



# 烟草烟雾暴露对哮喘大鼠气道 CCR6 mRNA 及其蛋白表达的影响

韩小花<sup>1</sup>, 杜永成<sup>1</sup>, 张新日<sup>2</sup>, 李毅<sup>1</sup>

(1. 山西省人民医院呼吸科, 太原 030001; 2. 山西医科大学第一医院呼吸科, 太原 030001)

**【摘要】** 目的 研究烟草烟雾暴露对支气管哮喘(简称哮喘)大鼠气道 chemokine receptor 6 (CCR6)表达的影响,探讨吸烟加重哮喘气道炎症的免疫学机制。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 40 只,随机分为对照组、烟雾暴露组、哮喘组和哮喘+烟雾暴露组,每组 10 只。建立哮喘大鼠模型和哮喘大鼠烟草烟雾暴露模型,采集大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)行白细胞计数及分类,采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)方法及免疫组织化学法检测各组大鼠气道 CCR6 mRNA 及蛋白的表达。**结果** ①哮喘组(69.0±3.5;4.1±1.0;8.9±2.0)、哮喘+烟雾暴露组(86.7±5.2;2.2±1.0;19.0±2.8) BALF 中白细胞总数、嗜酸粒细胞、中性粒细胞均高于对照组(10.1±3.8;1.3±0.7;2.2±1.1)、烟雾暴露组(47.7±6.8;0.5±0.3;2.7±1.4) ( $P$ 均<0.05);哮喘+烟雾暴露组 BALF 中白细胞总数和中性粒细胞高于哮喘组,嗜酸粒细胞低于哮喘组( $P$ 均<0.05)。②哮喘组(8.15±0.88;0.452±0.013)、哮喘+烟雾暴露组(15.16±0.87;0.531±0.024) CCR6 mRNA 及其蛋白表达水平均明显高于对照组(1.01±0.52;0.299±0.027)、烟雾暴露组(5.55±0.54;0.442±0.018) (均 $P$ <0.01);哮喘+烟雾暴露组明显高于哮喘组(均 $P$ <0.01)。**结论** 烟草烟雾暴露可通过促使气道 CCR6 mRNA 及其蛋白高表达,加重哮喘大鼠气道慢性炎症。

**【关键词】** 烟雾暴露;支气管哮喘;趋化因子受体 CCR6;

**【中图分类号】** R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)12-0013-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.012.004

## Effect of Cigarette Smoke Exposure on the Expression of CCR6 mRNA and Protein in the Airway of Asthmatic Rats

HAN Xiao-hua<sup>1</sup>, DU Yong-cheng<sup>1</sup>, ZHANG Xin-ri<sup>2</sup>, LI Yi<sup>1</sup>

(1. Department of Respiratory Medicine, People's Hospital of Shanxi Province, Taiyuan 030001, China;

2. Department of Respiratory Medicine, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

**【Abstract】 Objective** To investigate the impact of cigarette smoke exposure on the expression of CCR6 in airway of asthmatic rats. **Methods** Forty male Wistar rats were randomly divided into four groups with 10 rats in each group: control group, cigarette smoke exposure group, aerosolized ovalbumin (OVA) exposure group and OVA combined with cigarette smoke exposure group. Rats were exposed to either aerosolized OVA, tobacco smoke, or both tobacco smoke and OVA. White blood cells in BALF were quantitatively analyzed and classified. The expressions of CCR6 mRNA and protein in the airway were detected by immunohistochemistry and real-time RT-PCR. **Results** ① The number of white blood cells, the percentage of eosinophils and neutrophils to total cells in BALF in the aerosolized OVA exposure group (69.0±

[基金项目] 山西省回国留学人员科研资助项目(编号:2011-094)。

[作者简介] 韩小花(1980-),女,硕士研究生,研究方向:支气管哮喘基础与临床研究。E-mail: hxxjyl@126.com。

[通讯作者] 杜永成(1955-),男,博士生导师。E-mail: hxkdy@ yahoo.com.cn。

3.5, 4.1 ± 1.0, 8.9 ± 2.0) and OVA combined with smoke exposure group (86.7 ± 5.2, 2.2 ± 1.0, 19.0 ± 2.8) were higher than that in the control group (10.1 ± 3.8, 1.3 ± 0.7, 2.2 ± 1.1) and smoke exposure group (47.7 ± 6.8, 0.5 ± 0.3, 2.7 ± 1.4) (all  $P < 0.05$ ). The number of white blood cells, the percentage of neutrophils to total white cells in BALF in the OVA combined with smoke exposure group were significantly higher than that in the aerosolized OVA exposure group ( $P < 0.05$ ). The percentage of eosinophils to total white cells in BALF in the OVA combined with smoke exposure group was lower than that in the aerosolized OVA exposure group ( $P < 0.05$ ). ② The expression of CCR6 mRNA and protein in the aerosolized OVA exposure group (8.15 ± 0.88; 0.452 ± 0.013) and OVA combined with cigarette smoke exposure group (15.16 ± 0.87, 0.531 ± 0.024) were significantly higher than that in the control group (1.01 ± 0.52, 0.299 ± 0.027) and the smoke exposure group (5.55 ± 0.54, 0.442 ± 0.018) (all  $P < 0.01$ ). The expressions of CCR6 mRNA and protein in the OVA combined with smoke exposure group were significantly higher than that in the aerosolized OVA exposure group (all  $P < 0.01$ ). **Conclusions** The data of this study suggest that cigarette smoke can aggravate chronic airway inflammation by increasing the expression levels of CCR6 mRNA and protein in asthmatic rats.

**【Key words】** Cigarette smoke exposure; Bronchial asthma; CCR6.

支气管哮喘(bronchial asthma)是一种常见的慢性呼吸系统疾病。吸烟与哮喘关系密切,长期吸烟可增加哮喘发作的严重度和病死率。吸烟可改变哮喘患者气道炎症的特点,导致哮喘患者激素治疗效果更差,肺功能下降更快。免疫-炎症机制是近几年支气管哮喘研究的热点,趋化因子的作用亦受到了广泛关注。CCR6 是趋化因子 CCL20 唯一的受体,Lukacs NW<sup>[1]</sup>和 Bracke KR<sup>[2]</sup>等人的研究表明 CCR6 不仅在哮喘气道粘膜免疫中的作用非常重要,而且对于烟草烟雾暴露导致的肺部炎症具有重要作用。本文通过观察烟草烟雾暴露对哮喘大鼠气道 CCR6 mRNA 及蛋白表达的影响,进一步探究吸烟哮喘气道炎症发生的免疫学机制,以期为临床治疗哮喘寻找新的靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料和设备

6~8 周龄清洁级健康雄性 Wistar 大鼠〔山西医科大学实验动物中心提供,合格证号 SXCK(晋)2009-0001〕40 只,平均体重(200 ± 20)g。卵白蛋白(OVA)购自美国 Sigma 公司,实验用香烟为湖南中烟工业公司生产的芙蓉牌过滤嘴香烟(烟碱 1.0 mg/支,焦油 12.0 mg/支)。兔抗大鼠 CCR6 多克隆抗体试剂盒及 SABC(兔 IgG)试剂盒均购自北京博奥森生物技术有限公司;DAB 显色剂购自武汉博士德生物工程有限公司;MIAS-2000 医学图像分析系统为四川川大智胜软件股份有限公司产品。第一链 cDNA 合成试剂盒(RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit K1622)为加拿大 Permentas 公司产品;实时荧光定量 PCR 仪(Roche LightCycler1.0)为瑞士 Roche 公司产品。

### 1.2 方法

1.2.1 动物分组与模型制备:40 只大鼠按照随机数字表法分为 4 组:对照组、烟雾暴露组、哮喘组和哮喘 + 烟雾暴露组,每组 10 只。参照文献制备哮喘模型<sup>[3]</sup>:于第 1 天和第 8 天以 10% OVA 1 mL、氢氧化铝 100 mg 腹腔注射致敏,第 14 天后置于透明密闭容器中给予 1% OVA 溶液 60 mL 雾化吸入激发,中等雾量,1 次/d,每次 30 min,每周 5 次,以大鼠出现呼吸加快、口唇发绀、站立不稳等表现为激发成功,连续激发 8 周。对照组:以生理盐水代替 OVA 腹腔注射,第 14 天后给予生理盐水雾化(60 mL)8 周。参照许三林等<sup>[4]</sup>自制实验性大鼠被动吸烟装置,吸烟室大小(100 × 80 × 60)cm。烟雾暴露组:前期制备同对照组,生理盐水雾化 30 min 后给予大鼠被动吸烟 1 次,每次吸烟 10 支,大约 1 h,每周吸烟 5 d,共吸烟 8 周。哮喘 + 烟雾暴露组:前期制备同哮喘组,从吸入 1% OVA 开始,每日于雾化激发 30 min 后,给予被动吸烟,共 8 周,吸烟方法和时间同烟雾暴露组。

1.2.2 标本采集:末次雾化激发 24 h 内,25% 乌拉坦 4 mL/kg 腹腔注射麻醉动物,行支气管肺泡灌洗,暴露气管进行插管,3 mL PBS 液反复冲洗 3 遍,回收的灌洗液离心(1 500 r/min)留取重悬细胞沉淀,行白细胞计数,同时涂片用于 HE 染色进行细胞分类计数。留取右肺组织,放入 DEPC 处理过的冻存管中 -80℃ 冰箱中冻存,用于 RT-PCR 法检测。左肺以中性甲醛固定 24 h,常规石蜡包埋、切片,用于免疫组织化学染色、苏木精-伊红(HE)染色。

1.2.3 BALF 细胞计数及分类:大鼠支气管肺泡灌洗液行白细胞计数、HE 染色及细胞分类计数。

1.2.4 Rear-time PCR 检测大鼠肺组织 CCR6

mRNA 的表达水平:引物由上海生工生物科技有限公司合成。CCR6 引物序列:(上游引物)5'-AACATGGTCCTCCTCGTGAC-3',(下游引物)5'-TACAACACGGGGTTGAGACA-3',扩增片段大小:137 bp;设  $\beta$ -actin 做内参照物。取 -80℃ 保存的肺组织,提取总 RNA,再合成第一链 cDNA,置 -20℃ 冰箱备用。采用 SYBR green 荧光染料法反应 45 个循环,整个过程收集荧光,使各组内每样本与内参扩增效率相同,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法<sup>[5]</sup> 计算样本的原始拷贝数,分别扩增 CCR6 mRNA 和  $\beta$ -actin。利用相应软件获得各组样本与内参  $\beta$ -actin 相对应的扩增曲线,读取样本 Ct (cycle threshold) 值(即在 PCR 扩增过程中,扩增产物的荧光信号达到设定的阈值时所经过的扩增循环次数),计算  $\Delta Ct$  值(各样本测定基因与内参基因 Ct 值的差值)和  $\Delta\Delta Ct$  值(其余样品的  $\Delta Ct$  值和对照样本相应基因的  $\Delta Ct$  值之差),最终得出  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值(相对于参考因子基因表达的倍数)以获得四组间 CCR6mRNA 的相对定量比较,即以正常对照组为参照,其余各组 CCR6mRNA 相对表达量用参照组的  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  倍表示。

1.2.5 免疫组织化学染色检测大鼠气道 CCR6 蛋白的表达:石蜡切片厚 4  $\mu$ m,采用过氧化物酶标记的链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法(SABC)测定。按照 SABC 试剂盒说明书进行操作,CCR6 一抗稀释浓度为 1:100,阳性表达为支气管上皮细胞胞膜和胞浆内有棕黄色颗粒。切片结果均采用 MIAS-2000 医学图像分析系统检测,检测每支细支气管上皮细胞的平均光密度(A 值),取 5 支完整细支气管的平均值代表该切片 CCR6 蛋白表达的相对含量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异比较采用单因素方差分析,组间两两比较,

方差齐者用 LSD 检验,方差不齐者用 Dunnett T 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肺组织病理学改变

肺组织 HE 染色:对照组肺泡及细支气管形态、结构正常,支气管纤毛排列整齐,管腔规则,仅见少量炎性细胞浸润,基底膜较薄;烟雾暴露组支气管纤毛柱状上皮细胞脱落或变性,气道壁增厚,气道壁和肺组织可见巨噬细胞、淋巴细胞和中性粒细胞等炎性细胞浸润;哮喘组气道壁和肺组织可见淋巴细胞、嗜酸粒细胞等炎性细胞浸润,黏膜皱褶增多,部分支气管上皮坏死、脱落,气道壁增厚,管腔狭窄;哮喘+烟雾暴露组肺泡腔不规则扩大,肺泡间隔变薄或断裂,气道壁明显增厚,大量淋巴细胞、嗜酸粒细胞及中性粒细胞浸润(图 1~4 见彩插 3)。

2.2 BALF 细胞计数及分类

哮喘组、哮喘+烟雾暴露组 BALF 中白细胞总数、嗜酸粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞较对照组、烟雾暴露组增加,差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ );哮喘+烟雾暴露组 BALF 中白细胞总数和中性粒细胞较哮喘组增加,嗜酸粒细胞较哮喘组减少,差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ),见表 1。

2.3 各组大鼠肺组织 CCR6 基因表达的检测结果

利用相应软件分别获得各组样本与内参  $\beta$ -actin 相对应的扩增曲线(图 5~6 见彩插 3)以对照组为定标,分别计算得对照组、烟雾暴露组、哮喘组和哮喘+烟雾暴露组的 Ct 值、 $\Delta Ct$  值和  $\Delta\Delta Ct$  值,最后算出  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值(表 1)。统计学分析哮喘组、哮喘+烟雾暴露组的 CCR6mRNA 水平均高于对照组、烟雾暴露组,差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ );哮喘+烟雾暴露组的转录水平高于哮喘组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表 1 各组大鼠 BALF 中白细胞总数及分类计数( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Tab. 1 Count and classification of white blood cells in the rat BALF

| 组别 Groups                  | 白细胞总数<br>WBC ( $\times 10^7/L$ ) | 嗜酸粒细胞<br>EOS (%)            | 中性粒细胞<br>NEU (%)             | 淋巴细胞<br>LYM (%)             | 巨噬细胞<br>AM (%)               |
|----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 对照组 Control group          | 10.1 $\pm$ 3.8                   | 1.3 $\pm$ 0.7               | 2.2 $\pm$ 1.1                | 6.3 $\pm$ 1.8               | 89.6 $\pm$ 2.7               |
| 烟雾暴露组 Smoke exposure group | 47.7 $\pm$ 6.8 <sup>a</sup>      | 0.5 $\pm$ 0.3               | 2.7 $\pm$ 1.4                | 6.6 $\pm$ 2.0               | 90.5 $\pm$ 5.4               |
| 哮喘组 OVA exposure group     | 69.0 $\pm$ 3.5 <sup>b</sup>      | 4.1 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>  | 8.9 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>   | 21.4 $\pm$ 3.7 <sup>a</sup> | 65.6 $\pm$ 3.8 <sup>a</sup>  |
| 哮喘+暴露组 OVA combined smoke  | 86.7 $\pm$ 5.2 <sup>bc</sup>     | 2.2 $\pm$ 1.0 <sup>ac</sup> | 19.0 $\pm$ 2.8 <sup>ac</sup> | 23.8 $\pm$ 3.8 <sup>a</sup> | 55.2 $\pm$ 2.9 <sup>ac</sup> |
| F value                    | 349.1                            | 29.7                        | 129.1                        | 78.4                        | 166.8                        |
| P value                    | <0.01                            | <0.01                       | <0.01                        | <0.01                       | <0.01                        |

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与哮喘组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

Note:<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ , compared with the control group;<sup>c</sup> $P < 0.01$ , compared with the OVA exposure group.

## 2.4 各组大鼠气道 CCR6 蛋白的表达结果

CCR6 主要表达于支气管上皮细胞的胞膜和胞浆中,阳性反应产物呈棕黄色。正常对照组,CCR6 不表达或仅有弱阳性表达;哮喘组和哮喘+烟雾暴露组的 CCR6 蛋白表达均明显高于对照组、烟雾暴露组,差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ );哮喘+烟雾暴露组高于哮喘组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )(图 7~10 见彩插 4)。各组大鼠气道 CCR6 蛋白表达结果的比较见表 2。

表 2 各组大鼠气道 CCR6 mRNA 及蛋白(A 值)水平的比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab. 2 Comparison of CCR6 mRNA and protein levels in the rat airways

| 组别 Groups                  | CCR6 mRNA<br>( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ value) | CCR6 A value                    |
|----------------------------|--|---------------------------------|
| 对照组 Control group          | 1.01 $\pm$ 0.52                              | 0.299 $\pm$ 0.027               |
| 烟雾暴露组 Smoke exposure group | 5.55 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>                 | 0.442 $\pm$ 0.018 <sup>a</sup>  |
| 哮喘组 OVA exposure group     | 8.15 $\pm$ 0.88 <sup>b</sup>                 | 0.452 $\pm$ 0.013 <sup>b</sup>  |
| 哮喘+暴露组 OVA + smoke         | 15.16 $\pm$ 0.87 <sup>bc</sup>               | 0.531 $\pm$ 0.024 <sup>bc</sup> |
| F value                    | 538.15                                       | 163.63                          |
| P value                    | < 0.01                                       | < 0.01                          |

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.001$ ;与哮喘组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

Note:<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.001$ , compared with the control group;<sup>c</sup> $P < 0.01$ , compared with the OVA exposure group.

## 3 讨论

研究表明烟草烟雾能增加 OVA 致敏豚鼠气道急性变应性炎症反应<sup>[6]</sup>,吸烟哮喘气道炎症的特点是 Th2 细胞反应加强<sup>[7]</sup>、气道壁以中性粒细胞浸润为主<sup>[8]</sup>,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) a 等炎性细胞因子水平增加<sup>[9]</sup>,但其机制尚不完全清楚。本实验,烟雾暴露组采用小量吸烟,BALF 中性粒细胞数较对照组明显增加,但所占细胞比例无明显变化,表明小量吸烟对 BALF 细胞分类影响不大。但哮喘大鼠烟雾暴露后 BALF 白细胞总数及中性粒细胞比例明显增加,嗜酸粒细胞减少,气道周围炎性细胞浸润更加明显,进一步证实烟雾暴露可以加重和改变哮喘气道原有的炎症反应。

趋化因子(chemokine)是一类结构相似、分子量 8~10 kD、具有趋化功能的细胞因子的总称。趋化因子通过趋化多种炎症细胞如淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、树突状细胞等,在多种疾病的免疫反应及炎症损伤中发挥着重要作用。近年来,趋化因子在哮喘气道炎症中的作用受到了广泛关注。

趋化因子 CCL20 是  $\beta$  趋化因子家族的新成员,又称巨噬细胞炎性蛋白-3 $\alpha$  (MIP-3 $\alpha$ ),CCR6 是

CCL20 唯一的受体。Lukacs NW 等<sup>[1]</sup>用 CCR6 基因敲除哮喘模型小鼠(CCR6<sup>-/-</sup>)与野生型小鼠对比研究发现,CCR6<sup>-/-</sup>小鼠支气管嗜酸粒细胞聚集数量较野生型小鼠降低了 10 倍,IL-5 水平降低了 5~8 倍,气道阻力降低了 2~3 倍,同时血浆中 IgE 水平亦显著降低。同样,由 Leborgne 等<sup>[10]</sup>作者也发现:由 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞启动招募树突状细胞到上皮组织依赖于 CCR6/MIP-3 $\alpha$  途径。以上研究表明,气道上皮 CCR6 表达水平在哮喘的气道慢性炎症中起着非常重要的作用。而 Bracke KR 等<sup>[2]</sup>研究中发现,烟雾暴露的 CCR6<sup>-/-</sup>小鼠肺组织 MIP-3 $\alpha$  mRNA 及其蛋白表达水平较对照组显著降低;肺泡灌洗液中树突状细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞数量较对照组显著减少;TNF-a 基因表达水平较对照组也显著降低。该研究表明,CCR6 表达水平对于烟草烟雾暴露导致的肺部炎症也具有重要作用。

研究发现过敏性炎症时气道上皮细胞可分泌大量 CCL20<sup>[11]</sup>,而 CCR6 是 CCL20 唯一的受体,本实验研究了烟雾暴露对哮喘大鼠气道上皮 CCR6 表达的影响,结果发现,哮喘+烟雾暴露组大鼠气道上皮 CCR6 mRNA 及其蛋白表达水平较对照组、烟雾暴露组和哮喘组均显著增高,BALF 及气道周围炎症细胞明显增加,表明烟草烟雾暴露可通过增加哮喘大鼠气道粘膜 CCR6 表达水平,促进气道慢性炎症反应。研究表明 CCL20 表达水平能够被 TNF-a 等许多前炎性细胞因子和空气微粒上调<sup>[12]</sup>,吸烟能够使 TNF-a 等炎性细胞因子水平增加<sup>[2,9]</sup>,结合本实验结果,我们推测烟草烟雾暴露可直接或通过 TNF-a 等炎症因子的释放间接作用于气道上皮细胞,使其产生大量 CCL20,后者与其受体 CCR6 相互作用,选择性地招募树突状细胞、T 淋巴细胞及中性粒细胞并使其活化,从而产生大量炎症介质、细胞因子、氧自由基和蛋白酶等,进一步加重了哮喘大鼠气道炎症反应。

总之,哮喘气道慢性炎症是多种因素综合作用的结果,发生机理非常复杂,烟草烟雾暴露可以加重和改变哮喘气道原有的炎症反应,CCR6 在其发生发展过程中有一定作用,但其具体机制尚未完全明了,有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Lukacs NW, Prosser DM, Wiekowski M, et al. Requirement for the chemokine receptor CCR6 in allergic pulmonary inflammation [J]. J Exp Med, 2001, 194(4):551-555.

- [ 2 ] Bracke KR, D'hulst AI, Maes T, et al. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and emphysema are attenuated in CCR6 deficient mice [J]. *J Immunol*, 2006, 177(7):4350-4359.
- [ 3 ] 沈华浩,王莘莉. 支气管哮喘小鼠模型应用评价 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2005, 28:284-286.
- [ 4 ] 许三林,吴人亮,陈春莲,等. 上皮钙粘附素在吸烟小鼠呼吸道上皮损伤修复中表达的研究 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 1999, 22:417-419.
- [ 5 ] Kenneth J, Livak TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method [J]. *Method*, 2001, 25(9):402-408.
- [ 6 ] Van Hove CL, Moedoose K, Maes T, et al. Cigarette smoke enhances Th-2 driven airway inflammation and delays inhalational tolerance [J]. *Respir Res*, 2008, 9:42.
- [ 7 ] Nouri-Shirazi M, Guinet E. A possible mechanism linking cigarette smoke to higher incidence of respiratory infection and asthma [J]. *Immunol Lett*, 2006, 103(2):167-176.
- [ 8 ] Chalmers GW, Macleod KJ, Thomson L, et al. Smoking and airway inflammation in patients with mild asthma [J]. *Chest*, 2001, 120(6):1917-1922.
- [ 9 ] Tamimi A, Serdarevic D, Hanania NA. The effects of cigarette smoke on airway inflammation in asthma and COPD; therapeutic implications [J]. *Respir Med*, 2012, 106(3):319-328.
- [ 10 ] Le Borgne MN, Etchart A, Goubier SA, et al. Dendritic cells rapidly recruited into epithelial tissues via CCR6/CCL20 are responsible for CD8<sup>+</sup> T cell crosspriming in vivo [J]. *Immunity*, 2006, 24:191-201.
- [ 11 ] Ghadjar P, Rubie C, Aebbersold DM, et al. The chemokine CCL20 and its receptor CCR6 in human malignancy with focus on colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(4):741-745.
- [ 12 ] Reibman J, Hsu Y, Chen LC, et al. Airway epithelial cells release MIP-3 $\alpha$ /CCL20 in response to cytokines and ambient particulate matter [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 28(6):648-654.

[ 修回日期 ] 2012-10-21

## 勘 误

《中国比较医学杂志》2012 年第 10 期“实验用鱼类福利的发展现状”一文,参考文献序号标注有误,作者联系方式:E-mail: linjinxing83@163.com。特此声明。