

Fas-FasL 信号通路在木瓜蛋白酶诱导的小鼠哮喘模型中的作用

胡冉^{1*}, 皮柔^{2*}, 黄功华^{1#}, 韩苗苗^{1, 3#}

(1.上海交通大学医学院 上海市免疫学研究所, 上海 200025; 2.赣南医学院 基础医学院, 赣州 341000; 3.复旦大学附属眼耳鼻喉科医院, 上海 200031)

摘要: Fas-Fas 配体(Fas-Fas ligand, Fas-FasL)信号通路在免疫反应中发挥着重要作用, 但其在变态反应中的作用鲜有报道。为研究 Fas-FasL 信号通路在哮喘中的作用, 研究者用木瓜蛋白酶建立小鼠急性哮喘模型, 并通过流式细胞术检测了 WT 小鼠与 Fas 敲除(Fas knockout, Fas KO)小鼠在初始状态及木瓜蛋白酶诱导哮喘时髓系细胞及 T 淋巴细胞在肺组织中的浸润情况; 并通过 HE 染色和 PAS 染色分别检测了哮喘模型小鼠肺组织炎症细胞浸润和杯状细胞增殖情况。实验结果显示, 在初始状态下 Fas KO 小鼠与 WT 小鼠肺组织及肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和单核细胞等髓系细胞的比例没有明显差别; 而在哮喘模型中, Fas KO 小鼠肺组织中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和单核细胞、杯状细胞的数量均明显减少, CD4⁺CD25⁺T 淋巴细胞比例明显升高。上述研究结果表明, Fas 信号通路能够促进木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型小鼠肺组织炎症细胞浸润。研究为探索 Fas-FasL 信号通路在哮喘模型中的作用提供了新依据。

关键词: Fas 信号通路; 哮喘; 木瓜蛋白酶

中图分类号: R392.11

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)03-0177-07

哮喘是一种常见的变态反应性疾病, 影响全世界约 3 亿人口^[1]。其特点主要包括气道高反应性、气道重塑、嗜酸性粒细胞浸润和支气管黏液分泌增多^[2-4]。据报道, 引起哮喘的过敏原主要有屋尘螨、真菌、花粉以及多种具有蛋白水解酶活性的过敏原^[5]。其中, 临床上常见的过敏原木瓜蛋白酶具有半胱氨酸蛋白酶活性^[6], 它能够诱导 II 型免疫应答, 特征性产生 IL-5 和 IL-13, 招募相关炎症细胞至肺组织中^[7-8]。本研究即采用其来诱导哮喘模型。

Fas (CD95, 也称 APO-1)是细胞表面重要的死亡受体, 当它与 Fas 配体 (Fas ligand, FasL, 也称为 CD95L 或 APO-1L)或抗体结合后能够诱导细胞凋亡^[9]。Fas-FasL 信号通路在哮喘中发挥着重要作用。据报道, 在卵清蛋白 (ovalbumin, OVA)诱导的哮喘模型中, Fas 基因缺失能够延长小鼠气道高反应性状态的恢复时间^[10]。T 淋巴细

胞在调节免疫反应中发挥着重要作用, 已有文献报道 T 淋巴细胞中 Fas 信号通路对过敏性哮喘的发生发展具有重要作用^[11]。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 实验用 Fas 敲除(Fas knockout, Fas KO)小鼠 B6.MRL-*Tnfrsf6lpr* 购于美国 The Jackson Laboratory, C57BL/6 小鼠购于上海斯莱克实验动物有限责任公司。小鼠 6~8 周龄, 体重约 20 g。小鼠均饲养于上海交通大学医学院实验动物科学部的无特定病原体 (specific pathogen free, SPF)屏障内, 实验过程中对动物的操作符合动物伦理学标准。

1.1.2 主要试剂仪器 木瓜蛋白酶, 购于 Calbiochem 公司; FCS 和 RPMI 1640 培养液, 购于 Gibco 公司; Percoll 细胞分离液, 购于 GE Healthcare Life Sciences 公司; 流式检测抗体抗 CD11c-PE-Cy7、CD11b-ef450、TCR β -PerCP-Cy5.5、Ly6G-PE-Cy5、SiglecF-PE、CD4-ef450、CD25-FITC、CD62L-PE、CD44-APC-Cy7 购于 eBioscience 公司; TRIzol、SYBR Green master mix, 购于 Roche 公司; cDNA 反转录试剂盒, 购于 TaKaRa 公司;

收稿日期: 2018-06-06

基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会青年项目(20154Y0120)

作者简介: 胡冉(1987—), 女, 硕士, 助理实验师, 主要从事免疫调控与免疫疾病研究; 皮柔(1995—), 女, 硕士生, 主要从事免疫和药理学方面的研究; * 为共同第一作者

通信作者: 黄功华(E-mail: gonghua.huang@shsmu.edu.cn); 韩苗苗(E-mail: hanmiaomiao214@163.com); # 为共同通信作者

流式细胞仪(Fortessa), 来自 BD 公司; CO₂ 细胞恒温培养箱, 来自 Thermo Fisher 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠哮喘模型的建立 根据文献^[2]构建木瓜蛋白酶诱导的小鼠急性哮喘模型。麻醉小鼠后, 以滴鼻方式向每只小鼠滴入 25 μ g 的木瓜蛋白酶, 体积为 40 μ L。每天一次连续滴鼻 3 d。第 3 天滴鼻 24 h 后, CO₂ 安乐处死小鼠, 取材分析。

1.2.2 肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)的收集和肺组织单细胞分离 CO₂ 处死小鼠后, 打开胸腔, 暴露气管, 用 1 mL 预冷的 PBS 灌洗肺组织 3 次。收集 BALF, 同时离心富集 BALF 中的细胞作流式分析。肺组织单细胞的分离按照文献所述^[12]: 取出肺组织, 剪碎至细小颗粒, 加入胶原蛋白酶 IV, 置于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内消化 45 min; 加入 100 μ L 0.5 mol/L pH 8.0 的 EDTA 终止消化, 经 200 目尼龙膜过滤转移至 15 mL 离心管中, 离心弃上清; 加入 38% 的 Percoll 密度梯度离心, 红细胞裂解液裂解红细胞后, 用 2 mL 含 1% FCS 的 PBS 重悬细胞。

1.2.3 流式细胞术 取出 $(1\sim3)\times10^6$ 个细胞, 离心弃上清; 加入流式抗体重悬细胞, 置冰上避光反应 30 min; 加入 1 mL 含 1% FCS 的 PBS 离心, 用 200 μ L 含 1% FCS 的 PBS 重悬细胞, 过 200 目尼龙膜转移至流式管, 上机检测。

1.2.4 PAS 染色 (1)石蜡切片脱蜡至水: 所收集的样本经石蜡包埋 5 μ m 连续切片后, 依次放于二甲苯 I 20 min、二甲苯 II 20 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、75%酒精 5 min, 流水洗; (2)高碘酸氧化: 0.5% 高碘酸水溶液氧化 10 min, 流水冲洗数分钟后蒸馏水换洗 2 次; (3)雪夫试剂染色: 雪夫试剂暗处浸染 15~30 min, 流水洗 10 min; (4)复染细胞核: 苏木素复染核 1~2 min, 流水、1% 盐酸酒精溶液分化数秒, 流水冲洗数分钟返蓝; (5)脱水封片: 切片依次放于无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、无水乙醇 III 5 min、二甲苯 I 5 min、二甲苯 II 5 min, 透明, 中性树胶封片; (6)显微镜镜检, 采集分析图像。

1.2.5 HE 染色 (1)石蜡切片脱蜡至水: 所收集的样本经石蜡包埋 5 μ m 连续切片后, 依次放于二甲苯 I 20 min、二甲苯 II 20 min、无水乙醇 I

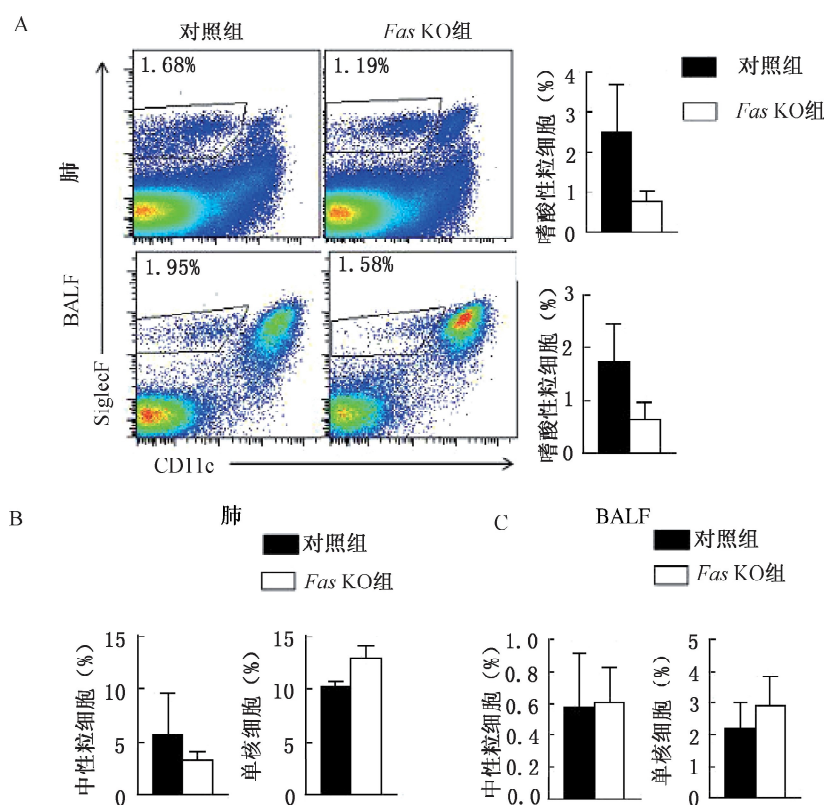
5 min、无水乙醇 II 5 min、75%酒精 5 min, 流水洗; (2)苏木素染色: 苏木素染液染切片 3~5 min, 流水洗, 分化液分化, 流水洗, 返蓝液返蓝, 流水冲洗; (3)伊红染色: 切片依次放于 85%、95% 的梯度乙醇溶液脱水各 5 min, 入伊红染液中染色 5 min; (4)脱水封片: 切片依次放于无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、无水乙醇 III 5 min、二甲苯 I 5 min、二甲苯 II 5 min, 透明, 中性树胶封片; (5)显微镜镜检, 采集分析图像。

1.3 统计学处理 应用 Prism 6.0 软件包进行统计学分析, 实验结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间数据比较采用 Student's *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Fas 信号通路缺失不影响正常状态下小鼠肺部髓系细胞浸润 为检测 Fas 信号通路在早期对小鼠肺部炎症状态的影响, 研究者采用流式细胞术检测了 WT 对照组小鼠和 *Fas* KO 组小鼠肺组织及 BALF 中髓系细胞的浸润情况。结果显示, 二者的肺组织和 BALF 中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和单核细胞所占比例都没有明显差异(图 1)。以上结果表明, Fas 信号通路的缺失在早期不影响小鼠肺部髓系细胞的浸润。

2.2 Fas 信号通路促进木瓜蛋白酶诱导的小鼠哮喘模型肺组织中炎症细胞浸润 为探索 Fas 信号通路缺失对哮喘的影响, 研究者使用 WT 小鼠和 *Fas* KO 小鼠, 利用木瓜蛋白酶诱导哮喘模型。木瓜蛋白酶的使用剂量为 25 μ g/只, 连续滴鼻 3 d 后, 处死小鼠并进行分析(图 2)。取小鼠肺组织进行 HE 和 PAS 染色分析, HE 染色结果显示: 与 WT 组小鼠相比, *Fas* KO 组小鼠支气管和小血管周围的炎症细胞浸润减少(图 3A); PAS 染色结果显示: 与 WT 组小鼠相比, *Fas* KO 组小鼠的杯状细胞数量减少(图 3B)。用流式细胞术分析两组小鼠肺组织髓系细胞的浸润情况, 结果显示, *Fas* KO 组小鼠肺组织中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和单核细胞的细胞数比起 WT 组都明显减少($P < 0.001$, 图 4)。以上结果表明 Fas 信号通路能够促进木瓜蛋白酶诱导的小鼠哮喘模型肺部炎症反应。

图1 *Fas* 信号通路的缺失不影响正常状态下小鼠肺部髓系细胞浸润

注: A. 对照组、*Fas* KO 组小鼠肺组织和 BALF 中嗜酸性粒细胞流式检测及统计图; B. 肺组织中中性粒细胞和单核细胞所占比例统计图; C. BALF 中中性粒细胞和单核细胞所占比例统计图

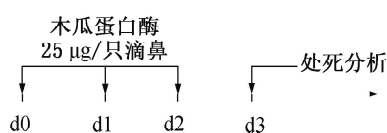


图2 木瓜蛋白酶诱导的急性哮喘模型示意图

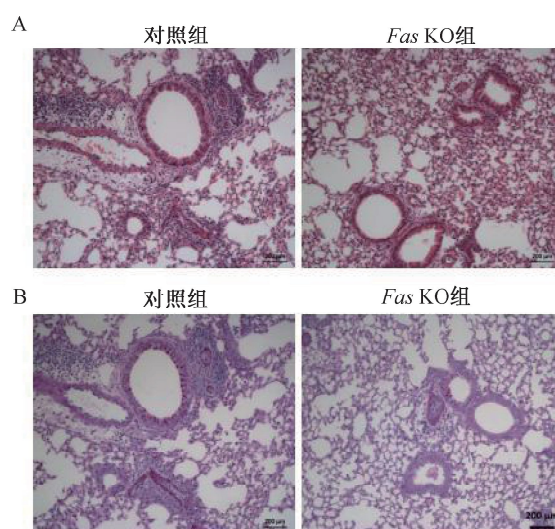


图3 木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型小鼠肺组织 HE、PAS 染色

注: A. 对照组与 *Fas* KO 组小鼠肺组织 HE 染色结果图(×200); B. 对照组与 *Fas* KO 组小鼠肺组织 PAS 染色结果图(×200)

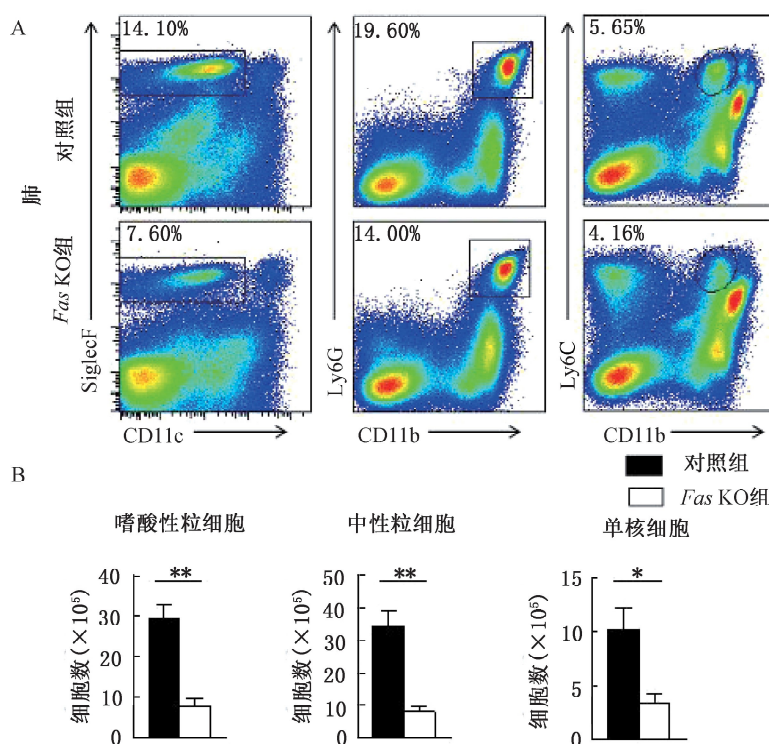


图4 流式细胞术检测木瓜蛋白酶诱导的小鼠哮喘模型肺组织中髓系细胞浸润情况

注:A. 对照组与 *Fas* KO 组小鼠肺组织中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和单核细胞流式检测图; B. 对照组与 *Fas* KO 组小鼠肺组织中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和单核细胞流式统计图。* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$

2.3 Fas 信号通路抑制哮喘模型中 CD4⁺T 淋巴细胞的活化 在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中,研究者同时分析了对照组和 *Fas* KO 组小鼠纵隔淋巴结 CD4⁺T 淋巴细胞的活化情况。流式分析结果表明,与对照组相比, *Fas* KO 组小鼠的 CD4⁺TCR β ⁺T 淋巴细胞所占比例($P < 0.05$)及细胞数($P < 0.01$)均降低(图 5A); CD4⁺CD25⁺T 淋巴细胞所占比例升高($P < 0.01$, 图 5B); 初始 T (CD62L⁺CD44⁻)细胞所占比例下降($P < 0.001$),而记忆 T (CD62L⁺CD44⁺)细胞所占比例($P < 0.001$)和效应 T (CD62L⁻CD44⁺)细胞所占比例($P < 0.001$)升高(图 5C)。由此在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中, *Fas* 信号通路抑制 CD4⁺T 淋巴细胞的活化。

3 讨论

哮喘是一种变态反应性疾病,以气道炎症、高反应性和反复发作的气流阻塞为特征,通常归因于 Th2 的激活^[7]。研究发现,促使哮喘发作的主要细胞成分包括肥大细胞、嗜酸性粒细胞和 T 淋巴细胞,而临床也发现 T 淋巴细胞和嗜酸性粒细胞持久存在于持续性哮喘或间歇性哮喘肺组织中。可

见, T 淋巴细胞和嗜酸性粒细胞在哮喘的发生发展中有重要作用^[11]。 *Fas* 是 TNF 或神经生长因子超家族中的一员^[13-15]。在早期文献报道中, *Fas* 主要功能是引起凋亡。已有研究认为, T 淋巴细胞上 *Fas* 信号通路的缺失诱导小鼠长期变应性气道反应的发生^[11]。最近的研究发现, *Fas* 在非凋亡方面也有一定的功能^[13]。 *Fas*-*FasL* 之间的相互作用会导致 T 淋巴细胞活化、增殖和分化^[16]。也有研究发现, DC 表达的 *FasL* 能与 T 淋巴细胞上 *Fas* 结合,降低 T 淋巴细胞引起的变态反应^[2]。实验证明 *Fas* 激活的丝氨酸/苏氨酸磷酸化蛋白作为促炎分子,调节肺造血细胞的功能,促进中性粒细胞的招募及肺部炎症^[17]。 *Fas* 在不同细胞类型中的表达可能对过敏性哮喘的发生发展起着不同的作用。目前人们对哮喘的发生发展及机制研究得越来越多,但 *Fas* 信号通路对木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型的影响机制尚不清楚。研究发现,在初始状态下,对照组和 *Fas* KO 组小鼠的肺组织和 BALF 中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞比例都没有明显差异。由此,在初始状态下, *Fas* 信号的缺失不影响小鼠肺部髓系细胞的浸润。在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中,与对照组相比, *Fas* KO 组小鼠肺组织中嗜

酸性粒细胞、中性粒细胞及单核细胞细胞数减少,肺组织 HE 染色中炎症细胞浸润减少, PAS 染色中黏液分泌也减少;肺纵隔淋巴结中, $CD4^+ TCR\beta^+$ T 淋巴细胞所占比例及细胞数量均降低, $CD4^+ CD25^+$ T 淋巴细胞所占比例升高, 初始 T ($CD62L^+ CD44^-$) 细胞所占比例下降, 而记忆 T

($CD62L^- CD44^+$) 细胞和效应 T ($CD62L^- CD44^+$) 细胞所占比例升高。结果显示在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中, Fas 信号的缺失增强了 $CD4^+$ T 淋巴细胞的活化, 促进了初始 T 细胞向记忆 T 细胞和效应 T 细胞的转化。

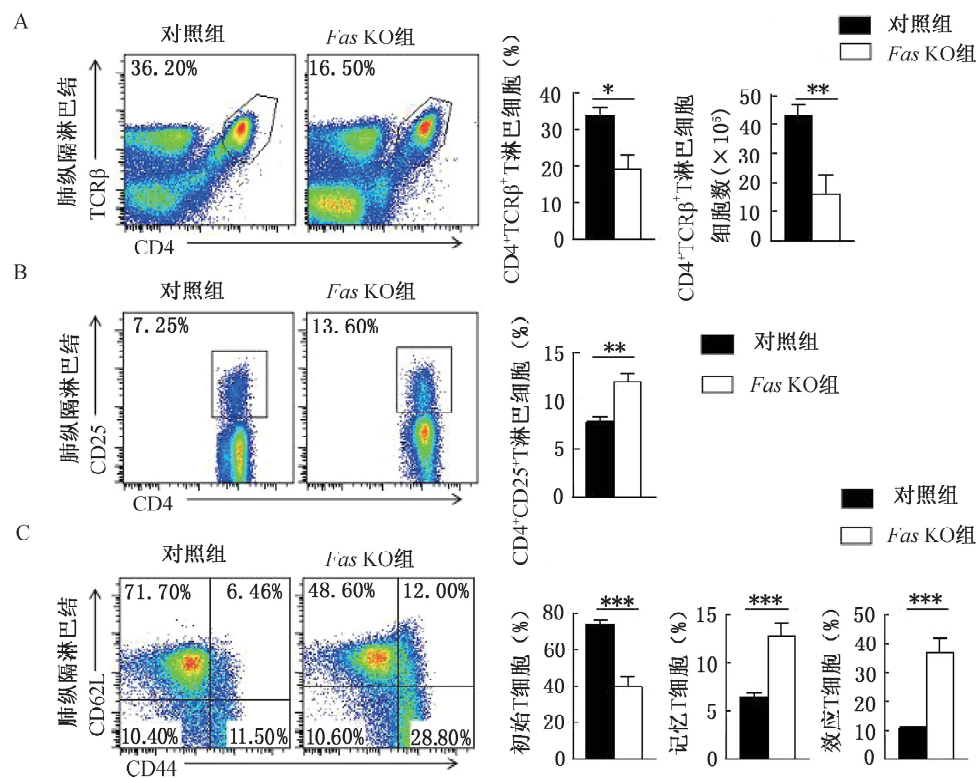


图5 Fas 信号通路抑制哮喘模型中 $CD4^+$ T 淋巴细胞的活化

注: A. 对照组小鼠和 Fas KO 组小鼠肺纵隔淋巴结中 $CD4^+ TCR\beta^+$ T 淋巴细胞流式检测及统计图; B. 对照组小鼠和 Fas KO 组小鼠肺纵隔淋巴结中 $CD4^+ CD25^+$ T 淋巴细胞流式检测及统计图; C. 对照组小鼠和 Fas KO 组小鼠肺纵隔淋巴结中初始 T ($CD62L^+ CD44^-$) 细胞、记忆 T ($CD62L^+ CD44^+$) 细胞和效应 T ($CD62L^- CD44^+$) 细胞流式检测及统计图。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

已有文献揭示了 T 淋巴细胞对肺内部稳态的维持起重要作用^[18]。而 Treg 在维持对“自我”的免疫耐受性和调节机体对病原体和致病微生物的免疫应答方面是必不可少的。此外, Treg 是有助于维持呼吸道免疫稳态的主要细胞之一^[19]。有文献指出, 过继转移的抗原特异性 $CD4^+ CD25^+$ T 淋巴细胞能够抑制肺部炎症和气道高反应性; 相反, 在致敏之前, $CD4^+ CD25^+$ T 淋巴细胞的耗竭足以增加肺部炎症和气道高反应性的严重程度。这一过程是依赖于 IL-10 的^[20]。本实验结果显示, 在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中, Fas 信号通路缺失时肺纵隔淋巴结中 $CD4^+ CD25^+$ T 淋巴细胞比例升高, 小鼠的炎症反应也是降低的。很多种细胞可分泌抑

炎因子 IL-10, 包括 B 淋巴细胞、DC 和嗜酸性粒细胞等, 许多 T 淋巴细胞亚群也可以合成 IL-10, 包括 $CD8^+$ T 淋巴细胞、 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 和 $CD4^+$ 效应 T 细胞群, 即 Th1、Th2 和 Th17。Th2 介导的哮喘模型中, 其又被描述为产生 IL-10 的 Th2 和产生 TNF- α 的 Th2^[21]。效应 T 细胞产生的 IL-10 可能在抑制哮喘炎症反应中有很重要的作用^[22]。大量动物模型研究提出 IL-10 对呼吸系统稳态的维持有促进作用^[23]。研究发现, 在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中, Fas 信号通路的缺失促进了初始 T 细胞向记忆 T 细胞和效应 T 细胞的转化。

综上所述, 在木瓜蛋白酶诱导的哮喘模型中,

Fas 信号通路的缺失增加了 CD4⁺ T 淋巴细胞的活化, 减弱了肺部的炎症反应, 其具体分子机制有待后续进一步探讨。本研究为探索 Fas-FasL 对木瓜蛋白酶诱导的过敏性哮喘的发生发展机制以及发现新的过敏性哮喘治疗靶点提供依据。

参考文献

- [1] Heck S, Daubeuf F, Le DD, *et al.* Decreased migration of dendritic cells into the jugular-nodose ganglia by the CXCL12 neutraligand chalcone 4 in ovalbumin-sensitized asthmatic mice[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2017, 24(6): 331-340.
- [2] Chuang YH, Suen JL, Chiang BL. Fas-ligand-expressing adenovirus-transfected dendritic cells decrease allergen-specific T cells and airway inflammation in a murine model of asthma[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2006, 84(7): 595-603.
- [3] Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(1): 45-56.
- [4] Van Helden MJ, Lambrecht BN. Dendritic cells in asthma[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(6): 745-754.
- [5] Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells; Linking innate and adaptive immunity in asthma[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(3): 193-204.
- [6] Jiang N, Yin J, Wen L. Papain induced occupational asthma with kiwi and fig allergy[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2016, 8(2): 170-173.
- [7] Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: Mechanisms of disease persistence and progression[J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22(1): 789-815.
- [8] Wilhelm C, Hirota K, Stieglitz B, *et al.* An IL-9 fate reporter demonstrates the induction of an innate IL-9 response in lung inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(11): 1071-1077.
- [9] Shibaki A, Katz SI. Activation through CD40 ligation induces functional Fas ligand expression by Langerhans cells[J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31(10): 3006-3015.
- [10] Duez C, Tomkinson A, Shultz LD, *et al.* Fas deficiency delays the resolution of airway hyperresponsiveness after allergen sensitization and challenge[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(4): 547-556.
- [11] Tong J, Bandulwala HS, Clay BS, *et al.* Fas-positive T cells regulate the resolution of airway inflammation in a murine model of asthma[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(5): 1173-1184.
- [12] Harris NL, Watt V, Ronchese F, *et al.* Differential T cell function and fate in lymph node and nonlymphoid tissues[J]. *J Exp Med*, 2002, 195(3): 317-326.
- [13] Brint E, O'Callaghan G, Houston A. Life in the Fas lane: Differential outcomes of Fas signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(21): 4085-4099.
- [14] Trauth BC, Klas C, Peters AM, *et al.* Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis[J]. *Science*, 1989, 245(4915): 301-305.
- [15] Yonehara S, Ishii A, Yonehara M. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor[J]. *J Exp Med*, 1989, 169(5): 1747-1756.
- [16] Rescigno M, Piguet V, Valzasina B, *et al.* Fas engagement induces the maturation of dendritic cells (DCs), the release of interleukin (IL)-1 β , and the production of interferon gamma in the absence of IL-12 during DC-T cell cognate interaction: A new role for Fas ligand in inflammatory responses[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(11): 1661-1668.
- [17] Simarro M, Giannattasio G, De la Fuente MA, *et al.* Fas-activated serine/threonine phosphoprotein promotes immune-mediated pulmonary inflammation[J]. *J Immunol*, 2010, 184(9): 5325-5332.
- [18] Ji NF, Xie YC, Zhang MS, *et al.* Ligustrazine corrects Th1/Th2 and Treg/Th17 imbalance in a mouse asthma model[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(1): 76-81.
- [19] Lloyd CM, Hawrylowicz CM. Regulatory T cells in asthma[J]. *Immunity*, 2009, 31(3): 438-449.
- [20] Kearley J, Barker JE, Robinson DS, *et al.* Resolution of airway inflammation and hyperreactivity after *in vivo* transfer of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells is interleukin 10 dependent[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(11): 1539-1547.
- [21] Caudy AA, Reddy ST, Chatila T, *et al.* CD25 deficiency causes an immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked-like syndrome, and defective IL-10 expression from CD4 lymphocytes[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119(2): 482-487.
- [22] Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, *et al.* IL-4 inhibits TGF- β -induced Foxp3⁺ T cells and, together with TGF- β , generates IL-9⁺IL-10⁺ Foxp3⁻ effector T cells[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(12): 1347-1355.
- [23] Higgins SC, Lavelle EC, McCann C, *et al.* Toll-like receptor 4-mediated innate IL-10 activates antigen-specific regulatory T cells and confers resistance to *Bordetella pertussis* by inhibiting inflammatory pathology[J]. *J Immunol*, 2003, 171(6): 3119-3127.

The effect of Fas-FasL signaling in papain-induced asthma

HU Ran^{1*}, PI Rou^{2*}, HUANG Gong-hua^{1#}, HAN Miao-miao^{1,3#} (1. *Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China*; 2. *Gannan Medical University, Gan Zhou 341000, China*; 3. *ENT Department, Affiliated Eye and ENT Hospital, Fudan University, Shanghai 200031, China*)

Abstract: Fas-FasL signaling pathway plays an important role in regulating the immune response, but its role in allergic inflammation is largely unknown. To study the effect of Fas-FasL signaling pathway on asthma pathogenesis, papain was used to establish the mouse acute asthma model. Infiltration of myeloid cells and T lymphocytes in lung tissues of wild type (WT) and *Fas*-deficient (*Fas* KO) mice was detected by flow cytometry. HE staining and PAS staining were used to detect the infiltration of inflammatory cells in lung tissues and the proliferation of goblet cells in asthmatic mice. The results showed that there was comparable distribution of eosinophils, neutrophils and monocytes in the alveolar lavage fluid and lung tissues between WT and *Fas* KO mice under the steady state. However, upon papain treatment, *Fas* KO mice had lower cell numbers of eosinophilic granulocytes, neutrophils, monocytes and goblet cells in lung tissues than those of WT mice, whereas the proportion of CD4⁺CD25⁺ T cells was significantly increased. The above results reveal that the Fas signaling pathway could promote the infiltration of inflammatory cells in lung tissues in papain-induced asthma model. This study provides a new basis for exploring the role of Fas-FasL signaling pathway in the asthma models.

Key words: Fas signaling pathway; asthma; papain