

· 论 著 ·

黄芪甲苷抑制 U937 巨噬细胞 CCL18 表达及其作用机制研究

底雪梅¹, 袁曜晖², 张超², 高越³ (1. 同济大学附属第一妇婴保健院, 上海 201204; 2. 山东中医药大学药学院, 山东济南 250355; 3. 海军军医大学药学院实验教学中心, 上海 200433)

[摘要] **目的** 研究黄芪甲苷(AS-IV)抑制组织细胞淋巴瘤细胞 U937, 刺激巨噬细胞分泌肿瘤促进因子 CCL18 表达及其作用机制。**方法** 考察黄芪甲苷对白细胞介素 4(IL-4)刺激巨噬细胞 CCL18 表达的影响; 实时 PCR 检测 CCL18 mRNA 表达水平; 采用酶联免疫吸附检测(Elisa)法测定 CCL18 蛋白水平; 流式细胞仪检测白细胞介素 4 受体(IL-4R)的表达水平; Elisa 法检测信号传导及转录激活因子 6(STAT6)磷酸化水平; 采用 Z'-LYTE™ 激酶检测法检测 Janus 激酶(JAK)活性。**结果** 黄芪甲苷能显著抑制 IL-4 诱导的 U937 巨噬细胞 CCL18 表达上调, 且呈明显的量效依赖性, 但对 IL-4 受体组成亚基表达影响不显著; 黄芪甲苷可抑制 STAT6 的磷酸化, 但作用小于 ASI517499; 黄芪甲苷可抑制 JAK1, JAK3 和酪氨酸激酶 2(TYK2)的活性。**结论** 黄芪甲苷可抑制 IL-4 刺激的 U937 巨噬细胞 CCL18 的表达。其作用途径之一可能是通过抑制 JAK 激酶活性, 引起 STAT6 的转录活性下调, 从而抑制 CCL18 基因表达。

[关键词] 黄芪甲苷; 巨噬细胞; CCL18; 特发性肺纤维化

[中图分类号] R968 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)01-0032-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.01.008

Research on the effect and mechanism of astragalus Ⅳ (AS-Ⅳ) on the expression of CCL18 in U937 macrophages

DI Xuemei¹, YUAN Yaohui², ZHANG Chao², GAO Yue³ (1. First Maternity and Infant Hospital, Tongji University, Shanghai 201204, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 3. Experimental and Teaching Center, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and mechanism of astragalus Ⅳ(AS-Ⅳ) on the expression of CCL18 in U937 macrophages. **Methods** The expression of CCL18 mRNA was detected by real time PCR. The expression of CCL18 protein was assessed by Elisa. The expression of IL-4 receptor was measured by flow cytometry. The STAT 6 phosphorylation was measured by Elisa. The activity of JAK kinase was detected by Z'-LYTE™ kinase assay. **Results** AS-Ⅳ significantly down-regulated the expression of CCL18 in U937 macrophages stimulated by IL-4 with a dose-dependent manner. However, AS-Ⅳ had no significant effect on IL-4 receptor subunit expression. The STAT6 phosphorylation was inhibited by AS-Ⅳ, but the effect was less than ASI517499; the activity of JAK1, JAK3 and TYK2 kinase were inhibited by AS-Ⅳ. **Conclusion** AS-Ⅳ could inhibit the expression of CCL18 in U937 macrophages stimulated by IL-4. One of the suggested mechanisms was due to inhibition of JAK kinase activity, which caused STAT6 transcriptional activity down and inhibited CCL18 gene expression.

[Key words] astragalus Ⅳ; macrophages; CCL18; idiopathic pulmonary fibrosis

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种慢性进展性肺纤维化疾病。该病预后差, 中位生存期 3~5 年^[1]。其治疗手段有限, 有待于有效药物的开发研制。研究发现, 黄芪为君药

的中药复方对 IPF 患者有较好的临床疗效^[2-3]。黄芪甲苷(AS-IV)为黄芪中的主要活性成分, 最近研究发现黄芪甲苷能通过抑制碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达, 干预大鼠肺间质纤维化进程^[4]。另有实验表明, 黄芪甲苷抑制 IPF 大鼠肺纤维化与其抑制肺组织 CD34 的表达有关^[5]。以上研究表明, 黄芪甲苷确有抗肺纤维化作用, 但其具体机制尚未被阐明, 靶分子尚不明确。

近年来, 一些与特发性肺纤维化有关的生物标志物被发现, 如趋化因子 CCL18。研究发现, IPF 患者血清和支气管肺泡灌洗液(BALF)中 CCL18 含

[基金项目] 上海市科委产学研医结合项目(15DZ1900102)

[作者简介] 底雪梅, 硕士研究生, 主管药师, Tel: (021)20261152, Email: xuemeidi1021@163.com

[通讯作者] 高越, 博士, 副教授, 研究方向: 中药复方制剂的二次创新开发与药物相互作用研究, Tel: (021)81871369, Email: gaoyue2000@hotmail.com

量明显高于健康人群^[6-7],血清和BALF中的CCL18水平与肺功能呈负相关,如一氧化碳弥散量^[8]。CCL18主要由呈递抗原细胞,如单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞分泌^[9-10]。在肺纤维化形成过程中,肺泡巨噬细胞被认为是CCL18的主要来源,且在肺纤维化病理中扮演重要角色^[11]。关于黄芪甲苷对肺泡巨噬细胞及其CCL18分泌的作用尚未见报道,故本研究拟通过考察黄芪甲苷对CCL18表达的影响来探讨其抗IPF的作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

RPMI1640培养基、青链霉素溶液、叠氮碘化丙锭(PMA)、重组人白细胞介素4(rhIL-4, GIBCO公司);胎牛血清(Biowest公司);吡非尼酮(Shionogi公司);STAT6抑制剂(AS1517499, Axon公司);二甲基亚砜(DMSO, Sigma公司);Cell Counting Kit-8试剂盒(Dojindo Molecular Technologies公司);ISOGEN(Nippon Gene公司);THUNDERBIRD Probe qPCR Mix试剂(TOYOBO公司);CCL18和 β -actin探针(Life Technologies公司);Cell-Based Elisa Kit试剂盒(R&D Systems公司);Z'-LYTETM激酶检测试剂盒(Life Technologies公司);各种抗体(BioLegend公司)。

1.2 细胞培养与分化

采用人单核细胞U937细胞株进行培养。培养液:RPMI1640(含10%小牛血清,100 U/ml青霉素、100 mg/ml链霉素);细胞浓度: 1×10^6 个/ml;培养环境:37℃,5%CO₂,95%饱和湿度。巨噬细胞分化:用10 nmol/L PMA处理U937细胞株48 h,得到U937巨噬细胞。

1.3 细胞活力检测

采用CCK-8法检测细胞活力。主要步骤如下:调整U937巨噬细胞浓度为 5×10^3 个/ml(含),种于96孔板,加入rhIL-4(终浓度0.2 ng/ml)及不同浓度的黄芪甲苷溶液(0~800 μ g/ml),孵育72 h,每孔加入10 μ g/ml CCK-8溶液,37℃,5%CO₂孵育1 h,在450 nm处用酶标仪测吸光度。

细胞活力=加药组吸光度(A)值/对照组(A)值 $\times 100\%$ 。

1.4 Real-time PCR 检测基因表达

调整U937巨噬细胞浓度为 1×10^6 个/ml,种于6孔板,分别加入rhIL-4(终浓度0.2 ng/ml)及不同浓度的黄芪甲苷溶液(0~200 μ g/ml)或20 nmol/L AS1517499,共孵育48 h,收集细胞,按

照ISOGEN总RNA提取试剂盒描述的方法提取裂解细胞的总RNA。用ReverTra Ace qPCR RT Master Mix试剂盒进行逆转录,用THUNDERBIRD Probe qPCR Mix试剂盒和7500 FastReal Time PCR System检测CCL18 mRNA表达,所有操作严格按说明书程序进行。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成,引物序列见表1。以 β -actin基因表达作为内参照物,反应条件:95℃,50 s;再95℃,10 s,60℃,30 s,共40个循环。用比较CT值法计算相对表达水平。

表1 Real-time PCR 引物序列

序列名称	序列	引物长度(bp)
CCL18-FP	5'-CCACCTCTTCTAAGAGTC-3'	18
CCL18-RP	5'-GGGAAAGGATGATAAAGAC-3'	19
CCL18-Probe	5'-TGCCCAGCCACATTAACCTA-3'	24
β -actin-FP	5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3'	19
β -actin-RP	5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3'	25

1.5 Elisa 法测 CCL18 水平

调整U937巨噬细胞浓度为 1×10^6 个/ml,种于6孔板,加入rhIL-4(终浓度0.2 ng/ml)及不同浓度的黄芪甲苷溶液(0~200 μ g/ml)或20 nmol/L AS1517499,共孵育48 h,收集细胞,用RIPA缓冲液裂解。用Human CCL18/PARC Quantikine Elisa Kit试剂盒测定CCL18含量,操作严格按说明书程序进行。

1.6 STAT6 磷酸化检测

用Cell-Based Elisa Kit试剂盒检测STAT6磷酸化。主要操作为:调整U937巨噬细胞浓度为 1×10^4 个/ml,种于96孔板,37℃,5%CO₂,孵育过夜,加入rhIL-4(终浓度0.2 ng/ml),药物组加入黄芪甲苷(终浓度200 μ g/ml),对照组用培养液补齐,分别孵育0、20、40、60 min。阳性对照组加入20 nmol/L AS1517499,孵育40 min。对所有细胞固定和通透,再依次与一抗(兔抗phospho-STAT6抗体和鼠抗total STAT6抗体)及二抗(HRP标记的抗兔IgG和AP标记的抗鼠IgG)共孵育。最后,分别加入HRP和AP的荧光探针底物,酶标仪检测荧光强度。

1.7 Z'-LYTETM 激酶检测

Z'-LYTETM法是一种非细胞离体检测,是基于荧光共振能量转移来检测多肽底物磷酸化程度,从而检测蛋白激酶的方法。本试验用Z'-LYTETM检测黄芪甲苷对Janus激酶(JAK)家族JAK1、JAK2、

JAK3、TYK2 的抑制活性,对每种激酶的抑制率按照操作说明以百分比表示。

1.8 参与 CCL18 表达的 STAT6 检测

IL-4 与 IL-4R 结合可导致 STAT6 磷酸化而激活,为检测 STAT6 磷酸化是否参与 CCL18,采用 STAT6 选择性抑制剂 AS1517499,检测其对 U937 巨噬细胞 CCL18 表达的影响。

1.9 流式细胞仪检测 IL-4R

调整 U937 巨噬细胞浓度为 1×10^6 个/ml,种于 6 孔板,加入 rhIL-4 0.2 ng/ml,除对照组外,加入黄芪甲苷(终浓度 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$),孵育 48 h。收集细胞,再加入 Human BD Fc Block 以阻断抗体与 Fc 受体的非特异性组合。然后分别加入 PE 和 APC 标记的抗体共孵育,使抗体分别与表面 IL-4 受体亚基 IL-4R α , common γ chain 和 IL-13R $\alpha 1$ 相结合,所加抗体分别为:PE-抗-CD124 (IL-4R α)、APC-抗-CD132 (common γ chain)、PE-抗-CD213 (IL-13R $\alpha 1$)以及同型对照抗体。用流式细胞仪检测各亚基表达,Flowjo 软件分析检测结果。

1.10 统计学分析

用 SPSS 18.0 统计软件完成,多组比较用 one-way ANOVA 分析,组间两两比较用 Dunnett's 法或 Tukey's HSD 法,以 $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 黄芪甲苷对细胞活力的影响

本研究采用 CCK-8 法考察黄芪甲苷的细胞毒作用。与对照组相比,400 和 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的黄

芪甲苷可以显著抑制 U937 巨噬细胞的细胞活力,细胞相对活力分别为 60.8% ($P < 0.01$) 和 25.7% ($P < 0.01$),而 0~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度组间比较,无显著性差异(图 1)。因此,后续试验采用 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及以下浓度进行。

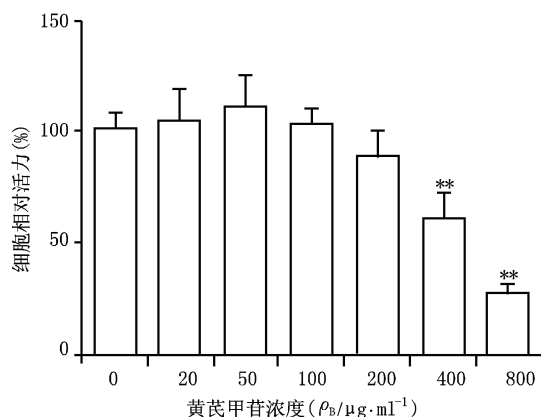


图 1 黄芪甲苷对 U937 巨噬细胞活力的影响

** $P < 0.01$,与对照组即黄芪甲苷 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度组比较

2.2 黄芪甲苷对 U937 巨噬细胞 CCL18 mRNA 和蛋白表达的影响

U937 巨噬细胞本身表达低水平的 CCL18,而 Th2 细胞因子如 IL-4 可刺激巨噬细胞 M2 型极化,从而上调 CCL18 的表达。故本试验采用 M2 极化型 U937 巨噬细胞考察黄芪甲苷对 CCL18 表达的影响。试验结果表明,rhIL-4 刺激后,CCL18 mRNA 和蛋白表达均上调,而黄芪甲苷能显著抑制其上调,且呈明显的量效依赖性(图 2)。

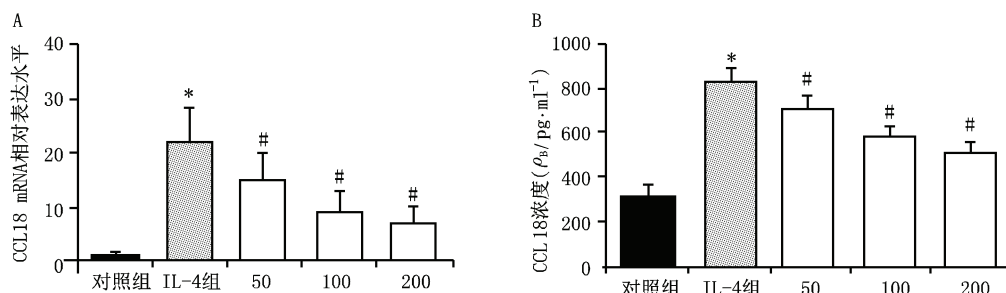


图 2 黄芪甲苷不同浓度对 U937 巨噬细胞 CCL18 mRNA(A)和蛋白(B)表达的影响

* $P < 0.05$,与对照组比较;# $P < 0.05$,与 IL-4 组比较

2.3 黄芪甲苷对 IL-4R 表达的影响

上述试验结果提示黄芪甲苷可能通过影响 IL-4R 或其下游途径因子的表达而抑制 U937 巨噬细胞 CCL18 表达。因此,本试验采用流式细胞仪考察黄芪甲苷对 U937 巨噬细胞表面 IL-4R α , common γ chain 和 IL-13R $\alpha 1$ 表达的影响。结果显示黄芪甲苷对这些 IL-4R 组成亚基表达影响不显著(图 3)。

2.4 STAT6 对 CCL18 表达的影响

IL-4 与 IL-4R 相结合可导致磷酸化 STAT6 而使其激活,因此本试验考察 STAT6 激活是否参与 CCL18 表达,采用 STAT6 的选择性抑制剂 AS1517499 来考察其对 U937 巨噬细胞 CCL18 表达的影响。结果显示,AS1517499 可显著抑制 CCL18 mRNA 和蛋白表达,表明 IL-4 通过 STAT6

激活途径来促进 U937 巨噬细胞 CCL18 表达(图 4)。因此,课题组又考察了黄芪甲苷对 STAT6 磷酸化的影响,结果显示,IL-4 刺激可显著促进

STAT6 磷酸化,而用黄芪甲苷处理 40 min 可抑制该诱导作用,但 AS1517499 的抑制作用比黄芪甲苷更强(图 5)。

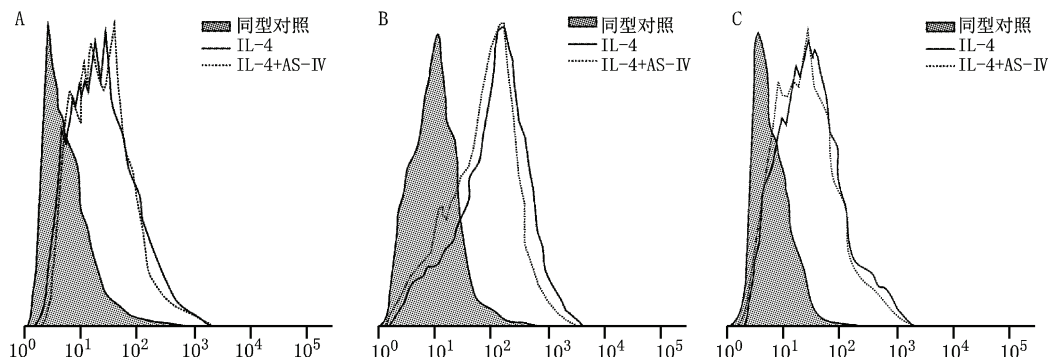


图 3 黄芪甲苷对 IL-4R 各亚基 IL-4R α 、common γ chain、IL-13R α 1 表达的影响

A. IL-4R α ; B. common γ chain; C. IL-13R α 1

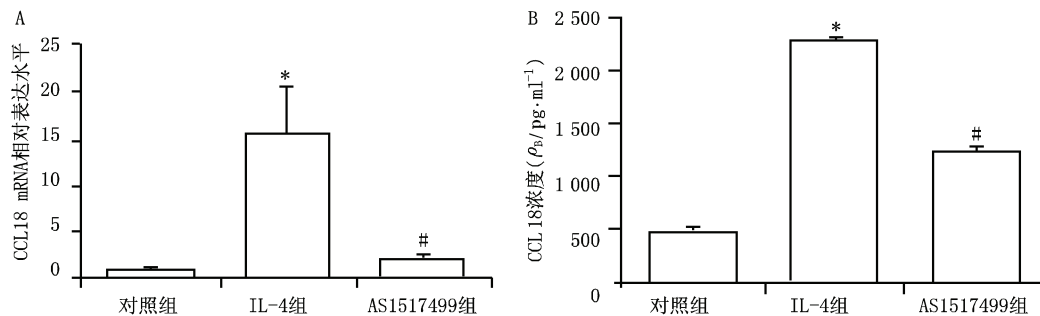


图 4 AS1517499 对 CCL18 mRNA(A)和蛋白(B)表达的影响

* $P < 0.05$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, 与 IL-4 组比较

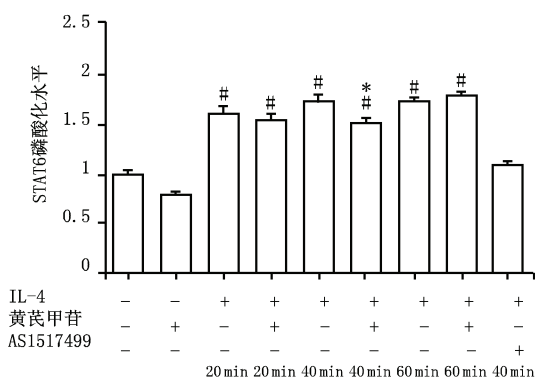


图 5 黄芪甲苷对 STAT6 磷酸化的影响

* $P < 0.05$, 与 40 min IL-4 组比较; # $P < 0.05$,

分别与对照组、黄芪甲苷组、IL-4 组、AS1517499 组比较

注:“—”表示未加入黄芪甲苷,“+”表示加入黄芪甲苷

2.5 黄芪甲苷对 JAK 激酶作用的影响

JAK 家族如 JAK1、JAK2、JAK3 及 TYK2 在 IL-4 与 IL-4R 结合后参与 STAT6 磷酸化过程。Z''-LYTE™ 激酶检测试验结果表明,黄芪甲苷可显著抑制 JAK1、JAK3、TYK2 激酶的活性,且呈

明显的量效依赖关系,而黄芪甲苷对 JAK2 激酶影响不明显(图 6),提示黄芪甲苷是通过抑制 JAK1、JAK3、TYK2 激酶的活性来抑制 STAT6 磷酸化。

3 讨论

既往研究表明,IPF 患者肺泡巨噬细胞选择性激活,生物标志物 CD206 和 CCL18 的表达上调^[11]。巨噬细胞的选择性激活,主要由 Th2 细胞因子,如 IL-4、IL-13 诱导^[12]。而 IPF 患者肺组织的细胞因子环境为 Th2 细胞因子主导^[13-14],因此, Th2 细胞因子可能涉及 IPF 的病理过程。CCL18 对 T 细胞、B 细胞和未成熟的树突状细胞具有趋化活性以及促纤维化活性^[15]。离体试验表明,CCL18 可刺激肺成纤维细胞的胶原生成^[16]。在体试验表明,大鼠肺组织 CCL18 的过表达导致 T 细胞浸润和胶原沉着^[17]。临床试验表明,血清 CCL18 的表达与患者肺功能和生存率呈相关性^[6]。因此,CCL18 被认为是肺纤维化的重要因子。

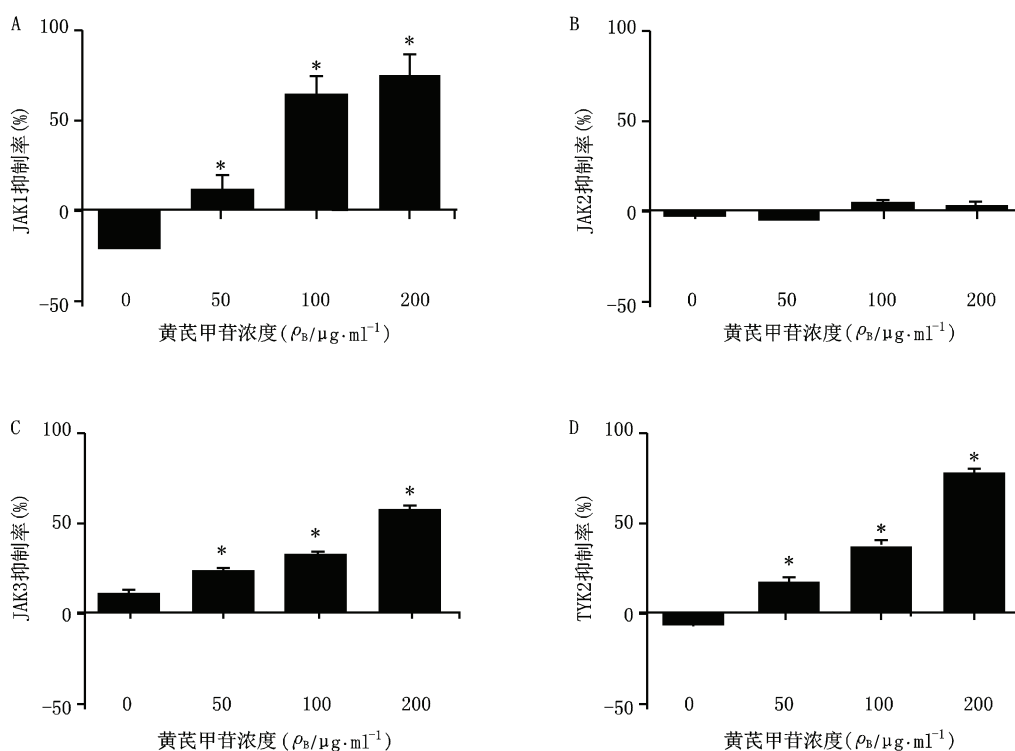


图6 黄芪甲苷对JAK激酶活性的影响

A. 对JAK1的抑制率; B. 对JAK2的抑制率; C. 对JAK3的抑制率; D. 对TYK2的抑制率

* $P < 0.05$, 与对照组即黄芪甲苷 $0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度组比较

课题组采用 IL-4 刺激 U937 巨噬细胞发生 M2 型极化, 来考察黄芪甲苷对其 CCL18 表达的影响。结果发现, 黄芪甲苷能显著抑制 CCL18 mRNA 和蛋白的表达水平, 且呈明显的量效依赖性。为进一步考察其作用机制, 考察了其对 IL-4 信号转导的影响。首先, 考察黄芪甲苷是否导致细胞 IL-4 受体 IL-4R 表达下调。IL-4R 分为 I 型受体和 II 型受体, I 型 IL-4 受体由 IL-4R α 链与 γc (common α) 链组成, 而 II 型 IL-4 受体由 IL-4R α 链与 IL-13R $\alpha 1$ 链组成^[18]。流式细胞仪分析显示, 黄芪甲苷对 IL-4 受体亚基 IL-4R α (CD124), common γ chain (CD132) 和 IL-13R $\alpha 1$ (CD213) 的表达无显著影响, 提示黄芪甲苷不会引起 IL-4 受体下调。

随后, 课题组考察黄芪甲苷对与 CCL18 表达相关的 IL-4 受体下游信号因子 STAT6 的影响。首先, 考察 STAT6 磷酸化抑制剂 AS1517499 对 CCL18 表达的影响, 结果表明 AS1517499 显著抑制 CCL18 mRNA 及蛋白表达, 其抑制水平达到未受 IL-4 刺激的状态, 证明 IL-4 引起的 CCL18 表达是通过 STAT6 介导, 磷酸化后的 STAT6 形成二聚体转移至细胞核而引起转录。STAT6 磷酸化试验结果表明黄芪甲苷能抑制 STAT6 磷酸化, 尽管抑制作用较 AS1517499 轻。因此, 推测黄芪甲苷对 CCL18 表

达的抑制作用在一定程度上是通过抑制 STAT6 磷酸化完成的。随之进一步探讨了黄芪甲苷抑制 STAT6 磷酸化的作用机制。IL-4 与其受体 IL-4R 结合激活 STAT6 磷酸化是通过 JAK 激酶完成。Z'-LYTETM 激酶检测结果表明, 黄芪甲苷能显著抑制 JAK1、JAK3、TYK2 激酶的活性, 且呈量效依赖关系。

总之, 黄芪甲苷可抑制 IL-4 引起的 U937 巨噬细胞 CCL18 的表达。其作用机制可能是通过抑制 JAK 激酶活性, 引起 STAT6 的转录活性下调, 从而抑制 CCL18 基因表达。然而, 由于黄芪甲苷对 STAT6 磷酸化的抑制作用有限, 因此推测只是其抑制 CCL18 表达的途径之一, 是否还通过其他途径尚需要进一步的探讨。

【参考文献】

- [1] RAGHU G, WEYCKER D, EDELSBERG J, et al. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir and Crit Care Med, 2006, 174(7): 810-816.
- [2] 蒋云峰. 黄芪桃红汤治疗特发性肺纤维化 24 例[J]. 吉林中医药, 2003, 23(11): 14.
- [3] 李丽君, 范盎然, 葛东宇, 等. 黄芪当归对药对特发性肺纤维化小鼠生存状况及组织修复相关基因表达水平的影响[J]. 环球中医药, 2015, 8(12): 1441-1445.

(下转第 41 页)

【参考文献】

- [1] XIAO J, XING F, LIU Y, et al. Garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine inhibits hepatocarcinogenesis through targeting LRP6/Wnt pathway[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8(4):575-586.
- [2] HASSANZADEH H, ALIZADEH M, REZAZAD BARI M. Formulation of garlic oil-in-water nanoemulsion: antimicrobial and physicochemical aspects[J]. *IET Nanobiotechnol*, 2018, 12(5):647-652.
- [3] SHABANI E, SAYEMIRI K, MOHAMMADPOUR M. The effect of garlic on lipid profile and glucose parameters in diabetic patients: A systematic review and meta-analysis[J]. *Prim Care Diabet*, 2018.
- [4] KANG J S, KIM S O, KIM G Y, et al. An exploration of the antioxidant effects of garlic saponins in mouse-derived C2C12 myoblasts. [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(1): 149-156.
- [5] 周思敏, 郑善军, 张钢. 大蒜总皂苷对小鼠耐缺氧作用的实验研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2015(10):1897.
- [6] 柏冬, 王瑞海, 刘丽梅. 大蒜皂苷对照品制备及比色法测定大蒜皂苷提取物中总皂苷含量[J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(9):55-58.
- [7] 张家伟, 王晓明, 潘桂湘, 等. UPLC-MS/MS法测定大鼠灌服稳心颗粒后血浆中3个皂苷成分及其药动学研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2016(8):1717-1720.
- [8] 宋兴良, 梁恕坤, 赵翊萌, 等. 柱前衍生化-HPLC法测定大蒜中甾体皂苷的含量[J]. *中国药房*, 2016, 27(3):361-364.
- [9] 周梦娣, 何功浩, 倪伟, 等. LC-MS/MS法测定大鼠血浆中丫蕊花皂苷 G 的浓度及其体内药动学研究[J]. *华西药理学杂志*, 2018, 33(3):279-282.
- [10] 刘继华, 卢丹, 刘金平, 等. 大鼠肌肉注射 20(S)-人参皂苷 Rg3 的药动学研究[J]. *中国药理学杂志*, 2007, 42(14):1087-1090.
- [收稿日期] 2018-10-06 [修回日期] 2018-11-12
[本文编辑] 李睿旻
-
- (上接第 36 页)
- [4] 李红, 王胜, 沈明霞, 等. 黄芪甲苷对特发性肺纤维化模型大鼠肺组织碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达的影响[J]. *西部中医药*, 2015, 28(12):21-24.
- [5] 李红, 沈明霞, 谢海彬, 等. 黄芪甲苷对特发性肺纤维化模型大鼠肺组织 CD34 表达的影响[J]. *西部中医药*, 2015, 28(9):6-10.
- [6] PRASSE A, PECHKOVSKY D V, TOEWS G B, et al. CCL18 as an indicator of pulmonary fibrotic activity in idiopathic interstitial pneumonias and systemic sclerosis[J]. *Arthritis Rheumat*, 2007, 56(5):1685-1693.
- [7] CAI M, BONELLA F, HE X, et al. CCL18 in serum, BAL fluid and alveolar macrophage culture supernatant in interstitial lung diseases[J]. *Respir Med*, 2013, 107(9):1444-1452.
- [8] PRASSE A, PROBST C, BARGAGLI E, et al. Serum CC-chemokine ligand 18 concentration predicts outcome in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(8):717-723.
- [9] HIESHIMA K, IMAI T, BABA M, et al. A novel human CC chemokine PARC that is most homologous to macrophage-inflammatory protein-1 alpha/LD78 alpha and chemotactic for T lymphocytes, but not for monocytes[J]. *J Immunol*, 1997, 159(3):1140-1149.
- [10] Kodolja V, Müller C, Politz O, et al. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern. [J]. *J Immunol*, 1998, 160(3):1411-1418.
- [11] PRASSE A, PECHKOVSKY D V, TOEWS G B, et al. A vicious circle of alveolar macrophages and fibroblasts perpetuates pulmonary fibrosis via CCL18[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(7):781-792.
- [12] PECHKOVSKY D V, PRASSE A, KOLLERT F, et al. Alternatively activated alveolar macrophages in pulmonary fibrosis-mediator production and intracellular signal transduction[J]. *Clin Immunol*, 2010, 137(1):89-101.
- [13] ANDO M, MIYAZAKI E, FUKAMI T, et al. Interleukin-4-producing cells in idiopathic pulmonary fibrosis: an immunohistochemical study[J]. *Respirology*, 1999, 4(4):383-391.
- [14] WALLACE W A, HOWIE S E. Immunoreactive interleukin 4 and interferon gamma expression by type II alveolar epithelial cells in interstitial lung disease[J]. *J Pathol*, 1999, 187(4):475-480.
- [15] SCHUTYSER E, RICHMOND A, DAMME J V. Involvement of CC chemokine ligand 18 (CCL18) in normal and pathological processes[J]. *J Leuk Biol*, 2005, 78(1):14-26.
- [16] ATAMAS S P, LUZINA I G, CHOI J, et al. Pulmonary and activation-regulated chemokine stimulates collagen production in lung fibroblasts[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 29(6):743-749.
- [17] LUZINA I G, PAPADIMITRIOU J C, ANDERSON R, et al. Induction of prolonged infiltration of T lymphocytes and transient T lymphocyte dependent collagen deposition in mouse lungs following adenoviral gene transfer of CCL18[J]. *Arthr Rheum*, 2006, 54(8):2643-2655.
- [18] LUZINA I G, KEEGAN A D, HELLER N M, et al. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of "alternatives"[J]. *J Leuk Biol*, 2012, 92(4):753-764.
- [收稿日期] 2018-07-06 [修回日期] 2018-12-31
[本文编辑] 陈盛新