

网络出版时间: 2025-03-26 12:21:29 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250325.1728.008>

IL-25 与屋尘螨协同促进嗜酸性粒细胞 哮喘过敏反应的作用和机制研究

徐丽娜, 何小双, 刘冬

(石河子大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 石河子 832008)

摘要 目的 探讨白细胞介素(IL)-25在嗜酸性粒细胞哮喘过敏反应中的核心作用。方法 40只4~5周龄C57BL/6小鼠随机分为4组,WT+shRNA NT组,WT+HDM组,IL-25 shRNA+IL-25组和IL-25 shRNA+IL-25+HDM组。对应于各分组,采用鼻内滴注法,使用屋尘螨和(或)IL-25处理小鼠。采用HE染色和PAS染色进行肺组织染色和病理学分析。采用ELISA测定支气管肺泡灌洗液(BALF)中2型细胞因子的水平。采用流式细胞术(FCM)测定肺组织浸润辅助性T细胞2(Th2)、2型固有淋巴细胞(ILC2)和嗜酸性粒细胞数量变化。采用鼻内滴注法,使用FITC标记的DQ-卵清蛋白(DQ-OVA)处理小鼠,测定其肺内浸润的嗜酸性粒细胞的抗原呈递能力。结果 HE染色和PAS染色结果显示,与WT+shRNA NT组相比,IL-25 shRNA+IL-25+HDM组小鼠肺部存在大量黏液,肺血管、肺泡导管及全肺泡均可见大量嗜酸性粒细胞浸润和炎症性气道上皮增厚;IL-25 shRNA+IL-25组小鼠肺部仅有少量黏液,肺血管、肺泡导管及全肺泡均可见少许嗜酸性粒细胞浸润和炎症性气道上皮增厚;而WT+HDM组则无明显差异。与WT+shRNA NT组相比,IL-25 shRNA+IL-25+HDM组小鼠BALF中IL-25、IL-4、IL-5、IL-13、IL-33、干扰素- γ (IFN- γ)的水平明显升高;肺内浸润的Th2、ILC2和嗜酸性粒细胞的水平明显升高;小鼠肺部浸润的嗜酸性粒细胞内FITC标记的DQ-OVA荧光水平明显升高($P<0.05$);IL-25 shRNA+IL-25组上述指标也显示升高,但幅度有限($P<0.05$);而WT+HDM组则无明显差异。结论 IL-25在嗜酸性粒细胞哮喘的致敏过程和嗜酸性粒细胞抗原呈递中具有重要作用。

关键词 嗜酸性粒细胞哮喘; IL-25; Th2; ILC2; 过敏; 2型免疫反应

中图分类号 R 56

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2025)04-0649-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.009

全球哮喘倡议(the global initiative for asthma, GINA)将哮喘定义为一种异质性疾病,通常以慢性气道炎症为特征,定义为呼吸系统症状,包括喘息、呼吸短促、胸闷和咳嗽,以及不同程度的呼气气流限制^[1-2]。全世界不同国家的人群均受到哮喘的困扰,约有1%~18%的人口受其影响,但在对哮喘的诊断和临床治疗实践中,存在过度或治疗不足的现象^[3]。嗜酸性粒细胞哮喘约占所有重症哮喘病例的70%。其特征是辅助性T细胞2(type 2 helper T, Th2)淋巴细胞和2型固有淋巴细胞(the group 2 innate lymphoid cells, ILC2)产生的2型细胞因子异常,导致血液和气道(痰液、支气管肺泡灌洗液、支气管黏膜或黏膜下层)嗜酸性粒细胞持续增加^[4-5]。目前临床治疗使用靶向白细胞介素(interleukin,

IL)-5的美泊利单抗和瑞珠单抗,以及靶向IL-5受体 α 链(IL-5R α)的贝那利珠单抗疗效较好^[6]。有必要进一步深入研究和开发靶向2型细胞因子类药物的作用机制并评估其疗效。该研究拟建立哮喘小鼠模型,深入探讨IL-25在嗜酸性粒细胞哮喘中所起到的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料 40只4~5周龄C57BL/6小鼠,体重(22 $\pm$ 3)g,由新疆医科大学提供。屋尘螨(house dust mite, HDM)(货号XPB70D3A2.5)购自美国Greer Labs公司。IL-25(货号SRP6042)、I型胶原酶(货号SCR103)、DNase I(货号10104159001)、Hank's平衡盐溶液(Hank's balanced salt solution, HBSS)(货号H9394)购自美国Sigma-Aldrich公司。eBioscience™小鼠细胞表面流式细胞分析工作流程套件(货号A53012)、SYTOX™ Blue死细胞染色剂(用于流式细胞术)(货号S34857)、FBS(货号12483020)、FITC标记的DQ-卵清蛋白(FITC-labeled DQ-ovalbumin, FITC-labeled DQ-OVA)

2024-12-17 接收

基金项目: 新疆维吾尔自治区科技支撑计划项目(编号: 2021AB032)

作者简介: 徐丽娜,女,主治医师;

刘冬男,副主任医师,硕士,通信作者, E-mail: 1542603770@qq.com

(货号 D12054) 购自美国 Thermo Fisher 公司。HE 染色试剂盒套装(货号 G1120-100)、PAS 染色试剂盒套装(货号 G1281)、红细胞裂解液(货号 R1010) 购自北京索莱宝生物科技有限公司。小鼠 IL-25(货号 ml058166)、IL-4(货号 ml064310)、IL-5(货号 ml063157)、IL-13(货号 ml063123)、IL-33(货号 ml063153) 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)(货号 ml027464) ELISA 测定试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。Nikon 品牌光学显微镜(型号 ELIPSE Ni-E) 购自上海尼康公司; BioTek 品牌酶标仪(型号 Synergy LX) 购自美国伯腾仪器有限公司; BD 品牌流式细胞仪(型号 FACSCalibur) 购自 BD Biosciences 安诺伦(北京)生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物 小鼠饲养于(22±2)℃恒温、50%~70%恒湿,具备 12 h/12 h 光/暗循环的标准 SPF 级鼠房。小鼠喂食标准啮齿类动物饲料,可以自由进食和饮水。所有动物实验均经过该院伦理委员会的批准。小鼠接受哮喘造模处理之前,先适应性饲养 1 周。

1.2.2 全身性敲低小鼠 IL-25 使用慢病毒(lenti-virus, Lent)载体 pCLenti-U6-shRNA-CMV-Puro-WPRE 介导敲低 IL-25。IL-25 shRNA: 5'-GCTGTTG-CATTCTTGGCA-3', shRNA NT: 5'-GTCACACTCAC-TACACAG-3'。建立 Lenti-IL-25 shRNA 和 Lenti-shRNA NT 慢病毒载体。委托上海和元生物进行慢病毒颗粒的包装和纯化实验。小鼠尾静脉注射慢病毒颗粒 2 μ l(9.98×10⁸ TU/ml)。2 周后,采集小鼠外周血白细胞,检测 IL-25 的敲低情况。

1.2.3 小鼠分组和处理 40 只小鼠随机分为 4 组,每组 10 只,分别为: WT+shRNA NT 组,尾静脉注射 2 μ l(9.98×10⁸ TU/ml) Lenti-shRNA NT 慢病毒颗粒;用无菌 PBS 鼻内滴注法处理小鼠。WT+HDM 组,用溶解于无菌 PBS 中的 HDM 鼻内滴注法处理小鼠,详细方法见 1.2.4 项。IL-25 shRNA+IL-25 组,尾静脉注射 2 μ l(9.98×10⁸ TU/ml) Lenti-IL-25 shRNA 慢病毒颗粒;用溶解于无菌 PBS 中的 IL-25 鼻内滴注法处理小鼠,详细方法见 1.2.5 项。IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组,尾静脉注射 2 μ l(9.98×10⁸ TU/ml) Lenti-IL-25 shRNA 慢病毒颗粒;按照 1.2.4 项和 1.2.5 项的方法对应处理。随机选取每组中的 5 只小鼠,待处理结束后,用于取样支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF);另外 5 只小鼠,用于取样肺组织。

1.2.4 构建 HDM 诱导的哮喘模型小鼠^[7] 对于 WT+HDM 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠,建立 HDM 诱导的哮喘模型小鼠。简言之,在第 0 天,用 100 μ g HDM 溶解于 40 μ l 无菌 PBS 中,鼻内滴注法致敏小鼠。在第 7~11 天用 10 μ g HDM 溶解于 40 μ l 无菌 PBS 中,鼻内滴注法进行鼻腔内挑战,在第 14 天安乐死小鼠,取样小鼠肺组织和 BALF,用于随后的分析和相关指标的测定。

1.2.5 IL-25 处理小鼠^[8] 对于 IL-25 shRNA+IL-25 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组,为了研究 IL-25 的作用,在第 13 天,用 1 μ g IL-25 溶解于 40 μ l 无菌 PBS 中,鼻内滴注法处理小鼠,24 h 后安乐死小鼠,取样小鼠肺组织和 BALF,用于随后的分析和相关指标的测定。

1.2.6 小鼠 BALF 样本的获取 采用颈椎脱臼法处死小鼠。暴露小鼠胸腔和气管,将气管和食管进行钝性分离。在气管下方垫一个眼科镊子,将气管整体撑开。在位于环状软骨远端 2~3 个软骨环之间处,将结缔组织膜剪开一个 1.5~2.0 mm 的切口。提起气管壁,将一个塑料硬管平行插入气管至左右支气管交叉处,无法再插入为止。使用注射器注入约 0.5 ml 无菌 PBS 进行灌洗,稍作停留后缓慢抽取灌洗液。灌洗液为乳白色泡沫状液体,将灌洗液转移至一个 1.5 ml 离心管内,重复灌洗 3 次,并合并收集所有灌洗液。灌洗液于 4℃以 1 000 r/min 离心 15 min,取上清液冻存于-80℃冰箱备用。

1.2.7 组织学染色和病理学分析 摘取小鼠双侧新鲜肺组织,一侧肺组织立即浸入 4%多聚甲醛固定液中,于 4℃固定 48 h 以上;另一侧用于后续流式细胞术分析。对固定好的肺组织进行石蜡包埋和切片(切片厚度 5 μ m),制备石蜡组织切片。随后进行 HE 染色和 PAS 染色。① HE 染色:(室温下操作)石蜡切片浸没入苏木精染色液中,1 min→1%盐酸乙醇分化,5 s→1%氨水返蓝,1 min→伊红染色液,10 s→梯度酒精脱水,每次 5 min→二甲苯透明化,5 min→中性树胶封片→光学显微镜下镜检、拍照和病理学分析。② PAS 染色:(室温下操作)石蜡切片滴加过碘酸溶液,5 min→切片浸没于 Schiff 试剂,15 min→苏木精染色液,1 min→1%盐酸乙醇分化,5 s→Scott 返蓝溶液,3 min→二甲苯透明化,5 min→中性树胶封片→光学显微镜下镜检、拍照和病理学分析。

1.2.8 ELISA 从-80℃冰箱中取出 BALF 上清液,于冰上融化。使用小鼠 IL-25、IL-4、IL-5、IL-13、IL-

33 和 IFN- γ ELISA 测定试剂盒进行细胞因子水平测定。具体操作步骤按照试剂盒说明书的指导进行。使用 BioTek 品牌酶标仪在 450 nm 处检测吸光值。

1.2.9 流式细胞术(flow cytometry, FCM) 取小鼠新鲜单侧肺组织,使用冰预冷的无菌 PBS 简单冲洗取出血液后,在冰上将肺组织切成组织小块,立即浸没于含 I 型胶原酶(终浓度 1 mg/ml)和 DNase I(终浓度 30 mg/ml)的 HBSS 中,于 37 °C 水浴中消化 1 h。消化后的肺组织碎片过 70 μ m 细胞滤网。过完滤网的细胞中,红细胞使用红细胞裂解液处理并洗涤去除,剩余细胞使用冰预冷的含 1% FBS 的无菌 PBS 缓冲液重悬。使用小鼠细胞表面流式细胞分析工作流程套件,采用 FCM 分离并计数 Th2 细胞、ILC2 细胞和嗜酸性粒细胞。SYTOX™ Blue 死细胞染色剂(用于流式细胞术)区分活/死细胞。具体实验操作方法按照对应试剂盒中的说明书进行,采用 BD Fortessa 软件进行 FCM 数据的采集,采用 FlowJo X 软件进行 FCM 数据的分析。

1.2.10 FITC-标记的 DQ-OVA 吞噬实验 为了分析小鼠肺部浸润的嗜酸性粒细胞对抗原的提呈能力,将 50 μ g FITC-标记的 DQ-OVA 溶解于 40 μ l 无菌 PBS 中,鼻内滴注法处理小鼠。3 d 后安乐死小鼠,采集小鼠肺组织,采用流式细胞术进行分析。无 FITC-标记的 DQ-OVA 的无菌 PBS 培养鼻内滴注法处理小鼠的肺部分离嗜酸性粒细胞设为阴性对照。

1.3 统计学处理 所有计量数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)的形式表示。使用 GraphPad Prism v8.0 进行统计学处理和分析。多组间比较采用单因素方差分

析和事后 Tukey's 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-25 和 HDM 同时作用起效诱发嗜酸性粒细胞哮喘 HE 染色结果显示(图 1A),与 WT+shRNA NT 组相比,IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠肺血管、肺泡导管及全肺泡均可见大量嗜酸性粒细胞浸润和炎症性气道上皮增厚;IL-25 shRNA+IL-25 组小鼠肺血管、肺泡导管及全肺泡均可见少许嗜酸性粒细胞浸润和炎症性气道上皮增厚;而 WT+HDM 组则无明显差异。PAS 染色结果显示(图 1B),与 WT+shRNA NT 组相比,IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠肺部存在大量黏液;IL-25 shRNA+IL-25 组小鼠肺部仅有少量黏液;而 WT+HDM 组则无明显差异。

2.2 IL-25 刺激分泌嗜酸性粒细胞哮喘相关炎症因子 与 WT+shRNA NT 组相比,IL-25 shRNA+IL-25 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠 BALF 中 IL-25 的水平明显升高($P<0.05$)(表 1);而 WT+HDM 组则无明显差异。与 WT+shRNA NT 组相比,IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠 BALF 中 IL-4、IL-5、IL-13、IL-33、IFN- γ 的水平明显升高($P<0.05$);而 WT+HDM 组和 IL-25 shRNA+IL-25 组则无明显差异。

2.3 IL-25 参与 Th2 和 ILC2 的活化 与 WT+shRNA NT 组相比,IL-25 shRNA+IL-25 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠 BALF 中 Th2 的水平明显升高($P<0.05$);而 WT+HDM 组则无明显差

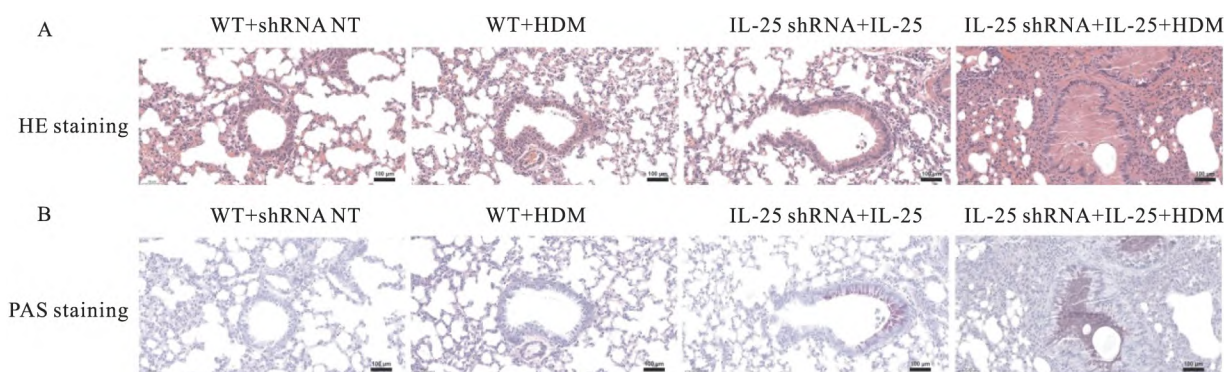


图 1 对小鼠采用不同处理引起的肺部症状的组织学测定结果 $\times 100$

Fig.1 Histological staining results of the pulmonary symptoms caused by different treatments on mice $\times 100$

A: HE staining and pathological analysis of lung symptoms in the four groups; B: PAS staining was used to analyze the lung symptoms of the four groups of mice mentioned above.

异。与 WT+shRNA NT 组相比, IL-25 shRNA+IL-25 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠 BALF 中

ILC2 的水平明显升高 ($P<0.05$); 而 WT+HDM 组则无明显差异。见图 2 和表 2。

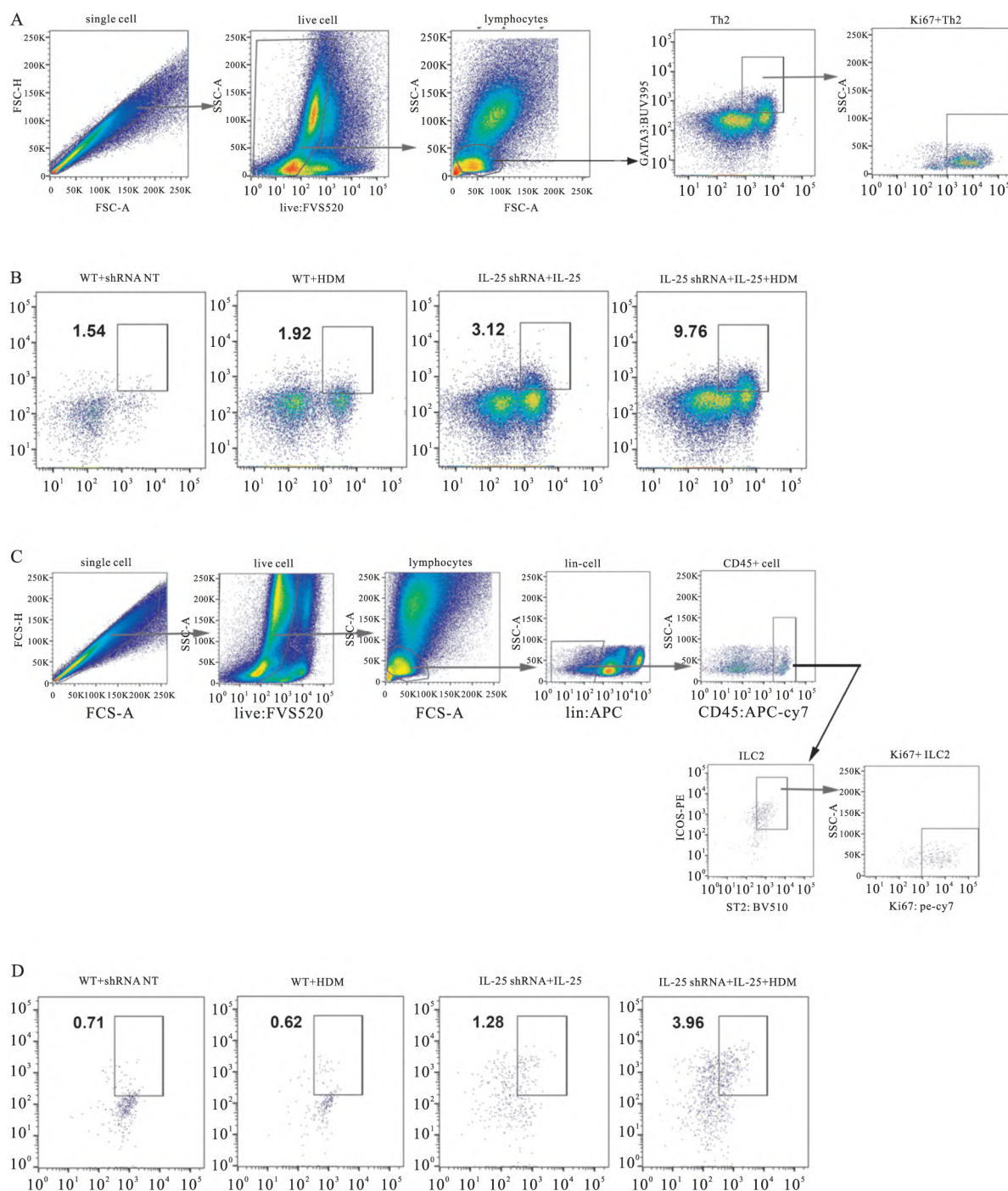


图 2 对小鼠采用不同处理后 FCM 测定其肺部浸润的 Th2 细胞和 ILC2 细胞数量变化的典型结果

Fig.2 Typical results of the number of Th2 cells and ILC2 cells infiltrated in the lungs of mice after different treatments determined by FCM

A: Typical diagrams of FCM results determined the number of infiltrated Th2 cells in mice lung tissues; B: Typical diagrams of FCM results determined the number of infiltrated Th2 cells in mice lung tissues of the four groups; C: Typical diagrams of FCM results determined the number of infiltrated ILC2 cells in mice lung tissues; D: Typical diagrams of FCM results determined the number of infiltrated ILC2 cells in mice lung tissues of the four groups.

表1 对小鼠采用不同处理后其 BALF 中 2 型细胞因子的水平测定结果($\bar{x} \pm s$ $n=10$ $\mu\text{g/ml}$)Tab.1 Results of measuring the levels of type 2 cytokines in BALF of mice after different treatments ($\bar{x} \pm s$, $n=10$ $\mu\text{g/ml}$)

Groups	WT+shRNA NT	WT+HDM	IL-25 shRNA +IL-25	IL-25 shRNA +IL-25+HDM	F value	P value
IL-25	286.61±29.30	295.43±18.03	548.26±23.72*	598.64±45.09*	286.00	<0.000 1
IL-4	23.17±2.83	27.12±1.74	24.52±2.12	56.96±2.62*	462.70	<0.000 1
IL-5	8.32±0.46	11.64±1.30	9.08±0.68	34.22±3.92*	344.20	<0.000 1
IL-13	13.94±1.44	13.72±1.10	14.88±1.20	61.44±3.96*	1 095.00	<0.000 1
IL-33	5 914.32±287.24	6 896.66±393.78	6 320.08±322.72	12 803.36±939.50*	342.60	<0.000 1
IFN- γ	136.66±7.64	145.62±4.52	139.34±9.28	185.68±11.02*	73.13	<0.000 1

* $P<0.05$ vs WT+shRNA NT group.表2 对小鼠采用不同处理后 FCM 测定其 BALF 中 Th2 细胞百分比和 ILC2 细胞百分比统计结果($\bar{x} \pm s$ $n=10$)Tab.2 The percentage of Th2 cells and ILC2 cells in BALF of mice after different treatments determined by FCM ($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

Groups	Th2 (%)	ILC2 (%)
WT+shRNA NT	1.58±0.16	0.72±0.04
WT+HDM	1.94±0.08	0.62±0.04
IL-25 shRNA+IL-25	3.20±0.22*	1.34±0.08*
IL-25 shRNA+IL-25+HDM	9.86±0.36*	4.06±0.16*
F value	2 857.0	2 964.0
P value	<0.000 1	<0.000 1

* $P<0.05$ vs WT+shRNA NT group.

2.4 IL-25 参与嗜酸性粒细胞的抗原呈递 与 WT+shRNA NT 组相比, IL-25 shRNA+IL-25 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠肺中浸润的嗜酸性粒细胞数量占比明显升高($P<0.05$); 而 WT+HDM 组则无明显差异。与 WT+shRNA NT 组相比, IL-25 shRNA+IL-25 组和 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组小鼠肺部浸润的嗜酸性粒细胞内 FITC-标记的 DQ-OVA 荧光水平明显升高($P<0.05$); 而 WT+HDM 组则无明显差异。见表 3。

表3 对小鼠采用不同处理后其 BALF 中嗜酸性粒细胞所占百分比及其抗原呈递能力测定结果($\bar{x} \pm s$ $n=10$)Tab.3 The percentage of eosinophils and their antigen presenting ability in BALF of mice after different treatments ($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

Groups	Eosinophils (%)	The fluorescent intensity of FITC-labeled DQ-OVA
WT+shRNA NT	3.56±0.82	1 366.68±205.54
WT+HDM	3.74±0.44	1 486.62±105.96
IL-25 shRNA+IL-25	9.08±0.68*	3 800.02±697.76*
IL-25 shRNA+IL-25+HDM	13.90±1.66*	7 086.64±360.72*
F value	238.6	428.4
P value	<0.000 1	<0.000 1

* $P<0.05$ vs WT+shRNA NT group.

3 讨论

根据临床实践和研究的不断深入,哮喘的分类

已修改为① 2 型高或超高型哮喘,本质上为嗜酸性粒细胞哮喘;② 2 型低型哮喘,如为非嗜酸性粒细胞型,有时为嗜中性粒细胞型和代谢性哮喘^[9]。嗜酸性粒细胞哮喘属于过敏性哮喘,由 Th2 细胞介导分泌 2 型细胞因子驱动。这是由生命早期或后期生活遇到(新)过敏原引起的,如 HDM、花粉、蟑螂、动物皮屑或职业过敏原。在识别过敏原后,过敏原特异性 Th2 细胞产生 2 型细胞因子,导致气道壁上大量嗜酸性粒细胞浸润和积累,产生过量黏液,并由过敏原特异性 B 细胞合成 IgE。

嗜酸性粒细胞哮喘由气道上皮细胞(epithelial cells, ECs)控制。如今,ECs 不仅被认为是身体与外界之间的物理屏障,同时也被确认为是一种免疫活性细胞^[10]。肺 ECs 表达无数的模式识别受体,如 toll-样受体、NOD-样受体、蛋白酶激活受体等。这些受体允许 ECs 通过产生趋化因子和细胞因子对各种外部触发物作出反应。在哮喘小鼠模型中,ECs 来源细胞因子主要是“警报素”IL-33、胸腺基质淋巴细胞生成素和 IL-25^[11]。所有这些都有助于嗜酸性粒细胞哮喘小鼠模型中的 Th2 免疫反应^[12]。但是,其具体作用机制尚未有深入研究。在该研究结果中显示,在小鼠中,单纯给予 HDM 刺激,或补充 IL-25,无法完成哮喘的致敏过程,但在 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组中,小鼠肺血管、肺泡导管及全肺泡表现出典型的哮喘的组织学特征,如可见大量嗜酸性粒细胞浸润和炎症性气道上皮下增厚等。与此同时,2 型细胞因子如 IL-25、IL-4、IL-5、IL-13、IL-33 和 IFN- γ 的水平均升高。

自然状态下,先天性淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)主要存在于胃肠道、生殖道和呼吸道等黏膜组织中,协助维持内稳态的平衡、参与免疫监测、免疫调节和组织修复^[13]。与这些组织驻留 ILCs 相比,炎症性 ILCs 可在数小时内通过产生的细胞因子对微生物、蠕虫和过敏原作出反应。ILCs 分为 3

类 ILC2 类似于 Th2 细胞,它们也表达典型的 Th2 相关转录因子 GATA-3,并产生 IL-5、IL-9 和 IL-13。与效应性 Th2 细胞一样,ILC2 也是重度依赖于 PPAR- γ 的调控并响应于 ECs 来源细胞因子^[14]。在该研究结果中也显示,与 WT+shRNA NT 组小鼠相比,仅在 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组中,Th2 和 ILC2 均有大量增殖的现象发生。这说明 IL-25 在 2 型免疫反应的应答过程中是刺激 ILC2 增殖的关键因子。

嗜酸性粒细胞是 2 型免疫反应的直接执行者,它们既能够应答于,同时也能大量产生 2 型细胞因子。有研究^[15]显示,嗜酸性粒细胞也是一类有效的抗原呈递细胞,能够将抗原呈递给 Th 细胞,是 2 型免疫反应的发起者之一。但是其起始 2 型炎症反应的具体分子机制仍少有研究。该研究探讨了 IL-25 对于嗜酸性粒细胞抗原呈递能力的影响。结果显示,单纯 HDM 刺激无法激活嗜酸性粒细胞对 DQ-OVA 抗原的吞噬,而在 IL-25 shRNA+IL-25+HDM 组中,嗜酸性粒细胞大量增殖,并对 DQ-OVA 抗原发生了大量的吞噬活动。由这一结果可知,IL-25 能够分别通过刺激 Th2 和 ILC2 的大量增殖和分泌 2 型细胞因子,激活嗜酸性粒细胞的增殖和其抗原呈递能力,参与哮喘的致敏。

该研究尚未证明 IL-25 通过何种信号通路参与嗜酸性粒细胞哮喘的致敏过程,并刺激 Th2、ILC2 和嗜酸性粒细胞的大量增殖的,但该结果显示,IL-25 在此类哮喘的致病过程中扮演着重要的角色。

参考文献

- [1] Rothe T, Spagnolo P, Bridevaux P O, et al. Diagnosis and management of asthma – the Swiss guidelines [J]. *Respiration*, 2018, 95(5): 364–80. doi: 10.1159/000486797.
- [2] 常春, 孙永昌. 2022 版《全球哮喘管理和预防策略》更新解读[J]. *中国全科医学*, 2022, 25(35): 4355–62. doi: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0554.
- [2] Chang C, Sun Y C. Global strategy for asthma management and prevention: Interpretation of the updates in 2022 [J]. *Chin Gen Pract*, 2022, 25(35): 4355–62. doi: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0554.
- [3] Reddel H K, Bacharier L B, Bateman E D, et al. Global initiative for asthma strategy 2021: executive summary and rationale for key changes [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 205(1): 17–35. doi: 10.1164/rccm.202109-2205PP.
- [4] Nelson R K, Bush A, Stokes J, et al. Eosinophilic asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2020, 8(2): 465–73. doi: 10.1016/j.jaip.2019.11.024.
- [5] 徐康乔, 夏元旦, 徐丽, 等. 嗜酸性粒细胞及中性粒细胞型哮喘患者炎症特点与小气道功能变化分析 [J]. *中国综合临床*, 2022, 38(3): 256–61. doi: 10.3760/cma.j.cn101721-20210926-000156.
- [5] Xu K Q, Xia Y D, Xu L, et al. Analysis of inflammatory characteristics and changes of small airway function in patients with eosinophil and neutrophil asthma [J]. *Clin Med China*, 2022, 38(3): 256–61. doi: 10.3760/cma.j.cn101721-20210926-000156.
- [6] Cushen B, Menzies-Gow A. Benralizumab: an updated treatment of eosinophilic asthma [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2020, 14(5): 435–44. doi: 10.1080/17476348.2020.1739526.
- [7] Ortiz-Zapater E, Bagley D C, Hernandez V L, et al. Epithelial coxsackievirus adenovirus receptor promotes house dust mite-induced lung inflammation [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6407. doi: 10.1038/s41467-022-33882-w.
- [8] Peng B, Sun L, Zhang M, et al. Role of IL-25 on eosinophils in the initiation of Th2 responses in allergic asthma [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 842500. doi: 10.3389/fimmu.2022.842500.
- [9] Peters M C, Ringel L, Dyjack N, et al. A transcriptomic method to determine airway immune dysfunction in T2-high and T2-low asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(4): 465–77. doi: 10.1164/rccm.201807-1291OC.
- [10] 刘健. 支气管哮喘气道重塑机制的研究进展 [J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(12): 51–4. doi: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.12.009.
- [10] Liu J. Research progress in the mechanism of airway remodeling in bronchial asthma [J]. *China J Mod Med*, 2022, 32(12): 51–4. doi: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.12.009.
- [11] Cayrol C, Duval A, Schmitt P, et al. Environmental allergens induce allergic inflammation through proteolytic maturation of IL-33 [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(4): 375–85. doi: 10.1038/s41590-018-0067-5.
- [12] Lambrecht B N, Hammad H, Fahy J V. The cytokines of asthma [J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 975–91. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.018.
- [13] Ricardo-Gonzalez R R, Van Dyken S J, Schneider C, et al. Tissue signals imprint ILC2 identity with anticipatory function [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(10): 1093–9. doi: 10.1038/s41590-018-0201-4.
- [14] Xiao Q, He J, Lei A, et al. PPAR γ enhances ILC2 function during allergic airway inflammation via transcription regulation of ST2 [J]. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(2): 468–78. doi: 10.1038/s41385-020-00339-6.
- [15] Farhan R K, Vickers M A, Ghaemmaghami A M, et al. Effective antigen presentation to helper T cells by human eosinophils [J]. *Immunology*, 2016, 149(4): 413–22. doi: 10.1111/imm.12658.

Study on the synergistic effects and mechanisms of IL-25 and house dust mite in promoting eosinophilic asthma allergy

Xu Lina , He Xiaoshuang , Liu Dong

(*Dept of Respiratory and Critical Care Medicine ,*

The First Affiliated Hospital of Shihezi University , Shihezi 832008)

Abstract Objective To explore the central role of interleukin (IL) -25 in allergy of eosinophil asthma. **Methods**

Forty 4-5 week-old C57BL/6 mice were used in this study ($n=10$). Mice were randomly divided into 4 groups: WT+shRNA NT group , WT+HDM group , IL-25 shRNA+IL-25 group , and IL-25 shRNA+IL-25+HDM group. According to each group's treatment requirement , mice were treated with house dust mite and/or IL-25 by intranasal infusion. HE staining and PAS staining were used for lung tissue section staining and pathological analysis. The levels of type 2 cytokines in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined by ELISA. Flow cytometry (FCM) was used to determine the number of type 2 helper T (Th2) cells , the group 2 innate lymphoid cells (ILC2) and eosinophils in lung tissues. Mice were treated with FITC-labeled DQ-ovalbumin (DQ-OVA) by intranasal infusion to determine the antigen presentation ability of eosinophils infiltrated in the lungs. **Results** HE staining and PAS staining results showed that , compared with WT+shRNA NT group , a large amount of mucus and a large number of eosinophil infiltration were found in the lungs , and subcutaneous thickening of inflammatory airway were observed in the pulmonary vessels , alveolar ducts and the whole alveoli in IL-25 shRNA+IL-25+HDM group. In the IL-25 shRNA+IL-25 group , only a small amount of mucus and a small amount of eosinophil infiltration were found in the lungs , and a small amount of subcutaneous thickening of inflammatory airway were observed in pulmonary vessels , alveolar ducts and the whole alveoli. There was no significant difference in WT+HDM group. Compared with WT+shRNA NT group , the levels of IL-25 , IL-4 , IL-5 , IL-13 , IL-33 and interferon- γ (IFN- γ) in BALF significantly increased; the levels of infiltrated Th2 , ILC2 and eosinophils in the lung significantly increased; the fluorescence levels of FITC-labeled DQ-OVA in eosinophils infiltrated in lungs significantly increased in IL-25 shRNA+IL-25+HDM group ($P<0.05$). IL-25 shRNA+IL-25 group mice also showed an increase in the above measurements , but the amplitude were limited ($P<0.05$). WT+HDM group had no significant difference. **Conclusion** IL-25 plays an essential role in the allergy and eosinophil antigen presentation processes in eosinophil asthma mice.

Key words eosinophil asthma; IL-25; Th2; ILC2; allergy; type 2 immune response

Fund program Xinjiang Uyghur Autonomous Region Science and Technology Aid Project (No. 2021AB032)

Corresponding author Liu Dong , E-mail: 1542603770@qq.com