

吸入脂多糖对哮喘小鼠气道炎症和气道黏液分泌的影响

谯明¹, 张建勇^{2△}

1. 四川省仁寿县人民医院 ICU (仁寿 620500); 2. 遵义医学院附属医院 呼吸二科 (遵义 563003)

【摘要】 目的 观察哮喘小鼠吸入脂多糖 (LPS, 作为刺激原) 其气道炎症和气道黏液分泌的变化。方法 30 只清洁级 BALB/c 小鼠随机分为哮喘组 (AST 组)、LPS 哮喘组 (LAS 组) 和正常组 (NS 组), 每组 10 只。哮喘组用卵清白蛋白 (OVA) 致敏和激发制作哮喘模型, LPS 哮喘组在哮喘模型的基础上加上 LPS (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 雾化吸入 30 min, 正常组用生理盐水代替 OVA。检测各组小鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 细胞总数和细胞分类计数, 采用 ELISA 检测 BALF 中的白细胞介素 4 (IL-4) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平, HE 染色观察肺部病理学改变, 用阿尔辛蓝-过碘酸雪夫 (AB-PAS) 染色气道杯状细胞, 免疫组织化学法检测肺组织中黏蛋白 5ac (Muc5ac) 的表达, 荧光定量 RT-PCR 检测 *Muc5ac* mRNA 在肺内的表达。并分析 Muc5ac 蛋白表达与各指标的相关性。结果 AST 及 LAS 组小鼠较 NS 组在 BALF 中的细胞总数、嗜酸性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞百分比, IL-4 和 TNF- α 水平、肺组织 AB-PAS 阳染面积, Muc5ac 蛋白和 mRNA 表达明显升高, 其差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。LAS 组较 AST 组上述气道炎症 (除单核细胞数外) 和气道黏液高分泌指标明显增高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。气道 Muc5ac 蛋白表达与 BALF 中细胞总数、嗜酸性粒细胞数、IL-4、TNF- α 水平、气道 AB-PAS 染色阳性着色面积均呈正相关 (P 均 < 0.05)。结论 OVA 致敏和激发的哮喘小鼠出现以嗜酸性粒细胞、淋巴细胞浸润为主的气道炎症及杯状细胞增生的气道黏液高分泌, 且气道炎症和气道黏液高分泌关系密切。LPS 可使气道炎症和气道黏液高分泌加重, 可能与 LPS 激发了体内炎症介质的生成、活化有关。

【关键词】 哮喘 小鼠 黏蛋白 5ac (Muc5ac) 卵清白蛋白

Effects of Inhaled LPS on Inflammation and Mucus Hypersecretion in the Airway of Asthmatic Mice QIAO Ming¹, ZHANG Jian-yong^{2△}. 1. Department of ICU, Sichuan Renshou People's Hospital, Renshou 620500, China; 2. Department of Respiratory Division Two, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China
△ Corresponding author, E-mail: zhangjianyong67@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of LPS on inflammation and mucus hypersecretion in the airway of asthmatic mice. **Methods** Thirty clean BALB/c mice were randomly divided into three groups: asthmatic model group (AST group, $n=10$), LPS+asthmatic group (LAS group, $n=10$), control group (NS group, $n=10$). Mice in the asthmatic model group were sensitized and challenged with ovalbumin (OVA). Mice in the LPS group were not only sensitized and challenged with OVA but also inhaled LPS. Mice in the control group were sensitized and challenged with normal sodium. Total cells and differential inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were counted. The levels of IL-4 and TNF- α in BALF were determined by ELISA. Pathomorphological changes in the lungs were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Goblet cells of the airway walls were observed by AB-PAS staining. The expression of Mucin-5ac (Muc5ac) in airway were determined by immunohistochemical staining. The expressions of *Muc5ac* mRNA in lung tissues were determined by real time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase (real time-PCR). **Results** Mice in the LAS and AST groups had more total cells and eosinophil, monocytes and lymphocyte cells in BALF, higher levels of IL-4 and TNF- α in BALF, greater hyperplasia of goblet cells in the airway walls, and higher levels of expression of Muc5ac in lung tissues than those in the control group ($P < 0.05$). Mice in the LAS group had higher levels of airway inflammation and airway mucus hypersecretion in lung tissues than those in the AST group ($P < 0.05$). **Conclusion** OVA stimulates lymphocyte and eosinophil cells in the airway inflammation of asthmatic mice. Goblet cell metaplasia and airway mucus hypersecretion are obvious in asthmatic mice. Higher levels of airway inflammation and mucus hypersecretion in lung tissues can be found in mice inhaled LAS compared with those in the AST group. LAS may stimulate inflammatory mediators.

【Key words】 Asthma Mice Muscin-5ac (Muc5ac) Ovalbumin

哮喘的发生是由遗传因素与环境因素相互作用的结果, 环境因素对哮喘的发生发展起关键性作

用^[1]。呼吸道感染、过敏物质等各种易感因素均能使哮喘患者的各种炎症细胞生成和释放增加,引起气道炎症以及气道上皮细胞、黏液分泌细胞(主要是杯状细胞)的增生,从而引起气道黏液分泌过多^[2]。正常呼吸道的黏液由水分、黏蛋白和无机盐等组成,其中黏蛋白是主要成分,主要由气道杯状细胞和黏液腺所分泌,而黏蛋白 5ac (Muc5ac)则是气道最主要的黏蛋白,Muc5ac 增高被认为是杯状细胞化生的标志^[3]。气道内持续的黏液过度分泌,会引起和加重呼吸道气流阻塞,导致一秒用力呼气容积(FEV1)下降,成为致死性哮喘的主要原因^[4]。但哮喘气道慢性炎症和黏液高分泌的关系和具体机制尚不完全清楚。

本研究拟通过卵清蛋白(OVA)致敏和激发制备哮喘小鼠模型^[5],并用雾化吸入脂多糖(LPS)作为刺激原,观察气道炎症和黏液分泌的变化,探讨气道炎症和黏液高分泌的关系,及其影响机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组与哮喘模型制备

6~8周龄清洁级 BALB/c 雄性小鼠 30 只,体重(18±2)g,由中国科学院上海斯莱克实验动物中心提供[合格证号为:SCXK(沪)2007-0005]。用随机数字法将小鼠分为正常对照组(NS组),哮喘模型组(AST组),LPS+哮喘组(LAS组),每组10只。根据文献^[6-9]方法并予以改进建立哮喘模型。AST组:第0d,12d腹腔注射OVA及氢氧化铝凝胶混合液0.2mL(内含OVA 60μg及2.25mg氢氧化铝凝胶);第19d开始用5%OVA溶液8mL行超声雾化,每次30min,连续雾化5d。LAS组在激发的最后2d,于每次雾化OVA之前1h雾化LPS(50μg/mL)30min。NS组用生理盐水代替OVA进行致敏和雾化。各组小鼠于末次激发后24h处死。

1.2 肺组织标本和支气管肺泡灌洗液(BALF)的制备

小鼠处死后,打开胸腔,立即结扎右肺,取右肺下叶放入40g/L多聚甲醛(含0.1%DEPC)中固定,用于石蜡标本制作及切片,行肺组织HE染色、气道阿尔辛蓝-过碘酸雪夫氏(AB-PAS染色)及免疫组织化学染色检测;取右肺上、中叶置入冻存管中,立即放入液氮罐中冻存,以备荧光定量PCR检测;然后灌洗左肺3次(回收率>90%),此即为

BALF,用于白细胞计数及分类、细胞因子检测^[10]。

1.3 BALF 检测细胞数及细胞因子

取BALF,计数白细胞及分类。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测BALF中白细胞介素4(IL-4)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平。

1.4 肺组织标本 HE、AB-PAS 和免疫组化染色

肺组织标本采用常规HE染色观察组织病理学变化;常规AB-PAS染色等具体步骤遵循病理学技术指导^[11]进行。酸性黏液物质或细胞呈蓝色,中性黏液物质或细胞呈红色,混合黏液物质或细胞呈紫红色。应用计算机图象分析软件IPWin32采图系统对AB-PAS染色各组切片进行图片采集,每张切片随机采左、右、上、下、中5个直径约70μm完整气道;使用计算机图象分析软件Image-proplus 6.0以相对着色面积对各组黏液AB-PAS染色进行定量分析。免疫组织化学法(IHC)检测气道Muc5ac蛋白表达,按试剂盒(北京中杉生物技术有限公司)说明进行操作。阳染细胞可呈棕黄色、黄色、淡黄色,染色程度分别为强阳性、阳性、弱阳性。高倍镜下,Muc5ac蛋白为胞浆显色,细胞膜也可有阳性反应,但以胞浆为主。应用计算机图象分析软件IPWin32采图系统对免疫组化染色各组切片进行图像采集,每张切片随机采左、右、上、下、中5个70μm完整气道;使用计算机图象分析软件Image-proplus 6.0以积分光密度(IOD)为指标对各组免疫组化染色进行定量分析。

1.5 荧光定量实时 RT-PCR 检测肺组织 Muc5ac mRNA 表达

荧光定量实时RT-PCR按试剂盒(大连TaKaRa公司)说明检测肺组织Muc5ac mRNA的表达。提取肺组织总RNA,各取3μL进行荧光定量PCR反应。优化荧光定量PCR反应条件体系,确保Muc5ac、内参照β-actin的标准曲线扩增效率均在90%~105%理想范围内,溶解曲线均无非特异性扩增。以确定PCR最佳反应体系和反应条件。逆转录依试剂盒说明操作。扩增条件:95℃预变性3min,然后95℃10s,61.1℃30s,40个循环。最后55℃延伸10s。预变性与变性条件各基因一样,每一例样本反应结束后由计算机自动计算并读出定量结果Ct值(threshold cycle)。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量。

小鼠Muc5ac引物及内参照β-actin引物由TaKaRa公司设计和合成,其序列如下:Muc5ac上游5'-CGCTGGCACCTGCTCAGTAA-3',下游5'-

GTCCACACTTTCGCAGCTCA AC-3' (149 bp); β -actin 上游 5'-CATCCGTAAAGACCTCTATGC CAAC-3', 下游 5'-ATGGAGCC ACCGATCCACA-3' (171 bp)。

1.6 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数比较采用 LSD-*t* 检验。采用直线相关分析 Muc5ac 蛋白表达与其它指标间的相关性。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BALF 中细胞数及 IL-4、TNF- α 水平的变化

BALF 细胞总数和白细胞分类计数结果显示, NS 组小鼠 BALF 中主要以单核细胞为主。AST 组

与 LAS 组 BALF 细胞总数、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞均较 NS 组增多, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。LAS 组与 AST 组相比, 细胞总数、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞增多, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

ELISA 法检测结果显示, AST 组与 LAS 组小鼠 BALF 中 IL-4、TNF- α 表达量较 NS 组均有增加, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$); LAS 组小鼠 BALF 中 IL-4、TNF- α 表达量比 AS 组增加, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 光镜下肺组织病理学改变

见图 1。NS 组: 肺组织结构完整, 各级支气管腔规则, 黏膜上皮完整无脱落, 纤毛排列整齐, 支气

表 1 BALF 细胞计数及 IL-4 与 TNF- α 的含量变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The changes of BALF cell counts, IL-4 and TNF- α content ($\bar{x} \pm s$)

Group	Cell counts ($\times 10^6/L$)	Leukocyte count ($\times 10^6/L$)			IL-4 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
		Eosinophils	Monocytes	Lymphocytes		
NS	10.31 \pm 1.28	0.03 \pm 0.02	8.09 \pm 0.91	1.26 \pm 0.34	36.39 \pm 4.00	14.37 \pm 1.59
AST	106.47 \pm 11.1*	16.31 \pm 2.09*	50.22 \pm 11.18*	27.29 \pm 2.13*	348.24 \pm 31.54*	27.29 \pm 2.13*
LAS	208.52 \pm 26.63*·#	93.69 \pm 12.34*·#	31.63 \pm 7.03*	102.99 \pm 11.17*·#	482.04 \pm 19.39*·#	102.99 \pm 11.17*·#

* $P < 0.05$, vs. NS group; # $P < 0.05$, vs. AST group

管及肺血管周围见少量炎症细胞浸润, 气管平滑肌及基底层无增厚; AST 组及 LAS 组: 明显炎症细胞浸润, 其中以嗜酸性粒细胞和淋巴细胞为主, 并且支气管管腔明显变窄甚至完全闭塞, 管壁明显增厚, 黏液栓形成; 黏膜上皮不完整, 脱落明显, 纤毛排列混乱, 气道上皮细胞增生, 基底层增厚。纤毛上皮细胞脱落, 基底膜露出, 杯状细胞增殖及支气管分泌物增加等病理改变。气道上皮下有肥大细胞、肺泡巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞与中性粒细胞浸润。气道黏膜下组织水肿, 微血管通透性增加, 支气管内分泌物贮留。LAS 组较 AST 组在炎症细胞浸润、支气管管腔狭窄程度、气道上皮增生、黏膜上皮完整、杯状细胞增生及黏液分泌情况均严重。

2.3 气道组织黏液物质及 Muc5ac 蛋白表达改变

NS 组小鼠气管及支气管见到极少量杯状细胞存在, 气道内无明显黏液分泌 (图 2)。AST 组与 LAS 组小鼠气道可见到大量杯状细胞增生 (被染成深红色), 并有大量黏液分泌 (被染成紫蓝色), AST 组与 LAS 组气道黏液物质相对阳性着色面积较 NS 组增高 ($P < 0.05$); LAS 组气道黏液物质相对阳性着色面积较 AST 组增加 ($P < 0.05$)。

Muc5ac 蛋白表达于支气管管腔内, 其余肺组织未见表达。NS 组 Muc5ac 蛋白表达较少 (图 3), AST 组与 LAS 组可见大量 Muc5ac 蛋白表达, 其

IOD 值高于 NS 组, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$); LAS 组 IOD 值高于 AST 组, 其差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 气道组织黏液 Muc5ac protein 阳性相对着色面积、Muc5ac 蛋白阳性表达的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The changes of the positive relative tinting area of mucus and the Muc5ac protein in airway tissue ($\bar{x} \pm s$)

Group	Positive relative tinting area of mucus (%)	Muc5ac protein (IOD value)
NS	0.65 \pm 0.06	212.35 \pm 11.21
AST	20.49 \pm 0.81*	22 820.13 \pm 1 527.57*
LAS	28.26 \pm 1.53*·#	43 706.78 \pm 2 689.08*·#

* $P < 0.05$, vs. NS group; # $P < 0.05$, vs. AST group

2.4 肺组织 Muc5ac mRNA 的表达

从气道组织 Muc5ac mRNA 扩增曲线图和熔解曲线图可以看出 (图 4): 各标本均有扩增, 且扩增效率高。各标本熔解曲线无二聚体及非特异扩增峰, 肺组织各峰值基本一致, 说明引物设计合理, 特异性高。AST 组 (523.81 \pm 22.07) 与 LAS 组 (667.36 \pm 19.52) Muc5ac mRNA 表达较 NS 组 (21.07 \pm 5.90) 表达增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); LAS 组 Muc5ac mRNA 表达较 AST 组高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 相关性分析

相关分析结果表明, 气道 Muc5ac 蛋白的表达

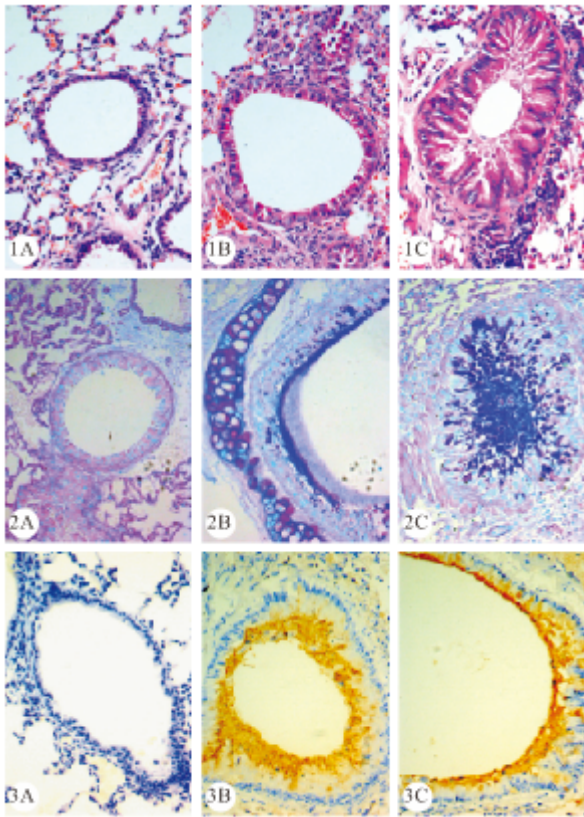


图 1 肺组织 HE 染色。×400 图 2 气道组织 AB-PAS 染色。×400 图 3 气道组织 Muc5ac 蛋白表达。IHC ×400
 Fig 1 Pathological changes of lung tissues. HE ×400 Fig 2 AB-PAS staining in airway tissues. ×400 Fig 3 Expression of Muc5ac protein in airway tissues. IHC ×400

A: NS group; B: AST group; C: LAS group

与 BALF 细胞总数、嗜酸性粒细胞数、IL-4, TNF- α 水平、气道 AB-PAS 染色阳性相对着色面积、肺组织 *Muc5ac* mRNA 表达的关系均呈高度正相关,其相关系数 r 值分别为 0.980, 0.989, 0.991, 0.989, 0.990, 0.977 (P 均 < 0.05)。

3 讨论

哮喘是由多种细胞包括气道的炎性细胞和结构细胞(如嗜酸粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞、平滑肌细胞、气道上皮细胞等)和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病^[12]。哮喘的本质是由多种炎症细胞、免疫细胞参与的慢性气道炎症,特征是气道的高反应性(AHR),表现为反复发作的可逆性气道阻塞,伴有大量的黏液生成及平滑肌的收缩,晚期还可出现气道壁结构改变如基底膜增厚、胶原沉积、平滑肌增生和肥大等气道重塑的改变。鉴于人体试验的局限性,目前对哮喘的致病机制研究主要是通过动物模型试验来进行。用于制作哮喘模型的动物有多种,各种动物模型在反映人类哮喘方面均有其优缺点,而小鼠因为其价格低廉、品系纯、繁殖快、免疫及遗传背景较为清楚,近年来采用最多的哮喘动物模型,其中的 BALB/c 和 C57BL/6 小鼠均是常用的候选动物^[13]。

哮喘动物模型包括急性变态性哮喘模型、慢性肺部炎症哮喘模型和转基因和基因敲除模型等。其中用 BALB/c 小鼠较易产生 AHR,用 OVA 易致敏,并可产生高滴度 IgE,能模拟人类哮喘迟发性变态反应过程,出现的气道炎症和 AHR 特征,也可以通过抗原致敏和激发制备。常用的抗原 OVA、尘螨、花粉、蛔虫等,其中 OVA 由于免疫原性强、价格低廉、来源方便、最常用。因此本研究用 OVA 腹腔注射致敏及肺吸入激发(BALB/c 小鼠,并在此基础上加用 LPS 雾化吸入刺激,以期能观察到哮喘与 LPS 刺激哮喘,在炎症反应、气道黏液高分泌变化^[14]。

本实验采用国内外公认的哮喘小鼠动物模型并加以改进,在第 0 d 和第 12 d 给雄性 BALB/c 小鼠腹腔注射含有 60 μ g OVA 和 2.25 mg 氢氧化铝的致敏液,在第 19 d 开始用雾化吸入 OVA(由 1% 提高到 5%)激发,因为有研究表明短期高浓度的 OVA 激发,可更有效的建立哮喘模型^[15]。并参照文献^[16]雾化吸入 LPS。本研究结果显示,AST 组和 LAS 组小鼠肺组织呈明显炎症性改变。AST 组小鼠 BALF 中的细胞总数较 NS 组增多 ($P <$

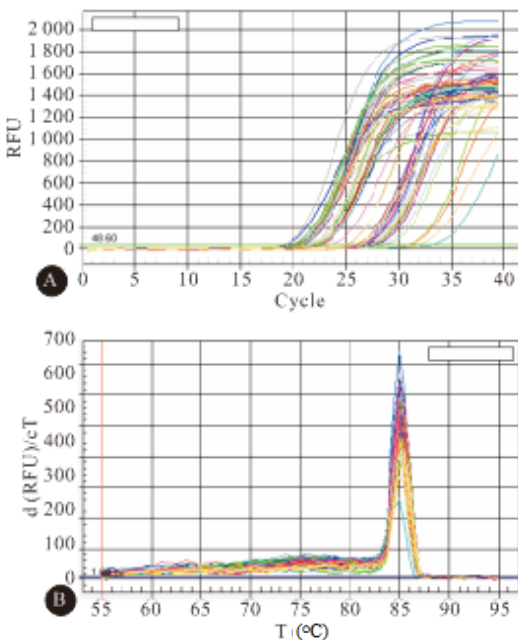


图 4 肺组织 *Muc5ac* mRNA 扩增曲线(A)和熔解曲线(B)
 Fig 4 Amplification (A) and melting (B) curves of *Muc5ac* mRNA in lung tissues

0.05),增加的细胞主要是嗜酸性粒细胞 ($P < 0.05$)和淋巴细胞 ($P < 0.05$),说明哮喘小鼠出现气道炎症细胞浸润性炎症。LAS组BALF中细胞因子IL-4、TNF- α 较NS组增高 ($P < 0.05$),提示气道炎症和黏液高分泌可能通过IL-4、TNF- α 介导的信号通路而发生。LAS组和AST组较NS组在AB-PAS气道黏液物质阳性相对着色面积增高,荧光定量RT-PCR检测Muc5ac mRNA和免疫组化检测气道Muc5ac蛋白表达结果显示均较NS组增高 ($P < 0.05$),提示OVA致敏和加入LPS激发的哮喘小鼠可能是通过杯状细胞增生,上调Muc5ac mRNA,增加Muc5ac蛋白表达,产生黏液高分泌。

LAS组比AST组小鼠在气道炎症和黏液分泌方面的各项指标均增高 ($P < 0.05$),说明雾化吸入LPS刺激哮喘小鼠存在气道炎症和黏液高分泌的加重。其机制可能是与LPS可使炎症因子生成增加,在转录及转录后水平调控使muc5ac表达增高,使雾化吸入LPS刺激哮喘小鼠的气道炎症和黏液分泌增高。

综上所述,OVA等易感因素能够破坏气道上皮的稳定状态,出现气道上皮细胞和杯状细胞增生,嗜酸性粒细胞及淋巴细胞向气道聚集,激活细胞因子IL-4、TNF- α 等表达增多,导致气道炎症和黏液高分泌雾化。本研究用OVA致敏和激发的哮喘模型,符合以往哮喘小鼠的病理学标准^[17,18],成功建立了OVA致小鼠哮喘模型。该模型可用来研究气道高反应性,黏液产生,化学介质和细胞因子分泌变化以及药物作用等。

参 考 文 献

- Mukherjee AB, Zhang Z. Allergic asthma: influence of genetic and environmental factors. *J Biol Chem*, 2011;286(38):32883-32889.
- Williams OW, Sharafkhaneh A, Kim V, *et al.* Airway mucus from production to secretion. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006; 34(5):527-536.
- Braman SS. The global burden of asthma. *Chest*, 2006; 130(1):4S-12S.
- Meurs H, Gosens R, Zaagsma J. Airway hyperresponsiveness in asthma: lessons from in vitro model systems and animal models. *Eur Respir J*, 2008;32(2):487-502.
- Hirota JA, Hackett TL, Inman MD, *et al.* Modeling asthma in mice: what have we learned about the airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011;44(4):431-438.
- Harmsen L, Thomsen SF, Ingebrigtsen T, *et al.* Chronic mucus hypersecretion: prevalence and risk factors in younger individuals. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010;14(8):1052-1058.
- Ulrik CS, Linstow ML, Christensen SN, *et al.* Chronic mucus hypersecretion: a marker of asthma in young adults. *Respiratory Medicine*, 2005;99(12):1576-1582.
- Morcillo EJ, Cortijo J. Mucus and MUC in asthma. *Curr Opin Pulm Med*, 2006;12(1):1-6.
- 陈淑靖, 白春学. 气道黏液中黏蛋白MUC5AC的研究进展. *中华结核与呼吸杂志*, 2007;30(6):461-463.
- Rogers DF. Physiology of airway mucus secretion and pathophysiology of hypersecretion. *Respir Care*, 2007;52(9): 1134-1146.
- 中华医学会. 临床技术操作规范: 病理学分册. 北京: 人民军医出版社, 第1版, 2004:18-38.
- See KC, Christiani DC. Normal values and thresholds for the clinical interpretation of exhaled nitric oxide levels in the U. S. general population: results from NHANES 2007-2010. *Chest*, 2013;143(1):107-116.
- Bates JS, Rincon M, Irvin CG. Animal models of asthma. *AJP-Lung Physiol*, 2009;297(3):L401-L410.
- 蒋雄斌, 朱毅, 殷凯生. 重度哮喘哮喘模型的建立. *中国危重病急救医学*, 2006;18(12):733-736.
- Jessica S. Siegle Airway hyperreactivity in exacerbation of chronic asthma is independent of eosinophilic inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006;35(5):565-570.
- Kearley J, Buckland KF, Mathie SA, *et al.* Resolution of allergic inflammation and airway hyperreactivity is dependent upon disruption of the T1/ST2-IL-33 pathway. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009;179(9):772-781.
- 沈华浩, 王莘莉. 支气管哮喘小鼠模型应用评价. *中华结核和呼吸杂志*, 2005;28(4):4-5.
- Sagliani S, Mathie SA, Gregory LG, *et al.* Pathophysiological Features of asthma develop in parallel in house dust mite exposed neonatal mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009; 41(3):281-289.

(2013-09-17 收稿, 2013-12-18 修回)

编辑 沈进