

文章编号 1006-8147(2021)06-0623-05

论著

## R848对哮喘患儿外周血中IFN- $\gamma$ 、IL-33和IgE表达的影响及临床意义

熊蕾蕾,张松林,张向峰,张志英,靳秀红

(郑州大学附属儿童医院、河南省儿童医院、郑州儿童医院南院区呼吸科,郑州450000)

**摘要** 目的:检测R848对哮喘患儿外周血中干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-33(IL-33)和IgE表达的影响及临床意义。方法:收集2018年6月—2020年5月在我院接受治疗的急性发作期哮喘患者125例,临床缓解期患者40例,分离培养外周血单个核细胞(PBMC)。ELISA实验检测PBMC分泌IFN- $\gamma$ 、IL-33和IgE的水平,qRT-PCR检测急性发作期哮喘患者PBMC中Toll样受体(TLR)7/8 mRNA的相对表达水平,Pearson分析急性发作期哮喘患者IFN- $\gamma$ 、IL-33和IgE与TLR7/8 mRNA的相对表达水平的相关性。ELISA实验检测不同浓度R848(0 mg/L、0.1 mg/L、1 mg/L、10 mg/L、100 mg/L)刺激急性发作期哮喘患者PBMC 24 h后IFN- $\gamma$ 、IL-33和IgE的水平。分析R848 10 mg/L刺激急性发作期哮喘患者PBMC细胞6 h、12 h、24 h、36 h、48 h后IFN- $\gamma$ 、IL-33和IgE水平的变化。结果:急性发作期哮喘患者外周血中PBMC分泌IFN- $\gamma$ 的水平低于临床缓解期,分泌IL-33和IgE的水平高于临床缓解期(均 $P<0.05$ );IL-33水平与TLR7/8 mRNA相对表达水平呈负相关( $r=-0.887, P<0.001$ ;  $r=-0.910, P<0.001$ ),IFN- $\gamma$ 水平与TLR7/8 mRNA相对表达水平呈正相关( $r=0.818, P<0.001$ ;  $r=0.808, P<0.001$ ),IgE水平与TLR7/8 mRNA相对表达水平呈负相关( $r=-0.850, P<0.001$ ;  $r=-0.838, P<0.001$ )。R848刺激PBMC细胞24 h后,IL-33和IgE水平在R848 1 mg/L时降低至R848 10 mg/L后趋于平稳( $F=56.231, 42.310$ ,均 $P<0.05$ )。IFN- $\gamma$ 水平在R848 0.1 mg/L时逐渐升高至R848 10 mg/L后趋于平稳( $F=62.352, P<0.05$ )。R848 10 mg/L刺激PBMC 6~48 h,IL-33和IgE水平在12 h时逐渐降低至36 h后趋于平稳( $F=32.658, 36.521$ ,均 $P<0.05$ ),IFN- $\gamma$ 在12 h时逐渐增加至36 h后趋于平稳( $F=42.321, P<0.05$ )。结论:R848可抑制急性发作期患者外周血中PBMC分泌IL-33和IgE,促进IFN- $\gamma$ 的分泌,具有一定的抗炎作用,有望应用于哮喘的治疗。

**关键词** 哮喘;急性发作期;Toll样受体;R848

中图分类号 R725.6

文献标志码 A

### The effect of R848 on the expression of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE in the peripheral blood of children with asthma and its clinical significance

XIONG Lei-lei, ZHANG Song-lin, ZHANG Xiang-feng, ZHANG Zhi-ying, JIN Xiu-hong

(Department of Respiratory Diseases, Zhengzhou University Children's Hospital, Henan Children's Hospital, Zhengzhou Children's Hospital, South District, Zhengzhou 450000, China)

**Abstract Objective:** To detect the effect of R848 on the expression of gamma interferon(IFN- $\gamma$ ), Interleukin-33(IL-33) and IgE in the peripheral blood of children with asthma and its clinical significance. **Methods:** A total of 125 patients with acute-onset asthma and 40 patients with clinical remission who received treatment in our hospital from June 2018 to May 2020 were collected, and peripheral blood mononuclear cells(PBMC) were isolated and cultured. ELISA test detected the levels of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE secreted by PBMC, qRT-PCR detected the relative expression level of toll-like receptor(TLR)7/8 mRNA in PBMC of acute-onset asthma patients, and Pearson detected the correlation between IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE with the relative expression levels of TLR7/8 mRNA in patients with acute asthma. ELISA experiments were used to detect the levels of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE after stimulating PBMC of acute-onset asthma patients with different concentrations of R848(0 mg/L, 0.1 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L, 100 mg/L). The changes of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE levels after 6 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h stimulating PBMC by R848 10 mg/L in acute asthma patients were determined. **Results:** The level of IFN- $\gamma$  secreted by PBMC in peripheral blood of patients with acute asthma was lower than that in clinical remission, and the level of IL-33 and IgE secreted was higher than that of clinical remission (all  $P<0.05$ ). The level of IL-33 was negatively correlated with the relative expression level of TLR7/8 mRNA( $r=-0.887, P<0.001$ ;  $r=-0.910, P<0.001$ ), and the level of IFN- $\gamma$  was positively correlated with the relative expression level of TLR7/8 mRNA( $r=0.818, P<0.001$ ;  $r=0.808, P<0.001$ ), the IgE level was negatively correlated with the relative expression level of TLR7/8 mRNA( $r=-0.850, P<0.001$ ;  $r=-0.838, P<0.001$ ). After R848 stimulated PBMC cells for 24 h, IL-33 and IgE gradually decreased from R848 1 mg/L to R848 10 mg/L and then stabilized( $F=56.231, 42.310$ , both  $P<0.05$ ). The level of IFN- $\gamma$  gradually increased from R848 0.1 mg/L to R848 10 mg/L and then stabilized( $F=62.352, P<0.05$ ). R848 10 mg/L stimulated PBMC for

基金项目 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190977)

作者简介 熊蕾蕾(1989-),女,主治医师,硕士,研究方向:小儿呼吸疾病;通信作者:靳秀红, E-mail: glgmyy01234@126.com。

6~48 h, IL-33 and IgE levels gradually decreased from 12 h to 36 h and then stabilized ( $F=32.658, 36.521$ , both  $P<0.05$ ), and IFN- $\gamma$  gradually increased from 12 h to 36 h and then stabilized ( $F=42.321, P<0.05$ ). **Conclusion:** R848 can inhibit the secretion of IL-33 and IgE from PBMC in the peripheral blood of patients with acute attacks, promote the secretion of IFN- $\gamma$ , and has a certain anti-inflammatory effect. R848 is expected to be used in the treatment of asthma.

**Key words** asthma; acute attack period; toll-like ligand; R848

哮喘是一种慢性气道炎症性疾病,在过去几十年来,儿童哮喘的发病率呈显著上升趋势<sup>[1]</sup>。气道上皮是呼吸道的第一道屏障,受到刺激后可引发 Th2 型反应,诱导 IgE 型速发型变态反应, IgE 可诱导嗜酸粒细胞和肥大细胞脱颗粒,释放炎症介质,引起气道慢性炎症反应和气道重塑<sup>[2]</sup>。白细胞介素(IL)-33 是 Th2 型反应中强大的炎症因子,在哮喘中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。T 细胞介导的免疫紊乱在哮喘中发挥一定作用,其中包括 Th1 型细胞产生的干扰素(IFN- $\gamma$ )。哮喘是免疫因素、基因因素和环境因素等相互作用造成的, Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)在免疫性和炎症性疾病中扮演重要角色,且与哮喘的发生、发展密切相关<sup>[4]</sup>。有研究显示, TLR4 可促进炎症因子的释放,抑制 TLR4 信号通路的转导和相关炎症因子的表达<sup>[5-6]</sup>。R848 是一种咪唑啉,可通过 TLR7/TLR8 MyD88 依赖性信号通路活化免疫细胞。TLR7 通过刺激 MyD88 途径激活 APC,从而导致促炎因子、趋化因子、I 型干扰素(IFN)及共刺激分子的上调<sup>[7]</sup>。在大鼠中, R848 已显示出抑制炎症反应并消除气道重塑的作用<sup>[8]</sup>。在本研究中作者通过收集哮喘急性发作期患儿外周血,分离培养外周血单个核细胞(PBMC),检测 R848 刺激 PBMC 后对 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 水平的影响,为哮喘的治疗提供新的思路。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 收集 2018 年 6 月—2020 年 5 月接受治疗的急性发作期哮喘患者 125 例,男 55 例,女 70 例,年龄 4~12 岁,及同时期来院就诊的临床缓解期哮喘患者 30 例,男 13 例,女 17 例,年龄 3~10 岁。纳入标准:(1)急性发作期哮喘患者和临床缓解期哮喘患者的诊断符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》<sup>[9]</sup>。(2)近 3 个月未使用免疫抑制剂和糖皮质激素。排除标准:(1)近 1 个月有呼吸道感染史或合并其他炎症性疾病。(2)合并免疫系统性疾病。(3)合并过敏性鼻炎。(4)合并血液系统性疾病。(5)合并肿瘤。本研究经过医院伦理委员会批准,家属知情并签署知情同意书。

**1.2 外周血 PBMC 分离** 抽取急性发作期哮喘患者和临床缓解期哮喘患者的外周静脉血 5 mL,肝素

抗凝,加入 5 mL Hank's 进行稀释,利用 Ficoll 进行梯度离心(常温,2 000 r/min,20 min),吸取分离液与血浆间的白膜层。加入 3 mL PBS 溶液混合均匀,1 500 r/min 离心 10 min,吸去上清。加入 2 mL 红细胞裂解液,在室温下孵育 5 min,裂解红细胞,1 500 r/min 离心 5 min,吸去裂解液。加入 3 mL PBS 溶液混合均匀,1 500 r/min 离心 5 min,吸去上清。用 RPMI1640 培养基重悬细胞进行培养,待细胞传 2 代后冻存待用。

**1.3 qRT-PCR 检测急性加重期患者 PBMC 中 TLR7/8 mRNA 的相对表达水平** Trizol 提取 PBMC 的总 RNA,依据反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA,进行 PCR 检测 TLR7/8 mRNA 的相对表达水平。TLR7 上游引物序列为 5'-GACCGGTCAAGTCCAGTGTAGAAC-3',下游引物序列为 5'-TTACTGACTTCATGGCATGTACGGT-3',TLR8 上游引物序列为 5'-TACGGGGATCGGCCCTTGACTCGCCT-3',下游引物序列为 5'-CCTGGAAATGCGACTGAATG-GTTGC-3',磷酸甘油醛脱氢酶为内参,上游引物序列为 5'-GGTACGGTCCGTACGTGATGCCGTAG-3',下游引物序列为 5'-CCGTAGTTGCTAGCTGAATGTGATGC-3'。PCR 反应条件为 95℃预变性 2 min,再变性 20 s,60℃退火 30 s,72℃延伸 35 s,总共 40 个循环,72℃延伸 10 min,利用 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup>  计算 TLR7/8 mRNA 的相对表达水平。

**1.4 ELISA 实验检测 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的水平** 不同浓度 R848(0 mg/L、0.1 mg/L、1 mg/L、10 mg/L、100 mg/L)刺激急性发作期 PBMC 细胞(随机抽取 10 例患者的 PBMC 细胞)24 h 后检测 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的水平。根据试剂盒说明进行以下操作:利用鼠抗人 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 抗体包被 ELISA 板,放置 4℃冰箱中过夜,用 PBS 溶液(含有 0.5 ml/L Tween20)洗涤 1 次,再加入 PBS 溶液洗涤 1 次,然后放置室温静置 1 h。向 ELISA 板中加入不同稀释浓度的 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 标准品及待检测的样品,放置室温 2 h。加入对应的生物素标记的鼠抗人 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 抗体,放置室温 1 h。加入底物显色在室温下避光放置 30 min,最终加入 100 ml/L 的硫酸终止显色,用酶标仪检测 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的含量。

1.5 统计学处理 利用 SPSS21.0 软件行统计分析,经过正态性检测,符合正态分布的计量数据以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间的两两比较采用  $SNK-q$  检验。非正态分布资料以中位数(四分位间距)表示,组间比较采用非参数秩和检验。 $Pearson$  进行相关性检测,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 急性发作期患者外周血中 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的水平 急性发作哮喘患者外周血中 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$  的水平低于临床缓解期,分泌 IL-33 和 IgE 的水平高于临床缓解期(均  $P<0.05$ )。急性发作期患者外周血中 TLR7/8 mRNA 相对表达水平低于临床缓解期( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 两组外周血中 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的水平[ $\bar{x}\pm s, M(P_{25}, P_{75})$ ]

Tab 1 The levels of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE secreted by PBMC in peripheral blood of two groups[ $\bar{x}\pm s, M(P_{25}, P_{75})$ ]

组别	例数	(ng/L)	IFN- $\gamma$ (ng/L)	IgE(IU/mL)	TLR7 mRNA	TLR8 mRNA
急性发作期	125	347.6 $\pm$ 70.8	17.1 $\pm$ 14.9	826.2 $\pm$ 193.8	1.4(0.7, 2.3)	1.2(0.5, 1.9)
临床缓解期	40	35.7 $\pm$ 10.6	54.2 $\pm$ 15.3	47.5 $\pm$ 12.7	3.8(3.5, 4.2)	5.1(4.3, 6.1)
$t/Z$		25.710	21.205	23.408	12.632	18.253
$P$		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

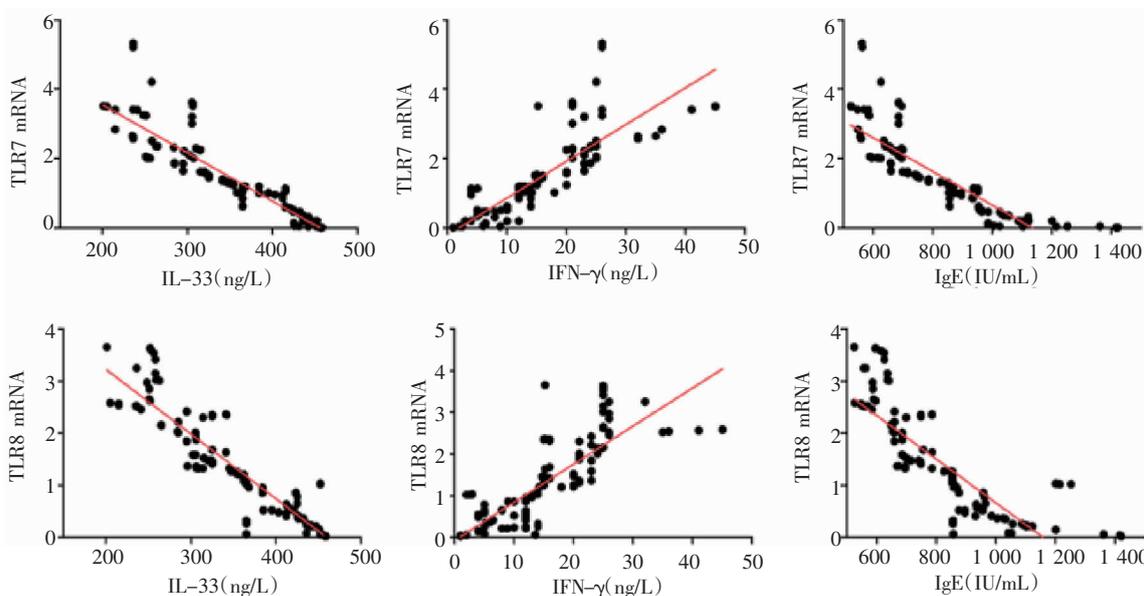
注:IL-33:白细胞介素-33;IFN- $\gamma$ :干扰素- $\gamma$ ;TLR7:Toll 样受体 7;TLR8:Toll 样受体 8

2.2 急性发作期患者外周血中 IL-33、IFN- $\gamma$  和 IgE 水平与 TLR7/8 mRNA 相对表达水平相关性分析 急性发作期患者外周血中 IL-33 水平与 TLR7/8 mRNA 相对表达水平呈负相关( $r=-0.887, P<0.001; r=-0.910, P<0.001$ ),IFN- $\gamma$  水平与 TLR7/8 mRNA 相对表达水平呈正相关( $r=0.818, P<0.001; r=0.808, P<0.001$ ),IgE 水平与 TLR7/8 mRNA 相对表达水平呈负相关( $r=-0.850, P<0.001; r=-0.838, P<0.001$ ),见图 1。

急性发作期患者 PBMC 细胞后,IL-33 和 IgE 水平在 R848 1 mg/L 时降低,至 R848 10 mg/L 后趋于平稳( $F=56.231, 42.310$ , 均  $P<0.001$ )。IFN- $\gamma$  水平在 R848 0.1 mg/L 时逐渐升高,至 R848 10 mg/L 后趋于平稳( $F=62.352, P<0.001$ ),见图 2。

2.3 不同浓度 R848 刺激急性发作期患者 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的水平比较 R848 刺激

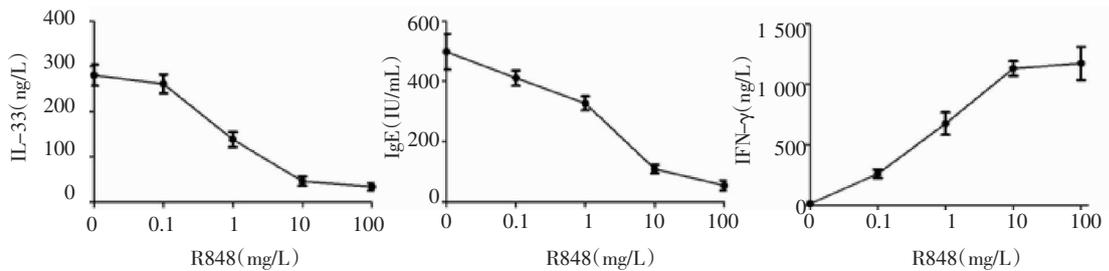
2.4 R848 刺激急性发作期患者 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的动态观察 R848 10 mg/L 刺激急性发作期 PBMC 6~48 h,IL-33 和 IgE 水平在 12 h 时降低,至 36 h 后趋于平稳( $F=32.658, 36.521$ , 均  $P<0.001$ ),IFN- $\gamma$  在 12 h 时增加,至 36 h 后趋于平稳( $F=42.321, P<0.001$ ),见图 3。



注:IL-33:白细胞介素-33;IFN- $\gamma$ :干扰素- $\gamma$ ;TLR7:Toll 样受体 7;TLR8:Toll 样受体 8

图 1 IL-33、IFN- $\gamma$  和 IgE 水平与 TLR7/8 mRNA 相对表达水平相关性分析

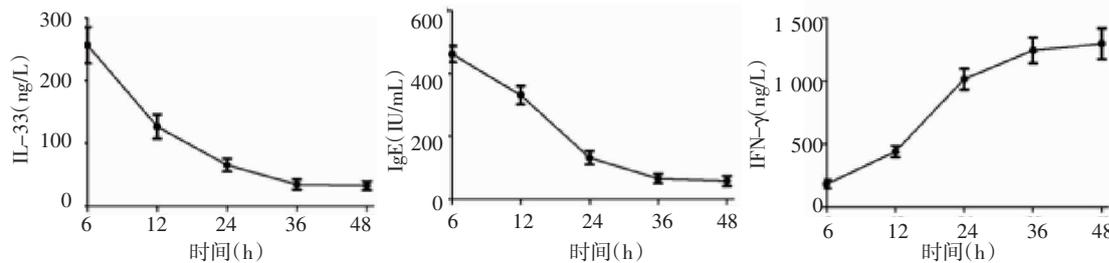
Fig 1 Correlation analysis between IL-33, IFN- $\gamma$  and IgE levels with the relative expression levels of TLR7/8 mRNA



注:IL-33:白细胞介素-33;IFN- $\gamma$ :干扰素- $\gamma$ ;PBMC:外周血单个核细胞

图 2 不同浓度 R848 刺激急性发作期患者 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的水平比较

Fig 2 Comparison of the levels of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE secreted by PBMC of patients with different concentrations of R848 in the acute stage



注:IL-33:白细胞介素-33;IFN- $\gamma$ :干扰素  $\gamma$ ;PBMC:外周血单个核细胞

图 3 R848 刺激急性发作期 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-33 和 IgE 的动态观察

Fig 3 The dynamic observation of R848 stimulates the secretion of IFN- $\gamma$ , IL-33 and IgE from PBMC in the acute stage

### 3 讨论

过敏性哮喘是一种影响气道的异质性疾病,其特征是涉及多种细胞和体液介质的慢性炎症反应。典型的哮喘性气道炎症是由 IgE 依赖性肥大细胞脱粒引发的,并可诱导 Th2 型细胞因子分泌。这种慢性炎症反应被认为是气道重塑的根本原因,其特征是上皮下层纤维化,杯状细胞和平滑肌增生<sup>[10]</sup>。目前哮喘的管理策略一是使用支气管扩张剂(短效和长效 2 型激动剂)作用于急性加重期和延长缓解时间,二是吸入皮质类固醇以最大程度减少哮喘发作,现已证明控制炎症是治疗哮喘的有效方法<sup>[11]</sup>。TLR 可介导病原体相关分子模式识别,在先天和适应性免疫中都起着至关重要的作用<sup>[12-13]</sup>。这些广泛表达的蛋白质是第一个参与对环境刺激产生免疫应答的分子,该过程由细胞激活和刺激细胞因子产生介导。已有研究显示 TLR2 和 TLR4 的多态性与哮喘的发病相关<sup>[14]</sup>,致敏的炎症性单核细胞中 TLR 信号的激活可通过促进 Th1 相关细胞因子的表达,减弱卵清蛋白诱导的过敏性哮喘<sup>[15]</sup>。

R848 已被证明可诱导从啮齿类到灵长类的许多物种中多种细胞因子的表达<sup>[16]</sup>。有研究显示在急性哮喘小鼠模型中,R848 治疗可以预防肺部疾病的发展,包括气道高反应性和嗜酸性粒细胞增多<sup>[17]</sup>。对 BALB/c 小鼠、C57BL/6 小鼠哮喘模型的研究发现,R848 均表现出抑制急性炎症反应的作用<sup>[18-19]</sup>。鉴于

R848 治疗可以预防几种遗传多样的小鼠品系与过敏原激发有关的急性炎症反应,笔者推测该化合物也可以抑制人哮喘的急性炎症反应。因此本研究收集急性发作期哮喘患者的外周血,分离培养 PBMC。经过一系列实验检测显示,急性发作哮喘患者外周血中 PBMC 分泌 IFN- $\gamma$  的水平较低,分泌 IL-33 和 IgE 的水平较高,IFN- $\gamma$  与 TLR7/8 mRNA 水平呈正相关,IL-33 和 IgE 与 IFN- $\gamma$  及 TLR7/8 mRNA 水平呈负相关。提示 IL-33、IgE 和 IFN- $\gamma$  与 TLR7/8 密切相关,TLR7/8 可能通过调控 IL-33、IgE 和 IFN- $\gamma$  水平参与哮喘的发生和发展。R848 处理 PBMC 后可呈剂量依赖性和时间依赖性的抑制 IL-33 和 IgE 的分泌,促进 IFN- $\gamma$  的分泌,发挥抗炎作用。有研究显示 TLR7 配体可刺激 CD4<sup>+</sup> 淋巴细胞和巨噬细胞共培养物中 Th1 细胞因子 IL-12、IFN- $\gamma$  和 IFN- $\alpha$  的产生<sup>[20]</sup>。对人类细胞的研究表明,R848 可以直接诱导效应记忆 CD4<sup>+</sup> T 细胞增殖并上调 IFN- $\gamma$  生成<sup>[21]</sup>。Shen 等<sup>[22]</sup> 研究显示,TLR7/8 配体 R848 以剂量依赖的方式抑制鼠脾细胞中抗 CD40 和 IL-4 介导的 IgE 和 IgG1 的产生,R848 对脾细胞抗 CD40 和 IL-4 诱导的 IgE 合成的抑制作用似乎是由至少 3 种不同的机制介导的。首先,R848 抑制了抗 CD40 和 IL-4 刺激的脾细胞中 B 细胞的增殖和分裂。其次,R848 促进了 IFN- $\gamma$  和 IL-12 的产生,而这部分是抑制 IgE 产生的原因。第三,R848 对 B 细胞具有直接的抑制

IgE产生的作用。以上结果均显示,R847对哮喘的炎症反应有一定的抑制作用。

综上所述,本研究结果显示R848可调节急性发作期哮喘患者PBMC分泌的IL-33、IgE和IFN- $\gamma$ 水平,发挥抗炎作用。但具体的作用机制、对于预防慢性气道重塑的影响还有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] LI X,SONG P,ZHU Y,et al. The disease burden of childhood asthma in China: a systematic review and meta-analysis[J]. J Glob Health, 2020,10(1):010801
- [2] LOMMATZSCH M,GEIBLER K,BERGMANN K C,et al. IgE and anti-IgE in asthma: a chequered history[J]. Pneumologie, 2017, 71(6):398
- [3] 柳亚慧,黄春容,时国朝. 白细胞介素33在支气管哮喘中的作用及其研究现状[J].中华结核和呼吸杂志,2020,43(3):250
- [4] HUANG C,WANG J,ZHENG X,et al. Activation of TLR signaling in sensitization-recruited inflammatory monocytes attenuates OVA-induced allergic asthma[J]. Front Immunol, 2018,9:2591
- [5] LEE H Y,RHEE C K,KANG J Y,et al. Effect of intranasal rosiglitazone on airway inflammation and remodeling in a murine model of chronic asthma[J]. Korean J Intern Med, 2016,31(1):89
- [6] CRESPO-LESSMANN A,MATEUS E,VIDAL S,et al. Expression of toll-like receptors 2 and 4 in subjects with asthma by total serum IgE level[J]. Respir Res, 2016,17:41
- [7] ZHU Y,SHAO Y,QU X,et al. Sodium ferulate protects against influenza virus infection by activation of the TLR7/9-MyD88-IRF7 signaling pathway and inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019,512(4):793
- [8] CAMATEROS P,TAMAOKA M,HASSAN M,et al. Chronic asthma-induced airway remodeling is prevented by toll-like receptor-7/8 ligand S28463[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007,175(12):1241
- [9] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J].中华儿科杂志, 2016,54(3):167
- [10] FEHRENBACH H,WAGNER C,WEGMANN M. Airway remodeling in asthma: what really matters[J]. Cell Tissue Res, 2017,367(3):551
- [11] KHER S,MOTA P. Maternal asthma: management strategies [J]. Cleve Clin J Med, 2017,84(3):296
- [12] FITZGERALD K A,KAGAN J C. Toll-like receptors and the control of immunity[J]. Cell, 2020,180(6):1044
- [13] VIJAY K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: past, present, and future [J]. Int Immunopharmacol, 2018,59:391
- [14] ZHAO J,SHANG H,CAO X,et al. Association of polymorphisms in TLR2 and TLR4 with asthma risk: an update meta-analysis [J]. Medicine(Baltimore), 2017,96(35):e7909
- [15] HUANG C,WANG J,ZHENG X,et al. Activation of TLR signaling in sensitization-recruited inflammatory monocytes attenuates OVA-induced allergic asthma[J]. Front Immunol, 2018,9:2591
- [16] WU J J,HUANG D B,TYRING S K. Resiquimod: a new immune response modifier with potential as a vaccine adjuvant for Th1 immune responses[J]. Antiviral Res, 2004,64(2):79
- [17] FERREIRA T P,MARIANO L L,GHILOSSO-BORTOLINI R,et al. Potential of PEGylated toll-Like receptor 7 ligands for controlling inflammation and functional changes in mouse models of asthma and silicosis[J]. Front Immunol, 2016,7:95
- [18] SIEBENEICHER S,REUTER S,KRAUSE M,et al. Epicutaneous immune modulation with Bet v 1 plus R848 suppresses allergic asthma in a murine model[J]. Allergy, 2014,69(3):328
- [19] MOISAN J,CAMATEROS P,THURAISSINGAM T,et al. TLR7 ligand prevents allergen-induced airway hyperresponsiveness and eosinophilia in allergic asthma by a MYD88-dependent and MK2-independent pathway[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006,290(5):L987
- [20] WONDERLICH E R,WU W C,NORMOLLE D P,et al. Macrophages and myeloid dendritic cells lose T cell-stimulating function in simian immunodeficiency virus infection associated with diminished IL-12 and IFN- $\alpha$  production[J]. J Immunol, 2015,195(7):3284
- [21] CARON G,DULUC D,FREMAUX I,et al. Direct stimulation of human T cells via TLR5 and TLR7/8: flagellin and R-848 up-regulate proliferation and IFN- $\alpha$  production by memory CD4 T cells[J]. J Immunol, 2005,175:1551
- [22] SHEN E,LU L,WU C. TLR7/8 ligand, R-848, inhibits IgE synthesis by acting directly on B lymphocytes[J]. Scand J Immunol, 2008,67(6):560

(2020-12-28 收稿)