

## 旋毛虫排泄分泌抗原53-ku重组蛋白上调M2型肺泡巨噬细胞减轻脓毒症小鼠急性肺损伤

关开泮<sup>1</sup>, 江仁<sup>2</sup>, 徐雪<sup>2</sup>, 刘志豪<sup>3</sup>, 廖瑾莉<sup>3</sup>, 熊艳<sup>3</sup>, 詹红<sup>3</sup>, 曾庆理<sup>3</sup>, 徐嘉<sup>3</sup>  
(中山大学附属第一医院 1. 惠亚院区重症监护室, 2. 黄埔院区内科, 3. 急诊科, 广东广州 510080)

**摘要:**【目的】探讨重组旋毛虫排泄分泌抗原53-ku蛋白(rTsP53)对小鼠急性肺损伤的保护作用及其机制。【方法】采用尾静脉脂多糖注射(LPS, 10 mg/kg)建立BALB/c小鼠急性肺损伤模型。在肺损伤后2 h尾静脉注射rTsP53(50 μg/只)治疗。统计各组小鼠72 h累计死亡率, HE染色法观察各组小鼠肺脏病理损伤情况, 测量肺脏湿/干质量比(W/D), ELISA法检测各组小鼠肺泡灌洗液IL-6和IL-4浓度, RT-PCR法检测各组小鼠肺泡灌洗巨噬细胞TNF-α、iNOS、IL-10和Arg-1的mRNA表达。【结果】经rTsP53蛋白治疗可明显降低急性肺损伤小鼠72 h死亡率, 减轻脓毒症小鼠肺脏组织的病理损伤, 降低肺脏的湿干重比, 降低Smith评分。LPS组小鼠肺泡灌洗液IL-6较空白组升高, 而IL-4下降, 灌洗巨噬细胞的TNF-α, iNOS的mRNA表达水平较空白组明显升高, 而IL-10, Arg-1的mRNA表达水平下降, 表现出M1表型极化的特点; 经rTsP53蛋白治疗的脓毒症小鼠肺泡灌洗液IL-6浓度下降, IL-4水平上升, 灌洗巨噬细胞向M2表型极化, 表现为IL-10, Arg-1的mRNA表达水平较脓毒症组明显升高, 而iNOS的mRNA表达水平下降。【结论】rTsP53蛋白通过上调M2型巨噬细胞抑制炎症反应和修复组织损伤, 对脓毒症小鼠急性肺损伤发挥保护效应。

**关键词:**重组旋毛虫排泄分泌抗原53-ku蛋白; 脂多糖; 急性肺损伤; M2型巨噬细胞

中图分类号: R392.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)05-0670-06

## Recombinant *Trichinella Spiralis* Excretory-secretory Antigen 53ku Protein Alleviates Acute Lung Injury in Septic Mice via Polarization of M2 Macrophages

GUAN Kai-pan<sup>1</sup>, JIANG Ren<sup>2</sup>, XU Xue<sup>2</sup>, LIU Zhi-hao<sup>3</sup>, LIAO Jin-li<sup>3</sup>, XIONG Yan<sup>3</sup>, ZHAN Hong<sup>3</sup>, ZENG Qing-li, XU Jia<sup>3</sup>

(1. Department of Intensive Care Unit, Division of Huiya, 2. Department of Internal Medicine, The Division of Huangpu, 3. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)  
Corresponding to: XU Jia, E-mail: 2828stone@sina.com

**Abstract:** 【Objectives】To investigate the protective effects of recombinant *Trichinella spiralis* excretory-secretory 53ku protein (rTsP53) on acute lung injuries in mice. 【Methods】Thirty Balb/c mice were randomly divided into normal group, ALI group and rTsP53 group ( $n = 10$ , respectively). Macrophages were harvested by bronchoalveolar lavage. Mortality in 72 hours was counted and compared. Pathological damage of lung tissues was observed by HE staining and graded by Smith score. Wet/dry ratio was measured. The bronchoalveolar lavage fluid concentration of IL-6 and IL-4 was measured by ELISA. The mRNA expression of TNF-α, iNOS, IL-10 and Arg-1 in alveolar lavage macrophages was detected by RT-PCR. 【Results】72 h mortality of ALI mice was 70%, which was reduced to 30% in mice received rTsP53 treatment. Compared with ALI mice, the pathological damage of in rTsP53 treated-mice was improved and Smith score was declined, combined with descending W/D ratio. IL-6 level of alveolar lavage fluid was elevated in ALI mice compared with normal group. And alveolar lavage macrophage was polarized to M2 sub-type, appeared as higher mRNA expression of TNF-α and iNOS and lower level of IL-10 and Arg-1. Bronchoalveolar lavage fluid concentration of IL-6 was declined and IL-4 was elevated in rTsP53-treated mice compared with ALI group. The macrophages of alveolar wash had

收稿日期: 2017-05-01

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金(A2015486, B2014110); 广东省自然科学基金(2016A030313249); 广东省科技计划项目(2014A020212150)

作者简介: 关开泮, 讲师, 主治医师, 研究方向: 急性肺损伤的发病机制与治疗, E-mail: 13380051160@163.com; 徐嘉, 通信作者, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 脓毒症的发病机制与免疫治疗, E-mail: 2828stone@sina.com

higher mRNA expression of IL-10 and Arg-1, while lower level of TNF- $\alpha$  and iNOS, manifesting M2 polarization characteristics. 【Conclusion】 Recombinant *T. spiralis* P53 protein could protect mice from acute lung injuries induced by LPS via modulating M2 macrophage polarization, which play a role in depression of inflammatory reaction and tissue repairment.

**Key words:** rTsP53; lipopolysaccharide; acute lung injury; M2 macrophages

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(5): 670-675]

脓毒症(sepsis)是创伤、烧伤、感染等临床危重症患者的严重并发症之一,是诱发脓毒症休克(septic shock)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的重要原因,其中肺脏往往是最先受累的器官,主要表现为急性肺损伤(acute lung injury, ALI)和急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),其发病机制涉及炎症反应、免疫调控、细胞凋亡和凝血障碍等多种机制,其中以炎症细胞参与的失控性全身性炎症反应最为重要。肺泡巨噬细胞被认为可能是ALI的启动因子,它的表型和功能变化可能直接决定脓毒症导致ALI/ARDS的整个病理生理过程。既往有研究发现外源性重组蛋白旋毛虫排泄分泌抗原53000蛋白(rTsP53)具有强大的免疫调节作用<sup>[1]</sup>。在本实验中我们探讨该蛋白对肺泡巨噬细胞表型和功能的影响及其改善脓毒症小鼠急性肺损伤的分子机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 质粒与菌株

原核表达质粒 pET-28a(+) 购自美国 Clontech 公司,大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 、BL-21/DE3 由中山医学院病原生物学实验室保存。

### 1.2 试剂与仪器

ExTaq 酶(含 dNTP), Nde I, Xho I, T4 DNA 连接酶, DNA 分子质量标准(DL2000) 均购自大连宝生物工程公司;异丙硫代- $\beta$ -D 半乳糖苷(IPTG)购于美国 Promega 公司。组氨酸标签蛋白纯化试剂盒(His-bind purification kit)购于美国 Novagen 公司。蛋白分子质量标准购自立陶宛 MBI 公司。Trizol 购自美国 Invitrogen 公司。DNA 凝胶回收试剂盒,质粒纯化试剂盒购自广州东盛科技有限公司。PVDF 膜购自美国 Millipore 公司。高糖型 DMEM、RPMI1640、DPBS 和不含 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 的 HBSS 均购于 Gibco 公司。测试仪器包括美国 BIO-RAD 公司 MODEL 550 型酶标仪;北京医用离心机厂生产的台式离心机;美国 BD 公司 FACS-

Calibur 流式细胞仪,珠海黑马医学仪器有限公司 Hema9600 PCR 扩增仪。

### 1.3 rTsP53 蛋白的克隆、表达、纯化及鉴定

根据 GenBank 中旋毛虫 P53 的基因序列(AAA97512.1)的开放阅读框(ORF),利用 DNA club 和 PCR design 软件设计特异性引物,上游引物 F: CCCCATATGTCTACAGACAATGAGAATG,引入 Nde I 酶切位点,下游引物 R: ATTCTCGAGGAACAACAACGTAGTTC,引入 Xho I 酶切位点。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。重组蛋白的克隆、表达、纯化及鉴定参照参考文献<sup>[2]</sup>进行,获得纯化的 rTsP53 蛋白。TritonX-114 法去除内毒素,鲎试剂盒检测内毒素,浓度控制在 1.25 ng/mL 以下,具体操作见参考文献<sup>[2]</sup>。

### 1.4 实验动物与分组

SPF 级雄性 Balb/c 小鼠(20~25 g)由中山大学实验动物中心提供。实验动物随机分为以下 3 组,每组 10 只:①空白对照组(control group);②脓毒症组(LPS group):尾静脉注射 LPS(10 mg/kg,以 200  $\mu$ L PBS 溶解)进行脓毒症造模;③rTsP53 治疗组:脓毒症造模后予尾静脉注射 rTsP53 蛋白(50  $\mu$ g/只,以 200  $\mu$ L PBS 溶解)治疗。

### 1.5 肺脏病理学改变与评分

各组小鼠于脓毒症建模后 72 h 后颈椎脱臼法处死,无菌术打开小鼠胸腔,取左肺下叶,40 g/L 甲醛溶液固定、脱水、石蜡包埋切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察病理损伤情况。肺脏组织病理评分参照 Smith 评分系统:对肺水肿、肺泡及间质炎症、肺泡及间质出血、肺不张和透明膜形成分别进行 0~4 分的半定量分析:无损伤 0 分,病变范围 < 25% 为 1 分,病变范围占 25%~50% 为 2 分,50% < 病变范围 < 75% 为 3 分,病变满视野为 4 分,肺损伤评分为上述各项之和。每只动物观察 10 个高倍视野取其平均值。两位病理科医师分别评分后取平均分。

### 1.6 肺组织湿/干质量比(W/D)

取小鼠右肺下叶组织,称湿质量后置于烤箱(80  $^{\circ}$ C, 48 h)烤到恒定质量,称干质量。

### 1.7 肺泡灌洗液和灌洗巨噬细胞的收集和处理

具体步骤参考文献[3]进行操作,各组小鼠在LPS尾静脉注射72 h给予腹腔注射体积分数为10%的水合氯醛(3 mL/kg)麻醉。无菌条件下逐层分离小鼠颈前组织直至暴露气管,腹主动脉放血,以22G针头穿刺气管行肺泡支气管灌洗,每次3 mL,共5次,回收灌洗液。以800 ×g,离心10 min,保留上清,置-80 °C保存,备用于检测细胞因子浓度。用PRMI-1640培养液重悬洗涤细胞2次后,以800 ×g离心10 min,弃上清,加入Trizol溶液1 mL,置-80 °C保存。

### 1.8 ELISA法检测各组小鼠肺泡灌洗液IL-6和IL-4浓度

双抗体夹心ELISA法检测各组小鼠肺泡灌洗液IL-6和IL-4浓度。具体操作参照试剂盒说

明书。

### 1.9 RT-PCR法检测小鼠肺泡灌洗巨噬细胞FIZZ-1、Arg-1、iNOS和炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-10的mRNA表达

按RNA提取试剂盒说明书提取各组小鼠肺泡灌洗巨噬细胞总RNA,再按照逆转录试剂盒说明书进行逆转录转录,合成cDNA第一链。以cDNA为模板扩增iNOS、Arg-1、FIZZ-1、TNF- $\alpha$ 和IL-10基因编码片段,以 $\beta$ -actin为内参,扩增条件如下:95 °C预变性5 min,94 °C变性30 s,55 °C退火30 s,30个循环,72 °C延伸10 min,PCR扩增产物于2%琼脂糖凝胶、0.5 × TBE缓冲液中电泳检测,电泳条件为100 V恒压,紫外透视仪下观察电泳条带,凝胶成像仪照相记录。引物由北京鼎国生物科技有限公司合成(表1)。

表1 引物序列

Table 1 Sequences for primers

| Gene name      | Sequence(5'-3')                                 | Product/bp |
|----------------|---|------------|
| IL-10          | CTTTGACTTGCCCTCATCC-ACAAACAATACGCCATTCCC        | 265        |
| TNF- $\alpha$  | CCCAGACCCTCACACTCAGATCAT-GCAGCCTTGTCCTTGAAGAGAA | 259        |
| iNOS           | GAATTCCCAGTCATCCGGT-GGTGCCCATGTACCAACCGGT       | 349        |
| Arg-1          | CCGCAGCATTAAAGGAAAAGC-CCCCTGGTCTCTCACATTG       | 71         |
| $\beta$ -actin | CAGTAACAGTCCGCCTAGAA-GATTACTGCTCTGGCTCCTA       | 175        |

### 1.10 统计学分析

采用SPSS 16.0软件进行统计学分析。生存率的比较利用生存分析绘制生存曲线,利用Wilcoxon法进行假设检验。计量数据均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组计量资料比较采用 $t$ 检验,两组以上计量资料比较用单因素方差分析。取 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠的生存率分析

正常对照组72 h累计死亡率为0,LPS组为70%,LPS+rTsP53组累计死亡率下降至为30% ( $P=0.004$ ;图1)。

### 2.2 各组小鼠肺脏病理改变及评分

正常对照组小鼠肺脏HE染色显示正常的肺泡和肺间质结构,无病理损伤表现,LPS组小鼠肺脏肺泡腔及间质内出现明显的炎症渗出、浸润,肺泡腔内见渗出液,肺泡隔明显增厚,肺泡及间质充

血,部分肺泡塌陷、不张、透明膜形成,肺泡结构破坏(图2)。rTsP53治疗组小鼠肺脏组织损伤则较LPS组明显减轻。LPS组的肺脏病理损伤Smith评分为( $7.73 \pm 1.97$ )分,较正常对照组( $0.62 \pm 0.14$ )明显升高( $P<0.001$ ),而LPS+rTsP53组为( $3.59 \pm 1.44$ )分,较LPS组明显降低( $P<0.001$ ),提示rTsP53蛋白治疗可明显减轻由LPS造成的ALI小鼠的肺脏病理损伤(图3)。

### 2.3 各组小鼠肺脏组织W/D比值比较

LPS组小鼠肺脏组织W/D比值较正常对照组明显升高( $P<0.05$ ),而经rTsP53蛋白治疗能使ALI小鼠的W/D比值明显下降(表2)。总体检验 $F=6.074, P=0.012$ 。

### 2.4 各组小鼠肺泡灌洗液IL-6和IL-4浓度

正常对照组小鼠肺泡灌洗液IL-6和IL-4浓度均在较低的水平。LPS组小鼠肺泡灌洗液促炎因子IL-6较Control组明显升高( $P<0.001$ ),LPS+rTsP53组小鼠肺泡灌洗液的IL-6仍高于Control

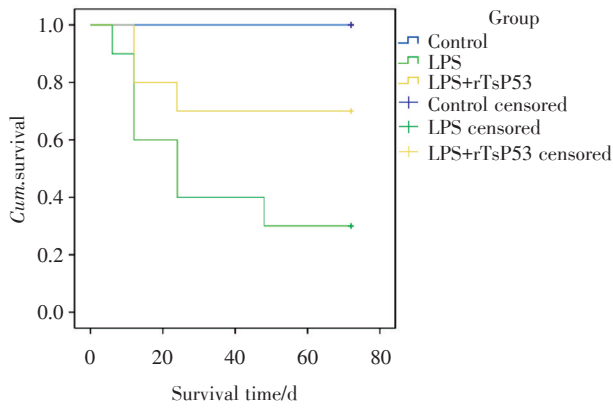


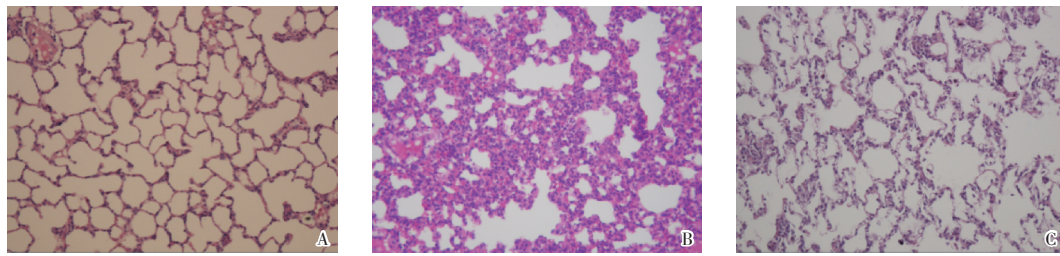
图1 三组小鼠生存曲线

Fig.1 The survival curves in three groups

组,但较LPS组明显降低( $P < 0.001$ )。抗炎因子IL-4浓度在LPS组较Control组有一定程度的升高,rTsP53治疗可使ALI小鼠的肺泡灌洗液IL-4水平进一步提高( $P = 0.001$ ;图4)。

2.5 小鼠肺泡灌洗巨噬细胞TNF- $\alpha$ 、iNOS、IL-10和Arg-1mRNA表达水平比较

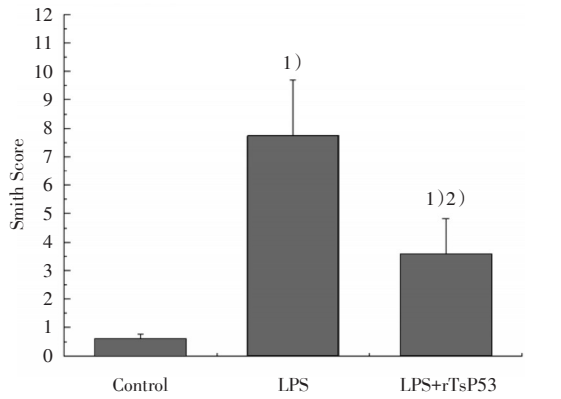
RT-PCR检测结果显示,脓毒症组小鼠肺泡灌洗巨噬细胞TNF- $\alpha$ 和iNOS的mRNA表达水平均较空白对照组升高,而IL-10降低,经过rTsP53蛋白治疗的脓毒症小鼠肺泡灌洗巨噬细胞的TNF- $\alpha$ 和iNOS的mRNA表达水平较脓毒症组降低,而Arg-1和IL-10的mRNA表达较脓毒症组明



A: Control group; B: LPS group; C: LPS + rTsP53 group.  $\times 400$

图2 各组小鼠肺脏组织病理损伤情况的观察

Fig.2 HE staining observation of lung tissues in three groups



vs Control group, 1) $P < 0.05$ , vs LPS group, 2) $P < 0.05$ .

图3 各组小鼠肺脏损伤的Smith评分比较

Fig.3 The Smith Score of pathological injury of lung tissues in three groups

显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ;图5)。

3 讨论

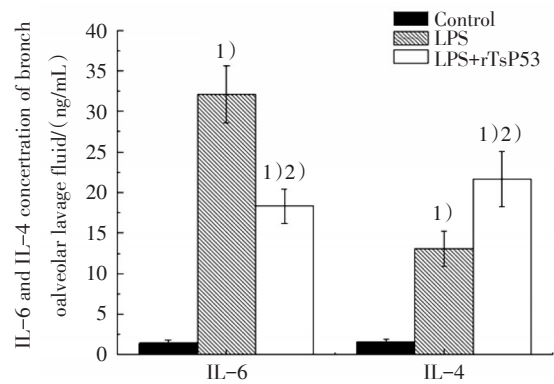
ALI/ARDS是临床常见的危急重症之一,死亡率,救治困难,一直是科学研究的重点和难点。

表2 各组小鼠肺脏组织W/D比值

Table 2 W/D ratio of lung tissue in 3 groups ( $n = 10$ )

| Group | Control         | LPS                  | LPS + rTsP53         |
|-------|-----------------|----------------------|----------------------|
| W/D   | $4.53 \pm 0.55$ | $6.38 \pm 0.62^{1)}$ | $4.89 \pm 0.60^{2)}$ |

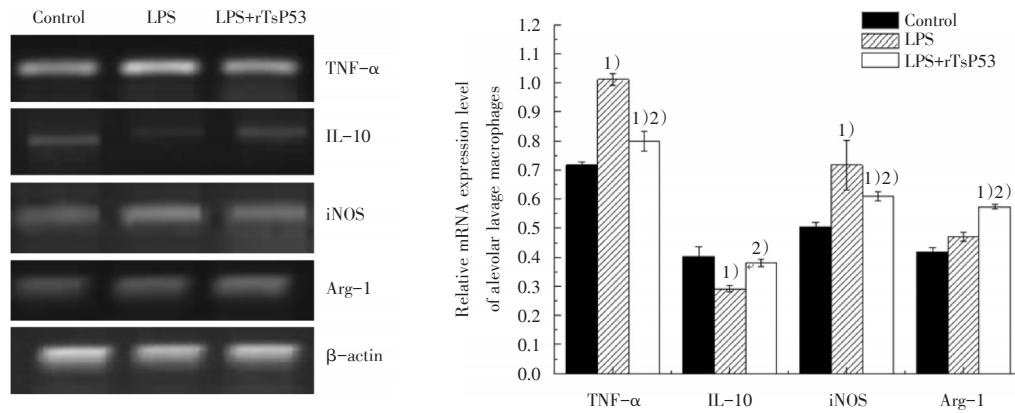
vs Control group, 1) $P < 0.05$ , vs LPS group, 2) $P < 0.05$ .



1): vs Control group,  $P < 0.05$ ; 2): vs LPSgroup,  $P < 0.05$ .

图4 各组小鼠肺泡灌洗液细胞因子IL-6和IL-4浓度比较

Fig.4 Concentration of IL-6 and IL-4 of bronchoalveolar lavage fluid in three groups



ANOVA of mRNA expression level of TNF- $\alpha$ , iNOS, IL-10, and Arg-1,  $F = 11.37$ ,  $P = 0.000$ ;  $F = 7.19$ ,  $P = 0.002$ ;  $F = 9.26$ ,  $P = 0.001$ ;  $F = 8.59$ ,  $P = 0.001$ , respectively. 1): vs Control group,  $P < 0.05$ , 2): vs LPS group,  $P < 0.05$ .

图5 小鼠肺泡灌洗巨噬细胞TNF- $\alpha$ 、iNOS、IL-10和Arg-1的mRNA表达水平

Fig.5 Comparison of TNF- $\alpha$ , iNOS, IL-10, and Arg-1 mRNA expression level of alveolar lavage macrophages in three groups

脓毒症作为间接性损伤因素导致ARDS的发病机制错综复杂,至今尚未完全阐明。我们利用尾静脉注射LPS法建立脓毒症小鼠模型,其72 h累计死亡率达60%,同时肺脏出现ALI的特征性表现,即弥漫性肺泡损伤和透明膜形成。Smith评分项目几乎涵盖了ALI肺脏病理损伤的全部表现,可半定量评估肺脏炎症损伤的程度<sup>[4]</sup>。脓毒症小鼠肺脏Smith评分明显高于空白对照组。另外,高通透性肺水肿也是ALI的重要病理改变,肺组织湿/干重比去除了血管内液体的影响,较好地反映了肺水肿的严重程度,ALI小鼠的肺泡和肺间质内聚集大量富含蛋白的水肿液,导致肺脏湿/干质量比例明显升高。全身性炎症反应是包括脓毒症在内的各种病因导致ALI/ARDS的共同途径和根本原因,表现为脓毒症小鼠循环血浆的促炎因子IL-6较空白对照组明显升高,而抑炎因子IL-4明显下降。

rTsP53是我们利用分子克隆表达技术在体外纯化并去除内毒素的一种旋毛虫排泄分泌抗原蛋白,具有强大的免疫调节和抵抗炎症的作用。rTsP53蛋白治疗能明显降低脓毒症小鼠72 h累计死亡率,减轻肺脏的炎症损伤和肺水肿,Smith评分和W/D比较脓毒症组明显下降,并且能够降低血浆IL-6水平,升高IL-4水平,明显改善脓毒症小鼠的全身性炎症反应。

几乎所有的肺内细胞均不同程度的参与了ALI/ARDS的发病过程,以往的许多临床和实验证据证明,多形核白细胞(polymorphonuclear leucocyte, PMN)是介导肺局部炎症的主要炎性细胞,LPS可

直接激活PMN,在其他趋化因子如血小板活化因子(PAF)、TNF- $\alpha$ 和补体成分等作用下,活化的PMN沿趋化梯度向肺组织迁移,在ALI/ARDS早期的支气管肺泡灌洗液中可见大量中性粒细胞聚集<sup>[5]</sup>。但随着研究的深入,有证据表明,中性粒细胞可能不是ALI/ARDS发展的必要条件,例如严重粒细胞减少患者发生感染,也可发展为ALI/ARDS,动物实验证实一些非中性粒细胞反而依赖ALI/ARDS而存在<sup>[6]</sup>。

我们关注另一类机体炎症免疫应答的关键枢纽细胞——肺泡巨噬细胞(alveolar macrophages, AM)。AM是肺中最丰富的非实质细胞,它们具有吞噬作用,同时表达特殊的细胞表面受体,能合成和释放各种介质,同时可作为抗原呈递细胞为T、B细胞的活化提供特异性的信号<sup>[7]</sup>。目前已经发现巨噬细胞存在表型和功能不同的亚型细胞,主要可分为经典活化型(M1型)和替代活化型(M2型)。M1型巨噬细胞表达CD80、CD197和CCR7标志物分子,可被Th1型促炎细胞因子和细菌产物所激活,具有杀菌和促进炎症功能;M2型表达CD163和CD206,由IL-4/IL-13、免疫复合物、糖皮质激素等激活,主要起免疫调节和组织修复作用,没有杀微生物功能。M1/M2的活化快速而可逆,不同亚类巨噬细胞比例和功能状态可反映机体免疫状态,其极化方向在疾病的抗感染免疫和抗炎反应的病理生理过程中均发挥重要作用,甚至直接影响疾病的结局<sup>[8-9]</sup>。在损伤、炎症等刺激存在的早期,肺泡巨噬细胞被活化,释放多种趋化因子和细胞因子,如

TNF- $\alpha$ 和白细胞介素IL-1 $\beta$ 等,可促进中性粒细胞在肺部的趋化和聚集,表现为M1型巨噬细胞的功能特点,这可能是ALI/ARDS的启动因子;它能生成组织因子(TF)、纤溶酶原激活物抑制物促进凝血过程。另外,它可清除肺泡中渗出物,释放血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF- $\beta$ )、胰岛素样生长因子(IGF)等,对ALI/ARDS后纤维化发生有着重要作用<sup>[10]</sup>。ALI/ARDS早晚不同时期的功能改变可能就是由不同亚类肺泡巨噬细胞完成的<sup>[11]</sup>,而在早期采取干预措施诱导M2型肺泡巨噬细胞极化可能从源头阻断ALI/ARDS的病理生理过程<sup>[12]</sup>。

rTsP53蛋白治疗减轻脓毒症小鼠的炎症反应,相应的而细胞因子的变化也为肺泡巨噬细胞表型和功能改变,即M2型巨噬细胞极化创造了诱导环境<sup>[13]</sup>。我们通过肺泡灌洗获得小鼠肺泡巨噬细胞并提取总RNA,RT-PCR法检测M1型巨噬细胞特异性标志分子iNOS和Th1型炎症介质TNF- $\alpha$ ,以及M2型巨噬细胞标志分子Arg-1和Th2型炎症介质IL-10的mRNA表达水平<sup>[12]</sup>。我们发现rTsP53治疗脓毒症小鼠的肺泡巨噬细胞高表达Arg-1和IL-10,而空白对照组和PBS对照组小鼠腹腔巨噬细胞则以TNF- $\alpha$ 和iNOS高表达为特点,提示rTsP53蛋白具有明确的极化M2型巨噬细胞的效应。rTsP53蛋白可通过极化M2型肺泡巨噬细胞发挥抵抗炎症和组织修复作用,进一步改善脓毒症急性肺损伤,其中涉及分子机制和信号转导通路值得深入研究。

#### 参考文献

- [1] 徐鸿绪,武伟华,毛玉玲,等.旋毛线虫分泌抗原P53的序列分析及重组蛋白产物的免疫学鉴定[J].中华传染病杂志,2010,28(10):582-586.  
Xu HX, Wu WH, Mao YL, et al. Sequence analysis of secretory antigen P53 and immunological identification of the recombinant product of *Trichinella spiralis* [J]. Chin J Infect Dis, 2010, 28(10):582-586.
- [2] Du L, Tang H, Ma Z, et al. The protective effect of the recombinant 53-ku protein of *Trichinella spiralis* on experiment colitis in mice [J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(10):2810-2817.
- [3] 吴葆菁,李文益,檀卫平,等.地塞米松对急性过敏性哮喘小鼠肺水通道蛋白1的影响[J].中山大学学报(医学科学版),2010,28(4):408-412.  
Wu BJ, Li WY, Tan WP, et al. Effect of dexamethasone on expression of aquaporin 1 in lung of acute allergic asthma mice [J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 2012, 33(1):34-38.
- [4] 刘军,吴允孚,邱海波.感染性急性肺损伤小鼠体内树突细胞共刺激分子CD80表达呈上调趋势[J].中华危重病急救医学,2016,28(6):534-538.  
Liu J, Wu YF, Qiu HB. Up-regulated expression of costimulatory molecule CD80 on dendritic cells in mice with acute lung injury [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28(6):534-538.
- [5] Wang H, Zhao J, Xue G, et al. Regulatory effect of cytokine-induced neutrophil chemoattractant, epithelial neutrophil-activating peptide 78 and pyrrolidine dithiocarbamate on pulmonary neutrophil aggregation mediated by nuclear factor- $\kappa$ B in lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome mice [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(3):1785-1794.
- [6] Chollet-Martin S, Gatecel C, Kermarrec N, et al. Alveolar neutrophil functions and cytokine levels in patients with the adult respiratory distress syndrome during nitric oxide inhalation [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1996, 153(3):985-990.
- [7] Liu YC, Zou XB, Chai YF, et al. Macrophage polarization in inflammatory diseases [J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(5):520-529.
- [8] Kim OS, Seo CS, Kim Y, et al. Extracts of scutellariae radix inhibit low-density lipoprotein oxidation and the lipopolysaccharide-induced macrophage inflammatory response [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1):1335-1341.
- [9] Sun W, Pang Y, Liu Z, et al. Macrophage inflammatory mediators mediate hyperhomocysteinemia-aggravated abdominal aortic aneurysm [J]. J Mol Cell Cardiol, 2015, 81(8):96-106.
- [10] Farley KS, Wang LF, Saunders F, et al. Alveolar macrophage inducible nitric oxide synthase-dependent pulmonary microvascular endothelial cell septal barrier dysfunction [J]. Microvasc Res, 2008, 76(3):208-216.
- [11] Du L, Wei H, Li L, et al. Regulation of recombinant *Trichinella spiralis* 53-ku protein (rTsP53) on alternatively activated macrophages via STAT6 but not IL-4R $\alpha$  in vitro [J]. Cell Immunol, 2014, 288(1-2):1-7.
- [12] Grailer JJ, Haggadone MD, Sarma JV, et al. Induction of M2 regulatory macrophages through the  $\beta$ 2-adrenergic receptor with protection during endotoxemia and acute lung injury [J]. J Innat Immun, 2014, 6(5):607-618.
- [13] Liu G, Yang H. Modulation of macrophage activation and programming in immunity [J]. J Cell Physiol, 2013, 228(3):502-512.

(编辑 刘清海)