

IL-36 γ 在哮喘患者血清及支气管上皮细胞中的表达及意义

孟亚奇, 贾 嫒, 姜 洁, 杨 翌, 姚 欣*

南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 江苏 南京 210029

[摘要] **目的:** 研究白细胞介素(interleukin, IL)-36 γ 在支气管哮喘患者血清中的水平及在支气管上皮细胞中的表达, 探讨其在哮喘病情评估中的潜在临床价值。**方法:** 收集24例哮喘患者及24例同期健康志愿者的临床资料及血清标本, 采用酶联免疫吸附实验检测血清IL-36 γ 表达水平, 分析其与肺功能、病情控制水平以及血清IL-13的相关性。采用实时定量PCR法检测人支气管上皮细胞16HBE IL-36 γ 的mRNA表达以及相关炎症因子对该过程的影响。**结果:** 哮喘组血清IL-36 γ 表达水平高于健康对照组[(175.90 \pm 25.70)pg/mL vs. (100.40 \pm 8.49)pg/mL, $P=0.008$], 其表达与肺功能FEV₁/FVC($r=-0.347$, $P=0.016$)、FEV₁%pred($r=-0.454$, $P=0.001$)均呈负相关, 与血清IL-13水平($r=0.611$, $P=0.003$)呈正相关。根据哮喘患者的病情控制水平进行分级, 血清IL-36 γ 主要在未控制组高表达, 明显高于部分控制组($P < 0.05$)、完全控制组($P < 0.05$)及健康对照组($P < 0.001$)。外源重组蛋白IL-13刺激16HBE促进IL-36 γ mRNA呈浓度和时间依赖性表达。**结论:** 哮喘患者血清IL-36 γ 表达增高, 其表达上调可能和IL-13有关, 该蛋白可能是哮喘评估和病情监测的潜在生物学标志物。

[关键词] 支气管哮喘; IL-36 γ ; 支气管上皮细胞

[中图分类号] R562.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)09-1264-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20180918

The expression and significance of IL - 36 γ in serum and bronchial epithelial cells of asthma patients

Meng Yaqi, Jia Man, Jiang Jie, Yang Yi, Yao Xin*

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and clinical significance of interleukin (IL) - 36 γ in serum and bronchial epithelial cells of asthma patients. **Methods:** The levels of serum IL - 36 γ of 24 cases of asthma patients and 24 cases of healthy volunteers were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The effects of asthma-related inflammatory mediators on IL-36 γ expression were examined by real time quantitative PCR in human bronchial epithelial cell line (16HBE). **Results:** The levels of serum IL-36 γ were significantly increased in asthma patients compared with healthy controls [(175.90 \pm 25.70)pg/mL vs. (100.40 \pm 8.49)pg/mL, $P=0.008$]. Specifically, The increased levels of serum IL-36 γ were negatively correlated with the reduced lung function including FEV₁/FVC($r=-0.347$, $P=0.016$) and FEV₁% pred($r=-0.454$, $P=0.001$) and had a positive correlation with serum IL-13 levels ($r=0.611$, $P=0.003$). Moreover, IL-36 γ expression was highest in uncontrolled group of asthma patients than those without asthma ($P < 0.001$) or those with well to partly controlled asthma ($P < 0.05$). *In vitro*, IL-13 treatment induced a dose and time-dependent up-regulation of IL-36 γ mRNA expression in 16HBE. **Conclusion:** Serum IL-36 γ levels are elevated in asthma patients compared with healthy control subjects. Serum IL-36 γ may be a potential novel circulating biomarker for the disease assessment and monitoring of asthma.

[Key words] asthma; IL-36 γ ; bronchial epithelial cell

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(09): 1264-1268, 1274]

[基金项目] 国家自然科学基金(81070025);江苏省医学重点人才项目(ZDRCA2016020)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yaoxin@njmu.edu.cn

支气管哮喘(简称哮喘)是一种以可逆性气流受限为主要特征的慢性气道炎症性疾病,目前全球至少有3亿例哮喘患者,据统计,我国部分省(市)14岁以上人群哮喘患病率可达1.24%,因哮喘发作在过

去1年内的住院率和急诊率可达22.62%和26.99%^[1],有效评估病情有助于了解患者病情变化并及时采取干预措施,从而降低哮喘急性发作风险。目前临床上常用的非侵入性方法主要包括肺功能检查、峰流速仪监测以及呼出气一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)检测等^[2],肺功能检查在我国基层医院尚未得到广泛应用,峰流速仪的日常监测普及率低,而在肺功能出现变化时,病情往往已进入急性发作阶段。因此,进一步寻找灵敏可行的预测指标对哮喘的监测、干预及预后有重要意义。近年来,哮喘患者外周血、痰液或呼出气冷凝液中的相关生物学标志物成为国内外研究热点。

白细胞介素(interleukin, IL)-36是IL-1超家族的一类新成员^[3],包括IL-36 α 、IL-36 β 和IL-36 γ 3种细胞因子,IL-36作用于它们共同的受体IL-36R,募集辅助蛋白IL-1RAcP(IL-1 receptor accessory protein),激活核转录因子NF- κ B和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等相关通路,促进多种炎症介质表达。近期研究发现IL-36在银屑病^[4]、炎症性肠病^[5]及肺部感染^[6]等累及黏膜(或上皮)的炎症性疾病中高度表达,参与上皮组织的炎症反应和病理过程。通过对IL-36家族基因组序列进行检测分析发现,编码IL-36 γ 的基因位于小鼠染色体2的Abhr1位点,该位点与过敏原诱导的气道高反应性有关^[7]。在屋尘螨诱导的动物哮喘模型研究中发现^[8],IL-36 γ 高表达于哮喘小鼠的气道上皮,具有促进气道炎症和诱导气道高反应的作用。本研究拟通过检测哮喘患者外周血IL-36 γ 的表达,探讨血清IL-36 γ 对哮喘病情评估及监测的潜在临床价值,并进一步在细胞实验中研究参与哮喘发病的相关炎症介质对支气管上皮细胞IL-36 γ 表达的影响。

1 对象和方法

1.1 对象

纳入2015年6月—2017年4月就诊于南京医科大学第一附属医院呼吸内科门诊的支气管哮喘患者24例,所有病例均依据2015年全球哮喘防治倡议(Global Initiative For Asthma,GINA)中的诊断标准进行确诊。依据GINA指南的建议对哮喘控制水平进行分级评估,根据患者的症状、用药及肺功能结果等复合指标将患者分为3组:完全控制组、部分控制组和未控制组。同期收集社区24例健康志愿者作为正常对照组,受试者均签署知情同意书,经南京医科大学第一附属医院医学伦理委员会许可。

1.2 方法

1.2.1 临床资料和血清标本收集

入组时收集受试者一般情况、病史、既往史,我院呼吸内科肺功能室进行通气功能检查(V-V曲线)和支气管舒张实验,记录1 s用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV₁)、用力肺活量(forced vital capacity, FVC)等肺功能结果。利用含分离胶/促凝剂的真空采血管采集晨起空腹外周静脉血5 mL,室温静置20 min,3 000 r/min、4 ℃离心10 min,上层血清分装保存于-80 ℃冰箱备用。

1.2.2 酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

参照人IL-36 γ ELISA检测试剂盒(SCL621Hu, 武汉云克隆科技股份有限公司)和人IL-13 ELISA检测试剂盒(CSB-E04601h, 武汉华美生物工程有限公司)说明书进行,将血清和试剂室温平衡1 h,加样(标准品及样本)100 μ L,37 ℃孵育2 h,弃液,加100 μ L检测试剂A,37 ℃孵育1 h,洗板3次,加100 μ L检测试剂B,于37 ℃孵育30 min,洗板5次,加底物溶液90 μ L,37 ℃避光孵育10~30 min,待标准孔显色深度合适时,加入50 μ L终止液,酶标仪中450 nm波长检测每孔光密度值。

1.2.3 支气管上皮细胞的培养和处理

用含10%胎牛血清、1%双抗的RPMI1640培养基培养人支气管上皮细胞株16HBE(北京肿瘤研究所),置于37 ℃、5% CO₂的细胞培养箱中孵育。隔日换液、待细胞长至90%时传代,布板至6孔板,待细胞长至密度80%时用无血清培养基饥饿12 h,准备重组细胞因子(Peprotech公司,美国)处理细胞。分组如下:空白对照组、IL-13刺激组、IL-4刺激组。干预一定时间后采用TRIzol(TaKaRa公司,日本)法提取RNA,核酸紫外分析仪检测其浓度和纯度。

1.2.4 RNA的逆转录和实时定量PCR反应

采用PrimeScript逆转录试剂盒(TaKaRa公司,日本)将RNA逆转录为cDNA,以cDNA为模板采用SYBR Premix PCR试剂盒(TaKaRa公司,日本)中的SYBR Green荧光探针进行实时定量PCR反应,PCR反应体系10 μ L,扩增条件设置如下:95 ℃预变性30 s;95 ℃变性5 s,60 ℃退火30 s,共40个循环;72 ℃延伸10 min,并以熔解曲线检测扩增产物的特异性。以GAPDH为内参,计算2^{- $\Delta\Delta$ CT},比较目的基因相对内参的表达量。引物由南京Realgene公司合成,人GAPDH上游引物5'-AGAAGGCTGGGGCT-CATTTG-3',下游引物5'-AGGGCCATCCACAGTC-

TTC-3';人IL-36 γ 上游引物5'-TAGGACCTCCACCC-TTGAGTC-3',下游引物5'-AATGATGGGCTGCTCTCTCTT-3'。

1.3 统计学方法

应用GraphPad Prism 5进行统计学分析,所有定量资料以均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm S_x$)表示,两组资料间的比较采用独立样本t检验,多组资料之间的比较采用单因素方差分析和Newman-Keuls'多重检验。相关性分析采用Pearson直线相关分析法。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-36 γ 在哮喘患者血清中的表达

对纳入本研究的24例哮喘患者和24例健康对

照者的临床资料进行统计,通过卡方检验或独立样本t检验分析发现,两组性别、年龄、体重指数(body mass index, BMI)无明显差异,哮喘患者的肺功能指标FEV₁/FVC、FEV₁占预计值的百分比(FEV₁%pred)均低于健康对照者,差异有统计学意义($P < 0.001$)。ELISA结果表明,与健康对照者相比,哮喘患者血清中的IL-36 γ 水平增高,差异有统计学意义($P=0.008$,表1)。

2.2 血清IL-36 γ 表达水平与肺功能的相关性分析

分别以FEV₁/FVC、FEV₁%pred为纵坐标,血清IL-36 γ 为横坐标,对所有样本进行血清IL-36 γ 与肺功能指标之间的相关性分析发现,血清IL-36 γ 与FEV₁/FVC($r=-0.347, P=0.016$)、FEV₁%pred($r=-0.454, P=0.001$)均呈负相关,相关性有统计学意义(图1)。

表1 两组患者一般资料及血清IL-36 γ 水平比较

Table 1 Patients' characteristics and serum IL-36 γ levels in two groups

组别	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	FEV ₁ /FVC	FEV ₁ %pred	IL-36 γ (pg/mL)
对照组(n=24)	5/19	48.46 \pm 1.46	24.88 \pm 0.66	76.86 \pm 2.02	91.96 \pm 2.21	100.40 \pm 8.49
哮喘组(n=24)	9/15	46.79 \pm 2.63	23.28 \pm 0.58	69.60 \pm 2.35	71.84 \pm 4.82	175.90 \pm 25.70
P值	0.204	0.582	0.075	0.024	<0.001	0.008

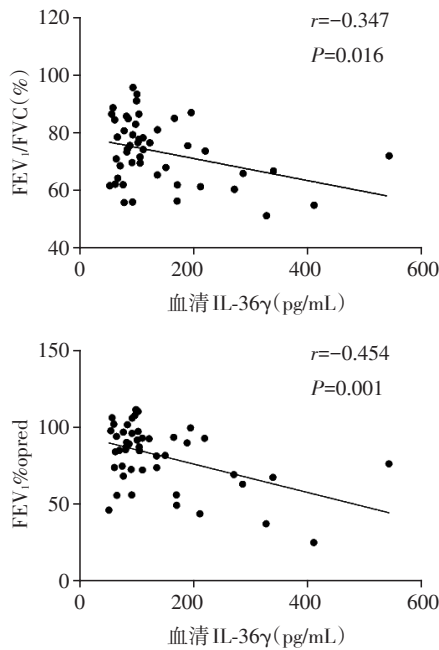


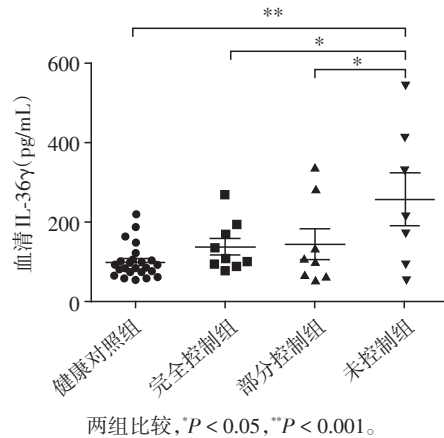
图1 血清IL-36 γ 与肺功能的相关性

Figure 1 The correlation analysis between serum IL-36 γ and lung functions

2.3 血清IL-36 γ 在哮喘患者不同控制水平下的表达水平

根据哮喘病情的控制水平进行分级,血清IL-36 γ

主要在未控制组(n=7)高表达,该组血清IL-36 γ 明显高于部分控制组(n=8)、完全控制组(n=9)及健康对照组(n=24),差异均有统计学意义(图2)。



两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.001$ 。

图2 血清IL-36 γ 在哮喘患者不同控制水平下的表达水平
Figure 2 Serum IL-36 γ in controls and asthma patients with different control conditions

2.4 炎症因子刺激对16HBE中IL-36 γ 表达的影响

分别用IL-4(20 ng/mL)、IL-13(30 ng/mL)处理16HBE细胞12 h,PCR结果表明,与不加任何细胞因子干预的对照组相比,IL-13干预可上调16HBE内

IL-36 γ mRNA 的表达水平($P < 0.01$),而IL-4的刺激对IL-36 γ mRNA 的表达无影响(图3)。

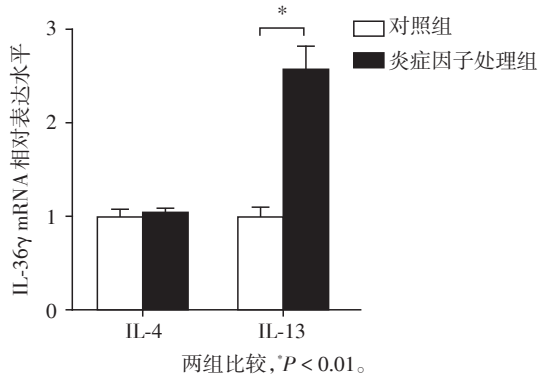
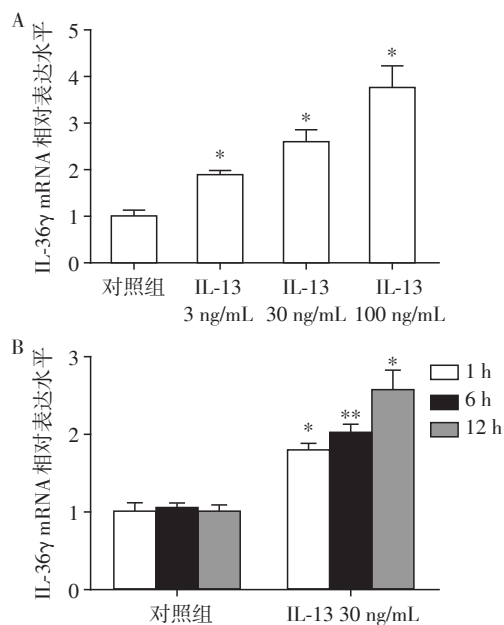


图3 炎症因子刺激对16HBE中IL-36 γ 表达的影响

Figure 3 Effects of inflammatory factors on the expression of IL-36 γ in 16HBE cells

2.5 IL-13干预对16HBE中IL-36 γ 表达的影响

分别用3、30、100 ng/mL的重组IL-13细胞因子处理16HBE细胞12 h,PCR结果表明,与不加IL-13干预的对照组相比,随着IL-13浓度提高,16HBE细胞内IL-36 γ mRNA 的表达逐渐增加(图4A);用30 ng/mL的IL-13分别作用16HBE细胞1、6、12 h,与对照组相比,随着处理时间延长,IL-36 γ mRNA 的表达亦呈逐渐增加趋势,差异均有统计学意义(图4B)。



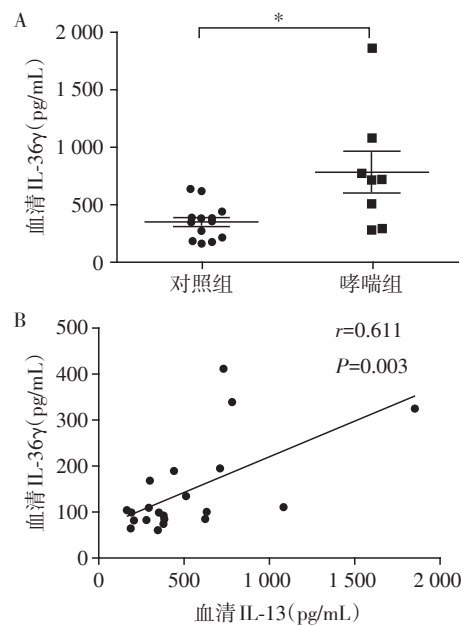
A:不同浓度IL-13处理16HBE细胞12 h,IL-13 γ mRNA 的表达变化;B:30 ng/mL IL-13处理16HBE细胞1、6、12 h,IL-13 γ mRNA 的表达变化;与对照组比较,* $P < 0.01$,** $P < 0.001$ 。

图4 IL-13干预对16HBE细胞中IL-36 γ 表达的影响

Figure 4 Effect of IL-13 stimulation on the expression of IL-36 γ in 16HBE cells

2.6 血清IL-36 γ 与血清IL-13表达水平的相关性分析

根据细胞实验结果,进一步检测样本中血清IL-13表达水平并分析其与IL-36 γ 的相关性。ELISA结果表明,哮喘患者($n=8$)血清中的IL-13 γ 水平较健康对照者($n=13$)增高,差异有统计学意义($P < 0.01$,图5A);以血清IL-13浓度为横坐标,血清IL-36 γ 浓度为纵坐标,进行两者的相关性分析发现,血清IL-36 γ 与血清IL-13呈明显正相关($r=0.611$, $P=0.003$),差异有统计学意义(图5B)。



A:哮喘组与对照组血清IL-36 γ 水平的比较,两组比较,* $P < 0.01$;B:血清IL-13与IL-36 γ 的相关分析。

图5 血清IL-13的表达及其与IL-36 γ 的相关性

Figure 5 The expression of IL-13 in serum of asthma patients and the correlation analysis between serum IL-13 and serum IL-36 γ

3 讨论

IL-36 γ 属于新发现的IL-36细胞因子一员,主要表达于皮肤表层及其他黏膜(上皮)组织,最初研究认为IL-36 γ 主要参与皮肤的炎症反应,在银屑病患者皮损及血清中表达增高^[4]。最近有研究显示IL-36 γ 在肺内表达于气道上皮,在屋尘螨诱导的哮喘小鼠中表达上调^[8],表明该蛋白可能在哮喘发病中发挥一定作用,并在哮喘疾病诊治中具有潜在价值。本研究首次发现IL-36 γ 在哮喘患者血清中表达增高,与患者肺功能指标FEV₁/FVC、FEV₁%pred呈明显负相关,将患者按控制水平分级进一步分析发现,与完全控制和部分控制的患者相比,病情未控

制的患者血清中有较高的IL-36 γ 表达,该结果表明血清IL-36 γ 可反映哮喘患者在非急性发作期的控制状态,有助于为哮喘治疗方案的调整提供指导依据。

研究表明,哮喘小鼠模型中,IL-36 γ 表达上调可促进气道反应性增高、黏液分泌增多和中性粒细胞聚集^[8],但IL-36 γ 增高的原因目前尚不明确,为进一步探索IL-36 γ 增高的上游调控机制,采用Th2型细胞因子IL-4、IL-13体外刺激支气管上皮细胞,发现IL-13可诱导IL-36 γ mRNA表达增高,同时该促进作用呈时间和浓度依赖性。进一步检测血清中的IL-13水平,发现血清IL-13与IL-36 γ 表达水平呈明显正相关。IL-13是促进气道上皮向杯状细胞分化及黏液分泌的主要细胞因子^[9],近期有研究表明气道上皮细胞表达的IL-36 γ 具有促进黏蛋白MUC5AC分泌的作用^[10],而本研究发现IL-13对IL-36 γ mRNA的表达有促进作用,这提示在哮喘发病中,IL-13发挥促黏液分泌作用可能部分地通过调节IL-36 γ 相关途径进行。机制上,IL-13可激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2相关信号并促进黏液分泌^[11],而ERK1/2是IL-36 γ 的上游调控信号之一^[12],因此认为,IL-13可能通过激活ERK1/2上调IL-36 γ mRNA的表达。此外,发现IL-4的刺激对IL-36 γ 表达无明显影响,这和既往研究一致^[13],有文献指出IL-36 γ 可促进CD4⁺T细胞分泌IL-4增多^[14],这提示IL-4是IL-36 γ 的下游调节因子。因此,哮喘患者体内增高的IL-13可能是导致IL-36 γ 表达增加的上游机制之一。

研究表明,IL-36可激活与其他经典IL-1因子类似的细胞内信号,增强体内的免疫应答反应^[3]。特别是在肺部,脂多糖、病毒双链RNA以及细菌等多种病原相关分子模式被Toll样受体识别后,IL-36 γ 可由肺泡巨噬细胞、支气管上皮细胞及肺泡上皮细胞表达和分泌,发挥积极的促炎作用^[13,15-16]。IL-36R敲除可减弱小鼠流感病毒感染导致的肺损伤和死亡^[6],IL-36 γ 和IL-36R敲除降低铜绿假单胞菌感染导致的肺损伤、肺部炎症及病死率^[16]。这表明IL-36 γ 可能作为一种“报警”因子参与防止病菌入侵的黏膜免疫防御机制。

除了病菌以外,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-1 β 、IL-17等Th1细胞炎症因子也是促进支气管上皮细胞表达IL-36 γ 的重要刺激因素^[13]。IL-36 γ 可诱导气道上皮细胞和成纤维细胞产生IL-8、CXCL3和G-CSF等多种中性粒细胞趋化和激活相关的促炎介质^[17],IL-36 γ 对树突状细胞和

T细胞也有积极调控作用^[14]。小鼠骨髓来源的树突状细胞和CD4⁺T淋巴细胞组成型表达IL-36R,树突状细胞在IL-36 γ 诱导下产生IL-6、TNF- α 和IL-23,并增强CD80、CD86和MHC II的表达。IL-36 γ 还促进CD4⁺T细胞产生干扰素- γ 、IL-4和IL-17,这表明IL-36 γ 可能在Th1/Th2反应的平衡之间发挥一定调节作用,从而使IL-36 γ 过表达的哮喘小鼠肺部呈现以中性粒细胞浸润为主的气道炎症^[8]。

哮喘是一种异质性疾病^[2],即存在不同“哮喘表型”,不同表型患者对治疗的反应存在强烈差异,根据患者发病特点区别哮喘亚群,有助于哮喘患者个体化治疗方案的选择。目前研究较成熟的非侵入性标志物主要包括血清IgE、痰嗜酸性粒细胞计数、FeNO、血清IgE以及血清骨膜素,主要反映Th2型免疫驱动的嗜酸性粒细胞型哮喘,有助于指导患者的激素和靶向(如抗IgE、抗IL-5)治疗,以及预测患者对治疗的反应性^[2]。以中性粒细胞气道炎症为表现的非Th2型哮喘对皮质类固醇激素反应性不佳,从而增加重症哮喘、哮喘控制不良及发生急性发作的风险^[18]。然而,用于区分重症哮喘亚型,特别是中性粒细胞型哮喘的理想生物标志物仍待开发。本研究发现血清IL-36 γ 主要在病情未控制的患者中表达增高,虽然没有进一步区分参与本研究哮喘患者的气道炎症类型,IL-36 γ 与病菌入侵、黏膜防御及中性粒细胞炎症的关系至少可能部分地解释了血清IL-36 γ 在未控制患者中升高的原因。在今后研究中,根据患者特点如气道炎症类型、激素敏感性等对哮喘亚型进行分类,将有助于进一步明确血清IL-36 γ 在区分哮喘表型以及指导哮喘个体化治疗的临床价值。

综上所述,本研究表明IL-36 γ 在哮喘患者血清中升高,并和下降的肺功能、病情控制水平以及IL-13血清水平相关,因此血清IL-36 γ 可能有助于识别患有重症哮喘或控制不佳的哮喘患者。IL-13可通过促进人支气管上皮细胞IL-36 γ 的表达,上调哮喘患者体内该蛋白的表达水平。

[参考文献]

- [1] 苏楠,林江涛,刘国梁,等.我国8省市支气管哮喘患者控制水平的流行病学调查[J].中华内科杂志,2014,53(8):601-606
- [2] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.支气管哮喘防治指南(2016年版)[J].中华结核和呼吸杂志,2016,39(9):675-697
- [3] Gabay C, Towne JE. Regulation and function of interleukin

(下转第1274页)

- the chronic malignancies working party and the severe aplastic anemia working party of the european group for blood and marrow transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(9):1448-1450
- [15] Bejar R, Stevenson KE, Caughey B, et al. Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(25):2691-2698
- [16] Greenberg PL, Stone RM, Al-Kali A, et al. Myelodysplastic syndromes, version 2.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(1):60-87
- [17] Montalban -Bravo G, Garcia -Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk - stratification and management [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(1):129-147
- [18] Sun YQ, Chang YJ, Huang XJ. Update on current research into haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Expert Rev Hematol*, 2018, 11(4):273-284
- [19] Robin M, Porcher R, Ciceri F, et al. Haploidentical transplant in patients with myelodysplastic syndrome [J]. *Blood Adv*, 2017, 1(22):1876-1883
- [20] Bacigalupo A, Socie G, Hamladji RM, et al. Current outcome of HLA identical sibling versus unrelated donor transplants in severe aplastic anemia; an EBMT analysis [J]. *Haematologica*, 2015, 100(5):696-702
- [21] Xu LP, Wang SQ, Wu DP, et al. Haplo-identical transplantation for acquired severe aplastic anaemia in a multicentre prospective 37 study [J]. *Br J Haematol*, 2016, 175(2):265-274

[收稿日期] 2018-03-23

(上接第1268页)

- 36 cytokines in homeostasis and pathological conditions [J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 97(4):645-652
- [4] D' Erme AM, Wilsmann-Theis D, Wagenpfeil J, et al. IL-36gamma (IL-1F9) is a biomarker for psoriasis skin lesions [J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(4):1025-1032
- [5] Scheibe K, Backert I, Wirtz S, et al. IL-36R signalling activates intestinal epithelial cells and fibroblasts and promotes mucosal healing *in vivo* [J]. *Gut*, 2017, 66(5):823-838
- [6] Aoyagi T, Newstead MW, Zeng X, et al. IL-36 receptor deletion attenuates lung injury and decreases mortality in murine influenza pneumonia [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(4):1043-1055
- [7] Ramadas RA, Li X, Shubitowski DM, et al. IL-1 Receptor antagonist as a positional candidate gene in a murine model of allergic asthma [J]. *Immunogenetics*, 2006, 58(10):851-855
- [8] Ramadas RA, Ewart SL, Medoff BD, et al. Interleukin-1 family member 9 stimulates chemokine production and neutrophil influx in mouse lungs [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(2):134-145
- [9] Gour N, Wills-Karp M. IL-4 and IL-13 signaling in allergic airway disease [J]. *Cytokine*, 2015, 75(1):68-78
- [10] Bae CH, Choi YS, Na HG, et al. Interleukin (IL) 36 gamma induces mucin 5AC, oligomeric mucus/gel-forming expression via IL-36 receptor-extracellular signal regulated kinase 1 and 2, and p38-nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells in human airway epithelial cells [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2018, 32(2):87-93
- [11] Qin Y, Jiang Y, Sheikh AS, et al. Interleukin-13 stimulates MUC5AC expression via a STAT6 - TMEM16A - ERK1/2 pathway in human airway epithelial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 40:106-114
- [12] Takahashi K, Nishida A, Shioya M, et al. Interleukin (IL)-1beta is a strong inducer of IL-36gamma expression in human colonic myofibroblasts [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11):e138423
- [13] Chustz RT, Nagarkar DR, Poposki JA, et al. Regulation and function of the IL-1 family cytokine IL-1F9 in human bronchial epithelial cells [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(1):145-153
- [14] Vigne S, Palmer G, Lamacchia C, et al. IL-36R ligands are potent regulators of dendritic and T cells [J]. *Blood*, 2011, 118(22):5813-5823
- [15] Kovach MA, Singer BH, Newstead MW, et al. IL-36gamma is secreted in microparticles and exosomes by lung macrophages in response to bacteria and bacterial components [J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 100(2):413-421
- [16] Aoyagi T, Newstead MW, Zeng X, et al. Interleukin -36gamma and IL-36 receptor signaling mediate impaired host immunity and lung injury in cytotoxic *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection: Role of prostaglandin E2 [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(11):e1006737
- [17] Zhang J, Yin Y, Lin X, et al. IL-36 induces cytokine IL-6 and chemokine CXCL8 expression in human lung tissue cells: Implications for pulmonary inflammatory responses [J]. *Cytokine*, 2017, 99:114-123
- [18] Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma [J]. *Eur Respir J*, 2014, 43(2):343-373

[收稿日期] 2018-03-23