创新论坛

第二组

**尘螨非过敏原Cystatin通过IL-23-Th17轴诱导中性粒细胞型重症哮喘**

**作者：黄娜娜 傅清慧 林东旭 陈德盛 马强**

**指导教师：刘志刚**

（深圳大学，518000）

**目的** 尘螨非过敏原通过激活IL-23/Th17炎症轴诱发中性粒细胞型重症哮喘。**方法** 通过克隆表达纯化获得Cystatin重组蛋白，并检测其免疫原性。分析在中性粒细胞型重症哮喘中Cystatin sIgG、IL-17等指标的差异性。将Cystatin去除LPS后分别对小鼠进行致敏、激发和在不致敏情况下小剂量长期激发，并分别检测小鼠气道反应性（AHR）、肺组织炎症情况及上清IL-23、IL-17水平等指标。在免疫过程中，用激素对小鼠进行治疗，并观察其治疗效果。为探讨其炎症轴机制，用尘螨Cystatin刺激小鼠脾细胞，以观察Cystatin是否可以直接诱导脾细胞分化为Th17。用Cystatin刺激DC细胞，检测其CD80、CD86的表达和检测上清IL-6、IL-23的水平，以观察Cystatin能否调节DC细胞功能。将BMDC（树突状细胞）与脾细胞共培养后检测Th17的比例，并检测上清IL-6、IL-23及IL-17的浓度以观察Cystatin体外诱导Th17的作用。制备Cystatin单克隆抗体，利用免疫亲和层析方法从尘螨（HDM）总蛋白质提取物中去除Cystatin。用HDM构建小鼠哮喘模型，用HDM、Cystatin null HDM进行脱敏，并观察对比治疗效果。**结果** Cystatin免疫原性鉴定结果为阴性。中性粒细胞型重症哮喘血清中Cystatin特异性IgG、IgG1、IL-17高于健康组。将Cystatin去除LPS后对小鼠进行致敏、激发或不致敏直接激发后，Cystatin可诱导小鼠AHR升高，肺组织气道炎症细胞浸润、肺泡灌洗液中中性粒细胞、脾细胞Th17比例显著性升高，且用激素治疗后，其肺部炎症无明显改善，说明尘螨非过敏原Cystatin可诱导中性粒细胞型重症哮喘。Cystatin直接刺激后的脾细胞，其Th17比例及IL17水平与对照组无明显差异。Cystatin刺激DC细胞后，DC细胞高表达CD80、CD86等表面共刺激分子，同时IL-6和IL-23分泌增加。共培养后，Th17和IL-17表达增加，说明Cystatin可通过间接调节DC细胞功能上调IL-6和IL-23促使Th17分化。与HDM对比，Cystatin null HDM进行脱敏时，Treg细胞比例显著升高，同时Th17细胞比例显著降低，提示Cystatin null HDM对尘螨引起的哮喘进行脱敏时，其效果优于HDM。**结论** 尘螨非过敏原Cystatin蛋白可通过激活IL-23/Th17炎症轴来诱发以中性粒细胞为主要病理变化的中性粒细胞型重症哮喘。且Cystatin null HDM对尘螨引起的哮喘的治疗更加有效。