

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.003154

探讨 CRTh2、CysLT1R 及 H1R 在支气管哮喘患者
外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞中的表达张妍琦¹, 何韶衡², 张慧云², 陆思静¹

(1. 锦州医科大学附属第一医院呼吸内科, 锦州 121000;

2. 锦州医科大学附属第一医院变态反应与临床免疫研究中心, 锦州 121000)

【摘要】目的:探讨 Th2 细胞趋化因子同源分子(chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells, CRTh2)、半胱氨酸白三烯受体 1(cysteinyl leukotriene 1 receptor, CysLT1R)及组胺 1 型受体(histamine 1 receptor, H1R)在支气管哮喘(bronchial asthma, BA)患者外周血 CD3⁺CD56⁺自然杀伤 T 细胞(natural killer T cells, NKT)中的表达情况及临床意义。**方法:**收集 2020 年 9 月至 2021 年 9 月锦州医科大学附属第一医院 BA 患者(BA 组, $n=40$)和健康对照组(healthy control, HC 组, $n=38$)的外周血, 流式细胞仪检测 BA 组和 HC 组外周血中 CRTh2、CysLT1R 及 H1R 在 CD3⁺CD56⁺标记的 NKT 细胞上的表达, 同时对其与血清总 IgE(total immunoglobulin E, TlgE)、呼出一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)及肺功能第一秒用力呼气量/用力肺活量%(forced expiratory volume in the first second/forced vital capacity%, FEV1/FVC%)的相关性分析。**结果:**BA 组[22.50(15.78, 29.20)]外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞百分比较 HC 组[27.90(21.50, 32.45)]降低($P=0.024$); 进一步比较 BA 组[70.05(63.20, 78.45)]CD3⁺淋巴细胞百分比低于 HC 组[73.70(69.88, 79.38)]($P=0.035$)。BA 组[0.08(0.05, 0.17)]CysLT1R 百分比较 HC 组[0.16(0.10, 0.34)]降低($P=0.004$); BA 组 CRTh2、H1R 百分比[1.12(0.53, 1.88); 5.21(1.41, 10.10)]与 HC 组[1.17(0.60, 4.25); 4.61(1.42, 8.53)]比较, 无统计学差异($P=0.234$; $P=0.697$)。进一步对比 CRTh2、H1R 的平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI), BA 组[925.52(623.50, 1 279.25)]CRTh2 MFI 较 HC 组[1 345.50(891.00, 1 977.75)]降低($P=0.002$); BA 组[769(657.50, 975.00)]H1R MFI 与 HC 组[835.00(560.00, 959.25)]无统计学差异($P=0.834$)。CD3⁺CD56⁺NKT 细胞与血清 TlgE、FeNO 无明显相关性($r=-0.052$, $r=0.014$), 与 FEV1/FVC% 水平呈正相关($r=0.402$, $P=0.01$)。CRTh2($r=0.166$, $r=-0.040$)、CysLT1R($r=0.114$, $r=-0.150$)及 H1R($r=0.103$, $r=-0.096$)与血清 TlgE、FeNO 无明显相关性。**结论:**CD3⁺CD56⁺NKT 细胞可能在支气管哮喘发病过程中起重要作用, H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞上可能不表达, CRTh2 与 CysLT1R 在 BA 患者 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞上表达减少可能会为临床精准诊疗提供依据。

【关键词】支气管哮喘; CD3⁺CD56⁺自然杀伤 T 细胞; Th2 细胞趋化因子同源分子; 半胱氨酸白三烯受体 1; 组胺 1 型受体**【中图分类号】**R562**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2022-04-11The investigation on the expressions of CRTh2, CysLT1R and H1R in
peripheral blood CD3⁺CD56⁺NKT cells of patients with bronchial asthmaZhang Yanqi¹, He Shaoheng², Zhang Huiyun², Lu Sijing¹

(1. Department of Respiratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University; 2. Research Center for Allergy and Clinical Immunity, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells (CRTh2), cysteinyl leukotriene 1 receptor (CysLT1R) and histamine 1 receptor (H1R) expression and clinical significance in peripheral blood CD3⁺CD56⁺ natural killer T cells (NKT) of patients with bronchial asthma (BA). **Methods:** The peripheral blood of BA patients (BA group, $n=40$) and healthy control group (HC group, $n=38$) in The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University from September 2020 to September 2021 were collected, and flow cytometry was used to detect the BA group and HC group expression of CRTh2, CysLT1R

and H1R on CD3⁺CD56⁺ labeled NKT cells in peripheral blood. At the same time, its correlation with serum total immunoglobulin E (TlgE), fractional exhaled nitric oxide (FeNO) and lung function forced expiratory volume in the first second/forced vital capacity% (FEV1/FVC%) were analyzed. **Results:** The percent-

作者介绍: 张妍琦, Email: zhangyanqi1993@163.com,

研究方向: 支气管哮喘。

通信作者: 陆思静, Email: yusilou@126.com。

基金项目: 辽宁省科学技术计划资助项目(编号: 2019JH2/10300046)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20230109.1103.007.html>

(2023-01-10)

age of NKT cells in the peripheral blood of the BA group[22.50(15.78,29.20)] was lower than that in the HC group[27.90(21.50,32.45)]($P=0.024$). And in the further comparison, the percentage of CD3⁺ lymphocytes in the BA group[70.05(63.20,78.45)] was lower than that in the HC group[73.70(69.88,79.38)]($P=0.035$). The percentage of CysLT1R in the BA group[0.08(0.05,0.17)] was lower than that in the HC group[0.16(0.10,0.34)]($P=0.004$). The percentages of CRTH2 and H1R in the BA group[1.12(0.53,1.88); 5.21(1.41,10.10)] were not significantly different from those in the HC group[1.17(0.60,4.25); 4.61(1.42,8.53)]($P=0.234$; $P=0.697$). Additionally, for the further comparison of the mean fluorescence intensity (MFI) of CRTh2 and H1R, BA group[925.52(623.50,1279.25)] CRTh2 MFI was lower than HC group[1345.50(891.00,1977.75)]($P=0.002$); there was no significant difference in H1R MFI between BA group[769(657.50,975.00)] H1R MFI and HC group[835.00(560.00,959.25)]($P=0.834$). CD3⁺CD56⁺NKT cells had no significant correlation with serum TlgE and FeNO($r=-0.052$; $r=0.014$), but was positively correlated with the level of FEV1/FVC%($r=0.402$, $P=0.01$). CRTH2($r=0.166$, $r=-0.040$), CysLT1R($r=0.114$, $r=-0.150$) and H1R($r=0.103$, $r=-0.096$) had no significant correlation with TlgE and FeNO. **Conclusion:** CD3⁺CD56⁺NKT cells may play an important role in the pathogenesis of bronchial asthma, H1R may not be expressed on CD3⁺CD56⁺NKT cells, and the decreased expression of CRTh2 and CysLT1R on CD3⁺CD56⁺NKT cells in BA patients may provide a basis for accurate clinical diagnosis and treatment.

[Key words] bronchial asthma; CD3⁺CD56⁺ natural killer T cell; chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cell; cysteinyl leukotriene 1 receptor; histamine 1 receptor

支气管哮喘(bronchial asthma, BA)是一种常见的过敏性疾病,由多种炎性细胞(如嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞)和结构细胞(如平滑肌细胞、气道上皮细胞等)以及细胞组分参与,主要由 2 型辅助性 T 细胞(type 2 T helper cells, Th2)介导,为慢性气道炎症的一种异质性疾病。其中肥大细胞表达高亲和力 IgE 受体,在变应原刺激下可脱颗粒释放多种活性介质,包括前列腺素 D2 (prostaglandin D2, PGD2)、半胱氨酸白三烯(cysteinyl leukotriene, CysLT)、组胺(histamine, H)等。

CD294 也称 Th2 细胞趋化因子同源分子(chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells, CRTh2),是 PGD2 的受体。PGD2 在过敏原刺激下产生,与支气管平滑肌上 PGD2 受体结合,引起支气管收缩^[1],在哮喘中发挥重要作用。CRTh2 可能是 BA 治疗的新靶点^[2],目前有关 PGD2 受体拮抗剂药物 fevipiprant 正在临床试验中^[3]。

CysLT 是一种作用性强的支气管收缩剂,通过与细胞表面半胱氨酸白三烯受体 1 (cysteinyl leukotriene receptor, CysLTR)特异性结合诱发哮喘炎症反应,引起支气管黏液分泌增加、支气管平滑肌收缩、血管通透性增加、气道高反应性等机制产生。CysLTR 根据对拮抗剂的敏感与否可分为 CysLT1R 和 CysLT2R^[4-5]。对拮抗剂敏感的 CysLT1R 在哮喘有关的多种免疫细胞中均有表达。多项研究证实孟鲁司特作为 CysLT1R 拮抗剂在治疗 BA 中

取得良好效果^[6-7]。

H 是广泛分布于人体的生物胺,其受体分为组胺 1 型受体(histamine 1 receptor, H1R)、组胺 2 型受体(histamine 2 receptor, H2R)、组胺 3 型受体(histamine 3 receptor, H3R)、组胺 4 型受体(histamine 4 receptor, H4R),其中 H1R 分布于血管内皮细胞及气管平滑肌等多种细胞中,当组胺与 H1R 结合时可刺激气道平滑肌收缩,抗 H1R 药物在治疗过敏性疾病中发挥重要作用^[8]。

BA 发病机制复杂,患病率在全球均呈上升趋势,严重影响人们的生活质量^[9]。近年有研究提出, NKT 细胞在哮喘中也起到一定作用^[10]。在一定条件下, NKT 细胞有利于 Th1 型细胞因子产生增强免疫应答反应;或有利于 Th2 型细胞因子产生加重过敏性疾病。有研究表明,在哮喘患者诱导痰中 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞明显增高^[11],但有关外周血研究较少,故本研究通过免疫荧光标记,应用流式细胞仪,以 CD3⁺CD56⁺双阳性细胞标记作为 NKT 细胞,分析 CRTH2、CysLT1R、H1R 在 NKT 细胞上的表达,探索 NKT 细胞在支气管哮喘发病中的作用,为临床治疗提供指导方向。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2020 年 9 月至 2021 年 9 月从锦州医科大学附属医院

募集 40 例皮肤点刺试验阳性的哮喘患者和 38 例皮肤点刺试验阴性的健康志愿者,共 78 位研究对象纳入本研究。所有纳入的研究对象符合相应的纳入和排除标准,并已知晓本研究的目的和潜在危险及利益,签署知情同意。本研究获锦州医科大学附属医院伦理委员会审批(KX2020012)。

1.2 本实验的哮喘患者纳入及排除标准

纳入标准:符合《支气管哮喘防治指南(2016 年版)》^[12]诊断标准,即存在反复发作性喘息、气短、胸闷、咳嗽等临床症状,有可逆性气流受限的客观证据,并排除其他可引起哮喘样症状的疾病;年龄 ≥ 18 岁;所有哮喘患者均处于疾病发作期,且近 1 个月未使用相关治疗的药物。排除标准:曾有肺部手术史者;合并间质性肺病或恶性肿瘤者;合并严重系统性疾病或者脏器功能不全者;妊娠或哺乳期妇女。

1.3 实验试剂及仪器

亮紫 510(BV510)标记 Zombie Aqua Fixable Viability kit(死细胞去除染料)、别藻蓝蛋白(APC/Cy7)标记的小鼠抗人 CD56(APC/Cy7-CD56)、多甲藻黄素-叶绿素蛋白(PerCP/Cy5.5)标记的小鼠抗人 CD3 抗体(PerCP/Cy5.5-CD3)、Fc 受体(FcR)阻断剂、CysLT1R(兔 IgG)、Alexa Fluor 647 染料标记的 CD294(AF647-CD294)、藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记的 H1R(PE-H1R)、FITC 标记驴抗兔 IgG、红细胞裂解液(购自美国 Biolegend 公司);Cytofix/Cytoperm™ 固定/透膜试剂盒(购自美国 BD Biosciences 公司);低温高速离心机(购自美国 Thermo Scientific 公司);FACSVerse 流式细胞仪(购自美国 BD Biosciences 公司)。免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE)测定试剂盒、全自动蛋白分析仪 BNTT System(购自德国 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH);Diffusion 肺功能仪(购自德国 BALT 公司);纳库仑呼气分析仪(购自无锡市尚沃医疗电子股份有限公司)。

1.4 实验方法

每位患者晨起空腹采集患者静脉血 5 mL,用全自动蛋白分析仪检测血清总 IgE(total immunoglobulin E, TIgE);患者在平静状态下进行检查,检查前测量身高、体质量并记录,告知患者肺功能检测的配合方法,用 Diffusion 肺功能仪检测肺功能第一秒用力呼气量/用力肺活量%(forced expiratory volume in the first second/forced vital capacity%, FEV1/FVC%)、用呼

气分析仪检测呼出气一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)。每位患者及健康人均采集晨起空腹外周静脉血 2 mL 于含 EDTA 抗凝剂的采血管中(实验中患者血液非同一天采集,但均于采血当天完成实验);血液分管及标记:设置 0 管、荧光减一对照管(fluorescent minus one, FMO),用于设门及对照,标记各管类型;标记 2 mL EP 管,移液枪取 100 μ L 血液于标记好的各管内;每管加入荧光基团标记的死细胞去除染料 1 μ L、FcR 阻断剂 3 μ L,室温避光孵育 15 min;孵育结束后,每管加入 5 μ L 荧光基团标记的抗体 CD3、CD56、CD294、CysLT1R 及 10 μ L H1R, FMO 对照管加入相应的同型抗体,室温下避光孵育 15 min;孵育结束后,每管加入 1 mL $\times$ PBS, 1 200 r/min 离心 6 min,弃上清;每管加入 1 μ L 荧光基团标记的驴抗兔 IgG,室温避光孵育 15 min;孵育结束后,每管加入 1.5 mL 红细胞裂解液,室温避光孵育 12 min;孵育结束后,1 200 r/min 离心 6 min,弃上清;每管加入 1 mL $\times$ PBS, 1 200 r/min 离心 6 min,弃上清;每管加入 200 μ L 1 $\times$ PBS 上流式细胞仪检测淋巴细胞中 CRTh2、CysLT1R、H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞上的表达。

1.5 数据分析

Flowjo 软件分析上机所得流式数据。

1.6 统计学处理

通过 SPSS 19.0 软件处理。计数资料用率表示,组间比较采用卡方检验。计量资料符合正态分布采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;非正态分布描述采用 $M_d(P_{25}, P_{75})$ 表示,2 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。相关性分析采用 Pearson 直线相关分析法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般资料比较

BA 组纳入 40 例,年龄(50.40 ± 10.24)岁,体质指数(body mass index, BMI)为(24.82 ± 3.12) kg/m^2 ,其中男性 25 例,女性 15 例;HC 组纳入 38 例,年龄(46.82 ± 7.15)岁, BMI 为(23.58 ± 2.33) kg/m^2 ,其中男性 20 例,女性 18 例。2 组间年龄、性别比较均无统计学差异($P>0.05$)。BA 一般资料详见表 1。

表 1 一般资料比较($\bar{x} \pm s; n, \%$)

项目	BA组($n=40$)	HC组($n=38$)	χ^2 值	P 值
年龄/岁	50.40 ± 10.24	46.82 ± 7.15	1.800	0.076
性别(男/女)	25 (62.5)/15 (37.5)	20 (52.6)/18 (47.4)	0.778	0.378
BMI/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)	24.82 ± 3.12	23.58 ± 2.33	1.973	0.052
病程/年	3.88 ± 2.09	—		
吸烟史(有/无)	27 (67.5)/13 (32.5)	18 (47.4)/20 (52.6)	3.236	0.072
合并过敏性疾病	无	无		
TIgE/($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	282.21 ± 312.03	—		
FEV1/FVC/%	68.86 ± 12.87	—		
FeNO/ppb	102.60 ± 65.33	—		

2.2 外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞百分比

BA 组[22.50(15.78,29.20)]外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞百分比低于 HC 组[27.90(21.50,32.45)]($Z=-2.259, P=0.024$); BA 组[70.05(63.20,78.45)]CD3⁺淋巴细胞百分比低于 HC 组[73.70(69.88,79.38)]($Z=-2.104, P=0.035$); BA 组[36.95(30.43,44.25)]CD56⁺淋巴细胞百分比与 HC 组[40.70(34.88,48.58)]($Z=-1.854, P=0.064$)无统计学差异。如图 1、图 2 所示。

2.3 CRTh2、CysLT1R、H1R 在 NKT 细胞上的表达

BA 组[0.08(0.05,0.17)]CysLT1R 百分比低于 HC 组[0.16(0.10,0.34)]($Z=-2.911, P=0.004$); BA 组 CRTh2[1.12(0.53,1.88)]与 HC 组[1.17(0.60,4.25)]($Z=-1.190, P=0.234$)无统计学差异; BA 组[5.21(1.41,10.10)]H1R 与 HC 组[4.61(1.42,8.53)]($Z=-0.390, P=0.697$)无统计学差异;进一步对比 CRTh2、H1R 的平均荧光强度(mean fluorescence intensity,MFI),BA 组[925.52(623.50,1279.25)]CRTh2 MFI 低于 HC 组[1345.50(891.00,1977.75)]($Z=-3.074, P=0.002$); BA 组[769(657.50,975.00)]H1R MFI 与 HC 组[835.00(560.00,959.25)]($Z=-0.210,$

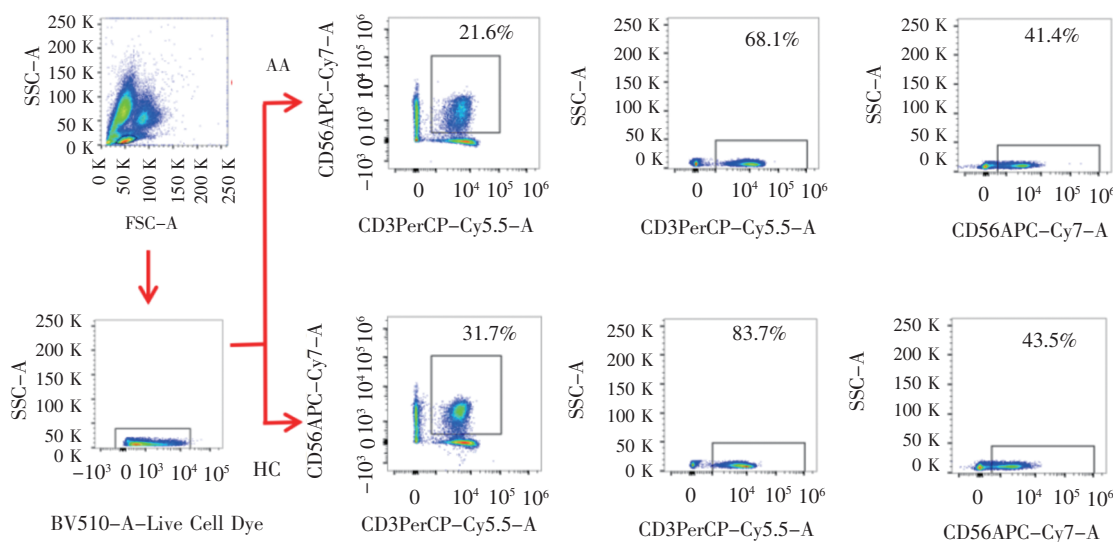
$P=0.834$)无统计学差异。如图 3、图 4、图 5 所示。

2.4 CRTh2、CysLT1R 及 H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞表达水平与血清 TIgE、FeNO 及肺功能(FEV1/FVC%)的相关性分析

CD3⁺CD56⁺NKT 细胞与血清 TIgE、FeNO 无明显相关性($r=-0.052, r=0.014$),与 FEV1/FVC%水平呈正相关($r=0.402$)。CRTH2($r=0.166, r=-0.040$)、CysLT1R($r=0.114, r=-0.150$)及 H1R($r=0.103, r=-0.096$)与血清 TIgE、FeNO 无明显相关性。

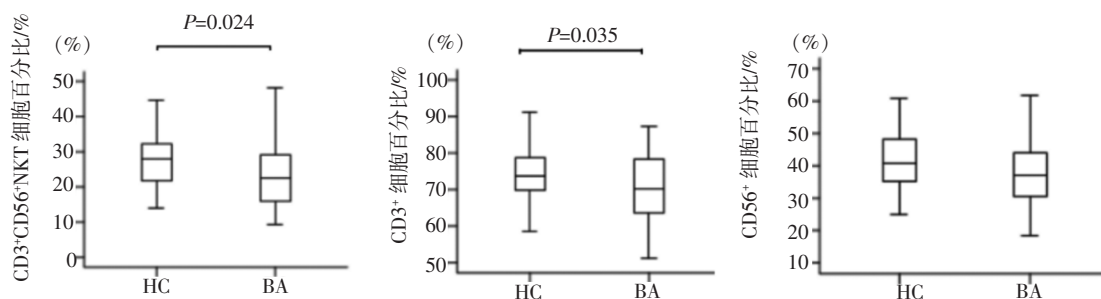
3 讨论

NKT 细胞在人体内主要分布于胸腺、肝脏及骨髓中,外周血含量较少^[13-14],是一类兼具 NK 细胞和 T 细胞功能,是先天免疫和适应性免疫的效应淋巴细胞,同时也是适应性免疫系统的调节细胞。可以表达在 T 细胞应答过程中转导 TCR 识别的抗原活化的第一信号 CD3 及在免疫系统中主要参与免疫细胞黏附和杀伤功能的 CD56 标志^[15]。本研究发现,



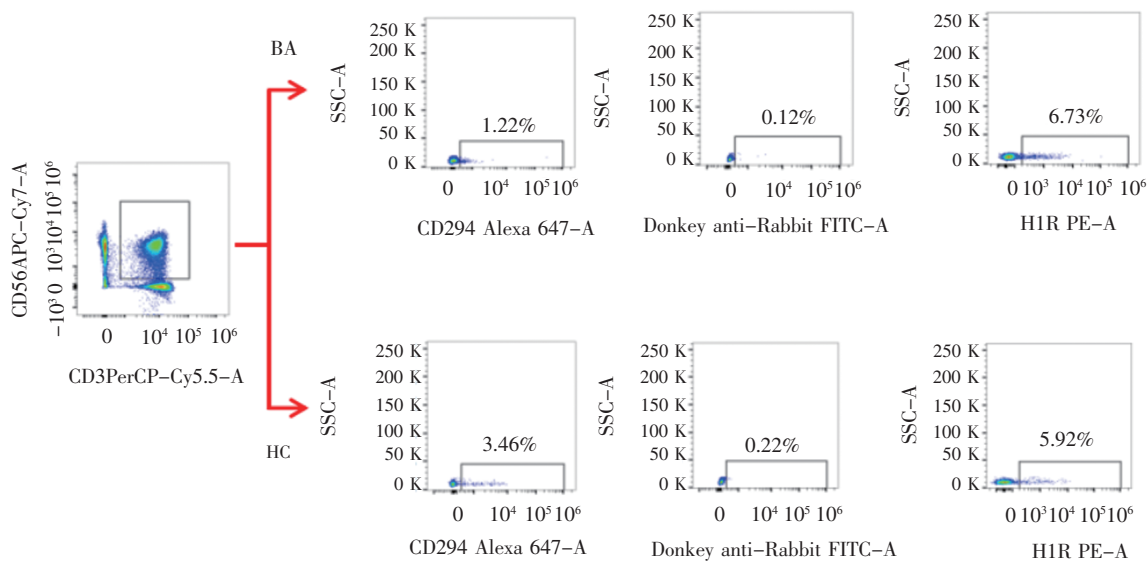
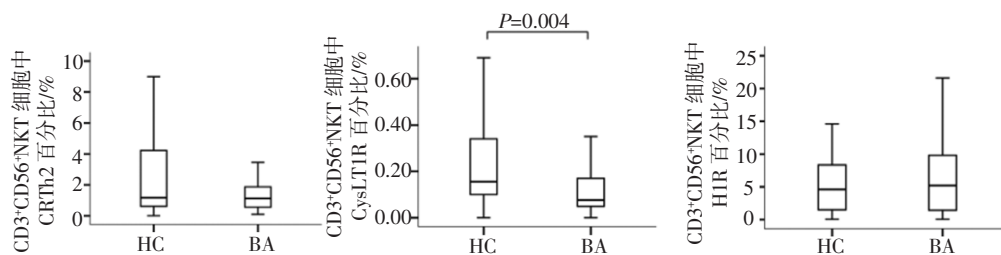
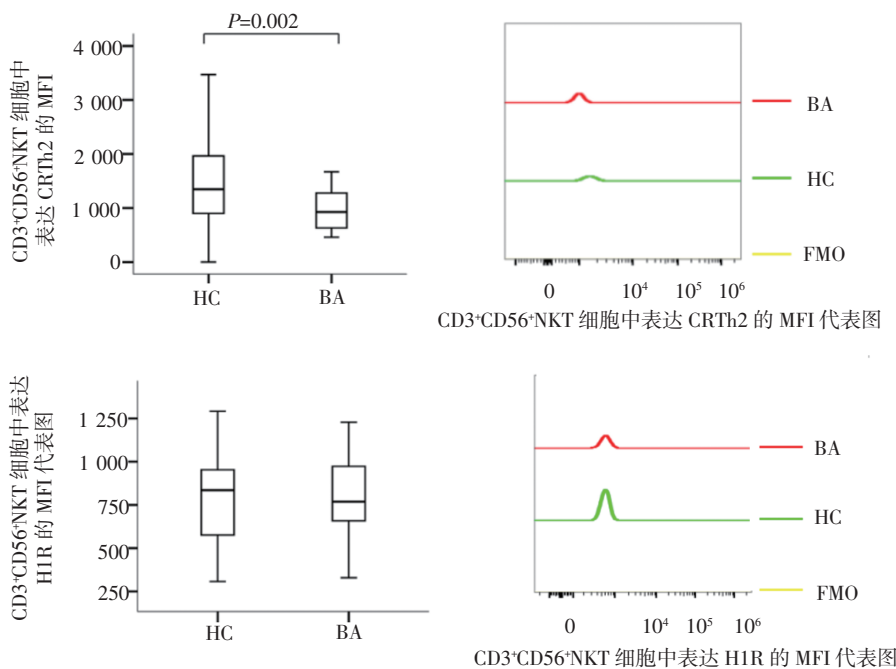
注:方框为门控策略

图 1 人外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞表达情况流式代表图



注:框中的线表示中位数,框表示 25%和 75%

图 2 人外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞、CD3⁺淋巴细胞、CD56⁺淋巴细胞百分比

图3 CRTh2、CysLT1R 及 H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞中表达情况流式代表图图4 CRTh2、CysLT1R 及 H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞中的百分比图5 CRTh2、H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞中表达的 MFI

BA 组 CD3⁺淋巴细胞百分比少于 HC 组,这与 Chen XD^[16]的研究一致;CD56⁺淋巴细胞百分比无明显差别,而 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞百分比在 BA 组也少于 HC 组,这与 Yan QX 等^[17]的研究一致。分析原因可能是 NKT 细胞作为免疫系统防线,在哮喘的发生中与病原体及炎症因子对抗,造成 NKT 细胞消耗从而减少,也可能是部分 T 细胞表面受体表达减少造成。又或者是当哮喘发生时,炎症因子等在气道发生聚集,使外周血中 NKT 细胞向支气管及肺泡等部位迁移,从而造成其在外周血中含量减少。

既往在其他疾病及免疫系统疾病研究中如 HIV 慢性感染者、系统性红斑狼疮患者、Graves 病患者中 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞均低于健康对照组^[18-20],与本研究哮喘患者 NKT 细胞比例低于健康对照组结果类似,与 Lu YM 等^[21]研究结果一致。推测当过敏原刺激引起炎症反应时,NKT 细胞发挥免疫功能,杀伤细胞作用。尽管与李向阳等^[11]研究结果相悖,考虑有关样本来源,一方面痰液提供来自较大气道,其中含有丰富的嗜酸性粒细胞等,另一方面血液样本可能是由于对患者选取的疾病程度不同造成。有关外周血中 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞在哮喘中的研究仍然较少,需进一步扩大样本来了解 NKT 细胞在哮喘中的作用。总体而言,CD3⁺CD56⁺NKT 细胞可能在支气管哮喘中起重要作用。

PGD2 通过激活 Th2 细胞、二型先天淋巴细胞 (group 2 innate lymphoid cells, ILC2)、粒细胞和单核细胞上的 DP2 趋化因子受体,特别是对嗜酸性粒细胞的激活、2 型免疫细胞的细胞因子释放 (IL-4、IL-5 和 IL-13)^[22-24],在哮喘的病理生理中发挥重要作用。目前 CRTh2 受体是否在 NKT 细胞表达尚不完全清楚。本研究结果发现,CRTh2 MFI 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞 BA 组表达少于 HC 组,提示 NKT 细胞可能对 CRTh2 表达起抑制作用。CysLT 是特异性哮喘的强大支气管收缩剂和促炎介质,在哮喘发作期间由肥大细胞和巨噬细胞释放,与 CysLT1R 结合,介导持续的支气管收缩、黏液分泌和气道水肿。目前尚无研究证明 CysLT 是否可通过 CysLT1R 作用于 NKT 细胞参与哮喘发病。本研究发现 CysLT1R 百分比在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞 BA 组表达少于 HC 组,提示 NKT 细胞可能对 CysLT1R 表达起抑制作用。组胺可增强 Th2 细胞因子分泌,并抑制 Th1 细胞因子产生,通过协助向 Th2 转变来调节 Th1 和 Th2

细胞之间的有效平衡^[25]。组胺根据其受体亚型不同而发挥不同作用。其中 H1R 驱动细胞迁移、血管舒张和支气管收缩^[26],H1R 还通过增强 Th2 细胞在肺部炎症期间向过敏原迁移来调节过敏反应^[27]。目前也尚无有关 H1R 作用于 NKT 细胞参与哮喘的研究。本研究发现,H1R 百分比与 MFI 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞 BA 组与 HC 组并无明显差别,说明 H1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞上可能不表达,NKT 细胞对其没有明显作用,可能是由于组胺在 NKT 细胞中无法发挥 Th2 促进作用。本研究发现 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞对 CRTh2 和 CysLT1R 表达起抑制作用,分析原因可能是在支气管哮喘发生中,PGD2 与 CRTh2 及 CysLT 与 CysLT1R 结合释放因子引起支气管收缩、黏液分泌时被 NKT 细胞自身免疫保护功能所识别并杀灭,从而造成 CRTh2 及 CysLT1R 减少。但此时仍能引起支气管哮喘的发生,结合相关性分析中 NKT 细胞与血清 TIgE 及 FeNO 无明显相关性,说明 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞在促进 BA 发生中可能起到独立作用,这与 Akbari O 等^[28]的观点一致。而 NKT 细胞与肺功能 FEV1/FVC% 呈正相关,可能还是由于 NKT 细胞的免疫调节功能所致。同时与嗜酸性粒细胞及 Th2 密切相关的 CRTh2 和 CysLT1R 在 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞表达水平与 IgE 及 FeNO 未见明显相关性,一方面可能由于患者个体差异造成,另一方面可能说明 NKT 细胞对促嗜酸性粒细胞聚集能力发挥重要影响。

总之,CD3⁺CD56⁺NKT 样细胞在哮喘患者外周血中的功能明显下降,与疾病具有相关性。此外,CRTh2、CysLT1R 在患者 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞中表达降低,可能会为临床治疗哮喘提供新的方案。

参 考 文 献

- [1] Kupczyk M, Kuna P. Targeting the PGD2/CRTH2/DP1 signaling pathway in asthma and allergic disease: current status and future perspectives[J]. *Drugs*, 2017, 77(12): 1281-1294.
- [2] Wang L, Yao DD, Deepak RNVK, et al. Structures of the human PGD2 receptor CRTH2 reveal novel mechanisms for ligand recognition[J]. *Mol Cell*, 2018, 72(1): 48-59.e4.
- [3] Maspero J, Agache IO, Kamei T, et al. Long-term safety and exploratory efficacy of fevipirant in patients with inadequately controlled asthma: the SPIRIT randomised clinical trial[J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 311.
- [4] Singh RK, Gupta S, Dastidar S, et al. Cysteinyl leukotrienes and

- their receptors; molecular and functional characteristics[J]. *Pharmacology*, 2010, 85(6): 336–349.
- [5] Liu M, Yokomizo T. The role of leukotrienes in allergic diseases[J]. *Allergol Int*, 2015, 64(1): 17–26.
- [6] Li GS, Wang HY, Yang HJ. Evidence-based application of montelukast sodium tablets[J]. *Shanxi Med J*, 2016, 45(10): 1174–1178.
- [7] Gao YW, Xu F, Jiang LN. Research progress in diagnosis of bronchial asthma and treatment with cysteinyl leukotriene receptor antagonist[J]. *Chin J Diagnostics (Electr Edit)*, 2021, 9(1): 67–70.
- [8] Expert consensus on the application of antihistamine H1 receptor drugs in common allergic diseases in children[J]. *Chin J Pract Pediatr*, 2018, 33(3): 161–170.
- [9] Chi CH, Tang W, Zhou X. Guidelines for primary diagnosis and treatment of bronchial asthma (practice version 2018)[J]. *Chin J Gener Practit*, 2018, 17(10): 763–769.
- [10] Lombardi V, Stock P, Singh AK, et al. A CD1d-dependent antagonist inhibits the activation of invariant NKT cells and prevents development of allergen-induced airway hyperreactivity[J]. *J Immunol*, 2010, 184(4): 2107–2115.
- [11] 李向阳, 何江玲, 曾宪升, 等. 哮喘患者诱导痰和外周血 CD3⁺CD56⁺NKT 细胞的检测及意义[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(9): 1751–1753, 1788.
- Li XY, He JL, Zeng XS, et al. Significance of detecting CD3⁺CD56⁺NKT cells in induced sputum and peripheral blood from patients with asthma[J]. *Prog Mod Biomed*, 2011, 11(9): 1751–1753, 1788.
- [12] Shen HH. Guidelines for the prevention and treatment of bronchial asthma (2016 Edition)[J]. *Chin J Tuberculosis Respir Dis*, 2016, 39(9): 675–697.
- [13] Kitayama S, Zhang R, Liu TY, et al. Cellular adjuvant properties, direct cytotoxicity of re-differentiated V α 24 invariant NKT-like cells from human induced pluripotent stem cells[J]. *Stem Cell Rep*, 2016, 6(2): 213–227.
- [14] Torina A, Guggino G, La Manna MP, et al. The Janus face of NKT cell function in autoimmunity and infectious diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 440.
- [15] Li ZT, Yang BY, Wu CY. Differences between CD3⁺TCR α 24⁺ NKT cell and CD3⁺TCR γ 11⁺ NKT cell in PBMC[J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2011, 27(9): 949–953.
- [16] Chen XD. Research of chemokine receptors expression on CD3⁺T blood cells in bronchial asthma[J]. *China J Modern Med*, 2022, 32(5): 38–44.
- [17] Yan QX, Gao Y, Li YC, et al. Detection of NK cells and NK-like cells in peripheral blood of children with bronchial asthma[J]. *Mater Child Health Care China*, 2015, 30(16): 2547–2549.
- [18] 钱诗, 田瑶, 张子宁, 等. HIV 慢性感染者 CD3⁺CD56⁺NKT 样细胞表面 Gal-9 受体表达研究[J]. *免疫学杂志*, 2017, 33(12): 1071–1075.
- Qian S, Tian Y, Zhang ZN, et al. The expression of Gal-9 receptor on the surface of CD3⁺CD56⁺ NKT-like cells in HIV chronically infected individuals[J]. *Immunol J*, 2017, 33(12): 1071–1075.
- [19] 邹原方, 罗婉莹, 郭少卿, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血 CD3⁺CD56⁺自然杀伤 T 细胞的表达及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(8): 967–968.
- Zou YF, Luo WY, Guo SQ, et al. The expression and clinical significance of on CD3⁺CD56⁺NKT cells in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Int J Lab Med*, 2014, 35(8): 967–968.
- [20] 李丽, 王鹏远, 池莲祥, 等. Graves 病患者 CD3⁺CD56⁺自然杀伤 T 细胞及其分泌的细胞因子表达研究[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2017, 31(1): 54–56.
- Li L, Wang PY, Chi LX, et al. Expressions and significances of CD3⁺CD56⁺ natural killer T cell and its secreted cytokines in patients with Graves' disease[J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2017, 31(1): 54–56.
- [21] Lu YM, Cao LF, Xue HY, et al. Changes of natural killer T cells levels in peripheral blood of children with asthma and clinical significance[J]. *Chin J Appl Clin Pediatr*, 2013, 28: 775–777.
- [22] Gosset P, Bureau F, Angeli V, et al. Prostaglandin D2 affects the maturation of human monocyte-derived dendritic cells; consequence on the polarization of naive Th cells[J]. *J Immunol*, 2003, 170(10): 4943–4952.
- [23] Saunders R, Kaul H, Berair R, et al. DP2 antagonism reduces airway smooth muscle mass in asthma by decreasing eosinophilia and myofibroblast recruitment[J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(479): eaao6451.
- [24] Stinson SE, Amrani Y, Brightling CE. D prostanoid receptor 2 (chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on TH2 cells) protein expression in asthmatic patients and its effects on bronchial epithelial cell[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 135(2): 395–406. e7.
- [25] Jutel M, Akdis CA. Histamine as an immune modulator in chronic inflammatory responses[J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(3): 308–310.
- [26] Bakker RA, Schoonus SBJ, Smit MJ, et al. Histamine H1-receptor activation of nuclear factor- κ B; roles for G β γ - and G α q/11-subunits in constitutive and agonist-mediated signaling[J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 60(5): 1133–1142.
- [27] Bryce PJ, Mathias CB, Harrison KL, et al. The H1 histamine receptor regulates allergic lung responses[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(6): 1624–1632.
- [28] Akbari O, Stock P, Meyer E, et al. Essential role of NKT cells producing IL-4 and IL-13 in the development of allergen-induced airway hyperreactivity[J]. *Nat Med*, 2003, 9(5): 582–588.

(责任编辑: 冉明会)