

JAK/STAT3 信号通路参与白细胞介素-17 诱导的 支气管平滑肌细胞增殖与迁移

蓝引乐¹, 朱 好², 王建华¹, 凌元亮³

(浙江大学医学院附属儿童医院 1. 呼吸科, 2. 中医科, 浙江 杭州 310012; 3. 杭州市拱墅区祥符社区卫生服务中心, 浙江 杭州 310023)

摘要:【目的】探讨白介素-17(IL-17)促进支气管平滑肌细胞(BSMC)的增殖与迁移作用及JAK/STAT3相关信号通路在其中的作用机制。【方法】使用不同浓度IL-17处理BSMC不同时间,以确定最佳实验条件。随后使用MTT检测细胞活力,BrdU染色观察细胞增殖状态,并使用PI染色流式细胞仪检测细胞周期。进一步利用细胞迁移实验检测细胞迁移能力。使用Western blot实验检测IL-17处理后BSMC的JAK、p-JAK、STAT3、p-STAT3蛋白表达量。利用JAK/STAT3信号通路特异性阻断剂AG490来特异性阻断JAK/STAT3信号通路,检测阻断JAK/STAT3信号后IL-17对细胞增殖、迁移以及JAK/STAT3信号通路蛋白表达量的影响。【结果】IL-17可促进BSMC增殖($P < 0.05$),促进细胞周期进程($P < 0.05$)并使细胞迁移能力增强($P < 0.05$)。这一过程伴随着BSMC的JAK/STAT3信号通路的增强($P < 0.05$)。抑制JAK/STAT3信号通路缓解了IL-17对BSMC的促进增殖和迁移的作用($P < 0.05$)。【结论】JAK/STAT3信号通路参与了IL-17诱导的BSMC增殖与迁移作用,AG490对IL-17引起的BSMC JAK/STAT3信号通路的增强起到了抑制作用。

关键词:白介素-17; 支气管平滑肌细胞; JAK/STAT3通路; 细胞增殖; 细胞迁移

中图分类号:R363.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2019)03-0379-08

JAK/STAT3 Signaling Pathway Is Involved in Promoting the Proliferation and Migration of Bronchial Smooth Muscle Cells Induced by Interleukin-17

LAN Yin-le¹, ZHU Yu², WANG Jian-hua¹, LING Yuan-liang³

(1. Department of Respiration, 2. Department of Traditional Chinese Medicine, The Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310012, China; 3. Community Health Center, Xiang Fu Street, Gongshu District, Hangzhou 310023, China)

Correspondence to: LAN Yin-le; Email: luolin@zju.edu.cn

Abstract: 【Objective】 To investigate the effects of interleukin-17 (IL-17) on the proliferation and migration of bronchial smooth muscle cells (BSMC) and the role of JAK/STAT3 signaling pathway in this process. 【Methods】 BSMC were treated with different concentrations of IL-17 for different times to determine the best of the experimental condition. Then MTT assay was used to detect cell viability. Cell proliferation states were detected by BrdU staining, and the cell cycle was assessed by PI staining using a flow cytometer. Transwell cell migration assay was further used to detect cell migration ability. The expression of JAK, p-JAK, STAT3 and p-STAT3 in BSMC after being treated with IL-17 was detected by Western blotting. JAK/STAT3 signaling pathway specific blocker AG490 was used to investigate the role of JAK/STAT3 signaling pathway in IL-17-induced BSMC proliferation and migration. The effects of IL-17 on cell proliferation, migration and JAK/STAT3 signaling pathway related protein expression were evaluated after blocking the JAK/STAT3 signaling. 【Results】 IL-17 enhanced the proliferation ($P < 0.05$), promoted the cell cycle transitions ($P < 0.05$) and sig-

收稿日期:2018-12-05

基金项目:浙江省卫生计生委项目(2012KYA120)

作者简介:蓝引乐,通信作者,硕士,在读博士研究生,主治医师,研究方向:支原体肺炎、支气管哮喘, E-mail: luolin@zju.edu.cn

nificantly increases the migration ability ($P < 0.05$) in BSMC. This process was accompanied by the enhancement of JAK/STAT3 signaling pathway in BSMC ($P < 0.05$). Inhibition of JAK/STAT3 signaling pathway alleviated BSMC proliferation and migration induced by IL-17 ($P < 0.05$). 【Conclusions】 JAK/STAT3 signaling pathway participates in the stimulation process of IL-17 on the proliferation and migration of BSMC. AG490 inhibits the enhancement of JAK/STAT3 signaling pathway in BSMC induced by interleukin-17.

Key words: interleukin-17; bronchial smooth muscle cells; JAK/STAT3 pathway; cell proliferation; cell migration

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2019, 40(3): 379-386]

哮喘是儿童高发的慢性呼吸系统疾病,其主要特征是气道重塑、炎症和支气管高反应性^[1]。气道重塑是哮喘发生的重要环节,与疾病严重程度与预后密切相关^[2]。支气管平滑肌细胞(bronchial smooth muscle cells, BSMC)的异常增殖在气道重塑中具有重要作用^[3],由于其支气管平滑肌细胞增殖与迁移增强,其病理特征表现为支气管平滑肌肿块增加。哮喘是由多种细胞参与的慢性气道炎症^[4],支气管平滑肌细胞的异常增殖已成为哮喘防治中人们关注的焦点,减少过度增殖的气道平滑肌组织的可以通过改善哮喘的症状,支气管平滑肌细胞的异常增殖与迁移被认为是抗哮喘治疗的主要靶点^[5]。现有的研究已经证实,促激活和促纤维化的细胞因子与支气管平滑肌细胞密切相关^[6]。细胞因子主要包括白细胞介素(interleukin, IL)家族、转化生长因子beta(TGF- β)等^[6]。白细胞介素家族是哮喘中支气管平滑肌细胞的结构和功能异常的主要参与者之一。细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)是T细胞诱导的炎症反应的早期启动因子,研究发现IL-17在哮喘患者血液中表达显著增高^[7-8],但是IL-17对支气管平滑肌细胞的效应尚不清楚。JAK/STAT通路可被促炎细胞因子激活,导致STAT转录因子磷酸化^[9],且在哮喘患者显示支气管组织内JAK/STAT通路被激活^[10]。对此本研究对IL-17对BSMC的增殖刺激作用进行探索,验证是否JAK/STAT3信号通路参与其中。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与药物处理

人BSMC来源于自上海斯信生物科技有限公司。采用含有100 mL/L胎牛血清(ThermoFisher Science公司,美国)、0.5 g/L表皮生长因子和2 g/L

成纤维细胞生长因子的M199培养基在37℃体积分数5% CO₂培养箱中进行细胞培养。细胞生长达到70%~80%汇合时,使用10 mL/L ITS预混物(BD Bio公司,美国)增强的F12/DMEM(50:50混合比例)的无血清培养基中培养12 h。然后用不同浓度(0.1、1、10 ng/mL)的IL-17(Sigma Aldrich公司,美国)分别处理细胞不同时间(24、48、72 h)。为研究IL-17对JAK-STAT3信号通路的影响,采用JAK-STAT3信号通路的特异性抑制剂50 μ mol/L AG490(Selleck公司,美国)预处理细胞30 min,然后与10 ng/mL IL-17共同孵育48 h。

1.2 MTT法检测细胞活力

使用MTT法检测IL-17对人支气管平滑肌细胞活力的影响。细胞密度以 5×10^3 个/孔接种于96孔板中,贴壁12 h后,无血清培养基同步化12 h,再使用(0、0.1、1、10 ng/mL) IL-17分别刺激细胞不同时间(24、48、72 h)后,加入20 mg/L的MTT试剂,培养4 h,终止培养后吸去孔内培养液。每孔加入150 μ L的二甲基亚砜,震荡溶解晶体,用分光光度法测定在570 nm处的吸光度,实验测试重复3次。

1.3 BrdU免疫荧光染色

使用BrdU标记方法测定BSMC增殖。 5×10^3 个/孔BSMC接种于96孔板中,贴壁12 h后,无血清培养基同步化12 h,按照实验要求,进行细胞处理。处理的细胞按照按照BrdU试剂盒(艾美捷公司,中国武汉)操作说明书,孵育10 μ mol/L BrdU试剂24 h,然后用PBS洗涤细胞,用40 g/L的多聚甲醛包封10 min,随后用0.3% Triton X-100孵育20 min,使细胞膜通透。使用含5% BSA、0.1% Triton X-100的0.1 mol/L PBS封闭1 h。加入BrdU一抗封闭过夜。次日使用PBS洗涤后加入二抗孵育30 min。洗净后使用DAPI(碧云天公司,中国海门)染色5 min,封片剂封片。使用荧光显微镜观

察 BrdU 阳性细胞。实验测试重复 3 次。

1.4 细胞周期分析

5×10^6 个/孔 BSMC 接种于 6 孔板中,贴壁 12 h 后,无血清培养基同步化 12 h,按照实验要求进行处理细胞。达到实验要求的时间终点时,用不含 EDTA 的 2 g/L 胰酶消化,1 000 $\times g$ 离心 5 min 收集细胞。 -20°C 在 70% 乙醇中固定一夜, 4°C 下 1 000 $\times g$ 离心 5 min。PBS 洗涤后 4°C 下 1 000 $\times g$ 离心 5 min。随后将细胞重悬在 300 μL 碘化丙啶染色缓冲液(碧云天公司,中国海门)中,在室温下孵育 30 min。使用流式细胞仪(BD Bio 公司,美国)进行 DNA 含量分析。实验测试重复 3 次。

1.5 体外细胞迁移实验

使用 24 孔迁移室板(Chemicon 公司,美国)来检测细胞迁移。收集按照实验要求处理后的 BSMC,用无血清培养基调整细胞浓度为 5×10^6 个/mL,取 100 μL 细胞悬液接种到上腔室中,下腔室加入 600 μL 含 10% FBS 培养基。在 37°C 在体积分数 5% CO_2 条件下孵育 24 h 后,取小室并擦除上室上膜细胞。在室温下用龙胆紫(Sigma-Aldrich 公司,美国)染色 10 min,随后用水冲洗 10 min,室温下空气干燥 20 min,在光学显微镜明场下计数 5 个随机视野(200 \times ,Nikon 公司,日本)膜表面的细胞数量进行计数,每个试验组重复 3 次。

1.6 蛋白质免疫印迹分析

收集按照实验要求处理后的 BSMC,用预冷的 PBS 洗涤细胞 3 次,然后用 250 μL 的 RIPA 缓冲液和 2.5 μL PMSF 在冰上孵育 30 min。收集细胞后,在 13 000 $\times g$ 下离心 10 min,在 4°C 下测定细胞裂解物的蛋白浓度。将蛋白裂解物(每样品 50 μg)和缓冲液按比例混合,然后在 100°C 煮沸 5 min。在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后转膜至 PVDF 膜。PVDF 膜在室温下在含 5% 脱脂奶粉的 TBST 中封闭 2 h。然后在 4°C 下与一抗体孵育过夜,稀释后的抗体包括单克隆小鼠抗人 GAPDH(1:5 000)和山羊抗人 p-STAT3(1:1 000)(Santa Cruz 公司,美国),单克隆小鼠抗人 JAK(1:1 000),单克隆小鼠抗人 STAT3(1:1 000)(Santa Cruz 公司,美国)。用 TBST 进行洗涤后,将膜与二抗孵育。使用化学发光免疫印迹免疫检测试剂盒(Invitrogen 公司,美国)曝光显影。然后,使用 IPP 软件扫描蛋白灰度值,然后以 GAPDH 灰度值为内部参照,对胶片进行半定量分析。实验测试重复 3 次。

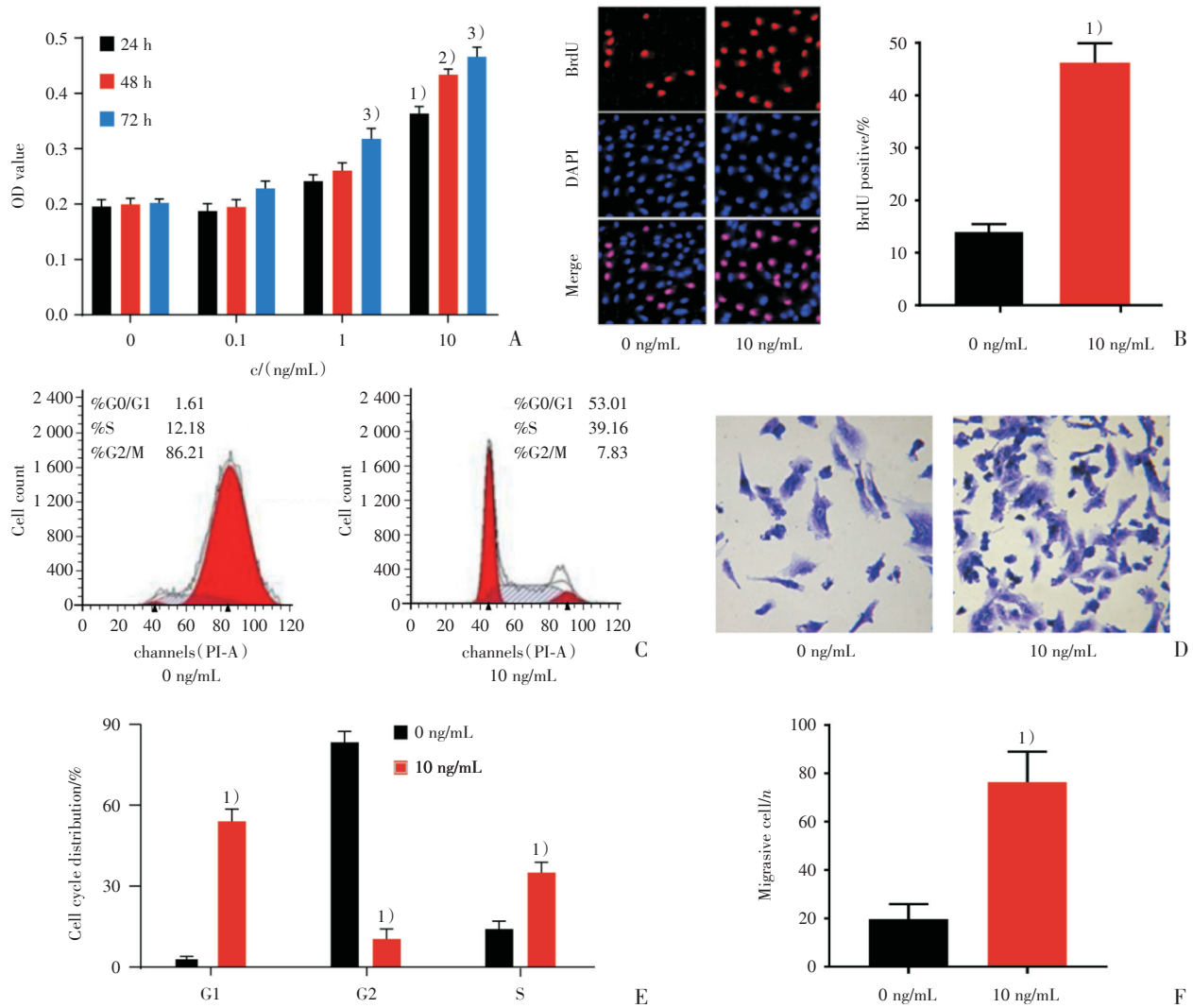
1.7 统计分析

使用 Graphpad Prism 7.0 软件对数据进行分析。经检测各组数据符合正态分布和方差齐,符合正态分布的数据表示为 $\bar{x} \pm s$ 。对于不同时间点和不同浓度的 IL-17 对细胞活性的影响,采用有交互作用的两因素方差分析,检验水平 $\alpha=0.05$ 。两组数据的比较采用成组 t 检验。其余多组间数据两两比较采用单因素方差分析后 Bonferoni 检验。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-17 促进支气管平滑肌细胞增殖和迁移

为确定 IL-17 对 BSMC 增殖作用的影响,本研究首先使用浓度梯度为 0、0.1、1 和 10 ng/mL 的 IL-17 分别处理 BSMC 24、48、72 h,随后使用 MTT 检测。如图 1A 显示,时间效应对 BSMC 增殖的影响差异有统计学意义($F_{\text{time}} = 23.352 > F(2, 24) = 3.400$, $P = 0.011$);浓度效应对 BSMC 增殖的影响差异有统计学意义($F_{\text{concentration}} = 33.412 > F(3, 24) = 3.010$, $P = 0.009$);时间与浓度交互作用对 BSMC 增殖的影响差异有统计学意义($F_{\text{interaction}} = 11.635 > F(6, 24) = 2.510$, $P = 0.018$);其中 1 ng/mL IL-17 作用 BSMC 72 h 和 10 ng/mL IL-17 作用 BSMC 24、48、72 h 均能升高细胞活力(P 均 < 0.05);其中 10 ng/mL IL-17 作用 BSMC 48、72 h 细胞活力最高,而 10 ng/mL IL-17 作用 48 h 与作用 72 h 相比,无统计学差异。基于 MTT 实验结果,后面的实验条件采用 10 ng/mL IL-17 处理 48 h。随后本研究对细胞进行了 BrdU 染色和细胞周期进行了检测。BrdU 染色的结果显示,10 ng/mL IL-17 处理后, BrdU 阳性细胞数显著增加,差异具有统计学意义($t = 24.438$, $P < 0.001$;图 1B)。细胞周期结果显示,10 ng/mL 组 G1 期 BSMC 百分比明显低于对照组,差异具有统计学意义($t = 29.146$, $P < 0.001$);而 S 期($t = 19.741$, $P < 0.001$)与 G2/M 期($t = 38.352$, $P < 0.001$)均高于对照组(图 1C、D)。这些结果提示 IL-17 能够促进细胞增殖和细胞周期运行。随后我们对细胞的迁移进行评估,结果显示 10 ng/mL 组 BSMC 的迁移显著上调,差异具有统计学意义($t = 26.254$, $P < 0.001$;图 1E、F)。这些结果表明,IL-17 可促进支气管平滑肌细胞的增殖和迁移。



A: Cell viability was measured by MTT assay. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 3) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; B: Cell proliferation was measured by BrdU assay. $n=3$, 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; C and D: Cell cycle distribution was detected by PI staining using flow cytometry. $n=3$, 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; E and F: Cell migration was detected by Transwell assay. $n=3$, 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group.

图1 IL-17促进对支气管平滑肌细胞增殖与迁移

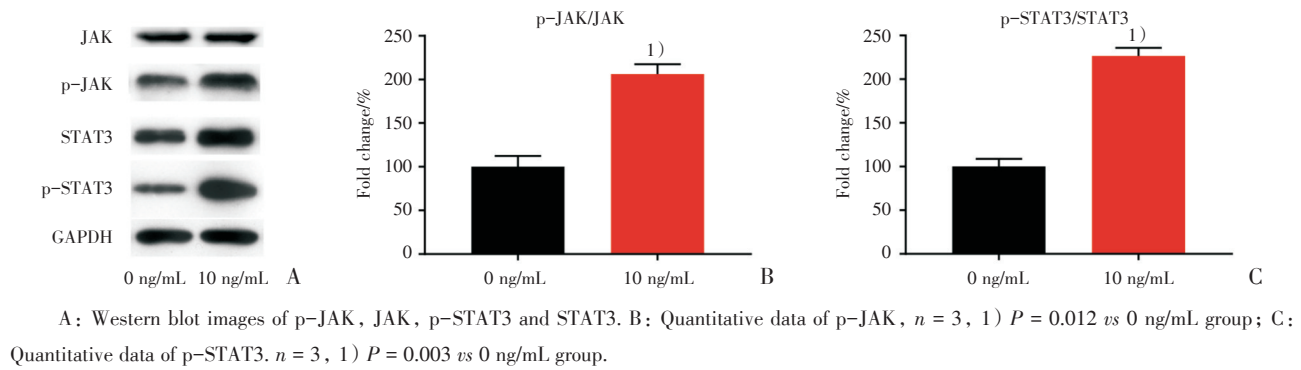
Fig.1 IL-17 promotes the proliferation and migration in BSMC

2.2 IL-17上调支气管平滑肌细胞JAK/STAT3信号通路活性

为了探索IL-17对BSMC增殖作用的机制,本研究对BSMC的JAK/STAT3信号通路进行了检测。Western blot实验检测发现IL-17处理BSMC后p-JAK($t = 5.235, P = 0.012$)、p-STAT3($t = 9.438, P = 0.003$)均表达上调(图2),差异有统计学意义;而JAK($t = 0.665, P = 0.643$)和STAT3($t = 0.431, P = 0.725$)变化差异无统计学意义。提示IL-17促进支气管平滑肌细胞的增殖和迁移可能是通过促进激活JAK/STAT3信号通路。

2.3 AG490抑制IL-17激活的支气管平滑肌细胞JAK/STAT3信号通路活性

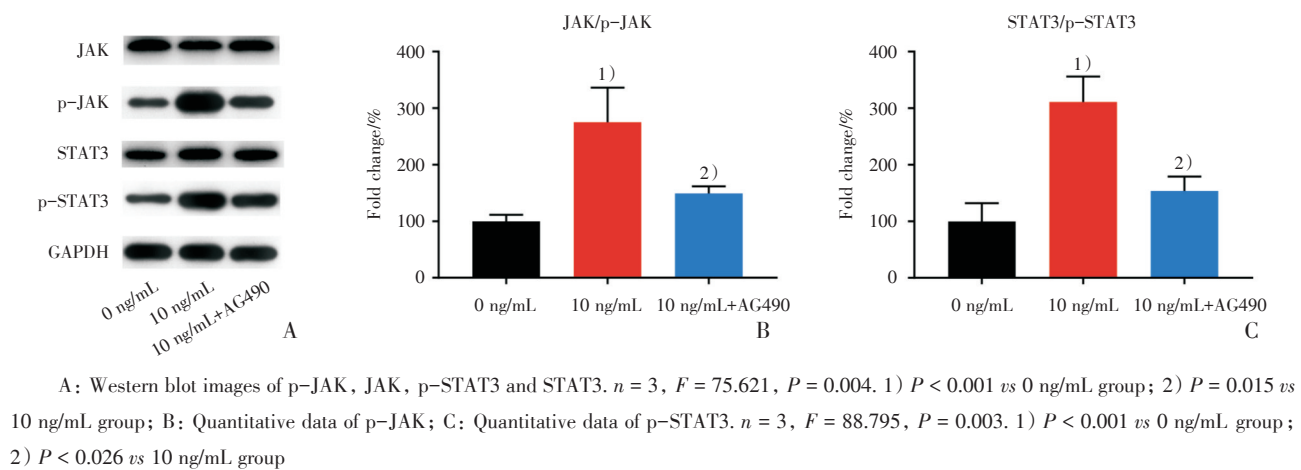
为探索AG490是否对IL-17引起支气管平滑肌细胞JAK/STAT3信号通路的增强起到了抑制作用,本研究对AG490处理BSMC后JAK/STAT3信号通路进行了检测。Western blot检测发现AG490有效抑制了JAK/STAT3信号通路,p-JAK($P = 0.015$)、p-STAT3($P = 0.026$)表达下调(图3),差异有统计学意义。结果提示,AG490对IL-17引起支气管平滑肌细胞JAK/STAT3信号通路的增强起到抑制作用。



A: Western blot images of p-JAK, JAK, p-STAT3 and STAT3. B: Quantitative data of p-JAK, $n = 3$, 1) $P = 0.012$ vs 0 ng/mL group; C: Quantitative data of p-STAT3. $n = 3$, 1) $P = 0.003$ vs 0 ng/mL group.

图2 IL-17激活支气管平滑肌细胞JAK/STAT3信号通路

Fig2 IL-17 activates the JAK/STAT3 signaling pathway in BSMC



A: Western blot images of p-JAK, JAK, p-STAT3 and STAT3. $n = 3$, $F = 75.621$, $P = 0.004$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P = 0.015$ vs 10 ng/mL group; B: Quantitative data of p-JAK; C: Quantitative data of p-STAT3. $n = 3$, $F = 88.795$, $P = 0.003$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P < 0.026$ vs 10 ng/mL group

图3 AG490抑制IL-17激活的支气管平滑肌细胞JAK/STAT3信号通路

Fig.3 AG490 inhibits the activation of JAK/STAT3 signaling pathway induced by IL-17 in BSMC

2.4 抑制JAK/STAT3信号通路活性缓解IL-17诱导的支气管平滑肌细胞的增殖与迁移

为证明JAK/STAT3信号通路参与了IL-17诱导的支气管平滑肌细胞的增殖激活与迁移,本研究使用AG490来特异性阻断JAK/STAT3信号通路,进一步观察细胞活性、细胞增殖、细胞周期与细胞周期的变化。MTT检测结果显示AG490可阻止IL-17引起的BSMC的细胞活力增加(图4A),差异具有统计学意义($P = 0.022$);BrdU染色结果显示AG490降低了IL-17处理引起的BrdU阳性细胞数增多的现象(图4B、C),差异具有统计学意义($P = 0.017$);细胞周期(图4D和4E)结果显示,AG490+IL-17处理组G1期BSMC百分比明显高于IL-17单纯处理组($P < 0.001$);而S期($P = 0.003$)与G2/M期($P < 0.001$)均低于IL-17单纯处理组,差异具有统计学意义。提示用AG490处理能够减少IL-17导致的支气管平滑肌细胞增殖。随后本研究对细胞的迁移进行评估,结果显示AG490抑

制了IL-17处理引起的BSMC的迁移上调(图4F、G),差异具有统计学意义($P = 0.005$)。这些结果表明,抑制JAK/STAT3信号通路缓解了IL-17诱导的支气管平滑肌细胞的增殖与迁移作用。

3 讨论

气道重塑是哮喘患者的突出病理特征^[2],局部气道炎性细胞持续浸润可刺激支气管平滑肌增生,诱发气道重塑的发生^[11],气道重塑的程度与病情及预后直接有关^[2]。对人和哮喘小鼠模型支气管平滑肌细胞增殖活性和迁移变化的分析表明,患病组气道平滑肌细胞增殖活性和迁移均明显高于对照组^[12-13]。提示哮喘过程中气道平滑肌细胞增殖过度和发生迁移运动,因此,抑制支气管平滑肌细胞增殖和迁移是治疗支气管哮喘的重要策略。哮喘的发病过程中免疫系统的功能异常参与其中。与免疫反应相关的炎症细胞因子可促进

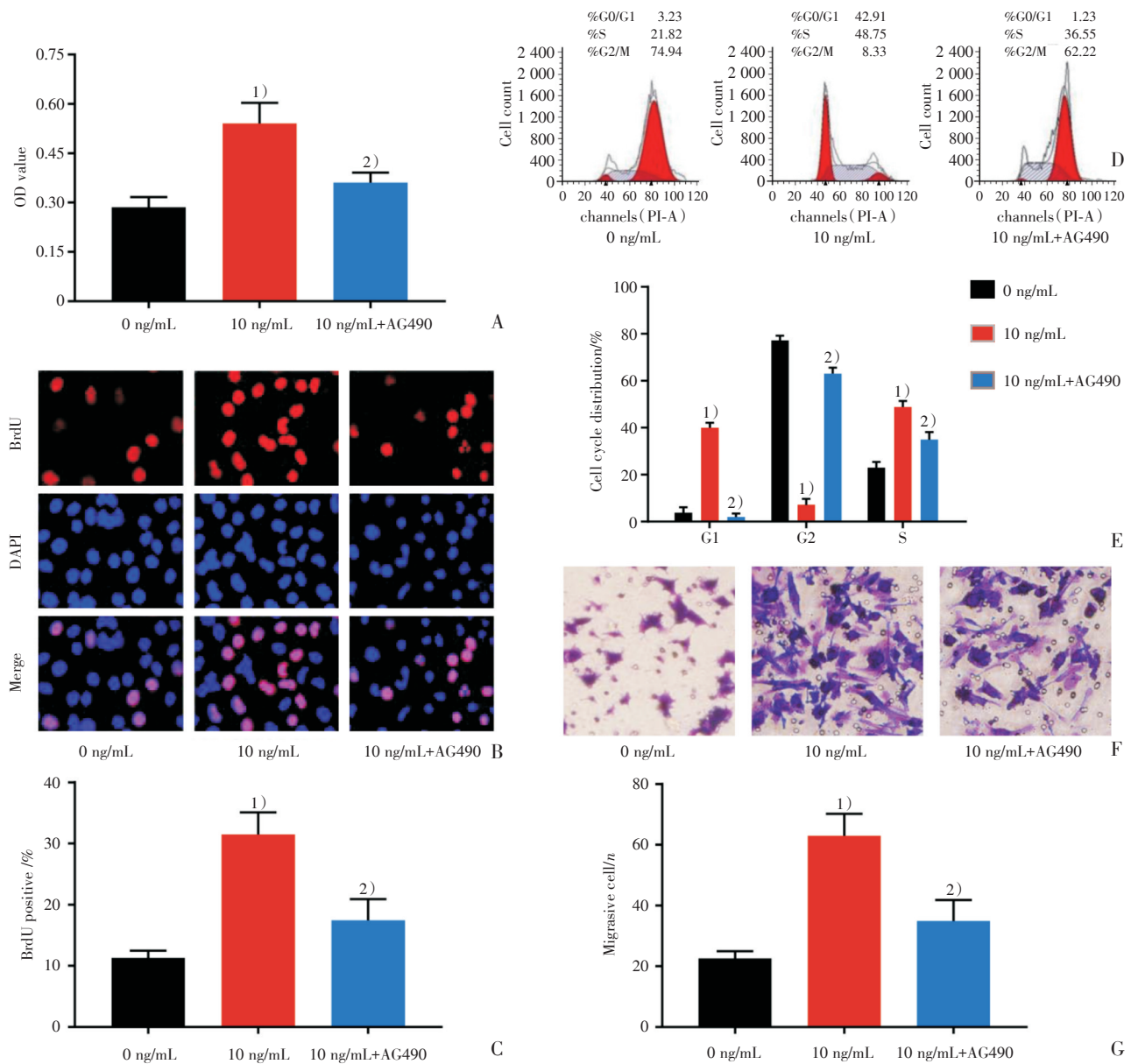


图4 AG490抑制IL-17诱导的支气管平滑肌细胞的增殖与迁移

Fig.4 AG490 inhibits the proliferation and migration in BSMC induced by IL-17

A: Cell viability was measured by MTT assay. $n = 3$, $F = 104.312$, $P = 0.002$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P = 0.022$ vs 10 ng/mL group; B and C: Cell proliferation was measured by BrdU assay. $n = 3$, $F = 185.421$, $P < 0.001$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P = 0.017$ vs 10 ng/mL group; D and E: Cell cycle distribution was detected by PI staining using a flow cytometry. G1 phase: $n = 3$, $F = 185.421$, $P < 0.001$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P < 0.001$ vs 10 ng/mL group; G2/M phase: $n = 3$, $F = 238.944$, $F < 0.001$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P < 0.001$ vs 10 ng/mL group; S phase: $n = 3$, $F = 63.784$, $P = 0.006$. 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P = 0.003$ vs 10 ng/mL group; F and G: Cell migration was detected by Transwell assay. $n = 3$, $F = 96.735$, $P = 0.003$; 1) $P < 0.001$ vs 0 ng/mL group; 2) $P = 0.005$ vs 10 ng/mL group

支气管免疫反应的发生。以前的研究中发现支气管哮喘大鼠模型中的细胞因子显著增高的现象, 这些细胞因子诱导肥大细胞与支气管平滑肌细胞结合, 促进肥大细胞的存活和增殖, 促进炎症物质的积累, 使支气管平滑肌细胞增殖与迁移, 支气管平滑肌的增殖与迁移增强可导致气道高反应性^[14]。

但这些细胞因子对支气管平滑肌细胞的刺激作用的机制和作用并未明确。

IL-17由CD4⁺T细胞分泌, 能够诱导上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞合成分泌其他细胞因子, 参与调节细胞增殖和分化^[15]。哮喘患者气道中IL-17表达上调, 炎症因子刺激后IL-17的表达

水平在在气道平滑肌中增加^[16]。这些研究表明, IL-17水平升高可能与BSMC增殖有关。IL-17通过与IL17RA形成的受体复合物触发信号^[17], IL17RA在BSMC上表达分布^[18],表明IL-17能够直接作用于气道平滑肌细胞。哮喘患者体内IL-17的增加可能直接作用于气道平滑肌细胞以诱导其增殖增生。在这里,我们证明了IL-17对支气管平滑肌细胞增殖和迁移的促进作用,这与之前在哮喘小鼠模型中,用抗IL-17A抗体中和IL-17A可减少炎性细胞气道浸润的结果吻合^[19]。使用人抗IL17RA单克隆抗体,阻断IL-17的生物活性,可控制患者中度至重度哮喘^[20],这些药物的潜在机制可能与对BSMC增殖和迁移的抑制作用相关。

STAT3是一种转录因子,在哮喘中具有高活性^[21]。IL-17表达与STAT3磷酸化显著相关,STAT3可由IL-17激活促进细胞的生长和炎症等反应^[22]。STAT3在细胞的生存、增殖和迁移中起着重要作用,因此被认为是抗细胞增殖相关的治

疗靶点。STAT3活性增强可以促进气道平滑肌细胞的细胞增殖^[23]。而JAK/STAT抑制剂可以用于包含哮喘在内的过敏性疾病的治疗^[24]。在本研究中,我们发现,IL-17能促进STAT3的磷酸化,促进STAT3的活化从而诱导支气管平滑肌细胞增殖。JAK/STAT3通路阻断剂阻断IL-17诱导的支气管平滑肌细胞增殖活化过程。这些结果说明IL-17通过促进支气管平滑肌细胞中JAK/STAT3通路的表达而激活增殖迁移过程。

本研究利用细胞培养技术探索了支气管平滑肌细胞增殖与迁移的分子机理,探寻调控支气管平滑肌细胞生长的关键细胞周期事件,从而为治疗哮喘提供了理论依据和新靶点。本研究表明IL-17调节支气管平滑肌细胞的增殖和迁移过程,且这一过程由JAK/STAT3信号转导通路介导,该机制可能参与了哮喘患者的气管重塑,哮喘患者有望应用针对JAK/STAT3信号转导通路的药物缓解气管重塑。

参考文献

- [1] Castro-Rodriguez JA, Saglani S, Rodriguez-Martinez CE, et al. The relationship between inflammation and remodeling in childhood asthma: A systematic review [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2018, 53(6): 824-835.
- [2] Lezmi G, de Blic J. Assessment of airway inflammation and remodeling in children with severe asthma: The next challenge [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2018, 53(9): 1171-1173.
- [3] Yu Z, Wang Y, Qin L, et al. Functional cooperation between KCa3.1 and TRPV4 channels in bronchial smooth muscle cell proliferation associated with chronic asthma [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 559.
- [4] Kang JY, Jo MR, Kang HH, et al. Long-term azithromycin ameliorates not only airway inflammation but also remodeling in a murine model of chronic asthma [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2016, 36: 37-45.
- [5] Gao Y, Wang B, Luo H, et al. miR-217 represses TGF- β 1-induced airway smooth muscle cell proliferation and migration through targeting ZEB1 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 27-35.
- [6] Liu L, Pan Y, Zhai C, et al. Activation of peroxisome proliferation-activated receptor- γ inhibits transforming growth factor- β 1-induced airway smooth muscle cell proliferation by suppressing Smad-miR-21 signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(1): 669-681.
- [7] Chesné J, Braza F, Mahay G, et al. IL-17 in severe asthma. Where do we stand [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190(10): 1094-1101.
- [8] Gupta RK, Gupta K, Dwivedi PD. Pathophysiology of IL-33 and IL-17 in allergic disorders [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 38: 22-36.
- [9] Ji X, Han M, Yun Y, et al. Acute nitrogen dioxide (NO₂) exposure enhances airway inflammation via modulating Th1/Th2 differentiation and activating JAK-STAT pathway [J]. *Chemosphere*, 2015, 120: 722-728.
- [10] Southworth T, Mason S, Bell A, et al. PI3K, p38 and JAK/STAT signalling in bronchial tissue from patients with asthma following allergen challenge [J]. *Biomark Res*, 2018, 6: 14.
- [11] Knobloch J, Lin Y, Konradi J, et al. Inflammatory responses of airway smooth muscle cells and effects of endothelin receptor antagonism [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(1): 114-127.

- [12] Movassagh H, Tatari N, Shan L, et al. Human airway smooth muscle cell proliferation from asthmatics is negatively regulated by semaphorin3A [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 80238-80251.
- [13] Su X, Ren Y, Yu N, et al. Thymoquinone inhibits inflammation, neoangiogenesis and vascular remodeling in asthma mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 38: 70-80.
- [14] Wang L, Feng X, Hu B, et al. P2X4R promotes airway remodeling by acting on the phenotype switching of bronchial smooth muscle cells in rats [J]. *Purinergic Signal*, 2018, 14(4): 433-442.
- [15] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1123-1132.
- [16] Lindén A, Dahlén B. Interleukin-17 cytokine signalling in patients with asthma [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(5): 1319-1331.
- [17] Nordlohne J, Helmke A, Ge S, et al. Aggravated atherosclerosis and vascular inflammation with reduced kidney function depend on interleukin-17 receptor A and are normalized by inhibition of interleukin-17A [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2018, 3(1): 54-66.
- [18] Chang Y, Al-Alwan L, Risse PA, et al. TH 17 cytokines induce human airway smooth muscle cell migration [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(4): 1046-1053.
- [19] 杨学敏, 张方琪, 张芳. 联合应用IL-4突变体及抗IL-17抗体对支气管哮喘小鼠炎性细胞及细胞因子水平的影响 [J]. *国际呼吸杂志*, 2016, 36(13): 976-979.
- Yang XM, Zhang FQ, Zhang F. Effects of IL-4 mutant combined with anti IL-17 antibody on inflammatory cells and cytokines level of asthmatic mice [J]. *Int J Respir*, 2016, 36(13): 976-979.
- [20] Busse WW, Holgate S, Kerwin E, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of brodalumab, a human anti-IL-17 receptor monoclonal antibody, in moderate to severe asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(11): 1294-1302.
- [21] Gavino AC, Nahmod K, Bharadwaj U, et al. STAT3 inhibition prevents lung inflammation, remodeling, and accumulation of Th2 and Th17 cells in a murine asthma model [J]. *Allergy*, 2016, 71(12): 1684-1692.
- [22] Ganesan R, Rasool M. Interleukin 17 regulates SHP-2 and IL-17RA/STAT-3 dependent Cyr61, IL-23 and GM-CSF expression and RANKL mediated osteoclastogenesis by fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Mol Immunol*, 2017, 91: 134-144.
- [23] Movassagh H, Tatari N, Shan L, et al. Human airway smooth muscle cell proliferation from asthmatics is negatively regulated by semaphorin3A [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 80238-80251.
- [24] Howell MD, Fitzsimons C, Smith PA. JAK/STAT? inhibitors and other small molecule cytokine antagonists for the treatment of allergic disease [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2018, 120(4): 367-375.

(编辑 孙慧兰)