sup>[9]</sup>。尘螨致敏可引起呼吸道淋巴细胞增多, IgE 抗体水平升高, Th1/Th2 失衡<sup>[10]</sup>。

动物模型通常用来研究呼吸道过敏性疾病的病因、发病机制及致敏作用等,而鸡卵白蛋白(ovalbumin, OVA) 是目前动物模型中使用最广泛的致敏原。OVA 致敏方式较多,实验动物可经雾化吸入、气管滴下或鼻内滴入等方式多次接触 OVA,也可以先腹腔注射 OVA 引起系统性免疫反应后,再经呼吸道接触 OVA 引起呼吸道过敏反应<sup>[11]</sup>。为了增强 OVA 引起的系统性免疫反应,腹腔注射 OVA 可与免疫佐剂联合使用。在腹腔中,免疫佐剂吸附 OVA 抗原后,可增加抗原表面积,使抗原易于被巨噬细胞吞噬,增强免疫效果。氢氧化铝[Al(OH)<sub>3</sub>]是常用的免疫佐剂,提高抗原特异性 Th2 的免疫应答反应<sup>[12]</sup>。

为了探讨腹腔注射 OVA 及 OVA 联合免疫佐剂对小鼠呼吸道致敏模型的免疫学指标的影响,本研究

选用 BALB/c 小鼠,分别腹腔注射生理盐水、OVA 以及 OVA 联合 Al(OH)<sub>3</sub>,经一段时间后,气管滴下 OVA 建立小鼠呼吸道致敏模型,测定支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage, BAL) 和肺纵膈淋巴结(mediastinal lymph node, MLN) 中免疫细胞的变化,评价腹腔注射 OVA 以及 OVA 联合 Al(OH)<sub>3</sub> 对小鼠后期呼吸道致敏作用的影响,为小鼠致敏模型的建立提供参考。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物 选用 SPF 级雌性 6 周龄的 BALB/c 小鼠,购自延边大学动物实验中心[动物生产许可证号:SCXK(吉)2017-0003]。小鼠自由摄食饮水,12 h 明暗交替,适应 1 周以后进行实验。所有动物实验获得延边大学动物使用伦理委员会批准。

1.2 主要试剂与仪器 OVA(纯度≥98%)、Avertin 购自美国 Sigma 公司,免疫佐剂[含 40 mg/mL 氢氧化铝, Al(OH)<sub>3</sub>]购自美国 Thermo 公司,磷酸缓冲盐液(phosphate buffer saline, PBS)购自北京索莱宝科技有限公司,胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 Gibco 公司,BCA 蛋白试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。抗小鼠 CD16/CD32 抗体、藻红蛋白(phycoerythrin, PE) 和异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的计数微球(123count eBeads)、Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set, FITC、PE、PE-花青素(cyanine, Cy) 复合染料 5 (PECy5)、PECy7、别藻蓝素(allophycocyanin, APC)、APC-Cy7 等标记的抗小鼠 CD3、CD4、CD8、CD19、CD25、CD45、Gr1、Foxp3 单克隆抗体购自美国 eBioscience 公司。EPOCH12 全波长酶标仪(美国 BioTek 公司), FACSVerse 流式细胞仪(美国 BD 公司), FlowJo 软件(美国 Tree Star 公司), Prism 8 软件(美

国 GraphPad Software 公司)。

### 1.3 OVA 工作液与 OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 工作液的配制

将 OVA 溶于生理盐水中配制成 250 μg/mL OVA 工作液,用于腹腔注射。将 Al(OH)<sub>3</sub> 免疫佐剂按 2.56:1 体积比,缓慢加入到用生理盐水配制成的 347.5 μg/mL OVA 工作液中,利用磁棒混匀 30 min,配制成 OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 工作液,用于腹腔注射。用生理盐水配成 1% OVA 工作液,用于气管滴下。以上工作液均在无菌条件下配制,现配现用。

### 1.4 动物处理

小鼠按体重随机分成 4 组,即空白对照组、阴性对照组、OVA 组、OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 组,每组 8 只。空白对照组不做任何处理。阴性对照组腹腔注射 0.2 mL 生理盐水,OVA 组腹腔注射 0.2 mL OVA 工作液(每只 50 μg OVA),OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 组腹腔注射 0.2 mL OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 工作液[每只 50 μg OVA 和 2.25 mg Al(OH)<sub>3</sub>]。腹腔注射后第 12 天,阴性对照组、OVA 组、OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 组小鼠,经 Avertin 麻醉后,气管滴下 50 μL 的 1% OVA 工作液(每只 500 μg OVA),每日 1 次,连续 3 d。最后一次气管滴下 24 h 后,处死小鼠。

### 1.5 BAL 细胞悬浮液的制备

小鼠经 Avertin 麻醉后,用镊子剥离气管周围的组织,暴露气管。在气管中上部剪一小口,将导管插入气管中,缓慢注入 1 mL PBS,将获得的 BAL 经 70 μM nylon mesh 过滤至离心管中,取 50 μL 供细胞数目测定。剩余的细胞悬浮液以 1200 r/min 离心 5 min,上清液供蛋白浓度测定。剩余细胞中加入 ACK 裂解液(1 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠,10 mmol/L 碳酸氢钠,0.15 mol/L 氯化铵)裂解红细胞,离心后悬浮在 PBS/FBS(含 2.5% FBS 的 PBS 工作液)中,供细胞染色。

### 1.6 MLN 细胞悬浮液的制备

取出 MLN,转移到含 PBS/FBS 的平皿中,用载玻片磨砂边缘研磨 MLN,制备成单个细胞悬浮液,经 70 μM nylon mesh 过滤至离心管中。取 50 μL 供细胞数目测定。离心剩余的细胞悬浮液,弃上清,加入 ACK 裂解液裂解红细胞,离心后悬浮于 PBS/FBS 中,供细胞染色。

### 1.7 细胞数目测定

将 50 μL 含有已知浓度的 FITC 和 PE 标记的计数微球和抗小鼠 CD45-PE 抗体的工作液加入到 50 μL 细胞悬浮液中,4 °C 反应 20 min 后,用流式细胞仪测定。用 FlowJo 软件得出被测定的 CD45<sup>+</sup> 细胞和计数微球数目,按以下公式计算出细胞浓度,结合细胞悬浮液体积计算出 BAL 和 MLN 的细胞数目。计算公式如下:

细胞浓度 = CD45<sup>+</sup> 细胞数目 ÷ 计数微球数目 × 计数微球浓度

### 1.8 流式细胞仪

#### 1.8.1 BAL 细胞染色

离心已制备好的 BAL 细胞悬浮液,弃掉上清液,加入抗小鼠 CD16/CD32 抗体(fcblocking),4 °C 反应 15 min。再加入抗小鼠 CD3-FITC、CD19-APC、CD45-PE、Gr1-PECy7 抗体,4 °C 避光反应 20 min,用 PBS/FBS 洗涤细胞,用流式细胞仪测定。

#### 1.8.2 MLN 细胞染色

离心已制备好的 MLN 细胞悬浮液,弃掉上清液,加入抗小鼠 CD16/CD32 抗体,4 °C 反应 15 min。再加入抗小鼠 CD3-PECy5、CD4-FITC、CD8-PECy7、CD19-APCCy7、CD25-APC 抗体,4 °C 避光反应 20 min。在细胞表面染色后,离心弃上清,加入 Fixation/Permeabilization 工作液,4 °C 反应 12 h。离心弃上清,用 Permeabilization Buffer 洗涤细胞,加入抗小鼠 Foxp3-PE 抗体,4 °C 反应 45 min,洗涤细胞,用流式细胞仪测定。用 FlowJo 软件结合荧光减一(fluorescence minus one, FMO)对照方法进行结果分析。

### 1.9 BAL 蛋白质浓度测定

按照蛋白试剂盒的操作步骤测定,将标准品、待测样品加入到 96 孔板中,空白孔中加入 PBS,每个样品设置重复孔。再加入 BCA 工作液,在 37 °C 中反应 30 min,用酶标仪于 562 nm 处测定吸光值,根据标准曲线计算出各个样品的蛋白浓度。

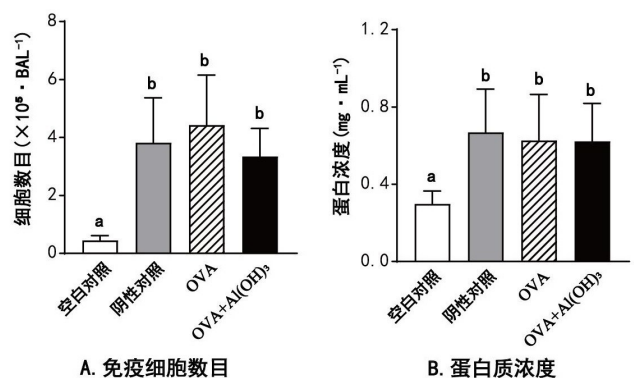
### 1.10 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。实验结果均以( $\bar{x} \pm s$ )表示( $n=8$ )。多组间比较采用单因素方差分析后用 Tukey's 检验进行多组间两两比较。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠 BAL 中免疫细胞数目及蛋白质浓度

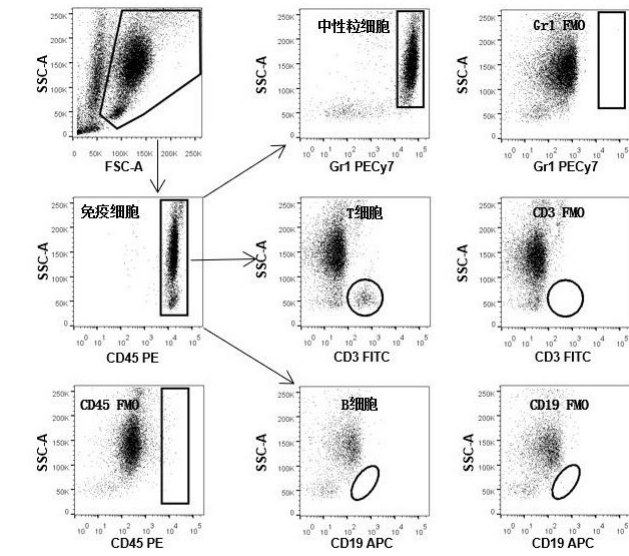
如图 1 所示,与空白对照组比较,气管滴下 OVA 后,阴性对照组、OVA 组和 OVA+Al(OH)<sub>3</sub> 组小鼠 BAL 免疫细胞数目和蛋白浓度显著升高( $P < 0.05$ ),但三组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。



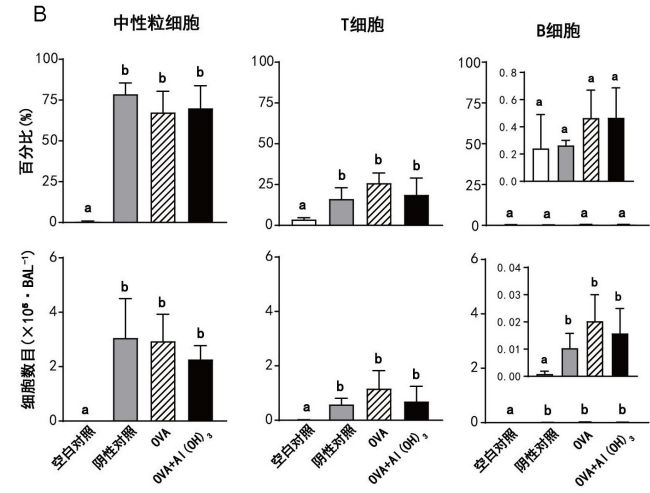
注:a、b. 两组之间标有不同字母表示具有统计学差异( $P < 0.05$ ),  $n=8$ 。

图 1 小鼠 BAL 中免疫细胞数目及蛋白质浓度

2.2 小鼠 BAL 免疫细胞中性粒细胞、T 和 B 细胞的百分比及数目 BAL 中 CD45<sup>+</sup> 细胞定义为免疫细胞,Gr1<sup>+</sup> 细胞定义为中性粒细胞<sup>[13]</sup>,CD3<sup>+</sup> 细胞定义为 T 细胞,CD19<sup>+</sup> 细胞定义为 B 细胞(见图 2A)。正常小鼠 BAL 中只有极其微量的中性粒细胞、T 和 B 细胞(见图 2B)。气管滴下 OVA 后,BAL 中有大量中性粒细胞(约 75%)和少量 T 细胞(约 20%)的募集,但阴性对照组、OVA 组和 OVA + Al(OH)<sub>3</sub> 组之间 BAL 的中性粒细胞和 T 细胞的百分比及数目差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。气管滴下 OVA 没有影响 B 细胞百分比( $P > 0.05$ ),只引起 B 细胞数目的微量增加( $P < 0.05$ )。



A. 免疫细胞分析方法

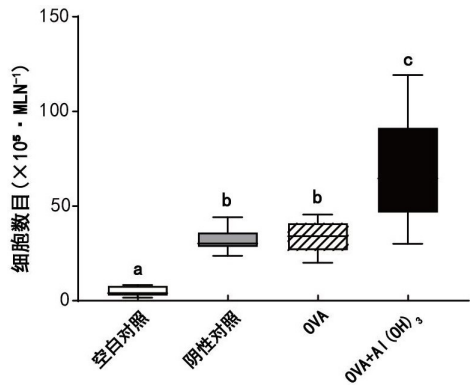


注:a,b. 两组之间标有不同字母表示具有统计学差异( $P < 0.05$ ),  $n = 8$ 。

图 2 小鼠 BAL 免疫细胞中性粒细胞、T 和 B 细胞的百分比及数目

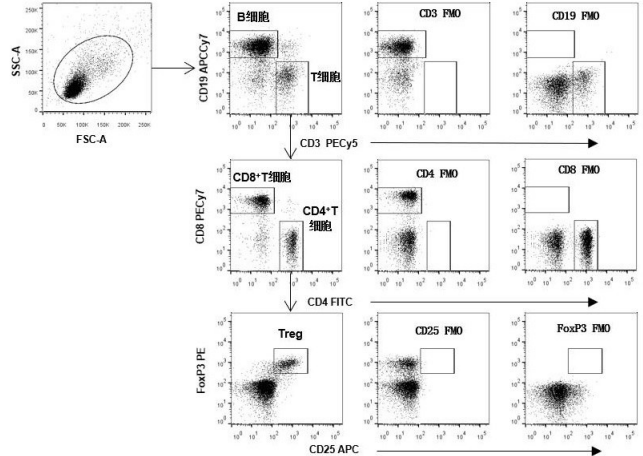
2.3 小鼠 MLN 中免疫细胞构成比和数目 气管滴下 OVA 引起小鼠 MLN 中免疫细胞数目的大量增加

(约 8 倍左右),而腹腔注射 OVA 没有影响 MLN 的细胞数目( $P > 0.05$ ),但是 OVA 联合 Al(OH)<sub>3</sub> 比单独腹腔注射 OVA 显著地增加 MLN 的细胞数目( $P < 0.05$ ),见图 3。另外,本实验探讨了不同处理对小鼠 MLN 中 T 细胞、B 细胞以及 CD4<sup>+</sup> T 细胞中调节性 T 细胞(CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> 细胞, T Regulatory Cell, Treg)百分比的影响(见图 4A)。与空白对照组相比,气管滴下 OVA(阴性对照组)显著地降低 MLN 中 T 细胞百分比而升高 B 细胞百分比( $P < 0.05$ )。与阴性对照组相比,腹腔注射 OVA 或 OVA 联合 Al(OH)<sub>3</sub> 更降低了 MLN 中 T 细胞百分比而升高 B 细胞百分比( $P < 0.05$ ),但两组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。T 和 B 细胞数目的变化与 MLN 细胞数目的变化一致。气管滴下 OVA 后,阴性对照组、OVA 组和 OVA + Al(OH)<sub>3</sub> 组小鼠 MLN 中 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 Treg 细胞百分比显著降低( $P < 0.05$ ),但三组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 5。

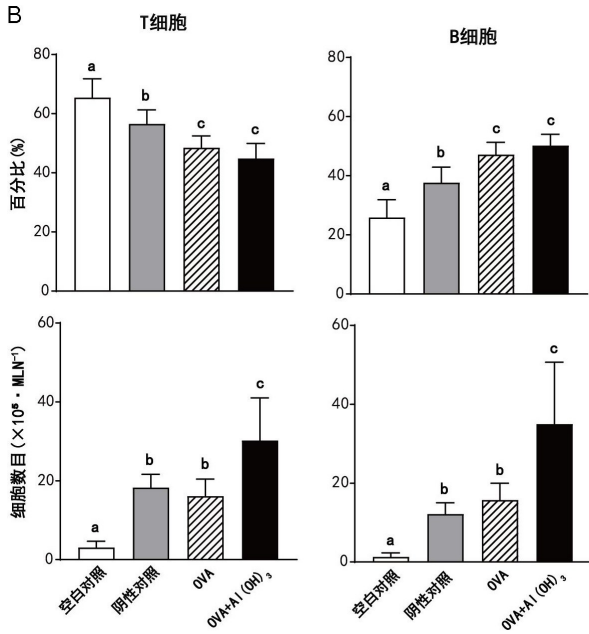


注:a,b,c. 两组之间标有不同字母表示具有统计学差异( $P < 0.05$ ),  $n = 8$ 。

图 3 小鼠 MLN 中免疫细胞数目

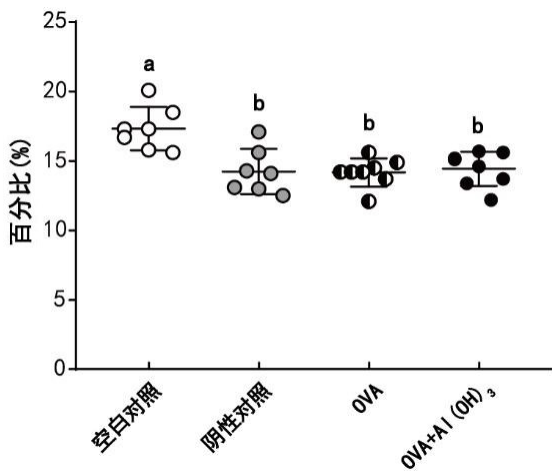


A. 细胞分析方法



注:a,b,c:两组之间标有不同字母表示具有统计学差异( $P < 0.05$ ),  $n = 8$ 。

图 4 小鼠 MLN 中 T 和 B 细胞百分比及数目



注:a,b:两组之间标有不同字母表示具有统计学差异( $P < 0.05$ ),  $n = 8$ 。

图 5 小鼠 MLN CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Treg 细胞百分比

### 3 讨论

呼吸道过敏性疾病是一种由中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、树突状细胞及支气管上皮细胞和各种体液因子等多细胞多成分参与的异质性疾病<sup>[2,14]</sup>。研究显示呼吸道接触 OVA 致敏后引起肺内淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的募集以及相关的细胞因子如 IL-17、IL-13 和 IL-33 等的释放<sup>[4,15-16]</sup>。本研究也发现气管滴下 OVA 引起小鼠 BAL 中大量中性粒细胞和少量 T 细胞的募集;同时还发现小鼠 BAL 中蛋白质含量明显升高,表明气管滴下 OVA 促进免疫细胞的募集及炎性因子的释放<sup>[6]</sup>。另外,腹腔注射 OVA 或 OVA 联合 Al(OH)<sub>3</sub> 所引起的系统性免疫反

应没有影响气管滴下 OVA 诱导的局部呼吸道致敏所引起的细胞募集效应。

MLN 是肺局部主要的引流淋巴结,也是肺部重要的免疫应答场所。呼吸道受到抗原刺激后,呼吸道以及肺间质中的树突状细胞吞噬抗原并被激活,随后转移到 MLN 中激活初始型的 T 和 B 细胞,刺激 T 和 B 细胞增殖分化并参与免疫调节过程<sup>[17-19]</sup>。据报道 Th1/Th2 失衡导致呼吸道过敏性疾病的发生;Th1 细胞主要参与细胞免疫反应,Th2 细胞主要参与特异性体液免疫。当 Th1/Th2 在体内处于动态平衡时,免疫系统处于相对平衡状态<sup>[5]</sup>。而呼吸道接触 OVA 引起小鼠 MLN 中细胞数目增加,T 细胞百分比降低和 B 细胞百分比升高,从而破坏了平衡<sup>[20]</sup>。本研究中,气管滴下 OVA 也引起小鼠 MLN 中 T 和 B 细胞数目明显增多,T 和 B 细胞百分比呈反方向变化,提示气管滴下 OVA 引起的免疫反应中,B 细胞的增殖活化高于 T 细胞。腹腔注射 OVA 进一步降低了 T 细胞的百分比而升高了 B 细胞的百分比,推测腹腔注射 OVA 引起系统性免疫反应,激活体内的 T 和 B 细胞,当呼吸道再次接触 OVA 时,T 和 B 细胞在 MLN 中更快地增殖。腹腔注射 OVA 联合 Al(OH)<sub>3</sub> 比单独注射 OVA 更增加了 T 和 B 细胞数目,与免疫佐剂 Al(OH)<sub>3</sub> 增强了 OVA 的抗原性有关<sup>[21]</sup>。

研究发现导致呼吸道过敏性疾病的发生还存在另一种平衡,即 Th17/Treg 平衡<sup>[22]</sup>。Th17 细胞引起的炎症与哮喘的进展有关<sup>[23]</sup>。而 Treg 是一类重要的辅助性 T 细胞,对控制呼吸道过敏性疾病起着非常重要的作用<sup>[24-25]</sup>。这种平衡被打破会影响呼吸道过敏性疾病的发生和发展。与其他文献报道一致<sup>[7,26]</sup>,气管滴下 OVA 下调了 MLN CD4<sup>+</sup>T 细胞中 Treg 细胞的百分比,可能与 CD4<sup>+</sup>T 细胞的增殖活化有关<sup>[27]</sup>。

总之,本研究的结果表明,在呼吸道接触 OVA 引起的小鼠致敏模型中,腹腔注射 OVA 没有影响呼吸道的免疫细胞构成比和数目,但影响了 MLN 中 T 和 B 细胞的百分比,而 OVA 联合免疫佐剂 Al(OH)<sub>3</sub> 比单独注射 OVA 更增加了 T 和 B 细胞数目。

### 参考文献:

- [1] LIN C C, CHUANG K C, CHEN S W, et al. Lactoferrin ameliorates ovalbumin-induced asthma in mice through reducing dendritic-cell-derived Th2 cell responses[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(22): 14185.
- [2] 姚力夫, 陈虹, 高颖, 等. 不同致敏方法对小鼠哮喘模型建立的影响[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2016, 25(2): 97-100, 169.
- [3] LEE S H, KIM J H, SEONG Y, et al. Intranasal administration of nucleus-deliverable GATA3-TMD alleviates the

- symptoms of allergic asthma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 640: 32-39.
- [4] 侯从岭, 芦晓帆, 雷小婷, 等. 川贝母对卵清蛋白致敏哮喘小鼠的作用及其机制[J]. *解放军医学杂志*, 2022, 47(8): 789-794.
- [5] OLIVERI F, BASLER M, RAO TN, et al. Immunoproteasome inhibition reduces the T helper 2 response in mouse models of allergic airway inflammation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 870720.
- [6] PARK J W, CHOI J, LEE J, et al. Methyl p-coumarate ameliorates the inflammatory response in activated-airway epithelial cells and mice with allergic asthma[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 14909.
- [7] 喻强强, 余涛, 孙朋, 等. 益气温阳护卫汤对哮喘大鼠 Th17/Treg 细胞及细胞因子的影响[J]. *时珍国医国药*, 2021, 32(10): 2344-2348.
- [8] 窦王玉, 蓝凤齐, 郭建宏, 等. 木姜子和忍冬藤配伍醇提物影响哮喘小鼠 ASMC 增殖与气道重塑的效果[J]. *右江民族医学院学报*, 2021, 43(3): 310-313, 343.
- [9] 杨琼梁, 袁佳敏, 黄星雨, 等. 杨树花粉过敏 BALB/c 小鼠动物模型的建立[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(4): 554-557.
- [10] 张影, 徐颖华, 江霞云, 等. 屋尘螨致敏小鼠鼻炎模型建立及其免疫学评价[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2021, 15(6): 608-617.
- [11] 胡婕, 邹文静, 王韵婷, 等. 经口气管插管激发和雾化激发建立哮喘小鼠模型比较[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2021, 39(1): 65-70, 75.
- [12] 陈叶, 贺守第, 胡智立, 等. 香菇多糖对卵白蛋白诱导小鼠哮喘模型树突细胞 TIM4 表达及炎症影响[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2018, 23(9): 998-1002.
- [13] DAUBEUF F, BECKER J, AGUILAR-PIMENTEL J A, et al. A fast, easy, and customizable eight-color flow cytometric method for analysis of the cellular content of bronchoalveolar lavage fluid in the mouse[J]. *Curr Protoc Mouse Biol*, 2017, 7(2): 88-99.
- [14] 徐文鑫, 梅序桥. 支气管哮喘患者外周血 Th17 细胞及相关趋化因子表达水平检测[J]. *右江民族医学院学报*, 2015, 37(4): 533-535.
- [15] 刘晓微, 蒋敏, 农光民, 等. 中性粒细胞性支气管哮喘小鼠模型的建立及其气道高反应规律的研究[J]. *中华哮喘杂志(电子版)*, 2013, 7(3): 1-5.
- [16] SHIN H S, CHUN H R, NA H Y, et al. Distinct effects of different adjuvants in the mouse model of allergic airway inflammation[J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2022, 40(2): 111-120.
- [17] LU M P, XU C Y, ZHANG Q, et al. Inhibition of p21-activated kinase 1 attenuates the cardinal features of asthma through suppressing the lymph node homing of dendritic cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 154: 464-473.
- [18] JIN G B, MOORE A J, HEAD J L, et al. Aryl hydrocarbon receptor activation reduces dendritic cell function during influenza virus infection[J]. *Toxicol Sci*, 2010, 116(2): 514-522.
- [19] JIN G B, WINANS B, MARTIN K C, et al. New insights into the role of the aryl hydrocarbon receptor in the function of CD11c<sup>+</sup> cells during respiratory viral infection[J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(6): 1685-1698.
- [20] OLIVEIRAE E D, SILVA FMDCE, AYUPE M C, et al. Obesity affects peripheral lymphoid organs immune response in murine asthma model[J]. *Immunology*, 2019, 157(3): 268-279.
- [21] 李美容, 王敏. 哮喘小鼠模型的建立与评价[J]. *临床肺科杂志*, 2011, 16(5): 664-665.
- [22] CHEN L, HOU W W, LIU F, et al. Blockade of NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$  regulated Th17/Treg immune imbalance and attenuated the neutrophilic airway inflammation in an ovalbumin-induced murine model of asthma[J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 9444227.
- [23] ZHOU Y M, ZHAO H H, WANG T S, et al. Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of TMDCT decoction in eosinophilic asthma through Treg/Th17 balance[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 819728.
- [24] 钟玲, 李海. 针刺对哮喘小鼠 Th17/Treg 调节作用的疗效观察[J]. *中医临床研究*, 2019, 11(16): 4-8.
- [25] THORBURN A N, BROWN A C, NAIR P M, et al. Pneumococcal components induce regulatory T cells that attenuate the development of allergic airways disease by deviating and suppressing the immune response to allergen[J]. *J Immunol*, 2013, 191(8): 4112-4120.
- [26] BLANQUICETH Y, RODRÍGUEZ-PEREA A L, TABARES GUEVARA J H, et al. Increase of frequency and modulation of phenotype of regulatory T cells by atorvastatin is associated with decreased lung inflammatory cell infiltration in a murine model of acute allergic asthma[J]. *Front Immunol*, 2016, 21(7): 620.
- [27] MAŚLANKA T, OTROCKA-DOMAGAŁA I, ZUŚKA-PROT M, et al. Beneficial effects of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonist, in a mouse allergic asthma model is not associated with the recruitment or generation of Foxp3-expressing CD4<sup>+</sup> regulatory T cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 848: 30-38.

收稿日期: 2022-12-07; 修回日期: 2023-01-22