

维生素E对哮喘大鼠气道重塑的影响

蹇宇娇,王荣丽*

西南医科大学附属医院呼吸一科,四川 泸州 646000

[摘要] 目的:探讨维生素E对哮喘大鼠气道结构重塑的影响。方法:24只清洁级SD雄性大鼠随机分为对照组、哮喘组和维生素E组,每组8只。哮喘组和维生素E组用卵白蛋白致敏并激发建立哮喘模型,对照组以等量生理盐水处理;第15天起,维生素E组予维生素E 100 mg/(kg·d)灌胃,其余组用等量生理盐水灌胃;第69天激发后处死大鼠,采集血清及肺组织标本。大鼠肺组织行HE染色观察其病理改变,气管壁及平滑肌厚度经计算机图像分析系统检测,ELISA法测定血清缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、基质金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1),免疫组化法测定肺组织MMP-9、TIMP-1表达。结果:哮喘组气管壁及平滑肌厚度较对照组显著增加;维生素E组上述指标较哮喘组有所减轻;与对照组比较,哮喘组血清HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1及肺组织MMP-9、TIMP-1明显增加,而维生素E组上述指标较哮喘组显著减少($P < 0.05$)。结论:维生素E可能经抑制HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1来改善哮喘气道结构重塑。

[关键词] 维生素E;哮喘;缺氧诱导因子-1 α ;基质金属蛋白酶-9;基质金属蛋白酶组织抑制因子-1

[中图分类号] R562.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)10-1365-06

doi:10.7655/NYDXBNS20181007

Effects of vitamin E on airway remodeling in asthma rats

Jian Yujiao, Wang Rongli*

The First Department of Respiratory Medicine, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of vitamin E on airway remodeling in asthma rats. **Methods:** Twenty-four clean grade SD male rats were randomly divided into the control group, the asthma group and the vitamin E group, with 8 in each. The asthma group and the vitamin E group were sensitized and challenged with ovalbumin to establish asthmatic models. The control group was treated with the same amount of saline. From the 15th day, the vitamin E group was fed with vitamin E, 100 mg/(kg·d). The other two groups were fed with equal amount of saline. On day 69, all rats were sacrificed in 24 hours after challenged, then the serum and lung tissue specimen were preserved. The pathological changes of lung tissues were detected by HE staining. The thickness of airway wall and smooth muscle was detected by computer image analysis system. The expression of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in the serum was detected by ELISA. MMP-9 and TIMP-1 in lung tissues were observed by immunohistochemistry. **Results:** Compared with the control group, the thickness of airway wall and smooth muscle in the asthma group significantly increased, while the vitamin E group somehow improved in the above changes when compared with the asthma group. Compared with the control group, the expression of HIF-1 α , MMP-9, TIMP-1 in serum and MMP-9, TIMP-1 in lung tissues in the asthma group significantly increased. while HIF-1 α , MMP-9, TIMP-1 in serum and MMP-9, TIMP-1 in lung tissues in the vitamin E group obviously decreased when compared with the asthma group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Vitamin E may improve airway remodeling in asthma by inhibiting HIF-1 α , MMP-9 and TIMP-1.

[Key words] vitamin E; asthma; hypoxia inducible factor-1 α ; matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor of metalloproteinase-1

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(10):1365-1370]

[基金项目] 四川省教育厅自然科学基金(13ZB0257)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: scybwrl@sina.com

支气管哮喘是常见的慢性异质性疾病,以反复气道炎症、可逆性气流受限和气道高反应性为主要特征。气道结构重塑是其重要病理改变,与疾病严重程度密切相关,包括上皮细胞坏死、基底膜增厚、肌成纤维细胞增生、气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cell, ASMC)肥大增生、气管周围血管增生等结构变化^[1]。大量研究表明,氧化/抗氧化失衡所致的氧化应激是哮喘的重要发病机制之一,氧化应激可以通过影响多种细胞因子及信号通路参与哮喘发病,其中缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)对氧化应激尤为敏感,它与基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)和其特异性抑制因子基质金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)都在哮喘发病中发挥了重要作用^[2-4]。维生素E(vitamin E, VE)为常用的抗氧化剂,对心血管系统、神经系统、生殖系统及皮肤疾病均有一定疗效。新近研究发现VE可以减轻过敏性肺炎的炎症反应,从而减轻气道高反应性,其机制为介导内源性抗氧化酶生成增加,减少肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素(IL)-1b、IL-8、血管内皮细胞黏附分子-1(VCAM-1)等促炎介质^[5-7]。Fukushima等^[8]证实VE可以通过抑制RhoA/Rho激酶途径来抑制ASMC增殖、迁移及向收缩表型分化,同时抑制ASMC介导的细胞外基质的合成。因此VE可能在哮喘气道结构重塑中也有积极影响。本实验用VE干预哮喘大鼠,观察HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1的变化,探讨VE对哮喘气道重塑的影响及可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

维生素E(纯化度99%),购自新昌制药,生产许可编号浙XK13-217-0008;卵白蛋白(ovalbumin, OVA)(北京Solarbio科技有限公司),氢氧化铝Al(OH)₃(成都市科龙化工试剂厂)。大鼠HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1 ELISA试剂盒(上海西唐生物科技有限公司);兔抗HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1多克隆抗体(Bioworld公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 哮喘模型的制作

健康清洁级SD雄性大鼠24只,10周龄,体重(248 \pm 27)g,购自西南医科大学实验动物中心,规范日粮喂养。随机将其分为对照组、哮喘组、维生素E组,每组8只。参考文献[9]方法并加以改良:

①致敏:第1、第8天哮喘组和维生素E组大鼠腹腔注射1 mL 0.1% OVA(1 mg)与Al(OH)₃(100 mg)混合液致敏,对照组用等量生理盐水腹腔注射;②激发:第15天起,哮喘组和维生素E组以1% OVA滴鼻,每侧鼻腔滴入40 μ L,隔日1次,共28次;大鼠出现呛咳、呼吸频率加快、烦躁不安等表现提示激发成功;对照组用等量生理盐水滴鼻。维生素E组在激发前30 min以VE 100 mg/kg(0.1 mL/kg)灌胃,其余组用等量生理盐水灌胃。

1.2.2 取材

第28次激发后,24 h内称重以1%戊巴比妥40 mg/kg腹腔注射麻醉,将大鼠头部及四肢固定,开胸暴露心脏,采用心腔穿刺术取血5 mL于枸橼酸钠抗凝管内,以3 500 r/min离心15 min,分离出血清置于EP管内,立即放入-80 $^{\circ}$ C冰箱中。取血后即刻摘取右肺,置于新鲜配制的4%多聚甲醛中,24 h内石蜡包埋。

1.2.3 肺组织HE染色及气管壁、平滑肌厚度检测

石蜡标本4 μ m切片,苏木素-伊红(HE)染色,在200倍光镜下观察。取6个完整支气管横断面,Image Pro Plus 6.0测量支气管内周径(endobronchial circumference, Pbm)、支气管面积(Wat1)、管腔面积(Wat2)、平滑肌外缘气管面积(Wam1)、平滑肌内缘气管面积(Wam2),分别用(Wat1-Wat2)/Pbm和(Wam1-Wam2)/Pbm表示气管壁厚度(mm)、平滑肌厚度(mm)。

1.2.4 血清HIF-1 α 、MMP-9及TIMP-1 ELISA检测

采用双抗体夹心ABC-ELISA法检测大鼠血清HIF-1 α 、MMP-9及TIMP-1浓度,按照ELISA试剂盒说明操作,在450 nm处测吸光度值,HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1浓度与吸光度值成正比,再通过绘制标准曲线求出血清中HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1浓度。

1.2.5 肺组织MMP-9及TIMP-1免疫组化染色

石蜡标本4 μ m切片,脱蜡,3% H₂O₂室温孵育10 min,蒸馏水洗3次。于已用电煮锅加热沸腾的0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液中,加热、保温各10 min,冷却后PBS洗涤2 min \times 2次,5% BSA封闭,室温20 min。滴加稀释的一抗50 mL,4 $^{\circ}$ C冰箱过夜,后在37 $^{\circ}$ C恒温箱复温45 min,PBS冲洗5 min \times 3次。滴二抗,37 $^{\circ}$ C恒温箱20 min,PBS冲洗2 min \times 3次。滴加试剂SABC,室温20 min,PBS冲洗,再加2滴配制混匀的DAB溶液,室温显色,苏木素复染,0.1%盐酸分化,脱水后封片。于光学显微镜下观察,阳性染色呈棕黄色。每张切片取5个视野,Image Pro

Plus 6.0 检测每个视野下阳性反应的光度值,取其均值(MOD)。

1.3 统计学方法

用 SPSS17.0 软件行数据处理,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示定量数据,用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行多组间比较,若方差齐用LSD法,若不齐则用Dunnett's T3法,q检验行两两比较。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

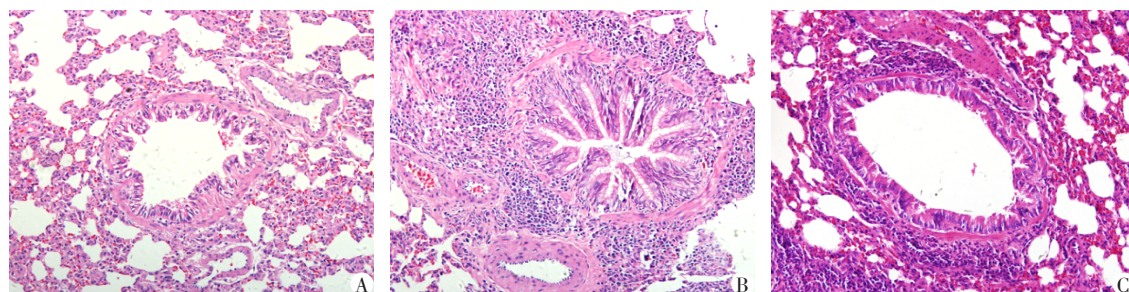
2.1 肺组织病理改变

对照组可见支气管黏膜上皮完好、管腔规则、

肺泡结构完好,无血管及ASM增生,无显著炎细胞浸润(图1A)。哮喘组可见气道上皮坏死脱落、管腔变窄,黏膜腺体增生,ASM增厚,血管壁增厚,支气管黏膜下、间质炎性细胞浸润,肺泡结构严重破坏(图1B)。维生素E组可见少许炎细胞浸润,支气管平滑肌及血管增生与哮喘组相比有所改善,肺泡壁破坏和管腔狭窄程度也有改善(图1C)。

2.2 气管壁和平滑肌厚度比较

哮喘组气管壁和平滑肌厚度均高于对照组;维生素E组以上指标均较哮喘组明显下降,但仍高于对照组,以上差异均有统计学意义($P < 0.05$,表1)。



A:对照组;B:哮喘组;C:维生素E组。

图1 肺组织病理切片(HE,×200)

Figure 1 Lung pathological observation among three groups(HE,×200)

表1 气管管壁和平滑肌厚度

Table 1 Airway wall thickness and smooth muscle thickness among all groups ($n=8, \bar{x} \pm s, \text{mm}$)

组别	气管管壁厚度	平滑肌厚度
对照组	67.46 ± 4.52	20.91 ± 3.26
哮喘组	112.46 ± 8.31 [*]	58.73 ± 4.67 [*]
维生素E组	87.48 ± 3.55 ^{**}	40.67 ± 2.61 ^{**}
F值	119.609	218.801
P值	<0.05	<0.05

与对照组相比,^{*} $P < 0.05$;与哮喘组相比,^{**} $P < 0.05$ 。

2.3 血清MMP-9、TIMP-1及HIF-1α浓度检测

哮喘组血清MMP-9、TIMP-1、HIF-1α均高于对照组($P < 0.05$);维生素E组MMP-9、TIMP-1、HIF-1α均较哮喘组明显下降($P < 0.05$),但仍高于对照组($P < 0.05$,表2)。

2.4 肺组织MMP-9、TIMP-1的表达

哮喘组大鼠肺组织MMP-9、TIMP-1均高于对照组($P < 0.05$);维生素E组MMP-9、TIMP-1较哮喘组均显著下降($P < 0.05$),但仍比对照组高($P < 0.05$);以上差异均有统计学意义(表3,图2、3)。

表2 血清MMP-9、TIMP-1及HIF-1α比较

Table 2 MMP-9, TIMP-1 and HIF-1α expression in serum among three groups ($n=8, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	MMP-9	TIMP-1	HIF-1α
对照组	70.13 ± 36.73	69.50 ± 32.48	73.56 ± 15.68
哮喘组	153.69 ± 36.68 [*]	176.76 ± 26.45 [*]	168.64 ± 14.47 [*]
维生素E组	110.23 ± 48.36 ^{**}	111.06 ± 26.17 ^{**}	115.31 ± 17.18 ^{**}
F值	11.452	28.774	72.677
P值	<0.05	<0.05	<0.05

与对照组相比,^{*} $P < 0.05$;与哮喘组相比,^{**} $P < 0.05$ 。

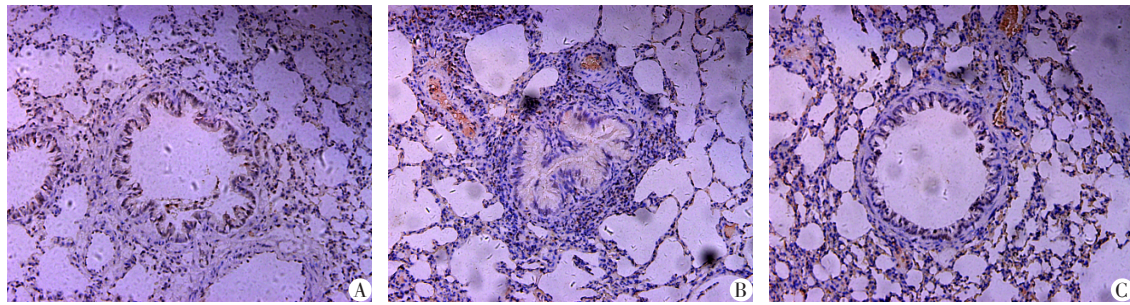
表3 各组肺组织MMP-9、TIMP-1表达

Table 3 MMP-9 and TIMP-1 expression in lung tissues among three groups

($n=8, \bar{x} \pm s, \text{MOD值}$)

组别	MMP-9	TIMP-1
对照组	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.03
哮喘组	0.63 ± 0.03 [*]	0.74 ± 0.04 [*]
维生素E组	0.41 ± 0.04 ^{**}	0.46 ± 0.04 ^{**}
F值	242.273	402.561
P值	<0.05	<0.05

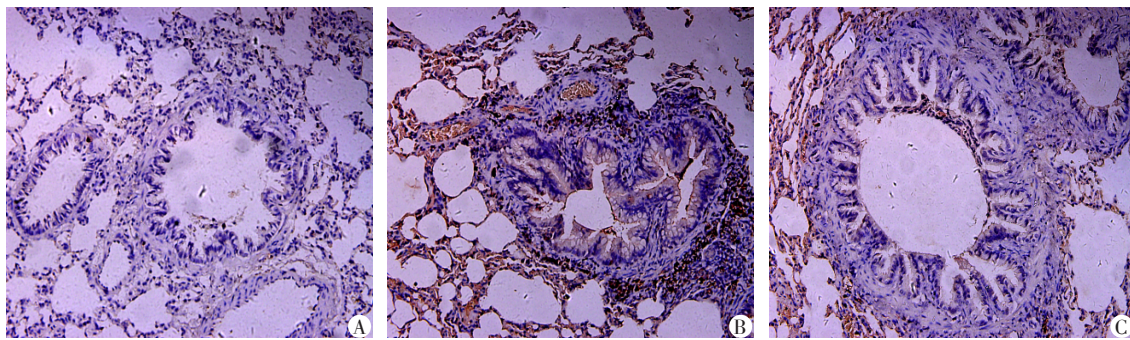
与对照组相比,^{*} $P < 0.05$;与哮喘组相比,^{**} $P < 0.05$ 。



A:对照组;B:哮喘组;C:维生素E组。

图2 肺组织MMP-9的表达(免疫组织化学染色,×200)

Figure 2 MMP-9 expression level among three groups (immunohistochemistry, ×200)



A:对照组;B:哮喘组;C:维生素E组。

图3 肺组织TIMP-1表达(免疫组织化学染色,×200)

Figure 3 TIMP-1 expression level among three groups (immunohistochemistry, ×200)

3 讨论

哮喘的气道慢性炎症可引起气道上皮细胞坏死、黏膜下腺体肥大增生、气道平滑肌增生及肌成纤维细胞增生等,持续的气道管壁慢性损伤与修复交替是引起气道结构重塑的根本原因^[1,10]。现有的哮喘治疗方法,如吸入性糖皮质激素、 β_2 受体激动剂、毒蕈碱受体拮抗剂和白三烯调节剂等,均对气道重塑影响有限^[11]。已知氧化/抗氧化失衡所致的氧化应激是哮喘重要的发病机制,它同时参与气道炎症、气道结构重塑过程,VE具有抗氧化活性,故猜想VE在哮喘气道结构重塑中有一定积极影响。

HIF-1 α 是一种对低氧敏感的转录因子。在常氧条件下,HIF-1 α 亚基持续表达但降解;在低氧时,其降解速度减慢,HIF-1 α 蛋白稳定后向细胞核易位,启动靶基因转录后翻译^[12]。研究表明,HIF-1 α 可以上调多种靶基因的表达,包括多种促炎细胞因子、趋化因子、黏附分子和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等,从而参与哮喘发病^[13]。HIF-1 α 抑制剂(如2-甲氧基雌二醇和HIF-1 siRNA)可改善过敏性气道反应、炎症细

胞浸润和气道高反应,抑制与Th2相关的炎症因子产生,说明HIF-1 α 与气道炎症关系密切,其机制为经磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路调节VEGF表达^[14-15]。Baek等^[16]发现,HIF-1 α 可诱导嗜酸性粒细胞趋化因子-1表达增加,通过增强嗜酸性和中性粒细胞炎症来诱导TGF- β_1 增加,TGF- β_1 可以介导ECM蛋白合成和ASMC深度分化,经由TGF- β_1 /Smad2途径介导肺组织纤维化和ASM增生。

MMP-9是基质金属酶家族中被广泛研究的一种,其本质是糖化蛋白酶,可由嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等产生。MMP-9主要通过分解IV型胶原及其他基质蛋白,发挥组织重塑及修复作用。现有大量研究证实,MMP-9与哮喘慢性气道炎症及气道结构改变关系密切。首先,MMP-9可上调基质相关生长因子(如TGF- β_1)释放致胶原沉积,并诱导炎症细胞通过基底膜和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)发生浸润,进而增强气道炎症反应,加快胶原沉积。其次,它还可降解IV型胶原、层黏连蛋白和弹性蛋白等ECM,诱导释放包括TNF- α 、

VEGF和TGF- β 等在内的多种细胞因子,进而促进血管内皮细胞增生、组织纤维化和ASMC增生肥大等,最终导致气道结构改变^[17-19]。TIMP-1作为MMP-9的生理性特异抑制剂,通常以1:1形式与MMP-9结合,可抑制ECM降解^[20]。有研究表明,在难治性哮喘中,MMP-9往往过度表达,MMP-9/TIMP-1持续不平衡,不仅导致ECM降解和沉积严重紊乱,同时引起炎症细胞迁移、ASMC及成纤维细胞增殖与迁移,最终加重气道重塑^[21]。

VE是一种脂溶性维生素,包含 α 、 β 、 γ 、 δ -生育酚和 α 、 β 、 γ 、 δ -生育三烯酚8种亚型,其中生物活性最高的是 α -生育酚。VE通过清除脂质过氧自由基来阻断活性氧物质(ROS)通过脂质膜的传播、阻止ROS的形成、稳定细胞膜,因而在动脉粥样硬化、糖尿病、癌症、炎症等多种疾病中发挥预防和治疗作用。VE在临床上的应用广泛,现已有研究表明其对哮喘治疗也有一定积极作用^[5-8]。已知多种炎症介质在气道重塑中起重要作用,其中TGF- β 1在诱导细胞外基质蛋白合成和气道平滑肌细胞向收缩型分化中起主导作用,已证实TGF- β 1/Smad2途径参与了哮喘气道结构重塑^[22-23]。RhoA是哮喘气道结构重塑的重要调节因子,RhoA/Rho激酶途径的激活与ASM收缩、增殖和细胞迁移密切相关^[24]。氧化/抗氧化失衡可以激活HIF-1、NF- κ B等对氧化应激敏感的转录因子来启动气道炎症,这些转录因子又介导上皮细胞产生MMP-9、ICAM-1、VCAM-1、TNF- α 、IL-1、IL-8和IL-6等促炎介质,从而参与哮喘发病^[2-3]。已有研究表明,VE可通过抑制RhoA来阻止血小板衍生因子(PDGF)-BB介导的人ASMC增殖和迁移,并下调TGF- β 来阻止ASMC分化和细胞外基质蛋白的合成^[8]。本研究发现,维生素E组气道重塑程度较哮喘组减轻,血清HIF-1 α 表达水平显著降低,提示VE可能通过影响HIF-1 α 而发挥作用。现有研究表明,VE可能通过PI3K/Akt、MAPK或NF- κ B等途径下调HIF-1 α 表达,进而对气道重塑产生影响^[12,25]。本研究还观察到,与哮喘组比,维生素E组气道壁及平滑肌厚度明显减小,血清及肺组织MMP-9、TIMP-1表达均明显降低,故VE还可能经下调MMP-9、TIMP-1的表达对气道结构重塑产生积极作用。有研究发现,VE可能是通过影响HIF-1、NF- κ B或Nrf2等对氧化应激敏感的转录因子的表达,间接下调MMP-9、VCAM-1、TNF- α 等炎症介质来影响气道重塑^[26]。对于TIMP-1,目前已有报道VE可能通过抗氧化作用下调其表达,从而影响胶原沉积和组织纤维化,但

具体机制尚不明确^[27-28]。

总之,VE可能经抑制HIF-1 α 、MMP-9、TIMP-1的表达来改善哮喘气道结构重塑,但其具体机制还需更深入的实验发现。

[参考文献]

- [1] Fehrenbach H, Wagner C, Wegmann M. Airway remodeling in asthma: what really matters [J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 367(3): 551-569
- [2] Bao A, Yang H, Ji J, et al. Involvements of p38 MAPK and oxidative stress in the ozone-induced enhancement of AHR and pulmonary inflammation in an allergic asthma model [J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 216
- [3] Wu S, Li X, Li H, et al. IL-1 β upregulates Muc5ac expression via NF- κ B-induced HIF-1 α in asthma [J]. *Immunol Lett*, 2017, 192(1): 20-26
- [4] Grzela K, Litwiniuk M, Zagorska W, et al. Airway remodeling in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: the role of matrix metalloproteinase-9 [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(1): 47-55
- [5] Burbank AJ, Duran CG, Burns P, et al. Gamma tocopherol-enriched supplement reduces sputum eosinophilia and endotoxin-induced sputum neutrophilia in volunteers with asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1231-1238
- [6] Cook-Mills JM, Abdala-Valencia K, Hartert T. Two faces of vitamin E in the lung [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(3): 279-284
- [7] Matsunaga T, Shoji A, Gu N, et al. γ -Tocotrienol attenuates TNF- α -induced changes in secretion and gene expression of MCP-1, IL-6 and adiponectin in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(4): 905-909
- [8] Fukushima T, Yamasaki A, Harada T, et al. γ -Tocotrienol inhibits TGF- β 1-induced contractile phenotype expression of human airway smooth muscle cells [J]. *Yonago Acta Med*, 2017, 60(1): 16-23
- [9] 强巴措珍, 谢亮, 范志宇, 等. Hes-1与哮喘大鼠气道炎症和重塑的关系研究 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16(6): 648-653
- [10] Russell RJ, Brightling C. Pathogenesis of asthma: implications for precision medicine [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2017, 131(14): 1723-1735
- [11] Berair R, Brightling CE. Asthma therapy and its effect on airway remodeling [J]. *Drugs*, 2014, 74: 1345-1369
- [12] Mo JH, Kim JH, Lim DJ, et al. The role of hypoxia-inducible factor 1 α in allergic rhinitis [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2014, 28(2): e100-e106
- [13] Huerta-Yepe S, Baay-Guzman GJ, Bebenek IG, et al. Hy-

- poxia inducible factor promotes murine allergic airway inflammation and is increased in asthma and rhinitis[J]. *Allergy*, 2011, 66(7):909-918
- [14] Choi YH, Jin GY, Li LC, et al. Inhibition of protein kinase C delta attenuates allergic airway inflammation through suppression of PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 alpha/VEGF pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e81773
- [15] Kim SR, Lee KS, Park HS, et al. HIF-1 α inhibition ameliorates an allergic airway disease via VEGF suppression in bronchial epithelium [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(10):2858-2869
- [16] Baek KJ, Cho JY, Rosenthal P, et al. Hypoxia potentiates allergen induction of HIF-1 α , chemokines, airway inflammation, TGF- β 1, and airway remodeling in a mouse model [J]. *Clin Immunol*, 2013, 147(1):27-37
- [17] Chaudhuri R, McSharry C, Brady J, et al. Low sputum MMP-9/TIMP ratio is associated with airway narrowing in smokers with asthma[J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(4):895-904
- [18] Liu P, Wilson MJ. MiR-520c and miR-373 upregulate MMP9 expression by targeting mTOR and SIRT1, and activate the Ras/Raf/MEK/Erk signaling pathway and NF- κ B factor in human fibrosarcoma cells[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(2):867-876
- [19] Barbaro MP, Spanevello A, Palladino GP, et al. Exhaled matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in different biological phenotypes of asthma[J]. *Eur J Intern Med*, 2014, 25(1):92-96
- [20] Yeo NK, Eom DW, Oh MY, et al. Expression of matrix metalloproteinase 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in nonrecurrent vs recurrent nasal polyps [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2013, 111(3):205-210
- [21] Goleva E, Hauk PJ, Boguniewicz J, et al. Airway remodeling and lack of bronchodilator response in steroid-resistant asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 120(5):1065-1072
- [22] Prakash YS. Airway smooth muscle in airway reactivity and remodeling: what have we learned [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 305(12):L912-L933
- [23] Al - Alawi M, Hassan T, Chotirmall SH. Transforming growth factor β and severe asthma: a perfect storm [J]. *Respir Med*, 2014, 108(10):1409-1423
- [24] Possa SS, Charafeddine HT, Righetti RF, et al. Rho-kinase inhibition attenuates airway responsiveness, inflammation, matrix remodeling, and oxidative stress activation induced by chronic inflammation [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(11):L939-L952
- [25] Chen X, Li YY, Zhang WQ, et al. House dust mite extract induces growth factor expression in nasal mucosa by activating the PI3K/Akt/HIF-1 α pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(4):1055-1061
- [26] Shin YS, Kim MA, Pham LD, et al. Cells and mediators in diisocyanate-induced occupational asthma [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2013, 13(2):125-131
- [27] Malaguarnera M, Motta M, Vacante M, et al. Silybin-vitamin E-phospholipids complex reduces liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon α and ribavirin [J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(11):2510-2518
- [28] Mezey E, Liu X, Potter JJ. The combination of selenium and vitamin E inhibits type I collagen formation in cultured hepatic stellate cells [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2011, 140(1):82-94

[收稿日期] 2018-02-27