

# **Astım Patogenezine Yeni Bir Bakış Açısı: Epitel Bariyer Fonksiyonu ve Disfonksiyonu**

## ***A New Perspective on Asthma Pathogenesis: Epithelial Barrier Function and Dysfunction***

### **Öz**

Havayolu epiteli başlıca dış ve iç oratm arasında fiziksel bir bariyer olarak işlev görmektedir. Epitelyal bariyer fonksiyonu sıkı bağlar, adherans junctionlar ve desmozomların uygun hücre hücre bağlantılarıyla sürdürülür. Astımda epitelin bariyer fonksiyonunun bozulduğu epitelyal frajilitenin arttığı görülmektedir. Epitelyal bariyer fonksiyonunda bozulma sonucu inhalen allerjenler, virüsler ve diğer çevresel etkenlerin submukozada antijen sunan hücreye erişiminin artması, Th2 tip aracılı immün yanıtı uyarılmasına ve epitelyel mezenşimal transisyon (EMT) uyarılmasında önemli rol oynar. Genetik yapımız, astımlı epitel hücrelerinde değiştirilmiş bir sitokin salınmasının bir nedeni olabilir. Böylelikle astım patogenezinde hava yolu epiteli bariyer bariyeri ve mediatör özellikleri ile patogenez ve tedavi yeni bir bakış açısı sağlamaktadır.

### **Giriş**

Astım yapısal değişikliklerin eşlik ettiği özellikle mast hücresi, eozinofil, T hücreleri, makrofaj ve epitel hücresi gibi bir çok hücre ve hücresel elementin rol aldığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır (1). Astım hastalarında hışıltı, balgam çıkarma, çeşitli derecelerde hava akımı kısıtlılığı ve çevresel bronkospazmojenik uyarılara karşı havayolu aşırı duyarlılığı görülür (2).

Dış çevreye karşı bir bariyer olan bronş epiteli astımdaki gen çevre etkileşiminde anahtar rol üstlenmektedir (3,4). Havayolu epiteli silli kolumnar hücreler, goblet hücreleri ve klara hücrelerinden oluşmakta olup sürekli, oldukça düzenli bir şekilde havayolu lümenini kaplar ve aeroallerjenler, kirleticiler, patojenler gibi inhal edilen çevresel ajanlara karşı korur (5). Birçok çalışma hava yolu epitelinin astımda bozulduğunu göstermektedir. Aynı zamanda astımlı hastaların bronş epitel hücrelerinde antimikrobiyal yanıtların bozuk olduğu bildirilmiştir (2) Çocuklarda yapılan biyopsi çalışmaları, havayolu epitelindeki yapısal değişikliklerin, astım patogenezinin erken döneminde ortaya çıkan havayolu inflamasyonunun başlamasından önce olabileceğini düşündürmektedir. Havayolu epitelindeki yapısal ve fonksiyonel anormalliklerin immün sistem ve yapısal hücrelere anormal bir sinyal vermesine, al-

*Dr. Ahmet TÜRKELI,*  
*Dr. Özge YILMAZ,*  
*Prof. Dr. Hasan YÜKSEL*  
*Celal Bayar Üniversitesi Tıp*  
*Fakültesi Çocuk Allerji BD ve*  
*Solunum Birimi, Manisa*

*Yazışma Adresleri /Address for*  
*Correspondence:*

*Prof. Dr. Hasan YÜKSEL*  
*Celal Bayar Üniversitesi Tıp*  
*Fakültesi Çocuk Allerji BD ve*  
*Solunum Birimi, Manisa*

*Tel/phone: +90 532 548 70 32*  
*mail: hyukselefe@hotmail.com*

### **Anahtar Kelimeler:**

Astım, disfonksiyon, epitel

### **Keywords:**

Asthma, dysfunction, epithelial

*Geliş Tarihi - Received*  
*13/01/2017*  
*Kabul Tarihi - Accepted*  
*03/02/2017*

lerjik havayolu yeniden yapılanması, inflamasyon ve aşırı duyarlılığa yol açtığı öne sürülmektedir (2). Havayollarındaki inflamasyon paterni allerjik, nonallerjik, veya aspirinle indüklenen olmak üzere astımın bütün klinik formlarında ve bütün yaş gruplarında benzer görünmektedir (1). İntrauterin yaşamda ve hemen doğumdan sonra immün sistemin Th2 yönünde olduğu saptanmıştır. Hijyen teorisine göre yaşamın erken dönemlerinde geçirilen infeksiyonların ve endotoksin maruziyetinin immün sistemi Th1 yönüne mikroorganizmalar ile az karşılaşmanın ise tercihi Th2 tipine yönlediği temel görüşü oluşturmaktadır (6,7). Astımdaki inflamasyonun karakteristiği Th2 hücre hakimiyeti ve Th2 hücrelerden kaynaklanan kemokin ve sitokin yanıtının baskın olmasıdır. Astımda inflamasyonun şekillenmesinde astımlı kişinin genetiği ve kişinin yaşadığı çevre belirleyici faktörlerdir. Her ne kadar astım ve atopi ilişkisi iyi tanımlanmışsa da bu iki durum arasındaki kesin bağlantı henüz tam olarak açık değildir ve kapsamlı olarak tanımlanmalıdır. Gelişmiş ülkelerde atopi çocuklarda ve genç erişkinlerde %40'a varan oranda görülmektedir ancak bunların yalnızca üçte birinde astım gelişmektedir. Buna ek olarak sistemik atopinin astım gelişimindeki rolü alt havayollarının aeroallerjenlerle lokal sensitizasyonu kadar önemli görülmemektedir (8). Yeni tanımlanan çok sayıda astım genlerinin havayolu yapısal hücreleri özellikle epitelden salgılandığı ve hava yolunun mukozal yüzeyindeki süreçlerin astım gelişimi için kritik olduğunu düşündürür (2,9). Bununla birlikte, epitelyal duyarlılık genlerinin ekspresyonunun, astımdaki aeroallerjenlere fonksiyonel olarak değiştirilmiş cevaba dönüştürülmesinin kesin mekanizmaları hala bilinmemektedir.

### Epitel Bariyer Fonksiyonu

Havayolu epiteli başlıca dış ve iç çevre arasında fiziksel bir bariyer olarak işlev görmektedir (10). Doğumsal immünitinin de bir elemanı olan epitel gerek oluşturduğu fiziksel bariyer fonksiyonu gerekse salgıladığı sitokin ve diğer medyatörler aracılığı ile allerjik inflamasyonun ortaya çıkışını engelleyebildiği gibi allerjik inflamasyonun oluşumu ve buna sekonder gelişen anatomik ve patolojik değişikliklerde önemli rol oynar. Alerjik inflamasyon yanında inhale edilen patojen ve uyarılara karşı uygun savunma hücrelerinin kemotaksisini de epitelyal hücrelerden salgılanan medyatörler sağlar (11). Bunların yanında salgılanan mukus antimikrobiyal moleküller, anti-proteazlar ve antioksidanlar içerir ve mukosiler hareketler ile solunan yabancı partiküllerin tutulmasını ve dışarı atılmasını sağlar (12,13).

Havayolu epitel bütünlüğünü korumak için üç ultrastruktürel bileşen gereklidir. Epitelyal bariyer fonksiyonu sıkı bağlar (Tight junctions – TJs, Zonula occludens-ZO), Adherans junctionlar (AJs - Zonula adherens) ve desmozomların (makula adherens) uygun hücre hücre bağlantılarıyla sürdürülür. Bu sıkı bağları içeren transmembran proteinler hücre iskeletinin bileşenleri ile bağlantılıdır (Şekil 1)(13-16).

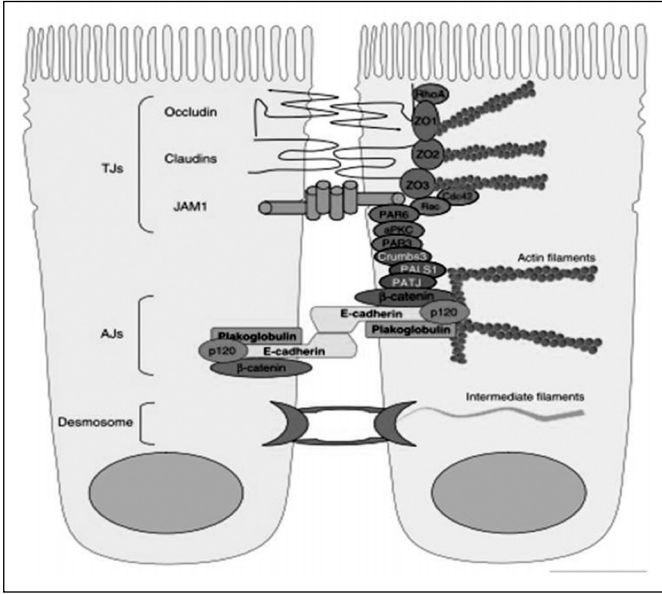
### Sıkı Bağlar

Epitelin fiziksel bariyer fonksiyonunun en önemli parçasını oluşturan sıkı bağlar, hücreler arası geçirgenliği belirler (17). TJ' lar epitelyal hücrelerin apikolateral sınırında yerleşerek iç ve dış ortam arasındaki paraselüler iyon ve sıvı trafiğindeki majör bariyeri oluştururlar. Sıkı bağlantılar epitel hücre apikal yüzeyi tıkar böylece apikal ve basolateral membran alanları ayrılır. Yaklaşık 40 kadar farklı protein TJ bileşeni olarak saptanmıştır. Ana integral TJ proteinler occludin, junction adhesion molecule (JAM)-1 ve claudinleri içerir. Sıkı bağların yapılarında bu proteinlerin yerleşimi incelendiğinde JAM, claudin ve occludinin transmembran yerleşimde olduğu gözlenir. Occludin çevrede hücrelerle apoptozis açısından iletişim kurarken, tricellulin epitel hücreleri arasında bariyer fonksiyonunu sağlar. Claudinin ise 24 farklı tipi vardır ve kalsiyumdan bağımsız hücre adhezyonunu, sıkı bağ fiberlerinin oluşumunu ve hücreler arası iyon seçiciliğini belirler (6,17). JAM, homofilik ve heterofilik adhezyonu sağlar ve transendotelial migrasyona katkıda bulunur. Scaffolding proteinleri olarak da adlandırılan membran ilişkili guanine kinaz (MAGUK) ailesinden ZO-1, ZO-2 ve ZO-3, bir uçlarından occludin ve claudin ile doğrudan ilişkili iken diğer uçları ile actin fiberlerine bağlanırlar; bu nedenle de bariyer fonksiyonunun oluşumunda doğrudan rol oynarlar (6).

### Adherans Junctionlar

Adherans junctionlar hücreyi çevreleyen ve hücreler arası boşluk genişliği 25-35 nm olan adherans yapılarıdır. TJ ların hemen altında yer alırlar. Nectin-afadin ve e-cadherin-catenin kompleksleri olarak adlandırılan iki temel adhezif parçadan oluşur. Nectin hem adherens hem de sıkı bağlar için ilk yapıyı oluştururken onun bağlandığı afadin aktin filamentlerine bağlanır. Cadherin ve  $\beta$ -catenin ise adeziv fonksiyonlar için önemlidir ve interselüler motiliteyi düzenler (6).

E-cadherin epitel hücreleri üzerinde eksprese edilen kalsiyum bağımlı adezyon molekülüdür ve esas olarak ho-



**Şekil 1.** Epitelial bariyeri sağlayan transmembran proteinler hücre iskeletinin bileşenleri ile bağlantılıdır.

mofilik hücre-hücre adezyonuna aracılık eder. Epitel hücrelerinin TJ' lar arasındaki bütünlüğünü e-cadherin-araçılı normal homofilik bağlantıların etkilediğine dair kanıtlar vardır. E-cadherine epitel hücreleri arasında kalsiyum bağımlı homotipik yapışıklık şeklinde ekstraselüler domain ve yüksek derece korunmuş sitoplazmik kuyruktan oluşur. Bu yapısal sitoplazmik domain p120 catenin,  $\beta$ -catenin ve  $\alpha$ -catenin proteinleri aracılığıyla membrana sabitlenmiştir, bu şekilde mikrotubul ve aktin hücre iskeletine bağlanmışlardır (18,19). E-cadherinin hücre yapısı ve diğer TJ yapılarının devamı için gerekli olduğu düşünülmektedir. E-cadherin epidermiste düzgün bir şekilde eksprese edilmediği zaman TJ proteinleri ZO-1, occludin ve claudin delokalize olmakta, TJ' lar distorsiyone yapıda olmaktadır. Düşük kalsiyum konsantrasyonu ve e-cadherine karşı blokan antikörlerin varlığında yalnızca e-cadherinin kendisi değil aynı zamanda ZO-1 ve aktin filamentleride dağılır. Aktin filamentlerindeki dağılıma TJ bariyerlerinin fonksiyonel ve morfolojik olarak bozulmasına neden olur. Bundan dolayı e-cadherinin fonksiyonel aktivitesi ve normal ekspresyonu epitel hücreleri arasındaki TJ' ların devamlılığının sağlanması ve havayolu epitel hücrelerinde paraselüler bariyerin normal fonksiyonunun devamlılığının sağlanmasında önemlidir (14).

E-cadherin ekspresyon induksiyonu nükleer faktör kappa  $\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) aktivasyonunu baskımlarken e-cadherin araçılı hücre hücre bağlantısı kaybında kanserli hücre hatlarındaki gibi NF- $\kappa\beta$  sinyali uyarılır. Böylece e-cadherin ekspresyonu ve NF- $\kappa\beta$  aktivitesi arasındaki denge epitelial hücrenin tolerejenik ve proinflamatuvar/immünojenik fenotip olmasına neden olur (14).

## Desmozomlar ve Hemidesmozomlar

E-cadherin araçılı bazolateral bölüm hücre hücre bağlantılıdır, bu yapı desmozom olarak adlandırılır ve dokuya mekanik destek sağlar. Özellikle kolumnar epitel hücrelerinin yan yüzeyi boyunca özellikle hücre apeksine doğru bulunur ve kolumnar ve bazal hücreler arasında bağlantı sağlar. Kolumnar hücreler bazal membranla adeziv bağlantı kurmazlar ancak desmozomal eklerle bazal membrana bağlantı yaparlar. Hemidesmozomlar, bazal membranda bazal hücreleri ekstraselüler matrikse bağlarlar. Primer olarak integrinleri içerir. Adezyon yanında hücre sinyal yollarında da rol oynayabilir (14).

## Epitel Bariyer Fonksiyonunda Sitokin ve Kemokinler

Havayolu epitel hücreleri tarafından salınan sitokinler ve kemokinler immün hücrelerinin ve yapısal hücrelerin işlevini aktive eder ve düzenlerler ve ayrıca kemoatraktan olarak rol oynarlar. Epitel hücreleri aynı zamanda aktivasyonu epitel işlevlerini etkileyebilen sitokin ve kemokinler için bir çok reseptör eksprese ederler. Th2 araçılı immün yanıt ile ilgili sitokinler IL-4, IL-13 ve epitel kökenli sitokinler IL-25, IL-33 ve TSLP atopik astım patogeneğinde kritik role sahiptirler (9,10). Epitelial bariyer fonksiyonunda bozulma inhalen allerjenlerin submukozada antijen sunan hücreye erişiminin artmasına, Th2 tip araçılı immün yanıtı uyarılmasına ve epitelial mezensimal transisyon (EMT) uyarılmasında önemli rol oynar (20). Genetik polimorfizmler, astımlı epitel hücrelerinde değiştirilmiş bir sitokin salınmasının bir nedeni olabilir. Astımda kemokin ve sitokinlerin ekspresyonunun epigenetik mekanizmalar tarafından değiştirilebileceği de ileri sürülmektedir. Epigenetik faktörler gen sekansını etkilemeden gen transkripsiyonunu etkileyen önemli faktörlerdir (4,13).

## Astımda Havayolu Epitel Değişiklikleri

Astımda epitelin bariyer fonksiyonunun bozulduğu in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (8). Epitelial fragilite astımın karakteristik özelliğidir (14). Astımda kolumnar hücrelerin selektif kaybı ve epitelial hasar mevcuttur (17). Astımlıların epitelial fragiliteye eğilimli olmalarını nedeni tam olarak belli değildir fakat genetik polimorfizm gibi iç faktörler ya da bazı solunum yolu virüsleri, çevresel kirlenmeler örneğin ozon, sigara dumanı, Dermatophagoides pteronyssinus-1 (Derp-1), fungal allerjenler gibi allerjenler dış faktör olarak epitelial hasar nedenidirler (17,21,22).

Astımlı hastalarda havayolu epitelial junctional proteinleri üzerine yapılan araştırmalar, ZO-1, e-cadherin ve

occludinin ekspresyonunun astımlı epitelde in vivo ve in vitro olarak azaldığını tekrarlanabilir bir şekilde göstermiştir ki bu da adezyon mekanizmalarında geniş bir kusur olduğunu düşündürmektedir. Bu durum astım hastalarının havayolu epitel hücrelerini allerjenlere daha duyarlı hale getirebilir (2,18,23). 1990' ların başlarında ultrastruktürel çalışmalarda astmatik hastaların nonastmatik hastalarla karşılaştırıldığı çalışmalarda daha az inter-selüler adezyon junction komplekslerine sahip olduğu gösterilmiştir fakat bu yapısal farklılıkların altında yatan mekanizmalar açıklanamamıştır (16).

Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) ile tanımlanan birçok astım adayı geni solunum yolu epitelinde eksprese edilir. Son bulgular astımlı epitelin sigara dumanına ve alerjenin yol açtığı hücre-hücre temaslarının bozulmasına daha yatkın olduğuna işaret eder (2). Epitelyal bariyer fonksiyonunda bozulmanın inhalen allerjenlerin havayolu dokusu içine penetrasyonu kolaylaşması, alerjenlerin submukozada antijen sunan hücreye erişiminin artması ve spazmojenik agonistlerin düz kaslara uzanmasını artırması gibi varsayılan sonuçları olacaktır (16). Epitelyal bariyer hasarında indirek olarak inflamatuvar medyatörlerin salınımına bağlı junctional proteinlerin baskılanması ya da doğrudan allerjenlere bağlı olarak ayrılma öne sürülen mekanizmalardır. Ev tozu akarları (HDM), hamam böceği, hayvan ve fungal allerjen komponentleri, bazı ağaç ve ot polenleri (*Olea europaea*, *Dactylis glomerata* gibi) gibi proteaz salgılayan çevresel faktörler, proteaz salgılayan eozinofil ve nötrofiller ZO-1 ve e-cadherin moleküllerini degrade edebilir (19,24,25). Benzer şekilde ağaç ve polen peptidazları da TJ' larda bozulmaya neden olur (14). E-cadherin ayrıca epidermal growth factor receptor (EGFR) ve  $\beta$ -catenin aktivitelerini modüle ederek hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını düzenler. Normalde e-cadherin adherans junctionda EGFR' ün aktive olmasını engeller ancak e-cadherin ekspresyonunda azalma veya bozulma olursa EMT uyarılır, EGFR EGF liganda bağlanır, süreç hücre proliferasyonu ve goblet hücre metaplazisi ile sonuçlanır. Epitel bariyer bozukluğu gösteren astımlı hastalarda hava yolu epitelinde EGFR' ün fosforilasyonu ve ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. (12). HDM' in yapmış olduğu TJ hasarında da EGFR' ün anlamlı katkısının olduğu gösterilmiştir (26).

Ek olarak proteazlar proinflamatuvar gen transkripsiyonuna neden olan protease-activated receptor' leri (PAR) aktive ederler. PAR-2 reseptörleri havayolu epi-

teli tarafından eksprese edilmektedirler. Reseptörün kendisi sitokin salınımına neden olacak sinyal aktivasyonuna, metalloproteinaz aktivasyonuna, antijeninin başlatmış olduğu sinyalin iletimine ve havayolu hiperreaktivitesine neden olur (27). Doğrudan proteolitik ayrışmaya ek olarak HDM, hamam böceği, mantar ekstraktları PAR-2 aktive ederler. PAR-2 aktivasyonunun insanlarda primer olarak havayolu epitelindeki e-cadherin bağlantılı hücre hücre adezyonunda kayba neden olduğu gösterilmiştir (14,26).

Ancak şu anda proteaz içeren allerjenlerin niçin yalnızca astımlı hastalarda yapısal değişiklikleri uyardığı ve sağlıklı epitelde değişikliğe neden olmadığı tam olarak anlaşılabilir (28,29).

Havayolu epitel hücrelerinde son yıllarda virüsler için bir reseptör görevi gören coxsackievirus ve adenovirus reseptörü (CAR), sıkı bağlantı noktasında bulunan ve ZO-1 ile etkileşen bir transmembran protein olduğu gösterilmiştir. Coxsackievirus ve adenovirus CAR' a bağlanarak TJ' da bozulmaya ve trans epitelyal rezistans da azalmaya neden olur (12). Havayolu epitel hücrelerinin çift sarmallı RNA'ya maruz kalması (Rhinovirus (RV) veya Respiratuvar sinsitiyal virü (RSV) enfeksiyonu) TSLP ekspresyonunun belirgin bir upregülasyonunu yönlendirir. Bu bulgular, tip-2 aracılı inflamasyonu teorik olarak dengeleyebilecek tip-1 immün yanıtları indüklemesine rağmen respiratuvar virüslerin neden alerjik inflamasyonu şiddetlendirdiğini açıklamaya yardımcı olabilir (2). Allerjenlere benzer şekilde, RV ve RSV epitel bütünlüğünü etkiler ve Epitelyal kavşak proteinleri ekspresyonu azaltır. RV, TJs'den ZO-1 kaybı ile transepitelyal direnci azaltır ve hava yolu epitel permeabilitesini artırır (2).

Epitelin astım patogeneziindeki bir diğer önemli rolü de mezenşim ile ilişkisidir ve bu iki yapı arasındaki ilişki sonucunda sitokin ve büyüme faktörleri salgılanır; bu yapı epitelyal mezenşimal trofik ünite (EMTU) olarak adlandırılır (8).

E-cadherinin fonksiyonel aktivitesi ve normal ekspresyonunun bozulması aktin filamentlerinde dağılma, TJ bariyerlerinin fonksiyonel ve morfolojik olarak bozulması ile sonuçlanır (14). Bu epitelyal bariyer fonksiyonunda bozulma inhalen allerjenlerin submukozada antijen sunan hücreye erişiminin artmasına, Th2 tip aracılı immün yanıtı uyarılmasına ve EMT uyarılmasında önemli rol oynar (16,28,30). E cadherinin-  $\beta$  catenininin yapısı bozulduğunda sitozolik kısmından salınan  $\beta$  kateninin serbestleşip çekirdeğe translokasyonu ile Wnt/ $\beta$ -catenin sinyalleri aktive olur ve bu süreç doku remodellinginde rol oynar (28,33).

## Sonuç

Astımda epitel bariyer fonksiyonu sıklıkla bozulmuştur. Burada genetik polimorfizmlerin, epigenetik faktörlerin rol oynadığı ileri sürülmektedir. Epitelyal bariyer fonksiyonunda bozulma inhalen allerjenlerin, virüslerin submukozada antijen sunan hücreye erişiminin artmasına, Th2 tip aracılı immün yanıtı uyarılmasına ve EMT/remodelling uyarılmasında önemli rol oynar. Ancak niçin yalnızca astımlı hastalarda yapısal değişiklikleri uyardığı ve sağlıklı epitelde değişikliğe neden olmadığı tam olarak anlaşılamamaktadır. Astımdaki havayolu epitelyal bariyer disfonksiyonunun mekanizmaları ve sonuçları üzerine yapılacak gelecekteki çalışmalar astım heterojenitesini anlamamızı sağlamalıdır.

## Kaynaklar

1. 2014 GINA REPORT, Global strategy for asthma management and prevention. Updated December 2011. Available from: <http://www.ginasthma.org/GINA-Report,-Global-Strategy-for-Asthma-Management-and-Prevention>
2. Heijink IH, Nawijn MC, Hackett TL. Airway epithelial barrier function regulates the pathogenesis of allergic asthma. *Clin Exp Allergy*. 2014;44(5):620-30.
3. Blume C, Swindle EJ, Gilles S, Traidl-Hoffmann C, Davies DE. Low molecularweight components of pollen alter bronchial epithelial barrier functions. *Tissue Barriers*. 2015;3:e1062316.
4. Moheimani F, Hsu AC, Reid AT, Williams T, Kicic A, Stick SM, et al. The genetic and epigenetic landscapes of the epithelium in asthma. *Respir Res*. 2016;17(1):119.
5. Bourdin A, Gras D, Vachier I, Chanez P. Upper airway x 1: allergic rhinitis and asthma: united disease through epithelial cells. *Thorax*. 2009;64:999-1004.
6. Niessen CM. Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol*. 2007; 127: 2525-32.
7. Effros RM, Nagaraj H. Asthma: new developments concerning immune mechanisms, diagnosis and treatment. *Curr Opin Pulm Med*. 2007; 13: 37-43.
8. Holgate ST. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunol Rev*. 2011; 242: 205-19.
9. Tsicopoulos A, de Nadai P, Glineur C. Environmental and genetic contribution in airway epithelial barrier in asthma pathogenesis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13(5):495-9.
10. Lambrecht BN, Hammad H. Allergens and the airway epithelium response: gateway to allergic sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(3):499-507
11. Proud D, Leigh R. Epithelial cells and airway diseases. *Immunol Rev*. 2011; 242: 186-204.
12. Ganesan S, Comstock AT, Sajjan US. Barrier function of airway tract epithelium. *Tissue Barriers*. 2013;1(4):e24997
13. Loxham M, Davies DE, Blume C. Epithelial function and dysfunction in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2014;44:1299-313.
14. Nawijn MC, Hackett TL, Postma DS, van Oosterhout AJ, Heijink IH. E-cadherin: gatekeeper of airway mucosa and allergic sensitization. *Trends Immunol*. 2011; 32: 248-55
15. Tam A, Wadsworth S, Dorscheid D, Man SF, Sin DD. The airway epithelium: more than just a structural barrier. *Ther Adv Respir Dis*. 2011; 5: 255-73
16. Knight DA, Stick SM, Hackett TL. Defective function at the epithelial junction: a novel therapeutic frontier in asthma? *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 128: 557-8.
17. Swindle EJ, Collins JE, Davies DE. Breakdown in epithelial barrier function in patients with asthma: identification of novel therapeutic approaches. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 124: 23-34.
18. Goto Y, Uchida Y, Nomura A, Sakamoto T, Ishii Y, Morishima Y, et al. Dislocation of E-cadherin in the airway epithelium during an antigen-induced asthmatic response. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000; 23: 712-8.
19. de Boer WI, Sharma HS, Baelemans SM, Hoogsteden HC, Lambrecht BN, Braunstahl GJ. Altered expression of epithelial junctional proteins in atopic asthma: possible role in inflammation. *Can J Physiol Pharmacol*. 2008; 86: 105-12.
20. Georas SN, Rezaee F. Epithelial barrier function: at the front line of asthma immunology and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134:509-20.
21. Proud D. Biology of Epithelial Cells. In: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, editors. *Middleton's Allergy: Principles and Practice*. 7th edition. China: Mosby Elsevier Publishers; 2009. p. 373-86.
22. Blume C, Swindle EJ, Dennison P, Jayasekera NP, Dudley S, Monk P, et al. Barrier responses of human bronchial epithelial cells to grass pollen exposure. *Eur Respir J*. 2013;42:87-97.
23. Yuksel H, Turkeli A, Taneli F, Horasan GD, Kanik ET, Kizilka M, et al. E-cadherin as an epithelial barrier protein in exhaled breath condensate. *J Breath Res*. 2014;8:046006.
24. Holgate ST. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med*. 2012; 18: 673-83.
25. Vinhas R, Cortes L, Cardoso I, Mendes VM, Manadas B, Todo-Bom A, et al. Pollen proteases compromise the airway epithelial barrier through degradation of transmembrane adhesion proteins and lung bioactive peptides. *Allergy*. 2011; 66: 1088-98.
26. Heijink IH, van Oosterhout A, Kapus A. Epidermal growth factor receptor signalling contributes to house dust mite-induced epithelial barrier dysfunction. *Eur Respir J*. 2010; 36: 1016-26.
27. Winter MC, Shasby SS, Ries DR, Shasby DM. PAR2 activation interrupts E-cadherin adhesion and compromises the airway epithelial barrier: protective effect of beta-agonists. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006; 291: 628-35.
28. Heijink IH, Postma DS, Noordhoek JA, Broekema M, Kapus A. House dust mite-promoted epithelial-to-mesenchymal transition in human bronchial epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010; 42: 69-79.
29. Gershwin LJ. Effects of allergenic extracts on airway epithelium. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2007; 7: 357-62
30. Bartis D, Mise N, Mahida RY, Eickelberg O, Thickett DR. Epithelial-mesenchymal transition in lung development and disease: does it exist and is it important? *Thorax* 2014;69:760-5.
31. Baarsma HA, Menzen MH, Halayko AJ, Meurs H, Kerstjens HA, Gosens R.  $\beta$ -Catenin signaling is required for TGF- $\beta$ 1-induced extracellular matrix production by airway smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2011;301:L956-65.
32. Masszi A, Fan L, Rosivall L, McCulloch CA, Rotstein OD, Mucsi I, et al. Integrity of cell-cell contacts is a critical regulator of TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-to-myofibroblast transition: role for beta-catenin. *Am J Pathol* 2004, 165:1955-1967.
33. Lampugnani MG. Endothelial cell-to-cell junctions: adhesion and signaling in physiology and pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(10).