

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00824

地塞米松抑制聚肌胞苷酸诱导人气道上皮细胞趋化因子表达及机制的初步研究

张景熙*, 焦洋, 宁允叶, 白冲, 李强

第二军医大学长海医院呼吸内科, 上海 200433

[摘要] **目的** 初步探讨地塞米松对聚肌胞苷酸刺激气道上皮细胞后趋化因子表达的影响及其机制。**方法** 将人气道上皮细胞 16hBE 给予不同浓度的聚肌胞苷酸(0.001、0.01、0.1、1 $\mu\text{g/ml}$)及地塞米松(0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$)处理,用 RT-PCR 检测刺激 6 h 后 IL-8、IP-10 mRNA 的表达水平,用 ELISA 法检测刺激 24 h 后培养上清液中 IL-8 和 IP-10 蛋白含量,用免疫组化方法检测细胞 NF- κ B p65 亚单位的表达强度。**结果** 0.001、0.01、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 聚肌胞苷酸处理 16hBE 细胞后 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达水平和蛋白分泌量呈浓度依赖性升高,在 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 及 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);但在聚肌胞苷酸浓度为 1 $\mu\text{g/ml}$ 时,IL-8 和 IP-10 mRNA 表达水平和蛋白分泌量都出现了下降。地塞米松(1、10 $\mu\text{mol/L}$)预处理 0.5 h 明显抑制聚肌胞苷酸诱导的 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达及蛋白分泌($P < 0.05$, $P < 0.01$)。1 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松预处理明显抑制了聚肌胞苷酸诱导的 NF- κ B p65 表达强度($P < 0.01$)。**结论** 糖皮质激素可抑制聚肌胞苷酸诱导的气道上皮细胞趋化因子的表达,其机制可能与 NF- κ B 的活化有关。

[关键词] 气道上皮细胞;聚肌胞苷酸;趋化因子类;地塞米松;NF- κ B**[中图分类号]** R 562 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)08-0824-05

Inhibitory effects of dexamethasone against polyinosinic: polycytidylic acid-induced chemotactic factor expression in bronchial epithelial cells and the underlying mechanism

ZHANG Jing-xi*, JIAO Yang, NING Yun-ye, BAI Chong, LI Qiang

Department of Respiratory Diseases, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of dexamethasone on polyinosinic: polycytidylic acid (PIC)-induced chemotactic factor expression in human bronchial epithelial (16hBE) cells and the underlying mechanism. **Methods** 16hBE cells were treated with different concentrations of PIC (0.001, 0.01, 0.1, and 1 $\mu\text{g/ml}$) and dexamethasone (0.1, 1, and 10 $\mu\text{mol/L}$). IL-8 and IP-10 mRNA levels were detected by RT-PCR 6 h after stimulation. IL-8 and IP-10 protein levels in the culture supernatant were detected by ELISA 24 h after stimulation. NF- κ B p65 subunit expression was detected by immunohistochemical staining. **Results** PIC concentration-dependently (0.001, 0.01, and 0.1 $\mu\text{g/ml}$) increased the expression of IL-8 and IP-10 mRNA and protein compared with the control group, with significant differences found when PIC at 0.01 $\mu\text{g/ml}$ and 0.1 $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0.05$, $P < 0.01$). When the concentration of PIC was 1 $\mu\text{g/ml}$, the expressions of IL-8 and IP-10 were decreased at both mRNA and protein levels. Pretreatment with dexamethasone (1 $\mu\text{mol/L}$ and 10 $\mu\text{mol/L}$) for 0.5 h significantly inhibited the IL-8 and IP-10 expression at both mRNA and protein levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Dexamethasone pretreatment (1 $\mu\text{mol/L}$) significantly inhibited PIC-induced NF- κ B p65 subunit expression ($P < 0.01$). **Conclusion** Glucocorticoids can suppress PIC-induced IL-8 and IP-10 expression in human bronchial epithelial cells, probably through activation of NF- κ B pathway.

[Key words] bronchial epithelial cells; polyinosinic: polycytidylic acid; chemotactic factors; dexamethasone; NF- κ B

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(8): 824-828]

气道黏膜是呼吸系统抵御外界病原体的第一道防线,气道上皮细胞通过自身表达的模式识别受体(pattern recognized receptors, PRRs)特异性与病原

体结构中保守分子结合,启动天然免疫应答反应,同时可以通过释放一系列炎性介质,启动机体的适应性免疫应答,共同参与病原体的清除^[1]。Toll 样受

[收稿日期] 2012-04-16

[接受日期] 2012-07-04

[基金项目] 国家自然科学基金(81100017)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81100017)。

[作者简介] 张景熙,博士,副教授、副主任医师。

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161315, E-mail: jingxizhang2000@yahoo.com.cn

体(Toll-like receptor, TLR)是气道上皮细胞表达的一类重要的 PRRs,共有 11 个家族成员,其中 TLR3 特异性地识别双链 RNA(dsRNA)^[2]。聚肌胞苷酸 [polyinosinic:polycytidylic acid, 简称 poly (I:C)或 PIC]是一种人工合成的 dsRNA,能特异性地与细胞内 TLR3 结合,因其结构类似于多种病毒在细胞内代谢所产生的核糖核酸,常被作为病毒感染的模拟物用于多项研究^[3-4]。

病毒感染是支气管哮喘急性发作最常见的诱发因素^[5],病毒进入下呼吸道后首先与气道上皮细胞接触^[6]。研究发现,病毒感染能够促进气道上皮细胞分泌 TNF- α ^[7]、IFN- β ^[8]、TSLP^[9]等趋化因子,激活天然免疫反应,并招募炎性细胞浸润,参与哮喘急性发作。糖皮质激素仍是目前治疗哮喘急性发作最有效的药物,临床上已证实糖皮质激素对病毒感染具有一定的治疗作用^[10],但病毒感染后,糖皮质激素对气道上皮细胞的影响尚不十分明确。趋化因子是由各种不同细胞在微生物感染时产生的一类细胞因子,可以招募血液中的中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞等穿过血管内皮参与局部炎症过程^[11]。白介素-8(IL-8)是一种重要的中性粒细胞趋化因子,能够招募并激活中性粒细胞向组织浸润,对周围组织造成损伤,参与气道黏膜的天然免疫应答^[12]。干扰素诱导蛋白-10(interferon-induced protein 10, IP-10)是启动气道黏膜抗病毒适应性免疫的主要因子之一,通过趋化具有其受体 CXCR3(CXC-chemokine receptor 3)的 T 淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等炎性细胞到达炎症部位^[13]。本研究采用 PIC 刺激人气道上皮细胞模拟病毒感染,初步探讨糖皮质激素对人气道上皮细胞趋化因子 IL-8 和 IP-10 等表达的影响及相关机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂 人支气管上皮细胞株 16hBE 由英国南安普顿大学医学院 Davies D E 教授惠赠, I 型胶原购自 Fremont 公司, MEM + GlutaMax-I 培养液、胎牛血清(FBS)、青霉素、链霉素、地塞米松均购自 Gibco 公司, TRIzol 试剂盒、PIC 购自 Invitrogen 公司, RT-PCR 试剂盒购自 PrimerDesign 公司, ELISA 试剂盒购自 R&D 公司。NF- κ B p65 亚单位一抗购自 Santa Cruz 公司。

1.2 细胞培养和分组 将 16hBE 细胞以 0.75×10^6 / ml 的密度常规培养于 12 孔培养板中,用含 10% FBS 的 MEM+GlutaMax-I 培养液(青霉素 100 U/ml,链霉素 100 U/ml)培养。培养板提前 0.5 h 用 1:100 I 型胶原包被,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,当细胞

生长融合达到 80% 时用含 2% FBS 的 MEM+GlutaMax-I 培养液培养 18 h,再用不同浓度的 PIC (0.001、0.01、0.1、1 μ g/ml)刺激 16hBE 细胞 6 h 或 24 h。地塞米松处理组分别给予地塞米松 (0.1、1、10 μ mol/L)提前 0.5 h 预处理后再给予 0.1 μ g/ml PIC 刺激 6 h 或 24 h。每个实验至少重复 3 次。

1.3 RT-PCR 检测 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达 在 PIC 刺激 16hBE 细胞后,用 TRIzol 试剂提取细胞 RNA,并用 260 nm 吸收率的分光光度计对 RNA 进行定量。按照 RT-PCR 试剂盒说明书,用 1 μ g 总 RNA 进行反转录和扩增,采用 $\Delta\Delta$ CT 值方法定量计算目标基因表达水平。IL-8、IP-10 及内参照基因 GAPDH、UBC RT-PCR 引物购自 PrimerDesign 公司。

1.4 ELISA 法测定 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 蛋白的表达 在 PIC 刺激 16hBE 细胞 24 h 后,采用双抗体夹心 ELISA 法检测培养液上清中的 IL-8 和 IP-10,操作均严格按照试剂盒说明进行,先在酶谱仪上测量标准品光密度并绘制标准曲线,然后测量样品光密度值,每个样品重复 2 孔,并根据测得的光密度值查对标准曲线并计算出样品的浓度。

1.5 免疫组织化学染色测定 NF- κ B p65 活性 16hBE 细胞被 PIC (0.1 μ g/ml)和(或)地塞米松 (1 μ g/ml)刺激后不同时间 (0.5、1、2、4 h)采用 SP 法按照 NF- κ B p65 亚单位一抗使用说明测定 NF- κ B 活性。用图像分析系统对各组免疫组化切片进行分析,对各组平均光密度进行统计分析。实验重复 3 次。

1.6 统计学处理 应用 GraphPad Prism 5.0 统计软件进行资料录入、整理及统计分析处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。检验水平 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 PIC 对 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达的影响 0.001、0.01、0.1 μ g/ml PIC 处理 16hBE 细胞 6 h 后 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达呈浓度依赖性升高;0.01 μ g/ml 及 0.1 μ g/ml PIC 刺激后,IL-8 和 IP-10 mRNA 表达均较对照组升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。但在 1 μ g/ml PIC 作用时,IL-8 和 IP-10 mRNA 表达水平均出现了下降(图 1)。

2.2 PIC 对 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 蛋白表达的影响 0.001、0.01、0.1 μ g/ml PIC 处理 16hBE 细胞 24 h 后 IL-8 和 IP-10 蛋白表达呈浓度依赖性升高;0.01 μ g/ml 及 0.1 μ g/ml PIC 刺激后,IL-8 和 IP-10 蛋白表达均较对照组升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。但在 1 μ g/ml PIC 作用时,IL-8 和 IP-

10 蛋白表达均出现了下降(图 2)。因此,后续实验中选取 0.1 μg/ml 作为 PIC 作用浓度。

2.3 地塞米松对 PIC 刺激的 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达的影响 用 0.1、1、10 μmol/L 地塞米松预处理 0.5 h 后给予 0.1 μg/ml PIC 刺激

16hBE 细胞 6 h,地塞米松呈浓度依赖性抑制 PIC 诱导的 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 mRNA 水平升高; 1 μmol/L 和 10 μmol/L 地塞米松组 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达较单用 PIC 组降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$, 图 3)。

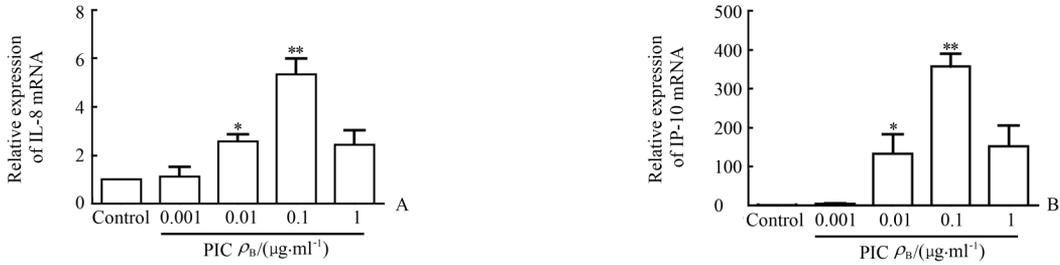


图 1 PIC 对 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达的影响

Fig 1 Effect of PIC on IL-8 and IP-10 mRNA expression in 16hBE cells

PIC: Polyinosinic:polycytidylic acid. A: IL-8 mRNA; B: IP-10 mRNA. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control (0 μg/ml PIC) group; $n = 3, \bar{x} \pm s$

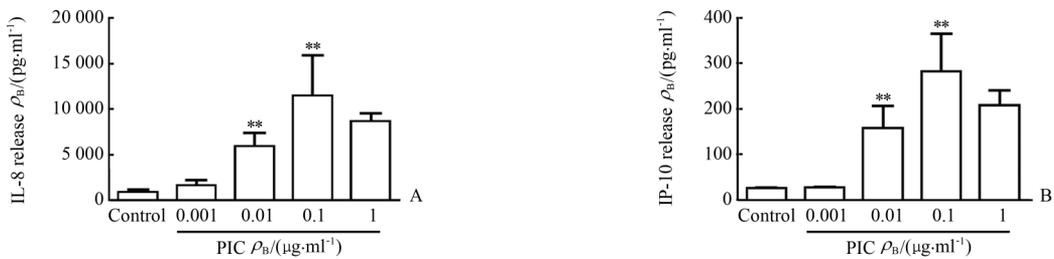


图 2 PIC 对 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 蛋白表达的影响

Fig 2 Effect of PIC on IL-8 and IP-10 protein expression in 16hBE cells

PIC: Polyinosinic:polycytidylic acid. A: IL-8 protein; B: IP-10 protein. * $P < 0.01$ vs control (0 μg/ml PIC) group; $n = 3, \bar{x} \pm s$

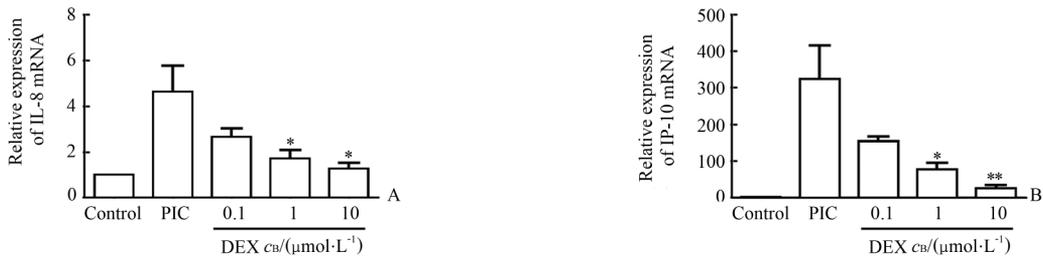


图 3 地塞米松对 PIC (0.1 μg/ml) 刺激的 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 mRNA 表达的影响

Fig 3 Effect of DEX on IL-8 and IP-10 mRNA expression in 16hBE cells challenged with PIC (0.1 μg/ml)

PIC: Polyinosinic:polycytidylic acid; DEX: Dexamethasone. A: IL-8 mRNA; B: IP-10 mRNA. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PIC (0.1 μg/ml PIC+0 μmol/L DEX) group; $n = 3, \bar{x} \pm s$

2.4 地塞米松对 PIC 刺激的 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 蛋白表达的影响 用 0.1、1、10 μmol/L 地塞米松预处理 0.5 h 后给予 0.1 μg/ml PIC 刺激 16hBE 细胞 24 h,地塞米松呈浓度依赖性抑制 PIC 诱导的 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 蛋白表达升高。1 μmol/L 和 10 μmol/L 地塞米松组 IL-8 蛋白和 IP-10 蛋白表达较单用 PIC 组降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$),但仍高于对照组 ($P < 0.01$,图 4)。

2.5 地塞米松与 PIC 刺激下 16hBE 细胞 NF-κB p65 表达变化 16hBE 细胞的 NF-κB p65 亚单位表达强度

在 PIC 刺激后 0.5 h 开始升高,1 h 时活性达到高峰 ($P < 0.01$),2 h 及 4 h 表达强度仍高于对照组 ($P < 0.01$)。1 μmol/L 地塞米松预处理在 1、2、4 h 能够抑制 PIC 诱导的 NF-κB 活性增强,其中在 1 h 时抑制作用最为显著,差异有统计学意义 ($P < 0.01$,图 5)。

3 讨论

气道黏膜是人体呼吸系统与外界直接相通的唯一器官,具有重要的物理和免疫屏障功能。目前已发现,人原代支气管上皮细胞表达 11 种不同的

TLR, 能够针对不同病原微生物产生特异性免疫应答。其中 TLR3 特异性地识别呼吸道病毒代谢产生的 dsRNA。人工合成的 dsRNA (PIC) 已被证实能够刺激人原代气管上皮细胞、成纤维细胞产生和促进 IL-8、TNF- α 、RANTES、G-CSF 等炎症介质的表

达^[14-15]。本研究发现, PIC 能够从转录及翻译水平上促进人气管上皮细胞趋化因子 IL-8 和 IP-10 的表达增加, 进一步证实气道上皮细胞在启动病毒感染后的气道炎症方面发挥一定作用。



图 4 地塞米松对 PIC(0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 刺激的 16hBE 细胞 IL-8 和 IP-10 蛋白表达的影响

Fig 4 Effect of DEX on IL-8 and IP-10 protein expression in 16hBE cells challenged with PIC (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

PIC: Polyinosinic: polycytidylic acid; DEX: Dexamethasone. A: IL-8 protein; B: IP-10 protein. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PIC (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PIC+0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DEX) group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs control (0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PIC+0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DEX) group; $n=3$, $\bar{x}\pm s$

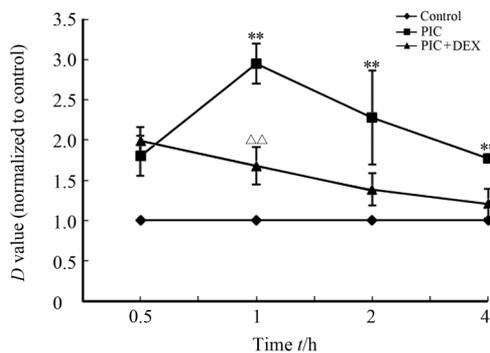


图 5 地塞米松(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)与 PIC(0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)刺激下 16hBE 细胞 NF- κB p65 亚单位的表达

Fig 5 Activation of NF- κB p65 subunit in 16hBE cells challenged with PIC (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and DEX (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)

PIC: Polyinosinic: polycytidylic acid; DEX: Dexamethasone. ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs PIC group. $n=3$, $\bar{x}\pm s$

呼吸道病毒感染是支气管哮喘急性发作的最常见诱因, 其机制尚不十分清楚。研究发现, 气道炎症加重是其中的机制之一^[5]。病毒感染后大量炎症细胞包括中性粒细胞、T 淋巴细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞等局部浸润并活化, 促进炎症因子分泌, 引起黏液分泌增多、血管通透性升高、气道反应性增高, 导致管腔严重狭窄, 引起哮喘急性发作^[5]。这一过程中炎症细胞的趋化因子扮演着重要角色。

IL-8 是一种重要的中性粒细胞趋化因子, 能吸引循环中的中性粒细胞、巨噬细胞及 T 细胞到组织中, 释放溶酶体酶和产生活性氧, 对周围的组织产生损伤, 是启动固有性免疫应答反应的关键因素^[12]。IP-10 作为一种启动抗病毒适应性免疫的主要因子, 趋化血液中具有其受体 CXCR3 的 T 淋巴细胞、嗜酸

性粒细胞等炎症细胞到达炎症部位^[13], 是判断病毒感染导致哮喘发作的标志因子之一。研究发现, 病毒感染后哮喘急性发作患者血清中 IL-8、IP-10 表达水平均较病情稳定时明显升高, 其中 IP-10 的表达水平与气流受限程度明显相关^[16]。Davies 等^[17]发现病毒感染后人外周血单核细胞释放 IL-8 并不增多, 结合本研究结果, 提示气管上皮细胞是病毒感染后趋化因子的主要来源之一, 降低趋化因子的表达来控制哮喘急性发作具有治疗意义。

研究证实, 糖皮质激素能够有效地治疗病毒感染^[10], 其机制与糖皮质激素强大的抗炎作用有关^[18]。本研究结果显示, 地塞米松从基因及蛋白水平均显著抑制 PIC 诱导的气道上皮细胞 IL-8 和 IP-10 的表达, 提示糖皮质激素部分通过抑制趋化因子的表达来发挥治疗作用。这种抑制作用随着激素剂量的增加而增加, 这可部分解释患者在病毒感染后因糖皮质激素使用剂量增加而效果更好这一临床现象^[19]。

PIC 与 TLR3 结合后, 通过激活细胞内 I κ B 激酶 IKK α 和 IKK β , 使 I κ B α 蛋白磷酸化和降解, 促进 NF- κ B 游离释放转位至核内与其他转录因子作用, 从而启动促炎症因子 IL-1、IL-6、IL-8 等基因的转录, 发挥转录调控作用^[20]。研究证实地塞米松能够抑制多种细胞的 NF- κ B 活性^[21]。本研究发现, 地塞米松能够显著抑制 PIC 诱导的 NF- κ B 亚单位 p65 向细胞核内的转移, 提示糖皮质激素抑制 PIC 诱导的趋化因子的表达与抑制 NF- κ B 活化有关。已有研究证实, 地塞米松能够提高 NF- κ B 内源性抑制剂 I κ B α 的合成而抑制 NF- κ B 向核内转移^[22], 而 I κ B 特异性抑制剂能够抑制人气管上皮细胞 dsRNA 诱导的炎症介质表达^[23], 因此, 我们推测本实验中地塞米松的抑制作用与其诱导 I κ B α

的合成表达不无关联,值得深入研究。

在本研究中,我们发现地塞米松发挥作用时间较快,随着时间的延长其抑制作用更加明显。然而与对照组相比,即使是高浓度的地塞米松干预后炎症介质的表达仍高于未经处理的正常气道上皮细胞的表达水平,说明地塞米松不能完全抑制趋化因子 IL-8 和 IP-10 的表达,提示其他的信号通路可能也参与了趋化因子的产生。已有研究发现,PIC 能够激活 p38MAPK、JNK 等信号通路参与 IL-8、TNF- α 的增加^[24]。PIC 刺激人气道上皮细胞后是否有其他信号通路同时参与了趋化因子的产生需要进一步探讨。这一结果也提示患者气道病毒感染后仅用糖皮质激素并不能完全抑制气道黏膜产生的炎症反应,需要联合其他治疗以进一步降低病毒感染诱发的炎症反应。

总之,本研究从体外实验证实糖皮质激素能够抑制 PIC 诱导的人气道上皮细胞趋化因子 IL-8 和 IP-10 的表达,其机制可能与抑制 NF- κ B 活性有关,这些结果提示糖皮质激素可通过抑制气道上皮细胞趋化因子的表达来控制病毒感染所致的哮喘急性发作。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Swindle E J, Collins J E, Davies D E. Breakdown in epithelial barrier function in patients with asthma: identification of novel therapeutic approaches[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124: 23-34.

[2] Torres D, Dieudonné A, Ryffel B, Vilain E, Si-Tahar M, Pichavant M, et al. Double-stranded RNA exacerbates pulmonary allergic reaction through TLR3: implication of airway epithelium and dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2010, 185: 451-459.

[3] Eddleston J, Lee R U, Doerner A M, Herschbach J, Zuraw B L. Cigarette smoke decreases innate responses of epithelial cells to rhinovirus infection[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44: 118-126.

[4] Choi J P, Kim Y S, Tae Y M, Choi E J, Hong B S, Jeon S G, et al. A viral PAMP double-stranded RNA induces allergen-specific Th17 cell response in the airways which is dependent on VEGF and IL-6[J]. *Allergy*, 2010, 65: 1322-1330.

[5] Jackson D J, Johnston S L. The role of viruses in acute exacerbations of asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125: 1178-1187.

[6] Holgate S T, Roberts G, Arshad H S, Howarth P H, Davies D E. The role of the airway epithelium and its interaction with environmental factors in asthma pathogenesis[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2009, 6: 655-659.

[7] Sajjan U, Wang Q, Zhao Y, Gruenert D C, Hershenson M B. Rhinovirus disrupts the barrier function of polarized airway epithelial cells[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178: 1271-1281.

[8] Wark P A, Johnston S L, Bucchieri F, Powell R, Puddicombe S, Laza-Stanca V, et al. Asthmatic bronchial epithelial cells have a

deficient innate immune response to infection with rhinovirus[J]. *J Exp Med*, 2005, 201: 937-947.

[9] Calvén J, Yudina Y, Hallgren O, Westergren-Thorsson G, Davies D E, Brandelius A, et al. Viral stimuli trigger exaggerated thymic stromal lymphopoietin expression by chronic obstructive pulmonary disease epithelium: role of endosomal TLR3 and cytosolic RIG-I-like helicases[J]. *J Innate Immun*, 2012, 4: 86-99.

[10] 贾卫东, 邓西龙, 唐小平, 尹焜标, 张复春, 杨 湛, 等. SARS 治疗中糖皮质激素应用剂量的探讨[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29: 2284-2287.

[11] Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic[J]. *Nature*, 1998, 392: 565-568.

[12] Suzaki I, Asano K, Shikama Y, Hamasaki T, Kanei A, Suzaki H. Suppression of IL-8 production from airway cells by tiotropium bromide *in vitro*[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2011, 6: 439-448.

[13] Cakebread J A, Xu Y, Grainge C, Kehagia V, Howarth P H, Holgate S T, et al. Exogenous IFN- β has antiviral and anti-inflammatory properties in primary bronchial epithelial cells from asthmatic subjects exposed to rhinovirus[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127: 1148-1154. e9.

[14] Ohkuni T, Kojima T, Ogasawara N, Masaki T, Fuchimoto J, Kamakura R, et al. Poly(I:C) reduces expression of JAM-A and induces secretion of IL-8 and TNF- α via distinct NF- κ B pathways in human nasal epithelial cells[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 250: 29-38.

[15] Lam K P, Chu Y T, Lee M S, Chen H N, Wang W L, Tok T S, et al. Inhibitory effects of albuterol and fenoterol on RANTES and IP-10 expression in bronchial epithelial cells[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2011, 22: 431-439.

[16] Wark P A, Bucchieri F, Johnston S L, Gibson P G, Hamilton L, Mimica J, et al. IFN-gamma-induced protein 10 is a novel biomarker of rhinovirus-induced asthma exacerbations[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 120: 586-593.

[17] Davies J M, Carroll M L, Li H, Poh A M, Kirkegard D, Towers M, et al. Budesonide and formoterol reduce early innate antiviral immune responses *in vitro*[J]. *PLoS One*, 2011, 6: e27898.

[18] Skevaki C L, Christodoulou I, Spyridaki I S, Tiniakou I, Georgiou V, Xepapadaki P, et al. Budesonide and formoterol inhibit inflammatory mediator production by bronchial epithelial cells infected with rhinovirus[J]. *Clin Exp Allergy*, 2009, 39: 1700-1710.

[19] Pollart S M, Compton R M, Elward K S. Management of acute asthma exacerbations[J]. *Am Fam Physician*, 2011, 84: 40-47.

[20] Omagari D, Takenouchi-Ohkubo N, Endo S, Ishigami T, Sawada A, Moro I, et al. Nuclear factor kappa B plays a pivotal role in polyinosinic-polycytidylic acid-induced expression of human β -defensin 2 in intestinal epithelial cells[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 165: 85-93.

[21] Amsterdam A, Tajima K, Sasson R. Cell-specific regulation of apoptosis by glucocorticoids: implication to their anti-inflammatory action[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64(5-6): 843-850.

[22] Demchenko Y N, Kuehl W M. A critical role for the NF κ B pathway in multiple myeloma[J]. *Oncotarget*, 2010, 1: 59-68.

[23] Brandelius A, Yudina Y, Calvén J, Bjerner L, Andersson M, Persson C, et al. dsRNA-induced expression of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in asthmatic epithelial cells is inhibited by a small airway relaxant[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, 24: 59-66.

[24] Kimura K, Nomi N, Yan Z H, Orita T, Nishida T. Inhibition of poly(I:C)-induced matrix metalloproteinase expression in human corneal fibroblasts by triptolide[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 526-532.