

• 论 著 •

CD4⁺T 淋巴细胞上程序性死亡分子-1 在银屑病外周血中的表达

尹义军¹, 左 芳^{2△}

(湖北省黄石市中心医院; 1. 输血科; 2. 医学检验科 435000)

摘要:目的 检测寻常型银屑病患者外周血中 CD4⁺T 淋巴细胞上程序性死亡分子-1(PD-1)的表达,探讨 PD-1 在银屑病发病机制中的作用。**方法** 入组 30 例寻常型银屑病患者定义为银屑病组,19 例健康者为健康对照组。采集银屑病组患者及健康对照者清晨空腹外周静脉血,肝素锂抗凝,采用流式细胞仪检测外周血中 CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子的表达,比较两组研究对象 CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子表达的差异,并分析其与银屑病皮损面积和严重程度指数(PASI)评分及病程的相关性。**结果** 银屑病组 CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子的表达量为(14.33±5.16)%,明显低于健康对照组的(21.63±4.70)%,差异有统计学意义($P<0.05$),银屑病组 CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子与 PASI 评分呈负相关($r=0.52, P=0.003$),但与病程无明显相关性($r=0.09, P=0.650$)。**结论** 银屑病患者 CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子的表达比健康人群明显降低,且与疾病严重程度相关。

关键词: CD4⁺T 淋巴细胞; 程序性死亡分子-1; 银屑病

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.12.022 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2016)12-1652-02

The expression of programmed death 1 molecular on CD4⁺T cells in peripheral blood of patients with psoriasis

YIN Yijun¹, ZUO Fang^{2△}

(1. Department of Blood Transfusion; 2. Department of Clinical Laboratory, Huangshi Central Hospital, Huangshi, Hubei 435000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of programmed death 1 (PD-1) molecular on CD4⁺T cells in peripheral blood of patients with psoriasis, and to explore its role in the pathogenesis of psoriasis. **Methods** Totally 30 patients with vulgaris psoriasis and 19 health controls were enrolled in present study. Peripheral blood was obtained from patients and health controls. The expressions of PD-1 molecular on CD4⁺T cells in peripheral blood were measured by flow cytometry. The expressions of PD-1 molecular on CD4⁺T cells between patients and health controls were analyzed, and their correlations with Psoriasis Activity and Severity Index (PASI) score and clinical course of psoriasis vulgaris were investigated as well. **Results** The expressions of PD-1 on CD4⁺T cells in patients with psoriasis vulgaris were significantly lower than that in health controls [(14.33±5.16)% vs. (21.63±4.70)%, $P<0.05$]. Furthermore, the expressions of PD-1 on CD4⁺T cells were negatively correlated with PASI score in these patients ($r=0.52, P=0.003$), but it did not correlate with clinical course of psoriasis vulgaris ($r=0.09, P=0.650$). **Conclusion** The expressions of PD-1 on CD4⁺T cells were decreased in patients with psoriasis vulgaris, and correlated with disease severity.

Key words: CD4⁺T cells; PD-1; psoriasis

寻常型银屑病是银屑病中最常见的类型,发病机制至今尚不完全清楚。目前认为,银屑病是一种在多基因遗传背景下 T 淋巴细胞异常活化的慢性炎症反应性皮肤病,可能与遗传、免疫调节、环境及精神等多种因素有关^[1]。既往研究显示,CD4⁺T 淋巴细胞的活化和增殖在银屑病发病机制中起主要作用^[2]。CD4⁺T 淋巴细胞上程序性死亡分子-1(PD-1)是负性协同刺激分子,主要通过与其配体 PD-L 结合,传递负性协同刺激信号,抑制淋巴细胞的活化和增殖^[3]。CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子的表达特征在银屑病中研究尚少,因此,本研究采用流式细胞技术对寻常性银屑病患者外周血中 CD4⁺T 淋巴细胞上 PD-1 分子的表达进行分析,为寻找治疗银屑病新型方法提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 11 月至 2015 年 4 月于本院门诊确诊的寻常型银屑病患者 30 例为银屑病组,其中男 16 例,女 14 例;年龄 22~61 岁,平均(43.6±11.2)岁;病程 6 个月至

11 年,平均(4.42±2.98)年;银屑病皮损面积和严重程度指数(PASI)评分 5.3~27.5 分^[4],平均(17.0±5.4)分。所有患者均符合《临床皮肤病学》第 3 版诊断标准^[5]。患者入组前 2 个月内未系统使用糖皮质激素及免疫抑制剂治疗,均未合并肿瘤及其他免疫相关性疾病。另收集 19 例健康志愿者作为健康对照组,其中男 11 例,女 8 例;年龄 25~56 岁,平均(40.4±10.9)岁。银屑病组和健康对照组年龄及性别差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 小鼠抗人 CD4-Percp 抗体、小鼠抗人 PD-1-APC 抗体及同型对照、FACSCalibur 流式细胞仪、溶血素均为美国 BD 公司产品。

1.3 方法 银屑病患者及健康对照者均于清晨空腹采集外周静脉血 2 mL,用肝素锂抗凝。取全血 200 μ L 2 份,1 份依次加入抗体:CD4-Percp 6 μ L、IgG-APC 6 μ L,另 1 份依次加入抗体:CD4-Percp 6 μ L、PD-1-APC 6 μ L,室温避光孵育 20 min,加入溶血素 2 mL,室温避光 5 min, PBS 洗涤 1 次后加 150 μ L

4%多聚甲醛固定,4℃保存,标本于24 h内完成检测。

1.4 统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用成组 t 检验比较两组外周血中CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子表达的差异,相关性分析采用Spearman检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血中CD4⁺T细胞上PD-1分子表达的特征 见图1。本研究结果显示,银屑病患者外周血中CD4⁺T细胞上PD-1分子表达量为 $(14.33\pm5.16)\%$,明显低于健康对照组的 $(21.63\pm4.70)\%$,两组差异有统计学意义($P<0.05$)。

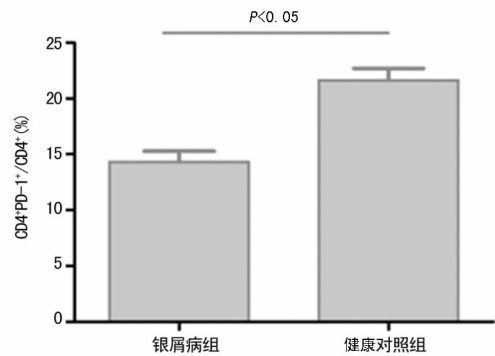


图1 两组外周血中CD4⁺T细胞上PD-1分子表达的特征

2.2 银屑病患者CD4⁺T细胞上PD-1分子表达与PASI评分及病程的相关性 见图2。银屑病患者外周血中CD4⁺T细胞上PD-1分子表达与PASI评分呈明显负相关($r=0.52, P=0.003$),而与患者的病程长短无明显相关性($r=0.09, P=0.650$)。由此提示CD4⁺T细胞上PD-1分子表达与银屑病严重程度相关而与病程无相关性,在银屑病发病机制中有重要作用。

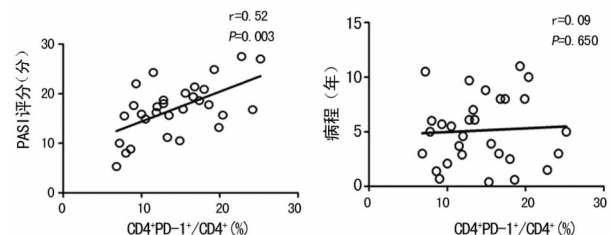


图2 银屑病患者CD4⁺T细胞上PD-1分子表达与PASI评分及病程的相关性

3 讨论

银屑病以表皮过度增生和炎性细胞浸润为特征,活化的T淋巴细胞可分泌 γ -干扰素、白细胞介素(IL)-17、IL-22等多种炎性因子作用于角质形成细胞导致其异常增生^[6]。PD-1属于CD28家族成员,是一种调节性受体,主要表达于活化的T细胞,与其配体PD-L1或PD-L2结合可传递抑制性信号,在维持免疫稳态中有重要作用^[7]。Peled等^[8]发现,在关节病型银屑病患者外周血T淋巴细胞上PD-1分子的表达明显降低,且与疾病严重程度呈负相关。

本研究结果显示,寻常型银屑病患者外周血CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子的表达明显低于健康对照组,由此提示CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子参与银屑病发病。有研究显示,银屑病患者PD-1的mRNA表达水平显著低于健康对照组,这与

本研究结果相一致^[9]。体外研究也表明,PD-1抗体可诱导银屑病样皮损产生,而PD-1可能通过抑制T细胞IL-17A的分泌而减轻咪喹莫特诱导的银屑病样皮损的严重程度^[10]。本研究结果还显示,CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子的表达与PASI评分呈负相关,但与患者病程长短无明显相关性,由此提示CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子的表达可以作为判断疾病严重程度的指标,或许在日后治疗中可通过检测CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子的表达来评价疗效。

总之,寻常型银屑病患者CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子的表达明显降低,且与疾病严重程度呈负相关。由此提示CD4⁺T淋巴细胞上PD-1分子的表达在银屑病发病机制中有重要作用,但能否成为新型治疗靶点而为银屑病患者带来福音,仍需更进一步的研究。

参考文献

[1] Kim J, Krueger JG. The immunopathogenesis of psoriasis [J]. Dermatol Clin, 2015, 33(1): 13-23.

[2] D'Ambrosio D, Steinmann J, Brossard P, et al. Differential effects of ponesimod, a selective S1P1 receptor modulator, on blood-circulating human T cell subpopulations [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2015, 37(1): 103-109.

[3] Thangavelu G, Parkman JC, Ewen CL, et al. Programmed death-1 is required for systemic self-tolerance in newly generated T cells during the establishment of immune homeostasis [J]. J Autoimmun, 2011, 36(3/4): 301-312.

[4] 张长宋, 赵天恩, 陈树民. 银屑病病情严重程度评判指标的研究现状 [J]. 国外医学皮肤病学分册, 2002, 28(2): 82-84.

[5] 赵辨. 临床皮肤病学 [M]. 3版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001: 759-766.

[6] Lowes MA, Suarez-Farinas M, Krueger JG. Immunology of psoriasis [J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32(1): 227-255.

[7] Fife BT, Pauken KE. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance [J]. Ann N Y Acad Sci, 2011, 1217(1): 45-59.

[8] Peled M, Strazza M, Azoulay-Alfaguter I, et al. Analysis of programmed death-1 in patients with psoriatic arthritis [J]. Inflammation, 2015, 38(4): 1573-1579.

[9] 段继惠, 穆红, 唐志琴, 等. 程序性细胞死亡分子-1, 白介素-22及C反应蛋白在银屑病患者血清及外周血单一核细胞中的表达 [J]. 临床皮肤科杂志, 2009, 42(9): 522-524.

[10] Imai Y, Ayithan N, Wu X, et al. Cutting Edge: PD-1 regulates imiquimod-induced psoriasiform dermatitis through inhibition of IL-17A expression by innate gammadelta-low T cells [J]. J Immunol, 2015, 195(2): 421-425.