

ITP 患者 PD-1/PD-L1 表达特点及其在 Treg 与 Breg 细胞之间的相互作用机制分析*

许腾 崔彦杰 李智伟 刘红春 郝立君

(新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心, 新疆 乌鲁木齐 830001)

【摘要】 目的 探讨原发性免疫性血小板减少症(ITP)患者细胞程序性死亡受体-1(PD-1)/细胞程序性死亡配体 1(PD-L1)表达特点及其在调节性 T 细胞(Treg)、调节性 B 细胞(Breg)间的相互作用。方法 选取 2018 年 12 月—2022 年 1 月在我院治疗的 ITP 患者 106 例作为观察组,其中轻度患者 32 例,中度患者 44 例,重度患者 30 例。同时选取同期健康志愿者 100 例作为对照组。检测两组 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比、Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率等,同时分析观察组不同病情程度患者各指标差异。结果 观察组 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比、TGF- β 、IL-10 和 IL-4 水平均明显低于对照组($P < 0.05$);观察组 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率、可溶性程序性细胞死亡蛋白-1(sPD-1)和 IL-17 水平均明显高于对照组(均 $P < 0.05$);两组可溶性程序性细胞死亡蛋白配体-1(sPD-L1)水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组重度患者 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比均明显低于轻度和中度患者(均 $P < 0.05$),而 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率均明显高于轻度和中度患者(均 $P < 0.05$)。Treg 细胞表面 PD-1 阳性率与 Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率呈正相关($r = 0.446, P < 0.05$)。观察组治疗后 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比、TGF- β 、IL-10 和 IL-4 水平有所升高($P < 0.05$),而 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率、sPD-1 和 IL-17 水平有所降低($P < 0.05$),治疗前后 sPD-L1 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 ITP 患者 Treg 细胞表面 PD-1 和 Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率明显升高,与患者病情严重程度呈正相关,同时 Treg 细胞表面 PD-1 和 Breg 细胞表面 PD-L1 表达之间存在相关性。

【关键词】 原发性免疫性血小板减少症;细胞程序性死亡受体-1;细胞程序性死亡配体 1;调节性 T 细胞;调节性 B 细胞

【中图分类号】 R558+.2 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2024. 04. 027

Expression characteristics of PD-1/PD-L1 in ITP patients and analysis of interaction mechanism between Treg and Breg cells

XU Teng, CUI Yanjie, LI Zhiwei, LIU Hongchun, HAO Lijun

(Clinical Laboratory Center, The People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the expression of programmed cell death receptor-1 (PD-1)/programmed cell death ligand 1 (PD-L1) in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP) and the interaction between regulatory T cells (Treg) and regulatory B cells (Breg). **Methods** 106 ITP patients treated in our hospital from December 2018 to January 2022 were selected as the observation group, including 32 mild patients, 44 moderate patients and 30 severe patients. At the same time, 100 healthy volunteers were selected as the control group, and the Treg cells, Breg cells, the positive rate of PD-1 on the surface of Treg cells, and the positive rate of PD-L1 on the surface of Breg cells and so on were detected in the two groups. At the same time, the differences of various indicators in patients with different disease severity in the observation group were analyzed. **Results** Breg cells, Treg cells, transforming growth factor- β (TGF- β), interleukin-10 (IL-10) and interleukin-4 (IL-4) in the observation group were $(4.51 \pm 1.02)\%$, $(5.02 \pm 1.00)\%$, (2156.65 ± 354.43) pg/ml, (4.10 ± 0.99) pg/ml and (301.12 ± 65.56) pg/ml, respectively, which were significantly

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C152)

通讯作者:郝立君, E-mail: hlj13199804277@163.com

引用本文:许腾,崔彦杰,李智伟,等. ITP 患者 PD-1/PD-L1 表达特点及其在 Treg 与 Breg 细胞之间的相互作用机制分析[J]. 西部医学, 2024, 36(4):608-613. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2024. 04. 027

lower than those in the control group ($P < 0.05$). The positive rates of PD-1 on the surface of Treg cells, PD-L1 on the surface of Breg cells, soluble programmed cell death protein-1 (sPD-1) and interleukin-17 (IL-17) in the observation group were $(28.34 \pm 9.22)\%$, $(12.19 \pm 2.11)\%$, (102.87 ± 15.56) pg/ml and (11.45 ± 2.32) pg/ml, respectively, which were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in soluble programmed cell death protein ligand 1 (sPD-L1) between the observation group and the control group ($P > 0.05$). The Breg cells and Treg cells of the severe patients in the observation group were $(3.52 \pm 0.94)\%$ and $(3.80 \pm 1.02)\%$, respectively, which were significantly lower than those of the mild and moderate patients ($P < 0.05$). The positive rates of PD-1 on Treg cells and PD-L1 on Breg cells were $(32.53 \pm 7.04)\%$ and $(14.14 \pm 2.01)\%$, respectively, which were significantly higher than those of mild and moderate patients ($P < 0.05$). The positive rate of PD-1 on Treg cells was positively correlated with the positive rate of PD-L1 on Breg cells ($r = 0.466$, $P < 0.05$). After treatment in the observation group, Breg cells, Treg cells, TGF- β , IL-10 and IL-4 were increased ($P < 0.05$), while the positive rate of PD-1 on Treg cells, PD-L1 on Breg cells, sPD-1 and IL-17 were decreased ($P < 0.05$), there was no significant difference in sPD-L1 before and after treatment ($P > 0.05$). **Conclusion** The positive rates of PD-1 on the surface of Treg cells and PD-L1 on the surface of Breg cells in patients with ITP are significantly increase, which is positively related to the severity of the patient's condition, and there is a correlation between the expressions of PD-1 on the surface of Treg cells and PD-L1 on the surface of Breg cells, which is worthy of further study.

【Key words】 Primary immune thrombocytopenia; Programmed cell death receptor-1; Programmed cell death ligand 1; Regulatory T cells; Regulatory B cells

原发性免疫性血小板减少症 (Primary immune thrombocytopenia, ITP) 是一种主要由免疫介导的血小板破坏和血小板生成障碍性疾病^[1-2]。瘀点是 ITP 主要的临床表现, 严重者可以出现内脏甚至颅内出血, 出血的风险随着年龄的增长而增加^[3]。ITP 的发病机制, 包括免疫、遗传和环境因素等, 体内自身抗体和血小板抗原结合形成免疫复合物, 单核巨噬细胞系统的 Fc 受体与自身抗体的 Fc 段结合, 介导巨噬细胞吞噬和血小板破坏是 ITP 的典型发病机制^[4-5]。然而, 越来越多的研究表明^[6-8], 调节性 Treg 细胞和 Breg 细胞的免疫缺陷 (包括数量减少和/或免疫抑制功能减弱), 可能是导致机体对血小板抗原失去免疫耐受性从而造成 ITP 的重要发病机制。

程序性细胞死亡蛋白-1 (Programmed cell death receptor-1, PD-1) 属于 CD28/B7 家族, 是一种重要的负调节因子, 主要在活化的 T 细胞、B 细胞、单核细胞、NK 细胞、树突状细胞 (DC) 和 Treg 细胞表面表达。程序性细胞死亡蛋白配体-1 (Programmed cell death ligand 1, PD-L1) 是 PD-1 的配体, 主要在活化的 Breg 细胞上广泛表达, 对抑制炎症和预防自身免疫性疾病方面有重要作用^[9]。而 Treg 细胞和 Breg 细胞均是具有独特免疫调节作用的免疫细胞亚群, 可通过分泌 IL-4、IL-10 及 TGF- β 等多种细胞因子, 使 ITP 患者机体内免疫系统发生平衡偏移, 进而促进抑制性细胞因子的分泌等作用, 维持外周免疫耐受, 可参与多种变态反应性疾病及肿瘤免疫的发病^[10]。已知 PD-1/PD-L1 信号通路激活可以增加 T 细胞凋亡, 抑制 T 细胞活化和增殖以维持免疫耐受。而在 ITP 患者中

检测出 PD-1 和 PD-L1 低表达^[11]。因此, PD-1/PD-L1 信号通路在 ITP 的发病机制中可能具有重要作用。本研究旨在探索 ITP 患者中 PD-1 和 PD-L1 表达特点, 以及 PD-1/PD-L1 信号通路调节 Treg 细胞和 Breg 细胞的可能潜在机制, 以期为 ITP 临床治疗方向提供有价值的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 12 月—2022 年 1 月在我院治疗的 ITP 患者 106 例作为观察组。纳入标准: ①诊断符合《成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识 (2016 年版)》^[12] 中的标准。②年龄 ≥ 18 岁。③疾病分期均为新诊断 ITP。④患者及家属知情同意。排除标准: ①入院前已接受过血小板输注、丙种球蛋白、激素等治疗。②合并有急慢性感染、系统性红斑狼疮、恶性肿瘤等其他疾病。③继发性血小板减少症。同时选取同期健康志愿者 100 例作为对照组。

1.2 方法

采取 ITP 患者和健康人群空腹血 7 mL, 其中 2 mL 乙二胺四乙酸 (EDTA) 进行抗凝, 1 mL 用于 Breg 细胞和 Treg 细胞检测, 1 mL 用于检测 PD-1、sPD-1 和 PD-L1, 5 mL 血 2000 r/min 低温离心 10 min, 收集血清后立即储存于 -80 °C 冰箱, 用于检测 TGF- β 、IL-4、IL-10 和 IL-17。

1.2.1 流式细胞术检测 Breg 细胞和 Treg 细胞 Breg 细胞检测管吸取 100 μ L 全血, 然后依次加入 FITC 标记的 CD38、PE 标记的 CD19 和 PerCP 标记的 CD45 各 20 μ L, APC 标记的 CD245 μ L。Treg 细

胞检测管吸取 100 uL 全血,然后依次加入 FITC 标记的 CD4、PE 标记的 CD127 和 PerCP 标记的 CD3 各 20 uL,APC 标记的 CD255 uL。将检测管避光放置 15 min 后加入 2 mL 红细胞裂解液,溶血 10 min 后离心去上清液,再加入 2 mL 磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤离心去上清液,加入 500 uL PBS 重悬。使用 MACSQuant 流式细胞仪(Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, 德国)进行检测,使用 FlowJo10.5 分析检测数据,计算 Breg 细胞占 CD19+ 细胞的百分比和 Treg 细胞占 CD4+ 细胞的百分比。

1.2.2 流式细胞术检测 PD-1 使用 APC 标记的 CD3,PerCP 标记的 CD4,FITC 标记的 CD8 和 PE 标记的 PD-1 单克隆抗体。对于 PD-L1 检测,使用 PerCP 标记的 CD11c,PE 标记的 PD-L1 和 PE-cy7 标记的 HLA-DR 单克隆抗体。将样品在室温下在黑暗中孵育 15 min,然后用 PBS 洗涤 2 次,重悬,并在 MACSQuant 流式细胞仪(Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, 德国)上进行分析。流式细胞仪提供的 MACSQuant 软件用于数据分析。

1.2.3 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 sPD-1、TGF-β、IL-4、IL-10 和 IL-17 取出储存于 -80 °C 冰箱的血样本,将 50 uL 稀释的标准样品和待测样品依次加入每个孔中,然后加入 50 uL 生物素标记的抗体。在 37 °C 孵育 1 h 后,用磷酸盐缓冲液吐温-20(PBST)洗涤孔 3 次。之后,加入 80 uL 亲和链霉素-HRP 并在 37 °C 下孵育 30 min。用 PBST 洗涤 3 次后,将底物 A 和 B 各 50 uL 加入反应孔中,并在 37 °C 下孵育 10 min。然后通过加入 50 uL 终止液停止反应。用酶标仪测量 OD 450 值。sPD-1、TGF-β、IL-4、IL-10 和 IL-17 抗体购自 abcam 公司。酶标仪为美国 Molecu-

lar 公司 SPECTCA MAX190。

1.3 病情程度判断 轻度患者:血小板(PLT)≥50×10⁹/L;中度患者:30×10⁹/L≤PLT<50×10⁹/L;重度患者:PLT<30×10⁹/L^[11]。本次研究 ITP 轻度患者 32 例,中度患者 44 例,重度患者 30 例。

1.4 统计学分析 数据分析采用 SPSS22.0 软件,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,t 检验或 F 检验分析组间指标差异;计数资料采用(%)表示,χ² 检验分析组间指标差异;相关性采用 Pearson 相关分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 两组性别、年龄、BMI 一般资料比较差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性见表 1。

表 1 两组一般资料比较[n(×10⁻²),($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of clinical general data between the observation group and the control group

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)
		男	女		
观察组	106	67(63.21)	39(36.79)	42.29±9.43	22.18±2.15
对照组	100	65(65.00)	35(35.00)	43.36±9.16	22.04±2.23
t/χ ²		0.072		-0.825	0.459
P		0.789		0.410	0.647

2.2 两组 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比等比较 观察组 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比、TGF-β、IL-10 和 IL-4 水平明显低于对照组(P<0.05);观察组 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率、sPD-1 和 IL-17 水平明显高于对照组(P<0.05);两组 sPD-L1 水平比较差异无统计学意义(P>0.05)。见表 2。

表 2 两组 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比等比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Treg cell percentage and Breg cell percentage between the observation group and the control group

指标	观察组(n=106)	对照组(n=100)	t	P
Breg 细胞百分比(%)	4.51±1.02	8.10±1.15	-23.734	<0.001
Treg 细胞百分比(%)	5.02±1.00	9.70±1.22	-30.184	<0.001
Treg 细胞表面 PD-1 阳性率(%)	28.34±9.22	13.39±4.11	14.879	<0.001
Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率(%)	12.19±2.11	9.43±1.92	9.801	<0.001
TGF-β(pg/mL)	2156.65±354.43	3430.22±365.33	-25.394	<0.001
sPD-1(pg/mL)	102.87±15.56	81.43±12.21	10.958	<0.001
sPD-L1(pg/mL)	62.23±20.12	58.19±21.06	1.408	0.161
IL-10(pg/mL)	4.10±0.99	5.50±1.01	-10.045	<0.001
IL-4(pg/mL)	301.12±65.56	370.20±69.20	-7.357	<0.001
IL-17(pg/mL)	11.45±2.32	7.29±1.98	13.804	<0.001

2.3 观察组不同病情患者 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比等比较 观察组重度患者 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比明显低于轻度和中度患者(P<

0.05),而 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率明显高于轻度和中度患者(P<0.05);观察组中度患者 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比

明显低于轻度患者($P < 0.05$),而 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率明显高于轻度患者($P < 0.05$);观察组不同病情患者 TGF- β 、sPD-1、

sPD-L1、IL-10、IL-4 和 IL-17 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 观察组不同病情患者 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比等比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of Treg cell percentage and Breg cell percentage in patients with different conditions in the observation group

指标	轻度患者(n=32)	中度患者(n=44)	重度患者(n=30)	F	P
Breg 细胞百分比(%)	5.56±0.92	4.42±0.91 ^①	3.52±0.94 ^{①②}	38.293	<0.001
Treg 细胞百分比(%)	6.03±1.01	5.12±1.04 ^①	3.80±1.02 ^{①②}	36.964	<0.001
Treg 细胞表面 PD-1 阳性率(%)	24.32±7.10	28.41±6.13 ^①	32.53±7.04 ^{①②}	11.649	<0.001
Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率(%)	10.42±1.98	12.15±2.00 ^①	14.14±2.01 ^{①②}	26.885	<0.001
TGF- β (pg/mL)	2104.22±210.24	2164.65±209.50	2200.84±215.38	1.671	0.193
sPD-1(pg/mL)	104.43±14.10	101.14±13.82	103.74±14.80	0.577	0.563
sPD-L1(pg/mL)	61.18±16.89	62.51±17.70	62.95±18.03	0.088	0.916
IL-10(pg/mL)	4.23±0.91	4.09±0.94	3.98±0.98	0.550	0.579
IL-4(pg/mL)	304.45±54.10	300.82±50.43	298.01±52.25	0.120	0.887
IL-17(pg/mL)	11.57±2.80	11.32±2.15	11.51±2.32	0.113	0.893

注:与轻度比较,① $P < 0.05$;与中度比较,② $P < 0.05$ 。

2.4 相关性分析 将 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比等指标进行相关分析,结果显示,Treg 细胞表面 PD-1 阳性率与 Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率呈正相关($r = 0.466, P < 0.05$),见图 1。

2.5 观察组治疗前后 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比等比较 与治疗前相比,观察组治疗后 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比、TGF- β 、IL-10 和 IL-4 水平有所升高($P < 0.05$),而 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率、sPD-1 和 IL-17 水平有所降低($P < 0.05$),治疗前后 sPD-L1 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

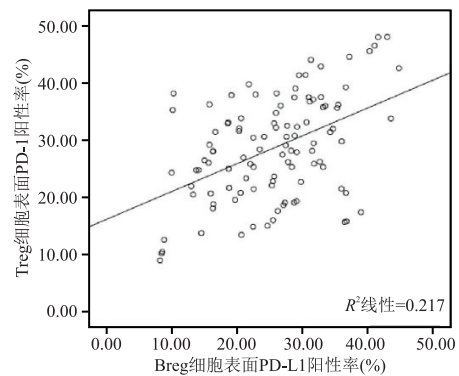


图 1 相关分析图

Figure 1 Correlation diagram

表 4 观察组治疗前后 Treg 细胞百分比、Breg 细胞百分比等比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of Treg cell percentage and Breg cell percentage before and after treatment in the observation group

指标	治疗前(n=106)	治疗后(n=106)	t	P
Breg 细胞百分比(%)	4.51±1.02	6.43±1.06	-13.438	<0.001
Treg 细胞百分比(%)	5.02±1.00	7.12±1.11	-14.472	<0.001
Treg 细胞表面 PD-1 阳性率(%)	28.34±9.22	20.10±5.65	7.845	<0.001
Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率(%)	12.19±2.11	10.20±2.04	6.981	<0.001
TGF- β (pg/mL)	2156.65±354.43	2885.53±340.56	-15.267	<0.001
sPD-1(pg/mL)	102.87±15.56	91.23±14.18	5.693	<0.001
sPD-L1(pg/mL)	62.23±20.12	60.40±21.05	0.647	0.518
IL-10(pg/mL)	4.10±0.99	5.02±1.00	-6.731	<0.001
IL-4(pg/mL)	301.12±65.56	345.54±62.14	-5.063	<0.001
IL-17(pg/mL)	11.45±2.32	9.40±2.00	6.890	<0.001

3 讨论

ITP 的发病主要集中于欧美地区,且可发生于任何年龄段,儿童期及老年期为 ITP 发病的高峰期^[13]。ITP 是由机体免疫失衡引起的自身免疫性疾病,包括免疫介导的血小板破坏,伴有不同程度的出血^[14]。ITP 的发生机制多样复杂,涉及多个方面。在 ITP 的免疫发病机制中,T 细胞仍处于中心阶段,在抗血小

板自身免疫的启动、传递和维持中起着重要作用^[15]。T 细胞需要双信号才能激活:T 细胞抗原受体特异性识别抗原呈递细胞呈递的抗原肽,并为 T 细胞活化提供第一信号;然后,相应的受体与抗原呈递细胞上的共刺激分子结合,提供第二激活信号。此外,T 细胞活化过程中还存在负反馈调节机制,PD1/PD-L1 通路即其中之一^[16]。PD-1/PD-L1 通路的慢性刺激可致

效应 T 细胞耗竭和功能障碍,防止过度免疫损伤,对维持信号通路免疫稳态起重要的调节作用^[17]。PD-1/PD-L1 信号通路在 ITP、多发性硬化、系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎等自身免疫性疾病的发病机制中发挥重要作用^[18]。

Treg 是 CD4+T 细胞的一个特殊亚群,可通过抑制免疫系统的激活,从而维持体内平衡和对自身抗原的耐受性,并在多种自身免疫性疾病中发挥重要作用^[19]。Breg 细胞是一种特殊的 B 细胞亚群,可以促进 CD4+CD25-T 细胞转化为 Treg 细胞,并促进其分化^[20]。Treg 细胞和 Breg 细胞可以细胞之间的直接相互作用和细胞因子(如 IL-10 和 TGF- β)的产生来抑制 CD4+T 细胞或 CD8+T 细胞的活化和增殖,并通过与效应 T 细胞和单核细胞的直接相互作用发挥调节作用^[21-22]。免疫应答失衡和免疫耐受性丧失,在 ITP 的发病机制中也起重要作用^[23]。辅助性 T 细胞(Th)亚群协调不同的免疫应答并介导不同细胞因子(IL-4)的活性,异常的 Th 细胞活性可能导致慢性炎症和自身免疫性疾病^[24]。本研究结果显示,ITP 患者治疗后 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比、TGF- β 、IL-10 和 IL-4 水平均有所升高($P < 0.05$),提示 Breg 细胞、Treg 细胞数量及其异常功能等细胞免疫紊乱是 ITP 的重要机制。考虑 Breg 细胞、Treg 细胞明显减少,使得分泌 IL-10 和 TGF- β 减少,从而减弱了对 CD4+T 细胞或 CD8+T 细胞的活化和增殖的抑制作用,破坏了 Th1/Th2 和 CD4+/CD8+平衡状态,同时减少了 Treg 细胞的产生,使机体免疫耐受机制减弱^[25]。本研究发现,观察组 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比、TGF- β 、IL-10 和 IL-4 水平均明显降低($P < 0.05$),且 Breg 细胞百分比、Treg 细胞百分比的降低程度与 ITP 的严重程度呈正比($P < 0.05$)。

PD-1/PD-L1 信号通路的激活抑制 T 细胞的增殖和细胞因子的产生,在调节免疫平衡和维持外周免疫耐受中起重要作用。PD-1 和 PD-L1 有两种形式,即分泌形式(sPD-1 和 sPD-L1)和膜结合形式^[26]。可溶性程序性细胞死亡蛋白-1(sPD-1)是通过细胞膜表面 PD-1 磷酸水解获得的 PD-1 的可溶性形式,在免疫相关性疾病中高表达,被认为会阻断 PD-1/PD-L1 信号通路^[27]。而可溶性程序性细胞死亡蛋白配体-1(sPD-L1)可以通过保留 IgV 结构域来刺激 PD-1,并能促进 PD-1/PD-L1 信号通路,从而抑制 T 细胞增殖和活化^[28-29]。由 Th17 细胞分泌的 IL-17,作用于不同的靶细胞,触发炎症介质的释放,介导炎症反应、自身免疫性疾病、肿瘤、移植排斥反应等疾病的发生^[30-31]。本研究发现,观察组 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg

细胞表面 PD-L1 阳性率、sPD-1 和 IL-17 水平均明显升高($P < 0.05$),sPD-L1 水平变化未见明显差异($P > 0.05$)。Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率与 ITP 的严重程度呈正比。Treg 细胞表面 PD-1 阳性率与 Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率呈正相关。ITP 患者治疗后 Treg 细胞表面 PD-1 阳性率、Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率、sPD-1 和 IL-17 水平降低($P < 0.05$),治疗前后 sPD-L1 水平变化未见明显差异($P > 0.05$)。提示 PD-1/PD-L1 信号通路及免疫应答失衡是 ITP 发生发展的重要机制。考虑 sPD-1 的产生增加,促进了 PD-1/PD-L1 信号通路的阻断。虽然 Treg 细胞和 Breg 细胞表面的 PD-1/PD-L1 阳性率增加,但 IL-17 水平仍然升高,加强作用于不同的靶细胞,触发炎症介质的释放,因此 PD-1/PD-L1 通路被有效阻断,使 T 细胞过度增殖活化和促进细胞因子的产生,从而造成机体免疫耐受减弱和免疫应答失衡。

4 结论

ITP 患者 Treg 细胞表面 PD-1 和 Breg 细胞表面 PD-L1 阳性率明显升高,与患者病情严重程度呈正相关,同时 Treg 细胞表面 PD-1 和 Breg 细胞表面 PD-L1 表达之间存在相关性,可进一步研究。

【参考文献】

- [1] MILTIADOUS O, HOU M, BUSSEL J. Identifying and treating refractory ITP: difficulty in diagnosis and role of combination treatment[J]. *Blood*, 2020, 135(7):472-490.
- [2] 张扬,白菊,张王刚,等. 原发性免疫性血小板减少症激素敏感与抵抗者血清蛋白质组学的研究[J]. *西部医学*, 2021, 33(12):1802-1806.
- [3] ZHANG G, YANG P, LIU X, *et al.* HMGB1 is increased in patients with immune thrombocytopenia and negatively associates with Tregs[J]. *Thromb Res*, 2022, 213(5):128-136.
- [4] 李康,陈森,梅鸿,等. T 细胞和 Treg 细胞表面 PD-1 水平与脓毒症患者感染程度及近期预后的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(20):3046-3050.
- [5] 朱世荣,谌海燕,王明镜,等. 免疫性血小板减少症患者调节性 B 细胞变化与临床意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(1):175-179.
- [6] MCMILLAN R. Antiplatelet antibodies in chronic immune thrombocytopenia and their role in platelet destruction and defective platelet production[J]. *Hematol Oncol Clin North A*, 2009, 23(6):1163-1175.
- [7] ZHU Y, ZHU H, XIE X, *et al.* MicroRNA expression profile in Treg cells in the course of primary immune thrombocytopenia[J]. *J Investig Med*, 2019, 67(8):1118-1124.
- [8] LIN X, XU A, ZHOU L, *et al.* Imbalance of T Lymphocyte Subsets in Adult Immune Thrombocytopenia[J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14(3):937-947.

- [9] YU T S, WANG H Y, ZHAO Y J, *et al.* Abnormalities of bone marrow B cells and plasma cells in primary immune thrombocytopenia[J]. *Blood Adv*, 2021, 5(20):4087-4101
- [10] 傅磊, 李亮, 卞建军, 等. 调节性 T 细胞及调节性 B 细胞在成人原发免疫性血小板减少症中的表达研究[J]. *临床内科杂志*, 2022, 39(11):758-760.
- [11] 周国忠, 罗洪强, 王慧瑜. 特发性血小板减少性紫癜患者单个核细胞 PD-1/PD-Ls 的变化及临床意义[J]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2018, 6(4):204-207.
- [12] 秦平, 侯明. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识(2016 年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(2):89-93.
- [13] 王晨. 成人原发免疫性血小板减少症 295 例临床分析[D]. 长春:吉林大学, 2021:2.
- [14] COOPER N, GHANIMA W. Immune thrombocytopenia[J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(10):945-955.
- [15] VIANELLI N, AUTERI G, BUCCISANO F, *et al.* Refractory primary immune thrombocytopenia (ITP): current clinical challenges and therapeutic perspectives[J]. *Ann Hematol*, 2022, 101(5):963-978.
- [16] NIE M, LIU Y, LI X X, *et al.* PD-1/PD-L Pathway Potentially Involved in ITP Immunopathogenesis[J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119(5):758-765.
- [17] ZHAO Y, HAN P, LIU L, *et al.* Indirubin modulates CD4 (+) T-cell homeostasis via PD1/PDEN/AKT signalling pathway in immune thrombocytopenia[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(3):1885-1898.
- [18] 汪嘉佳, 李哲, 江继发, 等. 外周血 Treg 细胞、Th17 细胞在成人原发性免疫性血小板减少症中的变化及意义[J]. *山东医药*, 2021, 61(28):74-77.
- [19] ORTLER S, LEDER C, MITTELBRONN M, *et al.* B7-H1 restricts neuroantigen-specific T cell responses and confines inflammatory CNS damage: implications for the lesion pathogenesis of multiple sclerosis[J]. *Eur J Immunol*, 2008, 38(6):1734-1744.
- [20] Cheng L, Liu C, Li F, *et al.* The prediction value of Treg cell subtype alterations for glucocorticoid treatment in newly diagnosed primary immune thrombocytopenia patients[J]. *Thrombosis Research*, 2019, 181(9): 10-16.
- [21] 郝立君, 许腾, 李智伟, 等. Breg 细胞与 Treg 细胞在免疫性血小板减少症患者外周血中的表达及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(9):1074-1078.
- [22] 狄正霞, 耿岩, 孙晓琳, 等. 免疫性血小板减少症患者 CD19~+B 细胞的表达及血清 Breg 在患者发病中的参与作用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(3):911-915.
- [23] WANG Y, PANG N, WANG X, *et al.* Percentages of PD-1+CD4+T cells and PD-L1+DCs are increased and sPD-1 level is elevated in patients with immune thrombocytopenia[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2018, 14(4):832-838.
- [24] ENNINGA E A L, HARRINGTON S M, CREEDON D J, *et al.* Immune checkpoint molecules soluble program death ligand 1 and galectin-9 are increased in pregnancy[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2018, 79(2):e12795.
- [25] LIN X, XU A, ZHOU L, *et al.* Imbalance of T Lymphocyte Subsets in Adult Immune Thrombocytopenia[J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14(3):937-947.
- [26] ZHU J J, SHAN N N. Immunomodulatory cytokine interleukin-35 and immune thrombocytopenia[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(12):300060520976477.
- [27] 侯十前, 王丽花, 刘静, 等. 免疫性血小板减少症患者 Th1、Th2、Treg、Th17 细胞的表达及其临床意义[J]. *吉林医学*, 2022, 43(4):931-932.
- [28] 周国忠, 罗洪强, 王慧瑜. 特发性血小板减少性紫癜患者单个核细胞 PD-1/PD-Ls 的变化及临床意义[J]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2018, 6(4):204-207.
- [29] WILSON J K, ZHAO Y, SINGER M, *et al.* Lymphocyte subset expression and serum concentrations of PD-1/PD-L1 in sepsis-pilot study[J]. *Crit Care*, 2018, 22(1):95.
- [30] FANG J, LIN L, LIN D, *et al.* The imbalance between regulatory memory B cells reveals possible pathogenesis involvement in pediatric immune thrombocytopenia[J]. *Hematology*, 2019, 24(1):473-479.
- [31] 仲晓玲, 吴文静. 免疫性血小板减少症患者外周血 Th17/Treg 相关因子的表达及意义[J]. *川北医学院学报*, 2022, 37(3): 317-319, 332.

(收稿日期:2022-11-21;修回日期:2023-12-14;编辑:黎仕娟)