

银屑病患者外周血淋巴细胞亚群的变化

刘燕敏, 赵新程, 李俊琴, 张开明*

(山西医科大学附属太原中心医院 皮肤科 皮肤病学实验室 免疫性皮肤病干细胞山西省重点实验室,
山西 太原 030009)

摘要:目的 探讨进行期、静止期和退行期的银屑病患者外周血淋巴细胞亚群的变化及免疫机制。方法 本研究评估了77例寻常型银屑病患者(28例进行期、23例静止期、26例退行期)的外周血单个核细胞(PBMCs)各组中各淋巴细胞的比率。结果 与退行期相比,进行期和静止期患者的CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺淋巴细胞的百分率均显著升高($P<0.01$)。同进行期比较,静止期和退行期的CD4⁻CD8⁻淋巴细胞的百分率降低($P<0.05$)。CD3⁻CD16⁺CD56⁺比例随病情稳定而增高,CD45⁺CD14⁺比例逐渐下降和CD3⁻CD19⁺与病情呈负相关,3组的差异显著($P<0.05$)。结论 进行期、静止期和退行期3组银屑病患者淋巴细胞亚群存在显著的差异,进一步支持银屑病的免疫发病机制。

关键词: 银屑病;T淋巴细胞;白细胞;B淋巴细胞

中图分类号:R75 文献标志码:A

Changes of peripheral blood lymphocyte subsets in patients with psoriasis

LIU Yan-min, ZHAO Xin-cheng, LI Jun-qin, ZHANG Kai-ming*

(Shanxi Key Laboratory of Stem Cell for Immunological Dermatitis, Dermatology Laboratory, Department of Dermatology,
Taiyuan Central Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030009, China)

Abstract: Objective To investigate the changes and immune mechanisms of peripheral blood lymphocyte subsets in psoriasis patients with progressive, stationary and regression stages. **Methods** The percentage of lymphocytes in each group of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in 77 patients with psoriasis vulgaris including 28 patients during progression, 23 patients during stationary, and 26 patients during regression. **Results** The percentages of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes were significantly increased in both the progression and stationary stages as compared to the regression stage ($P<0.01$). CD4⁻ and CD8⁻ subsets in the peripheral blood lymphocyte subsets of the patients showed a decreasing trend according to progression, stationary and regression stages ($P<0.05$). The result showed that the proportion of CD3⁻CD16⁺CD56⁺ increased with the stability of the disease, the proportion of CD45⁺CD14⁺ gradually decreased, and the proportion of CD3⁻CD19⁺ was negatively correlated with the disease ($P<0.05$). **Conclusions** There are significant differences in lymphocyte subsets in the three groups of patients with psoriasis, which further supported the immune pathogenesis of psoriasis.

Key words: psoriasis; T lymphocyte; white blood cell; B lymphocyte

收稿日期:2020-04-15 修回日期:2020-08-24

基金项目:国家自然科学基金(8177333)

*通信作者(corresponding author):zhangkaiming@sina.com

银屑病(psoriasis)是一种复杂的、慢性的和反复发作的皮肤病,由于目前尚无特效疗法,会严重影响患者的身心健康和生活质量^[1]。现普遍认为银屑病具有家族遗传史,到目前为止通过全基因组测序研究已经确定了36个易感位点,但也存在如药物、吸烟、精神压力、皮肤损伤和激素变化等环境诱因^[2-3],所以遗传易感性和环境因素都是该病病因学的重要因素。银屑病是由表皮角质形成细胞、真皮血管细胞和免疫细胞相互交叉介导,其中T细胞、树突状细胞和NK细胞发挥着重要作用^[4]。在研究中发现,银屑病患者的免疫功能,尤其是T细胞功能存在异常,采用免疫调节及抗炎治疗可逆转T细胞功能及亚群的变化,并能很好地改善皮损严重程度。但关于白细胞和B细胞在银屑病中的报道很少,为进一步探讨银屑病的免疫功能以及提高临床治疗效果,本文除常规检测患者的CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺和CD4⁺CD8⁺外周血T淋巴细胞亚群,还对比进行期、静止期和退行期患者中NK细胞、白细胞和B细胞的差异。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 研究对象:77例寻常型银屑病(psoriasis vulgaris)患者来自2019年1月至2020年1月于太原中心医院皮肤性病科门诊就诊的患者,均达到《中国临床皮肤病学》诊断标准。排除标准:近3个月内采取激素类药物治疗的患者;患有其他合并症和免疫性疾病者;脓疱型、关节型和红皮病型皮肤病变者。就诊银屑病患者全部为年龄在5~65岁的太原市定居的汉族人,其中女性占49.4%,共计38例,患者的平均年龄在(36.1±14.5)岁;男性39例,占50.6%,年龄在(38.5±15.7)岁;病程在0.5~22年,平均(5.9±4.6)年,其银屑病皮损面积和严重程度指数(psoriasis area and severity index, PASI)评分为1.9~44.6,平均(22.46±13.57)分。

1.1.2 试剂和试剂盒:CD3、CD4、CD8、CD16、CD56、CD19、CD45和CD14抗体(Miltenyi Biotec公司);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 病理学观察:采集患者银屑病患者躯干或四

肢近端皮损处约1cm的皮肤,放入10%甲醛固定液中约24h,后实施浸蜡包埋,切片,脱蜡等一系列处理。结束后进行苏木精-伊红染色处理,于光学显微镜下观察组织病理变化。

1.2.2 细胞免疫功能的检测:采集空腹外周静脉血3.0~4.0 mL于乙二胺四乙酸采血管中,混匀。对样本以及流式管进行编号,每个样本准备2个试管,每管依次加入20 μL的CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD16⁺、CD56⁺、CD19⁺、CD45⁺和CD14⁺抗体,再加入50 μL充分混匀的抗凝全血,盖上管盖并振荡混匀,室温避光孵育15 min。各管中加入450 μL的溶血素,再次振荡混匀后室温避光孵育15 min待检。采用流式细胞仪及配套的试剂盒检测CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD3⁻CD16⁺CD56⁺(NK细胞)、CD3⁻CD19⁺(白细胞)、以及CD45⁺CD14⁺(B细胞)比例,所有操作步骤严格按照说明书进行。

1.3 统计学分析

采用SPSS2.0软件进行统计学分析,数据以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,对检测结果进行单因素ANOVA方差分析,并采用F检验进行各组均数间的比较。

2 结果

2.1 一般资料

此次筛选患者均为太原市的常住居民,没有地域差别,可以看到男女比例基本一致,94%患者在20~60岁范围,根据患者的病情发展,将上述77例银屑病患者按照进行期、静止期和退行期为3组,3组在年龄、性别和病程上差异均无统计学意义(表1)。

2.2 HE染色评级各组患者的免疫水平

进行期患者皮损组织病理可见皮肤增厚,棘层重度肥厚,表皮呈显著的角化过度和角化不全,同时伴有新生血管增多,重度炎性细胞浸润(图1A)。而静止期和退行期组表皮角化过度和角化不全症状减轻,棘层变薄,炎性细胞浸润减少(图1B,C)。

2.3 银屑病患者外周血淋巴细胞亚群比例

与退行期相比,进行期和静止期患者的CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺淋巴细胞的百分率均显著升高($P<0.01$)。研究结果显示,患者外周血淋巴细胞亚群中的CD4⁻CD8⁻按进行期、静止期和退

行期逐渐降低 ($P < 0.01$)。NK 细胞比例随病情趋于退行期发展呈升高趋势, 白细胞的比例逐渐下降, $CD19^+$ B 细胞比率与病情呈负相关 (3 组, $P < 0.05$) (表 2)。

3 讨论

大量研究证实银屑病与 T 淋巴细胞的表型、功能和分泌大量细胞因子相关联^[5]。本研究结果显示, 与退行期相比, 进行期和静止期患者的 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 淋巴细胞的百分率均显著升高, 说明随着病情发展患者的免疫力减弱。 $CD4^+$

又称辅助性 T 细胞, 可分泌多种细胞因子和化学介质, 对角质形成细胞增生和血管生成及最终导致角化过度 and 银屑病斑块的特征非常重要^[6]。 $CD8^+$ 可抑制 T 细胞的活化, 也可产生相关细胞因子 Tc17、Tc22 及 Tc1 与银屑病的病理过程密切相关^[7]。 $CD4^+CD8^+$ 细胞具有抗原特异性和增殖活性, 可以分泌 Th1 和 Th2 类细胞因子, $CD4^-CD8^-$ 细胞可抑制同系基因型 $CD4^+$ 或 $CD8^+$ 细胞发挥免疫抑制作用^[8]。

患者外周血淋巴细胞亚群中的 $CD4^-CD8^-$ 按进行期、静止期和退行期表达逐渐降低, 而 $CD4^+CD8^+$

表 1 三组的基本情况

Table 1 Basic situation of three groups ($\bar{x} \pm s$)

group	PASI	number	gender ratio (F/M)	age range/year	course of disease/year
progression	0-15	28	16/12	32.11±18.02	6.46±5.43
stationary	15-30	23	12/11	42.35±10.32	5.91±4.19
regression	30-45	26	10/16	38.42±13.86	5.4±3.89

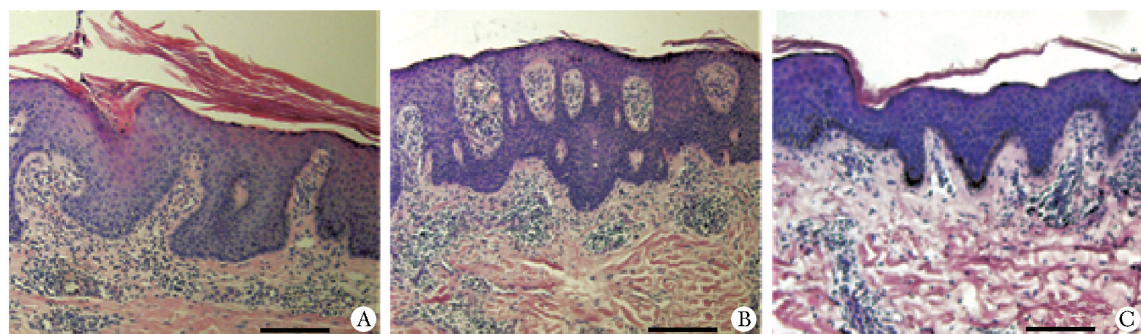


图 1 进行期组织 (A)、静止期组织 (B)、退行期组织 (C) 组织病理学变化

Fig 1 Histopathological changes of progressive tissue (A), stationary tissue (B) and regression tissue (C) (scale bar = 100 μ m)

表 2 银屑病患者外周血 T 淋巴细胞亚群的表达

Table 2 Expression of T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with psoriasis ($\bar{x} \pm s$)

item	progression	stationary	regression	F value	P value
$CD3^+$	72.4±12.77	62.34±12.18	41.57±12.11	32.08	<0.01
$CD4^+$	41.53±7.15	38.34±7.3	30.07±9.49	11.26	<0.01
$CD8^+$	32.61±7.55	25.42±7.27	25.37±7.38	7.065	<0.01
$CD4^+CD8^+$	13.52±10.26	9.73±8.28	13.96±11.96	1.628	0.203
$CD4^-CD8^-$	2.54±1.67	1.49±1.23	1.08±0.97	6.76	<0.01
$CD3^-CD16^+CD56^+$	11.13±3.86	13.87±5.43	14.88±3.9	3.36	<0.05
$CD45^+CD14^+$	35.20±9.3	31.54±8.1	27.78±5.49	4.368	<0.05
$CD3^-CD19^+$	16.27±4.32	14.64±4.7	12.07±3.19	4.78	<0.05

$P < 0.05$, $P < 0.01$ compared with progression group.

的差异无统计学意义,推测 CD4⁻CD8⁻可能与银屑病的病情发展相关。NK 细胞在银屑病发病机制中的确切作用仍存在争议,但已有研究证明 NK 细胞会渗透到银屑病组织中^[9-10]。结果显示 CD3⁻CD16⁺CD56⁺比例随病情稳定逐渐升高,而白细胞的比例逐渐下降。研究发现激活白细胞可产生自由基,破坏机体氧化和抗氧化间的平衡,影响银屑病的发展^[11-12]。T 细胞在银屑病的发病机制中占有很重

要的地位,但已有证据表明 B 细胞也起着重要的作用,现已确定,B 细胞在许多自身免疫性疾病的发病机制中起着关键作用,但作用机制仍不清楚^[13-14]。进行期、静止期和退行期组银屑病患者的淋巴细胞亚群存在显著的差异,进一步支持银屑病的免疫发病机制。相信随着银屑病免疫学研究逐步向精细和微观方向的发展,更加高效、精准的治疗手段将陆续问世。

参考文献:

- [1] Pietrzak D, Pietrzak A, Krasowska D, *et al.* Digestive system in psoriasis: an update[J]. Arch Dermatol Res, 2017, 309:679-693.
- [2] Stuart PE, Nair RP, Tsoi LC, *et al.* Genome-wide association analysis of psoriatic arthritis and cutaneous psoriasis reveals differences in their genetic architecture[J]. Am J Hum Genet, 2015, 97:816-836.
- [3] Phan C, Touvier M, Kesse-Guyot E, *et al.* Association between mediterranean anti-inflammatory dietary profile and severity of psoriasis: results from the nutrinet-santé cohort[J]. JAMA Dermatol, 2018, 154:1017-1024.
- [4] Rendon A, Schäkel K. Psoriasis pathogenesis and treatment[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20: 1475. doi: 10.3390/ijms20061475.
- [5] Woo YR, Cho DH, Park HJ. Molecular mechanisms and management of a cutaneous inflammatory disorder: psoriasis[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18: E2684. doi: 10.3390/ijms18122684.
- [6] 陈曦, 张凯辉, 安军艳, 等. 寻常型银屑病患者三大基本中医证型外周血 Th 细胞分化与 JAK/STAT 信号通路的关[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34:5964-5967.
- [7] 姚梦, 刘鹏, 蒲凤, 等. T 淋巴细胞亚群分析在免疫缺陷病患者中的应用及临床意义[J]. 卫生职业教育, 2020, 38:155-157.
- [8] Prinz JC. Human leukocyte antigen-class I alleles and the autoreactive T cell response in psoriasis pathogenesis [J]. Front Immunol, 2018, 9:954. doi:10.3389/fimmu.2018.00954.
- [9] 缪旭, 范向华, 林桦, 等. 银屑病患者外周血 CD16+CD56+NK 细胞含量与临床严重性相关性分析[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2013, 29:6-7.
- [10] Vandenhoute J, Wouters CH, Matthys P. Natural killer cells in systemic autoinflammatory diseases: a focus on systemic juvenile idiopathic arthritis and macrophage activation syndrome [J]. Front Immunol, 2020, 10: 3089. doi:10.3389/fimmu.2019.03089.
- [11] Hu SC, Yu HS, Yen FL, *et al.* Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human β -defensin-2 production in epidermal keratinocytes [J]. Sci Rep, 2016, 6:31119. doi:10.1038/srep31119.
- [12] 宋翠豪, 王睿, 赵梓纲, 等. 中性粒细胞和淋巴细胞比值与银屑病的相关性研究[J]. 实用皮肤病学杂志, 2019, 12:267-272.
- [13] Lu J, Ding Y, Yi X, *et al.* CD19⁺ B cell subsets in the peripheral blood and skin lesions of psoriasis patients and their correlations with disease severity[J]. Braz J Med Biol Res, 2016, 49:e5374. doi:10.1590/1414-431X20165374.
- [14] Taher TE, Bystrom J, Ong VH, *et al.* Intracellular B lymphocyte signalling and the regulation of humoral immunity and autoimmunity [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2017, 53:237-264.