

Sci, 2017, Epub ahead of print

- 5 徐朴,李艳,余华. 湖北汉族 RhD 阳性健康人群 Rh 分型特征调查分析[J]. 临床血液学杂志,2014,27(8):689-691
- 6 兰炯采. Rh 阴性患者输血策略[J]. 上海医药,2015,36(12):6-7
- 7 毛雨生,陈靖,王从刚,等. IgG 型抗-D 引起的新生儿溶血病 1 例[J]. 中国输血杂志,2016,29(11):1279-1280
- 8 姚丽,侯治兵. 检出抗-D 抗-C1 例[J]. 临床血液学杂志,2017,30(2):155-156
- 9 Yousuf R, Mustafa AN, Ho SL, *et al.* Anti-G with concomitant anti-C and anti-D: a case report in a pregnant woman[J]. Asian J Transfus Sci,2017,11(1):62-64
- 10 Klein HG, Anstee DJ. Mollison's blood transfusion in clinical medicine[M]. 12th ed. NJ USA, Wiley-Blackwell, 2014:197-198
- 11 Virk M, Sandler SG. Rh immunophylaxis for women with a serologic weak D phenotype[J]. Lab Med, 2015,46(3):190-194
- 12 任少敏,刘献成,王同显. 英国预防新生儿溶血病抗-D 免疫球蛋白应用指南解读[J]. 中国输血杂志,2014,27(6):673-678
- 13 孙菲菲. 抗-D,抗-C,抗-M 阳性患者紧急输血 1 例[J]. 中国实验诊断学, 2015,19(1):151
- 14 Wang QP, Dong GT, Wang XD, *et al.* An investigation of secondary anti-D immunisation among phenotypically RhD-negative individuals in the Chinese population[J]. Blood Transfus, 2014,12:238-243
- 15 金沙,李勤,刘曦,等. 上海地区 Rh 阴性人群中 Rh 分型和抗-D 产生的关系研究[J]. 中国输血杂志, 2010,23(S1):120
- 16 孙瑜,翁美芝,熊莉,等. RhD 阴性围产期妇女 RH 基因型及同种免疫研究[J]. 实验与检验医学,2015,3(4):418-420
- 17 马宏伟,谢辉. Rh 阴性孕妇血清学表型和不规则抗体检测分析[J]. 中国误诊学杂志,2012,12(9):2084-2085
- 18 吕亮亮,周建月. 2 例 Rh 阴性患者多次输注 Rh 阳性血小板均无抗 D 抗体产生的原因分析[J]. 重庆医学,2015,44(10):1396-1397
- 19 徐朴,李艳,余华. 输血与红细胞同种免疫[J]. 微循环学杂志, 2014,24(1):51-54
- 20 中华人民共和国卫生部. 临床输血技术规范(卫医发[2000]184号)[EB/OL]. (2000-06-02)[2015-05-04]. <http://www.moh.gov.cn/mohyzs/s3589/200804/18676.shtml>
- 21 中国医师协会输血科医师分会,中华医学会临床输血学分会. 特殊情况紧急抢救输血推荐方案[J]. 中国输血杂志, 2014,27(1):1-3

(收稿日期:2017-05-11)

(修回日期:2017-05-31)

ICS 治疗哮喘患者日间血清 CD28 变化规律及与正常人群对照研究

钱 伟 陈 燕

摘 要 **目的** 观察 ICS 治疗患者日间血清 CD28 水平变化规律,并与正常人群进行比较,以探讨 CD28 水平在哮喘患者人群中的变化,及取样时间是否影响检测结果。**方法** 研究纳入 2015 年 1 月~2017 年 1 月于笔者医院接受 ICS 治疗的哮喘患者 82 例与正常健康受试者 40 例,在 8:00~17:00,每隔 3h 取血检测血清 CD28 水平。比较两组受试者不同时间点 CD28 水平。**结果** 哮喘患者 ICS 治疗前血清 CD28 水平显著高于健康对照组($F_{1,120}=232.1, P=0.000$),治疗前哮喘患者 CD28 水平清晨最高,后逐渐降低;经过 ICS 治疗之后,各时间点哮喘患者 CD28 水平显著降低,但在 8:00($t=4.59, P<0.01$)和 11:00($t=3.51, P<0.01$)两个时间点仍高于对照组。**结论** 血清 CD28 水平在哮喘发病中起到重要作用,且具有一定节律性,可作为哮喘患者诊断或治疗的分子标志物或靶点。

关键词 CD28 哮喘 日间变化规律

中图分类号 R256.12

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.035

Day-time Variation of Serum CD28 in Asthmatic Adults Treated with ICS and Adults Without Asthma. Qian Wei, Chen Yan. Department of Respiratory Medicine, Shanghai Jiaotong University Affiliated Sixth People's Hospital South Hospital (Shanghai Fengxian District Central Hospital), Shanghai 201499, China

Abstract Objective To observe the day-time variation of serum CD28 in asthmatic adults treated with ICS and adults without asthma. **Methods** Serum CD28 level were measured at 3-hour intervals from 8:00 to 17:00 h in 82 adult participants with asthma and in 40 healthy participants without asthma during Jan 2015 to Jan 2017. CD28 levels at each timepoints of asthma patients before and after

作者单位:201499 上海交通大学附属第六人民医院南院(上海市奉贤区中心医院)呼吸内科

通讯作者:陈燕,电子信箱:goldring2009@163.com

ICS therapy and healthy participants were compared by repeated measures analysis of variance. **Results** The level of CD28 of asthma patients before ICS were significantly higher than healthy control ($F_{1,120} = 232.1, P = 0.000$). The CD28 level of asthma patients before ICS was highest at 8:00h and continuously reduced during the day. After ICS therapy, the level of CD28 were significantly decreased, and were significantly higher than healthy control group at 8:00h ($t = 4.59, P < 0.01$) and 11:00h ($t = 3.51, P < 0.01$). **Conclusion** The level of serum CD28 changed significantly and rhythmically in asthma patients, which may be a potential marker or therapeutic target in the diagnosis or therapy of asthma.

Key words CD28; Asthma; Day – time variation

哮喘是一种复杂的异质性疾病,主要以气道受限、肺组织重构、血清 IgE 水平升高、气道高反应性、气道黏膜下层淋巴细胞浸润为特征。全球成年人群中,哮喘发生率为 7.7%,并且哮喘发生率每年都在不断升高^[1]。目前全球 4.3% 的人口患有哮喘,哮喘给患者带来经济和生理上的重大负担,使患者生活质量显著下降^[2]。

在临床实践中,一些生物学标志物能够辅助医生对患者的临床表型、预期治疗反应和个体化治疗进行指导^[3]。免疫应答失调是公认的哮喘发病重要因素之一,免疫应答的核心是 T 细胞的活化、增殖和分化。CD28 是相对分子质量为 44kDa 的同源二聚体糖蛋白,在诱导 T 细胞增殖和 IL-2 产生中起到重要作用。CD28 可通过从细胞膜上脱落或者 mRNA 转录产生。以往很多研究表明,CD28 作为共刺激分子刺激 T 细胞活化,在过敏性疾病中起到重要作用^[4]。但其在哮喘中的作用尚未有明确探讨。因此,本研究旨在了解慢性哮喘患者与正常健康受试者血清 CD28 水平差异,同时,由于哮喘在发病中有明显的时间节律性,其主要在夜间及凌晨发作较严重。因此本研究还研究了哮喘患者不同时间点的 CD28 水平变化规律,以探讨 CD28 水平在哮喘患者人群中的变化,及取样时间是否影响检测结果。

对象与方法

1. 研究对象:选取 2015 年 1 月~2017 年 1 月于笔者医院确诊的慢性哮喘患者 82 例,健康受试者 40 例。哮喘患者纳入标准如下:①诊断符合 2008 年中华医学会呼吸病学分会制定的《支气管哮喘防治指南》中重度哮喘患者;②近 45 天内未使用过激素治疗;③近 30 天内未发生严重呼吸道感染或哮喘急性加重;④不存在慢性支气管炎或 COPD;⑤无严重全身疾病或精神疾病。健康受试者纳入标准如下:①近 30 天内未发生严重呼吸道感染;②无过敏性疾病史;③不存在慢性支气管炎或 COPD;④无严重全身疾病或精神疾病。

2. 研究方法:(1)一般资料及病史采集:包括年

龄、性别、BMI、哮喘病史。仪器:采用 Master Screen Body 型肺功能仪(德国 Jaeger 公司)测定受试者呼气流量峰值。(2)试验流程:具体试验流程见图 1,符合条件的健康受试者在笔者医院内在不同时间点(8:00、11:00、14:00、17:00)收集外周血,检测 CD28 水平。哮喘患者于接受首次 ICS 治疗前日,在笔者医院内在相应时间点收集外周血,检测 CD28 水平,同时进行呼气流量峰值测定。之后接受为期 28 天的 ICS 治疗,于末次治疗后次日在笔者医院内相应时间点收集外周血,检测 CD28 水平,同时进行呼气流量峰值测定。①哮喘患者 ICS 疗法:患者吸入布地奈德 500 微克/次,2 次/天,疗程 4 周;②CD28 水平检测:血样采集后不抗凝,在采集后 2h 内 5000r/min 离心 10min,分离血清,-20℃ 保存。采用 ELISA 试剂盒(人 CD28 ELISA 试剂盒,abcam,货号 ab119514)对 CD28 水平进行检测。检测方法同试剂盒说明书。

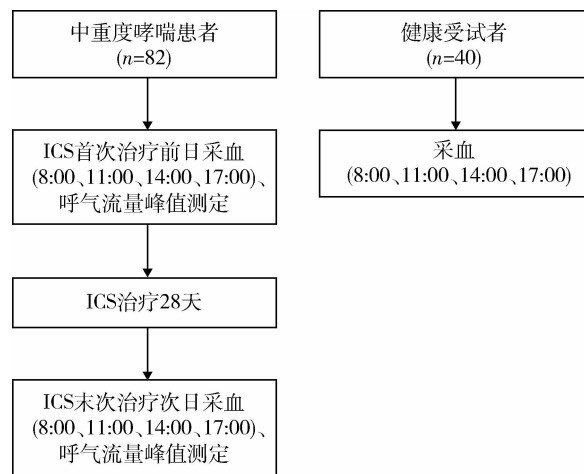


图 1 试验流程图

3. 统计学方法:采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析。计数资料以百分比(%)表示,采用 χ^2 检验进行比较;计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验分析。非正态分布资料采用 Mann-Whitney U 检验。采用重复测量的方差分析 CD28 水平,当结果有差异时,采用配对 t 检验或独立样

本 t 检验进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 受试者一般资料:哮喘患者和健康受试者一般资料见表 1,两组性别、年龄、BMI 比较差异均无统计学意义。

表 1 受试者一般资料					
组别	n	男性/ 女性	年龄(岁)	BMI	患病时间(月)
健康受试者	40	9/31	46.35 ± 2.31	27.53 ± 3.6	-
哮喘患者	82	20/62	50.98 ± 1.77	27.39 ± 4.0	9.79 ± 0.47
$\chi^2(t)$	-	0.053	1.537	0.196	-
P	-	0.504	0.127	0.850	-

2. 哮喘组患者 ICS 治疗前不同时间点 CD28 水平变化:采用多因素重复测量方差分析对哮喘患者 ICS 治疗前 CD28 水平和对照组受试者 CD28 水平进行分析,不同时间点的 CD28 水平比较差异有统计学意义($F_{3,118} = 141.7, P = 0.000$),对照组与哮喘组患者 CD28 水平比较差异有统计学意义($F_{1,120} = 232.1, P = 0.000$)。组别与发病时间存在交互作用($F_{3,118} = 129.4, P = 0.000$)。配对 t 检验显示,哮喘组患者 CD28 水平从 8:00 至 17:00 不断降低,两两之间比较差异有统计学意义($P = 0.000$);而对照组不同时间点 CD28 水平比较差异无统计学意义。两组受试者 CD28 水平见表 2。

表 2 ICS 治疗前哮喘组患者及对照组不同时间点 CD28 水平对比($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)		
时点	对照组($n = 40$)	哮喘组治疗前($n = 82$)
8:00	49.00 ± 19.28	$114.88 \pm 19.93^*$
11:00	48.53 ± 19.78	$109.13 \pm 19.60^{* \#}$
14:00	48.85 ± 19.94	$103.71 \pm 19.90^{* \#}$
17:00	48.78 ± 19.92	$98.16 \pm 19.49^{* \#}$

与同时时间点对对照组比较, $^* P < 0.05$;与相同组上一时间点比较, $^{\#} P < 0.05$

3. 哮喘组患者 ICS 治疗后各时间点 CD28 水平变化:采用多因素重复测量方差分析对哮喘患者 ICS 治疗后 CD28 水平和对照组受试者 CD28 水平进行分析,不同时间点的 CD28 水平差异有统计学意义($F_{3,118} = 49.28, P < 0.01$),对照组与哮喘组患者 ICS 治疗后 CD28 水平差异有统计学意义($F_{1,120} = 24.56, P < 0.01$)。组别与发病时间存在交互作用($F_{3,118} = 34.46, P < 0.01$)。在不同时间点对对照组和哮喘组患者 ICS 治疗后 CD28 水平进行独立样本 t 检验,哮喘组患者 CD28 水平和对照组患者 CD28 水平在上午

8:00($t = 4.59, P < 0.01$)和 11:00($t = 3.51, P < 0.01$)差异有统计学意义,在 14:00($t = 0.612, P > 0.05$)和 17:00($t = 0.034, P > 0.05$)差异无统计学意义。哮喘组患者 ICS 治疗后 CD28 水平从 8:00 至 14:00 不断降低,两两之间差异均有统计学意义($P < 0.05$);14:00 与 17:00 两个时间点之间 CD28 水平差异无统计学意义($t = 0.840, P > 0.05$)。两组受试者 CD28 水平见表 3。

表 3 治疗后哮喘组患者及对照组不同时间点 CD28 水平对比($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)		
时点	对照组($n = 40$)	哮喘组治疗后($n = 82$)
8:00	49.00 ± 19.28	$66.63 \pm 21.06^*$
11:00	48.53 ± 19.78	$62.16 \pm 20.77^{* \#}$
14:00	48.85 ± 19.94	$51.09 \pm 16.72^{\#}$
17:00	48.78 ± 19.92	48.90 ± 18.25

与同时时间点对对照组比较, $^* P < 0.05$;与相同组上一时间点比较, $^{\#} P < 0.05$

4. ICS 治疗前后 CD28 水平变化及呼气流量峰值测定:采用配对 t 检验分析不同时间点哮喘患者治疗前后 CD28 水平变化,每个时间点差异均有统计学意义(图 2)。采用配对 t 检验分析不同时间点哮喘患者治疗前后呼气流量峰值,ICS 治疗后,哮喘患者呼气流量峰值显著升高($t = 15.23, P = 0.001$,图 3)。

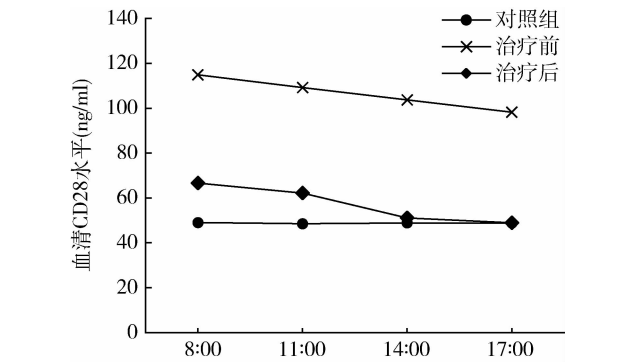


图 2 对照组及哮喘组 ICS 治疗前后不同时间点 CD28 水平变化

讨 论

本研究针对哮喘患者 ICS 治疗前后不同时间点的 CD28 水平进行分析,并与健康对照受试者相应时间点 CD28 水平进行比较。结果发现,哮喘患者血清 CD28 水平显著高于健康对照组,经过 ICS 治疗之后,哮喘患者 CD28 水平显著降低,但在部分时间点仍高于对照组。同时,分析结果可见治疗前哮喘患者 CD28 水平清晨最高,后随时间推移逐渐降低,存在较

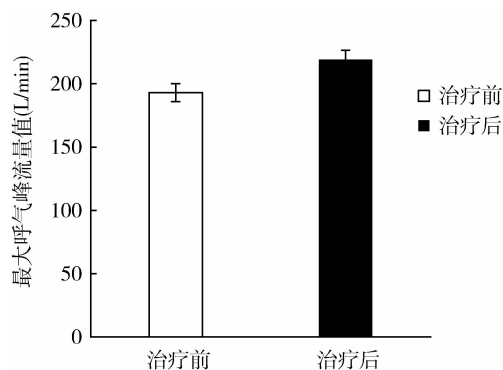


图 3 哮喘组 ICS 治疗前后呼吸峰流量变化

强的节律性;治疗后哮喘患者清晨 CD28 水平较高,之后逐渐下降,午后及傍晚 CD28 水平无明显差异,且接近对照组水平。CD28 在呼吸道炎症级联反应的开始阶段起到重要作用^[5,6]。在动物模型中发现,CD28 介导的共刺激作用在支气管哮喘中起到重要作用^[7,8]。提示阻断 CD28 可能在治疗变应性气道炎症中起到重要作用。由于 CD28 位于炎症级联反应的第一级中,因此阻断 CD28 可能对于大多数类型的哮喘均有作用。Neuber 等^[9]检测了健康受试者和支气管哮喘患者血清 CD28 水平,发现支气管哮喘患者血清 CD28 水平显著高于正常人,与本研究结果相似。本研究提示共刺激分子 CD28 在变态反应中起到重要作用,也提示 CD28 可能是哮喘的一个新的分子标志物。

另外,由于哮喘发病存在较明显的时间节律性,本研究还对一天内不同时间点的 CD28 水平进行了分析,发现治疗前 CD28 水平呈明显的清晨高-傍晚低的时间节律性,ICS 治疗后哮喘患者清晨 CD28 水平仍较高,至下午和傍晚 CD28 水平和正常对照者基

本相同。其他研究中发现,哮喘患者肺功能呈节律性变化,在傍晚达到最高,也与本研究结果基本相符。提示以 CD28 为标志物或靶点进行诊断或治疗时,清晨是较关键的时间点。

本研究针对 CD28 在哮喘患者血清中的水平变化进行了研究,为 CD28 应用于哮喘诊断、疗效观察和治疗中提供了新的理论基础。但本文仍存在局限性,如在检测时间点的选取中,笔者只选择了早 8:00 至 17:00 之间的 4 个时间点,未对夜间血清 CD28 水平进行检测,由于夜间哮喘在哮喘患者中也有较大比例,因此应在后续研究中对夜间 CD28 水平进行研究。

参考文献

- Loftus PA, Wise SK. Epidemiology of asthma[J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2016, 24(3): 245-249
- Uchmanowicz B, Panaszek B, Uchmanowicz I, et al. Sociodemographic factors affecting the quality of life of patients with asthma[J]. *Patient Prefer Adherence*, 2016, 10: 345-354
- Szeffler SJ, Wenzel S, Brown R, et al. Asthma outcomes: Biomarkers[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129(3): S9-S23
- 祝戎飞,黄爱霞. 协同刺激分子 CD28/B7 及 CD40/CD40L 在哮喘特异性免疫治疗中的作用[J]. *华中医学杂志*, 2006, 30(4): 278-280
- Meiler F, Zimmermann M, Blaser K, et al. T-cell subsets in the pathogenesis of human asthma[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2006, 6(2): 91-96
- 许雪梅,唐宗生,李志鸿. T 细胞 CD28 家族受体在哮喘发病中的作用[J]. *东南大学学报:医学版*, 2016, 35(6): 1009-1013
- Mathur M, Herrmann K, Qin Y, et al. CD28 interactions with either CD80 or CD86 are sufficient to induce allergic airway inflammation in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 21(4): 498-509
- Gogishvili T, Lühder F, Kirstein F, et al. Interruption of CD28-mediated costimulation during allergen challenge protects mice from allergic airway disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(6): 1394-1403
- Neuber K, Mähns B, Hübner C, et al. Autoantibodies against CD28 are associated with atopic diseases[J]. *Clin Exp Immunol*, 2006, 146(2): 262-269 (收稿日期:2017-05-15) (修回日期:2017-05-29)
- 卢小健,张鸿祺,张鹏,等. 弹簧圈栓塞颅内动脉瘤的远期 MRA 随访研究[J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2010, 30(6): 206-210
- Piotin M, Blanc R, Spelle L, et al. Stent-assisted coiling of intracranial aneurysms: Clinical and angiographic results in 216 consecutive aneurysms[J]. *Stroke*, 2010, 41: 110-115
- Yang PF, Huang QH, Zhao WY, et al. Safety and efficacy of stent placement for treatment of intracranial aneurysms: a systematic review[J]. *Chin Med J: Engl*, 2012, 125: 1817-1823
- Ferns SP, Sprengers ME, van Rooij WJ, et al. Coiling of intracranial aneurysms: a systematic review on initial occlusion and reopening and retreatment rates[J]. *Stroke*, 2009, 40: 523-529
- 中华医学会神经外科学分会神经介入学组. 颅内动脉瘤血管内介入治疗中国专家共识(2013)[J]. *中国脑血管病杂志* 2013, 10(11): 606-615
- Takayama K, Taoka T, Nakagawa H, et al. Usefulness of contrast-enhanced magnetic resonance angiography for follow-up of coil embolization with the enterprise stent for cerebral aneurysms[J]. *J Comput Assist Tomogr*, 2011, 35(5): 568-572
- Choi JW, Roh HG, Moon WJ, et al. Optimization of MR Parameters of 3D TOF-MRA for Various Intracranial Stents at 3.0T MRI[J]. *Neurointervention*, 2011, 6: 71-77
- Jin WC, Hong GR, Moon WJ, et al. Optimization of MR Parameters of 3D TOF-MRA for Various Intracranial Stents at 3.0T MRI[J]. *Neurointervention*, 2011, 6: 71-77
- Jee HS, Hyun SC, Jung SL, et al. Artificial luminal narrowing on contrast-enhanced magnetic resonance angiograms on an occasion of stent-assisted coiling of intracranial aneurysm: in vitro comparison using two different stents with variable imaging parameters[J]. *Korean J Radiol*, 2012, 13(5): 550-556
- Agid R, Schaaf M, Farb RI. CE-MRA for follow-up of aneurysms post stent-assisted coiling[J]. *Intervent Neuroradiol*, 2012, 18(2): 275-283 (收稿日期:2017-05-03) (修回日期:2017-05-15)

(上接第 136 页)