

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002931

探讨嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c、FcεRI 在哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠的表达

张玉娇¹, 何韶衡², 张慧云², 吴久纯¹, 刘敬禹¹

(1. 锦州医科大学附属第三医院呼吸科, 锦州 121002;

2. 锦州医科大学附属第一医院变态反应与临床免疫研究中心, 锦州 121001)

【摘要】目的:通过对哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠(asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap, ACO)患者急性期与缓解期嗜碱性粒细胞表面分子表达水平的测量比较,探讨其与病情的关系。**方法:**招募健康人 32 例,收集锦州医科大学附属第三医院治疗的 ACO 患者急性期及缓解期各 14 例,采集肘部静脉血,使用流式细胞术应用 3 种设门策略获得嗜碱性粒细胞,比较不同时期患者嗜碱性粒细胞表面分子(CD63、CD203c、FcεRI)表达水平与健康组的差异,并对结果和疾病状态进行回顾性研究。**结果:**急性期嗜碱性粒细胞 CD63 平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)较健康组有统计学差异($P<0.05$),急性期 CD203c、FcεRI MFI 较健康组无统计学差异;缓解期 CD63、FcεRI MFI 较健康组有统计学差异($P<0.05$),缓解期 CD203c MFI 较健康组无统计学差异($P>0.05$),急性期与缓解期比较,嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c、FcεRI MFI 没有统计学差异。急性期、缓解期 CCR3⁺、CCR3⁺/CD123⁺HLA-DR⁻、CD123⁺HLA-DR⁻ MFI 较健康组有统计学差异($P<0.001$)。**结论:**ACO 患者嗜碱性粒细胞表面分子 CD63、FcεRI 表达增强,表明嗜碱性粒细胞参与了 ACO 发病,检测其表面分子表达量对 ACO 病情的判断有提示意义。

【关键词】哮喘;慢性阻塞性肺疾病;嗜碱性粒细胞;CD63;CD203c;FcεRI

【中图分类号】R562

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-04-16

Investigation on the expression of basophil CD63, CD203c and FcεRI in the overlap of asthma and chronic obstructive pulmonary disease

Zhang Yujiao¹, He Shaoheng², Zhang Huiyun², Wu Jiuchun¹, Liu Jingyu¹

(1. Department of Respiratory Medicine, The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University;

2. Research Center for Allergy and Clinical Immunity, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the relationship between the expression level of basophil surface molecules in patients with asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap (ACO) in acute period and in remission period. **Methods:** Totally 32 healthy people and respectively 14 cases of acute and remission ACO patients admitted to The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University were collected in the study. By collecting the venous blood from the elbow, the basophils were obtained by flow cytometry using three gating strategies. In order to compare the expression levels of basophil surface molecules (CD63, CD203c, FcεRI) between patients and healthy groups at different stages, the results and disease states were retrospectively studied. **Results:** The mean fluorescence intensity (MFI) of CD63 in acute basophil was significantly different from that in healthy group ($P<0.05$), and there was no significant difference in CD203c and FcεRI in acute basophil compared with that in healthy group. The MFI of CD63 and FcεRI in the remission phase was significantly different from that in the healthy group ($P<0.05$), and the MFI of CD203c in the remission phase was not significantly different from that in the healthy group ($P>0.05$). There were no significant differences in the MFI of CD63, CD203c and FcεRI in the basophil between the acute phase and the remission phase. The MFI of CCR3⁺, CCR3⁺/CD123⁺HLA-DR⁻ and CD123⁺HLA-DR⁻ in acute and remission stages was significantly different from that in healthy groups ($P<0.001$). **Conclusion:** The expression of CD63

作者介绍: 张玉娇, Email: 458450941@qq.com,

研究方向: 类胰蛋白酶受体在哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠的表达。

通信作者: 刘敬禹, Email: liujingyu0416@163.com。

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(编号: 201602299)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20211206.1503.002.html>
(2021-12-07)

and FcεRI on the surface of basophil in the ACO patients is enhanced, suggesting that basophil is involved in the pathogenesis of ACO, and the detection of its surface molecular expression is suggestive to the judgment of ACO condition.

【Key words】 asthma; chronic obstructive pulmonary disease; basophil; CD63; CD203c; FcεRI

哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠 (asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap, ACO) 同时具有支气管哮喘和慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 的特征, 既表现为气道高反应也表现为持续性气流受限, 其发病机制与气道慢性炎症有关。ACO 的疾病基础之一是哮喘, 哮喘长期反复发作后可发生气道重塑引起气道阻塞^[1], 也可以是 COPD 患者免疫功能紊乱发生哮喘。嗜碱性粒细胞既参与哮喘的发作, 也与肺气肿^[2]形成相关, 因此推断嗜碱性粒细胞参与 ACO 发作。CD63 和 CD203c 被认为是嗜碱性粒细胞活化的重要标志^[3], 用于诊断各种变态反应性疾病、评估哮喘发作频率^[4]、检测免疫疗法的疗效等, 因此 CD63、CD203c 的量变提示炎症程度的变化, 可用于评估气道炎症程度。本研究通过运用流式细胞仪检测 ACO 患者中嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c、FcεRI 的表达并与健康组进行比较, 用以评估 ACO 的病情、诊疗效果及预后。

1 材料和方法

1.1 实验试剂及仪器

主要试剂: APC 偶联抗人 CCR3 抗体、FITC 偶联抗人 CD123 抗体、APC/Cy7 偶联抗人 HLA-DR 抗体、PE/Cy7 偶联抗人 CD63 抗体、PE 偶联抗人 CD203c 抗体、PerCP 偶联 FcεRI 抗体、BV510 偶联抗人 zombieBV510、FcR 阻断剂、红细胞裂解液等购自美国 Biolegend 公司。PBS 缓冲液购自 Solarbio(USA)。FACSVerse 流式细胞仪购自 BD Biosciences(USA)。

1.2 研究对象

选取 2018 年 4 月至 2019 年 8 月锦州医科大学附属第三医院急诊或门诊部 ACO 患者急性期 14 例、缓解期 14 例、健康组 32 例, 其一般资料见表 1。ACO 的急性加重期与缓解期诊断根据临床病史、症状、检查结果和肺功能参数, 符合国际指南。本研究获得锦州医科大学附属第三医院伦理委员会批准, 患者均签订知情同意书。

表 1 60 例患者的一般资料

组别	年龄/岁	女/男	病史/年	发病年龄/岁
急性期(n=14)	59(43~75)	8/6	7	58
缓解期(n=14)	54(43~73)	8/6	5	57
健康组(n=32)	30(24~45)	16/16	-	-

注: 年龄、病史、发病年龄均表示为中位数(极小值~极大值)

1.3 研究方法

采集患者外周血 4 mL, 于肝素钠抗凝管中 4℃保存 30 min 内送检, 做好编号, 以 1 200 r/min 离心患者血液 10 min, 抽出血浆, 并补充 1640 培养基, 移液并混合; 标 2 mL EP 管, 分别标为 A-同型管、B-实验管, 每管用移液枪量取 120 μL 新鲜外周血于标好的 EP 管中; 每管分别加入 1 μL 僵尸染料 (Zombie Aqua-BV510) 排除死细胞, 室温避光孵育 15 min; 添加标记有荧光染料的抗体, 如下: A 管及 B 管分别加入 5 μL FITC-CD123、APC-CCR3、APC/Cy7-HLA-DR 标记嗜碱性粒细胞, B-实验管加入 5 μL PE-CD203c、PerCP-FcεRI、PE/Cy7-CD63, 对于 A 型同型管, 添加 1 μL 相应的同型抗体, 并在黑暗中于室温下孵育 15 min; 向每个试管中加入 1.5 mL 红细胞裂解液, 轻轻吹打进行混合, 并在室温下避光孵育 12 min; 1 200 r/min 离心 6 min, 弃去含有大量红细胞碎片的红色上清液; 向每个试管中加入 1 mL 1×PBS, 并通过移液枪轻轻将细胞混合; 继续以 1 200 r/min 将血液离心 6 min, 弃去上清液; 向每个试管中加入 200 μL PBS, 应用流式仪器进行上机检测; Flowjo 软件分析上机所得流式实验数据。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 13.0 进行统计学分析。非正态计量资料采用 $M_d(P_{25}, P_{75})$ 表示, 并使用非参数检验 Mann-Whitney 检验分析数据。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 流式数据统计值汇总

急性期嗜碱性粒细胞 CD63 平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI) 较健康组有统计学差异 ($P<0.05$), 急性期 CD203c、FcεRI 较健康组无统计学差异; 缓解期 CD63、FcεRI MFI 较健康组有统计学差异 ($P<0.05$), 缓解期 CD203c MFI 较健康组无统计学差异 ($P>0.05$), 急性期与缓解期比较, 嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c、FcεRI MFI 没有统计学差异; 急性期、缓解期 CCR3、CCR3*CD123*HLA-DR⁻、CD123*HLA-DR⁻ MFI 较健康组有统计学差异 ($P<0.001$) (表 2、表 3)。

2.2 3 种设门策略获得嗜碱性细胞及 CD63、CD203c、FcεRI 百分比、MFI

3 种策略获得嗜碱性粒细胞 (图 1), 单个核细胞群急性期缓解期 CCR3*CD123*HLA-DR⁻ 及 CD123*HLA-DR⁻ 百分比较健康组表达增加, CCR3*百分比较健康组无统计学差异 (图 2); 粒细胞群下 3 种方法获得嗜碱性粒细胞百分比较健康组无差异 (图 3); 单个核细胞群及粒细胞群急性期缓解期 CCR3⁺、CCR3*CD123*HLA-DR⁻、CD123*HLA-DR⁻ MFI 表达均增强 (图 4)。急性期 CD63 MFI 表达增强, 缓解期 CD63、FcεRI MFI 表达增强 (图 5、图 6)

表 2 单个核细胞群比较

组别		CCR3 ⁺				CCR3 ⁺ CD123 ⁺ HLA-DR ⁻				CD123 ⁺ HLA-DR ⁻			
		百分比		MFI		百分比		MFI		百分比		MFI	
		Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值
急性期	CD63	-1.583	0.113	-3.820	0.000	-2.716	0.030	-4.703	0.000	-2.634	0.008	-3.581	0.000
	CD203c	-2.435	0.015	-1.683	0.092	-1.053	0.293	-0.286	0.775	-1.899	0.058	-0.394	0.694
	FcεRI	-0.036	0.971	-2.018	0.044	-1.655	0.098	-0.967	0.334	-1.686	0.092	-1.074	0.283
缓解期	CD63	-3.622	0.000	-3.868	0.000	-0.512	0.609	-4.106	0.000	-1.822	0.069	-3.486	0.000
	CD203c	-4.799	0.000	-2.713	0.030	-0.619	0.536	-0.931	0.352	-0.442	0.659	-0.979	0.328
	FcεRI	-2.245	0.025	-4.990	0.000	-0.674	0.500	-3.939	0.000	-1.686	0.092	-3.963	0.000

表 3 粒细胞群比较

组别		CCR3 ⁺				CCR3 ⁺ CD123 ⁺ HLA-DR ⁻				CD123 ⁺ HLA-DR ⁻			
		百分比		MFI		百分比		MFI		百分比		MFI	
		Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值	Z 值	P 值
急性期	CD63	-2.704	0.007	-1.910	0.056	0.000	1.000	-3.748	0.000	-2.712	0.030	-2.913	0.004
	CD203c	-1.050	0.294	-0.442	0.659	-0.944	0.345	-0.860	0.390	-0.191	0.849	-0.931	0.352
	FcεRI	-0.597	0.551	-1.743	0.081	-0.561	0.575	-0.645	0.519	-0.442	0.659	-1.480	0.139
缓解期	CD63	-1.731	0.083	-2.215	0.034	0.000	1.000	-2.817	0.005	-1.497	0.134	-2.531	0.011
	CD203c	-2.459	0.014	-1.767	0.077	-1.628	0.103	-1.958	0.050	-1.003	0.316	-2.531	0.011
	FcεRI	-1.050	0.293	-3.593	0.000	-1.283	0.199	-3.366	0.001	-0.943	0.346	-3.259	0.001

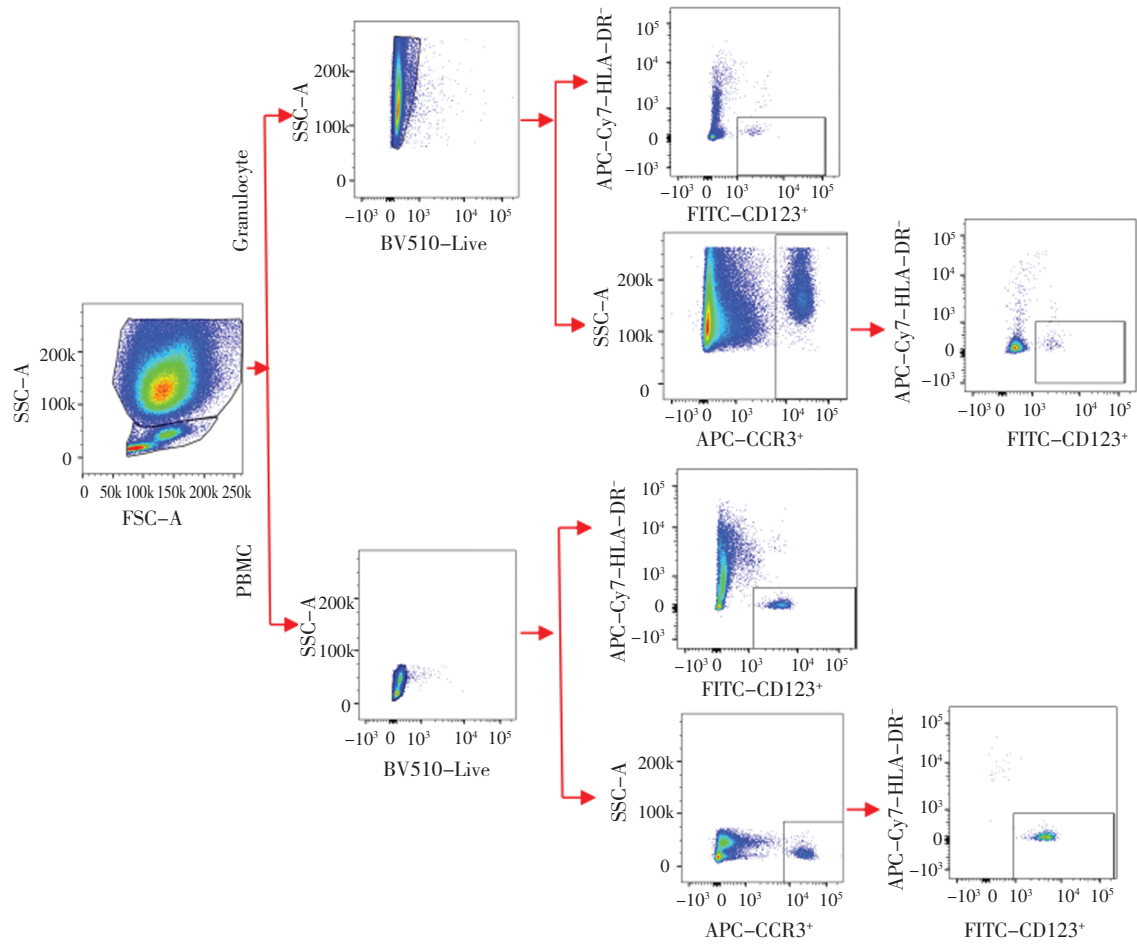


图 1 流式获得嗜碱性粒细胞策略图

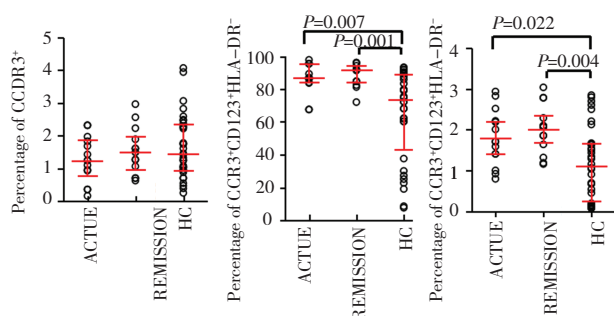


图2 单个核细胞群 3 种方法测得嗜碱性粒细胞百分比比较

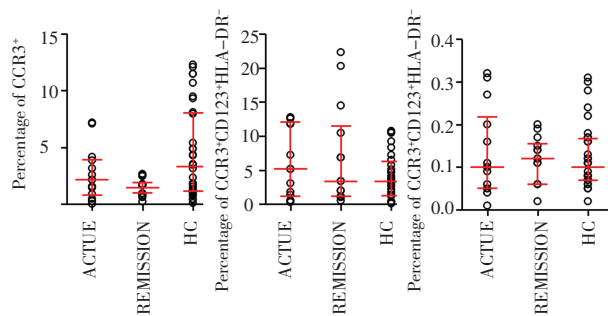


图3 粒细胞群 3 种方法测得嗜碱性粒细胞百分比比较

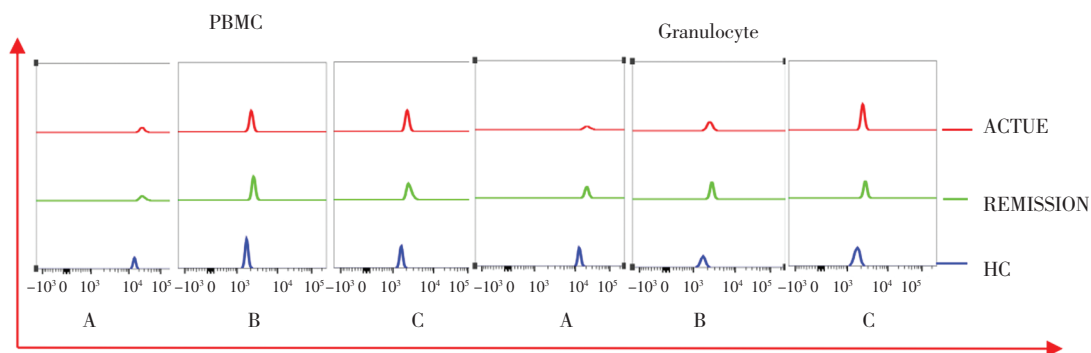


图4 单个核及粒细胞群 3 种方法获得嗜碱性粒细胞的 MFI 比较

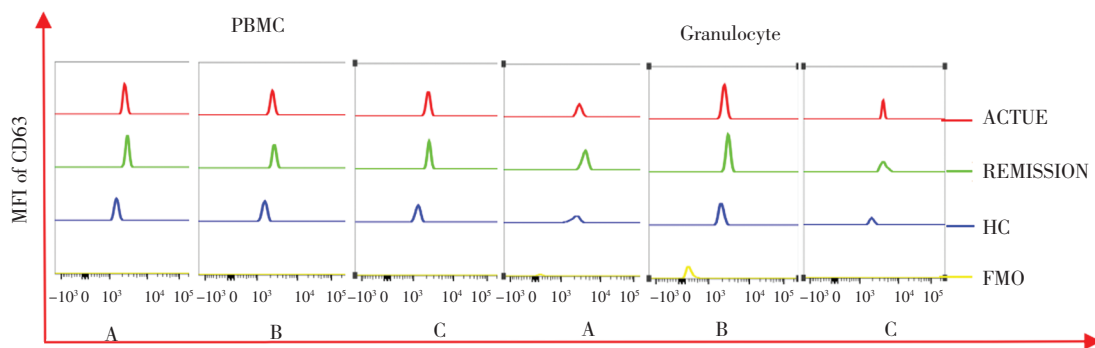


图5 3 种方法获得嗜碱性粒细胞表达 CD63 的 MFI 比较

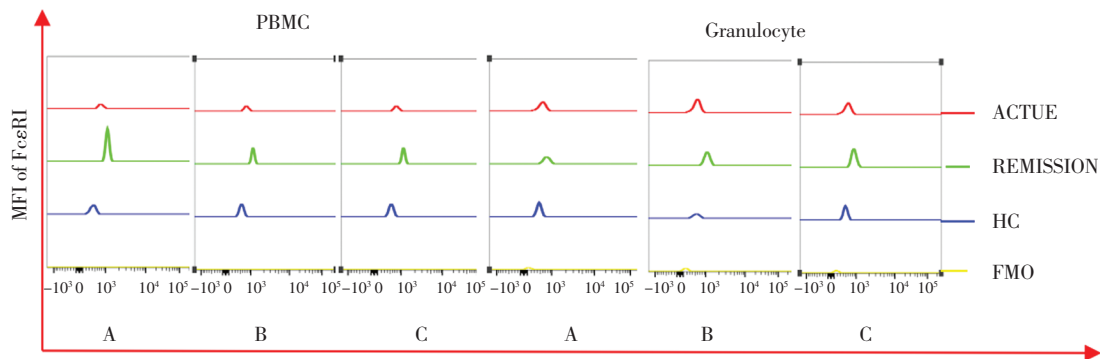
注: A, CCR3⁺; B, CCR3⁺/CD123⁺/HLA-DR⁻; C, CD123⁺/HLA-DR⁻; FMO: 同型对照

图6 3 种方法获得嗜碱性粒细胞表达 FcεRI 的 MFI 比较

3 讨论

嗜碱性粒细胞作为参与过敏性炎症反应的重要细胞,通过释放大量炎症介质促进支气管血流量增加,增加血管通透性,促进黏液分泌,引起支气管收缩,还可以招募嗜酸性粒细胞聚集。哮喘患者在过敏原刺激下的嗜碱性粒细胞可通过 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 及非 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 途径激活^[5],通过不同的通路表达 CD63、CD203c^[6],哮喘急性期 CD63^[7]及 CD203c 表达增加^[8],缓解期下降。有研究表明,经过 20 年随访,有 16% 的哮喘患者可能具有不完全可逆的气流受限,并表现出类似 COPD 的症状^[9],嗜碱性粒细胞不仅与哮喘相关症状、气道高反应性与 IgE 增加有关^[10],还与 COPD 的发展相关,关于嗜碱性粒细胞参与 COPD 的发病机制尚不完全清楚,但有报道称在 COPD 鼠模型中发现嗜碱性粒细胞可衍生白介素-4,作用于浸润肺的单核细胞并促进其分化为基质金属蛋白酶-12/巨噬细胞金属弹性蛋白酶抗体,从而产生间质巨噬细胞导致肺泡壁破坏,并导致肺气肿发展^[2];亦有文献称嗜碱性粒细胞通过白介素-8^[11]参与 COPD 发病,在不同程度 COPD 患者肺组织病理活检中发现嗜碱性粒细胞在 COPD 发病中具有潜在作用^[12]、COPD 患者病情严重程度与嗜碱性粒细胞呈显著正相关^[13],这均提示嗜碱性粒细胞参与 ACO 发病。目前对哮喘合并慢性阻塞性肺疾病嗜碱性粒细胞的表达水平尚少报道。外周血中嗜碱性粒细胞数量极少,虽然应用流式细胞术有多种门控策略可以获得嗜碱性粒细胞,但最佳策略很难确定,因此本研究选择其中 3 种门控策略,即 CCR3^{+14} 、 $\text{CD123}^{+}\text{HLA-DR}^{-15}$ 和 $\text{CCR3}^{+}\text{CD123}^{+}\text{HLA-DR}^{-16}$ 细胞来表示本研究中的嗜碱性粒细胞,分别检测 CD63、CD203c 和 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 的表达。

本研究结果表明,3 种设门策略获得嗜碱性粒细胞的荧光强度与健康组相比具有统计学差异,这提示嗜碱性粒细胞参与 ACO 急性期、缓解期的发作。在获得嗜碱性粒细胞的 3 种策略中,CCR3⁺不能完全代表嗜碱性粒细胞,因为 CCR3 不仅表达于多种过敏炎症相关的细胞包括嗜碱性粒细胞、肥大细胞、Th2 类细胞及固有组织细胞如气道上皮细胞上,还可以作为招募嗜酸性粒细胞的趋化因子,召集嗜酸性粒细胞参与多种过敏反应,因此单个核细胞群

中有一小部分淋巴细胞表达 CCR3^[17],粒细胞群中嗜酸性粒细胞亦表达 CCR3^[18];CD123⁺/HLA-DR⁻在粒细胞群中可以是骨髓源性抑制细胞^[19],仅仅在单个核细胞群中能代表嗜碱性粒细胞^[20];CCR3⁺CD123⁺HLA-DR⁻细胞群中 98%~100% 是嗜碱性粒细胞^[21],因此单个核及粒细胞群下 CCR3⁺CD123⁺HLA-DR⁻设门下可真实反映嗜碱性粒细胞粒 CD63、CD203c、 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 的表达水平,CCR3⁺及 CD123⁺HLA-DR⁻只能部分代表嗜碱性粒细胞。ACO 急性期单个核细胞群 3 种门控策略 CD63 百分比及荧光强度均表达增强、急性期粒细胞群 CCR3⁺CD123⁺HLA-DR⁻及 CD123⁺HLA-DR⁻/CD63 荧光强度表达增强,且荧光强度较健康组有统计学差异;缓解期单个核群及粒细胞群 3 种门控策略下 CD63、 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 表达增强,荧光强度较健康组有统计学差异;急性期、缓解期 CD203c 荧光强度均未见明显变化。本实验结果提示嗜碱性粒细胞可能通过激活、脱颗粒、致敏影响 ACO 的病情。但 ACO 急性期发病不仅仅和过敏相关,也和感染、应激等相关。有研究表明,支原体肺炎^[22]、EB 病毒感染^[23]、下呼吸道感染^[24]时嗜碱性粒细胞较对照组增多、差异有统计学意义。感染是诱发哮喘发作的重要原因^[25],也是 COPD 急性期的主要诱因,ACO 患者急性期时当病原微生物感染为主导时可能通过非 IgE 途径作用于嗜碱性粒细胞,缓解期经过抗感染等导致病原微生物减少过敏原起主导作用时可通过 IgE 途径作用于嗜碱性粒细胞,这可能解释了急性期嗜碱性粒细胞 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 较健康组无差异、缓解期差异显著,但嗜碱性粒细胞在感染性炎症是否表达 CD63 CD203c 及 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 及较健康组有无差异尚不清楚。嗜碱性粒细胞在 COPD 的表达亦不清楚,需要进一步研究探索。本实验结果与嗜碱性粒细胞在单纯哮喘的表达不完全一致,但检测嗜碱性粒细胞的表面分子可以帮助确定嗜碱性粒细胞的状态。

综上所述,ACO 患者嗜碱性粒细胞 CD63、 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 与健康组有统计学差异,这表明活化的嗜碱性粒细胞参与了 ACO 的发病机制。因此,阻止嗜碱性粒细胞的活化可能有助于控制 ACO 的急性发作及恶化。

参考文献

- [1] Amaral JLM, Lopes AJ, Veiga J, et al. High-accuracy detection of airway obstruction in asthma using machine learning algorithms and forced oscillation measurements[J]. Comput Methods Programs Biomed,

- 2017, 144: 113–125.
- [2] Shibata S, Miyake K, Tateishi T, et al. Basophils trigger emphysema development in a murine model of COPD through IL-4-mediated generation of MMP-12-producing macrophages[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(51): 13057–13062.
- [3] Kabashima K, Nakashima C, Nonomura Y, et al. Biomarkers for evaluation of mast cell and basophil activation[J]. *Immunol Rev*, 2018, 282(1): 114–120.
- [4] 翟杰. 支气管哮喘患者的嗜碱性粒细胞水平及临床分析[J]. *中国医药指南*, 2017, 15(8): 50.
- Zhai J. Clinical analysis of basophil level in patients with bronchial asthma[J]. *Guide China Med*, 2017, 15(8): 50.
- [5] Decuyper II, Mangodt EA, Van Gasse AL, et al. *In vitro* diagnosis of immediate drug hypersensitivity anno 2017: potentials and limitations[J]. *Drugs R D*, 2017, 17(2): 265–278.
- [6] 邓真真, 潘庆军, 刘华锋. 嗜碱粒细胞 CD63 和 CD203c 表达及其与组胺释放关系的研究进展[J]. *现代免疫学*, 2014, 34(3): 247–249, 254.
- Deng ZZ, Pan QJ, Liu HF. Research progress of expression of basophil CD63 and CD203c and their relationship with histamine release[J]. *Curr Immunol*, 2014, 34(3): 247–249, 254.
- [7] 姜家利, 饶晓红, 李小双. 嗜碱性粒细胞活化状态对哮喘患儿急性发作次数的影响分析[J]. *临床肺科杂志*, 2018, 23(8): 1410–1413.
- Jiang JL, Rao XH, Li XS. Analysis of the effect of basophil activation on the number of acute attacks in children with asthma[J]. *J Clin Pulm Med*, 2018, 23(8): 1410–1413.
- [8] Abdullahi M, Ranjbaran R, Alyasin S, et al. Expression of basophil activation markers in pediatric asthma[J]. *Iran J Immunol*, 2016, 13(1): 27–36.
- [9] Vonk JM, Jongepier H, Panhuysen CIM, et al. Risk factors associated with the presence of irreversible airflow limitation and reduced transfer coefficient in patients with asthma after 26 years of follow up[J]. *Thorax*, 2003, 58(4): 322–327.
- [10] Spadaro G, Giurato G, Stellato C, et al. Basophil degranulation in response to IgE ligation is controlled by a distinctive circadian clock in asthma[J]. *Allergy*, 2020, 75(1): 158–168.
- [11] 王会娟, 王昌明, 唐灵, 等. 慢性阻塞性肺疾病模型大鼠核因子 κ B 及肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 8 的表达水平及其意义[J]. *广西医学*, 2020, 42(5): 586–590.
- Wang HJ, Wang CM, Tang L, et al. Expression levels and significance of nuclear factor kappa B, tumor necrosis factor α and interleukin 8 in rat model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Guangxi Med J*, 2020, 42(5): 586–590.
- [12] Jogdand P, Siddhuraj P, Mori M, et al. Eosinophils, basophils and type 2 immune microenvironments in COPD-affected lung tissue[J]. *Eur Respir J*, 2020, 55(5): 1900110.
- [13] 徐玉秀, 张岩, 高贤. 血常规检测对慢性阻塞性肺疾病患者预后预测作用[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(1): 69–71, 75.
- Xu YX, Zhang Y, Gao X. Predictive effect of routine blood test on prognosis of patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *South China J Prev Med*, 2020, 46(1): 69–71, 75.
- [14] Kim Z, Choi BS, Kim JK, et al. Basophil markers for identification and activation in the indirect basophil activation test by flow cytometry for diagnosis of autoimmune urticaria[J]. *Ann Lab Med*, 2016, 36(1): 28–35.
- [15] Chirumbolo S, Ortolani R, Vella A. CCR3 as a single selection marker compared to CD123/HLADR to isolate basophils in flow cytometry: some comments[J]. *Cytometry A*, 2011, 79(2): 102–106.
- [16] Zheng WJ, Wang JL, Zhu W, et al. Upregulated expression of substance P in basophils of the patients with chronic spontaneous urticaria: induction of histamine release and basophil accumulation by substance P[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2016, 32(3): 217–228.
- [17] Danilova E, Skrindo I, Gran E, et al. A role for CCL28–CCR3 in T-cell homing to the human upper airway mucosa[J]. *Mucosal Immunol*, 2015, 8(1): 107–114.
- [18] Pease JE, Williams TJ. Tipping the balance: a biased nanobody antagonist of CCR3 with potential for the treatment of eosinophilic inflammation[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(2): 552–553.
- [19] Gustafson MP, Lin Y, Maas ML, et al. A method for identification and analysis of non-overlapping myeloid immunophenotypes in humans[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121546.
- [20] Wong KJ, Timbrell V, Xi Y, et al. IgE⁺ B cells are scarce, but allergen-specific B cells with a memory phenotype circulate in patients with allergic rhinitis[J]. *Allergy*, 2015, 70(4): 420–428.
- [21] 何韶衡. 一种嗜碱性粒细胞的特异性免疫识别方法: CN104807988B[P]. 2017–02–01.
- He SH. Specific immunity recognition method for basophilic granulocyte: CN104807988B[P]. 2017–02–01.
- [22] 柳云霞, 韩志英. 支气管哮喘与肺炎支原体关系的研究新进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2019, 39(22): 1756–1760.
- Liu YX, Han ZY. New progress in the study of the relationship between asthma and *Mycoplasma pneumoniae*[J]. *Int J Respir*, 2019, 39(22): 1756–1760.
- [23] 黄璐. EB 病毒感染儿童的临床特征与实验室检查结果分析[J]. *中国医学创新*, 2020, 17(15): 148–152.
- Huang L. Analysis of clinical characteristics and laboratory results of Epstein–Barr virus infection in children[J]. *Med Innov China*, 2020, 17(15): 148–152.
- [24] 汪柳. 婴幼儿急性下呼吸道感染外周血炎症细胞因子检验分析[J]. *中国社区医师*, 2020, 36(35): 106–107.
- Wang L. Analysis of inflammatory cytokines in peripheral blood of infants with acute lower respiratory tract infection[J]. *Chin Community Dr*, 2020, 36(35): 106–107.
- [25] 钟昌潘, 黄增峰, 屠德敬. 不同年龄患者急性支气管哮喘诱发因素分析[J]. *中国乡村医药*, 2015, 22(24): 60, 63.
- Zhong CP, Huang ZF, Tu DJ. Analysis of inducing factors of acute bronchial asthma in patients of different ages[J]. *Chin J Rural Med Pharm*, 2015, 22(24): 60, 63.

(责任编辑:唐秋姗)