

哮喘患儿外周血单个核细胞瘦素及 Foxp3 的表达^{*}

李明安^{1,2}, 司丽媛², 吴红波², 马 萍¹

(1. 徐州医学院医学技术学院, 江苏徐州 221004; 2. 沭阳县人民医院, 江苏沭阳 223600)

摘要:目的 探讨哮喘患儿瘦素及 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg)特异性转录因子叉头状转录因子 P3(Foxp3)在外周血单个核细胞(PBMC)中的表达及意义。方法 选取 2013 年 8 月~2015 年 5 月在沭阳县人民医院门诊及住院的 28 例哮喘患儿发作期(发作组), 26 例哮喘患儿缓解期(缓解组)及 25 例健康体检儿童(对照组), 采用 ELISA 法检测各组血浆及 PBMC 培养上清液中的瘦素浓度, 实时荧光定量 PCR 法测定 PBMC 中 Foxp3 的相对表达量, 进行统计学分析。结果 发作组、缓解组和对照组三组血浆浓度(19.98±5.40 ng/ml, 13.73±2.28 ng/ml, 12.17±3.95 ng/ml)及 PBMC 培养上清液瘦素浓度(55.94±11.09 pg/ml, 31.97±7.71 pg/ml, 27.85±7.67 pg/ml)差异均有统计学意义(F=27.07, 75.96, P 均<0.01); 组间两两比较, 发作组均高于缓解组与对照组(P 均<0.01), 而缓解组与对照组差异无统计学意义(P>0.05)。发作组、缓解组和对照组三组 PBMC Foxp3 相对表达量(2.70±0.48, 3.84±0.45, 3.77±0.38)差异有统计学意义(F=57.35, P<0.01); 组间两两比较, 发作组低于缓解组与对照组(P<0.01), 而缓解组与对照组差异无统计学意义(P>0.05)。发作组患儿 PBMC 培养上清液瘦素浓度与 PBMC Foxp3 相对表达量呈负相关(R=-0.730, P<0.01), 而血浆瘦素浓度与 PBMC Foxp3 相对表达量无明显相关性(R=-0.367, P=0.550)。结论 哮喘患儿 PBMC 分泌瘦素增加, 且分泌的瘦素抑制了 Foxp3 的表达。

关键词:瘦素; 哮喘; 外周血单个核细胞; 叉头状转录因子 P3; CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞

中图分类号: R562.25; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)04-058-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.015

Expression of Leptin and Foxp3 in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Children with Bronchial Asthma

LI Ming-an^{1,2}, SI Li-yuan², WU Hong-bo², MA Ping¹

(1. Department of Medical Technology, Xuzhou Medical College, Jiangsu Xuzhou 221004, China;

2. Shuyang People's Hospital, Jiangsu Shuyang 223600, China)

Abstracts: Objective To investigate the expression and significance of the leptin derived by the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and forkhead transcription factor3 (Foxp3, the transcription factor of CD4⁺CD25⁺Treg) in children with asthma. **Methods** Levels of plasma leptin and PBMC-derived leptin were measured by ELISA, and real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of relative levels of Foxp3 in PBMC in 79 children, including 28 children of acute attack group, 26 children of remission group, 25 children of healthy control group and then statistical analysis was carried out. **Results** It was showed that levels of plasma leptin (19.98±5.40 ng/ml, 13.73±2.28 ng/ml, 12.17±3.95 ng/ml, F=27.07, all P<0.01) and PBMC-derived leptin (55.94±11.09 pg/ml, 31.97±7.71 pg/ml, 27.85±7.67 pg/ml, F=75.96, all P<0.01) was higher in attack stage than in remission stage and in control group, in contrast, Foxp3 mRNA in asthmatic children was lower in attack stage than in remission stage and control group (2.70±0.48, 3.84±0.45, 3.77±0.38, F=57.35, P<0.01). However, there was no significant difference between asthmatic children in remission stage and healthy group (all P>0.05). Furthermore, the results of this study showed that PBMC-derived leptin positively correlated to Foxp3 mRNA (R<-0.730; P<0.01), but plasma leptin and Foxp3 mRNA had no obvious correlation (R=-0.367; P=0.550) in asthmatic children in attack stage. **Conclusion** The leptin derived by the PBMC was increased in children with asthma in attack stage and these leptin inhibits the expression of Foxp3.

Keywords: asthma; leptin; peripheral blood mononuclear cells; Foxp3; CD4⁺CD25⁺Treg

支气管哮喘(哮喘)是由遗传、免疫、环境等因素共同作用的慢性呼吸道炎症性疾病, 肥胖为哮喘发病的独立危险因素^[1,2], 其与哮喘的关系受到关

注^[1~3], 近年有观点认为脂肪组织为一种内分泌器官, 能够分泌多种激素, 而其中瘦素尤为让人关注, 瘦素除了参与机体的能量平衡调节外, 还广泛参与

^{*} 作者简介: 李明安(1982—), 男, 本科, 主管技师, 主要从事临床免疫学检验与研究, E-mail: adimeix@163.com。

通讯作者: 马 萍, 主任技师, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: pingm62@aliyun.com。

了各种免疫调节,可能是连接免疫、内分泌及代谢的桥梁。 $CD4^+CD25^+$ Treg 为近年发现的新淋巴细胞亚群,其具有抗炎和维持机体免疫耐受等作用^[4],Foxp3 为 $CD4^+CD25^+$ Treg 特异性转录因子,反映 $CD4^+CD25^+$ Treg 的活性^[5],经典理论认为 Th1/Th2 细胞失衡是哮喘发病的主要机制,但越来越多的研究证实 Th1/Th2 失衡学说过度简化了哮喘的发病机制,还应考虑 Treg 与 Th1/Th2 失衡的关系,由于 Treg 与 Th17 之间存在复杂的关系,有学者提出哮喘发病机制存在 Treg/Th17 失衡^[15],Treg 在哮喘发病机制中的重要作用日益受到重视。本研究通过检测哮喘患儿 PBMC 培养上清液瘦素浓度并分析其与 PBMC 中 $CD4^+CD25^+$ Treg 特异性转录因子 Foxp3 相对表达量的相关性,探讨瘦素及 Foxp3 在哮喘发病过程中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2013 年 8 月~2015 年 5 月在沐阳县人民医院儿科哮喘专科门诊及住院的哮喘急性发作期儿童 28 例(发作组)及经规则联合吸入糖皮质激素/长效 β_2 受体激动剂(ICS/LABA)治疗后哮喘缓解儿童 26 例(缓解组),选择同期健康体检儿童 25 例作为健康对照组(对照组)。哮喘的诊断均符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》(2008 版)中的标准^[6],所有入选儿童均无自身免疫性疾病、无过敏史,近一个月无呼吸道感染,未应用糖皮质激素等免疫抑制剂。哮喘缓解组为哮喘患儿定期随访,无哮喘症状及体征三个月以上者。所有研究对象分别用测距仪和电子秤测量身高和体重,计算其体质指数(BMI), $BMI = \text{体重(kg)} / [\text{身高}^2(\text{m}^2)]$ 。入选的三组儿童其中发作组男性 15 例、女性 13 例,平均年龄 8.5 ± 2.56 岁、平均 BMI $17.26 \pm 3.47 \text{ kg/m}^2$;缓解组男性 14 例、女性 12 例,平均年龄 9.1 ± 2.70 岁,平均 BMI $17.10 \pm 3.59 \text{ kg/m}^2$;对照组男性 13 例、女性 12 例,平均年龄 8.8 ± 2.46 岁,平均 BMI $17.49 \pm 3.43 \text{ kg/m}^2$;三组间性别构成、平均年龄及平均 BMI 差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.20$, $F = 0.277$, $F = 0.081$, P 均 > 0.05)。

1.2 仪器与主要试剂 CFX 96 实时荧光定量 PCR 仪, Bio Tek Instruments 公司 uQuant 型酶标仪, Ficoll-Hypaque 淋巴细胞分离液购自天津灏阳生物制品有限公司, TRIzol Reagent 试剂盒购自 Invitrogen 公司, 逆转录试剂盒购自日本东洋纺公司, 1640 培养液及胎牛血清购自 Gibco 公司, 瘦素 ELISA 试剂盒, anti-CD3, anti-CD28, 抗人瘦素抗体(Anti-leptin mAb)及其同型对照抗体(Iso-Ab)

均购自美国 R&D system 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集及 PBMC 的分离和培养: 发作组患儿于首诊或治疗前, 缓解组和对照组儿童于清晨空腹抽取静脉血 5 ml, 肝素钠抗凝, 用 Ficoll-Hypaque 淋巴细胞分离液梯度离心分离得 PBMC, 同时分离血浆于 -80°C 保存, 分离得到的 PBMC 用含 10 ml/dl 胎牛血清的 1640 培养液重悬并调整细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$, 接种于 24 孔板(每孔 0.5 ml), 加入 anti-CD28 ($2 \mu\text{g/ml}$), anti-CD3 ($10 \mu\text{g/ml}$), 链霉素 ($100 \mu\text{g/ml}$), 青霉素 (100 U/ml), 置于 37°C , 体积分数 5%(v/v) CO_2 , 饱和湿度条件下培养 72 h, 吸取上清液 -80°C 保存待测, 并收集细胞。

1.3.2 体外抗体阻断试验: 作为对照, 在上述成分相同, 细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 的 1640 培养液中加入抗人瘦素抗体和同型对照抗体, 抗体浓度均调整为 $10 \mu\text{g/ml}$, 分别接种于 24 孔板(每孔 0.5 ml)。置于 37°C , 体积分数 5%(v/v) CO_2 , 饱和湿度条件下培养 72 h, 吸取上清液于 -80°C 保存待测。

1.3.3 培养后的 PBMC 中 Foxp3 mRNA 相对量的测定: 按照说明书使用 TRIzol Reagent 提取 PBMC 的总 RNA, 按照东洋纺试剂盒说明书逆转录成 cDNA, 保存于 -80°C 备用, 采用 CFX 96 实时荧光 PCR 仪, 按照 Bio-Rad SYBR Green Super Mix 说明书, 以 GAPDH 为内参测定 Foxp3 的相对表达量, 所有样本均采用相同条件扩增三次后取其平均值。具体所用引物序列如下: Foxp3 上游引物为: $5' \text{-GAAGCAGCGGACACTCAATG-3'}$, 下游引物为: $5' \text{-AGGTGGCAGGATGGTTTCTG-3'}$, 长度为 77bp; GAPDH 上游引物为: $5' \text{-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3'}$, 下游引物为: $5' \text{-GCTTCACCACCTTCTTGTATGTC-3'}$, 长度为 120bp, 根据标准曲线计算 Foxp3 及 GAPDH 的 Ct 值, 以 GAPDH 为内参校准 Foxp3 的相对表达量, 结果以 Foxp3/GAPDH mRNA 的相对值表示。

1.3.4 瘦素的检测: 采用 ELISA 法测定各组血浆及 PBMC 培养上清液中瘦素的浓度, 所有步骤严格按照试剂盒说明书进行操作, 酶标仪读取样本吸光度值, 通过标准曲线来计算瘦素的浓度。

1.4 统计学分析 采用 SPSS17.0 对数据进行统计学分析, 正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 体外抗体阻断试验的两组间比较采用配对 t 检验, 三组间瘦素浓度及 Foxp3 相对表达量的比较采用方差分析, 组间两两比较采用 (LSD) t 检验, 采用 Pearson 相关系数法进行相关性分析,

以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆及 PBMC 培养上清液瘦素的浓度 发作组、缓解组 and 对照组儿童血浆瘦素浓度分别为 19.98 ± 5.40 ng/ml, 13.73 ± 2.28 ng/ml 和 12.17 ± 3.95 ng/ml, 三组间差异有统计学意义 ($F = 27.07, P < 0.01$); 两两比较, 发作组高于缓解组与对照组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.01), 而缓解组与对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。三组 PBMC 培养上清液瘦素浓度分别为 55.94 ± 11.09 pg/ml, 31.97 ± 7.71 pg/ml 和 27.85 ± 7.67 pg/ml, 三组间差异有统计学意义 ($F = 75.96, P < 0.01$); 两两比较, 发作组高于缓解组和对照组 (P 均 < 0.01), 而缓解组和对照组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 三组 PBMC Foxp 相对表达量的比较 发作组、缓解组 and 对照组儿童外周血 PBMC 的 Foxp 相对表达量分别为 2.70 ± 0.48 , 3.84 ± 0.45 和 3.77 ± 0.38 , 三组间差异有统计学意义 ($F = 57.35, P < 0.01$); 两两比较, 发作组低于缓解组和对照组 ($P < 0.01$), 而缓解组与对照组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 对照组与发作组血浆瘦素浓度与其 BMI 的相关性分析及发作组血浆与 PBMC 培养上清液瘦素浓度与其 PBMC 的 Foxp3 相对表达量的相关性分析 采用直线回归相关性分析发现对照组 BMI 与血浆瘦素浓度呈正相关 ($R = 0.632, P < 0.01$), 见图 1; 而发作组 BMI 与血浆瘦素浓度无明显相关性 ($R = 0.284, P = 0.142$), 见图 2; 发作组患儿外周血 PBMC 培养上清液的瘦素浓度与 Foxp3 相对表达量呈负相关 ($R = -0.730, P < 0.01$), 见图 3; 而血浆中瘦素浓度与 Foxp 相对表达量无明显相关性 ($R = -0.367, P = 0.055$), 见图 4。

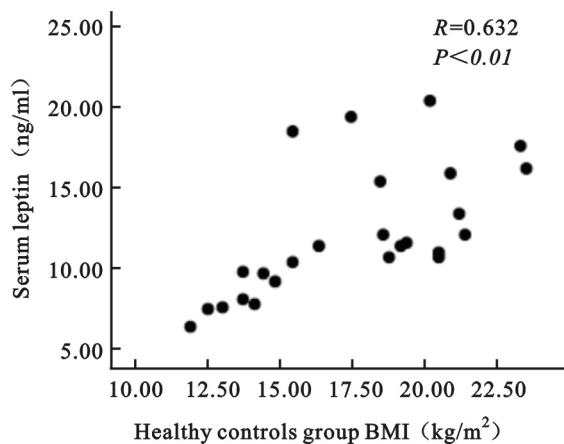


图1 对照组体质指数与血浆瘦素浓度的相关性分析

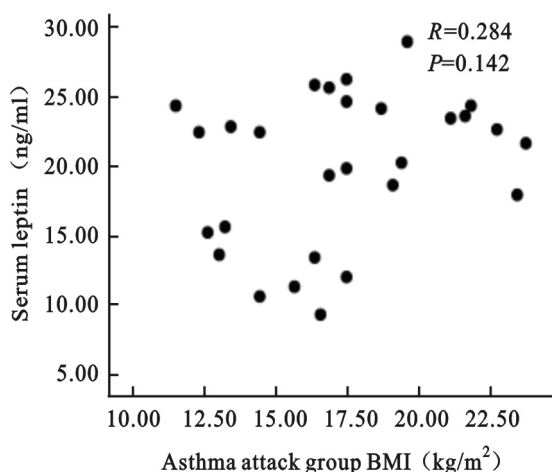


图2 发作组体质指数与血浆瘦素浓度的相关性分析

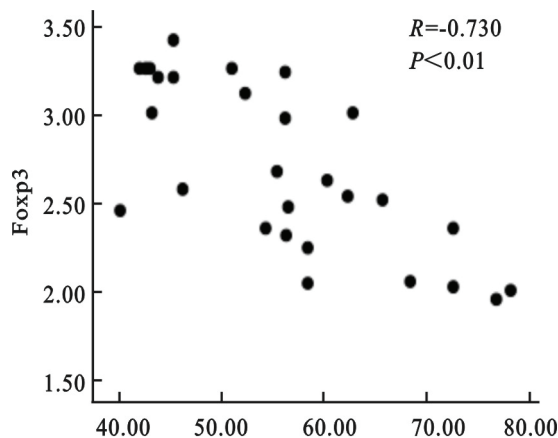


图3 发作组 PBMC 培养上清液瘦素浓度与 Foxp 相对表达量的相关性分析

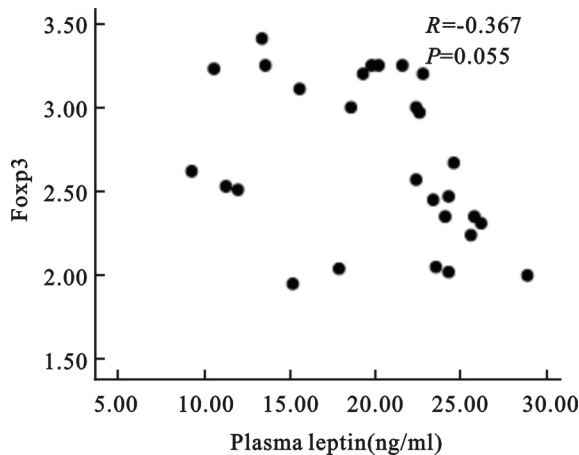


图4 发作组血浆瘦素浓度与 Foxp 相对表达量的相关性分析

2.4 体外抗体阻断试验结果 含 $10 \mu\text{g/ml}$ 抗人瘦素抗体与含 $10 \mu\text{g/ml}$ 同型对照抗体培养液 PBMC 的 Foxp3 相对表达量分别为 3.04 ± 0.50 和 2.71 ± 0.42 , 加入抗人瘦素抗体 PBMC 的 Foxp3 相对表达量较加入同型对照抗体 PBMC 的 Foxp3 相对表达量明显升高, 差异有统计学意义 ($t = 2.595, P < 0.05$), 见图 5。

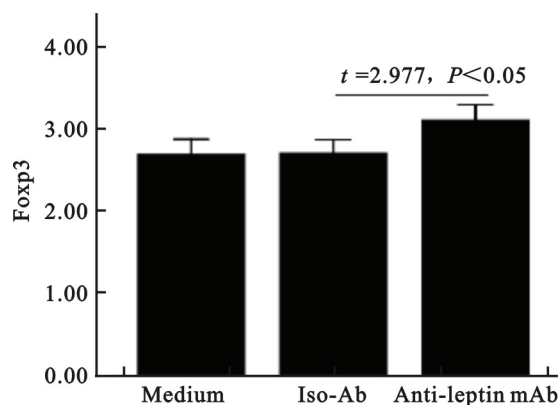


图5 哮喘组 PBMC 体外培养抗体阻断试验

3 讨论 瘦素在免疫应答、炎症反应等方面起着十分复杂的作用,虽然瘦素参与哮喘的发病机制目前尚不清楚^[3],但有研究表明较高的瘦素分泌水平可增加小儿哮喘的发病风险^[7]和小儿及成人哮喘的发病率^[8,9],动物研究也表明,瘦素是哮喘的气道促炎因子,可见瘦素在哮喘发病机制中起重要作用。临床研究表明,哮喘患儿血清瘦素水平高于与其 BMI、年龄无统计学差异的对照组^[10],Mai 等^[11]研究证实肥胖的哮喘患儿血清瘦素浓度是肥胖非哮喘患儿的两倍,可见,瘦素既可以成为哮喘的因,也是哮喘的果。而本研究显示哮喘组患儿血浆的瘦素浓度明显高于缓解组和对对照组,与上述观点一致,同时显示哮喘患儿 PBMC 培养上清液瘦素浓度明显高于对照组与缓解组,表明哮喘患儿 PBMC 分泌瘦素增加,哮喘患儿血浆中增加的瘦素可能部分来源于 PBMC 的分泌。本研究还显示对照组儿童 BMI 与其血浆瘦素浓度呈正相关,而哮喘患儿 BMI 与其血浆瘦素浓度并无明显相关性,可见在正常儿童体内,肥胖程度对血浆瘦素浓度起主导作用,而哮喘患儿肥胖程度对血浆瘦素浓度并不起主导作用,可能由肥胖程度和哮喘严重程度等因素共同主导。

CD4⁺CD25⁺Treg 为一类具有免疫调节作用的 T 细胞,Foxp3 是 CD4⁺CD25⁺Treg 的特征性转录因子^[5],在调控 CD4⁺CD25⁺Treg 发育及发挥免疫调节功能等方面起重要作用^[5,12],胡斯明等^[13]的研究发现 CD4⁺CD25⁺Treg/Th17 在哮喘组较正常组显著降低,且与 IL-10 呈正相关,与 IL-17 呈负相关,提示由于 Treg/Th17 的失衡机制可能参与了哮喘的发生和发展。CD4⁺CD25⁺Treg 能分泌产生瘦素,并高表达瘦素受体,瘦素缺陷(ob/ob)和瘦素受体缺陷(db/db)小鼠,瘦素阻断能延缓自身免疫性脑脊髓的发生与发展,且瘦素水平与 Treg 细胞呈负相关^[14],以上研究均提示瘦素可能对哮喘患者 CD4⁺CD25⁺Treg 起着重要的调

控作用。而本研究显示哮喘患儿 PBMC 的 Foxp3 相对表达量明显低于缓解组与对照组,PBMC 培养上清液瘦素浓度明显高于缓解组与对照组,且与 Foxp3 相对表达量呈负相关。而哮喘发作组血浆瘦素水平虽然也明显高于缓解组与对照组,但其与 Foxp3 相对表达量并无明显的相关性。另外 IL-6 为哮喘的一个重要预测指标^[15],瘦素结构与 IL-6 高度相似,而 IL-6 对 Treg/Th17 平衡起重要调节作用^[16],因此可以推测,哮喘患儿 PBMC 产生的瘦素可能对 CD4⁺CD25⁺Treg 起负向调节作用,本研究的抗体阻断试验表明,在加入了瘦素抗体的培养液,PBMC 的 Foxp3 相对表达量相对于加入同型对照抗体培养液的 Foxp3 相对表达量明显升高,进一步佐证了 PBMC 分泌的瘦素参与了哮喘患儿体内 Foxp3 的调节,其可能的机制是其抑制了 Foxp3 的表达,从而抑制了 CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫调节功能。

综上所述,哮喘患儿血浆瘦素浓度明显增加,与其 BMI 并无明显相关性,增加的瘦素部分来源于 PBMC 的分泌,PBMC 分泌的瘦素对 Foxp3 的表达起抑制作用,其可能通过抑制 Foxp3 的表达,进而抑制了 CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫调节作用,而其具体机制的进一步研究将为哮喘的防治提供新的思路。

参考文献:

- [1] Sood A. Obesity, adipokines, and lung disease[J]. J Appl Physiol, 2010, 108(3): 744-753.
 - [2] Papoutsakis C, Priftis KN, Drakouli M, et al. Childhood overweight/obesity and asthma: is there a link? A systematic review of recent epidemiologic evidence [J]. J Acad Nutr Diet, 2013, 113(1): 77-105.
 - [3] Sole D. Obesity and asthma[J]. Rev Paul Pediatr, 2013, 31(2): 136-137.
 - [4] Ray A, Khare A, Krishnamoorthy N, et al. Regulatory T cells in many flavors control asthma[J]. Mucosal Immunol, 2010, 3(3): 216-229.
 - [5] Zhang M, Qian YY, Chai SJ, et al. Enhanced local Foxp3 expression in lung tissue attenuates airway inflammation in a mouse model of asthma[J]. J Asthma, 2014, 51(5): 451-458.
 - [6] 中华医学会儿科学分会呼吸组. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(10): 745-753.
- The Subspecialty Group of Respiratory Diseases, The Society of Pediatrics, Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of bronchial asthma in children[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2008, 46(10): 745-753.

(下转 64 页)

Claudin-4 的表达水平与紧密连接的结构密切相关。本研究结果还显示,无论是正常对照内膜组织还是子宫内膜异位症在位内膜组织,增生期子宫内膜的 Claudin-4 mRNA 表达量均显著高于分泌期,提示子宫正常内膜 Claudin-4 mRNA 的表达可能依赖于孕激素调节,同时也表明这种正常生理分化导致的 Claudin-4 mRNA 降低可能与已经研究的某些肿瘤细胞恶性分化表现为 Claudin-4 表达低下的现象是相似的^[8,9]。

综上所述,通过对紧密连接蛋白 Claudin-4 在内异症患者位、异位子宫内膜组织中表达情况的研究,我们发现异位子宫内膜组织中 Claudin-4 的低表达可能参与了内异症的发病。

参考文献:

- [1] 谢志贤,刘倩.血清 CA199 检测对子宫内膜异位症的诊治意义[J].现代检验医学杂志,2006,21(1):60-62.
Xie ZX, Liu Qian. To study the significance in endometriosis diagnosis by determination of serum CA199 [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2006, 21(1): 60-62.
- [2] 王爽,张晓玲. Ang-2, VEGF 在卵巢子宫内膜异位症中表达及相关性研究[J].实用妇产科杂志,2010,26(8):594-597.
Wang S, Zhang XL. Expression of angiopoietin-2, vascular endothelial growth factor and their correlation in patients with ovarian endometriosis [J]. Journal of Practical Obstetrics and Gynecology, 2010, 26(8): 594-597.
- [3] 孙京花,陈旭,苏显都,等.白细胞介素-10 基因多态性与子宫内膜异位症易感性关系的 Meta 分析[J].现代检验医学杂志,2014,29(5):89-92.
Sun JH, Chen X, Su XD, et al. Meta-analysis on interleukin-10 polymorphisms and endometriosis susceptibility [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(5): 89-92.
- [4] Nagase S, Doyama R, Yagi K, et al. Recent advances in Claudin-targeting technology [J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(5): 708-714.
- [5] Ding L, Lu Z, Lu Q. The claudin family of proteins in human malignancy: a clinical perspective [J]. Cancer Manag Res, 2013, 5(8): 367-375.
- [6] Furuse M, Fujita K, Hiragi T, et al. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin [J]. J Cell Biol, 1998, 141(7): 1539-1550.
- [7] 向若兰,苏运超,裴晓庆,等.紧密连接蛋白 Claudin-4 的研究进展[J].生理科学进展,2012,43(4):310-314.
Xiang RL, Su YC, Pei XQ, et al. The research progress of tight junction proteins claudin 4 [J]. Progress in Physiological Sciences, 2012, 43(4): 310-314.
- [8] Soini Y. Expression of claudins 1, 2, 3, 4, 5 and 7 in various types of tumours [J]. Histopathology, 2005, 46(5): 551-560.
- [9] Lee KW, Lee NK, Kim JH, et al. Twist1 causes the transcriptional repression of claudin-4 with prognostic significance in esophageal cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 423(3): 454-460.

收稿日期:2016-04-21

修回日期:2016-05-21

(上接 61 页)

- [7] Saboktakin L, Bilan N, Nikniaz A, et al. Study on serum Leptin level of children with asthma [J]. Life Science Journal, 2012, 9(4): 1415-1419.
- [8] De Rosa V, Procaccini C, Call G, et al. A key role of leptin in the control of regulatory T cell proliferation [J]. Immunity, 2007, 26(2): 241-255.
- [9] Sood A, Ford ES, Camargo CA Jr. Association between leptin and asthma in adults [J]. Thorax, 2006, 61(4): 300-305.
- [10] Gurkan F, Atamer Y, Ece A, et al. Serum leptin levels in asthmatic children treated with an inhaled corticosteroid [J]. Annals Allergy Asthma Immunol, 2004, 93(3): 277-280.
- [11] Mai XM, Bottcher MF, Leijon I. Leptin and asthma in overweight children at 12 years of age [J]. Pediatr Allergy Immunol, 2004, 15(6): 523-530.
- [12] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance [J]. Cell, 2008, 133(5): 775-787.
- [13] 胡斯明,罗雅玲,赖文岩,等.调节性 T 细胞/Th17 在支气管哮喘小鼠气道炎症过程中的变化 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(19): 2881-2884.
Hu SM, Luo YL, Lai WY, et al. Evolvement of Treg/Th17 imbalance in the process of airway inflammation in a mice asthmatic model [J]. China Journal of Modern Medicine, 2009, 19(19): 2881-2884.
- [14] Matarese G, Carrieri PB, La Cava A, et al. Leptin increase in multiple sclerosis associates with reduced number of CD4 + CD25 + regulatory T cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(4): 5150-5155.
- [15] 赵秋剑,王登峰.支气管哮喘患者变应原检测及免疫分子研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(6): 96-98.
Zhao QJ, Wang DF. Study on allergen detection and immune molecules in the patients with bronchial asthma [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(6): 96-98.
- [16] Taffin C, Favier B, Baudhuin J, et al. Human endothelial cells generate Th17 and regulatory T cells under inflammatory conditions [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(7): 2891-2896.

收稿日期:2016-01-09

修回日期:2016-03-03