

自身免疫性疾病实验室检验专题·论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.05.004

Th1/Th2、CD28、ICOS、PD-1 和 CTLA-4 在桥本甲状腺炎患者外周血中的表达及与甲状腺相关实验室指标的相关性*

罗百文,李茂城,杨丽梅

广东省惠州市中心人民医院检验科,广东惠州 516001

摘要:目的 探讨辅助性 T 淋巴细胞 1 与辅助性 T 淋巴细胞 2 比值(Th1/Th2)、CD28、可诱导共刺激分子(ICOS)、程序性死亡受体 1(PD-1)和细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)在桥本甲状腺炎(HT)患者外周血中的表达及与甲状腺相关实验室指标的相关性。**方法** 收集 2021 年在该院门诊或住院治疗的 HT 患者 40 例为 HT 组,另选择同期健康体检者 40 例为对照组。采用全自动化学发光免疫分析仪检测血清甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、促甲状腺激素(TSH)、游离甲状腺素(FT4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)水平,采用酶联免疫吸附试验检测血清 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素(IL)-2、IL-4 和 IL-10 水平,采用流式细胞仪检测外周血中 Th1 与 Th2 细胞,以及 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面共信号分子 CD28、ICOS、PD-1、CTLA-4 水平。**结果** HT 组血清 FT4 和 TPOAb 水平均明显高于对照组,TSH、FT3 水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HT 组外周血中 Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 水平,以及 Th1/Th2 明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HT 组外周血 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS 和 PD-1 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组 CTLA-4 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。FT4 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2 水平呈正相关($P < 0.05$);TSH 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2 和 IL-2 水平呈负相关($P < 0.05$);TPOAb 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2、CD28 及 ICOS 水平呈正相关($P < 0.05$)。**结论** HT 患者外周血中 Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 水平较健康体检者均明显上调,其 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS 和 PD-1 的表达也均明显上调。Th1 细胞及其相关细胞因子,以及 CD28、ICOS 和 PD-1 可能在 HT 的发病机制中发挥了重要作用。

关键词:桥本甲状腺炎; 辅助性 T 淋巴细胞; CD28; 可诱导共刺激分子; 程序性死亡受体 1; 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)05-0589-05

Expression of Th1/Th2, CD28, ICOS, PD-1 and CTLA-4 in peripheral blood of patients with Hashimoto's thyroiditis and their correlations with thyroid related laboratory indicators*

LUO Baiwen, LI Maocheng, YANG Limei

Department of Clinical Laboratory, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou, Guangdong 516001, China

Abstract: Objective To investigate the expression of helper T lymphocyte 1 to helper T lymphocyte 2 ratio (Th1/Th2), CD28, inducible co-stimulator (ICOS), programmed death receptor 1 (PD-1) and cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4 (CTLA-4) in peripheral blood of patients with Hashimoto's thyroiditis (HT) and their correlations with thyroid related laboratory indicators. **Methods** A total of 40 patients with HT who were treated in the outpatient or inpatient department of the hospital in 2021 were collected as the HT group, and 40 healthy patients with physical examination in the same period were selected as the control group. Serum thyroid peroxidase antibody (TPOAb), thyroid stimulating hormone (TSH), free throxine (FT4), free triiodothyronine (FT3) levels were detected by automatic chemiluminescence immunoassay. Serum interferon γ (IFN- γ), interleukin (IL)-2, IL-4 and IL-10 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The levels of peripheral blood Th1, Th2 cells and CD3⁺CD4⁺T lymphocytes surface co-signal molecules CD28, ICOS, PD-1 and CTLA-4 were detected by flow cytometry. **Results** The levels of serum FT4 and TPOAb in

* 基金项目:广东省惠州市科技局计划项目(2021WC0106345)。

作者简介:罗百文,男,主管技师,主要从事临床实验室诊断方面的研究。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1167.R.20230215.1626.010.html\(2023-02-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1167.R.20230215.1626.010.html(2023-02-17))

HT group were significantly higher than those in control group, while the levels of TSH and FT3 in HT group were significantly lower than those in control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of Th1 cells and related cytokines IFN- γ , IL-2 and Th1/Th2 in peripheral blood in HT group were significantly higher than those in control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of CD28, ICOS and PD-1 on peripheral blood CD3⁺CD4⁺ T lymphocytes surface in HT group were significantly higher than those in control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference on CTLA-4 level between the two groups ($P > 0.05$). FT4 level correlated positively with Th1 cells and Th1/Th2 levels ($P < 0.05$). TSH level correlated negatively with Th1 cells, Th1/Th2 and IL-2 levels ($P < 0.05$). TPOAb levels correlated positively with Th1 cells, Th1/Th2, IFN- γ , IL-2, CD28 and ICOS levels ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of Th1 cells and its related cytokines IFN- γ and IL-2 in peripheral blood of HT patients up-regulate significantly compared with those of healthy subjects, and the expressions of CD28, ICOS and PD-1 on CD3⁺CD4⁺ T lymphocytes surface also up-regulate significantly. Th1 cells and their related cytokines, as well as CD28, ICOS and PD-1 might play an important role in the pathogenesis of HT.

Key words: Hashimoto's thyroiditis; helper T lymphocyte; CD28; inducible co-stimulator; programmed death receptor 1; cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4

桥本甲状腺炎(HT)作为一种自身免疫性疾病,其主要病理特征为甲状腺存在大量淋巴细胞浸润,因此其也是公认的器官特异性免疫疾病,可严重影响患者的生活质量。研究认为,HT与遗传因素及患者自身免疫相关因素关系密切^[1]。有研究显示,HT的发病机制与辅助性T淋巴细胞(Th细胞)失衡等所致的免疫失衡存在明显关系,主要表现为Th1细胞相关免疫反应上调,而Th2细胞相关免疫反应的作用尚不明确^[2]。CD28、可诱导共刺激分子(ICOS)、程序性死亡受体1(PD-1)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)等共信号因子在调节机体内T淋巴细胞的活化、增殖、自我识别和免疫耐受,以及免疫介导的组织损伤中发挥了重要作用,可能在HT发病机制中和Th1细胞与Th2细胞比值(Th1/Th2)失衡有关,但仍然有待深入研究。本研究收集了2021年在本院门诊或住院治疗的HT患者和部分健康体检者的外周血标本,通过检测相关指标,研究HT患者外周血中CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞表面的共信号分子(CD28、ICOS、PD-1和CTLA-4)与Th1、Th2细胞相关细胞因子[γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素(IL)-2、IL-4和IL-10]的表达情况,分析HT患者甲状腺相关实验室指标[甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、促甲状腺激素(TSH)、游离甲状腺素(FT4)及游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)]水平与IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10、CD28、ICOS、PD-1和CTLA-4水平是否存在相关性,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2021年在本院门诊或住院治疗的HT患者40例为HT组,另选择同期健康体检者40例为对照组。HT组男11例、女29例,年龄

(45.0 \pm 8.3)岁;对照组男13例、女27例,年龄(43.9 \pm 9.2)岁。两组研究对象性别和年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。HT组纳入标准:(1)TSH、FT4及FT3等实验室指标检测提示甲状腺功能低下;(2)血清TPOAb和抗甲状腺球蛋白抗体检测结果为阳性;(3)甲状腺腺体弥漫性肿大或缩小,质地较韧;(4)超声检查提示甲状腺腺体回声减弱或紊乱,小片状低回声或伴有条索状强回声改变;符合(1)~(4)中两项或以上,或病理学检查提示慢性淋巴细胞性甲状腺炎即纳入研究。对照组纳入标准:(1)超声检查提示甲状腺腺体大小和质地正常;(2)甲状腺自身免疫抗体检测结果为阴性;(3)TSH、FT3和FT4等实验室指标检测提示甲状腺功能正常。两组排除标准:(1)近1年进行过放射性碘治疗;(2)患有类风湿关节炎、系统性红斑狼疮和多发性硬化等自身免疫性疾病;(3)患有传染性疾病;(4)合并导致肝功能不全、心功能不全、肾功能不全的系统性慢性疾病;(5)正在服用抗甲状腺药物或进行甲状腺激素替代治疗。本研究已通过本院医学伦理委员会审查,入组研究对象均自愿参加本研究,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清FT3、FT4、TSH及TPOAb水平检测 采集所有纳入的HT患者和健康体检者外周血5 mL,室温静置后离心分离血清,将血清标本保存于-70℃冰箱待检。采用贝克曼库尔特公司生产的全自动化学发光免疫分析仪及配套试剂进行检测,所有操作均严格按照说明书要求完成。

1.2.2 血清IFN- γ 、IL-2、IL-4和IL-10水平检测 将上述保存的血清标本采用酶联免疫吸附试验

检测 IFN- γ 、IL-2、IL-4 和 IL-10 水平。

1.2.3 流式细胞仪检测外周血中 Th1、Th2 细胞 (1)标本采集:按照标准方法采用肝素钠抗凝真空采血管采集研究对象外周血 2 mL,保存于 4 °C 冰箱,2 h 内进行标本处理。(2)胞外染色:取 300 μ L 抗凝血于无菌干燥离心管中并加入 20 μ L CD4-PC5 单克隆抗体,振荡混匀后置于室温条件下避光孵育 30 min,加入 3 mL 磷酸盐缓冲液(PBS),离心弃去上清液。(3)细胞培养:分别加入 935 μ L RPMI 1640 培养液、20 μ L 2 μ g/mL 的 Ionomycin 工作液、10 μ L 1 μ g/mL 的 PMA 工作液和 35 μ L 3.5 μ g/mL 的 Monensin 工作液,构成总体积为 1 mL 的细胞刺激培养体系。振荡混匀后置于 37 °C、5%CO₂ 的细胞培养箱中孵育 5 h 后取出,加入 3 mL PBS,离心弃去上清液;重复以上操作 1 次。(4)固定破膜:加入 100 μ L 固定剂,振荡混匀后置于室温条件下避光孵育 20 min,加入 3 mL PBS,离心弃去上清液;然后加入 100 μ L 破膜剂振荡混匀后置于室温条件下避光孵育 20 min,加入 3 mL PBS,离心弃去上清液。(5)胞内染色:加入 20 μ L 抗人 IFN- γ -FITC 单克隆抗体和 20 μ L 抗人 IL-4-PE 单克隆抗体后振荡混匀,对细胞内的细胞因子 IFN- γ 和 IL-4 进行特异性染色;置于室温条件下避光孵育 20 min,加入 3 mL PBS,离心弃去上清液。(6)上机检测:加入 600 μ L PBS 重悬细胞,30 min 内使用流式细胞仪进行检测,以 CD4⁺IFN- γ ⁺ T 淋巴细胞表示 Th1 细胞,以 CD4⁺IL-4⁺ T 淋巴细胞表示 Th2 细胞,同时设置同型对照和阴性对照。

1.2.4 流式细胞仪检测外周血 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS、PD-1 和 CTLA-4 水平 所有研究对象均于清晨空腹采集外周血标本 2 mL,室温下乙二胺四乙酸抗凝,及时(6 h 内)采用流式细胞仪检测。取 4 支流式管,依次标注 CD28、ICOS、PD-1 及 CTLA-4,各管均加入 CD3 APC 3 μ L、CD4 PerCP 5 μ L、CD8 FITC 5 μ L,然后依次向各管加入 CD28 PE、ICOS PE、PD-1 PE、CTLA-4 PE 各 5 μ L,加入研究对象新鲜外周血标本 50 μ L。将所有流式管置于振

荡器上轻微振荡后室温下避光孵育 20 min。将各管取出,加入红细胞裂解液(每 10 μ L 标本加入 0.4~0.5 mL)。再次室温下避光孵育 10 min 后置于离心机内,1 200 r/min 离心 5 min,弃去上清液后置于振荡器上轻微振荡,各管加入 PBS 1 mL。用流式细胞仪进行检测(每份标本至少收集 20 000 个 T 淋巴细胞进行分析),用流式细胞仪自带软件分析外周血 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面所表达的 CD28、ICOS、PD-1 和 CTLA-4 水平,其表达水平用其占 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞的比例表示。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行统计分析。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;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 相关。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清 FT3、FT4、TSH 及 TPOAb 水平比较 HT 组血清 FT4 和 TPOAb 水平明显高于对照组,而 FT3、TSH 水平明显低于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见表 1。

表 1 两组血清 FT3、FT4、TSH 及 TPOAb 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FT3 (pmol/L)	FT4 (pmol/L)	TSH (mIU/mL)	TPOAb (IU/mL)
HT 组	40	4.38 ± 0.17	15.89 ± 2.07	1.91 ± 0.96	266.25 ± 70.70
对照组	40	5.04 ± 0.15	11.74 ± 1.85	4.43 ± 1.83	14.53 ± 6.01
<i>t</i>		4.645	5.463	5.277	20.960
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组外周血中 Th1 细胞、Th2 细胞、Th1/Th2 及相关细胞因子水平比较 HT 组外周血中 Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 水平明显高于对照组,Th1/Th2 也明显高于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。两组外周血中 Th2 细胞及其相关细胞因子 IL-4 和 IL-10 水平比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 2。

表 2 两组外周血中 Th1 细胞、Th2 细胞、Th1/Th2 及相关细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Th1 细胞 ($\times 10^6$ /L)	Th2 细胞 ($\times 10^6$ /L)	Th1/Th2	Th1 细胞相关细胞因子		Th2 细胞相关细胞因子	
					IFN- γ (ng/L)	IL-2(ng/L)	IL-4(ng/L)	IL-10(ng/L)
HT 组	40	25.84 ± 6.92	1.76 ± 0.47	15.83 ± 6.02	5.07 ± 2.13	4.40 ± 1.88	2.13 ± 0.80	2.61 ± 1.10
对照组	40	20.53 ± 5.80	1.93 ± 0.37	11.13 ± 4.30	3.35 ± 1.82	3.17 ± 1.55	2.35 ± 1.18	2.89 ± 1.47
<i>t</i>		3.715	-1.854	4.009	3.895	3.204	-0.981	-0.965
<i>P</i>		<0.001	0.067	<0.001	<0.001	0.002	0.330	0.337

2.3 两组外周血 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS、PD-1 和 CTLA-4 水平比较 HT 组外周血

CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS 和 PD-1 水平明显高于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05);两

组 CTLA-4 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。

2.4 HT 患者各指标间相关性分析结果 FT4 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2 水平呈正相关 ($P < 0.05$); TSH 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2 和 IL-2 水平呈负相关 ($P < 0.05$); TPOAb 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2、CD28 及 ICOS 水平呈正相关 ($P < 0.05$); PD-1 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2、IFN- γ 、CD28、ICOS 水平呈正相关 ($P < 0.05$); CD28 及 ICOS 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2、IFN- γ 及 IL-2 水

平呈正相关 ($P < 0.05$); 其余指标之间水平无相关性 ($P > 0.05$), 见表 4。

表 3 两组外周血 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS、PD-1 和 CTLA-4 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	CD28	ICOS	PD-1	CTLA-4
HT 组	40	58.60 ± 19.10	4.81 ± 2.07	9.18 ± 3.96	0.66 ± 0.34
观察组	40	46.83 ± 15.41	2.88 ± 1.15	4.46 ± 2.63	0.74 ± 0.42
t		3.033	5.162	6.271	-0.882
P		0.003	<0.001	<0.001	0.381

表 4 HT 患者各指标间相关性分析结果 (r)

指标	Th1 细胞	Th2 细胞	Th1/Th2	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-10	CD28	ICOS	PD-1	CTLA-4
FT3	0.121	-0.087	0.134	-0.027	0.101	0.007	-0.013	0.125	-0.047	0.123	0.074
FT4	0.247*	-0.132	0.241*	0.209	0.224	-0.014	-0.101	0.154	0.102	0.083	-0.032
TSH	-0.283*	0.005	-0.254*	-0.203	-0.257*	0.109	0.131	-0.194	-0.051	-0.059	0.104
TPOAb	0.506*	-0.157	0.461*	0.387*	0.338*	0.005	-0.150	0.299*	0.263*	0.189	0.021
CTLA-4	0.143	-0.032	0.133	0.168	0.158	-0.134	0.009	0.207	-0.087	0.069	—
PD-1	0.243*	-0.170	0.264*	0.245*	0.202	-0.109	-0.135	0.336*	0.323*	—	—
ICOS	0.527*	-0.213	0.595*	0.354*	0.301*	-0.021	-0.086	0.218	—	—	—
CD28	0.366*	-0.133	0.312*	0.267*	0.254*	-0.210	-0.161	—	—	—	—

注: * $P < 0.05$; — 表示无数据。

3 讨 论

HT 患者的甲状腺中大量浸润的 T 淋巴细胞主要包括 Th 细胞、细胞毒性 T 淋巴细胞 (Tc) 和调节性 T 淋巴细胞 3 种类型^[3]。未致敏的 Th 细胞 (Th0 细胞) 致敏后主要分化为以分泌 IFN- γ 和 IL-2 等为主的 Th1 细胞和以分泌 IL-4 和 IL-10 等为主的 Th2 细胞。其中 Th1 细胞及其分泌的细胞因子在细胞免疫效应过程中发挥重要作用, 而 Th2 细胞及其分泌的细胞因子则在体液免疫效应过程中发挥重要作用, 同时 Th1 细胞分泌的细胞因子会抑制 Th2 细胞的增殖, 而 Th2 细胞分泌的细胞因子则会抑制 Th1 细胞的增殖。因此, Th1/Th2 的动态平衡是机体内环境稳定的重要保证, 其失衡是自身免疫性疾病、感染性疾病和肿瘤等多种疾病发生的重要原因, 目前普遍认为 HT 也可能与 Th1/Th2 失衡有关。从本研究的结果来看, HT 组 Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 水平较对照组明显升高 ($P < 0.05$), 而 Th2 细胞及其相关细胞因子 IL-4 和 IL-10 水平略低于对照组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 这进一步明确了 Th1 细胞及其相关细胞因子在 HT 发病机制中的重要作用, 而 Th2 细胞及其相关细胞因子参与 HT 免疫应答反应的作用尚不明确, 这与一些研究的结论相似^[4-5]。

TPOAb 是 HT 的自身特异性抗体, 主要由微粒体合成, 当其释放入血后与相应抗原结合, 可激活补体并增强 T 淋巴细胞毒性, 从而导致甲状腺功能损害加重, 是造成甲状腺滤泡破坏的重要原因; 同时 TPOAb 还可作为 HT 诊断和病情评估的特异性参考

指标^[6]。而 FT4 和 TSH 是诊断 HT 和评估 HT 患者甲状腺功能变化的重要指标。本研究中, FT4 和 TPOAb 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2 水平呈正相关 ($P < 0.05$), TSH 水平与 Th1 细胞、Th1/Th2 水平呈负相关 ($P < 0.05$), 此外, TPOAb 水平与 Th1 细胞相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 水平也呈正相关 ($P < 0.05$), TSH 水平与 IL-2 水平呈负相关 ($P < 0.05$); 而 TPOAb、TSH、FT4 水平均与 Th2 细胞及其相关细胞因子 IL-4 和 IL-10 水平无相关性 ($P > 0.05$), 更进一步明确了 Th1 细胞及其相关细胞因子与 HT 发病的密切关系。

有研究表明, 激活的 T 淋巴细胞在自身免疫性疾病, 如类风湿关节炎等疾病的慢性炎症过程中起重要作用^[7], 而 CD28 和 ICOS 等表达的共刺激信号又是 T 淋巴细胞活化的关键因素^[8]。因此, 在一些自身免疫性疾病, 如类风湿关节炎^[9]、系统性红斑狼疮^[10] 等患者外周血单个核细胞中 CD28、ICOS 的表达上调。本研究中, HT 患者外周血 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞表面 CD28 和 ICOS 水平较健康体检者也明显升高, 与上述研究结论相似。Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 等上调是自身免疫性疾病中慢性炎症发生的重要原因之一, 本研究中, CD28 和 ICOS 水平与 Th1/Th2、Th1 细胞、IFN- γ 和 IL-2 水平呈正相关 ($P < 0.05$), 表明在 HT 的发病过程中 CD28 和 ICOS 可能促进了 Th0 细胞分化向 Th1 细胞偏移。另外, 本研究中 CD28 和 ICOS 水平还与 TPOAb 水平呈正相关 ($P < 0.05$), 表明 CD28 和 ICOS 水平可能在 HT

的发病机制中发挥了重要作用,但具体机制还需要进行深入研究。

PD-1 作为一种抑制性受体,主要表达于活化的 T 淋巴细胞、自然杀伤细胞、B 淋巴细胞和单核细胞中^[11],目前发现其在类风湿关节炎^[9]、系统性红斑狼疮^[10]等自身免疫性疾病患者的 T 淋巴细胞表面也高表达,发挥着下调免疫反应的作用,是机体对自身炎症反应的一种负调节因子。本研究中,HT 患者外周血 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞表面 PD-1 水平较健康体检者明显升高,分析其机制可能为 HT 患者持续的 T 淋巴细胞活化和过度产生的促炎细胞因子是免疫系统的危险信号,机体通过选择性上调负性共信号分子的表达而进行负反馈调节。CTLA-4 是 CD28 的生理拮抗剂,与 PD-1 均属于共抑制分子,其主要功能为下调 T 淋巴细胞的免疫反应^[12]。本研究中,CTLA-4 水平在 HT 患者与健康体检者中比较,差异无统计学意义($P>0.05$),其可能原因为 CTLA-4 在外周血中的表达水平相对较低,用流式细胞仪检测单个核细胞呈现出不敏感性。有研究显示,HT 可能与 CTLA-4 基因多态性所导致的基因产物表达功能缺失有关,进而导致 T 淋巴细胞负调控出现障碍^[13]。因此,要探明 CTLA-4 与 HT 的内在联系,还应该从甲状腺细胞的角度通过动物实验展开深入研究。

综上所述,HT 患者外周血中 Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 水平较健康体检者均明显上调,其 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞表面 CD28、ICOS 和 PD-1 的表达也均明显上调。因此,Th1 细胞及其相关细胞因子 IFN- γ 和 IL-2,以及 CD28、ICOS 和 PD-1 可能在 HT 的发病机制中发挥了重要作用。

参考文献

- [1] 肖新怀. 香远合剂对桥本氏甲状腺炎大鼠 Th1/Th2 细胞平衡的影响及意义[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(20): 2446-2451.
- [2] HE J, LI Y, LI H, et al. Correlation between serum 25-(OH) D 3 level and immune imbalance of Th1/Th2 cytokines in patients with Hashimoto's thyroiditis and its effect on autophagy of human Hashimoto thyroid cells [J]. Exp Ther Med, 2021, 21(5): 1-8.
- [3] GUO Y, ZYNAT J Z, XING S, et al. Immunological changes of T helper cells in flow cytometer-sorted CD4⁺ T cells from patients with Hashimoto's thyroiditis[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(4): 3596-3602.
- [4] LI Q, WANG B, MU K, et al. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases; new T lymphocytes-cytokines circuits beyond the Th1-Th2 paradigm [J]. J Cell Phys, 2019, 234(3): 2204-2216.
- [5] SCHMIDT M, VOELL M, RAHLFF I, et al. Long-term follow-up of antithyroid peroxidase antibodies in patients with chronic autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis) treated with levothyroxine[J]. Thyroid, 2008, 18(7): 755-760.
- [6] NANBA T, WATANABE M, INOUE N, et al. Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease[J]. Thyroid, 2009, 19(5): 495-501.
- [7] KORB A, PAVENSTÄDT H, PAP T. Cell death in rheumatoid arthritis[J]. Apoptosis, 2009, 14(4): 447-454.
- [8] 张宇, 马莉, 吴青青, 等. 强直性脊柱炎患者外周血 CD4⁺CD25(high)CD127(low)、CD8⁺CD28⁻调节性 T 细胞水平变化及临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(13): 1625-1630.
- [9] 蒋晓丽. 共信号分子 CD28、ICOS、PD-1、CTLA-4 在类风湿关节炎的表达水平及意义[D]. 南充: 川北医学院, 2017.
- [10] 白冷媚, 谢传美. 共信号分子 CD28、ICOS、PD-1、CTLA-4 在系统性红斑狼疮患者外周血中的表达水平及意义[J]. 川北医学院学报, 2018, 33(6): 832-835.
- [11] PATSOUKIS N, WANG Q, STRAUSS L, et al. Revisiting the PD-1 pathway[J]. Sci Adv, 2020, 6(38): eabd2712.
- [12] ROTTE A. Combination of CTLA-4 and PD-1 blockers for treatment of cancer[J]. J Exp Clin Can Res, 2019, 38(1): 1-12.
- [13] FATHIMA N, NARNE P, ISHAQ M. Association and gene-gene interaction analyses for polymorphic variants in CTLA-4 and FOXP3 genes; role in susceptibility to autoimmune thyroid disease [J]. Endocrine, 2019, 64(3): 591-604.
- [14] 肖新怀, 李芳, 朱家安, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体与超声检出的类风湿性关节炎骨侵蚀的相关性研究[J]. 首都医科大学学报, 2019, 40(6): 829-832.
- [15] PADNIEWSKI J J, THOTTAM G, NASR R. IgG4 sclerosing disease of the esophagus; a case-based review[J]. Rheumatol Int, 2020, 40(50): 1733-1737.
- [16] CHEN L F, MO Y Q, MA J D, et al. FRI0016? Elevated serum IgG4 defines A specific clinical phenotype of rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(Suppl 2): 386-387.
- [17] 李旭旭, 茹晋丽, 靳雪琴, 等. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体抗环瓜氨酸肽抗体与类风湿关节炎骨侵蚀及疾病活动相关性的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2017, 21(1): 27-31.

(收稿日期: 2022-08-16 修回日期: 2022-11-28)

(上接第 588 页)

physical function in rheumatoid arthritis through the NF- κ B signal pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 149-155.

- [18] 李文雪, 刘芳, 朱家安, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体与超声检出的类风湿性关节炎骨侵蚀的相关性研究[J]. 首都医科大学学报, 2019, 40(6): 829-832.
- [19] PADNIEWSKI J J, THOTTAM G, NASR R. IgG4 sclerosing disease of the esophagus; a case-based review[J]. Rheumatol Int, 2020, 40(50): 1733-1737.

(收稿日期: 2022-08-20 修回日期: 2022-11-19)