

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202103218

· 变应性鼻炎专栏 ·

变应性鼻炎血清 sPD-L1 表达与 T 淋巴细胞亚群的关系

纪越¹, 张志茂¹, 王志海²

(1. 三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 湖北 宜昌 443003; 2. 重庆医科大学附属第一医院 耳鼻咽喉头颈外科, 重庆 400016)

摘要: **目的** 探讨变应性鼻炎 (AR) 血清 sPD-L1 表达与 T 淋巴细胞亚群的关系。**方法** 选取 2018 年 6 月—2020 年 2 月收治的 AR 患者 120 例, 并纳入同期体检健康者 50 例作为对照组。采用 Elisa 法测定两组患者血清 sPD-L1 水平, 采用流式细胞技术检查 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 水平; 采用 Spearman 分析 sPD-L1 与外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 的关系。**结果** 研究组 sPD-L1 水平和 CD4⁺/CD8⁺ 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$); 研究组 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 水平显著低于对照组 ($P < 0.05$); 血清 sPD-L1 水平与 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 呈显著负相关 ($r_1 = -0.754, r_2 = -0.817, r_3 = -0.691, P < 0.05$), 而与 CD4⁺/CD8⁺ 呈正相关 ($r = 0.810, P < 0.05$)。**结论** AR 患者血清 sPD-L1 表达上调与 T 淋巴细胞亚群的紊乱密切相关。

关键词: 变应性鼻炎; 血清 sPD-L1; T 淋巴细胞亚群; 预测

中图分类号: R765.21

Relationship between serum sPD-L1 expression and T lymphocyte subsets in allergic rhinitis

Ji Yue¹, Zhang Zhimao¹, Wang Zhihai²

(1. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Yichang Central People's Hospital, the First Clinical Medical College, Three Gorges University, Yichang 443003, China; 2. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between serum sPD-L1 expression and T lymphocyte subsets in allergic rhinitis (AR). **Methods** A total of 120 patients with AR admitted to our hospital from June 2018 to Feb 2020 were selected. In addition, 50 healthy physical examinees during the same period were included as the control group. ELISA method was used to determine the serum sPD-L1 levels and flow cytometry to check the CD3⁺, CD8⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ levels in the both groups. Spearman was used to analyze the relationships between sPD-L1 and peripheral blood levels of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺. **Results** The levels of sPD-L1 and CD4⁺/CD8⁺ in the AR group were significantly higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The levels of CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ in the AR group were significantly lower than those in the control group (all $P < 0.05$). Serum sPD-L1 level was negatively correlated with the levels of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ ($r_1 = -0.754, r_2 = -0.817, r_3 = -0.691, P < 0.05$), and positively with CD4⁺/CD8⁺ ($r = 0.810, P < 0.05$). **Conclusion** The up-regulation of serum sPD-L1 expression in AR patients is closely related to the disorder of T lymphocyte subsets.

Keywords: Allergic rhinitis; Serum sPD-L1; T lymphocyte subsets; Prediction

变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是一种由环境与基因共同作用所致的变态反应性疾病, 虽不危及生命但可诱发诸多并发症而影响患者生活质量^[1]。我国是 AR 高发国家, 2011 年一项调查发现, 城市成人 AR 标准化患病率为 17.6%^[2]。由于 AR 的发病机制的特殊性, 避免变应原接触成为了

治疗的首选方案, 但该方案应用较为困难, 而以抗炎为靶向的药物治疗方案常常使患者难以耐受同样难以较好推广应用。近年来, 随着对 AR 的深入研究, 变应原特异性免疫治疗 (active immunotherapy, AIT) 的优点亦逐渐体现, 但机体免疫系统是一个复杂的网络系统现阶段仍有诸多问题尚未明确, 故对 AR

基金项目: 国家自然科学基金委员会资助项目 (81902776)。

第一作者简介: 纪越, 男, 硕士, 主治医师。

通信作者: 张志茂, Email: 526930566@qq.com

的免疫调控机制开展深入研究,可能有助于对其的预防、诊断和治疗^[3]。sPD-L1 是程序性死亡分子 1 配体(programmed cell death- ligand-1, PD-L1)的可溶性形式,既往诸多报道显示,癌症患者肿瘤细胞中 sPD-L1 呈过表达,其表达上调似乎有利于抑制 T 细胞的增殖,使癌症逃避宿主免疫系统的攻击,从而促进病情的恶化^[4],但过敏性疾病患者机体 sPD-L1 的表达与 T 淋巴细胞亚群的相关性仍鲜有报道。基于此,笔者拟对 AR 患者 sPD-L1 表达与 T 淋巴细胞亚群的关系展开研究,以期为临床诊治提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

对我院 2018 年 6 月—2020 年 2 月宜昌市中心人民医院耳鼻咽喉头颈外科收治的 AR 患者 120 例。并纳入同期体检健康者 50 例作为对照组,纳入标准:①符合 2010 版变应性鼻炎及其对哮喘的影响(allergic rhinitis and its impact on asthma,ARIA)相关诊断标准^[5];②年龄在 20~60 岁;③患者自愿签署知情同意书。排除标准:①伴严重内分泌疾病者;②伴严重传染性疾病者;③合并自身免疫性疾病、慢性炎症者。本次研究所纳入病例经我院伦理委员会批准。两组患者一般资料均衡可比,具体数据见表 1。

表 1 两组受试者一般资料比较 (例, $\bar{x} \pm s$)

临床项目	对照组($n=50$)	研究组($n=120$)	$t(\chi^2)$	P
性别(男/女)	28/22	72/48	(0.23)	0.63
年龄(岁)	35.79 \pm 2.83	35.89 \pm 2.91	0.21	0.84
BMI(kg/cm ²)	20.78 \pm 3.95	21.67 \pm 4.02	1.32	0.19

1.2 方法

1.2.1 试剂及仪器 酶联免疫吸附法试剂盒购置于南京森贝伽生物科技有限公司;酶标仪购置于上海闪谱高品质产品;流式细胞仪购置于吉源生物科技有限公司;EDTA-K2 抗凝管购置于厦门海非生物技术有限公司。

1.2.2 血清指标检测 ①于清晨采集患者空腹外周静脉血 2 mL,经 3 000 r/min 离心后分离上清液,放置进 -80℃冰箱待测。采用酶联免疫吸附法测定两组患者血清 sPD-L1 水平;②采用流式细胞仪检测两组 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 水平,方法为:EDTA-K2 抗凝管采集患者空腹外周血 1.8 mL,染色后孵育 20 min,随后采用 FACSL ysing solution 进行溶血处理。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 19.0 统计分析软件处理数据,符合

正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以率表示,两组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。采用 Spearman 相关性分析计算血清 sPD-L1 和 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 的关系 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清表达水平比较

研究组 sPD-L1 水平显著高于对照组[(104.41 \pm 35.96) pg/mL vs (45.57 \pm 14.03) pg/mL];研究组 CD3⁺ 水平显著低于对照组[(63.12 \pm 3.48)% vs (71.02 \pm 7.62)%];研究组 CD4⁺ 水平显著低于对照组[(35.98 \pm 3.07)% vs (41.54 \pm 5.65)%];研究组 CD8⁺ 水平显著低于对照组[(22.93 \pm 3.24)% vs (28.95 \pm 2.15)%];研究组 CD4⁺/CD8⁺ 水平显著高于对照组(1.49 \pm 0.30 vs 1.37 \pm 0.29)。见图 1~5。

2.2 血清 sPD-L1 与 T 淋巴细胞亚群的相关性

血清 sPD-L1 水平与 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 呈显著负相关($r_1 = -0.754$, $r_2 = -0.817$, $r_3 = -0.691$, $P < 0.05$),而与 CD4⁺/CD8⁺ 呈正相关($r = 0.810$, $P < 0.05$),见图 6~9。

3 讨论

AR 是起源于鼻黏膜的一种 Th2 偏离性炎症反应,为典型的 I 型变态反应,其病发与 Th1/Th2 的比例失调密切相关^[6]。Okamoto 等^[7]证实,AR 患者存在明显的免疫缺陷。故早期对机体免疫功能水平进行评估,及时实施有效的血清标志物监测,有利于 AR 的预测和诊断。血清 sPD-L1 为 PD-L1 的可溶性形式,PD-L1 为 PD-1 的同源配体,前者可通过与后者结合而抑制 T 细胞活性^[8]。Ding 等^[9]证实,新抗原的减少可能为肿瘤细胞的逃逸提供环境,而患者 PD-L1 表达似乎为新抗原减少的主要诱因。本次实验结果显示,研究组 sPD-L1 水平显著高于对照组,证实异常表达的 sPD-L1 可能参与 AR 的病理生理。但在 AR 发生、发展过程中 sPD-L1 的异常表达是否与 T 淋巴细胞亚群紊乱存在某种关系仍需进一步探讨。

鼻黏膜部位的不成熟树突细胞与变应原结合使 Th0 细胞向 Th2 分化,Th2 可激活 B 细胞活性使变应原特异性 IgE 分泌增强,其表达上调后可与嗜碱性粒细胞和肥大细胞表明受体结合,当个体再次与变应原接触时,可迅速导致 IgE 发生桥联,使下游 Th2 细胞因子及血小板激活因子大量释放,而

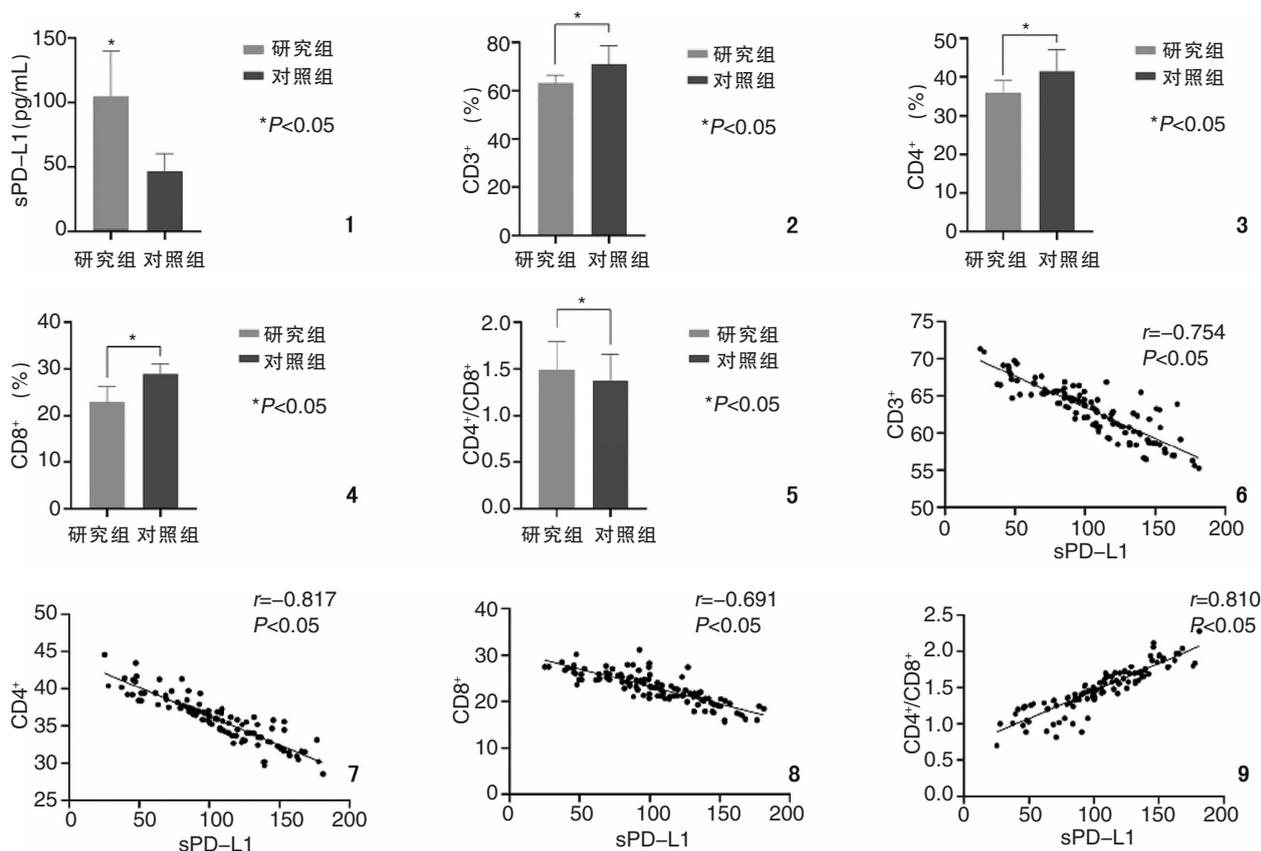


图1 两组 sPD-L1 水平比较 图2 两组 CD3⁺ 水平比较 图3 两组 CD4⁺ 水平比较 图4 两组 CD8⁺ 水平比较
图5 两组 CD4⁺/CD8⁺ 水平比较 图6 血清 sPD-L1 水平与 CD3⁺ 的相关性 图7 血清 sPD-L1 水平与 CD4⁺ 的相关性
图8 血清 sPD-L1 水平与 CD8⁺ 的相关性 图9 血清 sPD-L1 水平与 CD4⁺/CD8⁺ 的相关性

迅速引发流涕、喷嚏和鼻塞等症状^[10]。本次实验结果显示,研究组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和水平显著低于对照组,而 CD4⁺/CD8⁺ 显著高于对照组,证实 AR 患者存在明显的 T 细胞免疫紊乱,这与 Wang 等^[11] 研究结果基本一致。CD3⁺ 是机体重要的淋巴细胞,与机体免疫密切相关。动物实验^[12] 发现,CD3⁺ 的高表达有利于激活 CD4⁺ 的增殖,使 CD4⁺ 的分泌 IL-4 的能力增强,而对 IL-2 和 IFN- γ 的抑制能力增强。CD4⁺ 是具有辅助性 T 细胞亚群,其可通过活化 B 细胞分泌抗体,正常机体中 Th1/Th2 处于动态平衡,当机体遭受异常抗原刺激时,二者平衡被打破,可迅速引起异常免疫应答^[13]。Th2 主要介导体液免疫,可通过活化 B 细胞产生抗体,迅速诱发速发型变态反应,其机制可能为活化的 Th2 可分泌诸如 IL-5 和 IL-4 等细胞因子,使病灶局部炎症水平升高。Luo 等^[14] 证实,AR 患者 CD4⁺ 细胞水平呈低表达,而 IL-5 和 IL-4 因子表达上调。而 Th1 主要介导细胞免疫,并在迟发型变态反应中扮演重要角色。CD8⁺ 来源于骨髓造血干细胞,在胸腺中发育成熟,当其表达上调时可有效抑制 B、T 淋巴细胞活性。

机体 CD8⁺ T 细胞的活化需要三种信号,炎症因子、共刺激信号和 T 细胞受体/抗原肽-I 型主要组织相容性复合体(信号 1),其中信号 1 即影响 CD8⁺ 增殖,亦决定了其具有抗原特异性^[15]。Kohanbash 等^[16] 证实,当 CD8⁺ 水平降低时对 B 细胞的抑制作用减弱,使 IgE 水平升高。为进一步证实我们的推论,我们观察了 sPD-L1 的表达与 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 的关系,结果显示,CD3⁺ 与 sPD-L1 ($r = -0.754, P < 0.05$)、CD4⁺ 与 sPD-L1 ($r = -0.817, P < 0.05$)、CD8⁺ 与 sPD-L1 ($r = -0.691, P < 0.05$),这预示着 sPD-L1 的低表达与 T 淋巴细胞的紊乱存在关系。但我们发现 CD4⁺/CD8⁺ 与 sPD-L1 ($r = 0.810, P < 0.05$) 呈正相关,笔者认为可能为 sPD-L1 与 CD4⁺ 的相关性更强,而与 CD8⁺ 的关系相对较弱,故在 sPD-L1 表达升高后前者受调控更佳灵敏,使得二者比值升高。而 sPD-L1 诱发 T 淋巴细胞亚群紊乱的机制可能如下:Mair 等^[17] 通过不同浓度的 sPD-L1 与 T 淋巴细胞混合培养,发现高浓度组 T 淋巴细胞的增殖能力明显降低,而低浓度组则无显著变化。这似乎解释

了 sPD-L1 与 T 淋巴细胞呈正相关的原因。Wasén 等^[18]认为,sPD-L1 可通过与 B 细胞表面的 PD-1 受体结合,从而促进 T 淋巴细胞的凋亡,进而影响 T 淋巴细胞的水平。而毕玉娜等^[19]的结果似乎解释了 sPD-L1 的表达与 T 淋巴细胞紊乱的机制,其结果显示,sPD-L1 的表达上调有利于将 S 期 T 淋巴细胞百分比下调,而使 G0/G1 期细胞增多。此外 PD-1/PD-L1 途径介导的负性信号亦可有效抑制 T、B 淋巴细胞功能,而以可溶性形式存在的协同刺激分子,可能与这以信号通路存在密切关系。一项研究发现,sPD-L1 在机体的含量与年龄呈正比,这似乎证实免疫系统在外界刺激的不断作用下该因子的表达水平亦随之改变,提示了 sPD-L1 的水平与机体免疫功能密切相关。蛋白质可逆性磷酸化似乎可以解释这一结论,蛋白激酶可通过两方面影响信号传导,其一通过蛋白质的逐级磷酸化,将信号增强而诱发细胞反应,其二通过调节蛋白质活性而影响去磷酸化和磷酸化进程,是信号的终止、失活和启动放大受到影响^[20]。PD-1 的一个重要接头分子为 SHP-1,后者是蛋白酪氨酸磷酸酶的一种,主要表达于造血细胞,其可通过与细胞的免疫抑制性受体项结合而对 T 淋巴细胞进行调控^[21]。

综上所述,sPD-L1 在 AR 患者中呈过表达,其表达上调与 T 淋巴细胞亚群的紊乱密切相关。但本次实验尚存不足,如纳入样本量过低,仅为单中心实验,仍需进一步设置大样本多中心实验进行论证。

参考文献:

[1] Numminen J. Allergic rhinitis[J]. *Duodecim*,2017,133(5):473-478.

[2] 王孟,郑铭,王向东,等. 中国过敏性鼻炎流行病学研究进展[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2019,9(8):78-82.

[3] Cardona V, Luengo O, Labrador-Horrillo M. Immunotherapy in allergic rhinitis and lower airway outcomes[J]. *Allergy*,2017,72(1):35-42.

[4] Kang X, Song X. P1.07-029 correlation study between plasma sPD-L1 and the efficacy and prognosis of patients with non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(11):2007-2011.

[5] Bachert C, van Cauwenberge P, Khaltaev N, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma. In collaboration with the World Health Organization. Executive summary of the workshop report. 7-10 December 1999, Geneva, Switzerland[J]. *Allergy*,2002,57(9):841-855.

[6] Hellings PW, Klimek L, Cingi C, et al. Non-allergic rhinitis: Position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology[J]. *Allergy*,2017,72(11):1657-1665.

[7] Okamoto Y, Fujieda S, Okano M, et al. House dust mite sublin-

gual tablet is effective and safe in patients with allergic rhinitis [J]. *Allergy*,2017,72(3):435-443.

[8] Chen Y, Li M, Liu J, et al. sPD-L1 Expression is associated with immunosuppression and infectious complications in patients with acute pancreatitis[J]. *Scand J Immunol*,2017,86(2):100-106.

[9] Ding Y, Sun C, Li J, et al. The prognostic significance of sPD-L1 expression in cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Scand J Immunol*,2017,86(5):361-367

[10] Zhong H, Fan XL, Yu QN, et al. Increased innate type 2 immune response in house dust mite-allergic patients with allergic rhinitis [J]. *Clin Immunol*, 2017,183:293-299.

[11] Wang M, Gu Z, Yang J, et al. Changes among TGF- β 1 + Breg cells and helper T cell subsets in a murine model of allergic rhinitis with prolonged OVA challenge[J]. *Int Immunopharmacol*,2019, 69(5):347-357.

[12] Evans LC, Petrova G, Kurth T, et al. Increased perfusion pressure drives renal T-Cell infiltration in the dahl salt-sensitive rat [J]. *Hypertension*,2017,70(3):543-551

[13] Narsale A, Moya R, Davies JD. Human CD4⁺ CD25⁺ CD127hi cells and the Th1/Th2 phenotype[J]. *Clin Immunol*,2018,188(9):103-112.

[14] Luo XQ, Ma F, Wang S, et al. Interleukin-5 induces apoptotic defects in CD4⁺ T cells of patients with allergic rhinitis[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(8):98-101.

[15] Milner JJ, Toma C, Yu B, et al. Runx3 programs CD8⁺ T cell residency in non-lymphoid tissues and tumours [J]. *Nature*, 2017,552(7684):253-257

[16] Kohanbash G, Carrera DA, Shrivastav S, et al. Isocitrate dehydrogenase mutations suppress STAT1 and CD8⁺ T cell accumulation in gliomas[J]. *J Clin Invest*, 2017,127(4):1425-1437.

[17] Mair M, Ilhan-Mutlu A, Pajenda S, et al. Circulating PD-L1 levels vary across brain tumour entities and are oppositely linked to survival in glioblastoma and lower grade glioma patients[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(7):145-158.

[18] Wasén C, Erlandsson MC, Bossios A, et al. Smoking is associated with low serum levels of soluble PD-1 in rheumatoid arthritis[J]. *Front Immunol*,2018,9:1677.

[19] 毕玉娜,李晓忠. PD-1/PD-Ls 通路及其在肾脏疾病中的研究进展[J]. *国际免疫学杂志*, 2020, 43(3):352-356.

[20] Kamel NN, Ahmed AMH, Mehaisen GMK, et al. Depression of leukocyte protein synthesis, immune function and growth performance induced by high environmental temperature in broiler chickens[J]. *Int J Biometeorol*, 2017,61(9):1637-1645.

[21] Xu X, Hou B, Fulzele A, et al. PD-1 and BTLA regulate T cell signaling differentially and only partially through SHP1 and SHP2 [J]. *J Cell Biol*, 2020,219(6):e201905085.

(收稿日期:2020-09-17)

本文引用格式:纪越,张志茂,王志海. 变应性鼻炎血清 sPD-L1 表达与 T 淋巴细胞亚群的关系[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2021,27(4):378-381. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202103218

Cite this article as:Ji Yue, ZHANG Zhimao, WANG Zhihai. Relationship between serum sPD-L1 expression and T lymphocyte subsets in allergic rhinitis[J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2021,27(4):378-381. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202103218