

· 论 著 ·

STAT6 圈套寡核苷酸对支气管哮喘小鼠 Eotaxin 表达及气道炎症的抑制作用

周 雨, 秦碧媛, 熊 瑛[△]

(四川省泸州医学院附属医院呼吸内科 646000)

摘要:目的 观察 STAT6 圈套寡核苷酸(ODN)对支气管哮喘小鼠嗜酸性粒细胞趋化因子(Eotaxin)表达及气道炎症的影响,探讨 STAT6 圈套 ODN 治疗支气管哮喘的可行性。方法 将 BALB-C 雌性小鼠随机分为:健康对照组(N 组)、哮喘组(A 组)、STAT6 圈套 ODN 哮喘组(ST-ODN 组)及无序 ODN 哮喘组(SC-ODN 组),ODN 经鼻气道滴入 ST-ODN 组及 SC-ODN 组小鼠肺部,荧光显微镜观察肺组织中异硫氰酸荧光素标记的寡核苷酸(FITC-ODN)的分布;测定肺泡灌洗液(BALF)中白细胞(WBC)、淋巴细胞(LYM)及嗜酸性粒细胞(EOS)数量;观察气道炎症病理变化;免疫组化法检测肺组织 Eotaxin 蛋白;RT-PCR 法检测肺组织 Eotaxin mRNA 表达。结果 (1)FITC-ODN 转染组小鼠肺部发现 FITC 着色,ODN 肺组织转染成功。(2)小鼠肺组织 ST-ODN 组较哮喘组炎症病理反应明显减轻。(3)BALF 中哮喘组与空白对照组比较,WBC、LYM、EOS 均增高,差异有统计学意义($P < 0.01$);ST-ODN 组则明显低于哮喘组,差异有统计学意义($P < 0.01$);而 SC-ODN 组与哮喘组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);(4)Eotaxin 蛋白及 mRNA 表达:哮喘组明显高于空白对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);ST-ODN 组低于哮喘组,差异有统计学意义($P < 0.01$);而 SC-ODN 组与哮喘组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 STAT6 圈套 ODN 可经鼻气道滴入方式直接转染至小鼠肺组织;STAT6 圈套 ODN 可抑制 Eotaxin 的表达,调控哮喘小鼠气道的 EOS 聚集;抑制哮喘小鼠气道炎症反应。

关键词: 转录激活因子类;寡核苷酸类;哮喘;趋化因子 CCL11;趋化因子 CCL24

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.28.001

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)28-2809-03

Inhibitory effects of STAT6 decoy oligonucleotides on Eotaxin expression and airway inflammation in mouse models of asthma

Zhou Yu, Qin Biyuan, Xiong Ying[△]

(Department of Respiratory Medicine, The Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To observe the influence of STAT6 decoy Oligonucleotides on the Eotaxin expression and airway inflammation in mouse models of asthma. **Methods** BALB-C female mice were randomly divided into four groups: normal control(N), asthma model(A), asthma model administered by STAT6 decoy Oligonucleotides(ST-ODN), and asthma model administered by scrambled Oligonucleotides(SC-ODN). The STAT6 decoy ODN and scrambled ODN were intranasally administered respectively. The distribution of FITC-ODN in lungs were directly observed by fluorescence microscope. The numbers of white blood cells, lymphocytes and eosinophils in bronchoalveolar lavage fluid were classified and measured by microscope. The pathological changes of airway inflammation were observed in lungs section. The mRNA and protein of Eotaxin expression in airway epithelium were detected by reverse transcription polymerase chain reactin(RT-PCR)and immunohistochemistry respectively. **Results** (1)We successfully observe green fluorescence in the lung tissue with FITC-ODN by local intranasal administration, demonstrating the efficacy of gene transfer into the lung. (2)Pathological changes of airway inflammation of asthma group significantly increased compared with that of the ST-ODN group. (3)In the BALF, the numbers of white blood cells/lymphocytes/eosinophils of asthma group significantly increased compared with those of normal control group($P < 0.01$). Those of T-ODN group were significantly lower than those of the asthma group($P < 0.01$), while there were no significant differences($P > 0.05$)between the SC-ODN group and asthma group. (4)The protein and the mRNA expression of Eotaxin;those of asthma group significantly increased compared with those of normal group($P < 0.01$),and those of ST-ODN group were significantly lower than those of the asthma group($P < 0.01$), while there were no significant differences($P > 0.05$)between the SC-ODN group and asthma group. **Conclusion** STAT6 decoy ODN can transfer into lung tissues of mice by local intranasal administration. STAT6 decoy ODN can inhibit the expression of Eotaxin protein and mRNA in lung tissues, regulate eosinophils aggregating in the airway of mice, and reduce airway inflammation.

Key words: activating transcription factors; oligonucleotides; asthma; chemokine CCL11; chemokine CCL24

支气管哮喘(简称哮喘)是一种以嗜酸性粒细胞(EOS)浸润为主的气道慢性炎症疾病。信号转导和转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STATs)是近年来哮喘的研究热点。STAT6 作为 STATs 家族的一员,是变态反应性哮喘病理生理过程中重要的转录因子。EOS 作为气道慢性炎症最主要的效应细胞,是哮喘发病的中心环节。Eotaxin 是

EOS 特异性趋化因子,在气道炎症调控和 Eos 在肺中募集与活化中起重要作用。而活化的 STAT6 亦可转录激活趋化因子 Eotaxin。若能够阻断 STAT6 信号传导通路,则可能在减少 EOS 募集,减轻气道炎症,缓解哮喘症状等方面探索新的治疗途径。

本研究通过以气道局部给药的方式,将 STAT6 圈套寡核

[△] 通讯作者, E-mail: ly65110@126.com.

昔酸(ODN),转染至哮喘大鼠肺部。观察 STAT6 圈套 ODN 对支气管哮喘小鼠嗜酸性粒细胞趋化因子(Eotaxin)表达及气道炎症的影响,探讨哮喘基因治疗的新方法,及 STAT6 圈套 ODN 治疗支气管哮喘的可行性。

1 材料与与方法

1.1 主要试剂及仪器 卵清蛋白(OVA 美国 Sigma 公司), Eotaxin 多克隆抗体(上海天呈生物信息科技有限公司),RNA 抽提试剂盒(上海华舜生物技术有限公司),RT-PCR 试剂盒(大连宝生物公司),Eotaxin mRNA 引物(上海生工生物工程技术有限公司),圈套寡核苷酸与无序寡核苷酸(大连宝生物公司),凝胶成像仪(美国 Gel Doc XR),PCR 仪器(美国 Eppendorf),荧光显微镜及显微摄影设备(日本 Olympus 公司)。

1.2 动物分组及模型建立 32 只 BALB-C 小鼠,雌性,6~8 周,20~25 g(四川大学动物实验中心提供),清洁级。随机分为健康对照组(N 组)、哮喘组(A 组)、STAT6 圈套 ODN 哮喘组(ST-ODN 组)、无序 ODN 哮喘组(SC-ODN 组)。每组各 8 只。A 组、ST-ODN 组、SC-ODN 组小鼠在第 0、7、14 天分别腹腔注射 0.2 mL 含 96 μg OVA 及 2 mg 氢氧化铝混合液进行致敏,N 组小鼠予以等剂量生理盐水腹腔注射。第 21 天时将 A 组、ST-ODN 组、SC-ODN 组小鼠置于不完全密封的有机玻璃罩中,以 10% 卵蛋白生理盐水溶液 90 mL 雾化吸入进行哮喘激发,每天 1 次,每次 30 min,持续 7 d。N 组小鼠予以等剂量生理盐水雾化。

1.3 ODN 干预模型小鼠 STAT6 圈套 ODN 及无序 ODN 的合成:全硫代修饰的 ODN 由大连宝生物公司合成,序列如下^[1-2]:STAT6 圈套 ODN: 5'-GAT CAA GAC CTT TTC CCA AGA AAT CTA T-3', 3'-CAT GTT CTG GAA AAG GGT TCT TTA GAT A-5'。其中部分圈套 ODN 的 5' 端用异硫氰酸荧光素(FITC)标记。无序 ODN: 5'-CGA AAA TTC GTT AAA TCA CTA GCT TAC C-3' 3'-GCT TTT AAG CAA TTT AGT GAT CGA ATG G-5' ODN 稀释后与脂质体制成浓度为 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的脂质体包裹 ODN 复合物。ST-ODN 组、SC-ODN 组小鼠每天激发前 0.5 h,在麻醉状态下分别鼻腔滴入脂质体包裹的 STAT6 圈套 ODN 与无序 ODN 20 μL 。每天 1 次,连续 7 d。最后一次予 ST-ODN 组小鼠 FITC 标记的 STAT6 圈套 ODN。

1.4 标本获取 小鼠末次激发 24 h 后,处死小鼠,以生理盐水行右肺支气管肺泡灌洗,反复 3 次,每次 0.5 mL,回收率约 85%,进行白细胞、淋巴细胞及 EOS 分类计数。取左肺组织,用 10% 中性甲醛固定,备做石蜡切片 HE 染色,及免疫组化检测。取右肺组织 60~100 mg 放于备有 RNA 储存液的 EP 管内放入 -70 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内备做 RT-PCR。FITC 标记 ST-ODN 组小鼠部分左肺组织立即行冰冻切片,直接在荧光显微镜下观察。

1.5 反转录多聚酶链反应(RT-PCR)测定 Eotaxin mRNA 表达 运用 RNA 抽提试剂盒提取肺组织中的总 RNA(参照说明书进行)。核酸定量分析仪测定所提取组织的 RNA 浓度, A260/280 比值为 1.8~2.05。反转录(RT):取标本 RNA 1 μL ,根据 RT-PCR 试剂盒说明书按步骤配制反转录液。反应条件:48 $^{\circ}\text{C}$ 逆转录 20 min,99 $^{\circ}\text{C}$ 5 min 使 Reverse Transcriptase 失活,5 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,一个循环。多聚酶链反应(PCR):配制 PCR 反应液,Eotaxin 引物序列:上游 5'-ACG GTC ACT TCC TTC AC-3',下游 5'-ATC CCA CAT CTC CTT TC-3' 扩增产物 491 bp;内参 GAPDH 引物序列:上游 5'-ACC ACA

GTC CAT GCC ATC AC-3',下游 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3' 扩增产物 452 bp。反应条件为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min,30 个循环。产物半定量分析:取 PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察并拍照。用 Quantity one 软件分析电泳带灰度,计算目的基因扩增带灰度与对应的 GAPDH 扩增带灰度之比值,即为半定量结果。

1.6 肺组织 Eotaxin 的免疫组织化学染色 采用 SABC 法进行染色,光学显微镜下观察,判断阳性表达,测定 Eotaxin 蛋白,标准如下:采用 Image-Pro Plus 图像分析仪对图像进行分析;每张切片在光学显微镜下放大 200 倍,随机选择至少 5 个视野,测定阳性区域平均吸光度,计算其平均值作为该切片的代表值。

1.7 统计学处理 各指标(计量资料)均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS13.0 统计软件进行单因素方差分析。两组间比较采用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异统计学有意义。

2 结果

2.1 ODN 局部给药肺部荧光显像 取 FITC-ODN 给药小鼠的肺组织冰冻切片直接在荧光显微镜下观察,发现小鼠肺组织呈现绿色荧光,以气道上皮细胞及气道下浸润的炎性细胞更为显著,见封 2 图 1。

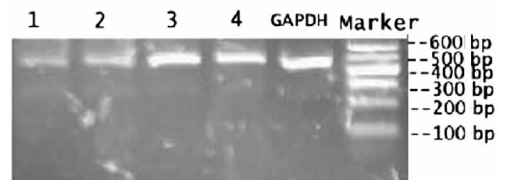
2.2 BALF 细胞计数及分类 见表 1。

表 1 各组小鼠 BALF 中 WBC、LYM 及 EOS 计数比较($n=8, \bar{x} \pm s, \times 10^6/L$)

组别	WBC	LYM	EOS
N 组	4.48 \pm 0.71*	0.26 \pm 0.09*	0.05 \pm 0.01*
A 组	22.20 \pm 5.14#	2.48 \pm 0.82#	2.87 \pm 1.00#
ST-ODN 组	10.50 \pm 1.62	0.83 \pm 0.18	0.27 \pm 0.05
SC-ODN 组	22.35 \pm 5.44 Δ	2.28 \pm 0.72 Δ	2.57 \pm 0.66 Δ

#: $P < 0.01$,与 ST-ODN 组比较; Δ : $P > 0.05$,*: $P < 0.01$,与 A 组比较。

2.3 肺组织病理改变 N 组小鼠气道黏膜正常,管腔规则,周围无明显炎症细胞浸润;哮喘组小鼠支气管管腔狭窄,支气管和血管周围及其管腔内炎性细胞浸润,以嗜酸性粒细胞及淋巴细胞渗出为主;毛细血管扩张、充血、周围组织水肿。ST-ODN 组小鼠支气管壁的损伤明显减轻,管壁周围的炎症细胞浸润明显减少,炎症病理反应减轻。而 SC-ODN 组炎症情况则同 A 组相近。见封 2 图 2。



1:N 组;2:ST-ODN 组;3:A 组;4:SC-ODN 组。

图 4 小鼠肺组织中 Eotaxin mRNA PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

2.4 各组小鼠肺组织 Eotaxin 蛋白表达 A 组气道上皮 Eotaxin 阳性表达量明显高于 N 组($P < 0.01$),ST-ODN 组 Eotaxin 阳性细胞表达量明显低于 A 组($P < 0.01$),SC-ODN 组 Eotaxin 表达高于 N 组($P < 0.01$),SC-ODN 组与 A 组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。光镜下见 Eotaxin 阳性信号主

要位于胞膜上,呈棕褐色颗粒。A 组:支气管、细支气管上皮细胞呈强阳性表达;STAT6 圈套 ODN 组:支气管、细支气管上皮细胞呈弱阳性表达,见封 2 图 3。

2.5 各组小鼠肺组织 Eotaxin mRNA 表达 A 组小鼠肺组织 Eotaxin mRNA 表达明显高于 N 组 ($P < 0.01$), ST-ODN 组 Eotaxin mRNA 表达与 A 组比较明显下降 ($P < 0.01$)。SC-ODN 组 Eotaxin mRNA 表达较 A 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 4。

3 讨 论

支气管哮喘是一种由多种细胞、因子和炎症介质引起、以 EOS 浸润为主,以气道高反应性(AHR)为特征的慢性气道炎症性疾病,其中细胞因子及趋化因子在哮喘炎症形成中起重要作用。目前认为许多细胞因子及趋化因子通过 JAK/STAT 信号传导途径在哮喘气道慢性炎症中发挥作用。STAT6 作为 STATs 家族成员之一,通过 JAK/STAT 途径调节 Th2 优势分化,介导细胞因子白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-13(IL-13)等的基因表达,促进 B 细胞增殖和分化,参与 IgE 类型转换,促进 Eotaxin 基因转录,从而介导哮喘气道炎症和气道高反应性。因此,STAT6 作为变态反应性哮喘病理生理过程中关键的转录因子,在哮喘气道炎症形成的分子学机制中起至关重要的作用,目前已成为哮喘治疗新的靶点。Chiba 等^[3]应用 AS1517499 抑制 STAT6 信号传导,抑制抗原诱导的 IL-13 的表达,进而抑制哮喘的炎症反应及气道高反应性。利用 RNA 干扰技术,通过阻断 STAT6 信号传导通路从而达到治疗哮喘的目的^[4]。

嗜酸性粒细胞浸润是支气管哮喘气道病理改变的主要特征,被认为是哮喘发展恶化中的重要因素。它是哮喘炎症反应中造成组织损伤和肺功能紊乱的主要效应细胞。哮喘的严重性与嗜酸性粒细胞性气道炎症的程度有关。嗜酸性粒细胞募集和随后的激活,在支气管哮喘发病机制中起着重要作用^[5]。而 Eotaxin 在嗜酸性粒细胞的趋化、黏附、募集、活化和脱颗粒过程中发挥着重要作用^[6]。Eotaxin 作为 CC 趋化因子家族成员之一,是 EOS 选择性的趋化剂和强有力的激活剂,特异性地对 EOS 具有强大趋化作用。本研究中,哮喘小鼠气道上皮 Eotaxin 蛋白及其 mRNA 的表达明显高于空白对照组,证实了 Eotaxin 在哮喘气道炎症中起调控作用。

Eotaxin 基因的表达和调控很大程度依赖于通过 JAK/STAT6 信号传导的 IL-4 及 IL-13 等 Th2 型细胞因子的协同作用。Th2 型细胞因子可与促炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)协同刺激支气管上皮细胞增强表达 Eotaxin,从而吸引嗜酸性粒细胞浸润至气道参与哮喘炎症过程^[7]。研究发现,IL-13 通过 STAT6 信号通路调节 Eotaxin 基因的转录^[8]。而 Odaka 等^[9]也发现 STAT6 在 IL-4 诱导的 Eotaxin 活化中起了非常关键的作用。Chiu 等^[10]报道通过抑制 STAT6 使得 IL-4 诱导的 Eotaxin 在 BEAS-2B 细胞上的表达明显下降。以上提示 Eotaxin 可能是 STAT6 转录激活后在气道炎症调控中起作用的效应因子之一,STAT6 的活化与 Eotaxin 表达关系密切。

近年来,利用寡核苷酸进行哮喘干预的研究逐渐成为热点。寡核苷酸免疫刺激序列(CpG ODN)作为一种新型免疫调节剂,已被许多研究证实其在调控 Th1/Th2 亚群比例方面的作用^[11]。针对信号传导通路对哮喘干预的寡核苷酸治疗,已有相关报道,但以反义寡核苷酸策略研究多见。而作者采用了圈套寡核苷酸策略,是目前新型的基因治疗手段之一,比反义寡核苷酸更具有稳定性高、效特性强的优点^[12]。此策略目前

在核因子- κ B (NF- κ B) 及 STATs 上都有应用^[13-14]。针对 STAT6 作用的特点,2000 年 Wang 等^[1]设计合成了一段外源性 STAT6 顺式作用元件,称为圈套寡核苷酸,将其转入细胞,竞争性地抑制 STAT6 与顺式元件的结合,致其不能结合到靶基因的启动子区域,从而失去其转录活性,后续基因表达及功能的发挥,这种新的基因治疗方法立即受到广泛的关注,已陆续开展关于皮肤过敏性疾病、哮喘细胞学的基础研究,特别是在治疗特应性皮炎方面,已经在进入到临床实验^[15],但它在哮喘活体组织中的实验国内外尚无文献报道。

本研究通过建立活体小鼠哮喘模型,首次将 STAT6 圈套 ODN 用于活体小鼠上,以气道局部给药方式将硫代修饰的 ODN 转染至肺组织。荧光显微镜下见 FITC 标记的 ODN 在肺组织特别是气道上皮显色明显,说明此种给药的方式能有效地到达肺组织,其原因可能是小鼠在麻醉状态下易将鼻咽部异物吸入支气管。同时本研究发现 STAT6 圈套 ODN 组 BALF 中 EOS 等炎性细胞计数降低,哮喘气道炎症减轻,气道上皮 Eotaxin 蛋白及其肺组织中 mRNA 表达呈显著抑制,提示 STAT6 圈套 ODN 可抑制哮喘小鼠气道炎症反应,可能与其阻断 STAT6 激活所致的 Th2 优势应答,影响了下游信号转导效应有关,同时 STAT6 圈套 ODN 可调控 Eotaxin 的表达,调控哮喘小鼠气道的 EOS 聚集。而无序 ODN 对哮喘小鼠的影响不具有差异性,说明 STAT6 圈套 ODN 对哮喘的影响具有特异性而不是核酸本身所导致。以上提示 STAT6 圈套 ODN 治疗哮喘有效,且哮喘小鼠局部给药的方式具有用量少、全身不良反应小的优点^[16]。糖皮质激素作为当前控制哮喘发作最有效的药物,其不良反应大、依从性差^[17],限制了在临床上的广泛使用。STAT6 圈套 ODN 的研究,从细胞分子水平为哮喘提供了新的治疗靶点和方法。但此方法能否应用到临床还需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] Wang LH, Yang XY, Robert A, et al. Targeted disruption of Stat6 DNA binding activity by an oligonucleotide cell response decoy blocks IL-4-driven TH2 cell response[J]. Blood, 2000, 95(4): 1249-1257.
- [2] Yokozeki H, Wu MH, Sumi K, et al. In vivo transfection of a cis element "decoy" against signal transducers and activators of transcription 6(STAT6)-binding site ameliorates IgE-mediated late phase reaction in an atopidermatitis mice model[J]. Gene Ther, 2004, 11(24): 1753-1762.
- [3] Chiba Y, Todoroki M, Nishida Y, et al. A novel STAT6 inhibitor AS1517499 ameliorates antigen-induced bronchial hypercontractility in mice[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2009, 41(5): 516-524.
- [4] Walker W, Healey GD, Hopkin JM, et al. RNA interference of STAT6 rapidly attenuates ongoing interleukin-13-mediated events in lung epithelial cells[J]. Immunology, 2009, 127(2): 256-266.
- [5] 曹乃清, 张宏誉. 嗜酸性粒细胞募集在支气管哮喘发病中的作用[J]. 基础医学与临床, 2006, 26(12): 1389-1392.
- [6] Samuel MP, Nives Z, Keith F, et al. The eotaxin chemokines and CCR3 are fundamental regulators of allergen-induced pulmonary eosinophilia[J]. J Immunol, 2005, 175(8): 5341-5350.

- [3] Pettersson HM, Pietras A, Munksgaard Persson M, et al. Arsenic trioxide is highly cytotoxic to small cell lung carcinoma cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(1):160-170.
- [4] Dalzell JR, Samuel LM. The spectrum of 5-fluorouracil cardiotoxicity[J]. *Anticancer Drugs*, 2009, 20(1):79-80.
- [5] Huq A, Singh B, Meeker T, et al. The metal-binding domain of IGFBP-3 selectively delivers therapeutic molecules into cancer cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2009, 20(1):21-31.
- [6] 程翼飞, 张乐萍, 陆爱东, 等. 砷剂可以改善儿童急性早幼粒细胞白血病长期预后吗? ——单中心的经验[J]. *中华血液学杂志*, 2008, 29(7):454-458.
- [7] Sengottuvelan M, Viswanathan P, Nalini N. Chemopreventive effect of trans-resveratrol—a phytoalexin against colonic aberrant crypt foci and cell proliferation in 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27(5):1038-1046.
- [8] Wang Y, Lee KW, Chan FL. The red wine polyphenol resveratrol displays bilevel inhibition on aromatase in breast cancer cells[J]. *Toxicol Sci*, 2006, 92(1):71-77.
- [9] Miller ME, Holloway AC, Foster WG. Benzo-[a]-pyrene increases invasion in MDA-MB-231 breast cancer cells via increased COX- II expression and prostaglandin E2 (PGE2) output[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2005, 22(2):149-156.
- [10] Kim YA, Lim SY, Rhee SH. Resveratrol inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression in beta-amyloid-treated C6 glioma cells[J]. *Int J Mol Med*, 2006, 17(6):1069-1075.
- [11] Kim AL, Zhu Y, Zhu H. Resveratrol inhibits proliferation of human epidermoid carcinoma A431 cells by modulating MEK1 and AP-1 signalling pathways[J]. *Exp Dermatol*, 2006, 15(7):538-546.
- [12] Cao Y, Wang F, Liu HY. Resveratrol induces apoptosis and differentiation in acute promyelocytic leukemia(NB4) cells[J]. *Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(4):633-641.
- [13] Sun C, Hu Y, Liu X. Resveratrol downregulates the constitutive activation of nuclear factor-kappaB in multiple myeloma cells, leading to suppression of proliferation and invasion, arrest of cell cycle, and induction of apoptosis[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2006, 165(1):9-19.
- [14] Lanzilli G, Fuggetta MP, Tricarico M. Resveratrol downregulates the growth and telomerase activity of breast cancer cells in vitro[J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(3):641-648.
- [15] Mainardi T, Kapoor S, Bielory L. Complementary and alternative medicine: herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects[J]. *Allergy Clin Immunol*, 2009, 123(2):283-294.
- [16] Bernhaus A, Fritzer-Szekeres M, Grusch M, et al. Digalloylresveratrol, a new phenolic acid derivative induces apoptosis and cell cycle arrest in human HT-29 colon cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2009, 274(2):299-304.
- [17] Chan JY, Phoo MS, Clement MV, et al. Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis; the roles of caspase-6 and p53[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(8):1305-1312.

(收稿日期:2011-04-30 修回日期:2011-06-14)

(上接第 2811 页)

- [7] 汤葳, Chan A, Chik S, 等. 细胞因子诱导支气管上皮细胞表达嗜酸粒细胞趋化因子[J]. *现代免疫学*, 2005, 25(1):61-65, 81.
- [8] Matsukura S, Stellato C, Georas SN, et al. Interleukin 13 upregulates eotaxin expression in airway epithelial cells by a STAT6-dependent mechanism[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, 24(6):755-761.
- [9] Odaka M, Matsukura A, Kuga H, et al. Differential regulation of chemokine expression by Th1 and Th2 cytokines and mechanisms of eotaxin/CCL-11 expression in human airway smooth muscle cells[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2007, 143(1):84-88.
- [10] Chiu PR, Lee WT, Chu YT, et al. Effect of the Chinese herb extract osthol on IL-4-induced eotaxin expression in BEAS-2B cells[J]. *Pediatr Neonatol*, 2008, 49(4):135-140.
- [11] Ashino S, Wakita D, Zhang Y, et al. CpG-ODN inhibits airway inflammation at effector phase through down-regulation of antigen-specific Th2-cell migration into lung[J]. *Int Immunol*, 2008, 20(2):259-266.
- [12] Mann MJ. Transcription factor decoys: a new model for disease intervention[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1058:128-139.
- [13] 索立俊, 施毅, 张方, 等. 核因子- κ B 圈套寡核苷酸转染对小鼠成熟树突状细胞生物学特性的影响[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2009, 8(3):271-274.
- [14] Lührmann A, Tschernig T, von der Leyen H, et al. Decoy oligodeoxynucleotide against STAT transcription factors decreases allergic inflammation in a rat asthma model[J]. *Exp Lung Res*, 2010, 36(2):85-93.
- [15] Igawa K, Satoh T, Yokozeki H. A therapeutic effect of STAT6 decoy oligodeoxynucleotide ointment in atopic dermatitis; a pilot study in adults[J]. *Br J Dermatol*, 2009, 160(5):1124-1126.
- [16] Templin MV, Levin AA, Graham MJ, et al. Pharmacokinetic and toxicity profile of a phosphorothioate oligonucleotide following inhalation delivery to lung in mice[J]. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 2000, 10(5):359-368.
- [17] 陈贵华, 李代先, 周丽华. 哮喘患者使用吸入激素的依从性调查及对策[J]. *重庆医学*, 2009, 38(17):2213-2214.

(收稿日期:2011-04-28 修回日期:2011-06-04)