

早期吸入不同浓度布地奈德对哮喘大鼠气道炎症和重构的干预

梁蕊¹ 金寿德^{1△} 邵玉霞² 张新¹ 刘立杰¹ 荣海芳¹

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 哈尔滨医科大学附属第二医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的: 研究早期吸入不同浓度布地奈德对哮喘大鼠气道炎症和气道重构的干预情况。方法: 32 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组: A 对照组 8 只, B 卵蛋白(OVA) 致哮喘组 8 只, C 卵蛋白致哮喘后吸入低浓度布地奈德治疗组 8 只, D 卵蛋白致哮喘后吸入高浓度布地奈德治疗组 8 只。分别测定各组大鼠血中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及肺泡灌洗液(BALF) 中内皮素-1 (ET-1) 的水平, 计数 BALF 中细胞总数及分类。各组大鼠行肺组织切片 HE 染色, 再行胶原染色、免疫组化 NGF、TGF- β_1 染色, 借助计算机图象分析软件测量单位气道面积炎性细胞数目, 基底膜周径(Pbm)、平滑肌面积(WAm)、气道内壁面积(WAi)、胶原面积(Wco), NGF 及 TGF- β_1 阳性信号积分吸光度。结果: B 组 BALF 中细胞总数、嗜酸细胞分类及 TNF- α 、ET-1 水平与 A 组比较均明显增加, 差异有统计学意义($P<0.01$), C 组及 D 组较 B 组均明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$)。B 组 NGF 及 TGF- β_1 的表达、气道壁炎性细胞计数、气道内壁面积、平滑肌面积、胶原面积与 A 组比较均明显增加, 差异有统计学意义($P<0.01$), C 组及 D 组与 B 组比较均明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$), C 组及 D 组与 A 组比较差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$), C 组与 D 组差异均有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。结论: 早期吸入不同浓度的布地奈德均可明显抑制气道炎症和气道重构, 高浓度较低浓度对气道炎症和气道重构的影响更明显。

关键词: 哮喘; 气道炎症; 重构; 布地奈德

中图分类号: Q95-3, R562.25 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273 (2011) 21-4014-05

Inhaled different Concentrations of Budesonide in Early Phase Interfere in Airway Inflammation and Remodeling in Asthmatic Rats

LIANG Rui¹, JIN Shou-de^{1△}, SHAO Yu-xia², ZHANG Xin¹, LIU Li-jie¹, RONG Hai-fang¹

(1 The fourth hospital of Harbin medical university, Harbin 150001, China;

2 The second hospital of Harbin medical university, Harbin 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of inhaled different concentrations of budesonide in early phase on the airway inflammation and remodeling in asthmatic rats. **Methods:** Thirty-two rats were randomly divided into 4 groups: group A (n=8, control with saline), group B (n=8, asthma with OVA), group C (n=8, asthma with OVA treated with low concentrations of budesonide in early phase), group D (n=8, asthma with OVA treated with high concentrations of budesonide in early phase). The bronchoalveolar lavage fluids (BALF) were classification in BALF studied in each group. the pathologic alteration of the bronchi and lung tissue was observed by HE staining. Expression of NGF and TGF- β_1 were detected by immunohistochemistry, collagen deposition by Masson staining. The Morphological parameters including the number of inflammatory cell per unit airway area, bronchial basement membrane perimeter (Pbm), smooth muscle area (WAm), inner airway area (Wai), collagen area (Wco) by computer image analysis software. **Results:** The total cell counts and the percentage of EOS in BALF the level of TNF- α , ET-1 increased compared with group A ($P<0.01$), group C and D reduced significantly compared with group B ($P<0.01$). The expression of NGF and TGF- β_1 , inflammatory cell counts around bronchus, airway smooth muscle hypertrophy, the collagen deposition of reticular basement, airway inner wall area were significant higher than those group A ($P<0.01$), the data in group C and D were significant lower than those in group B ($P<0.01$), there were apparent difference between group C and group D compared with group A ($P<0.05, P<0.01$). The difference between group C and group D. ($P<0.05, P<0.01$) **Conclusion:** Inhaled different concentrations of budesonide in early phase could apparently inhibit airway inflammation and remodeling, high concentrations of budesonide than low concentrations.

Key words: Asthma; Inflammation; Remodeling; Budesonide

Chinese Library Classification (CLC): Q95-3, R562.25 **Document code:** A

Artile ID: 1673-6273(2011)21-4014-05

前言

作者简介: 梁蕊 (1974-), 女, 硕士, 主治医师, 主要研究方向: 支气管哮喘, 电话: 13945067393. E-mail: ysh0002@sina.com

△通讯作者: 金寿德 E-mail: jinshoude@163.com.cn

手机: 18645108766

(收稿日期: 2011-06-06 接受日期: 2011-06-30)

支气管哮喘是由多种炎性细胞、细胞因子介导的气道慢性炎症性疾病, 气道重构是气道慢性炎症导致支气管慢性病理改变发展到一定阶段的必然结果, 肺组织内多种细胞及其分泌的细胞因子参与气道重构过程的调控。目前抗炎是治疗哮喘的根本, 糖皮质激素是消除气道炎症最有效的药物, 对于气道重构亦有一定作用, 吸入激素是目前哮喘治疗最有效的方法^[1], 但糖皮质激素的浓度大小对气道炎症及气道重构的影响差异及其

机制尚有待于进一步探索。本研究旨在建立动物模型研究早期吸入不同浓度激素对气道炎症及气道重构的干预的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Wistar 雄性大鼠 32 只,2-3 月龄,体重 160-180 克。
1.1.2 试剂与仪器 卵蛋白(OVA,Grade II,美国 Sigma 公司),布地奈德混悬液(阿斯利康公司),TNF-α ELISA 试剂盒(上海森雄科技事业有限公司),ET-1 放免试剂盒(解放军东亚免疫技术研究所),NGF、TGF-β₁ 一抗兔抗大鼠多克隆抗体,SABC 二抗及 DAB 显色试剂盒(武汉博士德生物有限公司),PARI-BOY 037 型压缩雾化吸入器(德国百瑞公司),PAS800 全电脑病理图像分析仪(美国 Biochem 公司)。

1.2 模型建立与分组

将 32 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组:每组 8 只。具体如下:
(1) A 对照组,第 1d 腹腔注射生理盐水 2ml,第 15d 开始雾化生理盐水,每天 1 次,每次 30min,连续雾化 2 周。
(2) B 哮喘组,第 1d 腹腔注射 10%OVA2ml(包括卵白蛋白 200mg、氢氧化铝 100mg),第 15d 开始雾化 2%OVA,每天 1 次,每次 30min,以出现点头运动、腹肌收缩为哮喘发作标志。
(3) C 早期吸入低浓度布地奈德雾化治疗组,程序同 B 组,每次雾化 OVA 前 1h 给予 0.02%吸入布地奈德 30min。
(4) D 早期吸入高浓度布地奈德雾化治疗组,每次雾化 OVA 前 1h 吸入 0.1%布地奈德 30min。

1.3 BALF 的采集和制作

腹腔注射 10%水合氯醛(3ml/kg)麻醉后开胸,气管插管并行心脏取血置于抗凝管中,4℃下 3000r/min 离心 10min,取上清 -20℃冰箱保存待测 TNF-α。结扎右肺用生理盐水灌洗肺组织 3 次,每次 5ml,收集灌洗液,离心 10min,保存待测 ET-1。离心后的沉淀细胞重悬于 1ml 生理盐水中,取 50μl 置于血球计数板上行细胞总数测定,将细胞沉淀涂片,瑞氏染色,油镜下计数 200 个细胞作分类。

1.4 HE、胶原染色及图像分析

1)取右肺固定,石蜡包埋、切片、HE 染色,8 周组再行苦味酸-天狼猩红染色。2)每张片子在 400 倍光镜下选择内径 100-200μm 的细支气管区采集 5 处视野,计数单位气道面积

(mm²)内炎症细胞数目,以评估气道炎症^[9]。200 倍光镜下找到 5 个完整的支气管横断面,图像分析软件测量基底膜周径(Pbm)、平滑肌面积(WAm)、气道内壁面积(WAi),并用 Pbm 标准化,以 WAm/Pbm、WAI/Pbm 表示,衡量气道重构的程度。
3)苦味酸-天狼猩红染色在光镜下胶原纤维染成红色,照上述方法测量红色胶原的分布面积(Wcol),用 Wcol/Pbm 表示胶原沉积面积。

1.5 NGF、TGF-β₁ 免疫组织化学染色

切片后,分别按顺序加入一抗兔抗鼠多克隆抗体 NGF、TGF-β₁,二抗生物素标记的山羊抗兔 IgG 工作液,辣根酶标记的链霉卵白素工作液,再行 DAB 染色及苏木素复染。一抗工作液浓度分别为 1:150 和 1:100,阳性信号为胞浆/胞核内棕黄色颗粒。在 400 倍光镜下选择内径 100-200μm 的细支气管连同周围肺泡区,各随机选取 3 个视野,计算机自动测量并计算阳性信号积分吸光度。

1.6 细胞因子测定

ELISA 法测血中 TNF-α 水平,绘制标准曲线,根据吸光度值计算 TNF-α 含量。按照 ET-1 放射免疫测定盒说明书操作步骤,绘制出标准曲线推算 ET-1 含量。

1.7 统计学处理

各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS13.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA),多组间两两比较采用 q 检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE 染色

对照组:支气管上皮完整,肺泡间隔正常,无炎症细胞浸润。哮喘组:支气管上皮增厚,部分坏死、脱落,伴杯状细胞及黏液腺增生,管壁以嗜酸粒细胞为主的炎症细胞浸润明显,肺泡间隔增宽,平滑肌、基底膜轻度增厚。早期吸入低浓度布地奈德治疗组:支气管上皮欠完整,少量炎症细胞浸润,肺泡间隔、平滑肌、基底膜较对照组有轻度增厚;早期吸入高浓度布地奈德治疗组:极少量炎症细胞浸润,肺泡间隔、平滑肌、基底膜较对照组无明显增厚。

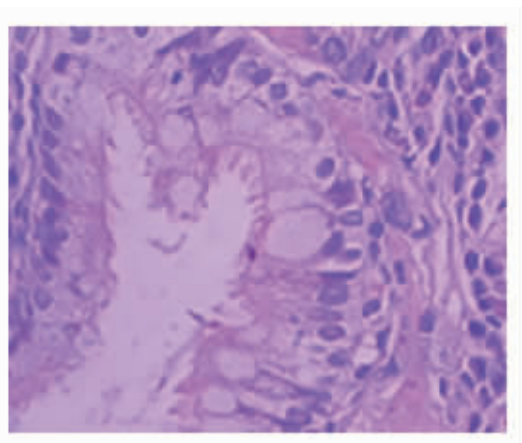


图 1 B 组支气管上皮杯状细胞增生,炎性细胞浸润 HE × 400
Fig.1 The infiltrating of group B bronchial epithelium goblet cell hyperplasia, Inflammatory cells HE × 400

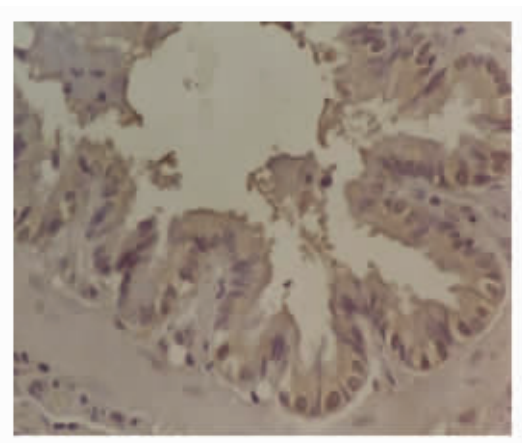


图 2 B 组气道上皮细胞、嗜酸粒细胞 NGF 大量表达 SABC × 400
Fig.2 The expression of group B airway epithelial cells, neutrophils acidophilus NGF SABC × 400

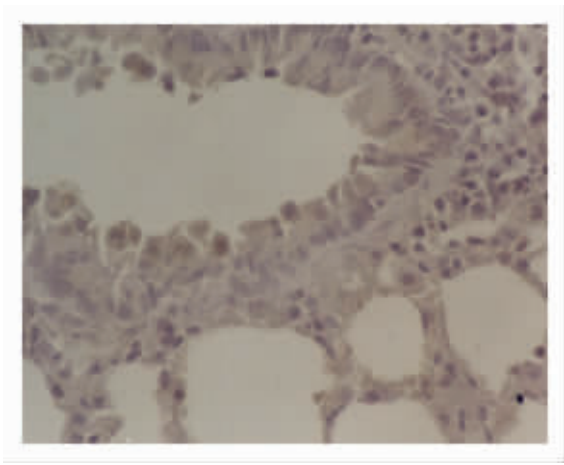


图3 B组气道上皮细胞 TGF-β 1 大量表达 SABC × 200
Fig.3 The expression of group B airway epithelial cells TGF-a beta 1
SABC × 200

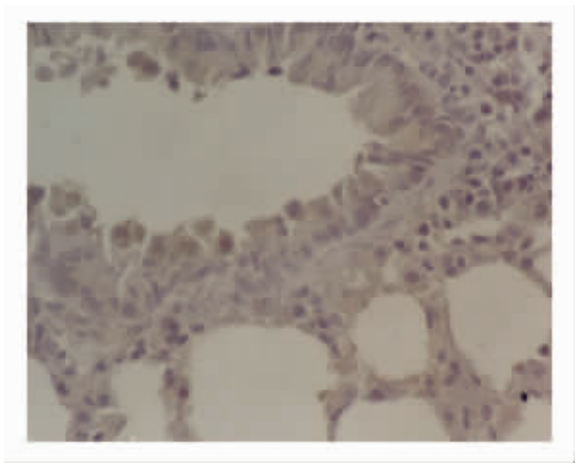


图4 B组气管壁及血管周围大量胶原沉积 Masson× 200
Fig.4 The deposition of group B wall and blood vessels of gas around
collagen Masson × 200

2.2 布地奈德对哮喘大鼠 BALF 中细胞总数及分类的影响

B 组 BALF 中细胞总数及嗜酸粒、中性粒细胞比例较 A 组明显升高，差异有统计学意义 (P<0.01),C 组及 D 组各项较 B

组明显降低,差异有统计学意义 (P<0.01)。C 组和 D 组各项比较差异有统计学意义 (P<0.05) (表 1)。

表 1 布地奈德对哮喘大鼠模型 BALF 中细胞总数及分类的影响 (X± S)

Table1 The use of Budesonide to asthmatic rat model in the cells total number and classification of BALF

Groups	n	Total number (x 10 ⁶ / L)	Acidophilus neutrophilic%	Granulocyte%	Lymphocytes %	Macrophages%
A	8	4.27± 0.78	1.35± 0.52	1.35± 0.62	19.39± 4.28	76.34± 8.16
B	8	8.03± 1.32**	4.57± 0.95**	4.42± 0.74**	17.41± 5.24	73.50± 6.79
C	8	6.52± 1.07△△	2.50± 0.71△△	2.50± 0.89△△	29.17± 5.46	74.83± 5.95
D	8	5.04± 1.26△△##	1.65± 0.60△△##	1.68± 0.45△△##	18.30± 4.06	75.43± 6.72
F		16.28	25.86	20.63	2.75	1.34
P		<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05

注:与 A 组比较 **P<0.01;与 B 组比较△△P<0.01;与 C 组比较 ##P<0.05
Note: and group A comparison ** P < 0.01; And the group B is train train P < 0.01,; Group compared with C ## P < 0.05

2.3 布地奈德对哮喘大鼠 ET-1、TNF-α 含量的影响

B 组 ET-1、TNF-α 含量明显高于 A 组，差异有统计学区

义 (P<0.01),C 组及 D 组明显低于 B 组，差异有统计学意义 (P<0.01)。C 组和 D 组比较差异有统计学意义 (P<0.05) (表 2)。

表 2 布地奈德对哮喘模型 TNF-α 、ET-1 的影响 (X± S)

Table 2 The use of Budesonide to asthmatic rat model in TNF-α , ET-1

Groups	n	TNF-α (pg/ml) in blood	ET-1 (pg/ml) in BALF
A	8	15.83± 3.19	21.50± 5.09
B	8	37.17± 6.82**	42.00± 5.22**
C	8	21.00± 3.14△△	29.67± 5.39△△
D	8	18.68± 4.25△△##	24.67± 5.18△△##
F		21.52	15.72
P		<0.01	<0.01

注:与 A 组比较 **P<0.01;与 B 组比较△△P<0.01;与 C 组比较 ##P<0.05
Note: and group A comparison ** P < 0.01; And the group B is train train P < 0.01; Group compared with C ## P < 0.05

2.4 布地奈德对哮喘大鼠气道炎症及重构的影响

B 组气道炎性细胞计数、WAm/Pbm、WAI/Pbm、Wcol/Pbm 均明显高于 A 组，差异有统计学意义 (P<0.01),C 组及 D 组均

明显低于 B 组，差异有统计学意义 (P<0.01),C 组较 A 组也升高，差异有统计学意义 (P<0.05、P<0.01),C 组与 D 组比较差异有统计学意义 (P<0.05、P<0.01) (表 3)。

表 3 布地奈德对哮喘模型气道炎症及重构的影响 (X± S)

Table 3 The use of Budesonide to asthmatic rat model in airway inflammation and remodeling

Groups	n	Inflammatory			
		cell number (× 10 ³ /mm ²)	WAm/Pbm (μm ² /μm)	WAI/Pbm (μm ² /μm)	Wcol/Pbm (μm ² /μm)
A	8	5.80± 0.92	3.12± 0.64	6.98± 0.73	5.73± 0.97
B	8	12.47± 1.74**	7.73± 1.12**	12.37± 1.50**	14.03± 2.30**
C	8	9.20± 1.18△△**	5.57± 0.71△△*	9.95± 1.14△△*	10.13± 1.31△△**
D	8	7.50± 1.26**△#	4.27± 0.53***#	7.67± 1.29***#	7.70± 1.20***#
F		26.73	28.69	21.94	20.06
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与 A 组比较 **P<0.01,*P<0.05;与 B 组比较 △△P<0.01,△P<0.05;与 C 组比较 ##P<0.01,#P<0.05.
Note: compared with group A ** P < 0.01, * P < 0.05; compared with group B △△P < 0.01, △P < 0.05; compared with Group C ## P < 0.01, #P < 0.05

2.5 布地奈德对哮喘大鼠 NGF、TGF-β 1 的影响
NGF、TGF-β 1 阳性信号主要表达在支气管上皮细胞、嗜酸性粒细胞的胞浆 / 胞核中,B 组与 A、C、D 组 NGF、TGF-β 1 积分吸光度比较差异均有统计学意义 (P<0.01),C 组及 D 组与 A 组比较差异有统计学意义 (P<0.05、P<0.01),C 组与 D 组差异有统计学意义 (P<0.01)。(表 4)

表 4 布地奈德对哮喘模型 NGF、TGF-β 1 的影响 (X± S)

Table 4 The use of Budesonide to asthmatic rat model in NGF, TGF-β 1

Groups	n	NGF	TGF-β 1
A	8	34.33± 7.26	14.50± 3.78
B	8	66.00± 8.70**	41.18± 7.29**
C	8	48.83± 10.56△△*	24.78± 3.74△△*
D	8	42.00± 9.33***△##	18.60± 6.07***#
F		24.40	30.60
P		<0.01	<0.01

注:与 A 组比较 **P<0.01,*P<0.05;与 B 组比较 △△P<0.01,△P<0.05;与 C 组比较 ##P<0.01,#P<0.05
Note: and group A comparison ** P < 0.01, * P < 0.05; And the group B is train train P < 0.01, P < 0.05; train Group compared with C ### P < 0.01, P < 0.05

3 讨论

本研究采用 OVA 腹腔注射及雾化吸入联合应用复制哮喘大鼠模型,哮喘是一种发病机制复杂的常见慢性呼吸道疾病,其发病的中心环节是慢性气道炎症和气道重构。气道重构的组织学特征主要包括: (1)巨噬细胞和淋巴细胞浸润; (2)成纤维细胞(或以肌成纤维细胞形式)增殖; (3)新生血管形成; (4)组织纤维化;(5)组织破坏^[3]。目前气道炎症如何向气道重构演变的机制并不清楚。" 损伤 - 修复学说 " 认为,慢性气道炎症促使气道损伤 - 修复机制发生紊乱,导致一些有促有丝分裂活性的介质及因子释放,进而促使平滑肌细胞和成纤维细胞增殖,从而导致气道重构。然而人们发现,气道炎症和气道重构的发展并不平衡,应用糖皮质激素可以控制气道炎症,但未能完全阻止气道重构,早期高浓度激素治疗哮喘对气道重构的干预作用强于低浓度激素^[4]。
布地奈德是 80 年代研制的吸入型糖皮质激素,因其基本结构上有亲脂基团的置换,吸入气道后能很快作用于靶细胞,容易穿过脂性的细胞膜,进入细胞内与激素受体结合,转移到胞核内与协同抑制因子结合,使靶基因处于关闭状态,最终切

断炎症基因的转录起到抗感染作用^[5]。
2 周组哮喘模型即出现气道上皮损伤、脱落现象,说明气道重构发生于哮喘的早期,早期吸入布地奈德能明显抑制气道炎症和气道重构。高浓度布地奈德对气道炎症及气道重构的抑制作用明显强于低浓度组。说明早期吸入不同浓度的激素对哮喘的治疗结果是不同的。
气道上皮受损后释放的细胞因子、炎性介质、生长因子等在哮喘中起重要作用,吸入糖皮质激素除通过调节炎症反应而对气道重构产生间接影响外,体外实验还发现糖皮质激素对与重构相关的细胞、生长因子、细胞因子有直接作用,早期用激素治疗能阻止气道上皮细胞的增殖,这可能是激素的抗炎效应通过避免炎性介质引起上皮细胞损伤实现的,而且吸入激素可下调气道上皮细胞表达炎性基因,所以说气道上皮细胞是激素治疗的靶细胞^[6]。
Edward ^[7] 等在研究哮喘患者和正常人的 BALF 实验中发现,哮喘患者 BALF 中存在促气道平滑肌细胞 (ASMC) 有丝分裂的活性物质 (丝裂原), 包括生长因子 TGF-β 1、炎性介质 ET-1 等,在丝裂原的作用下 ASMC 异常增殖,并分泌各种活性物质,参与气道重构的发生和发展。研究发现激素还能有效地

抑制 ASMC 的增殖^[8], 能使人 ASMC 的增殖周期停滞在 G1 期而不能完成增殖过程^[9]。ET-1 具强大的缩支气管平滑肌作用, 亦是促细胞增殖剂, 糖皮质激素能直接抑制 ET-1mRNA 的基因转录及其活性, 使 ET-1 水平降低, 从而减轻气道炎症和气道高反应性^[10]。哮喘时 TGF- β 1 表达增高, 使 TGF- β 1/EGF 失衡, 导致成纤维细胞合成分泌大量胶原, TGF- β 1 也可促使成纤维细胞转化为肌成纤维细胞, 后者具有更强的胶原合成能力。早期应用高浓度激素可抑制 TGF- β 1 的表达, 可减轻平滑肌的增厚和胶原的沉积, 明显抑制气道重构^[11]。

TNF- α 是一种前炎性细胞因子, 是哮喘过程中重要的启动因子, 糖皮质激素通过抑制 IL-1 及 TNF- α 防止黏附分子的表达和炎性细胞的趋化, 起到抗炎作用。Freund 的研究指出 NGF 也是一种炎性介质, 浸润气道黏膜的炎症细胞和结构细胞都能分泌 NGF, 尤其在哮喘的气道中大量表达^[12]。NGF 的释放机制能被 IL-1 β 和 TNF- α 加强而被激素阻断, 提示 NGF 可能是激素治疗哮喘的靶物质^[13]。以往的实验结果证实哮喘大鼠血清、肺组织中 NGF 水平明显升高, NGF 受体上调^[14], 但具体机制尚不清楚。NGF 可以通过启动肾上腺髓质细胞的功能冗余性使其表型和功能发生转化, 致肾上腺髓质细胞 PNMT 表达降低, 影响去甲肾上腺素转化为肾上腺素而引起循环血中肾上腺素水平降低, 最终导致哮喘的发生与发展, 为哮喘发病的神经-内分泌机制提供了有力的理论依据和补充^[15]。

气道重构是慢性哮喘的重要病理特征, 也是哮喘发病机制中的一个重要环节, 它在哮喘病情中的潜在作用正逐渐被人们所重视。糖皮质激素是目前作用最强、应用最广泛的抗哮喘药物, 其对防治气道重构也有一定作用, 但机制尚未完全阐明。进一步研究探讨吸入高浓度糖皮质激素在哮喘气道重构中的作用, 制定更加合理的给药方案及途径, 可能为治疗哮喘提供更有效的方法。

参考文献(References)

[1] Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary [J]. Respir J, 2008, 31(1): 143-178

[2] Henderson WR, Tang LO, Chu SJ, et al. A role for cysteinyl leukotrienes in a mouse asthma model [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165: 108-116

[3] Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G, et al. Airway remodeling in asthma [J]. Chest, 2003, 123(3): 417-422

[4] Tang LK, Wilson JW, Stewart AG, et al. Airway remodelling in asthma: current understanding and implications for future therapies [J]. Pharmacol Ther, 2006, 112(2): 474-488

[5] Watson CS, Gametchu B. Proteins of multiple classes may participate in nongenomic steroid actions [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2003, 228 (11): 1272-1281

[6] Vanacker NJ, Palmans J, Kips JC, et al. Fluticasone inhibits but does not reverse Allergen induced structural airway changes [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(3): 674-679

[7] Edward T, Naureckas I, Mauricendukwu, et al. Bronchoalveolar lavage Fluid from Asthmatic Subjects Is Mitogenic for Human Airway Smooth Muscle [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 160 (6): 2062-2066

[8] Ammit AJ, Pamettieri RA. Signal Transduction in smooth muscle, Invited Review: cell cycle regulation in airway smooth muscle [J]. Appl Physiol, 2001, 91(3): 1431-1437

[9] Fernandes D, Guida E, Koutsoubos V, et al. Glucocorticoids inhibit proliferation, cyclin D1 expression, and retinoblastoma protein phosphorylation, but not activity of the extracellular-regulated kinase in human cultured airway smooth muscle [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1999, 21(1): 77-88

[10] 董宗祁. 内皮素研究进展 [J]. 中国实用儿科杂志, 1998, 13(4): 237-238

Dong Zong Qi. Endothelin research progress [J]. The Chinese Journal of Practical Pediatrics, 1998, 13 (4) : 237-238

[11] Xie S, Sukkar MB, Issa R, et al. Regulation of TGF-beta 1-induced connective tissue growth factor expression in airway smooth muscle cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 88(1): L68-76

[12] Freund V, Frossard N. Nerve growth factor in inflammation and asthma [J]. Rev Mal Respir, 2004, 21(2): 328-342

[13] Fox AJ. Release of nerve growth factor by human pulmonary epithelial cells: role in airway inflammation diseases [J]. Eur J Pharmacol, 2001, 424: 159-162

[14] 欧阳若芸, 胡成平, 朱锦琪, 等. 神经生长因子及其受体在哮喘大鼠肺组织的变化以及对气道炎症的影响 [J]. 中南大学学报(医学版), 2005, 30: 660-665

OUYANG-Ruoyun, Hu Cheng-ping, Zhu Jin-qi, et al. The change and the influence of Nerve growth factor and its receptor to the airway inflammation in the asthma rat lung tissue [J]. Journal of central south university (medical sciences), 2005, 30: 660-665

[15] 汪俊, 胡成平, 冯俊涛. 神经生长因子对支气管哮喘大鼠肾上腺素释放障碍的机制研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29 (12) : 812-815

Wang Jun, Hu Cheng-ping, Feng Jun-tao. The research of Nerve growth factor to bronchial asthma rat adrenaline release mechanism of obstacles [J]. Am J Respir, 2006, 29 (12): 812-815