

胸腺基质淋巴细胞生成素和白细胞介素-4 在变应性结膜炎鼠模型中的促炎作用

宁婵慧 郑晓汾 李冰

030002 太原,山西省眼科医院

通信作者:李冰,Email:libingeye@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.09.009

【摘要】 背景 研究表明胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)为类白细胞介素(IL)-17的炎性细胞因子,在多种变应性疾病的发生和发展中发挥关键作用,但是尚未见到关于TSLP是否参与中国常见变应原诱导的变应性结膜炎的报道。目的 研究TSLP和IL-4在由中国常见的黄花蒿诱导的变应性结膜炎小鼠模型眼组织和颈部淋巴结中的表达变化,探讨TSLP和IL-4在变应性结膜炎发病中的作用。方法 采用随机数字表法将6~8周龄雌性BALB/c小鼠20只随机分为正常对照组和模型组。将400 μ l黄花蒿花粉提取液溶解于400 μ l变应原(抗原)溶媒中制备成抗原溶液,将50 μ l抗原溶液注射于模型组小鼠足底皮垫下初次致敏,于注射后第10~12天用黄花蒿花粉提取液局部点右眼再次致敏,每日点眼1次;正常对照组小鼠未做任何处理。于造模后第13天采用颈椎脱臼法处死小鼠并摘取眼球,在眼科显微镜下各组分别取16只小鼠32只眼角膜上皮、结膜和颈部淋巴结组织,采用实时定量PCR法检测各种靶组织中TSLP mRNA及IL-4 mRNA的相对表达量,另每组各取4只小鼠8只眼眼睑及眼球制备石蜡切片,采用免疫组织化学法检测角膜、结膜及结膜下组织中TSLP和IL-4蛋白的表达。结果 模型组小鼠第2次致敏后0.5 h可见小鼠眼睑水肿、结膜充血水肿、溢泪、搔抓眼睑等症状,症状持续6~24 h,造模成功率为80%。实时定量PCR结果显示,模型组与正常对照组小鼠角膜上皮均未发现IL-4表达。模型组小鼠角膜上皮、结膜组织和颈部淋巴结组织中TSLP mRNA表达量分别是正常对照组的(1.63 \pm 0.20)、(2.71 \pm 0.48)和(1.48 \pm 0.05)倍,差异均有统计学意义($t=4.44$ 、14.16、5.01,均 $P<0.05$);模型组小鼠结膜和颈部淋巴结中IL-4 mRNA表达量分别是正常对照组的(2.94 \pm 0.39)倍和(1.74 \pm 0.09)倍,差异均有统计学意义($t=9.92$ 、14.54,均 $P<0.05$)。免疫组织化学法检测显示,正常对照组小鼠角膜上皮和结膜上皮细胞中TSLP蛋白表达强度微弱,模型组小鼠TSLP蛋白表达增强。模型组小鼠结膜下组织中可见IL-4呈强阳性表达,正常对照组小鼠结膜下组织中未发现IL-4表达。结论 TSLP主要表达于变应性结膜炎小鼠的角膜、结膜和颈部淋巴结组织,提示其参与变应性结膜炎角膜和结膜的炎症反应;IL-4主要表达于变应性结膜炎小鼠结膜下组织中,提示其主要参与结膜的炎症反应,TSLP和IL-4共同参与变应性结膜炎的发生和发展过程,这2种炎症因子为变应性结膜炎的临床治疗提供了新的靶点。

【关键词】 变应性结膜炎/免疫; 变应原/不良反应; 胸腺基质淋巴细胞生成素; 白细胞介素-4; 眼角膜上皮细胞; 动物模型; 近交系BALB/c小鼠

基金项目:山西省科技厅攻关项目(20150313010-9)

Inflammatory-promoting roles of thymic stromal lymphopoietin and interleukin-4 in allergic conjunctivitis mice Ning Chanhui, Zheng Xiaofen, Li Bing

Shanxi Eye Hospital, Taiyuan 030002, China

Corresponding author: Li Bing, Email: libingeye@126.com

【Abstract】 **Background** Researches showed that thymic stromal lymphopoietin (TSLP) is an interleukin-17-like inflammatory factor and plays important roles in the pathogenesis and development of allergic diseases. However, the study whether TSLP plays roles in allergic conjunctivitis is rare. **Objective** This study was to investigate the expression change of TSLP and IL-4 in ocular surface tissue and cervical lymph node in the mice with allergic conjunctivitis induced by artemisia annua, a common plant in China, and to explore the role of TSLP and IL-4 in the pathogenesis and development of allergic conjunctivitis. **Methods** Twenty female BALB/c mice aged 6-8

weeks were randomized into normal control group and model group. Antigen solution was prepared using 400 μl extracting solution of artemisia annua pollen with 400 μl antigen solvent. The mouse models of allergic conjunctivitis were established by injection of 50 μl antigen solution in footpad followed by ocular topical administration of extracting solution once a day from day 10 to 12 after injection, and no any intervention was given in the normal control group. The mice were sacrificed and eyeballs were obtained 13 days after modeling, and corneal epithelium, conjunctiva and cervical lymph nodes were harvested for the detection of TSLP mRNA and IL-4 mRNA by real-time PCR. Immunocytochemistry was employed to assay the expression of TSLP and IL-4 proteins in corneal, conjunctival and subconjunctival tissues. **Results** Ocular inflammatory signs appeared 0.5 hours after ocular topical administration of extracting solution, including eyelid edema, conjunctival congestion, tears, scratching eyelids, etc. The symptoms lasted for 6–24 hours, with the model successful rate 80%. Real-time PCR indicated that the expression of IL-4 was absent in corneal epithelium in both model group and normal control group. The relative expression levels of TSLP mRNA in the corneal epithelium, conjunctiva and cervical lymph nodes in the model group were more (1.63 \pm 0.20) times, (2.71 \pm 0.48) times and (1.48 \pm 0.05) times than the normal control group, showing significant differences between the two groups ($t=4.44, 14.16, 5.01$, all at $P<0.05$). Compared with the normal control group, the relative expression levels of IL-4 mRNA in the model group increased (2.94 \pm 0.39) times and (1.74 \pm 0.09) times, with significant differences between the two groups ($t=9.92, 14.54$, both at $P<0.05$). Immunocytochemistry assay showed that the expression of TSLP protein in the corneal and conjunctival epithelial cells were enhanced in the model group compared with the normal control group. In addition, an intensive expression of IL-4 protein was seen in subconjunctival tissue in the model group, while the expression of IL-4 was absent in the normal control group.

Conclusions TSLP is mainly expressed in the cornea, conjunctiva and cervical lymph nodes of the mice with allergic conjunctivitis, suggesting that TSLP promotes the inflammatory process of cornea and conjunctiva; IL-4 is mainly expressed in conjunctiva, showing IL-4 participates in conjunctival inflammatory process. TSLP and IL-4 play synergistic roles in promoting the inflammatory process of ocular surface in the mice with allergic conjunctivitis, which may be new therapeutic targets.

[Key words] Conjunctivitis, allergic/immunology; Allergens/adverse effects; Thymic stromal lymphopoietin; Interleukin-4; Epithelial cells, eye; Disease models, animal; Mice, inbred BALB/c

Fund program: Shanxi Provincial Science and Technology Research Project (20150313010-9)

变应性结膜炎是临床上常见的眼部炎性疾病之一,由眼部组织对变应原产生超敏反应所引起,病变可累及结膜、眼睑、角膜和泪膜,出现瘙痒、畏光、溢泪、异物感等症状^[1-3]。环境的变化、空气污染、长期佩戴角膜接触镜等均为变应性结膜炎的发病诱因。变应性结膜炎包括病程短暂、炎症轻微的季节性变应性结膜炎和常年性变应性结膜炎,以及炎症较重、持续时间较长的春季角结膜炎和遗传性变应性角膜结膜炎^[4-5]。变应性结膜炎的发病原因复杂,是由 IgE 或 T 淋巴细胞介导的免疫反应。抗原特异性 Th2 淋巴细胞能产生白细胞介素(interleukin, IL)-4 等细胞因子,这些细胞因子参与 IgE 的产生及嗜酸粒细胞的激活,从而在变应性结膜炎的发病中起关键作用。胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)是一种 IL-17 的细胞因子,在哮喘及变应性皮炎的发病和变应性反应的持续过程中起关键作用^[6-7]。但是关于 TSLP 是否参与变应性结膜炎的研究报道少见,显示由一种美国常见的草类植物短豚草(short-ragweed, SRW)诱

发的变应性结膜炎患者角膜、结膜组织中 TSLP 表达量升高^[8-10],但目前由中国北方常见植物诱导的变应性结膜炎的相关研究鲜见报道。本实验建立以中国北方常见植物为变应原诱导的变应性结膜炎动物模型,研究相关炎症因子的动态变化,探讨变应性反应的发病机制,为变应性结膜炎的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 鼠龄为 6~8 周的清洁级雌性 BALB/c 小鼠 20 只,购于山西医科大学实验动物中心,饲养于山西省眼科医院中心实验室动物中心,小鼠自由饮水、进食,饲养环境为光/暗周期 12 h/12 h,背景噪音为(35 \pm 10)dB,室温为 19~23 $^{\circ}\text{C}$ 。实验动物的使用和管理遵循国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。

1.1.2 主要试剂及仪器 黄花蒿花粉提取液 1:10 (北京新华联协和药业有限责任公司);变应原(抗原)

溶媒(山西太原药业有限公司); β -巯基乙醇(β -mercaptoethanol, β -ME)(美国 Sigma 公司);缓冲液 RLT(Buffer RLT Lysis buffer)、RNeasy Micro Kit、QuantiTect Reverse Transcription Kit、Quantitect Probe PCR Kit(美国 Qiagen 公司);TaqMan Gene Expression Assays: IL-4(Mm00445259)、TSLP(Mm00498739)、GAPDH(Mm99999915)(美国 Applied Biosystems 公司);兔抗鼠 IL-4 抗体(bs-0581R,工作浓度 1:100)、兔抗鼠 TSLP 抗体(bs-2964,工作浓度 1:100)(北京博奥森生物技术有限公司);通用型二步法检测试剂盒(聚合物辅助剂,辣根酶标记山羊抗兔/小鼠 IgG 多聚抗体)(北京中杉金桥生物技术有限公司);DAB 显色液(南京凯基生物科技发展有限公司)。实时定量 PCR 仪(Step One Plus,美国 ABI 公司);超低温冰箱(中国海尔集团);Leica DM 4000B 型生物显微镜(德国莱卡公司)。

1.2 方法

1.2.1 变应性结膜炎小鼠模型的建立 参照文献[10-12]描述的研究方法,将 400 μ l 黄花蒿花粉提取液溶解于 400 μ l 变应原(抗原)溶媒中制备成抗原溶液。采用随机数字表法将 20 只 BALB/c 小鼠随机分为正常对照组和模型组,模型组每只小鼠足底皮下注射 50 μ l 抗原溶液进行初次致敏,于注射后第 10~12 天用 10 μ l 抗原溶液每日 1 次点右眼,正常对照组小鼠未做任何处理。于造模后第 13 天采用颈椎脱臼法处死小鼠并摘取眼球,16 只小鼠 32 只眼在眼科显微镜下用手术刀及显微剪取其角膜上皮、结膜和颈部淋巴结,分别置于装有 350 μ l β -ME 和 RLT 缓冲液的离心管,用眼内剪将组织剪碎,使组织充分裂解,然后放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。4 只小鼠 8 只眼取眼睑及整个眼球,用质量分数 4% 多聚甲醛 3 ml 进行固定,制备石蜡切片。

1.2.2 采用实时定量 PCR 法测定小鼠角膜上皮、结膜和淋巴结中 IL-4 和 TSLP mRNA 的相对表达量 根据 RNeasy Micro Kit 试剂盒提供的操作说明提取备用的小鼠角膜上皮、结膜和颈部淋巴结中的总 RNA,再根据 QuantiTect Reverse Transcription Kit 操作说明逆转录为 DNA 进行 PCR 扩增,总的反应体系为 20.0 μ l,包括探针 1.2 μ l、反应混合液 12.0 μ l、cDNA 2.0 μ l 和游离水 9.8 μ l。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 15 min,94 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 1 min,以 GAPDH 作为内参,进行阈值周期比较。定量的 PCR 结果分析运用相对 CT 法,即目标 change fold = $2^{-\Delta\Delta Ct}$,其中 $-\Delta\Delta Ct = (Ct_{模型组中目的因子} - Ct_{模型组中内参}) - (Ct_{对照组中目的因子} - Ct_{对照组中内参})$ 。分析结果通过 GAPDH 的 Ct 值进

行标准化校正,未处理的对照组的相关 mRNA 水平将作为校准值,测定小鼠角膜上皮、结膜和淋巴结中 IL-4 和 TSLP mRNA 的相对表达量。

1.2.3 免疫组织化学法检测和定位小鼠眼睑和眼球中 IL-4 和 TSLP 蛋白的表达 将 1.2.1 中制备的石蜡切片在二甲苯和梯度乙醇中脱蜡至水,用体积分数 3% H_2O_2 处理 30 min 以阻断内源性过氧化物酶,用体积分数 2% 牛血清蛋白封闭 1 h。加入相应一抗,阴性对照用 PBS 替代一抗,在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜,复温 30 min 后用 PBS 清洗,再加入聚合物辅助剂 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min,添加相应二抗孵育 30 min,DAB 显色,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,400 倍光学显微镜下观察并拍照。结膜及结膜下组织中出现的棕褐色颗粒为阳性染色。每组 4 只眼,每只眼任取 4 张切片,每张切片任取 5 个视野,采用 Image-Pro Plus 彩色图像分析系统进行分析,细胞质及细胞膜染成棕褐色颗粒为表达阳性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。本研究检测指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布(均 $P > 0.05$),均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用完全随机分组单因素干预两水平研究设计,模型组与正常对照组间小鼠角膜、结膜和颈部淋巴结中 TSLP mRNA 和 IL-4 mRNA 相对表达量的差异比较均采用独立样本 t 检验。采用双尾检测法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型组小鼠的眼部炎症症状

模型组小鼠初次足底皮下注射后第 10 天眼局部发生致敏反应,第 2 次致敏后 0.5 h 可见小鼠眼睑水肿、结膜充血水肿、溢泪、搔抓眼睑等症状、体征和行为改变,症状持续 6 h 左右,4 只小鼠症状可持续 24 h。造模成功率约为 80% (图 1)。

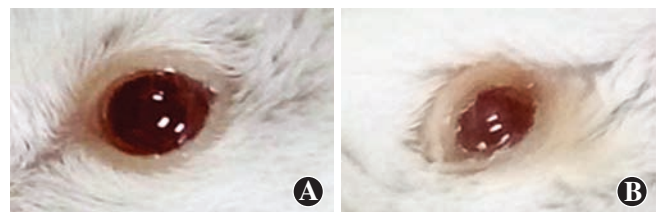


图 1 各组小鼠眼部表现的比较 A:正常对照组小鼠眼部无炎症反应 B:模型组小鼠第 2 次致敏后 0.5 h 可见眼睑水肿、肥厚和结膜水肿

2.2 各组小鼠角膜上皮、结膜和颈部淋巴结中 IL-4 和 TSLP mRNA 的表达

模型组与正常对照组小鼠角膜上皮均未发现 IL-4 mRNA 的表达,与正常对照组比较,模型组小鼠角膜上皮、结膜和淋巴结中 TSLP mRNA 的相对表达量均明显增加,差异均有统计学意义($t=4.44、14.16、5.01$,均 $P<0.05$);模型组小鼠结膜和淋巴结中 IL-4 mRNA 的相对表达量均明显增加,差异均有统计学意义($t=9.92、14.54$,均 $P<0.05$)(表 1)。

表 1 各组小鼠角膜上皮、结膜、颈部淋巴结中 IL-4 和 TSLP mRNA 相对表达量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	不同组织中 TSLP mRNA 相对表达量			不同组织中 IL-4 mRNA 相对表达量	
		角膜上皮	结膜	颈部淋巴结	结膜	颈部淋巴结
正常对照组	3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	3	1.63±0.12	2.71±0.28	1.48±0.05	2.94±0.39	1.74±0.09
<i>t</i> 值		4.44	14.16	5.01	9.92	14.54
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:IL:白细胞介素;TSLP:胸腺基质淋巴细胞生成素(独立样本 *t* 检验)

2.3 各组小鼠角膜、结膜及结膜下组织中 TSLP 和 IL-4 蛋白的表达和定位

免疫组织化学法检测显示,模型组小鼠角膜上皮和结膜上皮细胞中均可见 TSLP 的阳性表达,为淡棕色染色,正常对照组小鼠角膜上皮和结膜上皮细胞中 TSLP 表达强度微弱。模型组小鼠结膜下可见 IL-4 强阳性表达,呈棕褐色颗粒,正常对照组小鼠结膜下组织中未发现 IL-4 表达(图 2)。

3 讨论

花粉变应原是导致变应性反应疾病的主要因素之一。蒿属植物在中国的地域分布广泛,其对环境适应能力强,野生资源丰富,是华北地区、西北地区、东北地区、华南地区、西南地区主要的致敏花粉。蒿属植物花粉诱发的变应性反应疾病近些年来引起了研究者的重视^[13-17],因此,本研究中选用黄花蒿花粉提取液作为小鼠的变应原进行研究,具有代表性。本研究所用的变应性结膜炎动物模型制作方法属于常用的造模方法^[10-12]。

TSLP 是类 IL-17 细胞因子,主要是由肺脏、肠道、皮肤的上皮细胞产生,成纤维细胞、平滑肌细胞、肥大细胞也有产生 TSLP 的潜力^[9]。研究表明,哮喘患者的气道组织中 TSLP 大量表达,TSLP 可以聚集 Th2 相关因子,促进 Th2 型免疫反应^[18-19]。此外,变应性皮炎患者的上皮细胞,尤其是角质细胞大量表达 TSLP,但正常人角质细胞中则不表达 TSLP^[20]。哮喘、变应性皮炎和变应性结膜炎常伴随发生,形成一个 IgE 依

赖的变应反应体系^[21],提示这 3 种疾病发生的同源性。近年来,国外一些学者对 TSLP 在变应性结膜炎中的作用进行了研究,发现角膜上皮细胞和结膜上皮细胞可以大量表达 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs),后者可快速识别外界抗原,进而启动免疫反应,使上皮细胞产生大量 TSLP^[22-23],与树突状细胞(dendritic cells, DCs)表面的 TSLP 受体结合并激活 DCs,进而产生大量 OX40 配体,后者与 CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD40 结合,诱导 CD4⁺T 淋巴细胞向 Th2 分化,Th2 细胞分泌大量 IL-4、IL-5 和 IL-13 等变应性反应前细胞因子,从而诱导 Th2 免疫反应,并启动变应性反应^[10,23-26]。

关于 Th2 免疫反应,近年来很多学者做了更广泛、深入的研究,IL-33 通过结合 T 细胞受体 ST2 也可以引起以 Th2 免疫反应

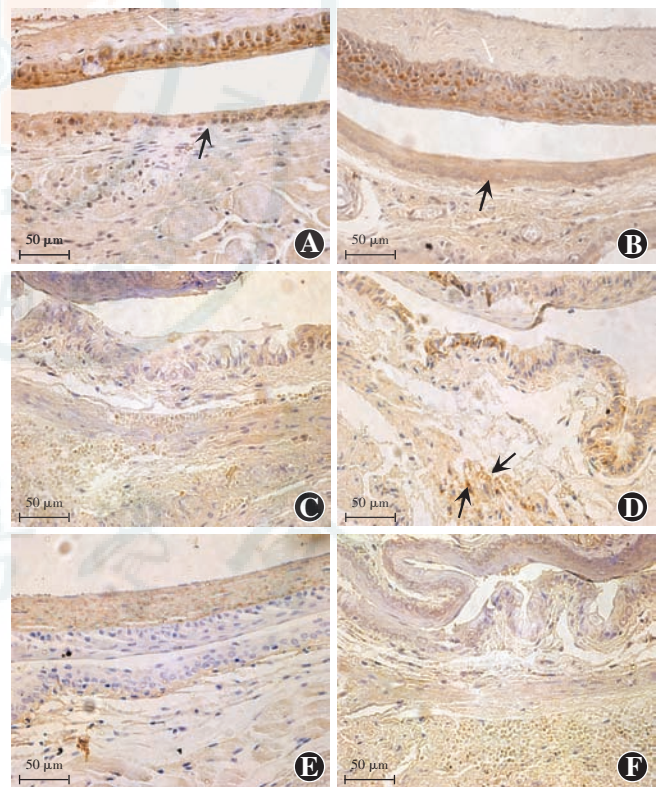


图 2 免疫组织化学法检测各组小鼠眼球中 TSLP 和 IL-4 蛋白的表达(DAB 标尺=50 μm) A:正常对照组小鼠角膜上皮(白箭头)及结膜上皮细胞中(黑箭头)可见 TSLP 的弱阳性表达,为淡棕色染色 B:模型组小鼠角膜上皮(白箭头)及结膜上皮细胞中(黑箭头)可见 TSLP 呈强阳性表达,为棕褐色染色 C:正常对照组小鼠结膜下组织中未见 IL-4 的表达 D:模型组小鼠结膜下组织中(黑箭头)可见 IL-4 呈阳性表达 E、F:阴性对照

为主导作用的变应性结膜炎^[18,27-28];趋化因子受体 6 对 Th2 变应性结膜炎的产生也起着重要作用^[29]。而

超氧化物歧化酶 3、IL-28A 能减弱变应性结膜炎的 Th2 免疫反应^[30-31]。众多研究探索 Th2 免疫反应的作用机制及影响因素,致力于明确变应性结膜炎的免疫机制,为今后的进一步研究奠定基础。

本研究结果表明,与正常对照组比较,模型组小鼠角膜上皮、结膜及颈部淋巴结等靶组织中 TSLP 的表达量显著升高,模型组小鼠结膜和颈部淋巴结中 IL-4 的表达量明显升高;说明黄花蒿花粉提取液作为变应原启动了免疫反应的发生,导致 TSLP 在靶组织中表达上调,诱导 Th2 免疫反应,IL-4 表达增加,证明 Th2 免疫反应在变应性结膜炎的炎症反应中发挥重要作用,TSLP 和 IL-4 对炎症反应的发生和发展起到至关重要的作用。

综上所述,黄花蒿作为变应原可刺激角膜上皮细胞及结膜上皮细胞产生 TSLP,TSLP 作为一种重要的免疫反应调节因子在启动和维持变应性结膜炎的过程中发挥重要作用。TSLP 可能成为眼表变应性炎症反应干预的重要靶点,为临床药物的研发提供新的思路。

参考文献

- [1] 葛慧,赵家良,黎晓新.眼科学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2005:163.
- [2] Bielory L. Allergic and immunologic disorders of the eye. Part II: ocular allergy[J]. J Allergy Clin Immunol,2000,106(6):1019-1032. DOI: 10.1067/mai.2000.111238.
- [3] Galicia-Carreón J, Santacruz C, Hong E, et al. The ocular surface: from physiology to the ocular allergic diseases[J]. Rev Alerg Mex,2013,60(4):172-183.
- [4] Brémond-Gignac D. The clin spectrum of ocular allergy[J]. Curr Allergy Asthma Rep,2002,2(4):321-324.
- [5] Ishida W, Fukuda K, Kajisako M, et al. B and T lymphocyte attenuator regulates the development of antigen-induced experimental conjunctivitis[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol,2012,250(2):289-295. DOI:10.1007/s00417-011-1695-8.
- [6] Holgate ST. The epithelium takes centre stage in asthma and atopic dermatitis[J]. Trends Immunol,2007,28(6):248-251. DOI:10.1016/j.it.2007.04.007.
- [7] Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation[J]. J Exp Med,2006,203(2):269-273. DOI:10.1084/jem.20051745.
- [8] Matsuda A, Ebihara N, Yokoi N, et al. Functional role of thymic stromal lymphopoietin in chronic allergic keratoconjunctivitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2010,51(1):151-155. DOI:10.1167/iavs.09-4183.
- [9] Ma P, Bian F, Wang Z, et al. Human corneal epithelium-derived thymic stromal lymphopoietin links the innate and adaptive immune responses via TLRs and Th2 cytokines[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2009,50(6):2702-2709. DOI:10.1167/iavs.08-3074.
- [10] Zheng X, Ma P, de Paiva CS, et al. TSLP and downstream molecules in experimental mouse allergic conjunctivitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2010,51(6):3076-3082. DOI:10.1167/iavs.09-4122.
- [11] Magone MT, Chan CC, Rizzo LV, et al. A novel murine model of allergic conjunctivitis[J]. Clin Immunol Immunopathol,1998,87(1):75-84.
- [12] Stern ME, Siemasko K, Gao J, et al. Role of interferon-gamma in a mouse model of allergic conjunctivitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2005,46(9):3239-3246. DOI:10.1167/iavs.05-0138.
- [13] 杨慧,刘志刚,韩庆国,等.艾蒿、青蒿花粉变应原组分的研究[J].免疫学杂志,2004,20(2):120-123. Yang H, Liu ZG, Han QG, et al. Analysis of allergen composition in *Artemisia argyi* and *Artemisia apiacea* pollen[J]. Immun J,2004,20(2):120-123.
- [14] 柴福,白仙娥.变应性鼻炎发病季节与变应原关系的探讨[J].山西临床医药杂志,1998,7(1):7-8. Chai F, Bai XE. Investigation into the relationship between the onset time frame and antigen in allergic rhinitis[J]. Shanxi Clin Med J,1998,7(1):7-8.
- [15] 魏秀兰,左嫦娥,刘晖.山西省 1298 例变应原测定结果分析[J].山西临床医药杂志,2001,10(12):900-901.
- [16] 海英,白彩明,裴潇竹,等.哈尔滨地区蒿属花粉过敏临床流行病学调查[J].现代生物医学进展,2012,12(30):5871-5873,5906. Hai Y, Bai CM, Fei XZ, et al. The clinical epidemic research of *Artemisia* pollen in Haerbin district[J]. Prog Modern Biomed,2012,12(30):5871-5873,5906.
- [17] 孙会忠,宋月芹.我国蒿属植物花粉的致敏性研究概况[J].环境与健康杂志,2006,23(3):283-285. Sun HZ, Song YQ. Study on allergy of *Artemisia* plant pollen in China[J]. J Envir Heal,2006,23(3):283-285.
- [18] Chauhan A, Singh M, Agarwal A, et al. Correlation of TSLP, IL-33, and CD4+CD25+FOXP3+T regulatory (Treg) in pediatric asthma[J]. J Asthma,2015,52(9):868-872. DOI:10.3109/02770903.2015.1026441.
- [19] Ying S, O'Connor B, Ratoff J, et al. Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity[J]. J Immunol,2005,174(12):8183-8190.
- [20] Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP[J]. Nat Immunol,2002,3(7):673-680. DOI:10.1038/ni805.
- [21] Kay AB. Allergy and allergic diseases. First of two parts[J]. N Engl J Med,2001,344(1):30-37.
- [22] Miller LS, Modlin RL. Toll-like receptors in the skin[J]. Semin Immunopathol,2007,29(1):15-26.
- [23] Kumar A, Yu FS. Toll-like receptors and corneal innate immunity[J]. Curr Mol Med,2006,6(3):327-337.
- [24] Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin and OX40 ligand pathway in the initiation of dendritic cell-mediated allergic inflammation[J]. J Allergy Clin Immunol,2007,120(2):238-244; quiz 245-246. DOI:10.1016/j.jaci.2007.06.004.
- [25] Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, et al. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation[J]. Annu Rev Immunol,2007,25:193-219. DOI:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141718.
- [26] Li DQ, Zhang L, Pflugfelder SC, et al. Short ragweed pollen triggers allergic inflammation through Toll-like receptor 4-dependent thymic stromal lymphopoietin/OX40 ligand/OX40 signaling pathways[J]. J Allergy Clin Immunol,2011,128(6):1318-1325. DOI:10.1016/j.jaci.2011.06.041.
- [27] Li J, Zhang L, Chen X, et al. Pollen/TLR4 innate immunity signaling initiates IL-33/ST2/Th2 pathways in allergic inflammation[J/OL]. Sci Rep,2016,6:36150[2016-08-20]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC47796360/. DOI:10.1038/srep36150.
- [28] Asada Y, Nakae S, Ishida W, et al. Roles of epithelial cell-derived type 2-initiating cytokines in experimental allergic conjunctivitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2015,56(9):5194-5202. DOI:10.1167/iavs.15-16563.
- [29] Chung SH, Chang SY, Lee HJ, et al. The C-C chemokine receptor 6 (CCR6) is crucial for Th2-driven allergic conjunctivitis[J]. Clin Immunol,2015,161(2):110-119. DOI:10.1016/j.clim.2015.08.004.
- [30] Lee HJ, Kim BM, Shin S, et al. Superoxide dismutase 3 attenuates experimental Th2-driven allergic conjunctivitis[J]. Clin Immunol,2017,176:49-54. DOI:10.1016/j.clim.2016.12.010.
- [31] Chen J, Zhang J, Zhao R, et al. Topical application of interleukin-28A attenuates allergic conjunctivitis in an ovalbumin-induced mouse model[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2016,57(2):604-610. DOI:10.1167/iavs.15-18457.

(收稿日期:2016-09-20)

(本文编辑:尹卫靖)