

· 全科医学论著 ·

哮喘小鼠 CD34⁺ 祖细胞和嗜酸性粒细胞的动态变化及其与 CCR3/eotaxin 表达的关系

李小波, 张蓉映, 王斌梁, 杨再兴, 任应鹏

台州市第一人民医院呼吸内科, 浙江 台州 318020

摘要:目的 观察不同时间点 CD34⁺ 祖细胞和嗜酸性粒细胞在哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)、外周血、骨髓悬液中的动态变化过程,探讨 CD34⁺ 祖细胞、嗜酸性粒细胞、CCR3/eotaxin 与哮喘小鼠肺部炎症的关系。**方法** 以 C57BL/6 小鼠为研究对象,以卵白蛋白作为抗原建立哮喘模型,于最后一次抗原激发后 6、12、24、48 h 检测 BALF、外周血和骨髓中的嗜酸性粒细胞、CD34⁺ 祖细胞、eotaxin 的变化,检测 CD34⁺ 祖细胞上 CCR3 的表达;行肺组织病理切片观察嗜酸性粒细胞浸润;PCR 检测肺组织 CCR3 和 eotaxin mRNA 水平。**结果** 抗原激发后嗜酸性粒细胞数、CD34⁺ 细胞数、CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数在 BALF、外周血、骨髓悬液中有不同程度的增加。模型组 BALF 的 eotaxin 水平在抗原激发后 6 h 与对照组相比有明显增加($P < 0.05$),并一直持续到 24 h。外周血和骨髓悬液中 eotaxin 水平与对照组相比差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。模型组各时间点肺组织 eotaxin mRNA 和 CCR3 mRNA 的表达与对照组相比均有明显增加。BALF 中嗜酸性粒细胞数分别与骨髓悬液中嗜酸性粒细胞数、CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数呈正相关,而与骨髓悬液中 CD34⁺ 细胞数无明显相关性。**结论** ①哮喘小鼠气道局部嗜酸性粒细胞增多与骨髓 CD34⁺ 祖细胞上 CCR3 表达上调有关。②CCR3/eotaxin 参与 CD34⁺ 祖细胞分化和趋化,与哮喘小鼠气道嗜酸性粒细胞浸润密切相关。

关键词:哮喘;CCR3/eotaxin;嗜酸性粒细胞;CD34⁺ 祖细胞

中图分类号: R562.25 R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-4152(2019)08-1261-05

DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.000916

Dynamic changes of CD34⁺ progenitor cells and eosinophils in asthmatic mice and their relationship with CCR3/eotaxin expression

LI Xiao-bo, ZHANG Rong-ying, WANG Bin-liang, et al.

Department of Respiratory Medicine, Taizhou First People's Hospital, Taizhou, Zhejiang 318020, China

Abstract: Objective The dynamic changes of eosinophils, CD34⁺ progenitor cells, eotaxin and CCR3 expression in BALF, peripheral blood, bone marrow suspension of asthmatic mice were studied by asthma model. This study aims to investigate the relationship between airway eosinophil inflammation and CD34⁺ progenitor cells and CCR3/eotaxin in asthmatic mice. **Methods** C57BL/6 mice were used to establish asthma model with ovalbumin as antigen. The changes of eosinophils, CD34⁺ progenitor cells and eotaxin in BALF, peripheral blood and bone marrow were detected 6 hours, 12 hours, 24 hours and 48 hours after the last antigen challenge, and the expression of CCR3 on CD34⁺ progenitor cells was detected. Lung biopsy was used to observe eosinophil infiltration. Lung tissue CCR3 and eotaxin mRNA levels were detected by PCR. **Results** The results showed that eosinophils, CD34⁺ cells and CD34⁺/CCR3⁺ cells were increased in BALF, peripheral blood and bone marrow suspension. The eotaxin level of BALF in the model group increased significantly at 6 h compared with the control group ($P < 0.05$), and lasted until 24 h. The level of eotaxin in peripheral blood and bone marrow suspension was not significantly different from that in the control group (all $P > 0.05$). The expression of eotaxin mRNA and CCR3 mRNA in lung tissue of model group increased significantly at each time point compared with control group. The number of eosinophils in BALF was positively correlated with the number of eosinophils and CD34⁺/CCR3⁺ cells in bone marrow, but not with the number of CD34⁺ cells in bone marrow. **Conclusion** ①The increase of eosinophils in airway of asthmatic mice is related to the up-regulation of CCR3 expression in bone marrow CD34⁺ progenitor cells. ②CCR3/eotaxin participates in the differentiation and chemotaxis of CD34⁺ progenitor cells. It is closely related to airway eosinophil infiltration in asthmatic mice.

Key words: Asthma; CCR3/eotaxin; Eosinophil; CD34⁺ progenitor

支气管哮喘是一种以气道嗜酸性粒细胞等炎症细胞浸润为病理特征和气道高反应性为生理特征的慢性炎症性疾病^[1]。其中嗜酸性粒细胞(eosinophil, Eos)

在哮喘的发病中具有重要的作用^[2]。Eos 由骨髓 CD34⁺ 祖细胞分化而来,哮喘患者受过敏原刺激后, Th2 细胞被迅速活化并分泌大量的细胞因子。在 IL-5、eotaxin 等因子作用下,骨髓 CD34⁺ 祖细胞可增殖产生新的 CD34⁺ 祖细胞并分化为成熟的 Eos,进而迁移到血液循环和支气管黏膜^[3],而骨髓 CD34⁺ 祖细胞被激

基金项目:国家自然科学基金项目(81470215);浙江省台州市科技计划项目(162yw05)

通信作者:李小波, E-mail: 461346403@qq.com

活后,也可以先迁移到外周血和支气管黏膜,并增殖产生新的 CD34⁺ 祖细胞,然后分化为 Eos,成为局部 Eos 的重要来源^[4,5]。目前对 Eos 和 CD34⁺ 祖细胞上述迁移的具体机制尚不明了,CCR3/eotaxin 路径可能是参与这一过程的重要路径。eotaxin 是一种特异性的嗜酸性粒细胞趋化因子,CCR3 是其主要的受体,CCR3 高表达于 Eos 表面,Eotaxin 与 Eos 表面的 CCR3 受体结合,可能参与 Eos 从骨髓到血液循环再到炎症器官的游走过程^[6]。国外学者报道,CCR3 也存在于人骨髓 CD34⁺ 祖细胞表面,其研究显示,哮喘患者受过敏原刺激后 CD34⁺ 祖细胞表面 CCR3 的表达显著增加,且 CCR3 表达增加可能利于细胞因子介导的骨髓 CD34⁺ 祖细胞的增殖、活化以及向血液循环释放。本文通过观察不同时间点 CD34⁺ 祖细胞和嗜酸性粒细胞在哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)、外周血、骨髓悬液中的动态变化过程,探讨 CD34⁺ 祖细胞、嗜酸性粒细胞、CCR3/eotaxin 与哮喘小鼠肺部炎症的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料 健康雄性 C57BL/6 小鼠,清洁级,6~8 周龄,体重 18~22 g,购自浙江大学医学院实验动物中心。卵白蛋白(OVA)购自 Pierce 公司,液态铝购自 Sigma 公司,流式细胞仪为美国 BD 公司制造,Rat anti-mouse CCR3-FITC mAb 购自 BD 公司,Rat anti-mouse CD34-PE mAb 购自 R&D 公司,ELISA 试剂盒购自 R&D 公司,Trizol 抽提试剂购自 Invitrogen 公司,PCR 引物和 DNA Marker 购自上海生工公司,逆转录酶和 Taq 酶购自 Promega 公司。

1.2 哮喘模型制备和实验分组 C57BL/6 小鼠 48 只,随机等分为模型组($n=24$)和对照组($n=24$),每组再等分为 6、12、24、48 h 四组,每组 6 只。参照 XIA L X 等^[7]方法造模,即:第 0 天与第 14 天,模型组小鼠腹腔注射 0.2 mL 的 OVA 致敏,对照组注射等量生理盐水。第 24、25、26 天,将小鼠置于 40 cm×40 cm×40 cm 大小的密闭清洁容器中,模型组以 1% OVA 溶液 10 mL 雾化吸入,1 次/d,每次 40 min,对照组以等量生理盐水雾化。造模过程顺利,期间无小鼠异常死亡、失踪等情况发生。分别于最后一次抗原激发后 6、12、24、48 h 眼球放血处死小鼠。

1.3 标本收集 ①外周血(PB):小鼠以 1 000 U/mL 肝素钠 0.2 mL 腹腔注射抗凝,以 1% 戊巴比妥钠 0.2 mL 腹腔注射麻醉,然后眼球放血 0.6 mL 处死。制备血涂片 2 张。另取少量在 4℃ 下 2 000 r/min(离心半径 12 cm)离心 10 min,吸出上清待检。②支气管肺泡灌洗液(BALF):将小鼠固定,切开颈前皮肤暴露气管,做一横形切口,插入 16G 插管针。结扎右肺门,以 0.5 mL 的 PBS 注入左支气管,反复灌洗 4 次,回收要求

80% 以上。取适量灌洗液做流式细胞分析,余以 4℃ 下 2 000 r/min(离心半径 12 cm)离心 10 min,收集上清液待检,细胞沉淀稀释后制备细胞甩片 2 张。③骨髓悬液(BM):酒精浸泡消毒,剪开小鼠右腿皮肤,分离出股骨,截断股骨两端,以 1.5 mL HBSS 缓冲液反复冲洗骨髓腔,直至骨髓腔呈白色透明,取适量悬液行流式细胞分析,余在 4℃ 下 2 000 r/min(离心半径 12 cm)离心 10 min,收集上清液待检,细胞沉淀稀释后制备细胞甩片 2 张。④肺病理染色:4% 中性甲醛从气管插管灌入左肺行内固定,然后将左肺浸入 4% 中性甲醛外固定。肺组织石蜡包埋,切片后行 HE 染色,显微镜观察 Eos 浸润情况。

1.4 计数各组标本 Eos 数 细胞甩片行瑞-姬染色,显微镜下每个标本计数 400 个白细胞,并计数其中 Eos 数,计数采用单盲法,由专人完成。

1.5 流式细胞仪检测 CD34⁺ 细胞数以及 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数 各试管加入 CD34-PE 和 CCR3-FITC 单抗各 20 μL,并设阴性对照,加等量 Isotype control。取各样本 100 μL 加入试管,混匀,室温避光静置 45 min;分别加入溶血剂 1 mL,室温静置 10 min;4℃ 下 2 000 r/min(离心半径 12 cm)离心 10 min,弃上清,加入 1 mL PBS,混匀;4℃ 下 2 000 r/min(离心半径 12 cm)离心 5 min,弃上清,加入 1 mL PBS,混匀;再加入 1% 聚缩醛固定液 1 mL,混悬;上流式细胞仪检测。

1.6 肺组织 CCR3 和 eotaxin mRNA 的检测 采用 RT-PCR 法。eotaxin 正向引物:5-GCAGT AACTT CCATC TGTCT CC-3,反向引物:5-TAAAA CGCAG CT-CAG TAACA GTCCG-3。CCR3 正向引物:5-TCATA AGTAC CTGGA GGG-3,反向引物 5-CTATT TGGTA TGTGA GGG-3。β-actin 正向引物:5-TGGAA TCCTG TGGCA TCCAT GAAAC-3,反向引物:5-TAAAA CG-CAG CTCAG TAACA GTCCG-3。PCR 溶液体系:10× buffer 5 μL,10M dNTP 1 μL,Taq 酶 0.5 μL,引物 2 μL(正向引物 1 μL、反向引物 1 μL),25M 氯化镁 4 μL,模板 cDNA 3 μL,ddH₂O 补至 50 μL。按下列条件在 PCR 仪上扩增:95℃ 5 min 预变性后进入循环,反应参数为:95℃ 30 s,相应退火温度退火 30 s,72℃ 45 s。凝胶数字成像系统分析扩增条带,测定各条带 A 值,将各目的条带与内参照条带的 A 值比值作为 mRNA 水平的指标。

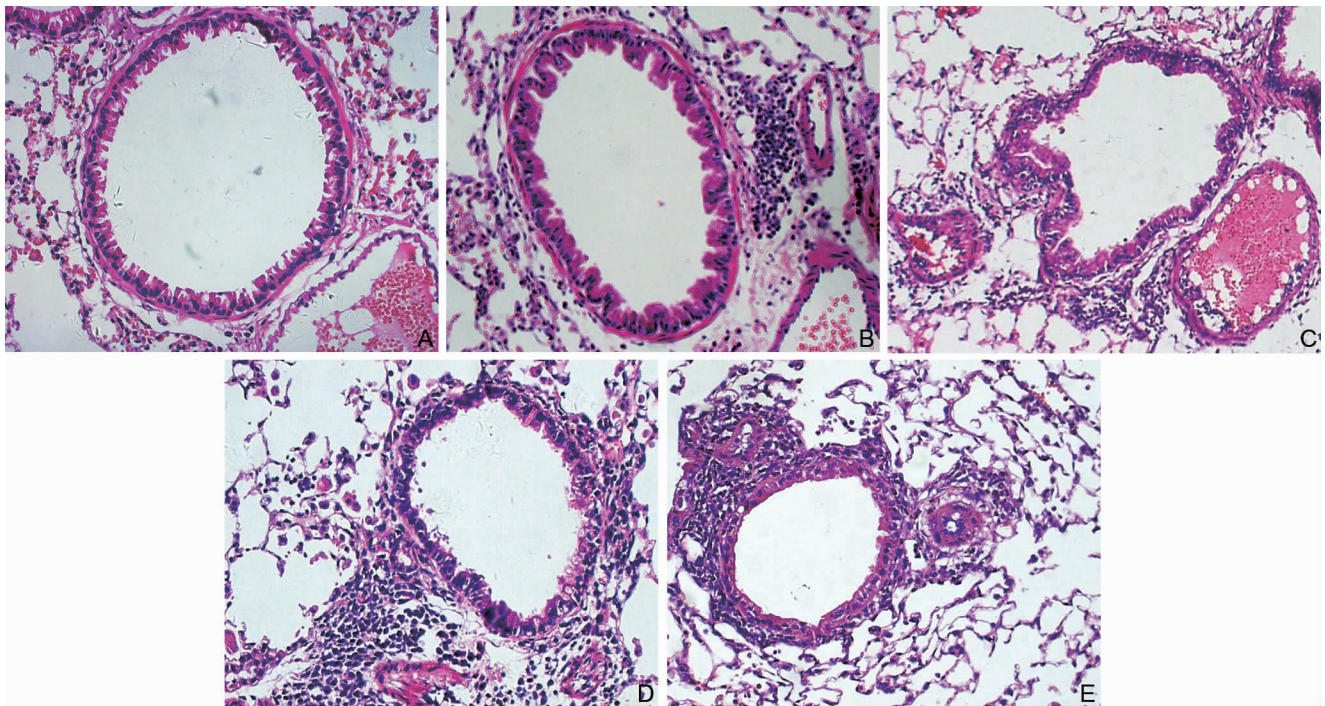
1.7 统计学方法 实验数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。相关分析部分采用双变量相关分析(Pearson 相关分析),以 $P < 0.05$ 作为显著性相关水平。

2 结果

2.1 肺组织病理结果 对照组:气道上皮以及肺泡组

织结构完整,血管、气道、肺泡组织周围均未发现明显嗜酸性粒细胞浸润。模型组:血管周围、气道周围以及

肺泡组织间隔见大量嗜酸性粒细胞浸润,且嗜酸性粒细胞浸润程度随时间增长呈逐渐增强趋势,见图1。



注:A、B、C、D、E 分别为对照组和模型组 6、12、24、48 h 肺组织。

图1 小鼠肺组织病理结果(HE染色, ×400)

2.2 各时间点 BALF、外周血、骨髓悬液中 Eos、CD34⁺ 细胞、CD34⁺/CCR3⁺ 细胞计数比较 Eos 检测显示,模型组 BALF 在抗原激发后 6、12、24、48 h 可见 Eos 数均明显增加,与对照组相比差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),且 Eos 数随时间增长有逐渐增加趋势。模型组外周血中 Eos 数在抗原激发后 6、12 h 与对照组比较无明显差异,而在 24、48 h 与对照组相比 Eos 数显著增多(均 $P < 0.01$)。骨髓悬液 Eos 数在 24、48 h 时显著高于对照组(均 $P < 0.01$),见表 1。

CD34⁺ 细胞检测显示,模型组 BALF 中的 CD34⁺ 细胞数在抗原激发后 12、24、48 h 明显增加,与对照组相比差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。而模型组外

周血中 CD34⁺ 细胞数在抗原激发后 48 h 才有明显增加($P < 0.01$)。模型组骨髓悬液中 CD34⁺ 细胞数在各时间点和对照组相比均差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 2。

CD34⁺/CCR3⁺ 细胞检测显示,抗原激发后 12 h,模型组 BALF 中的 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数明显增多,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),这种优势延续到 48 h($P < 0.01$)。模型组外周血中 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数在抗原激发后 12、24、48 h 与对照组相比有显著增加(均 $P < 0.05$)。同样,模型组骨髓悬液 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数在 12、24、48 h 时与对照组相比显著增加(均 $P < 0.05$),见表 3。

表 1 2 组小鼠各时间点 BALF、外周血、骨髓悬液中 Eos 计数($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	BALF(×10 ⁶ /L)				PB(×10 ⁷ /L)				BM(×10 ⁷ /L)			
		6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h
模型组	24	1.15±0.21 ^a	3.53±0.89 ^a	8.63±2.56 ^a	19.71±5.21 ^a	11.79±2.34	10.27±4.34	22.44±5.95 ^a	32.04±5.77 ^a	20.29±4.34	33.62±3.53	41.99±7.33 ^a	64.71±4.74 ^a
对照组	24	0.08±0.04	0.09±0.05	0.04±0.04	0.07±0.06	7.23±4.14	8.47±3.58	5.20±1.51	6.24±2.63	22.24±1.76	25.70±6.52	25.09±6.44	20.03±2.89

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$ 。各时间点分别为 6 只。

表 2 2 组小鼠各时间点 BALF、外周血、骨髓悬液中 CD34⁺ 细胞数($\bar{x} \pm s$, ×10⁶/L)

组别	只数	BALF				PB				BM			
		6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h
模型组	24	1.45±0.56	2.56±0.94 ^a	4.88±1.65 ^b	7.14±1.67 ^b	6.51±1.73	10.4±3.49	8.99±3.08	10.38±1.60 ^b	54.29±15.45	86.78±12.78	70.43±21.40	68.83±11.47
对照组	24	0.58±0.24	0.45±0.09	0.80±0.14	0.76±0.16	6.78±1.61	4.73±2.93	5.54±2.88	3.66±0.66	46.70±16.69	54.81±8.74	52.99±9.32	35.40±11.41

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。各时间点分别为 6 只。

2.3 肺组织 eotaxin 和 CCR3 mRNA 在不同时间点的表达 RT-PCR 检测显示,模型组小鼠肺组织 eotaxin

和 CCR3 mRNA 水平在抗原激发后 6、12、24、48 h 均有明显增加(均 $P < 0.05$),见表 4。

2.4 ELISA 检测不同时间点 BALF、外周血、骨髓中 eotaxin 的表达 ELISA 检测显示,抗原激发后 6 h,模型组 BALF 中 eotaxin 浓度与对照组相比显著升高 ($P < 0.05$),并一直持续到 24 h。48 h 后 eotaxin 已基

本回落,与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。外周血和骨髓中 eotaxin 浓度在各时间点与对照组比较均差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 5。

表 3 2 组小鼠各时间点 BALF、外周血、骨髓悬液中 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	BALF($\times 10^7/L$)				PB($\times 10^6/L$)				BM($\times 10^7/L$)			
		6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h
模型组	24	1.44±0.56	2.42±0.91 ^a	4.73±1.66 ^a	6.57±1.54 ^b	8.36±1.95	15.66±3.25 ^a	13.97±4.27 ^a	15.29±2.83 ^b	20.14±7.16	38.33±4.29 ^a	30.15±7.58 ^a	29.14±5.41 ^a
对照组	24	0.54±0.23	0.41±0.08	0.74±0.16	0.72±0.16	5.87±0.67	2.60±0.81	3.37±1.09	3.49±0.98	5.86±1.14	9.92±1.16	5.15±0.82	8.44±2.78

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。各时间点分别为 6 只。

表 4 2 组小鼠各时间点肺组织 eotaxin mRNA 和 CCR3 mRNA 的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	eotaxin mRNA				CCR3 mRNA			
		6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h
模型组	24	1.14±0.10 ^a	0.79±0.07 ^a	0.81±0.06 ^a	0.65±0.11 ^a	0.61±0.05 ^a	0.75±0.06 ^a	0.79±0.08 ^a	0.77±0.04 ^a
对照组	24	0.40±0.08	0.36±0.06	0.39±0.07	0.41±0.06	0.29±0.03	0.32±0.06	0.27±0.07	0.31±0.07

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$ 。各时间点分别为 6 只。

表 5 2 组小鼠各时间点 BALF、外周血、骨髓中 eotaxin 的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	BALF(pg/mL)				PB($\times 10^2$ pg/mL)				BM(pg/mL)			
		6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h	6 h	12 h	24 h	48 h
模型组	24	9.28±2.06 ^a	6.41±2.05 ^a	5.27±1.02 ^a	2.66±1.69	16.78±3.86	17.36±1.93	12.97±1.18	14.31±2.86	36.58±3.25	41.45±3.18	30.12±3.09	34.84±4.56
对照组	24	1.53±1.03	0.86±0.50	1.73±0.71	1.65±0.87	16.39±3.12	15.84±5.81	15.82±3.35	12.52±2.59	33.62±6.86	36.52±2.60	28.73±3.31	29.12±7.76

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$ 。各时间点分别为 6 只。

2.5 BALF 中 Eos 数与骨髓 Eos 数、CD34⁺ 细胞数、CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数的相关性分析 对各组数据行双变量相关分析(Pearson 相关分析), $P < 0.05$ 作为显著性相关水平,分析显示,BALF 中 Eos 数分别与骨髓悬液中 Eos 数、骨髓悬液 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数呈显著正相关(均 $P < 0.001$),而与骨髓悬液中 CD34⁺ 细胞数无明显相关性($P > 0.05$),见表 6。

表 6 BALF 中 Eos 计数与其他细胞学计数的相关性分析

指标	相关系数(r)	P 值
BALF 中 Eos 计数		
BM 中 Eos 计数	0.611	<0.001
BM 中 CD34 ⁺ 细胞	0.291	0.062
BM 中 CD34 ⁺ /CCR3 ⁺ 细胞数	0.585	<0.001

3 讨论

嗜酸性粒细胞在气道的局部浸润是支气管哮喘特征性的病理改变,其不但可以导致气道上皮损伤、黏膜破坏,还是造成气道高反应的重要炎症细胞^[8]。研究显示,哮喘患者接触过敏原后嗜酸性粒细胞向气道局部逐渐募集,此过程涉及一系列的炎症反应,包括嗜酸性粒细胞和其祖细胞活化、分化、增殖等,并逐步自骨髓系统经外周血到气道迁移和聚集,最后引发气道高反应,导致哮喘的发生^[9-10]。研究显示,嗜酸性粒细胞由 CD34⁺ 祖细胞分化而来,当哮喘患者接触过敏原后, Th2 细胞迅速激活并分泌相关的细胞因子,如 IL-5、Eotxin 等,在这些细胞因子的作用下,骨髓中的 CD34⁺ 祖细胞不断的增殖,逐渐分化成为成熟的嗜酸性粒细胞,并经血液循环募集到气道黏膜局部^[11-12]。

本研究发现,最后一次抗原激发 12 h 后骨髓中表达 CCR3 的 CD34⁺ 祖细胞开始有明显的增加,一直持续到 48 h,与此同时,外周血和 BALF 中 CCR3⁺ CD34⁺ 细胞数有明显增加,其变化规律与 BALF 中嗜酸性粒细胞数的变化基本一致。相关性分析也显示, BALF 中嗜酸性粒细胞数分别与骨髓嗜酸性粒细胞数、骨髓悬液 CD34⁺/CCR3⁺ 细胞数呈显著正相关,这表明,气道局部嗜酸性粒细胞的浸润与骨髓 CCR3⁺ CD34⁺ 细胞之间存在着密切关联,哮喘小鼠可能通过上调 CD34⁺ 细胞上 CCR3 的表达来促进 CD34⁺ 细胞向嗜酸性粒细胞的分化以及向气道局部的趋化,进而导致哮喘气道炎症的发生。国外学者通过小鼠哮喘模型研究显示^[13],抗原激发后外周血、BALF 中的 CD34⁺ 细胞显著增加,新产生的 CD34⁺ 祖细胞分别占 BALF 和外周血总 CD34⁺ 祖细胞的 73% 和 87%。这表明,哮喘发作后,机体通过上调 CD34⁺ 细胞上 CCR3 促进了趋化因子介导的 CD34⁺ 细胞向血液循环的释放以及向气道的趋化。本研究显示,抗原激发后骨髓 CD34⁺ 细胞数并未呈现明显升高,分析一方面可能是因为扩增的 CD34⁺ 细胞在趋化因子的作用下快速的从骨髓释放到外周血,另一方面提示仅仅是部分 CD34⁺ 细胞(如高表达 CCR3 的 CD34⁺ 细胞)参与了 CD34⁺ 细胞向嗜酸性粒细胞的分化以及嗜酸性粒细胞向气道黏膜聚集的过程。

以往的研究认为,IL-5 是诱导哮喘患者骨髓 CD34⁺ 细胞和嗜酸性粒细胞活化、增殖、趋化的(下转第 1326 页)

脉的临床意义[J]. 中华胃肠外科杂志, 2016, 19(8): 886-891.

- [10] 向德雨, 秦章禄, 胡侃, 等. 保留左结肠动脉并置置尿管在直肠癌前切除术中的应用[J]. 中国基层医药, 2018, 25(4): 470-473.
- [11] BONNET S, BERGER A, HENTATI N, et al. High tie versus low tie vascular ligation of the inferior mesenteric artery in colorectal cancer surgery[J]. *Dis Colon Rectum*, 2012, 55(5): 515-521.
- [12] 臧璐, 马君俊, 郑民华. 直肠癌根治术中保留左结肠动脉对吻合口瘘及手术时间的影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2016, 19(4): 386-387.
- [13] 成军, 周玲, 陈涛, 等. 保留左结肠动脉的腹腔镜低位直肠癌前切除术[J]. 中国微创外科杂志, 2017, 17(9): 780-782.
- [14] 向国卿, 赵莹, 朱佳, 等. 9 769 例结直肠癌的构成特征及变化 趋

势[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 20(24): 3236-3239.

- [15] 徐向辉, 盛金鑫, 钟林, 等. 保留左结肠动脉的腹腔镜直肠癌手术对患者预后的影响[J]. 现代消化及介入诊疗, 2018, 23(5): 548-550.
- [16] 魏君, 邱磊, 谢沛标, 等. 保留左结肠动脉与否对腹腔镜直肠癌切除术疗效的影响研究[J]. 结直肠肛门外科, 2018, 24(2): 36-39.
- [17] 李心翔, 李清国. 腹腔镜直肠癌术中左结肠动脉保留的意义[J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(3): 272-275.
- [18] 骆洋, 秦骏, 陈建军, 等. 腹腔镜直肠癌手术中保留左结肠动脉与否疗效对比研究[J]. 中国实用外科杂志, 2017, 37(6): 72-76.

(本文编辑: 谢飞凤)

收稿日期: 2019-02-26

(上接第 1264 页)

主要细胞因子, 哮喘患者接触过敏原后, IL-5 与 CD34⁺ 细胞和嗜酸性粒细胞表面的 IL-5R α 受体结合是这一过程的主要途径, 并将高表达 IL-5R α 的 CD34⁺ 祖细胞作为 Eos 的祖细胞表面标记。而本研究提示, CCR3 在 CD34⁺ 细胞和嗜酸性粒细胞活化、分化、趋化过程中亦扮演重要角色, CD34⁺ 细胞和嗜酸性粒细胞表面的 CCR3 与 eotaxin 的结合也是参与气道和骨髓之间信号传递的重要通路。

本研究显示, 抗原激发后 6 h BALF 中 eotaxin 浓度即有明显增加, 并且一直持续到 24 h。国外学者体外实验也表明, eotaxin 能通过与表达在 CD34⁺ 祖细胞上的 CCR3 相结合产生趋化效应, 并能独立的诱导 CD34⁺ 祖细胞向嗜酸性粒细胞方向的分化^[14-15]。目前关于 eotaxin 与 CD34⁺ 祖细胞上 CCR3 结合并诱导其向嗜酸性粒细胞分化的机制尚不十分明了。但本研究提示, eotaxin 与其受体 CCR3 结合参与了哮喘小鼠骨髓 CD34⁺ 祖细胞分化、趋化并释放至血液循环, 进而导致嗜酸性粒细胞向血液循环的释放和嗜酸性粒细胞向支气管黏膜的浸润。

本研究通过观察哮喘小鼠外周血、骨髓、BALF 中嗜酸性粒细胞、CD34⁺ 祖细胞以及 CCR3、eotaxin 等因子的表达随时间的动态变化过程, 阐述了骨髓与气道以及 CCR3/eotaxin、CD34⁺ 祖细胞与气道嗜酸性粒细胞聚集的一些关联, 但是, 支气管哮喘气道炎症的病理生理改变是一个极其复杂的过程, 其涉及多种炎症细胞、细胞因子以及信号通路, 其具体的机制尚有待后续的实验进一步研究。

参考文献

- [1] LAMBRECHT B N, HAMMAD H. The immunology of asthma[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(1): 45-56.
- [2] GEORGE L, BRIGHTLING C E. Eosinophilic airway inflammation: role in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2016, 7(1): 34-51.
- [3] ENG S S, DEFELICE M L. The role and immunobiology of eosinophils in

the respiratory system: a comprehensive review[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 50(2): 140-158.

- [4] BROUGHTON S E, NERO T L, DHAGAT U, et al. The β c receptor family-structural insights and their functional implications[J]. *Cytokine*, 2015, 74(2): 247-258.
- [5] REECE P, GAUVREAU G M, SEHMI R. IL-4 and IL-13 differentially regulate TLR-induced eosinophil-basophil differentiation of cord blood CD34⁺ progenitor cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100734.
- [6] DOSANJH A. Activation of eosinophil CCR3 signaling and eotaxin using a bioinformatics analysis of a mouse model of obliterative airway disease[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2014, 34(7): 543-546.
- [7] XIA L X, HUA W, JIN Y. Eosinophil differentiation in the bone marrow is promoted by protein tyrosine phosphatase SHP2[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(4): e2175.
- [8] PATEL T R, SUR S. IgE and eosinophils as therapeutic targets in asthma[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2017, 17(1): 42-49.
- [9] LAVINSKIENE S, MALAKAUSKAS K, JEROCH J, et al. Functional activity of peripheral blood eosinophils in allergen-induced late-phase airway inflammation in asthma patients[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2015, 12(5): 25.
- [10] SCHLEICH F N, CHEVREMONT A, PAULUS V, et al. Importance of concomitant local and systemic eosinophilia in uncontrolled asthma[J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(1): 97-108.
- [11] BAZAN-SOCHA S, ZUK J, JAKIELA B, et al. Human eosinophil transmigration[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1178(6): 157-164.
- [12] LUKAWSKA J J, LIVIERATOS L, SAWYER B M, et al. Imaging inflammation in asthma: real time, differential tracking of human neutrophil and eosinophil migration in allergen challenged. Atopic asthmatics in vivo[J]. *EBio Medicine*, 2014, 1(2-3): 173-180.
- [13] BOSSIOS A, RADINGER M. CD34⁺ eosinophil-lineage-committed cells in the mouse lung[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1178(6): 29-43.
- [14] DOSANJH A. Activation of eosinophil CCR3 signaling and eotaxin using a bioinformatics analysis of a mouse model of obliterative airway disease[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2014, 34(7): 543-546.
- [15] LEE J H, JANG A S, PARK S W, et al. Gene-Gene interaction between CCR3 and eotaxin genes; the relationship with blood eosinophilia in asthma[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2014, 6(1): 55-60.

(本文编辑: 代莹莹)

收稿日期: 2018-07-02