

# Preliminary Study of CD14 CD105 Double Positive Cells in Peripheral Blood of Patients with Wheezing in Children

Yanfeng Ying<sup>1</sup>, Meiyang Lv<sup>2</sup>, Juan Du<sup>2</sup>, Rongrong Hu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Zoonosis, Medical School, Jinhua Polytechnic College, Jinhua Zhejiang

<sup>2</sup>Yongkang first people's Hospital, Yongkang Zhejiang

<sup>3</sup>Yongkang Xicheng Street Community Health Service Center, Yongkang Zhejiang

Email: yingyf999@126.com

Received: May 9<sup>th</sup>, 2017; accepted: May 28<sup>th</sup>, 2017; published: May 31<sup>st</sup>, 2017

## Abstract

**Objective:** Using CD14 CD105 double positive cells as the surface markers of airway smooth muscle stem cells in peripheral blood mononuclear cells is to understand the relationship between asthma and wheezing in children, and to provide evidence for the early diagnosis of asthma. **Methods:** Randomly selecting 5-year-old children with wheezing, in the same age group as the control group, the CD14 CD105 double positive cells were measured by flow cytometry. **Results:** The CD14 CD105 positive cells of 35 cases were  $12.67\% \pm 5.56\%$ , while the control group was  $4.84 \pm 1.39\%$ , which was significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The proportion of CD14 CD105 positive cells in the peripheral blood of asthmatic children was significantly higher than that in the normal control group, which suggested that there might be some correlation between the children wheezing and the increase of airway smooth muscle stem cells.

## Keywords

Wheezing, Airway Smooth Muscle Stem Cells, Asthma

# 喘鸣患儿外周血单个核CD14 CD105双阳性细胞测定初步研究

应延风<sup>1</sup>, 吕美艳<sup>2</sup>, 杜娟<sup>2</sup>, 胡融融<sup>3</sup>

<sup>1</sup>金华职业技术学院, 浙江 金华

<sup>2</sup>永康人民医院, 浙江 永康

<sup>3</sup>永康市西城街道社区卫生服务中心, 浙江 永康

Email: yingyf999@126.com

收稿日期: 2017年5月9日; 录用日期: 2017年5月28日; 发布日期: 2017年5月31日

## 摘要

**目的:** 采用外周血单个核上CD14 CD105双阳性细胞作为气道平滑肌干细胞表面标志, 了解其与儿童哮喘的关系, 为哮喘的早期诊断提供依据。**方法:** 随机选取5岁以下喘息儿童, 以同年龄组为对照组, 用流式细胞仪测定外周血单个核CD14 CD105双阳性细胞。**结果:** 35例哮喘组患儿, CD14 CD105双阳性细胞为 $12.67\% \pm 5.56\%$ , 而30例对照组为 $4.84 \pm 1.39\%$ , 有显著性意义( $P < 0.01$ )。**结论:** 喘息儿童中外周血CD14 CD105双阳性细胞比例显著高于正常对照组, 提示儿童喘息与气道平滑肌干细胞增高之间可能有某种关联。

## 关键词

喘息, 气道平滑肌干细胞, 哮喘

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

目前研究已表明, 在哮喘病人中存在气道重塑现象, 表现为气道平滑肌增生, 这些增生的气道平滑肌至少来源于两个方面, 从原位纤维母细胞转化, 或气道平滑肌干细胞经血流迁移到气道而形成[1]。目前, 认为外周血单个核 CD14 CD105 双阳性细胞可作为气道平滑肌干细胞的标志[2], 从成人研究发现, 喘息病人的外周血中存在外周血气道平滑肌干细胞过度增长现象, 而这现象能否作为儿童哮喘的诊断依据, 本研究通过喘息儿童外周血单个核细胞 CD14 CD105 双阳性细胞测定, 了解与喘息的关系, 为哮喘的早期诊断提供依据。

## 2. 病例选择和实验方法

### 2.1. 病例选择标准

于本院门诊或住院的5岁以下喘息儿童35例, 其中男20例, 女15例, 平均年龄 $2.4 \pm 1.8$ 岁, 对照组30例, 其中男19例, 女11例, 平均年龄 $2.8 \pm 2.3$ 岁。纳入标准为临床可见喘息症状, 同时肺部可闻及呼气期哮鸣音。排除标准: 有各种并发症、营养不良和维生素D缺乏症、先天性疾病如支气管肺发育不良、先天性心脏病等。

### 2.2. 研究方法

随机选取符合选择条件病人, 发作时抽取肝素抗凝外周血4 ml, 进行气道平滑肌干细胞分离测定。具体方法简述如下: 外周血用PBS稀释后按1:1的体积比缓慢叠加于单个核细胞分离液(HISTOPAQUE-1077)上, 保持界面清晰, 室温水平离心400 g, 30 min后, 吸取分离液与上层交界部位单个核细胞层。分别加入荧光直标的单克隆抗体PE-CD105、FITC-CD14、及相应的同型IgG (BD Biosciencesphamingen公司产品)

作为对照, 4℃下避光孵育 30 min 后, PBS 洗涤并离心, 用 500 μL 10 g/L 多聚甲醛重悬细胞后流式细胞仪 (Becton Dikison FACS Calibur) 检测, 软件定量分析, 阳性细胞率通过纠正对照的百分率计算。

### 3. 结果

结果如表 1 和图 1 所示:

结果表明外周血中喘鸣组患儿单个核 CD14 CD105 双阳性细胞比例显著高于正常对照组( $P < 0.01$ )。

### 4. 讨论

研究结果表明喘息儿童中外周血 CD14 CD105 双阳性细胞比例显著高于正常对照组, 提示儿童喘息与 CD14 CD105 双阳性细胞增高之间可能有某种关联。

一般认为 CD105 是干细胞特有的表面标志, CD14 表达于成熟细胞表面, 二者的结合对气道平滑肌干细胞的判定有一定的价值。国内研究表明, 外周血 CD14 和 CD105 双阳性的平滑肌祖细胞占贴壁细胞的  $71.8\% \pm 7.2\%$ , 并体外能稳定增殖, 可进一步分化为平滑肌细胞[2]。

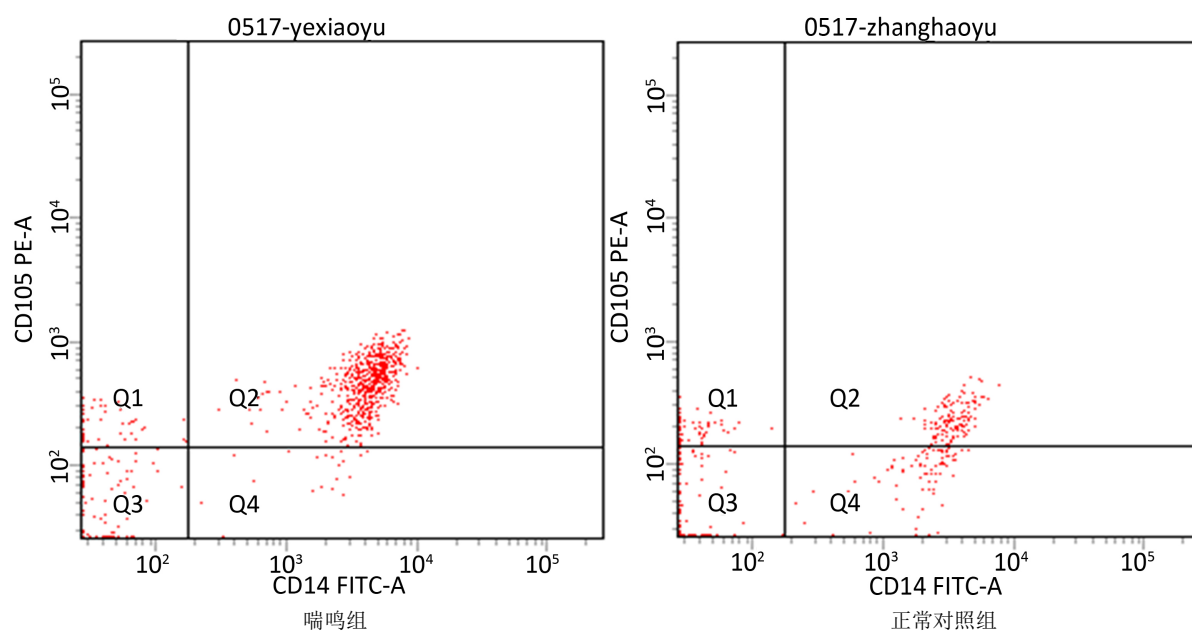
儿童喘息的出现可能与过度的外周血气道平滑肌干细胞增殖, 并迁移进入气道, 导致气道平滑肌增生, 气道张力增大, 易痉挛有关, Saunders [3]发现哮喘气道中肌成纤维细胞增多, 可能来源于循环中的 MSCs 来源的成纤维细胞趋化迁移至气道壁所导致; 还有研究发现哮喘病患肺组织中分离出的类支气管成纤维细胞, 其细胞表面标志提示其来源于 MSCs [4]。这些研究结果表明 MSCs 可能参与哮喘气道重塑

**Table 1.** Comparison of the results between wheezing group and control group

**表 1.** 喘鸣组与对照组结果比较

	例	年龄 (Y)	CD14 <sup>+</sup> CD105 <sup>+</sup> (%)
喘鸣组	35	2.4 ± 1.8	12.67 ± 5.56*
对照组	30	2.8 ± 2.3	4.84 ± 1.39

t 检验, \* $P < 0.01$ , 与对照组比较。



**Figure 1.** Flow cytometry results of airway smooth muscle stem cells in peripheral blood mononuclear cells

**图 1.** 外周血单个核中气道平滑肌干细胞流式细胞仪检测结果

中肌成纤维细胞的形成。

有研究表明, 在哮喘病人中外周血气道平滑肌干细胞表达增加, Wang 等[5]检测了哮喘和 COPD 病人外周血中表达 I 型胶原(COL-I)和 CD45<sup>+</sup>和/或 CD34<sup>+</sup>的成纤维细胞祖细胞(CD34<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>Col-I<sup>+</sup> cells) (用  $\alpha$ -smooth muscle actin  $\alpha$ -肌动蛋白鉴定)发现其在有肺功能损害病人中显著增高, 并能经 TGF-b (转化因子 b)转化成肌成纤维细胞, 伴有肺功能损害的哮喘病人其占 NANT (非粘附非 T 细胞)达 27.6%  $\pm$  3.2%, 而无肺功能损害哮喘和正常对照中仅为 6.4%左右。在胡海洋[6]博士论文研究中发现: 哮喘组大鼠的外周血单个核细胞中平滑肌祖细胞(SM-MHC(平滑肌肌凝蛋白重链)和 CD34<sup>+</sup>)含量要高于正常对照组大鼠。认为在哮喘状态下平滑肌祖细胞可能在受到特定炎症因子刺激下, 数量上升并参与到哮喘的致病过程中。另有研究表明, 哮喘中可能存在成纤维细胞祖细胞更易转化为肌成纤维细胞[7]。用卵蛋白刺激的小鼠哮喘模型中也发现 CD45 阴性和表达 Stro-1、Sca-1、CD73 和 CD105 阳性的成纤维细胞祖细胞在肺内定植增加[8]。这些结果表明外周血中气道平滑肌干细胞可能与哮喘气道重塑有关。

本研究结果仅涉及患儿喘鸣发作时情况, 与发作前后及频度等尚未考虑, 同时由于外周血中气道平滑肌干细胞表面标志目前有尚未一致, 所以引入到临床诊断尚须进一步研究。

## 基金项目

浙江省科技厅立项课题(编号: 2013C33105); 金华市科技局立项课题(编号: 2012-3-096)。

## 参考文献 (References)

- [1] Berair, R., Saunders, R. and Brightling, C.E. (2013) Origins of Increased Airway Smooth Muscle Mass in Asthma. *BMC Medicine*, **11**, 145. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-145>
- [2] 周学凯, 倪旭东, 李飞, 等. 成人外周血平滑肌祖细胞的体外培养[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(14): 2587-2591.
- [3] Saunders, R., Siddiqui, S., Kaur, D., et al. (2009) Fibrocyte Localization to the Airway Smooth Muscle Is a Feature of Asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **123**, 376-384. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.10.048>
- [4] Sabatini, F., Petecchia, L., Taviani, M., et al. (2005) Human Bronchial Fibroblasts Exhibit a Mesenchymal Stem Cell Phenotype and Multilineage Differentiating Potentialities. *Laboratory Investigation*, **85**, 962-971. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700300>
- [5] Wang, C.H., Huang, C.D., Lin, H.C., et al. (2008) Increased Circulating Fibrocytes in Asthma with Chronic Airflow Obstruction. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **178**, 583-591. <https://doi.org/10.1164/rccm.200710-1557OC>
- [6] 胡海洋. 平滑肌祖细胞参与哮喘气道重塑的探索性研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [7] Larsen, K., Macleod, D., Nihlberg, K., et al. (2006) Specific Haptoglobin Expression in Bronchoalveolar Lavage during Differentiation of Circulating Fibroblast Progenitor Cells in Mild Asthma. *Proteome Research*, **5**, 1479-1483. <https://doi.org/10.1021/pr050462h>
- [8] Bentley, J.K., Popova, A.P., Bozyk, P.D., et al. (2010) Ovalbumin Sensitization and Challenge Increases the Number of Lung Cells Possessing a Mesenchymal Stromal Cell Phenotype. *Respiratory Research*, **11**, 127. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-11-127>

**期刊投稿者将享受如下服务：**

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[jps@hanspub.org](mailto:jps@hanspub.org)