

论 著

软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者嗜碱性粒细胞活化情况研究

谢伟伟, 林秀联, 龙 绮, 蔡琼香

(中南大学湘雅医学院附属海口医院 耳鼻咽喉头颈外科, 海南 海口, 570208)

摘要: **目的** 探讨软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者的嗜碱性粒细胞活化情况。**方法** 选取 83 例软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者纳入观察组,另选取同时期 83 例健康体检者纳入对照组。比较 2 组嗜碱性粒细胞活化指标(CD63、CD203c 及 CD45)荧光强度,并比较观察组内不同过敏原类型、过敏原种数及 UniCAP 分级者的检测结果,采用 Spearman 秩相关分析探讨嗜碱性粒细胞活化指标荧光强度与 UniCAP 分级的关系。**结果** 观察组的嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 的荧光强度为(32.26 ± 2.23)、(50.31 ± 5.61)及(36.36 ± 5.03),分别高于对照组的(6.15 ± 1.20)、(18.28 ± 2.63)及(7.02 ± 1.36),差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组内不同过敏原类型及不同过敏原种数患者的检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);UniCAP 分级 5~6 级者的嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c、CD45 的荧光强度为(38.16 ± 3.15)、(66.73 ± 6.96)、(50.86 ± 6.59),分别高于 UniCAP 分级 3~4 级者的(29.37 ± 2.31)、(51.13 ± 5.78)、(39.10 ± 5.13)和 UniCAP 分级 1~2 级者的(18.68 ± 1.76)、(29.36 ± 3.79)、(22.32 ± 1.93),且 UniCAP 分级 3~4 级者高于 UniCAP 分级 1~2 级者,差异均有统计学意义($P < 0.05$);Spearman 秩相关分析显示,嗜碱性粒细胞活化指标 CD63、CD203c、CD45 均与 UniCAP 分级呈正相关($P < 0.05$)。**结论** 软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者嗜碱性粒细胞活化情况突出,且活化指标 CD63、CD203c、CD45 表达程度与 UniCAP 分级密切相关,具有较高的检测价值。

关键词: 软叶针葵花粉; 鱼尾葵花粉; 变态反应; 嗜碱性粒细胞活化; UniCAP 分级

中图分类号: R 392.8; R 76 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2021)16-009-04 **DOI:** 10.7619/jcmp.20211259

Study on the basophil activation situation of patients being allergic to pollen of phoenix roebelenii and fishtail palm

XIE Weiwei, LIN Xiulian, LONG Qi, CAI Qiongliang

(Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Haikou Hospital Affiliated to Xiangya School of Medicine of Central South University, Haikou, Hainan, 570208)

Abstract: Objective To investigate the basophil activation situation of patients being allergic to pollen of phoenix roebelenii and fishtail palm. **Methods** A total of 83 patients being allergic to pollen of phoenix roebelenii and fishtail palm were chosen as observation group, 83 healthy persons at the same time were chosen as control group. The fluorescence intensity of basophil activation situation (CD63, CD203c and CD45) of two groups were compared, and the detection results of observation group with different allergens, kinds and UniCAP classifications were compared, and the relationships between the fluorescence intensity of basophil activation indexes and UniCAP classifications were analyzed by Spearman rank correlation analysis. **Results** The fluorescence intensities of basophil activation of CD63, CD203c and CD45 of the observation group were(32.26 ± 2.23), (50.31 ± 5.61) and (36.36 ± 5.03), respectively, and they were significantly higher than (6.15 ± 1.20), (18.28 ± 2.63) and (7.02 ± 1.36) of the control group ($P < 0.05$). There were no statistically significant differences in detection results of the observation group with different allergens and kinds ($P > 0.05$). The fluorescence intensities of basophil activation CD63, CD203c and CD45 of the observation group with UniCAP classifications 5 to 6 were(38.16 ± 3.15), (66.73 ± 6.96) and (50.86 ± 6.59), respectively, which were significantly higher than (29.37 ± 2.31), (51.13 ± 5.78) and

收稿日期: 2021-03-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81160129); 海南省自然科学基金资助项目(811145); 海南省海口市重点科技计划项目(海科工信立[2012]72号)

(39.10 ± 5.13) of UniCAP classifications 3 to 4 and (18.68 ± 1.76), (29.36 ± 3.79) and (22.32 ± 1.93) of 1 to 2 grading of UniCAP classification. The Spearman rank correlation analysis showed the basophil activation indexes such as CD63, CD203c and CD45 were positively correlated with UniCAP classifications ($P < 0.05$). **Conclusion** The basophil activation situation of patients being allergic to pollen of phoenix roebelenii and fishtail palm are obvious, and the expression degree are close to the UniCAP classifications, so the detection value are higher.

Key words: pollen of phoenix roebelenii; pollen of fishtail palm; allergic reaction; basophil activation; UniCAP classifications

花粉过敏在临床较常见,而软叶针葵和鱼尾葵作为海南地区常见的植物,其导致的变态反应多见^[1-2]。嗜碱性粒细胞活化作为在变态反应性疾病中研究较多的指标,在花粉所致变态反应中的研究较热^[3-5],但关于软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者嗜碱性粒细胞活化的临床研究很少。鉴于此,本研究探讨了软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者嗜碱性粒细胞活化情况,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 3 月—2020 年 2 月本院收治的 83 例软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者纳入观察组,另选取同时期 83 名健康体检者纳入对照组。纳入标准:① 年龄 18~65 岁者;② 观察组患者符合《变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年,天津)》中的变应性鼻炎诊断标准,且为软叶针葵花粉和(或)鱼尾葵花粉致敏者;③ 对研究知情同意者。排除标准:① 合并慢性基础疾病者;② 2 周内发生上呼吸道感染者;③ 1 个月内应用抗过敏药物治疗者。对照组男 46 例,女 37 例,年龄 19~65 岁,平均(35.54 ± 5.93)岁。观察组男 47 例,女 36 例;年龄 20~63 岁,平均(35.35 ± 5.73)岁;过敏原为软叶针葵花粉致敏 63 例,鱼尾葵花粉致敏 50 例;过敏原种数为 1 种者 53 例(单一软叶针葵花粉致敏 33 例,鱼尾葵花粉致敏 20 例),2 种者 30 例;UniCAP 分级为 1~2 级者 30 例,3~4 级者 30 例,5~6 级者 23 例。2 组性别、年龄情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

变应性鼻炎的诊断标准:① 鼻塞、流涕、鼻痒等症状出现 2 种以上,可伴有眼痒、流泪、眼红,症状持续存在或每天累计 1 h 以上;② 鼻黏膜苍白、水肿、水样分泌物。变应原检测(皮肤点刺试

验):采用冷冻研磨法对软叶针葵花粉、鱼尾葵花粉的粗蛋白进行提取,分别采用液氮反复研磨及磷酸盐缓冲液(PBS)溶解搅拌,离心取上清液作为致敏原,将其滴于患者前臂,然后以点刺针取 1 小滴(稍大于针尖)于皮肤表层轻轻刺入,并以生理盐水作为阴性对照液,15 min 内出现红肿块或颜色改变则为阳性。入选患者可能同时合并有其他花粉过敏(皮试时为多种花粉过敏原同时检测)。

1.2 方法

采集 2 组研究对象的静脉血标本待检,将 100 μ L 抗凝血加入流式细胞专用管,以 15 μ L 变应原浸液加入,混匀,于 37 $^{\circ}$ C 下水浴 5 min,终止反应,同时设置未活化的对照,采用溶血素进行处理,时间为 10 min,离心去除上清液,将单克隆抗体加入,避光放置 20 min,离心洗涤 2 次,待检,上机检测,观察嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 的荧光强度。上述操作均由 2 名经验丰富的工作人员严格按照标准进行操作。统计并比较 2 组的嗜碱性粒细胞(CD63、CD203c 及 CD45)活化情况,并比较观察组内不同过敏原类型、过敏原种数及 UniCAP 分级者的检测结果,采用 Spearman 秩相关分析探讨嗜碱性粒细胞活化指标与 UniCAP 分级的关系。

1.3 评价标准

UniCAP 分级是评估变态反应程度的有效标准之一,以血清特异性 IgE 水平为依据进行评估,大于 0.35 kUA/L 为阳性,0 级为阴性,随着变态反应程度升高,其分级逐渐升高(1~6 级)^[6]。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 23.0 统计学软件分析数据,计数资料的比较行 χ^2 检验,计量资料的比较行 t 检验,重复测量的计量资料比较进行方差分析,研究指标间的关系分析进行 Spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组嗜碱性粒细胞活化情况比较

观察组嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 的荧光强度高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 观察组内不同过敏原类型患者的嗜碱性粒细胞活化情况比较

观察组中不同过敏原类型患者的嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 荧光强度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 观察组内不同过敏原类型患者的嗜碱性粒细胞活化情况比较($\bar{x} \pm s$)

过敏原类型	n	CD63	CD203c	CD45
软叶针葵花粉	33	32.76 ± 2.30	50.51 ± 5.50	36.39 ± 4.93
鱼尾葵花粉	20	31.90 ± 2.20	49.93 ± 5.76	37.11 ± 5.15
软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉	30	32.66 ± 2.26	50.30 ± 5.60	36.26 ± 5.06

表 3 观察组内不同过敏原种数患者的嗜碱性粒细胞活化情况比较($\bar{x} \pm s$)

过敏原种数	n	CD63	CD203c	CD45
1 种	53	32.22 ± 2.18	49.79 ± 5.39	38.28 ± 5.01
2 种	30	33.01 ± 2.31	50.62 ± 5.70	39.21 ± 5.22

2.4 观察组内不同 UniCAP 分级患者的嗜碱性粒细胞活化情况比较

观察组中不同 UniCAP 分级患者的嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 荧光强度比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),主要表现为 UniCAP 分级 5~6 级者的荧光强度高于 1~2 级及 3~4 级者,而 3~4 级者的荧光强度高于 1~2 级者,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 观察组内不同 UniCAP 分级患者的嗜碱性粒细胞活化情况比较($\bar{x} \pm s$)

UniCAP 分级	n	CD63	CD203c	CD45
1~2 级	30	18.68 ± 1.76*	29.36 ± 3.79*	22.32 ± 1.93*
3~4 级	30	29.37 ± 2.31**	51.13 ± 5.78**	39.10 ± 5.13**
5~6 级	23	38.16 ± 3.15	66.73 ± 6.96	50.86 ± 6.59

与 5~6 级比较, * $P < 0.05$; 与 1~2 级比较, # $P < 0.05$ 。

2.5 嗜碱性粒细胞活化指标与软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者 UniCAP 分级的关系分析

Spearman 秩相关分析结果显示,嗜碱性粒细胞活化指标 CD63、CD203c、CD45 与软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者的 UniCAP 分级均呈正相关($r_s = 0.911、0.876、0.903$, $P < 0.05$)。

2.3 观察组内不同过敏原种数患者的嗜碱性粒细胞活化情况比较

观察组内不同过敏原种数患者的嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 荧光强度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 1 2 组嗜碱性粒细胞活化情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD63	CD203c	CD45
对照组	83	6.15 ± 1.20	18.28 ± 2.63	7.02 ± 1.36
观察组	83	32.26 ± 2.23*	50.31 ± 5.61*	36.36 ± 5.03*

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

花粉所致变态反应在临床常见,而在海南地区,软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉所致变态反应患者占比较高。花粉所致过敏属于 I 型超敏反应,由特异性 IgE 介导,其吸附于嗜碱性粒细胞^[7-8],因此嗜碱性粒细胞活化情况在变态反应性疾病尤其是花粉所致过敏方面具有较高的研究意义^[9-10]。CD63、CD203c 及 CD45 作为嗜碱性粒细胞活化的特异性标志物,其在嗜碱性粒细胞活化过程中呈现显著升高的状态^[11-12]。临床中关于软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉所致变态反应患者的嗜碱性粒细胞活化研究极为匮乏,本研究观察了此类患者嗜碱性粒细胞活化情况,旨在为软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者的诊断与治疗提供参考依据。

本研究中,软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者的嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c、CD45 荧光强度均高于健康者,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 UniCAP 分级较高患者的荧光强度高于分级较低者,差异有统计学意义($P < 0.05$),但不同过敏原类型及不同过敏原种数患者的检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究 Spearman 秩相关分析结果显示,嗜碱性粒细胞活化指标 CD63、CD203c、CD45 均与 UniCAP 分级呈正相关($P < 0.05$),由此肯定了嗜碱性粒细胞 CD63、CD203c 及 CD45 在软叶针葵花粉和鱼尾葵

花粉致敏患者中的检测意义,并说明其对于变态反应程度有一定的反映价值,但对于这 2 类花粉的鉴别诊断及种类分析无明显价值。分析原因,软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏情况促进了特异性 IgE 的表达^[13-15],进而使与之相关的嗜碱性粒细胞活化情况增强,相关标志物 CD63、CD203c 及 CD45 荧光强度显著升高^[16-17],而随着变态反应程度的增强,特异性 IgE 表达升高,嗜碱性粒细胞活化也随之显著增强,但不同花粉所致变态反应导致的上述差异并不显著,仅与变态反应程度有关^[18-20],故不同花粉及不同过敏原种数者的表达差异并不显著。由此类推,上述嗜碱性粒细胞活化情况可能仅与 I 型超敏反应程度有关^[21-25],而其对于过敏原的针对性了解价值并不显著。

综上所述,软叶针葵花粉和鱼尾葵花粉致敏患者嗜碱性粒细胞活化情况突出,且活化指标 CD63、CD203c、CD45 表达程度与 UniCAP 分级密切相关,具有较高的检测价值。

参考文献

[1] 汪翌,陈冬,臧艳艳,等. 过敏性鼻炎患者血液嗜酸性粒细胞 FcεRI 和 CD63 表达研究[J]. 重庆医科大学学报, 2018, 43(6): 851 - 855.

[2] 罗金成,陈曙光,刘文英,等. 自体全血注射对自体血清皮肤试验阳性的难治性慢性自发性荨麻疹患者嗜碱性粒细胞 FcεR I 与 CD63 表达的影响[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(4): 241 - 247.

[3] 孔伟,曹艳云,曹秀妮,等. 慢性自发性荨麻疹患者外周血嗜碱粒细胞 CD63 和 CD203c 的表达[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2019, 35(8): 454 - 456, 459.

[4] 任华丽,李健东,苗燕华,等. 玻璃纤维法体外嗜碱粒细胞组胺释放试验用于检测屋尘螨过敏原的临床研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(5): 365 - 368.

[5] 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.

[6] 翁田田,狄正鸿. 变原在变态反应性疾病中的作用及相关诊疗的进展[J]. 医学综述, 2020, 26(11): 2081 - 2087, 2093.

[7] BERIN M C, GRISHIN A, MASILAMANI M, et al. Egg-specific IgE and basophil activation but not egg-specific T-cell counts correlate with phenotypes of clinical egg allergy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 142(1): 149 - 158. e8.

[8] RATHOD S, RAMSEY M, RELLING M V, et al. Hypersensitivity reactions to asparaginase in mice are mediated by anti-asparaginase IgE and IgG and the immunoglobulin receptors FcεRI and FcγRIII[J]. Haematologica, 2019, 104(2): 319 - 329.

[9] 王晓艳,兰天飞,孔瑞,等. 蒿属花粉症的变原致敏特征及皮肤点刺试验的诊断价值研究[J]. 临床耳鼻咽喉头

颈外科杂志, 2018, 32(24): 1860 - 1864.

[10] 孙凤卫,高云博,张媛,等. 变应性鼻炎与非变应性鼻炎在花粉季与非花粉季的临床特征比较[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2020, 27(4): 188 - 191.

[11] 黄秋菊,林霞,魏欣,等. 特异性免疫治疗对过敏性哮喘合并过敏性鼻炎患者的疗效分析[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(3): 327 - 330.

[12] 宋柏龙,孙勇,许栋岳,等. 蒿属花粉分布及对过敏性鼻炎患者气道反应性的影响分析[J]. 中国医学文摘:耳鼻咽喉科学, 2018, 33(5): 385 - 387.

[13] 曾雪霞,陈碧玉,潘婷婷,等. 海南省 2008—2018 年常见过敏性预防接种异常反应图谱案例分析[J]. 中国热带医学, 2019, 19(11): 1039 - 1043, 1076.

[14] 于睿莉,杨波,兰天飞,等. 内蒙古锡林郭勒地区黄花蒿、大籽蒿和艾蒿花粉变应原致敏性及其临床意义[J]. 解放军医学院学报, 2018, 39(12): 1058 - 1060, 1066.

[15] 黄秋菊,魏欣,林霞,等. 粉尘螨舌下免疫治疗对海南地区变应性鼻炎患者特异性 IgG4 表达水平的影响[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(2): 135 - 139.

[16] DISPENZA M C, PONGRACIC J A, SINGH A M, et al. Short-term ibrutinib therapy suppresses skin test responses and eliminates IgE-mediated basophil activation in adults with peanut or tree nut allergy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(5): 1914 - 1916.

[17] QASEEM A S, SINGH I, PATHAN A A, et al. A recombinant fragment of human surfactant protein D suppresses basophil activation and T-helper type 2 and B-cell responses in grass pollen-induced allergic inflammation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 196(12): 1526 - 1534.

[18] 刘洋君,朱杭军,卫来,等. 舌下含服粉尘螨滴剂对过敏性鼻炎患者肺通气功能、免疫球蛋白及 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(14): 1363 - 1366.

[19] 谢枝隽,尹佳,周俊雄. 特异性免疫治疗对桦树花粉过敏小鼠 Th17 细胞的影响[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2019, 13(2): 130 - 136.

[20] 张晓文,张慧云,王维,等. 变应性鼻炎患者血液嗜酸性粒细胞富集中 TLR2、TLR4、TLR7 和 TLR9 的变化及其相关性[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2018, 39(4): 537 - 541, 572.

[21] 孙洁. 真菌、花粉、尘螨致敏急性支气管哮喘患者临床特征分析[J]. 川北医学院学报, 2018, 33(1): 37 - 39.

[22] 苗青,任亦欣,刘永革,等. 花粉症患者发作期外周血 II 型固有淋巴样细胞(ILC2)亚群的水平变化及其临床意义[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40(1): 25 - 31.

[23] 李凯,李相新,文海军,等. 佛山地区 7486 例过敏性疾病患儿过敏原检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(3): 322 - 325.

[24] 李宜凡. 流式细胞术分析嗜碱性粒细胞活化试验在过敏性疾病中的应用[J]. 国际儿科学杂志, 2020, 47(9): 607 - 611.

[25] 李晓辉,翁智胜,彭洁雯,等. 血常规相关指标在急、慢性自发性荨麻疹患者中的对比研究[J]. 皮肤病学诊疗学杂志, 2019, 26(6): 323 - 326, 331.

(本文编辑:陆文娟)