

# 免疫性血小板减少性紫癜患者血清 sPD1 和 sPD-L1 表达及临床意义

田秋霞<sup>a</sup>, 许元英<sup>b</sup>, 毛怀凤<sup>a</sup>, 王 婷<sup>a</sup>, 洪 亮<sup>a</sup>

(四川省阿坝藏族羌族自治州人民医院 a. 检验科; b. 血液科, 四川阿坝州 624000)

**摘要:**目的 探讨免疫性血小板减少性紫癜 (immune thrombocytopenic purpura, ITP) 患者血清可溶性程序性死亡受体 1(soluble programmed death receptor 1, sPD-1) 和可溶性程序性死亡配体 1(soluble programmed death ligand 1, sPD-L1) 水平及临床意义。方法 选取 2019 年 1 月~2021 年 1 月期间四川省阿坝藏族羌族自治州人民医院收治的 ITP 患者 114 例为 ITP 组, 根据治疗疗效将 ITP 组患者分为治疗有反应组 ( $n=80$ ) 和治疗无反应组 ( $n=34$ )。选取同期 42 例在该院化疗后骨髓抑制血小板减少患者为病例对照组, 同期健康体检的健康人 50 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附实验检测血清中 sPD-1 和 sPD-L1 水平。比较各组血清 sPD-1, sPD-L1, 血小板计数 (PLT) 和平均血小板体积 (MPV) 水平。相关性分析采用 Pearson 相关分析。多因素 Logistic 回归分析影响 ITP 治疗疗效的因素。受试者工作曲线分析血清 sPD-1, sPD-L1, MPV 及联合模型对 ITP 治疗疗效的预测价值。结果 ITP 组血清 sPD-1 ( $124.47 \pm 31.26$  ng/L), sPD-L1 ( $85.74 \pm 13.57$  ng/L) 及 MPV ( $9.70 \pm 1.25$  fL) 高于病例对照组 ( $84.63 \pm 14.26$  ng/L,  $64.85 \pm 11.20$  ng/L,  $6.53 \pm 1.36$  fL) 和健康对照组 ( $63.20 \pm 10.15$  ng/L,  $51.07 \pm 10.16$  ng/L,  $7.88 \pm 1.45$  fL), PLT [ $(9.02 \pm 1.04) \times 10^9$ /L] 低于病例对照组 [ $(84.96 \pm 10.24) \times 10^9$ /L] 和健康对照组 [ $(179.82 \pm 21.35) \times 10^9$ /L], 差异均有统计学意义 ( $t=12.617, 20.661; 13.247, 23.388; 18.770, 11.468; 5.824, 124.03$ , 均  $P<0.05$ )。ITP 患者血清 sPD-1, sPD-L1 与 PLT 呈明显负相关 ( $r=-0.745, -0.810$ , 均  $P<0.05$ ), 与 MPV 呈明显正相关 ( $r=0.740, 0.796$ , 均  $P<0.05$ )。治疗无反应组血清 sPD-1 ( $148.00 \pm 31.70$  ng/L), sPD-L1 ( $110.42 \pm 11.69$  ng/L) 水平高于治疗有反应组 ( $114.47 \pm 30.66$  ng/L,  $75.25 \pm 12.34$  ng/L), PLT [ $(6.13 \pm 0.86) \times 10^9$ /L], MPV ( $8.87 \pm 1.21$  fL) 水平低于治疗有反应组 [ $(10.34 \pm 1.07) \times 10^9$ /L,  $10.05 \pm 1.27$  fL], 差异具有统计学意义 ( $t=5.288, 14.137, 20.307, 4.601$ , 均  $P<0.05$ )。MPV (OR=0.751, 95%CI=0.597 ~ 0.945), 血清 sPD-1 (OR=1.278, 95%CI=1.149 ~ 1.420) 和 sPD-L1 (OR=1.670, 95%CI=1.114 ~ 1.448) 是影响 ITP 治疗疗效的独立因素。联合模型对 ITP 治疗疗效预测的敏感度和特异度分别为 0.752, 0.801。联合模型对 ITP 治疗疗效预测的曲线下面积为 0.849(95%CI:0.811 ~ 0.886), 显著高于 MPV, sPD-1 和 sPD-L1 单一指标检测 0.760(95%CI:0.719 ~ 0.801), 0.699(95%CI:0.660 ~ 0.737), 0.747(95%CI:0.709 ~ 0.785), 差异具有统计学意义 ( $Z=3.029, 3.690, 2.789$ , 均  $P<0.05$ )。结论 ITP 患者血清 sPD-1 和 sPD-L1 水平升高, 是影响 ITP 治疗疗效的危险因素, 血清 sPD-1, sPD-L1 和 MPV 联合模型对 ITP 治疗疗效具有较高的诊断价值。

**关键词:** 免疫性血小板减少性紫癜; 可溶性程序性死亡受体 1; 可溶性程序性死亡配体 1

中图分类号: R554.6; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 04-089-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.04.016

## Expression and Clinical Significance of Serum sPD1 and sPD-L1 in Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura

TIAN Qiuxia<sup>a</sup>, XU Yuanying<sup>b</sup>, MAO Huaifeng<sup>a</sup>, WANG Ting<sup>a</sup>, HONG Liang<sup>a</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Blood Specialty, People's Hospital of Aba Tibetan and Qiang Autonomous Prefecture, Sichuan Aba Prefecture 624000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the serum levels of soluble programmed death receptor 1 (sPD-1) and soluble programmed death ligand 1 (sPD-L1) in patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP) and their clinical significance. **Methods** 114 ITP patients admitted to People's Hospital of Aba Tibetan and Qiang Autonomous Prefecture from January 2019 to January 2021 were selected as ITP group. According to the therapeutic effect, the patients in the ITP group were divided into two groups: the treatment response group ( $n=80$ ) and the treatment non response group ( $n=34$ ). 42 patients with myelosuppression and thrombocytopenia after chemotherapy in the hospital in the same period were selected as case control group, and 50 healthy

**基金项目:** 四川省科学技术厅基金项目 [2019YJ0063]: 血清可溶性程序性死亡受体 1 及其配体在免疫性血小板减少性紫癜中的研究。

**作者简介:** 田秋霞 (1979-), 女, 硕士, 检验技师, 从事血液疾病诊断、检验方向研究, E-mail: tianqiuxia19@163.com。

people in the same period were selected as health control group. The levels of sPD-1 and sPD-L1 in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Compare the levels of serum sPD-1, sPD-L1, platelet count (PLT), and mean platelet volume (MPV) in each group. Pearson correlation analysis was used for correlation analysis. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the factors influencing the therapeutic effect of ITP. The predictive value of serum sPD-1, sPD-L1, MPV, and the combined model on the efficacy of ITP was analyzed by the receiver operating curve. **Results** The serum levels of sPD-1 ( $124.47 \pm 31.26$  ng/L), sPD-L1 ( $85.74 \pm 13.57$  ng/L) and MPV ( $9.70 \pm 1.25$  fl) in the ITP group were significantly higher than those in the case control group ( $84.63 \pm 14.26$  ng/L,  $64.85 \pm 11.20$  ng/L,  $6.53 \pm 1.36$  fl) and healthy control group ( $63.20 \pm 10.15$  ng/L,  $51.07 \pm 10.16$  ng/L,  $7.88 \pm 1.45$  fl) and PLT [ $(9.02 \pm 1.04) \times 10^9/L$ ] was significantly lower than those in the case control group [ $(84.96 \pm 10.24) \times 10^9/L$ ] and healthy control group [ $(179.82 \pm 21.35) \times 10^9/L$ ], the differences were statistically significant ( $t=12.6174, 20.661; 13.247, 23.388; 18.770, 11.468; 5.824, 124.037$ , all  $P<0.05$ ). Serum sPD-1 and sPD-L1 in ITP patients were significantly negatively correlated with PLT ( $r=-0.745, -0.810$ , all  $P<0.05$ ), and significantly positively correlated with MPV ( $r=0.740, 0.796$ , all  $P<0.05$ ). The levels of serum sPD-1 ( $148.00 \pm 31.70$  ng/L) and sPD-L1 ( $110.42 \pm 11.69$  ng/L) in the treatment non response group were higher than those in the treatment response group ( $114.47 \pm 30.66$  ng/L,  $75.25 \pm 12.34$  ng/L), and PLT [ $(6.13 \pm 0.86) \times 10^9/L$ ], MPV ( $8.87 \pm 1.21$  fl) levels were lower than those in the treatment response group [ $(10.34 \pm 1.07) \times 10^9/L, 10.05 \pm 1.27$  fl], the difference was statistically significant ( $t=5.288, 14.137, 20.307, 4.601$ , all  $P<0.05$ ). MPV (OR=0.751, 95% CI: 0.597 ~ 0.945), serum sPD-1 (OR=1.278, 95% CI: 1.149 ~ 1.420), and sPD-L1 (OR=1.670, 95% CI: 1.114 ~ 1.448) were independent factors affecting the efficacy of ITP treatment. The sensitivity and specificity of the combined model for predicting the efficacy of ITP were 0.752 and 0.801, respectively. The area under the curve of the combined model to predict the efficacy of ITP treatment was 0.849 (95% CI: 0.811 ~ 0.886), significantly higher than that of MPV, sPD-1, sPD-L1 single index detection 0.760 (95% CI: 0.719 ~ 0.801), 0.699 (95% CI: 0.660 ~ 0.737), 0.747 (95% CI: 0.709 ~ 0.785), with a statistically significant difference ( $Z=3.029, 3.690, 2.789$ ;  $P=0.003, 0.000, 0.015$ ). **Conclusion** The serum levels of sPD-1 and sPD-L1 in patients with ITP increased, which would be risk factors affecting the therapeutic efficacy of ITP. The combined model of serum sPD-1, sPD-L1 and MPV has higher diagnostic value for the therapeutic efficacy of ITP.

**Keywords:** immune thrombocytopenic purpura; soluble programmed death receptor 1; soluble programmed death ligand 1

原发免疫性血小板减少症 (immune thrombocytopenic purpura, ITP) 是一种获得性自身免疫性出血性疾病<sup>[1]</sup>。目前 ITP 的治疗以短期大剂量激素治疗为主, 但长期激素用药可引起肥胖、高血压及电解质紊乱等<sup>[2-3]</sup>。ITP 的发生与自身血小板抗原免疫耐受缺失有关, 存在 T 细胞过度激活的现象<sup>[4]</sup>。程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1) 和程序性死亡配体 1(programmed death-ligand 1, PD-L1) 是 T 细胞活化的重要调节通路。可溶性 PD-1 (soluble PD-1, sPD-1) 和可溶性 PD-L1 (soluble PD-L1, sPD-L1) 是 PD-1, PD-L1 的可溶性形式, 能够抑制肿瘤杀伤 T 淋巴细胞的细胞毒效应<sup>[5]</sup>。近年来发现, sPD-1 和 sPD-L1 能够阻断 PD-1/PD-L1 通路, 导致 1 型辅助性 T 细胞 (T helper 1, Th1) 和 2 型辅助性 T 细胞 (T helper 2, Th2) 平衡失调, 促进 ITP 等自身免疫性疾病的进展<sup>[6]</sup>。目前 ITP 患者血清中 sPD-1, sPD-L1 的表达及临床意义尚不清楚。本研究通过检测 ITP 患者血清中 sPD-1 和 sPD-L1 的表达, 探讨两者与疾病严重程度及与临床治疗反应的关系, 报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象 选取 2019 年 2 月 ~ 2021 年 2 月四

川省阿坝藏族羌族自治州人民医院收治的 ITP 患者 114 例作为研究对象 (ITP 组)。纳入标准: ① ITP 的诊断符合 2016 年版《成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识》<sup>[7]</sup>; ② 年龄 18 岁以上; ③ 未接受免疫及细胞毒性药物治疗; ④ 所有患者家属知情并签署同意书。排除标准: ① 并发严重肝肾功能障碍; ② 并发精神神经系统疾病; ③ 并发恶性肿瘤; ④ 并发结缔组织病、淋巴系统增生性疾病及脾功能亢进等继发性血小板减少; ⑤ 长期使用免疫调节剂。ITP 组中, 男性 44 例, 女性 70 例; 年龄  $23 \sim 57$  ( $39.47 \pm 9.24$ ) 岁; 出血严重程度: 隐性和轻度 49 例, 中重度 65 例。另取同期本院 42 例化疗后骨髓抑制血小板减少患者作为病例对照组, 其中男性 15 例, 女性 27 例; 年龄  $22 \sim 56$  ( $38.59 \pm 8.78$ ) 岁。选取同期健康体检的健康者 50 例作为健康对照组, 其中男性 20 例, 女性 30 例; 年龄  $24 \sim 59$  ( $40.04 \pm 7.79$ ) 岁。三组性别、年龄比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.310, F=0.184$ , 均  $P>0.05$ )。本研究经医院伦理委员会批准通过。

1.2 仪器与试剂 Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪 (美国赛默飞公司), 人 sPD-1 酶联免疫吸附试剂盒 (上海科维诺生物科技公司, 货号 KWN-

164604), 人 sPD-L1 酶联免疫吸附试剂盒 (上海恒远生物科技有限公司, 货号 HY1304)。

### 1.3 方法

1.3.1 治疗及疗效评估: 参考中华医学会血液学分会止血与血栓学组 2016 年制定的《成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识》中的标准进行治疗及疗效判定<sup>[7]</sup>: 完全反应: 治疗血小板数目 (platelet count, PLT) 升至  $\geq 100 \times 10^9/L$  且无出血。有效: 治疗后 PLT 升至  $\geq 30 \times 10^9/L$  并且至少比基础 PLT 增加两倍且无出血。无效: 治疗后  $PLT < 30 \times 10^9/L$  或 PLT 增加不到基础值的两倍或者有出血。复发: 治疗有效患者, PLT 再次降至  $30 \times 10^9/L$  以下或者再次出现出血症状。完全反应 + 有效定义为治疗有反应组 ( $n=80$ ), 无效 + 复发定义为治疗无反应组 ( $n=34$ )。

1.3.2 酶联免疫吸附实验检测血清 sPD-1, sPD-L1 水平: 取 ITP 组入院即刻, 病例对照组及健康对照组清晨空腹静脉血 5ml, 3 000r/min 离心 10 min, 吸取上层血清。采用酶联免疫吸附实验 (双抗体夹心法) 检测血清 sPD-1, sPD-L1 水平, 实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。根据标准品浓度的  $A_{450nm}$  值, 计算每孔样品的浓度值。

1.3.3 观察指标: 收集所有研究对象性别、年龄、病程、出血严重程度等一般临床资料。收集实验室检查指标包括 PLT, 平均血小板体积 (mean platelet volume, MPV) 及骨髓穿刺涂片巨核细胞数。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析。符合正态性分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用两独立样本  $t$  检验, 三组间比较采用单因素方差分析, 进一步组间两两比较采用 LSD- $t$  检验。不符合正态性分布的计量资料以中位数 (四分位间距) [M(IQR)] 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验。计数资料以率 (%) 表示, 组间比较用卡方检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析。多因素 Logistic 回归模型分析影响 ITP 患者治疗疗效的因素。绘制受试者工作 (receiver operating curve, ROC) 曲线分析各独立影响因素及拟合多变量的预测模型对 ITP 治疗疗效的预测价值。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组患者 sPD1, sPDL1, PLT 及 MPV 水平比较 见表 1。ITP 组血清 sPD1, sPDL1, MPV 高于病例对照组和健康对照组 ( $t=12.617, 20.661; 13.243, 23.388; 18.770, 11.468$ , 均  $P < 0.05$ ), PLT 低于病例对照组和健康对照组 ( $t=51.824, 124.037$ , 均  $P < 0.05$ ), 差异具有统计学意义。

2.2 ITP 组患者血清 sPD-1, sPD-L1 水平与 PLT,

MPV 的相关性 血清 sPD-1, sPD-L1 与 PLT 呈明显负相关 ( $r=-0.745, -0.810$ , 均  $P=0.000$ ), 与 MPV 呈明显正相关 ( $r=0.740, 0.796$ , 均  $P=0.000$ )。

2.3 不同治疗疗效患者血清 sPD-1, sPD-L1 水平及各临床指标比较 见表 2。相比于治疗有反应组, 治疗无反应组血清 sPD-1, sPD-L1 水平较高, 而 PLT, MPV 水平较低, 差异具有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。

表 1 各组患者 sPD-1, sPD-L1 及 PLT, MPV 水平比较

项目	ITP 组 ( $n=114$ )	病例对照组 ( $n=42$ )	健康对照组 ( $n=50$ )	$F$	$P$
sPD-1 (ng/L)	124.4 $\pm$ 31.26	84.63 $\pm$ 14.26	63.20 $\pm$ 10.15	119.240	0.000
sPD-L1 (ng/L)	85.74 $\pm$ 13.57	64.85 $\pm$ 11.20	51.07 $\pm$ 10.16	148.401	0.000
PLT ( $\times 10^9/L$ )	9.02 $\pm$ 1.04	84.96 $\pm$ 10.24	179.82 $\pm$ 21.35	3 918.528	0.000
MPV (fL)	9.70 $\pm$ 1.25	6.53 $\pm$ 1.36	7.88 $\pm$ 1.45	98.181	0.000

表 2 不同治疗疗效患者血清 sPD1, sPD-L1 水平及各临床指标比较

类别	治疗有反应组 ( $n=80$ )	治疗无反应组 ( $n=34$ )	$t/\chi^2$	$P$
性别 (男/女)	30/50	14/20	0.136	0.712
年龄 (岁)	39.47 $\pm$ 9.24	41.06 $\pm$ 11.08	0.791	0.431
病程 (日)	14 (1.60)	17 (1.70)	1.295	0.150
出血严重程度 隐性/轻度	37 (46.25)	12 (35.29)	1.169	0.280
中重度	43 (53.75)	22 (64.71)		
PLT ( $\times 10^9/L$ )	10.34 $\pm$ 1.07	6.13 $\pm$ 0.86	20.307	0.000
MPV (fL)	10.05 $\pm$ 1.27	8.87 $\pm$ 1.21	4.601	0.000
骨髓涂片巨核细胞数 (个)	95.27 $\pm$ 17.74	92.39 $\pm$ 16.28	0.812	0.418
sPD-1 (ng/L)	114.47 $\pm$ 30.66	148.00 $\pm$ 31.70	5.288	0.000
sPD-L1 (ng/L)	75.25 $\pm$ 12.34	110.42 $\pm$ 11.69	14.137	0.000

2.4 影响 ITP 治疗疗效因素的多因素 Logistic 回归分析 见表 3。以是否 ITP 患者治疗疗效 (1= 治疗无反应, 0= 治疗有反应) 为因变量, 以 PLT, MPV, sPD-1, sPD-L1 为自变量, 多因素 Logistic 回归分析结果, MPV, 血清 sPD-1, sPD-L1 是影响 ITP 治疗疗效的独立因素。

表 3 多因素 Logistic 回归分析影响 ITP 治疗疗效的因素

项目	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	$P$	OR (95%CI)
sPD-1	0.245	0.054	20.585	0.000	1.278 (1.149 ~ 1.420)
sPD-L1	0.239	0.067	12.725	0.000	1.670 (1.114 ~ 1.448)
PLT	0.298	0.161	3.426	0.219	1.347 (0.983 ~ 1.847)
MPV	-0.286	0.117	5.975	0.000	0.751 (0.597 ~ 0.945)

2.5 ROC 曲线评估 MPV, sPD-1, sPD-L1 及联合模型对 ITP 治疗疗效的预测价值 见表 4, 图 1。



MPV, sPD-1, sPD-L1 联合模型对 ITP 治疗疗效预测的曲线下面积为 0.849 (95%CI: 0.811 ~ 0.886), 高于 MPV, sPD-1, sPD-L1 单一指标检测 0.760 (95%CI: 0.719 ~ 0.801), 0.699 (95%CI: 0.660 ~ 0.737), 0.747 (95%CI: 0.709 ~ 0.785), 差异具有统计学意义 ( $Z=3.029, 3.690, 2.789$ ;  $P=0.003, 0.000, 0.015$ )。

表4 血清 MPV, sPD1, sPDL1 及联合模型对 ITP 治疗疗效的预测价值

项目	AUC (95%CI)	约登指数	最佳截断值	敏感度	特异度
MPV	0.760(0.719 ~ 0.801)	0.380	9.80 fl	0.796	0.584
sPD-1	0.699(0.660 ~ 0.737)	0.403	123.58 ng/L	0.809	0.593
sPD-L1	0.747(0.709 ~ 0.785)	0.360	82.67 ng/L	0.780	0.580
联合模型	0.849(0.811 ~ 0.886)	0.553	-	0.752	0.801

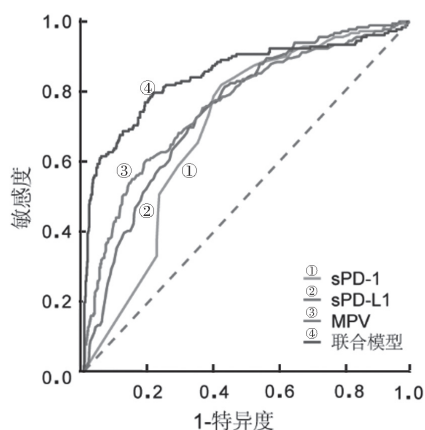


图1 ROC 曲线分析血清 MPV, sPD1, sPDL1 及联合模型对 ITP 治疗疗效的预测价值

### 3 讨论

目前糖皮质激素是 ITP 的一线治疗方案, 但约 20% ~ 30% 的 ITP 患者对糖皮质激素治疗无效, 病程迁延反复可进展为慢性或难治性 ITP<sup>[8]</sup>。深入研究 ITP 疾病机制, 对于 ITP 的临床治疗及预后评估具有重要意义。ITP 是一种获得性免疫系统异常疾病, 涉及 T 细胞、B 细胞等功能障碍, CD4<sup>+</sup>T 细胞参与 B 细胞的分化和成熟, 其过度激活参与促进 ITP 的发生发展<sup>[9]</sup>。T 细胞的激活不仅需要 T 细胞受体识别抗原提呈细胞表面的抗原肽-MHC 复合物的第一信号系统, 还需要 PD-1/PD-L1 等通路介导的负反馈调节。PD-1/PD-L1 途径的持续激活可导致效应 T 细胞衰竭和功能障碍, 防止过度的免疫损伤, 并在维持免疫稳态中发挥重要的调节作用<sup>[10]</sup>。因此, PD-1/PD-L1 通路中相关靶点可能是影响 ITP 发生发展的重要生物标志物。

PD-1/PD-L1 信号通路是 T 细胞活化负调控的重要机制之一, 该通路的异常激活或失活在人类

恶性肿瘤、多发性硬化、系统性红斑狼疮和类风湿关节炎等疾病的发生发展中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。PD-1 和 PD-L1 有分泌型和膜结合型。sPD-1 可通过特异性结合 PD-L1 阻断 PD-1/PD-L 信号传导, 而 sPD-L1 可通过其免疫球蛋白可变区结构域结合 PD-1, 抑制 PD-1/PD-L1 信号传导途径, 促进 T 细胞增殖和活化<sup>[12]</sup>。WU 等<sup>[13]</sup>报道, ITP 患者外周血 PD-1<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 细胞和 PD-L1<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>树突状细胞比例明显高于对照组, 可早期鉴别诊断 ITP。本研究中 ITP 组患者血清中 sPD-1, sPD-L1 水平升高, 与 WU 等<sup>[13]</sup>在 ITP 患者外周血单个核细胞中 PD-1, PD-L1 表达上调一致, 而本研究在血清 sPD-1, sPD-L1 蛋白水平进行检测, 结果更为准确。本研究中 sPD-1, sPD-L1 表达升高较既往研究报道<sup>[13]</sup>升高更为明显, 分析其原因, 一方面是本研究纳入 ITP 患者中重度患者达 65 例, 因而血清 sPD-1, sPD-L1 蛋白水平明显较高。另一方面可能与不同研究病例的纳入标准不同及样本量不同等因素有关。本研究中, ITP 患者血清 sPD-1, sPD-L1 的表达与 PLT 呈负相关, 提示血清 sPD-1, sPD-L1 水平有助于反映 ITP 患者疾病严重程度。分析其原因, 正常生理状态下 PD-1/PD-L1 通路的激活能够诱导效应性 T 淋巴细胞的耗竭及功能丧失, 抑制过度的自身免疫损伤, 维持免疫稳态。而当血清 sPD-1, sPD-L1 水平升高时, 两者能够结合并阻断 PD-1/PD-L1 通路, 机体免疫耐受的丧失, Th1 型和 Th2 型细胞平衡失调, 机体发生过度的自身免疫反应, 导致 ITP 的发生发展。研究证实, sPD-1, sPD-L1 阻断 PD-1/PD-L1 通路能够结合 Th17 细胞表面的相应受体, 促进白介素 17 等炎症因子的释放, 效应 T 淋巴细胞过度增殖和活化, 导致 ITP 等自身免疫性疾病的发生<sup>[13-14]</sup>。LI 等<sup>[15]</sup>发现, 利用特异性 PD-1 抗体体外处理 ITP 患者外周血单个核细胞 48h 后, 能显著促进外周血单个核细胞干扰素  $\gamma$  的释放, 干扰素  $\gamma$  不仅能够诱导 Th0 细胞向 Th1 细胞分化, 促进 CD4<sup>+</sup>效应性 T 细胞的活化增殖, 还能够抑制 Th2 型细胞分化, 导致 Th2 型细胞因子白介素 4, 白介素 10 及转化生长因子  $\beta$  分泌减少, B 细胞分泌产生大量抗血小板抗体, 导致血小板免疫性破坏增加。因此, ITP 患者血清 sPD-1, sPD-L1 水平升高与疾病严重程度有关, 可能是新的 ITP 血清生物标志物。但血清 sPD-1, sPD-L1 水平是否有助于评估 ITP 治疗疗效尚不清楚。

本研究中, 血清 sPD-1, sPD-L1 升高是影响 ITP 治疗疗效的独立危险因素, 提示 sPD-1, sPD-L1 是影响 ITP 患者激素治疗疗效的重要因素。分析其原因, 一方面 sPD-1, sPD-L1 升高能够促进 CD4<sup>+</sup>T

细胞亚群的活化和增殖、调节性 T 细胞数目降低、Th17 细胞数目升高、调节性 T 细胞/Th17 细胞亚群比例平衡失调、白介素 -17 和干扰素 - $\gamma$  大量分泌产生,诱导 Th0 向 Th1 细胞分化,加重自身免疫反应,体外实验中进一步证实,地塞米松激素治疗不能抑制 Th17 细胞的增殖,该 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群对皮质类固醇治疗无反应,导致 ITP 患者对激素治疗无效<sup>[16-17]</sup>。另一方面,高剂量地塞米松治疗能够通过促进 ITP 患者髓源性抑制细胞的功能,抑制自身免疫损害。研究发现,sPD-1,sPD-L1 能够通过抑制髓源性抑制细胞线粒体中脂肪酸氧化限速酶肉碱棕榈酰转移酶-1 的表达,引起线粒体有氧代谢受损,髓源性抑制细胞表面糖皮质激素受体表达降低,导致 ITP 患者糖皮质激素耐药性的发生<sup>[18-19]</sup>。因此,血清 sPD-1,sPD-L1 升高可能是 ITP 治疗反应较差及疾病反复的原因之一。

MPV 是血小板的平均体积,能够反映骨髓巨核细胞的增生、代谢及 PLT 生成情况。本研究中 ITP 患者 MPV 升高,提示 ITP 患者外周 PLT 破坏增加,而在病例对照组,由于化疗等因素导致骨髓抑制,MPV 减小。本研究结果显示,治疗有反应组 MPV 大于无反应组,提示 MPV 是影响 ITP 患者糖皮质激素治疗疗效的影响因素,与既往研究报道一致<sup>[20]</sup>。其原因是糖皮质激素刺激骨髓巨核细胞释放血小板,大量不成熟血小板释放入血导致 MPV 变大,而 MPV 越大,其内部血小板细胞器增加,代谢和功能更为活跃。但本研究并未观察到骨髓巨核细胞数目之间的差异,分析其原因,可能是激素敏感性受多因素的影响,如不同 ITP 患者存在不同的基因或通路的异常改变等<sup>[18]</sup>,有待今后进行深入研究。本研究中,基于 MPV,sPD-1,sPD-L1 建立的联合模型在预测 ITP 患者治疗反应的曲线下面积为 0.849,预测的敏感度和特异度分别为 0.752,0.801,提示该模型具有较高的诊断效能,高于既往研究报道结果<sup>[21]</sup>,这与不同选择的预测因素不同有关。临床医师可利用该预测模型,在治疗前对患者对激素治疗的反应进行预测,从而选择最佳治疗药物,缩短患者血小板持续低下的时间,降低出血风险。

综上所述,血清 sPD-1,sPD-L1 水平升高与 ITP 的发生发展相关,MPV,血清 sPD-1 和 sPD-L1 是影响 ITP 治疗疗效的独立因素。通过构建 sPD-1,sPD-L1 和 MPV 的联合模型有助于评估 ITP 患者的治疗疗效,具有一定的临床应用价值。但本研究也存在不足之处,本研究未对 ITP 中其他调控 T 细胞功能的细胞因子和通路进行检测,有待今后进行深入的临床及实验研究进一步验证。

## 参考文献:

- [1] COOPER N, GHANIMA W. Immune thrombocytopenia[J]. New England Journal of Medicine, 2019, 381(10): 945-955.
- [2] 宋丽,杜宁超,李富荣. 儿童慢性 ITP 外周血 CD3<sup>+</sup>T 细胞活性氧的检测及临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(6): 144-148.  
SONG Li, DU Ningchao, LI Furong. Detection and clinical significance of CD3<sup>+</sup>T cell reactive oxygen species in peripheral blood of children with chronic ITP[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(6): 144-148.
- [3] DESOUZA S, ANGELINI D. Updated guidelines for immune thrombocytopenic purpura: Expanded management options[J]. Cleveland Clinic Journal of Medicine, 2021, 88(12): 664-668.
- [4] BUSSEL J, COOPER N, BOCCIA R, et al. Immune thrombocytopenia[J]. Expert Review of Hematology, 2021, 14(11): 1013-1025.
- [5] ŚWIDERSKA J, KOZŁOWSKI M, NOWAK K, et al. Clinical relevance of soluble forms of immune checkpoint molecules sPD-1, sPD-L1, and sCTLA-4 in the diagnosis and prognosis of ovarian cancer[J]. Diagnostics (Basel, Switzerland), 2022, 12(1): 189.
- [6] ANDREWS L P, YANO H, VIGNALI D A A. Inhibitory receptors and ligands beyond PD-1, PD-L1 and CTLA-4: breakthroughs or backups[J]. Nature Immunology, 2019, 20(11): 1425-1434.
- [7] 中华医学会血液学分会止血与血栓学组. 成人原发性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.  
Thrombosis and Hemostasis Group, Hematology Society, Chinese Medical Association. Consensus of Chinese experts on diagnosis and treatment of adult primary immune thrombocytopenia (version 2016) [J]. Chinese Journal of Hematology, 2016, 37(2): 89-93.
- [8] BRADBURY C A, PELL J, HILL Q, et al. Mycophenolate mofetil for first-line treatment of immune thrombocytopenia[J]. New England Journal of Medicine, 2021, 385(10): 885-895.
- [9] 王萍,张佳佳. T 淋巴细胞亚群在原发性免疫性血小板减少症外周血中的表达及临床意义[J]. 黑龙江医学, 2019, 44(9): 1022-1024.  
WANG Ping, ZHANG Jiajia. Expression of T lymphocyte subsets in peripheral blood of primary immune thrombocytopenia and its clinical significance [J]. Heilongjiang Medical Journal, 2019, 44(9): 1022-1024.
- [10] DAMMEIJER F, VAN GULIK M, MULDER E E, et al. The PD-1/PD-L1-checkpoint restrains T cell immunity in tumor-draining lymph nodes[J]. Cancer Cell, 2020, 38(5): 685-700, e8.
- [11] HOSSEINZADEH R, FEIZISANI F, SHOMALI N, et al. PD-1/PD-L1 blockade:Prospectives for immunotherapy in cancer and autoimmunity[J]. IUBMB Life, 2021, 73(11): 1293-1306.
- [12] 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]. American Journal of Reproductive Immunology, 2018, 79(2): e12795. (下转第 109 页)

- [13] YAN Yangtian, CHEN Li, ZHOU Jiajun, et al. SNHG12 inhibits oxygen-glucose deprivation-induced neuronal apoptosis via the miR-181a-5p/NEGR1 axis[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 22(5): 3886-3894.
- [14] HUANG Jiao, YANG Jialei, LI Jinhong, et al. Association of long noncoding RNA H19 polymorphisms with the susceptibility and clinical features of ischemic stroke in southern Chinese Han population [J]. *Metabolic Brain Disease*, 2019, 34(4): 1011-1021.
- [15] ZHANG Boya, DONG Yang, ZHAO Zhuo. LncRNA MEG8 regulates vascular smooth muscle cell proliferation, migration and apoptosis by targeting PPAR $\alpha$  [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 510(1): 171-176.
- [16] SUI Shihua, SUN Lei, ZHANG Wenjing, et al. LncRNA MEG8 attenuates cerebral ischemia after ischemic stroke through targeting miR-130a-5p/VEGFA signaling [J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2021, 41(6): 1311-1324.
- [17] CHALOS V, VAN DER ENDE N A M, LINGSMA H F, et al. National institutes of health stroke scale: an alternative primary outcome measure for trials of acute treatment for ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2020, 51(1): 282-290.
- [18] 张亚杰, 王玉琳, 董晓娇, 等. 急性缺血性脑卒中患者血清 LncRNA SNHG12 表达水平检测及临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(2): 121-125.
- ZHAO Yajie, WANG Yulin, DONG Xiaojiao, et al. Detection of serum LncRNA SNHG12 expression level in patients with acute ischemic stroke and its clinical significance [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(2): 121-125.
- [19] HUȚANU A, IANCU M, BĂLAȘA R, et al. Predicting functional outcome of ischemic stroke patients in Romania based on plasma CRP, sTNFR-1, D-Dimers, NGAL and NSE measured using a biochip array [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(7): 1228-1236.
- [20] YU Bo, YANG Ping, XU Xuebi, et al. C-reactive protein for predicting all-cause mortality in patients with acute ischemic stroke: a meta-analysis [J]. *Bioscience Reports*, 2019, 39(2): BSR20181135.
- [21] 赵玉君, 覃亮, 王宁, 等. 缺血性进展性脑卒中患者不同治疗方法对血液 hs-CRP 和 D-D 水平的影响 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(5): 142-146.
- ZHAO Yujun, QIN Liang, WANG Ning, et al. Effect of different treatment methods on the levels of hs-CRP and D-D in patients with progressive ischemic stroke [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(5): 142-146.
- [22] ZHANG Wenjie, CAO Dongmei, WANG Ying, et al. LncRNA MEG8 is upregulated in gestational diabetes mellitus (GDM) and predicted kidney injury [J]. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2021, 35(1): 107749.

收稿日期: 2023-01-04

修回日期: 2023-02-24

(上接第93页)

- [13] WU Die, LIU Ying, PANG Nannan, et al. PD-1/PD-L1 pathway activation restores the imbalance of Th1/Th2 and treg/Th17 cells subtypes in immune thrombocytopenic purpura patients[J]. *Medicine(Baltimore)*, 2019, 98(43): e17608.
- [14] BRUNET-RATNASINGHAM E, MOROU A, DUBÉ M, et al. Immune checkpoint expression on HIV-specific CD4<sup>+</sup>T cells and response to their blockade are dependent on lineage and function [J]. *EBio Medicine*, 2022, 84: 104254.
- [15] LI Qinzhi, LIU Yang, WANG Xiujuan, et al. Regulation of Th1/Th2 and Th17/Treg by pDC/mDC imbalance in primary immune thrombocytopenia[J]. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.), 2021, 246(15): 1688-1697.
- [16] YU Ling, ZHANG Liqin, JIANG Zhiyong, et al. Decreasing LncRNA PVT1 causes Treg/Th17 imbalance via NOTCH signaling in immune thrombocytopenia[J]. *Hematology*, 2021, 26(1): 734-740.
- [17] STIMPSON M L, LAIT P J P, SCHEWITZ-BOWERS L P, et al. IL-10 and IL-17 expression by CD4<sup>+</sup>T cells is altered in corticosteroid refractory immune thrombocytopenia (ITP)[J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2020, 18(10): 2712-2720.
- [18] HOU Yu, XIE Jie, WANG Shuwen, et al. Glucocorticoid receptor modulates myeloid-derived suppressor cell function via mitochondrial metabolism in immune thrombocytopenia[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2022, 19(7): 764-776.
- [19] LOEUILLARD E, YANG Jingchun, BUCKARMA E, et al. Targeting tumor-associated macrophages and granulocytic myeloid-derived suppressor cells augments PD-1 blockade in cholangiocarcinoma[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2020, 130(10): 5380-5396.
- [20] 刘五香, 袁相波, 孙红. 血小板参数动态检测及分析在 ITP 患儿病情评估中的应用价值 [J]. *河南外科学杂志*, 2022, 28(4): 149-151.
- LIU Wuxiang, YUAN Xiangbo, SUN Hong. The application value of dynamic detection and analysis of platelet parameters in the evaluation of ITP patients[J]. *Henan Journal of Surgery*, 2022, 28(4): 149-151.
- [21] 郝英婵, 程莉, 曾菊, 等. MPV, PDW, P-LCC 等参数联合检测在儿童免疫性血小板减少性紫癜中的诊断价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(8): 1002-1005.
- HAO Yingchan, CHENG Li, ZENG Ju, et al. Diagnostic value of MPV, PDW and P-LCC and other parameters combined detection in children with immune thrombocytopenic purpura [J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2022, 43(8): 1002-1005.

收稿日期: 2023-02-03

修回日期: 2023-04-06