

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.18.002

Calpeptin 通过抑制 GATA3 减轻变应性鼻炎大鼠炎症 *

李紫荆 左晶晶 习 洋 朱汶轩 李 芬 陈始明 孔勇刚 许 昱 邓玉琴 陶泽璋^Δ

(武汉大学人民医院耳鼻喉头颈外科 湖北 武汉 430060)

摘要 目的:本研究旨在评估钙蛋白酶抑制剂 calpeptin 减轻变应性鼻炎大鼠炎症的作用并探讨其机制。**方法:**将 20 只雄性 SD 大鼠采用数字表法随机分为 4 组:正常组(Normal)、变应性鼻炎组(AR)、地塞米松干预 AR 组(DXMS+AR)、calpeptin 干预 AR 组(Calpeptin+AR)。造模成功后,对大鼠 AR 症状进行行为学评分,对大鼠鼻黏膜组织切片以 HE 和 PAS 染色法观察鼻黏膜病理改变;对大鼠外周血以 ELISA 法检测总 IgE、IL-4、IL-13 水平;对大鼠鼻黏膜组织以免疫蛋白印迹法检测 GATA3 蛋白表达水平。单因素方差分析进行多组间比较,LSD-t 检验进行组间两两比较。**结果:**与 Normal 组相比,AR 组大鼠的鼻部过敏症状、鼻黏膜嗜酸性粒细胞计数及外周血总 IgE 水平均升高,Calpeptin 与地塞米松均能减轻气道炎症,减少嗜酸性粒细胞浸润,降低血清中 OVA 诱导的 IgE 的生成。探讨机制发现,酶联免疫吸附试验检测 Th2 细胞因子,与 Normal 组比较,AR 组血清 IL-4、IL-13 水平均升高($P<0.05$),而 Calpeptin 与地塞米松均能降低血清 IL-4、IL-13 水平($P<0.05$)。免疫蛋白印迹法检测大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白表达水平显示,与 Normal 组比较,AR 组鼻黏膜 GATA3 表达升高($P<0.05$),而 Calpeptin 与地塞米松组鼻黏膜 GATA3 表达均下降($P<0.05$)。**结论:**腹腔注射 calpeptin 能够减轻变应性鼻炎大鼠局部和全身过敏反应,其机制可能下调 GATA3 表达,影响 Th2 细胞的分化及细胞因子的分泌有关。

关键词:变应性鼻炎;Ovalbumin;Calpeptin;GATA3;大鼠

中图分类号:R-33;R765 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)18-3408-05

Calpeptin Alleviates Inflammation in Rats with Allergic Rhinitis by Inhibiting GATA3*

LI Zi-jing, ZUO Jing-jing, XI Yang, ZHU Wen-xuan, LI Fen, CHEN Shi-ming, KONG Yong-gang,
XU Yu, DENG Yu-qin, TAO Ze-zhang^Δ

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: The purpose of this study was to evaluate the therapeutic effect of calpeptin on allergic rhinitis rats and to explore its mechanism. **Methods:** Twenty rats were randomly divided into four groups: normal group (normal), allergic rhinitis group (AR), dexamethasone intervention AR group (DXMS + AR), calpeptin intervention AR group (calpeptin + AR). After the establishment of rat model in each group, the behavior score of AR symptoms was carried out, and the pathological changes of nasal mucosa were observed by Hematoxylin eosin (HE) and Periodic acid-Schiff (PAS) staining. The levels of total IgE, IL-4 and IL-13 in peripheral blood were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression level of GATA3 in rat nasal mucosa was detected by Western blot. One way ANOVA was used for multi group comparison, and LSD-t test was used for pairwise comparison. **Results:** The nasal allergic symptoms, eosinophil count of nasal mucosa and total IgE level of peripheral blood in AR group were higher than those in normal group. Both calpeptin and dexamethasone can reduce airway inflammation, eosinophil infiltration and ova induced IgE production in serum. It was further found that compared with Normal group, the levels of serum IL-4 and IL-13 in AR group increased ($P<0.05$), while calpeptin and dexamethasone decreased ($P<0.05$). Western blot showed that compared with normal group, the expression of GATA3 in AR group increased ($P<0.05$), while the expression of GATA3 in calpeptin and dexamethasone decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** Intraperitoneal injection of calpeptin can alleviate local and systemic anaphylaxis in allergic rhinitis rats, and its mechanism may be related to down regulating the expression of GATA3 and affecting the differentiation of Th2 cells and the secretion of Th2 cytokines.

Key words: Allergic rhinitis; Ovalbumin; Calpeptin; GATA3; Rats

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R765 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)18-3408-05

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81870705);中央高校基本科研业务费专项基金(2042019kf0084)

作者简介:李紫荆(1997-),女,硕士研究生,主要研究方向:变应性鼻炎诊断与治疗,电话:13006332604,E-mail: ivylee1997@foxmail.com

^Δ 通讯作者:陶泽璋,男,博士生导师,教授,主要研究方向:鼻炎、鼻窦炎诊断与治疗,鼻腔和鼻窦肿瘤以及鼻咽癌诊断与治疗,

E-mail: taozezhang@163.com

(收稿日期:2022-03-05 接受日期:2022-03-28)

前言

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是特异性个体在接触变应原后,主要由 IgE 介导的多种免疫细胞及炎症因子参与而出现发作性喷嚏、鼻塞和流清涕等症状的 I 型变态反应性疾病。流行病学研究表明,20%至 30%的成年人和高达 40%的儿童受到 AR 的影响^[1]。AR 的防治任务重大且艰巨。

AR 药物治疗选择主要有糖皮质激素、抗组胺药、白三烯受体拮抗剂、肥大细胞膜稳定剂等,鼻用糖皮质激素抗炎作用强大因而为 AR 一线临床药物^[2],但也仍有患者使用后无法缓解症状,研究和开发新的 AR 治疗药物也成为了临床的迫切需要。

Calpeptin 是一种人工合成的高效、广泛的、具备细胞渗透性的钙蛋白酶抑制剂^[3],通过抑制钙蛋白酶主要活性组分 μ -calpain 和 m-calpain 的活性^[4],可阻断 T 细胞活化和多种免疫细胞的迁移^[5]。有研究表明,肺炎小鼠被 calpeptin 干预后,肺间质纤维蛋白渗出物及纤维组织增生被吸收,下呼吸道感染明显减轻^[6]。根据“一个气道,一种疾病”的观点,calpeptin 是否能减轻变应性鼻炎大鼠炎症及其机制是我们研究的目的。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验选取 SPF 级 SD 大鼠,雄性,6-8 周龄,体重 250-300 g,购自北京华阜康生物科技公司[许可号:SCXK(京)2014-0004],室温适中,湿度适中,大鼠自由饮食。所有实验程序均得到武汉大学人民医院动物伦理委员会许可[伦理号:WDRY2018-K052]。

1.2 造模方法

实验动物在 SPF 级实验室适应性喂养 1 周。将雄鼠以数字表法随机分为 4 组,每组 5 只。A 组为正常组(Normal),B 组为 AR 组,C 组为地塞米松干预 AR 组(DXMS+AR),D 组为 calpeptin 干预 AR 组(Calpeptin +AR)。卵清蛋白(ovalbumin, OVA)购于法国 InvivoGen 公司;氢氧化铝购自美国 Pierce chemical 公司。

1.2.1 变应性鼻炎组(AR)造模 于第 1、3、5、7、9、11、13 天腹腔注射 1 mL 含 300 μ g OVA 及 30 mg 氢氧化铝(佐剂)的生理盐水混悬液,自第 15 天开始以 10% OVA 生理盐水滴鼻(每天一次,每侧 50 μ L/次)激发,连续 7 d,造成 AR 模型。造模完成后,每隔 10 d 进行一次基础致敏和鼻部激发,共重复两次。

1.2.2 地塞米松干预 AR 组(DXMS+AR)造模 前期制备同 AR 组,基础致敏前给予 AR 大鼠地塞米松 1.0 mg/kg 灌胃,1 次/日,隔日 1 次,共 28 次。

1.2.3 calpeptin 干预 AR 组(Calpeptin +AR)造模 前期制备同 AR 组,基础致敏前给予 AR 大鼠 calpeptin(0.4 mg)腹腔注射,1 次/日,隔日 1 次,共 28 次。

1.2.4 正常组(Normal)造模 以生理盐水代替 OVA 腹腔注射和滴鼻,处理时间同 AR 组。

1.3 AR 症状评分

末次鼻腔激发后 30 min 观察记录大鼠的生物学行为,如鼻痒(挠鼻)、喷嚏、流清涕等行为表现,进行行为学症状评分^[7]。采用量化记分法进行行为学症状评分,(1)鼻痒:轻度 1

分,轻挠鼻几次;重度 2 分,抓挠鼻、面不止;(2)喷嚏:1-3 个为 1 分,4-10 个为 2 分,10 个以上为 3 分;(3)清涕:流至前鼻孔为 1 分,过前鼻孔为 2 分,流涕满面为 3 分^[8]。

1.4 血清细胞因子检测

最后一次滴鼻后 24 h,使用异氟烷麻醉大鼠,采用大鼠下腔静脉采血,血清收集后分装,于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中冻存^[9]。用 ELISA 检测外周血清 IL-4、IL-13、总 IgE 的表达水平。ELISA 试剂盒购于美国 Thermo Fisher 公司。

1.5 鼻黏膜形态学观察

最后一次激发后 24 h,于下腔静脉取血后,处死大鼠,对大鼠头部解剖出大鼠完整鼻骨后,用眼科镊小心刮除鼻骨上缘、鼻中隔软骨、两侧鼻骨外侧壁内的鼻黏膜组织,分离鼻黏膜分为三份,一份鼻黏膜给予 4%甲醛固定,24 小时后常规石蜡包埋、制片,切片厚 3-4 μ m,然后进行苏木精-伊红(HE)染色观察鼻腔病理学改变、鼻黏膜嗜酸性粒细胞浸润情况。镜下可见嗜酸粒细胞,其胞质呈现为红色或粉红色,细胞核则呈蓝色。任意 5 个高倍(HP)视野($\times 400$)下嗜酸粒细胞计数并取平均值^[9]。PAS 染色后,杯状细胞及其分泌黏液以中性糖蛋白为主,呈现紫红色^[10]。

1.6 免疫蛋白印迹法检测大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白表达水平

分离鼻黏膜置于无菌冻存管在 -125 $^{\circ}$ C 冰箱中冻存。抽提组织中蛋白行质量检测。取鼻黏膜组织,匀浆变形,配置 SDS-PAGE 浓缩胶和分离胶,上样电泳,分离出含 GATA3 蛋白分子的凝胶,电转至已用 5%牛奶室温封闭 2 h 的 PVDF 膜。将 PVDF 置入配置好的一抗,在 4 $^{\circ}$ C 的环境下摇床孵育过夜, TBST 中清洗,10 min $\times$ 3 次,加入配置好的二抗,室温下摇床孵育 2 h, TBST 洗膜,Odyssey 双色红外荧光成像系统进行扫膜,软件检测数值。BCA 蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术公司,兔抗鼠 GATA3 一抗购于 Abcam 公司,兔抗鼠二抗购于 Abcam 公司。

1.7 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析。首先对所有数据进行描述性分析、正态性检验和方差齐性检验,正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;采用单因素方差分析进行多组间比较,采用 LSD-t 检验进行两组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异为具有统计学意义。

2 结果

2.1 AR 症状评分

4 组大鼠的 AR 症状评分差异具有统计学意义(图 1)。与 Normal 组比较,AR 组的 AR 症状评分显著升高。与 AR 组相比,DXMS+AR 组与 Calpeptin+AR 组症状评分均有降低,且二者没有统计学差异。

2.2 鼻黏膜形态学改变

Normal 组鼻黏膜可见纤毛连续完整,固有层可见少许嗜酸粒细胞;杯状细胞呈细长高脚杯状。AR 组鼻黏膜上皮纤毛减少、中断不完整,固有层内发现嗜酸粒细胞增多、固有层水肿、血管扩张及腺细胞增生;杯状细胞明显增生肥大呈矮胖状。DXMS+AR 组、Calpeptin+AR 组固有层水肿减轻,可见少许嗜酸性粒细胞(图 2A),杯状细胞呈细长状(图 3)。

4 组大鼠的嗜酸粒细胞计数差异有统计学意义。与 Normal 组比较,AR 组嗜酸粒细胞计数显著升高;与 AR 组相比,DXMS +AR 组、Calpeptin +AR 组嗜酸粒细胞计数均显著下降,

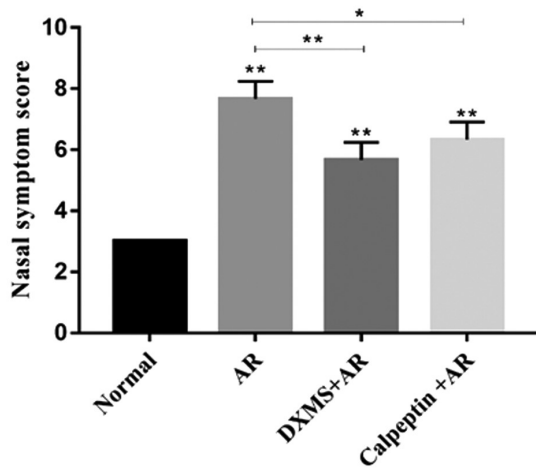


图 1 AR 症状评分

Fig. 1 The symptom score of allergic rhinitis

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

两者间无明显统计学差异(图 2B)。

2.3 血清 IgE 含量

4 组大鼠外周血总 IgE 含量差异具有统计学意义(图 4)。与 Normal 组比较,AR 组总 IgE 含量显著升高;与 AR 组相比,DXMS +AR 组、Calpeptin +AR 组 IgE 含量均有下降,且二者间无明显统计学差异。

2.4 血清 IL-4、IL-13 水平检测

4 组大鼠外周血 IL-4、IL-13 含量差异具有统计学意义。与 Normal 组比较,AR 组 IL-4、IL-13 含量显著升高;与 AR 组相比,DXMS +AR 组、Calpeptin +AR 组 IL-4、IL-13 显著下降,且二者间无明显统计学差异(图 5)。

2.5 免疫蛋白印迹法检测大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白表达水平

4 组大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白表达水平具有统计学意义。与 Normal 组相比,AR 组 GATA3 表达水平上升,DXMS +AR 组、Calpeptin+AR 组 GATA3 表达水平下降,且两者间具有统计学差异。

3 讨论

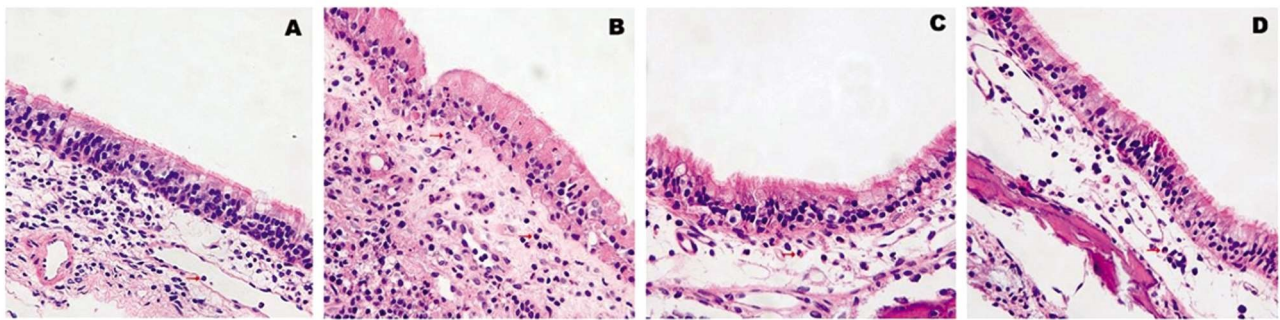


图 2A 鼻黏膜 HE 染色($\times 400$)

Fig.2A HE staining of nasal mucosa

Note: (A) Normal group, (B) AR group, (C) DXMS+AR group, (D) Calpeptin+AR group; the red arrow in the figure shows eosinophils, the cells are oval in shape, the nuclei are leafy and the cells contain orange-red eosinophilic granules.

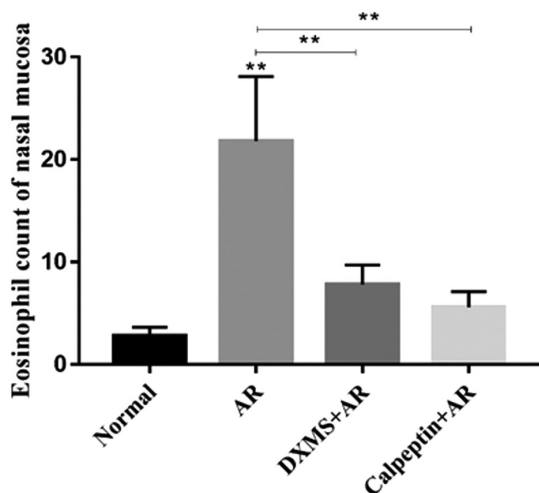


图 2B 鼻黏膜嗜酸粒细胞计数

Fig.2B Eosinophil count of nasal mucosa

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

变应性鼻炎的定义是主要由 IgE 介导的对吸入性过敏原的反应引起的喷嚏、鼻痒、气流阻塞,以及清鼻涕症状的 I 型变态反应性疾病。变应性鼻炎可诱发哮喘、特应性皮炎与过敏性鼻炎等其他过敏性疾病^[10]。变应性鼻炎已成为世界范围内的主要公共卫生问题,给社会健康和经济带来沉重负担。而 calpeptin 作为一种能够阻止多种 T 细胞活化和转移的钙蛋白酶抑制剂^[3],参与免疫反应,提示其有望被开发成药物应用于临床。

本研究首先观察了大鼠鼻部症状、鼻黏膜嗜酸性粒细胞浸润情况以及血清总 IgE 表达水平,发现与正常组相比,AR 组大鼠上述指标均升高,证明本研究中 AR 大鼠模型成功建立。而与 AR 组相比,Calpeptin 组鼻部过敏症状减轻,鼻黏膜血管扩张减轻,固有层水肿减轻,嗜酸性粒细胞计数减少,杯状细胞呈细长状,血清总 IgE 表达水平下降,初步证明 calpeptin 能够减轻 AR 大鼠的过敏性炎症。

Calpain 是 Ca^{2+} 依赖性的细胞内半胱氨酸蛋白酶家族^[11],包含有 calpain-1 和 calpain-2 这两种典型的钙蛋白酶,负责气

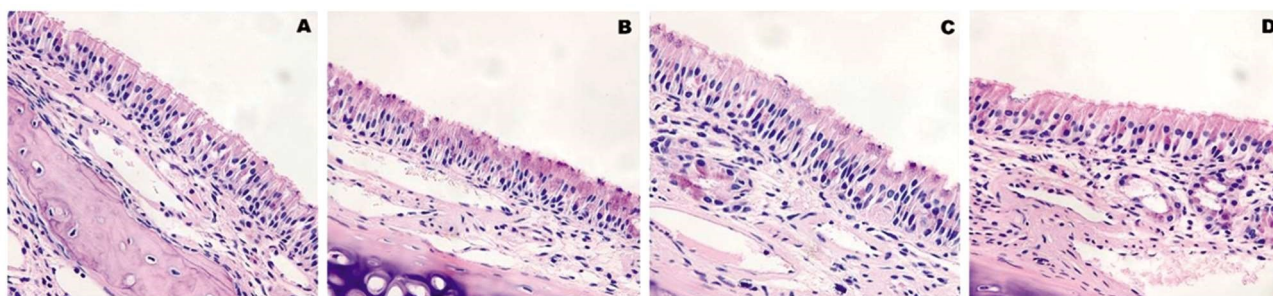
图3 鼻黏膜 PAS 染色($\times 400$)

Fig.3 PAS staining of nasal mucosa

Note: (A) Normal group, (B) AR group, (C) DXMS+AR group, (D) Calpeptin+AR group; the figure shows goblet cells of nasal mucosa.

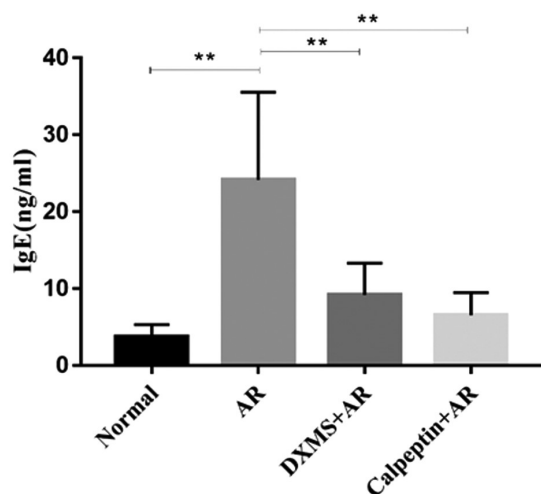
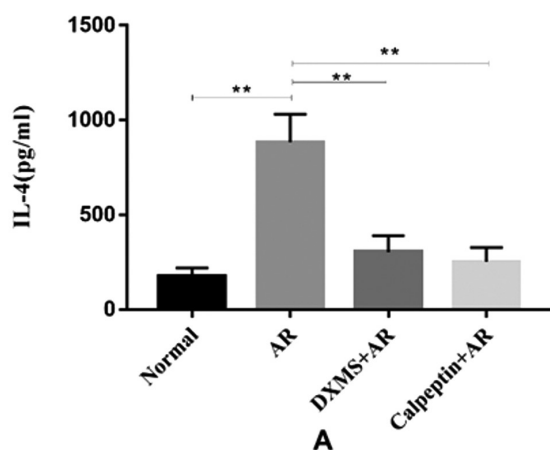


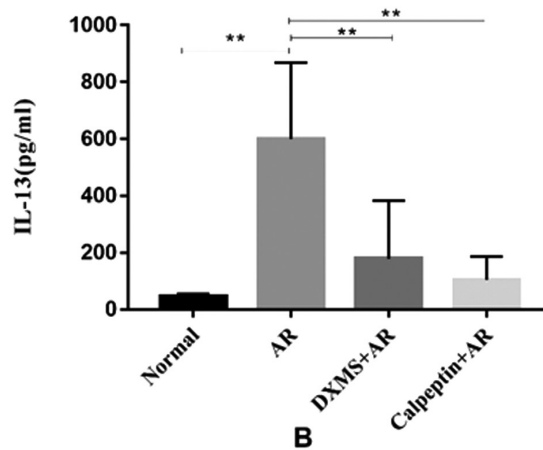
图4 血清总 IgE 表达

Fig. 4 Level of the total IgE in serum

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



A



B

图5 血清 IL-4 和 IL-13 表达

Fig. 5 Level of IL-4 and IL-13 in serum

* $P < 0.05$, $P < 0.01$;

Note: IL-4: interleukin 4; IL-13: interleukin 13.

时期被激活的 T 细胞增殖分化为具有效应的 Th2 细胞, 释放 IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13^[16,17]。过敏原激活的 Th2 细胞分泌 IL-4, 维持 Th2 细胞谱系, 并诱导更多 T 辅助细胞向 Th2 分化。Th2 细胞还分泌 IL-13 和表达 CD40 配体, 与 IL-4 一起促进 B 淋巴细胞转换, 有利于 IgE 的产生。IL-4 可以增强组胺诱导的粘液过度分泌在过敏反应中的作用^[18], 还可以促进 B 细胞分泌

道和血管平滑肌细胞中的钙蛋白酶活性^[12,13]。Calpain 介导炎症细胞因子 IL-4、IL-5、TNF- α 和 TGF- β 1 诱导的气道平滑肌细胞胶原合成和细胞增殖^[14]。Calpeptin 是一种 Calpain 抑制剂, 具备细胞穿透性, 阻断 T 细胞活化和多种免疫细胞的迁移^[3], 并且可以阻断气道平滑肌细胞胶原合成和细胞增殖^[14]。前期研究发现 calpeptin 通过抑制肺炎小鼠肺及人支气管上皮 BEAS-2B 细胞 μ -calpain、m-calpain 和 I κ B α 的表达, 明显减轻下呼吸道炎症^[6]。气道重塑表现为气道上皮细胞增厚、杯状细胞化生、细胞外基质增厚^[15]。这些研究进一步支撑了本文 calpeptin 能够减轻 AR 大鼠的过敏性炎症的猜想。

AR 具体病理发病机制, 是以辅助型 T 淋巴细胞 1(Th1)/辅助型 T 淋巴细胞 2 (Th2) 免疫失衡为特点, 正常机体内 Th1/Th2 的动态平衡主要由分泌细胞因子来维持, 变应性鼻炎发生后, Th1 细胞因子表达则被抑制, Th2 细胞因子表达则上调, 从而引发 Th1/Th2 细胞因子的动态失衡^[8]。变态反应性炎症

免疫球蛋白^[19]; IL-4 和 IL-13 都是激活杯状细胞和平滑肌细胞以及募集更多效应细胞(包括嗜酸性粒细胞)的关键细胞因子^[20], 在 AR 的发病机制中起到关键作用。本研究通过 ELISA 法检测大鼠外周血中 IL-4、IL-13、总 IgE 水平发现, 与正常组相比, AR 组大鼠血清 IgE、IL-4 和 IL-13 表达水平升高, 而与 AR 组大鼠相比, Calpeptin+AR 组大鼠三者表达水平下降, 说明

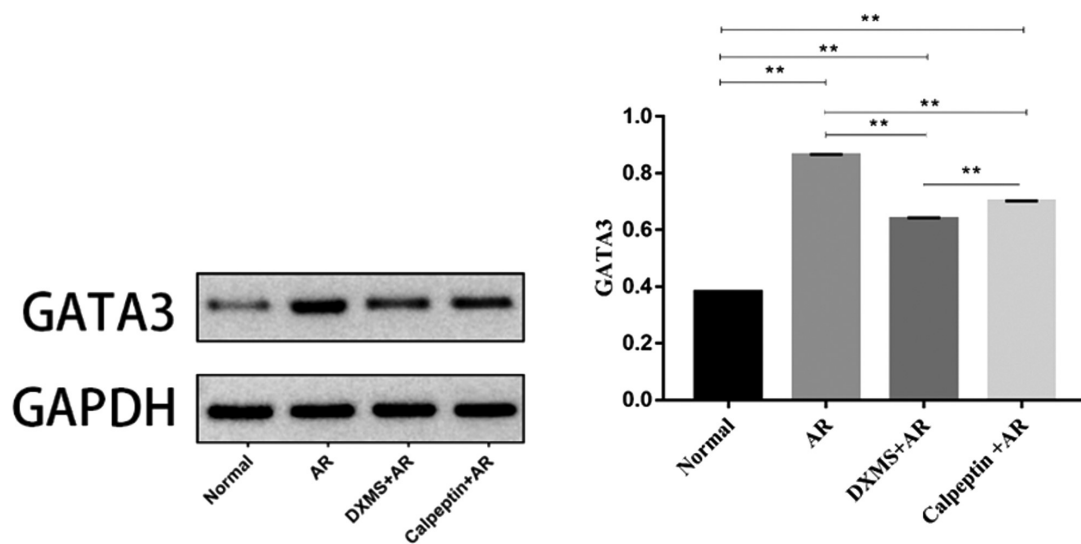


图6 Western Blot 检测大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白的表达水平

Fig. 6 The expression level of GATA3 protein in rat nasal mucosa were detected by Western blot

* $P < 0.05$, $P < 0.01$

calpeptin 有可能通过逆转 Th1/Th2 失衡的机制,从而起到治疗 AR 的作用。

GATA3 是 GATA 转录因子家族中的一员,是 T 细胞特异性转录因子,在 Th2 型细胞因子的转录和信号转导过程中发挥着重要功能^[21],可以促进 Th 细胞向 Th2 细胞分化,从而影响 Th2 型细胞因子的合成。GATA3 除了在早期调控 Th2 细胞的分化,对维持终末 Th2 细胞的主要表型也十分重要^[22]。本研究从大鼠鼻黏膜组织中提取 GATA3 蛋白,通过免疫蛋白印迹法检测 GATA3 蛋白量,与正常组相比,AR 组大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白表达水平升高,而与 AR 组大鼠相比,Calpeptin+AR 组大鼠鼻黏膜 GATA3 蛋白表达水平下降,说明 calpeptin 可能通过下调 GATA3 表达,影响 Th2 细胞的分化及 Th2 细胞因子的分泌,从而减轻变应性鼻炎的免疫炎症反应。

目前有多种治疗变应性鼻炎的药物,糖皮质激素因其强大抗炎效应而作为一线临床药物^[2]。本研究为了评估 calpeptin 在 AR 治疗中的作用,选择地塞米松作为阳性对照。我们发现 calpeptin 在治疗 AR 方面与 DXMS 具有相似的效果,与地塞米松相比,calpeptin 也具有改善变应性鼻炎大鼠的鼻部症状与鼻黏膜嗜酸性粒细胞浸润情况,有效地降低大鼠血清 IL-4、IL-13、总 IgE 的表达,降低大鼠鼻黏膜 GATA3 表达水平,且二者间无明显统计学差异,证实 calpeptin 与地塞米松对变应性鼻炎大鼠的治疗作用相仿,有望被开发成变应性鼻炎的新药物。本研究为 calpeptin 对变应性鼻炎的治疗作用提供了新的见解。但是,存在一些局限性,需要对其具体作用的机制进行更深层次的研究,及对其生物利用度、有效性、剂量和安全性进行进一步研究,以支持使用 calpeptin 治疗 AR 和相关的过敏性疾病。

综上所述,本研究证实 calpeptin 能够减轻变应性鼻炎大鼠的免疫炎症反应,其机制可能与下调 GATA3 表达,影响 Th2 细胞的分化及细胞因子 IL-4、IL-13 的分泌有关。

参考文献(References)

[1] Meltzer EO. Allergic Rhinitis: Burden of Illness, Quality of Life, Comorbidities, and Control [J]. Immunol Allergy Clin North Am, 2016,

36(2): 235-248

- [2] 杨钦泰, 陈建军, 谭国林, 等. 鼻用糖皮质激素治疗变应性鼻炎专家共识 (2021, 上海)[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2021, 27(04): 365-371
- [3] Schoenwaelder SM, Burrige K. Evidence for a calpeptin-sensitive protein-tyrosine phosphatase upstream of the small GTPase Rho. A novel role for the calpain inhibitor calpeptin in the inhibition of protein-tyrosine phosphatases [J]. J Biol Chem, 1999, 274 (20): 14359-14367
- [4] Gwozd A M, R. Leung, H. Wang, et al. Calpain inhibition by calpeptin does not prevent APLT activity reduction in PS-exposing platelets, but calpeptin has independent pro-apoptotic effects [J]. Thromb Haemost, 2010, 103(6): 1218-1227
- [5] Schaecher K, Goust JM, Banik NL. The effects of calpain inhibition on I κ B α degradation after activation of PBMCs: identification of the calpain cleavage sites[J]. Neurochem Res, 2004, 29(7): 1443-1451
- [6] Zuo J, Hu Z, Liu T, et al. Calpeptin attenuates cigarette smoke-induced pulmonary inflammation via suppressing calpain/I κ B α signaling in mice and BEAS-2B cells [J]. Pathol Res Pract, 2018, 214 (8): 1199-1209
- [7] 刁洋, 左晶晶, 朱文轩, 等. 香烟烟雾暴露对变应性鼻炎大鼠 ILC2, Th2 细胞的影响[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2020, 14(4): 8
- [8] 高文英, 金正龙, 郑燕霞. 升气壮阳汤超声雾化法对变应性鼻炎小鼠的作用研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(12): 5
- [9] Jiao WE, Wei JF, Kong YG, et al. Notch Signaling Promotes Development of Allergic Rhinitis by Suppressing Foxp3 Expression and Treg Cell Differentiation[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2019, 178: 33-34
- [10] Wheatley LM, Togias A. Clinical practice. Allergic rhinitis[J]. N Engl J Med, 2015, 372(5): 456-463
- [11] Goll DE, Thompson VF, Li H, et al. The calpain system [J]. Physiol Rev, 2003, 83(3): 731-801
- [12] Kovacs L, Han W, Rafikov R, et al. Activation of Calpain-2 by Mediators in Pulmonary Vascular Remodeling of Pulmonary Arterial Hypertension[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 54(3): 384-393

(下转第 3439 页)

- netics and in vitro/in vivo antitumor efficacy of aptamer-targeted Ecoflex® nanoparticles for docetaxel delivery in ovarian cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 493-504
- [15] Zhou LN, Wu N, Liang Y, et al. Monitoring response to gefitinib in nude mouse tumor xenografts by (18)F-FDG microPET-CT: correlation between (18)F-FDG uptake and pathological response[J]. *World J Surg Oncol*, 2015, 13: 111
- [16] Kovač JD, Terzić M, Mirković M, et al. Endometrioid adenocarcinoma of the ovary: MRI findings with emphasis on diffusion-weighted imaging for the differentiation of ovarian tumors [J]. *Acta Radiol*, 2016, 57(6): 758-766
- [17] Nakamura KD, Tilli TM, Wanderley JL, et al. Osteopontin splice variants expression is involved on docetaxel resistance in PC3 prostate cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(2): 2655-2663
- [18] Eisenbrey JR, Gabriel H, Savsani E, et al. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in HCC diagnosis and assessment of tumor response to locoregional therapies. *Abdom Radiol (NY)* [J]. 2021, 46 (8): 3579-3595
- [19] Leng X, Huang G, Li S, et al. Correlation of breast cancer microcirculation construction with tumor stem cells (CSCs) and epithelial-mesenchymal transition (EMT) based on contrast-enhanced ultrasound (CEUS)[J]. *PLoS One*, 2021, 16(12): e0261138
- [20] Brložnik M, Boc N, Cemazar M, et al. Contrast-enhanced ultrasound for evaluation of tumor perfusion and outcome following treatment in a murine melanoma model [J]. *Bioelectrochemistry*, 2021, 142: 107932
- [21] Taniyama Y, Murakami K, Yoshida N, et al. Evaluating the effect of Neoadjuvant chemotherapy for esophageal Cancer using the RECIST system with shorter-axis measurements: a retrospective multicenter study[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 1008
- [22] 范凤梅. 循环肿瘤细胞检测与 RECIST 1.1 标准在非小细胞肺癌化疗疗效的评价中相关性研究[D]. 青岛大学, 2020
- [23] Bakke KM, Grøvik E, Meltzer S, et al. Comparison of Intravoxel incoherent motion imaging and multiecho dynamic contrast-based MRI in rectal cancer[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2019, 50(4): 1114-1124
- [24] 师志磊, 王苗, 张舒. 磁共振成像 CT 动态增强技术查看肺肿瘤血管生成的研究[J]. *实用医学影像杂志*, 2021, 22(02): 182-184
- [25] Zhang M, Liu J, Liu G, et al. Anti-vascular endothelial growth factor therapy in breast cancer: Molecular pathway, potential targets, and current treatment strategies[J]. *Cancer Lett*, 2021, 520: 422-433
- [26] Leone JP, Emblem KE, Weitz M, et al. Phase II trial of carboplatin and bevacizumab in patients with breast cancer brain metastases[J]. *Breast Cancer Res*, 2020, 22(1): 131
- [27] Liu Y, Ji X, Kang N, et al. Tumor necrosis factor α inhibition overcomes immunosuppressive M2b macrophage-induced bevacizumab resistance in triple-negative breast cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 993
- [28] Meng F, Zou B, Yang R, et al. The diagnostic efficiency of the perfusion-related parameters in assessing the vascular disrupting agent (CA4P) response in a rabbit VX2 liver tumor model [J]. *Acta Radiol*, 2021, 19: 2841851211032450
- [29] 李松, 王大巍, 罗宏, 等. 前交通动脉动脉瘤与大脑前动脉血管变异相关性的颅脑 CT 血管成像研究 [J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(12): 3159-3164
- [30] Sun KK, Zhao H. Vascular anatomical variation in laparoscopic right hemicolectomy[J]. *Asian J Surg*, 2020, 43(1): 9-12
- (上接第 3412 页)
- [13] Ma W, Han W, Greer PA, et al. Calpain mediates pulmonary vascular remodeling in rodent models of pulmonary hypertension, and its inhibition attenuates pathologic features of disease [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(11): 4548-4566
- [14] Rao SS, Mu Q, Zeng Y, et al. Calpain-activated mTORC2/Akt pathway mediates airway smooth muscle remodelling in asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2017, 47(2): 176-189
- [15] Hur GY, Broide DH. Genes and Pathways Regulating Decline in Lung Function and Airway Remodeling in Asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2019, 11(5): 604-621
- [16] Ridolo E, Martignago I, Masieri S. Mechanisms of allergic diseases in Otorhinolaryngology[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(1 Suppl. 1): 9-12
- [17] Ebihara T, Taniuchi I. Transcription Factors in the Development and Function of Group 2 Innate Lymphoid Cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1377
- [18] Kang JW, Lee YH, Kang MJ, et al. Synergistic mucus secretion by histamine and IL-4 through TMEM16A in airway epithelium[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313(3): L466-L476
- [19] Robinson MJ, Prout M, Mearns H, et al. IL-4 Haploinsufficiency Specifically Impairs IgE Responses against Allergens in Mice [J]. *J Immunol*, 2017, 198(5): 1815-1822
- [20] Walford HH, Doherty TA. STAT6 and lung inflammation [J]. *JAK-STAT*, 2013, 2(4): e25301
- [21] 许江涛, 张丽娟, 谢淑莹, 等. 黄芪多糖对变应性鼻炎大鼠 Th1/Th2 免疫平衡的影响[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(11): 4
- [22] Kim HY, Jeong HJ, Kim HM. Anti-allergic and anti-inflammatory effects of the Bcl-2 inhibitor ABT-737 on experimental allergic rhinitis models[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 833: 34-43