

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.10.001

· 基础研究 ·

白介素 17 对脂多糖诱导人支气管上皮细胞炎症损伤的影响 *

王梅芬¹ 邹 亚^{1,2} 郑培永² 景晓平¹ 何 丽¹ 郭 盛^{3Δ}

(1 上海交通大学附属儿童医院中医科 上海 200040; 2 上海中医药大学附属龙华医院 上海 200030;

3 上海交通大学附属儿童医院内分泌遗传代谢科 上海 200040)

摘要 目的:探讨白介素 17A(interleukin-17A, IL-17A)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的人支气管上皮细胞(16-HBE)炎症损伤的影响及其可能机制。**方法:**体外培养 16-HBE 细胞系,予 LPS、IL-17A 进行干预,分为空白对照组、LPS 组、IL-17A 组、IL-17A+LPS 组。采用酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay, Elisa)测定细胞培养液上清中 IL-4、IFN- γ 、IL-6、IL-8 等炎症因子的水平,蛋白印迹法(Western Blot, WB)检测细胞中丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPKs)信号通路相关蛋白:细胞外调节蛋白激酶(ERK)、P38 蛋白激酶(P38)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)的表达及其相应磷酸化蛋白(P-ERK、P-P38、P-JNK)的表达。体外培养 16-HBE 细胞系,予 LPS、IL-17A 以及 ERK1/2 抑制剂(U0126)、p38 抑制剂(SB203580)和 JNK 抑制剂(SP600125),分为空白对照组、LPS+IL-17A 组、IL-17A+LPS+U0126 组、IL-17A+LPS+SB203580 组、IL-17A+LPS+SP600125 组。采用酶联免疫吸附法测定细胞培养液上清中 IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-8 等炎症因子水平。**结果:**与空白对照组比较,LPS、IL-17A 组,细胞上清中 IL-6、IL-8 的表达明显升高($P<0.01$),IL-4 的表达降低(空白组 vs LPS 组 $P<0.01$,空白组 vs IL-17A 组 $P<0.05$),细胞内磷酸化 ERK、P38、JNK 蛋白的表达明显增加(空白组 vs LPS 组 $P<0.05$,空白组 vs IL-17A 组 $P<0.01$)。IL-17A+LPS 组细胞上清中 IL-6、IL-8、IL-4 水平及细胞内 P-ERK、P-P38、P-JNK 的表达较 LPS、IL-17A 组更高($P<0.05$)。添加 ERK、P38 和 JNK 抑制剂后,与 LPS+IL-17A 组对比,IL-17A+LPS+U0126 组、IL-17A+LPS+SB203580 组和 IL-17A+LPS+SP600125 组细胞上清中 IL-6、IL-8、IL-4 水平下降($P<0.05$)。**结论:**IL-17A 可能通过上调 IL-6、IL-8 的表达加重 LPS 诱导的 16-HBE 细胞炎症损伤,MAPKs 可能是这一过程中的重要信号转导通路。

关键词:白介素 17A;脂多糖;支气管上皮细胞;炎症因子;丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号:R-33;R322.34;R392 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)10-1801-05

Effect of IL-17A on the Inflammatory Injury Induced by LPS in Human Bronchial Epithelial Cell*

WANG Mei-fen¹, ZOU Ya^{1,2}, ZHENG Pei-yong², JING Xiao-ping¹, HE Li¹, GUO Sheng^{3Δ}

(1 Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Children's Hospital,

Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200040, China; 2 Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine,

Shanghai, 200030, China; 3 Department of Endocrinology, Genetics and Metabolism, Shanghai Children's Hospital,

Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200040, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of interleukin-17A (IL-17A) on lipopolysaccharide (LPS) -induced human bronchial epithelial cells (16-HBE) and their possible mechanisms. **Methods:** The 16-HBE cell line was cultured in vitro and intervened with LPS and IL-17A, and divided into blank control group, LPS group, IL-17A group and IL-17A+LPS group. The concentrations level of IL-4, IFN- γ , IL-6, IL-8 and other inflammatory factors in the supernatant of cell culture medium were determined by Enzyme linked immunosorbent assay(Elisa). The expression and activation of Mitogen-activated protein kinase(MAPKs) pathway related proteins: Phosphorylated extracellular regulated protein kinase (P-ERK), Extracellular regulated protein kinase (ERK), Phosphorylated P38 protein kinase (P-P38), P38 protein kinase (P38), Phosphorylated c-Jun N-terminal kinase (P-JNK), c-Jun N-terminal kinase (JNK) were detected by Western Blotting (WB). The 16-HBE cell line was cultured in vitro and intervened with LPS, IL-17A, and ERK inhibitor(U0126), p38 inhibitor(SB203580), and JNK inhibitor (SP600125), and divided into blank control group, LPS + IL-17A group, IL-17A + LPS + U0126 group, IL-17A + LPS + SB203580 group, IL-17A + LPS + SP600125 group. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine the levels of inflammatory factors such as IFN- γ , IL-4, IL-6, and IL-8 in the cell culture supernatant. **Results:** Compared with the blank

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81774365);上海市科学技术委员会医学引导类科技支撑项目(16411964500);

国家十三五传染病重大专项课题(2017ZX10305501-002)

作者简介:王梅芬(1994-),硕士研究生,住院医师,主要研究方向:中西医结合治疗小儿呼吸系统疾病,电话:(021)52976265,

E-mail: wangmf94@163.com

Δ 通讯作者:郭盛,博士,副主任医师,主要研究方向:微生物组与炎症调控,电话:(021)52976265, E-mail: guosheng@shchildren.com.cn

(收稿日期:2019-11-23 接受日期:2019-12-18)

control group, the concentration level of IL-6 and IL-8 were significantly increased in the cellular supernatant ($P<0.01$), while the concentration level of IL-4 was decreased (con vs LPS $P<0.01$, con vs IL-17A $P<0.05$) in the supernatant with either IL-17A or LPS stimulation. The expression of P-ERK, P-P38 and P-JNK protein was significantly increased (con vs LPS $P<0.05$, con vs IL-17A $P<0.01$). the concentration level of IL-6 and IL-8 were significantly increased ($P<0.01$). The levels of IL-6, IL-8, IL-4 and the expression of P-ERK, P-P38, and P-JNK in the cell supernatant of IL-17A + LPS group were higher than those in LPS and IL-17A group ($P<0.05$). After adding ERK, P38, and JNK inhibitors, compared with the LPS + IL-17A group, IL-17A + LPS + U0126 group, IL-17A + LPS + SB203580 group, and IL-17A + LPS + SP600125 group, the expression of IL-6, IL-8, IL-4 in cell supernatants has decreased ($P<0.05$). **Conclusions:** IL-17A might aggravate LPS-induced 16-HBE inflammatory injury by up-regulating IL-6 and IL-8 concentration level, and MAPKs may be an important signal transduction pathway in the process.

Key words: IL-17A; LPS; 16-HBE; Inflammatory factors; MAPKs

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R322.34; R392 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)10-1801-05

前言

支气管上皮细胞是支气管与外界环境沟通的第一道防线,在维持肺内环境稳定及免疫防御方面起着重要作用^[1]。长期炎症刺激会导致气道屏障功能障碍,也会引起免疫失衡,导致哮喘、慢性阻塞性肺疾病、支气管炎等多种气道炎症性疾病的发生^[2,3]。

白介素 17A(interleukin-17A, IL-17A)主要由 Th17 细胞产生,通过促进中性粒细胞向炎症部位募集,在介导气道炎症损伤和抗感染免疫中起双重效应^[4,5]。前期研究显示 IL-17 在合并链球菌感染的哮喘小鼠体内显著提高,外源性 IL-17 干预增强抗感染效应的同时对 IgE 介导气道炎症有抑制作用^[6],但 IL-17 对气道炎症调控的具体机制目前仍不甚清楚^[7]。本研究拟以人源支气管上皮细胞系(16-HBE)为研究对象,并予 LPS 刺激建立炎症细胞模型,同时予 IL-17A 干预,通过检测细胞上清中炎症因子 IL-4、IFN- γ 、IL-6、IL-8 释放和胞内 MAPKs 信号转导相关蛋白表达及活化,探讨 IL-17A 对 LPS 诱导人支气管上皮细胞炎症损伤的影响及可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 16-HBE 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

1.1.2 药物及试剂 LPS 购自美国 Sigma 公司(批号 L2630-10 mg);IL-17A 购自美国 Proteintech 公司(批号 66148-1-1 g);RPIM-1640 培养基购自北京索莱宝公司;磷酸盐缓冲液(PBS)购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清、胰酶均购自美国 Gibco 公司;BCA 蛋白定量试剂盒、SDS 凝胶试剂盒、BSA 均购自碧云天生物有限公司;蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂均购自瑞士 Roche 公司;PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;兔抗人 P-ERK、ERK、P-P38、P38、p-JNK、JNK 及 β -actin 抗体均购自美国 CST 公司;ERK1/2 抑制剂(U0126)、p38 抑制剂(SB203580)和 JNK 抑制剂(SP600125)均购自美国 CSN 公司;Western ECL Substrate 购自美国 Bio-Rad 公司;IL-4、IFN- γ 、IL-6、IL-8 ELISA 试剂盒均购自美国 R&D 公司。

1.1.3 仪器 彩色医学图文分析系统美国 Bio-Rad 公司产品;倒置相差显微镜德国 Hund 公司制造;25 cm² 培养瓶购自美国

Corning 公司(批号 430168);0.22 μ m 过滤器购自美国 Millipore 公司;1.5 mL EP 管购自荷兰 Axygen 公司;15 mL 离心管购自美国 Corning 公司;细胞刮刀购自美国 Thermo 公司;2 mL 冻存管购自美国 Corning 公司;超净台中国 Hair 公司产品;酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司;高速低温离心机德国 Eppendorf 公司出品;全自动细胞计数仪美国 Invitrogen 公司出品;移液器购自美国 Eppendorf 公司;双向电泳系统、转膜仪美国 Bio-Rad 公司出品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 16-HBE 使用含有 10 %FBS 的 RPIM 1640 培养基,放置于 37 °C 含有 5 %CO₂ 的细胞培养箱中进行常规培养,待细胞铺满培养瓶瓶底后,用 0.25 %胰蛋白酶进行消化、传代培养,取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 实验分组 将处于对数生长期的细胞,用 PBS 清洗细胞表面 2 次,加入无血清培养基置于 37 °C 含有 5 %CO₂ 的细胞培养箱中进行预处理 4 h,分别参考 Choi M S^[8]、Herbert C^[9]等实验中的药物浓度,将 LPS 稀释至 10 ng·mL⁻¹;IL-17A 稀释至 5 ng·mL⁻¹ 进行实验。分为(1)空白对照组;(2)LPS 组,(3)IL-17A 组,(4)IL-17A+LPS 组。其中空白对照组加入等体积的 PBS 进行对照。

1.2.3 Elisa 法测定 LPS、IL-17A 对炎症因子 IL-4、IFN- γ 、IL-6、IL-8 表达的影响 上述各组细胞处理 4 h 后,收获细胞上清,置于 1.5 mL EP 管中 4 °C,500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液。按照试剂盒说明书进行操作,检测细胞上清 IL-4、IFN- γ 、IL-6、IL-8 的表达,用酶标仪检测 450 nm 处各孔的吸光度值,每组设 3 个复孔。

1.2.4 Western Blot 检测 LPS、IL-17A 对 MAPKs 信号通路相关蛋白的影响 上述各组细胞处理 30 min 后,弃上清,收获细胞,提取蛋白样本,BCA 法测定蛋白浓度,以每孔 20 μ g 的蛋白量进行上样、电泳、转膜和封闭,分别加入 P-ERK(1:2000),ERK(1:1000),P-P38(1:1000),P38(1:1000),P-JNK(1:1000),JNK(1:1000),以及 β -actin(1:1000)抗体孵育过夜,次日 TBST 洗膜三次,加入羊抗兔 IgG(1:3000)抗体孵育 2 h,再次进行 TBST 洗膜,采用 ECL 化学发光法对要检测的条带进行曝光,Image J 计算各条带灰度值,实验重复 3 次。

1.2.5 Elisa 法测定阻断 ERK、p38 和 JNK 信号通路后对炎症因子 IL-4、IFN- γ 、IL-6、IL-8 表达的影响 将处于对数生长期的

细胞分组为 (1) 空白对照组; (2) IL-17A+LPS 组; (3) IL-17A+LPS+U0126 组; (4) IL-17A+LPS+SB203580 组 (5) IL-17A+LPS+SP600125 组。其中空白对照组加入等体积的 PBS 进行对照。加入抑制剂 1 h 后加入 LPS 以及 IL-17A, 孵育 6h 后, 收获细胞上清, 置于 1.5 mL EP 管中 4℃, 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液。按照试剂盒说明书进行操作, 检测细胞上清 IL-4、IFN-γ、IL-6、IL-8 的表达, 用酶标仪检测 450 nm 处各孔的吸光度值, 每组设 3 个复孔。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 18.0 软件包对实验所得数据进行统计分析。应用 GraphPad Prism6.0 进行统计图形绘制, 计量资料的结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析方法 (one-way ANOVA), 各组均数间两两比较时采用 LSD 法或 Kruskal Wallis 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-17A 对 LPS 诱导的 16-HBE 细胞 IL-4、IFN-γ、IL-6、IL-8 释放的影响

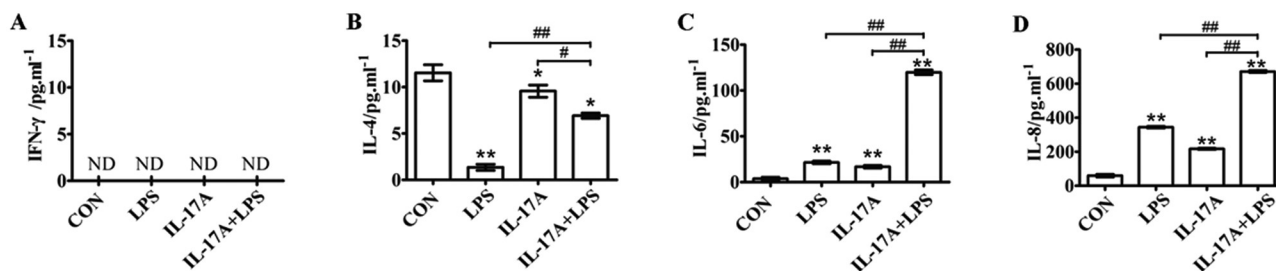


图 1 LPS、IL-17A 对细胞上清中 IFN-γ、IL-4、IL-6、IL-8 释放的影响

Fig.1 The effect of LPS and IL-17A on IFN-γ, IL-4, IL-6, IL-8 release in the cell supernatant

Note: CON, negative control; LPS, lipopolysaccharide; IL-17, interleukin-17A.

ND, not detected; * $P < 0.05$, compared with the control group; ** $P < 0.01$, compared with the control group; # $P < 0.05$, compared with the IL-17+LPS group; ## $P < 0.01$, compared with the IL-17+LPS group.

2.2 LPS、IL-17A 对 LPS 诱导的 16-HBE 细胞 MAPKs 信号通路相关蛋白的影响

与空白组相比, LPS 及 IL-17A 均能显著上调 MAPKs 信号通路相关蛋白 P-ERK、P-P38、P-JNK 的表达, ($P < 0.05$); 与 LPS 组相比, IL-17A+LPS 组 P-ERK、P-P38、P-JNK 的表达明显增加 ($P < 0.05$)。

2.3 MAPKs 抑制剂对 LPS+IL-17A 诱导的 16-HBE 细胞 IL-4、IFN-γ、IL-6、IL-8 释放的影响

空白对照组、IL-17A+LPS 组、IL-17A+LPS+U0126 组、IL-17A+LPS+SB203580 组和 IL-17A+LPS+SP600125 组的细胞上清中 IL-4 的含量分别为 11.54 ± 1.51 、 6.92 ± 0.49 、 3.55 ± 0.36 、 5.67 ± 1.12 、 5.01 ± 0.73 pg·mL⁻¹。与 IL-17A+LPS 组相比, ERK、JNK 抑制剂组能显著降低 IL-4 的含量 ($P < 0.01$), P38 抑制剂组能降低 IL-4 的含量 ($P < 0.05$), 见图 3B。

空白对照组、IL-17A+LPS 组、IL-17A+LPS+U0126 组、IL-17A+LPS+SB203580 组和 IL-17A+LPS+SP600125 组的细胞上清中 IL-6 的含量分别为 3.57 ± 2.69 、 119.80 ± 4.36 、 11.72 ± 1.98 、 14.65 ± 1.05 、 54.44 ± 3.98 pg·mL⁻¹。与 IL-17A+LPS 组相比, ERK、P38、JNK 抑制剂组能显著降低 IL-6 的含量 ($P < 0.01$),

空白对照组、LPS 组、IL-17A 组和 IL-17A+LPS 组细胞上清中 IL-4 的含量分别为 11.54 ± 1.51 、 1.35 ± 0.57 、 9.57 ± 1.14 、 6.92 ± 0.49 pg·mL⁻¹。与空白组相比, LPS 组细胞上清中 IL-4 的水平显著降低 ($P < 0.01$), 与 LPS 组相比较, IL-17A、LPS 联合干预能够升高细胞上清中 IL-4 的含量显著增加 ($P < 0.01$), 与 IL-17A 组相比, IL-17A、LPS 联合干预时能够降低 IL-4 的含量 ($P < 0.05$), 见图 1B。

空白对照组、LPS 组、IL-17A 组和 IL-17A+LPS 组细胞上清中 IL-6 的含量分别为 3.57 ± 2.69 、 21.40 ± 2.57 、 16.80 ± 2.67 、 119.80 ± 4.36 pg·mL⁻¹。与空白组相比, LPS、IL-17A、IL-17A+LPS 组 IL-6 的含量均显著增加 ($P < 0.01$), 且与 LPS 组、IL-17A 组相比, IL-17A+LPS 组 IL-6 的含量明显增加 ($P < 0.01$), 见图 1C。

空白对照组、LPS 组、IL-17A 组和 IL-17A+LPS 组细胞上清中 IL-8 的含量分别为 59.63 ± 19.34 、 344.57 ± 9.26 、 216.88 ± 9.95 、 671.88 ± 9.47 pg·mL⁻¹。与空白组相比, LPS、IL-17A、IL-17A+LPS 组 IL-8 的含量均显著增加 ($P < 0.01$), 且与 LPS、IL-17A 组相比, IL-17A+LPS 组 IL-8 的含量明显增加 ($P < 0.01$), 见图 1D。

见图 3C。

空白对照组、IL-17A+LPS 组、IL-17A+LPS+U0126 组、IL-17A+LPS+SB203580 组和 IL-17A+LPS+SP600125 组的细胞上清中 IL-8 的含量分别为 59.63 ± 19.34 、 671.88 ± 9.47 、 520.13 ± 13.81 、 287.56 ± 13.22 、 393.78 ± 8.47 pg·mL⁻¹。与 IL-17A+LPS 组相比, ERK、P38、JNK 抑制剂组能显著降低 IL-8 的含量 ($P < 0.01$), 见图 3D。

3 讨论

LPS 是革兰氏阴性菌致病的主要抗原物质, 能够诱导多种炎症因子、趋化因子释放, 促进粘蛋白分泌, 抑制细胞增殖, 破坏上皮细胞完整性, 并影响免疫细胞的分化, 在介导炎症损伤、免疫失衡等方面具有重要作用^[27,28]。临床中 LPS 升高是严重细菌感染的一个特异性指征, 也是鉴别急危重症和监测炎症活动的重要参数^[29]。

气道细胞因子释放是引起气道炎症损伤的主要原因之一^[10]。其中, IL-4 和 IFN-γ 是多种气道炎症性疾病患者体内最重要的一对调节因子^[11]。IL-4 是 Th2 相关细胞因子, 是触发 IgE 介导的免疫反应, 促进 Th2 细胞分化及活化, 致使炎症级联扩

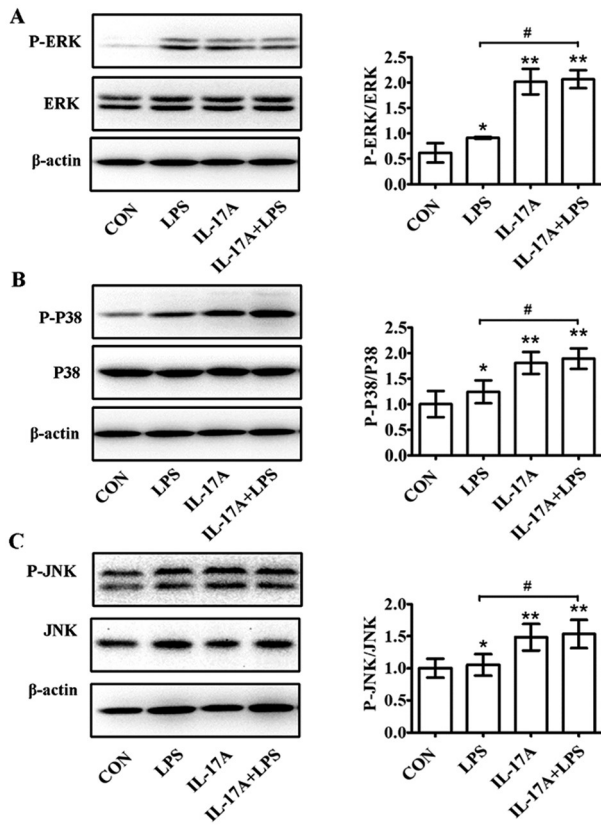


图2 LPS、IL-17A对MAPKs信号通路相关蛋白的影响

Fig.2 The effect of LPS and IL-17A on the MAPKs related proteins

Note: CON, negative control; LPS, lipopolysaccharide; IL-17, interleukin-17A.

* $P < 0.05$, compared with the control group; ** $P < 0.01$, compared with the control group; # $P < 0.05$, compared with the IL-17+LPS group.

大的重要因子^[12,13]。IFN- γ 是Th1细胞分泌产生的重要炎症因子,能够通过拮抗IL-4诱导的IgE炎症损伤,减轻气道炎症反应,并具有抗病毒、调节免疫、抗肿瘤等特性^[14]。Th1/Th2失衡与变态反应、肿瘤、自身免疫性疾病等密切相关^[15-17]。本研究结果显示IL-17A能够减轻LPS所致IL-4降低。但本研究未能检测出IFN- γ 的变化,可能与所采用的细胞系16-HBE本身表达量较小有关。IL-6是一种急性蛋白,能够促进B细胞分泌IgE,加重气道炎症损伤,提高气道高反应性,影响肺功能,其过度表达与重症哮喘、严重脓毒血症等疾病关系密切^[18,19]。IL-8作为重要的CXC型趋化因子,主要趋化中性粒细胞向炎症部位的聚集,促进气道中粘蛋白的分泌,同时激活多条信号通路引起气道重塑和气道上皮损伤^[20,21]。本研究中,IL-17A能够显著提高细胞培养上清中IL-6、IL-8的水平。与Cowden J M等的研究结果一致^[22],提示IL-17A可能通过诱导IL-6、IL-8释放介导气道炎症的进一步加重。

MAPKs是体内重要的丝-苏氨酸激酶,包括ERK、P38、JNK在内的三条信号通路,广泛参与多种疾病的免疫炎症过程,MAPKs信号通路的正常激活对细胞的增殖、分化、凋亡和细胞结构维持具有重要意义,其异常激活会导致气道炎症浸润、粘液壅滞、上皮细胞异常增生等改变^[23,24]。研究显示阻断MAPKs信号通路可以减轻气道炎症,修复气道上皮损伤,改善通气功能^[25,26]。本研究中,LPS和IL-17A可显著上调MAPKs信号通路相关蛋白的磷酸化水平,且IL-17A与LPS联合刺激时MAPKs磷酸化蛋白的表达更高,而添加MAPKs抑制剂后,各组细胞培养上清中IL-6、IL-8等炎症因子的水平下降,提示阻断MAPKs后可减少炎症因子的表达,提示MAPKs可能是IL-17A加重LPS介导气道炎症损伤中的重要信号通路。

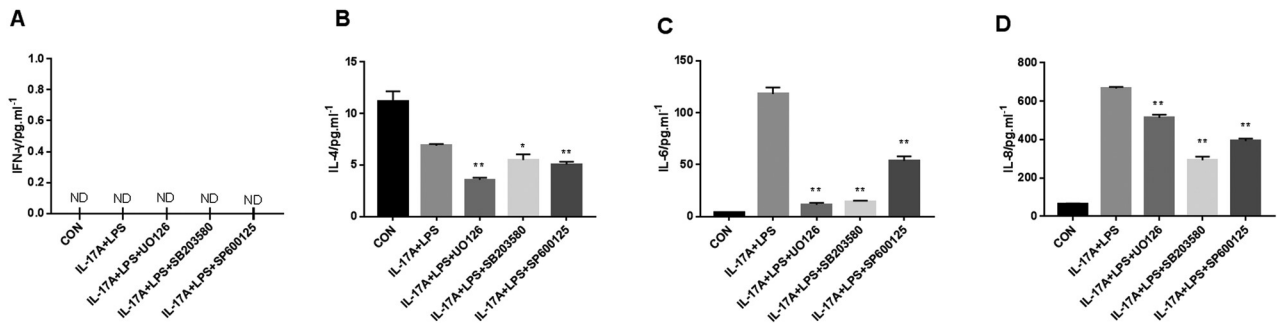


图3 MAPKs抑制剂对细胞上清中IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-8释放的影响

Fig.3 The effect of MAPKs inhibitors on the release of IFN- γ , IL-4, IL-6, IL-8 in the cell supernatant

Note: CON, negative control; LPS, lipopolysaccharide; IL-17, interleukin-17A; U0126, ERK1/2 inhibitor; SB203580, P38 inhibitor; SP600125, JNK inhibitor.

* $P < 0.05$, compared with the LPS+IL-17A group; ** $P < 0.01$, compared with the LPS+IL-17A group.

IL-17能够杀灭体内包括细菌、病毒在内的多数病原体,但其介导的炎症损伤亦不容忽视。深入探究IL-17的特性及其对其他炎症损伤的影响,有助于进一步指导临床^[30]。

本研究结果提示IL-17A可能通过上调IL-6、IL-8的含量加重LPS诱导的支气管上皮细胞炎症损伤,MAPKs可能是这一过程中的重要信号通路。

参考文献(References)

[1] Baturcam Engin, Vollmer Stefan, Schlüter Holger, et al. MEK inhibi-

tion drives anti-viral defence in RV but not RSV challenged human airway epithelial cells through AKT/p70S6K/4E-BP1 signaling [J]. Cell Commun Signal, 2019, 17(1): 78-89

[2] Moonwiriya Aekkacha, Koval Michael, Muanprasat Chatchai. Pharmacological stimulation of G-protein coupled receptor 40 alleviates cytokine-induced epithelial barrier disruption in airway epithelial Calu-3 cells[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 73(8): 353-361

[3] Lambrecht B N, Hammad H. The airway epithelium in Asthma[J]. Nature medicine, 2012, 18(5): 684-692

- [4] Chen K, Eddens T, Trevejo-Nunez G, et al. IL-17 Receptor Signaling in the Lung Epithelium Is Required for Mucosal Chemokine Gradients and Pulmonary Host defense against *K. pneumoniae*[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 20(5): 596-605
- [5] Beringer A, Noack M, Miossec P. IL-17A in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2016, 22(3): 230-241
- [6] Sheng Guo, Liang-Xia Wu, Can-Xin Jones, et al. Allergic airway inflammation disrupts interleukin-17 mediated host defense against streptococcus pneumoniae infection[J]. *International Immunopharmacology*, 2016, 31: 32-38
- [7] Honda K, Wada H, Nakamura M, et al. IL-17A synergistically stimulates TNF- α -induced IL-8 production in human airway epithelial cells: A potential role in amplifying airway inflammation [J]. *Experimental Lung Research*, 2016, 42(4): 205-216
- [8] Choi M S, Heo J, Yi C M, et al. A novel p38 mitogen activated protein kinase (MAPK) specific inhibitor suppresses respiratory syncytial virus and influenza A virus replication by inhibiting virus-induced p38 MAPK activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477(3): 311-316
- [9] Herbert C, Shadie A M, Kumar R K. Interleukin-17 signaling in a murine model of mild chronic asthma [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2013, 162(3): 253-262
- [10] Liu X, Qin X, Xiang Y, et al. Progressive changes in inflammatory and matrix adherence of bronchial epithelial cells with persistent respiratory syncytial virus (RSV) infection (progressive changes in RSV infection)[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(9): 18024-18040
- [11] Bal S M, Bernink J H, Nagasawa M, et al. IL-1 β , IL-4 and IL-12 control the fate of group 2 innate lymphoid cells in human airway inflammation in the lungs[J]. *Nature Immunology*, 2016, 17(6): 636-645
- [12] Cho J L, Ling M F, Adams D C, et al. Allergic asthma is distinguished by sensitivity of allergen-specific CD4⁺T cells and airway structural cells to type 2 inflammation [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(359): 359ra132
- [13] Svenningsen S, Eddy R L, Lim H F, et al. Sputum Eosinophilia and MRI Ventilation Heterogeneity in Severe Asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018 9, 197(7): 876-884
- [14] Piccolo V, Curina A, Genua M, et al. Opposing macrophage polarization programs show extensive epigenomic and transcriptional cross-talk[J]. *Nature Immunology*, 2017, 18(5): 530-540
- [15] Ge F, Zhang Z, Hou J, et al. Granulocyte colony-stimulating factor decreases the Th1/Th2 ratio in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic immune thrombocytopenic purpura in vitro [J]. *Thrombosis Research*, 2016, 148: 76-84
- [16] Rao M. Monocytic Cells Mediate Granulocyte-Colony Stimulating Factor-Induced Mobilization of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells[J]. *Dissertations & Theses - Gradworks*, 2013, 68(9): 1653-1666
- [17] Shakya A K, Lee C H, Uddin M J, et al. Assessment of Th1/Th2 bias of STING agonists coated on microneedles for possible use in skin allergen immunotherapy [J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2018, 15(11): 5437-5443
- [18] Pyle C J, Uwadiae F I, Swieboda D P, et al. Early IL-6 signaling promotes IL-27 dependent maturation of regulatory T cells in the lungs and resolution of viral immunopathology[J]. *Plos Pathogens*, 2017, 13(9): e1006640
- [19] Turan N, Edwards M J, Bates S, et al. IL-6 pathway upregulation in subgroup of severe asthma is associated with neutrophilia and poor lung function[J]. *Clin Exp Allergy*, 2018, 48(4): 475-478
- [20] Shao M X, Nadel J A. Neutrophil elastase induces MUC5AC mucin production in human airway epithelial cells via a cascade involving protein kinase C, reactive oxygen species, and TNF- α -converting enzyme[J]. *J Immunol*, 2005, 175(6): 4009-4016
- [21] Grainge C, Dennison P, Lau L, et al. Asthmatic and normal respiratory epithelial cells respond differently to mechanical apical stress [J]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 2014, 190(4): 477-480
- [22] Cowden J M, Yu F, Banie H, et al. Extended report: The histamine H4 receptor mediates inflammation and Th17 responses in preclinical models of arthritis[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2014, 73(3): 600-608
- [23] Liou C J, Huang W C. Casticin inhibits interleukin-1 β -induced I-CAM-1 and MUC5AC expression by blocking NF- κ B, PI3K-Akt, and MAPK signaling in human lung epithelial cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(60): 101175-101188
- [24] Khorasanizadeh M, Eskian M, Gelfand E W, et al. Mitogen-activated protein kinases as therapeutic targets for asthma [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2017, 174(1): 112-126
- [25] Zhang T, Liao J Y, Yu L, et al. Regulating effect of glycyrrhetic acid on bronchial asthma smooth muscle proliferation and apoptosis as well as inflammatory factor expression through ERK1/2 signaling pathway[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(12): 1172-1176
- [26] Khorasanizadeh M, Eskian M, Gelfand E W, et al. Mitogen-activated protein kinases as therapeutic targets for asthma [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2017, 174: 112-126
- [27] Chinchu J U, Mohan Mohind C, Devi S J, et al. Evaluation of anti-inflammatory effect of (decoction) in THP-1-derived macrophages[J]. *Ayu*, 2018, 39(4): 243-249
- [28] Li Yinjiao, Xiao Jinglei, Tan Yongchang, et al. Inhibition of PKR ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppressing NF- κ B pathway in mice[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2017, 39(4): 165-172
- [29] 刘英其, 李春梅, 叶晓燕, 等. 血流感染脓毒症患者炎症因子水平动态变化对病情严重程度及预后的预测分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(10): 27-30
- [30] Beringer A, Noack M, Miossec P. IL-17A in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2016, 22(3): 230-241