

# 肝炎患者 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 通路表达的变化及其临床意义

马仰国(山东省菏泽市中医医院 274035)

**【摘要】 目的** 探讨重型肝炎(SH)患者 T 淋巴细胞程序性死亡因子-1(PD-1)以及其配体 B7-H1 的表达以及对患者预后的影响。**方法** 选择该院 30 例 SH 患者,30 例慢性乙型肝炎,另选取 30 例健康患者作为对照。分别检测 3 组 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 的表达水平以及 T 细胞亚群计数,同时对生存以及死亡重型肝炎患者的 PD-1/B7-H1 进行分析。**结果** 重型肝炎患者 T 淋巴细胞 PD-1、B7-H1 的阳性表达率为 [(5.32±0.64)%、(7.65±0.82)%];慢性乙型肝炎阳性表达率为 [(9.98±1.63)%、(15.97±2.48)%];与健康组 [(1.69±0.31)%、(1.83±0.28)%]比较,差异具有统计学意义(均  $P<0.05$ );重型肝炎患者的 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 细胞数分别是 (43.0±9.2)%、(11.0±4.8)%与健康组 [(55.0±9.7)%、(24.5±7.9)%]比较,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );死亡重型肝炎患者的 PD-1/B7-H1 为 (6.32±0.95)%和 (9.15±1.02)%,生存患者为 (3.79±0.63)%和 (5.82±0.67)%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 重型肝炎患者的 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 表达水平明显的提高,跟患者的预后情况具有密切的相关性。

**【关键词】** 重型肝炎患者; T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1; 细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.19.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)19-2411-02

**Change of PD-1/B7-H1 pathway expression and its clinical significance of T lymphocytes in hepatitis patients** MA Yang-guo (Heze Municipal Hospital of TCM, Heze, Shandong 274035, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the expressions of programmed cell death factor-1(PD-1) of T lymphocytes and its ligand B7-H1 in the patients with severe hepatitis(SH) and their influence on prognosis. **Methods** 30 patients with SH,30 patients with chronic hepatitis B and other 30 healthy individuals as control were selected from this hospital. The expression of PD-1/B7-H1 and T cell subsets counts in 3 groups,and PD-1/B7-H1 in survival and death patients with SH were analyzed. **Results** The PD-1 and B7-H1 positive expression rates in SH patients were (5.32±0.64)% and(7.65±0.82)%, which in the chronic hepatitis B patients were(9.98±1.63)% and(15.97±2.48)%, which in the healthy group were(1.69±0.31)% and(1.83±0.28)%, respectively,difference was statistically significant(all  $P<0.05$ ). CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cell counts were(43.0±9.2)% and(11.0±4.8)% in SH patients and(55.0±9.7)% and(24.5±7.9)% in the healthy group,respectively,the difference was statistically significant( $P<0.05$ ). PD-1 and B7-H1 expression was(6.32±0.95)% and(9.15±1.02)% in SH death patients and(3.79±0.63)% and(5.82±0.67)% in SH survival patients,the difference was statistically significant( $P<0.05$ ). **Conclusion** PD-1/B7-H1 expression levels of T lymphocytes in SH patients are increased significantly and closely correlated with the prognosis of patient.

**【Key words】** patients with severe hepatitis; T lymphocytes PD-1/B7-H1; cell subsets

研究发现,程序性死亡因子-1(programmed death 1,PD-1)成为 CD28 家族的一部分,跟其配体 B7-H1 都是共刺激分子<sup>[1]</sup>。一旦受到病毒侵袭,即诱导 T 淋巴细胞表达 PD-1/B7-H1,使得特异性的 T 淋巴细胞的免疫功能下降。将 PD-1/B7-H1 的传导通路切断,便能增强特异性 T 淋巴细胞的功能<sup>[2]</sup>。目前对于重型肝炎患者 PD-1/B7-H1 的信号传导通路的研究很少有报道。本文选择本院 2010 年 6 月至 2011 年 6 月 60 例肝炎患者,其中 30 例重型肝炎患者,30 例慢性肝炎患者,同时选择 30 例健康者进行比较研究,旨在通过对重型肝炎患者 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 的表达以及对 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 的检测,进一步探索引起重型肝炎的发病机制,现总结报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本文选择本院 2010 年 6 月至 2011 年 6 月 60 例肝炎患者:30 例重型肝炎患者,其中男 17 例,女 13 例,年龄 21~63 岁,平均(33.9±3.7)岁;30 例慢性乙型肝炎患者,其中男 16 例,女 14 例,年龄 19~62 岁,平均(38.4±4.4)岁。同时

选择 30 例健康者,其中男 15 例,女 15 例,年龄 20~64 岁,平均(35.4±3.9)岁,进行比较研究。3 组患者的年龄、性别、既往病史等方面进行比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**1.2 试验材料** CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PreCP/CD4-APC、溶血素 FITC-CD3 抗体、PE-鼠抗人 CD279(PD-1)、PE-鼠抗人 CD274(B7-H1)仪器:选用美国 BD 公司生产的 FACS Calibur 流式细胞分析仪。

**1.3 采集样本** 用 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空采血管采静脉血 2 mL,采集肝炎患者住院第 2 天早晨空腹时的静脉血 2 mL,同时采集健康者在本院体检中心进行体检时的血液,将血标本于 4℃ 保存。

**1.4 PD-1/B7-H1 检测** 取 3 根流式细胞分析管,将抗 CD3、CD3<sup>+</sup>CD274、CD3<sup>+</sup>CD279 抗体 2.5 μL 分别加入 3 支流式细胞分析管中,分别加入血标本 20 μL,室温下避光 10 min,每只管中加 10 倍稀释的溶血素 1 mL,静置 15 min,然后离心 5 min,去掉上清液,加入 PBS 对细胞进行洗涤 2 次,再离心 5

min, 去掉上清液, 加 PBS 0.5 mL, 通过流式细胞仪进行检测。

**1.5 T 细胞亚群检测** 将荧光素标记单 CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PreCP/CD4-APC 15 $\mu$ L 至于流式细胞分析管中, 加入 100  $\mu$ L 血样标本, 室温下避免光线孵育 10 min, 加入经 10 倍稀释的溶血素 2 mL, 静置 10 min, 离心 5 min, 去掉上清液, 加 PBS 对细胞洗涤 2 次, 再离心 5 min, 去掉上清液, 加 1% 多聚甲醛 0.5 mL, 通过流式细胞仪进行检测。

**1.6 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 统计分析, 计数资料组间比较以率表示, 采用  $\chi^2$  检验; 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。非正态分布资料用中位数表示。

**2 结 果**

**2.1 重型肝炎、慢性乙型肝炎患者, 外周血 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 的表达明显升高, 都高于健康组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 慢性乙型肝炎组比重型肝炎组升高更显著, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。**

**表 2 3 组 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 表达比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )**

组别	n	PD-1	B7-H1
重型肝炎组	30	5.32 $\pm$ 0.64	7.65 $\pm$ 0.82
慢性乙型肝炎组	30	9.98 $\pm$ 1.63	15.97 $\pm$ 2.48
健康组	30	1.69 $\pm$ 0.31	1.83 $\pm$ 0.28
P		<0.05	<0.05
F		16.91	20.65

**2.2 重型肝炎患者 T 淋巴细胞亚群检测结果, CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 细胞数分别是 (43.0 $\pm$ 9.2)%、(11.0 $\pm$ 4.8)% 与健康组 (55.0 $\pm$ 9.7)%、(24.5 $\pm$ 7.9)% 比较差异有统计学意义 (*F* 值分别为 4.03、5.98, 均  $P < 0.05$ )。**

**2.3 死亡重型肝炎患者的 PD-1/B7-H1 为 (6.32 $\pm$ 0.95)% 和 (9.15 $\pm$ 1.02)%, 生存患者为 (3.79 $\pm$ 0.63)% 和 (5.82 $\pm$ 0.67)%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。**

**表 3 死亡患者与生存患者 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 表达 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )**

组别	n	PD-1	B7-H1
死亡组	8	6.32 $\pm$ 0.95	9.15 $\pm$ 1.02
生存组	22	3.79 $\pm$ 0.63	5.82 $\pm$ 0.67
P		<0.05	<0.05
F		6.31	7.15

**3 讨 论**

研究表明机体的免疫应答需要正向和负向信号的共同作用来维持平衡, 其中 PD-1/B7-H1 产生的负向信号目前被认为是慢性病毒性感染最为主要的因素之一<sup>[3]</sup>, 并且成为有很大应用前景的靶位之一。PD-1 与它的配体结合之后, 能够通过阻断正向的信号分子 CD28, 从而激活 PI3K 途径, 产生抑制 T 细胞增殖和分化的作用<sup>[4]</sup>。有文献报道, PD-1 在病毒特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞呈现出高水平的表达, 而且 PD-1/B7-H1 通路在

调节 T 细胞功能衰竭方面起着关键的作用<sup>[5]</sup>。

肝的免疫功能跟肝内的非实质细胞(包括间隙内皮细胞、肝巨噬细胞)表达的 B7-H1 紧密相关, B7-H1 具有抑制肝内 T 细胞增殖和分化的作用<sup>[6]</sup>。本次试验表明重型肝炎患者的 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 表达明显高于健康者, 慢性乙型肝炎组 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 表达明显高于重型肝炎患者, 表明淋巴细胞作为抗原, 能够提呈细胞表达 PD-1/B7-H1 通路, 参与由 HBV 感染诱导的激活 T 淋巴细胞的共刺激途径, 但是诱导表达的细胞水平不是完全相同。本试验中重型肝炎组 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 的表达明显小于慢性肝炎患者, 这种现象是否与重型肝炎的发病机制有相关性, 还需要进一步的探讨<sup>[6]</sup>。本试验同时还表明, 重型肝炎中死亡的患者 PD-1/B7-H1 的表达水平明显高于生存的患者。PD-1/B7-H1 的表达水平越高, 患者的病情越重, 其预后情况越糟糕, 表明 PD-1/B7-H1 与重型肝炎的预后情况紧密相连。

在重型肝炎的发病机制中, 细胞免疫诱导的肝损伤起着关键的作用。以往的研究显示, 重型肝炎患者早期外周血淋巴细胞减少<sup>[7]</sup>。本试验中重型肝炎组跟健康组相比较 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 都下降 ( $P < 0.05$ ), 表明重型肝炎患者的体内有明显的免疫功能紊乱现象。引起这种现象的因素可能是重型肝炎剧烈的免疫反应使大量的淋巴细胞消耗所引起<sup>[8]</sup>。重型肝炎大多数是由 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 细胞介导的免疫损伤, 所以 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 细胞消耗的最多, 降低也更加显著。

**参考文献**

- [1] 董明国, 石应元, 叶青跃, 等. 慢性乙型重型肝炎患者血清 sTRAIL 的临床价值分析 [J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(23): 1797-1799.
- [2] Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection [J]. Nature, 2006, 439(7077): 682-687.
- [3] 徐晓凤, 叶金松, 蒋丽华, 等. 重型肝炎患者 T 淋巴细胞 PD-1/B7-H1 通路的表达及意义 [J]. 临床检验杂志, 2011, 29(9): 670-671.
- [4] 韩俊梅, 李海荣. 影响重型肝炎预后因素的探讨 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2010, 4(3): 44.
- [5] 周泳昕, 曾岳祥. 重型肝炎患者血浆内毒素、肿瘤坏死因子  $\alpha$  检测及其临床价值 [J]. 检验医学与临床, 2010, 7(6): 528-529.
- [6] 陆铭, 刘国珍. 重型肝炎、肝硬化血氨的检测及临床意义 [J]. 肝脏, 2007, 12(5): 427-428.
- [7] 谢知兵, 李年丰. 重型肝炎 CD4<sup>+</sup> 及 CD8<sup>+</sup> 淋巴细胞亚群的检测和意义 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(6): 587-588.
- [8] 吴丛霞, 陈琳. 病毒性重型肝炎 T 细胞亚群检测的临床分析 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(22): 2711-2712.

(收稿日期: 2012-03-22)