

# 神经纤毛蛋白-1(NRP-1)在原发免疫性血小板减少症发病机制中的作用

周虎<sup>1</sup> 杨静宜<sup>1</sup> 徐佩佩<sup>1</sup> 刘柳<sup>2</sup> 丁冰洁<sup>1</sup> 刘建平<sup>1</sup> 李梦娟<sup>1</sup> 宋永平<sup>1</sup>

<sup>1</sup>郑州大学附属肿瘤医院、河南省肿瘤医院血液科 450008; <sup>2</sup>郑州大学第一附属医院血液科 450052

通信作者:周虎, Email: papertigerhu@163.com

**【摘要】 目的** 探讨神经纤毛蛋白-1(NRP-1)在调节性T细胞(Treg)上的表达与其配体信号素3A(Sema3A)、转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )以及1型辅助T细胞( $Th_1$ )和2型辅助T细胞( $Th_2$ )之间平衡的关系。**方法** 纳入2014年3月至2015年5月就诊的62例ITP患者(新诊断ITP 33例、慢性ITP 29例),以同期30名健康体检者作为正常对照组。流式细胞术检测Treg细胞NRP-1表达,酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆Sema3A、TGF- $\beta_1$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-4水平,实时聚合酶链式反应(RT-PCR)检测外周血NRP-1、Sema3A、TGF- $\beta_1$  mRNA表达水平。分别采用单因素方差和独立样本 $t$ 检验进行三组间和两组间比较,用Spearman相关系数评估NRP-1、Sema3A、TGF- $\beta_1$  mRNA表达的相关性。**结果** 与慢性ITP组和正常对照组比较,新诊断ITP组Treg细胞NRP-1表达降低[分别为 $(0.15 \pm 0.03)\%$ 、 $(0.33 \pm 0.15)\%$ 、 $(0.46 \pm 0.06)\%$ ,  $P < 0.01$ ],血浆Sema3A水平升高[分别为 $(8.10 \pm 1.32)\mu\text{g/L}$ 、 $(7.41 \pm 1.30)\mu\text{g/L}$ 、 $(2.88 \pm 0.82)\mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ],血浆TGF- $\beta_1$ 水平降低[分别为 $(16.50 \pm 3.36)\mu\text{g/L}$ 、 $(35.17 \pm 10.26)\mu\text{g/L}$ 、 $(41.00 \pm 10.02)\mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ],血浆IFN- $\gamma$ 水平升高[分别为 $(17.21 \pm 2.80)\text{ng/L}$ 、 $(10.23 \pm 1.59)\text{ng/L}$ 、 $(8.18 \pm 3.27)\text{ng/L}$ ,  $P < 0.01$ ],  $Th_1/Th_2$  (IFN- $\gamma$ /IL-4)比值升高(分别为 $1.29 \pm 0.30$ 、 $0.72 \pm 0.16$ 、 $0.61 \pm 0.27$ ,  $P < 0.01$ )。新诊断ITP、慢性ITP组NRP-1、Sema3A mRNA的表达均低于正常对照组( $P < 0.01$ )。新诊断ITP组NRP-1 mRNA表达与Sema3A、TGF- $\beta_1$  mRNA表达均呈正相关。**结论** NRP-1可能参与ITP的发病机制。

**【关键词】** 神经纤毛蛋白1; 信号素3A; 转化生长因子 $\beta_1$ ; 原发免疫性血小板减少症

**基金项目:**国家自然科学基金(81370615、82070120、81600097)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.02.010

## The involvement of neuropilin-1 in primary immune thrombocytopenia

Zhou Hu<sup>1</sup>, Yang Jingyi<sup>1</sup>, Xu Peipei<sup>1</sup>, Liu Liu<sup>2</sup>, Ding Bingjie<sup>1</sup>, Liu Jianping<sup>1</sup>, Li Mengjuan<sup>1</sup>, Song Yongping<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, The Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University (Henan Cancer Hospital), Zhengzhou 450008, China; <sup>2</sup>Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding author: Zhou Hu, Email: papertigerhu@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore the relationship between the expression of neuropilin-1 (NRP-1) on Treg cells and its ligands semaphorins-3A (Sema3A), transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) as well as the balance of type 1 helper T cells ( $Th_1$ ) and type 2 helper T cells ( $Th_2$ ) cells. **Methods** This study enrolled 62 patients with immune thrombocytopenia (ITP; 33 and 29 newly diagnosed and chronic ITP, respectively) from March 2014 to May 2015. Consequently, 30 healthy people in the same period were selected as the normal control group. The expression of NRP-1 in Treg cells was detected via flow cytometry. The Sema3A, TGF- $\beta_1$ , IFN- $\gamma$ , and IL-4 levels in plasma were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The real-time polymerase chain reaction technique was used to detect the mRNA expression levels of NRP-1, Sema3A, and TGF- $\beta_1$ . The one-way analysis of variance and independent sample  $t$ -test was used for comparison between three and two groups, respectively. Correlations among the mRNA expression levels of NRP-1, Sema3A, and TGF- $\beta_1$  were assessed via Spearman correlation coefficients. **Results** Treg cells in the newly diagnosed ITP group significantly increased compared with those in the chronic ITP and normal control groups. The expression of NRP-1 decreased [ $(0.15 \pm 0.03)\%$ ,  $(0.33 \pm 0.15)\%$ , and  $(0.46 \pm 0.06)\%$ ;  $P < 0.01$ ], the plasma Sema3A level increased [ $(8.10 \pm 1.32)\mu\text{g/L}$ ,

( $7.41 \pm 1.30$ )  $\mu\text{g/L}$ , and ( $2.88 \pm 0.82$ )  $\mu\text{g/L}$ ;  $P < 0.01$ ], and the plasma TGF- $\beta_1$  level decreased [ $(16.50 \pm 3.36)$   $\mu\text{g/L}$ , ( $35.17 \pm 10.26$ )  $\mu\text{g/L}$ , and ( $41.00 \pm 10.02$ )  $\mu\text{g/L}$ ;  $P < 0.01$ ]. Moreover, the level of plasma IFN- $\gamma$  increased [ $(17.21 \pm 2.80)$  ng/L, ( $10.23 \pm 1.59$ ) ng/L, and ( $8.18 \pm 3.27$ ) ng/L;  $P < 0.01$ ], and the ratios of Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> (IFN- $\gamma$ /IL-4) increased ( $1.29 \pm 0.30$ ,  $0.72 \pm 0.16$ , and  $0.61 \pm 0.27$ ;  $P < 0.01$ ). The mRNA expressions of NRP-1 and Sema3A in the newly diagnosed ITP and chronic ITP groups were lower than that in the normal control group ( $P < 0.01$ ). Consequently, the NRP-1 mRNA expression was positively correlated with Sema3A and TGF- $\beta_1$  mRNA expression in the newly diagnosed ITP group. **Conclusion** NRP-1 played an essential role in the pathogenesis of ITP.

**【Key words】** Neuropilin-1; Semaphorins-3A; Transforming growth factor- $\beta_1$ ; Primary immune thrombocytopenia

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81370615, 82070120, 81600097)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.02.010

原发性免疫性血小板减少症(ITP)是一种以孤立性血小板减少为特征的获得性自身免疫性疾病,由机体免疫紊乱介导的血小板破坏增加和生成减少所致<sup>[1]</sup>。ITP发病机制较复杂,包括B细胞激活、T细胞异常和抗原提呈细胞(APC)功能障碍等免疫异常在ITP的发病机制中起着重要作用<sup>[2]</sup>。值得注意的是,调节性T细胞(Treg)介导的异常免疫反应与ITP的发展和进展密切相关。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> Treg在维持自身和外来抗原的免疫耐受方面发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。神经纤毛蛋白-1(Neuropilin 1, NRP-1)在树突状细胞(DC)和T细胞之间建立免疫突触、激活T细胞方面发挥重要作用,对静止T细胞的激活及外周耐受的形成至关重要<sup>[5]</sup>。Treg细胞表面的NRP-1促进Treg细胞与未成熟树突状细胞(iDC)之间的相互作用,提高Treg对抗原的敏感性,增强Treg与DC在抗原识别中的相互作用<sup>[6]</sup>。NRP-1与狼疮性肾炎<sup>[7]</sup>、糖尿病肾病<sup>[8]</sup>、系统性硬化症<sup>[9]</sup>等多种自身免疫性疾病的易感性增加有关。本研究探讨ITP患者CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> Treg细胞NRP-1的表达与其配体信号素3A(Sema3A)、转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )以及Th<sub>1</sub>和Th<sub>2</sub>之间平衡的关系。

## 对象与方法

1. 研究对象:本研究共纳入33例新诊断ITP患者[男17例,女16例,中位年龄45(18~66)岁]和29例慢性ITP患者[男3例,女26例,中位年龄41(22~60)岁]。按照《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)》<sup>[10]</sup>进行诊断和分期,并排除合并糖尿病、活动性感染、妊娠或自身免疫性疾病的患者。以我院体检中心同期30名健康体检者作为正常对照组。本研究得到医院伦理委员会批准,受试者或其法定监护人均知情同意。

2. 血浆和外周血单核细胞(PBMC)的制备、总

RNA提取及cDNA合成:将所有受试者EDTA抗凝的新鲜外周血离心后,收集上层血浆于-80℃冻存备用。采用密度梯度离心法分离PBMC。用TRIzol试剂(美国Invitrogen Life Technologies公司产品)提取PBMC总RNA,采用分光光度计在260/280 nm波长处测定RNA含量和浓度。用1  $\mu\text{g}$ 总RNA随机引物和RevertAid First Strand Cdna Synthesis Kit(美国Thermo Scientific公司产品)合成cDNA,于-20℃条件下储存。

3. 流式细胞术检测NRP-1表达:按照说明书取100  $\mu\text{L}$ 全血采用四色荧光标记流式细胞术进行免疫荧光染色。使用抗体如下:NRP-1/CD304-PE(美国BioLegend公司产品),CD4-APC(BioLegend公司产品),PECy7-抗CD25(BioLegend公司产品),CD127-FITC(BioLegend公司产品)。染色的细胞在FACSCanto™ II流式细胞仪(美国BD公司产品)上测试,然使用FlowJo(7.6.1版)软件进行分析。

4. 酶联免疫法吸附法(ELISA)检测血浆Sema3A、TGF- $\beta_1$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-4水平:所有样本均进行两次检测。用酶标仪(美国BioTek公司产品)在450 nm处用分光光度计测量标准品和样本的吸光度(A)值,按标准曲线绘制结果。

5. 实时聚合酶链式反应(RT-PCR)检测NRP-1 mRNA、Sema3A mRNA、TGF- $\beta_1$  mRNA的表达:在ABI-7500测序系统(美国Applied Biosystems公司产品)上进行。采用SYBR Green(美国Applied Biosystems公司产品)检测NRP-1 mRNA、Sema3A mRNA、TGF- $\beta_1$  mRNA的表达,以 $\beta$ 肌动蛋白作为内参基因。NRP-1、Sema3A引物设计参照文献[11], TGF- $\beta_1$ 引物设计参照文献[12]。所有样品均检测3次。测定内参基因和目标基因的CT值。基因的相对定量(RQ)表达由以下方程计算:  $RQ = 2^{-\Delta\Delta CT}$ 。

6. 统计学处理:采用SPSS 25.0进行统计学分

析。数据以“均数±标准差”表示,采用单因素方差分析比较新诊断 ITP 组、慢性 ITP 组和正常对照组 Treg 细胞 NRP-1 的表达水平、细胞因子(Sema3A、TGF- $\beta_1$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-4)和 mRNA(NRP-1 mRNA、Sema3A mRNA 和 TGF- $\beta_1$  mRNA)表达水平,组间比较采用 LSD-*t* 检验,用 Spearman 相关系数评估变量之间的相关性。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 新诊断 ITP 患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> Treg 细胞 NRP-1 表达:新诊断 ITP 组、慢性 ITP 组、正常对照组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> Treg 细胞 NRP-1 的表达分别为  $(0.15 \pm 0.03)\%$ 、 $(0.33 \pm 0.15)\%$ 、 $(0.46 \pm 0.06)\%$ ,慢性 ITP 组高于新诊断 ITP 组,但仍低于正常对照组。

2. ITP 患者与正常对照组血浆 Sema3A、TGF- $\beta_1$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-4、Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub>(IFN- $\gamma$ /IL-4)水平:新诊断 ITP 组血浆 Sema3A 水平显著高于正常对照组 [ $(8.10 \pm 1.32) \mu\text{g/L}$  对  $(2.88 \pm 0.82) \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ],慢性 ITP 组血浆 Sema3A 水平较新诊断的 ITP 患者有所下降,但仍高于正常对照组 [ $(7.41 \pm 1.30) \mu\text{g/L}$  对  $(2.88 \pm 0.82) \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ]。新诊断 ITP 组血浆 TGF- $\beta_1$  水平低于正常对照组 [ $(16.50 \pm 3.36) \mu\text{g/L}$  对  $(41.00 \pm 10.02) \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ],慢性 ITP 组血浆 TGF- $\beta_1$  水平显著高于新诊断 ITP 组 [ $(35.17 \pm 10.26) \mu\text{g/L}$  对  $(16.50 \pm 3.36) \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ ]。新诊断 ITP 组血浆 IFN- $\gamma$  水平高于正常对照组 [ $(17.21 \pm 2.80) \text{ng/L}$  对  $(8.18 \pm 3.27) \text{ng/L}$ ,  $P < 0.05$ ],慢性 ITP 组血浆 IFN- $\gamma$  水平低于新诊断 ITP 组 [ $(10.23 \pm 1.59) \text{ng/L}$  对  $(17.21 \pm 2.80) \text{ng/L}$ ,  $P < 0.05$ ]。三组血浆 IL-4 水平差异无统计学意义 ( $P = 0.548$ );新诊断 ITP 组 Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub>(IFN- $\gamma$ /IL-4)比值高于正常对照组和慢性 ITP 组 ( $P < 0.05$ )。详见表 1。

3. ITP 患者与正常对照组 PBMC 中 NRP-1、

Sema3A、TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达:新诊断 ITP 组 NRP-1 及其配体 Sema3A mRNA 表达均显著低于正常对照组 ( $P < 0.05$ ),慢性 ITP 组 NRP-1、Sema3A mRNA 的表达与新诊断 ITP 组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );新诊断 ITP 组 TGF- $\beta_1$  mRNA 与正常对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),慢性 ITP 组 TGF- $\beta_1$  mRNA 表达低于新诊断 ITP 组 ( $P < 0.05$ ),但三组间 TGF- $\beta_1$  mRNA 表达差异无统计学意义 ( $P = 0.195$ )。详见表 2。

表 2 ITP 患者与正常对照组 NRP-1、Sema3A、TGF-1 mRNA 相对表达水平( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 例数 | NRP-1             | Sema3A            | TGF- $\beta_1$    |
|---------|----|-------------------|-------------------|-------------------|
| 新诊断 ITP | 33 | $0.25 \pm 0.15^a$ | $0.21 \pm 0.22^a$ | $0.52 \pm 0.26^b$ |
| 慢性 ITP  | 29 | $0.25 \pm 0.19$   | $0.21 \pm 0.27$   | $0.44 \pm 0.14$   |
| 正常对照组   | 30 | $0.53 \pm 0.45$   | $0.41 \pm 0.25$   | $0.52 \pm 0.14$   |
| F 值     |    | 9.041             | 6.936             | 1.665             |
| P 值     |    | < 0.01            | < 0.01            | 0.195             |

注:ITP:原发免疫性血小板减少症;NRP-1:神经纤毛蛋白-1;Sema3A:信号素 3A;TGF- $\beta_1$ :转化生长因子 $\beta_1$ 。与正常对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与慢性 ITP 比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

4. 新诊断 ITP 组 NRP-1、Sema3A、TGF- $\beta_1$  mRNA 表达的相关性:新诊断 ITP 组 NRP-1 mRNA 的表达水平与 Sema3A、TGF- $\beta_1$  mRNA 表达均呈正相关( $r^2 = 0.578$ ,  $P < 0.05$ ;  $r^2 = 0.383$ ,  $P < 0.05$ )(图 1)。

## 讨 论

NRP-1 是单次跨膜受体,最初被发现作为 Sema3A 的受体,参与调节神经细胞导向及轴突生长<sup>[13]</sup>。NRP-1 的胞外结构域可使分子与多种配体相互作用,使其具有参与多种信号通路的能力,连接表面受体和细胞内的信号网络。NRP-1 在神经系统发育、肿瘤以及免疫方面的作用已被广泛研究。虽然 NRP-1 与静止 T 细胞的启动和外周免疫耐受形成

表 1 ITP 患者与正常对照组血浆 Sema3A、TGF- $\beta_1$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-4 表达水平及 Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub>(IFN- $\gamma$ /IL-4)比值比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 例数 | Sema3A<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | TGF- $\beta_1$<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | IFN- $\gamma$<br>( $\text{ng/L}$ ) | IL-4<br>( $\text{ng/L}$ ) | Th <sub>1</sub> /Th <sub>2</sub><br>比值 |
|---------|----|-------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|
| 新诊断 ITP | 33 | $8.10 \pm 1.32$               | $16.50 \pm 3.36$                      | $17.21 \pm 2.80$                   | $13.18 \pm 2.70$          | $1.29 \pm 0.30$                        |
| 慢性 ITP  | 29 | $7.41 \pm 1.30$               | $35.17 \pm 10.26$                     | $10.23 \pm 1.59$                   | $14.46 \pm 2.96$          | $0.72 \pm 0.16$                        |
| 正常对照组   | 30 | $2.88 \pm 0.82$               | $41.00 \pm 10.02$                     | $8.18 \pm 3.27$                    | $13.42 \pm 2.29$          | $0.61 \pm 0.27$                        |
| F 值     |    | 87.949                        | 187.299                               | 36.46                              | 0.614                     | 26.951                                 |
| P 值     |    | < 0.01                        | < 0.01                                | < 0.01                             | 0.548                     | < 0.01                                 |

注:ITP:原发免疫性血小板减少症;Sema3A:信号素 3A;TGF- $\beta_1$ :转化生长因子 $\beta_1$

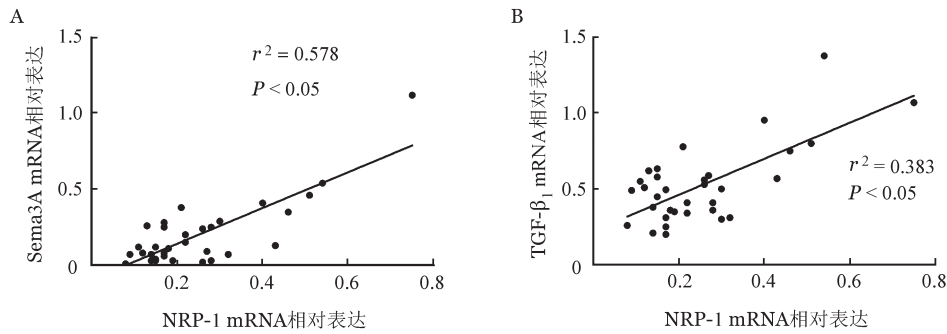


图1 新诊断原发性免疫性血小板减少症组NRP-1 mRNA表达与Sema3A mRNA(A)、TGF- $\beta_1$  mRNA表达(B)的相关性

的关系已有报道,但其功能及其与配体的相互作用在ITP的发病机制中尚不清楚。

NRP-1在固有免疫系统中起着重要作用,其介导DC和静止T细胞之间的相互作用,而这对于启动初级免疫应答至关重要<sup>[6]</sup>。NRP-1的高表达促进了Treg与iDC的长期相互作用<sup>[6]</sup>。这一现象可能为Treg在与呈递自身抗原的iDC相互作用时提供了有利条件,从而有助于外周免疫耐受的形成,同时也阻止了幼稚自身反应性T细胞的激活。在本研究中,我们首次发现新诊断ITP组Treg细胞NRP-1表达水平明显低于正常对照组,慢性ITP组NRP-1表达水平高于新诊断ITP组,但仍低于正常对照组。同时,我们还发现,新诊断ITP组NRP-1 mRNA表达明显低于正常对照组,但略高于慢性ITP组。Solomon等<sup>[14]</sup>研究证实CD4<sup>+</sup>T细胞NRP-1缺失导致实验性变态反应性脑脊髓炎(EAE)严重程度增加。这些发现使我们能够从理论上确定NRP-1在ITP发病机制中的作用。我们推测,当Treg细胞NRP-1表达降低时,Treg与iDC之间的相互作用受到影响,机体无法建立正常的外周免疫耐受。

Sema3A是信号素家族的一个分泌型成员,是免疫系统的负调节因子<sup>[15]</sup>。Sema3A是由活化的DC和T细胞表达,直接抑制T细胞的增殖。Sema3A与NRP-1和Plexin-A形成的复合物特异性结合。在淋巴结内DC遇到T细胞呈递抗原,然而DC不能跨淋巴管内皮细胞迁移至引流淋巴结,所以Plexin-A1缺陷和NRP-1缺陷的小鼠表现出T细胞反应受损<sup>[16]</sup>。在本研究中,我们发现新诊断ITP组血浆Sema3A水平明显高于正常对照组,慢性ITP患者血浆Sema3A水平较新诊断ITP组有所下降,但仍高于正常对照组。Vadasz等<sup>[7]</sup>研究结果显示狼疮性肾炎患者Sema3A的表达明显高于正常对照组。本研究新诊断ITP组的NRP-1、Sema3A mRNA的表

达呈正相关。我们推测当NRP-1表达降低时,Sema3A反应性增加。然而,与正常对照组相比,新诊断ITP组的Sema3A mRNA表达降低,提示PBMIC可能不是分泌Sema3A的主要来源。

TGF- $\beta_1$ 是NRP-1的另一个配体,是一种重要的T细胞增殖抑制剂,能抑制APC和Th<sub>1</sub>的活性。TGF- $\beta_1$ 是免疫稳态的负性调节因子,其缺乏导致自身靶向免疫反应的激活<sup>[17]</sup>。有研究表明,NRP-1参与了TGF- $\beta_1$ 下游的信号传导过程<sup>[18-19]</sup>,并且TGF- $\beta_1$ 可以阻断NRP-1介导的对效应T细胞增殖和细胞因子产生的抑制作用<sup>[14]</sup>。以往研究结果显示ITP患者血浆TGF- $\beta_1$ 水平降低<sup>[20-21]</sup>,与本研究结果大致相同。我们推测,TGF- $\beta_1$ 的降低并不能抑制异常的免疫反应,也不能阻断由NRP-1的降低而引起的T细胞过度活化。但三组间TGF- $\beta_1$  mRNA表达差异无统计学意义,这可能是由于血浆TGF- $\beta_1$ 主要来源于血小板 $\alpha$ 颗粒,并且发现无论是新诊断ITP患者还是慢性ITP患者,血浆TGF- $\beta_1$ 水平均与血小板计数均呈正相关。此外,在新诊断的ITP组中,NRP-1 mRNA和TGF- $\beta_1$  mRNA的表达呈正相关,提示NRP-1和TGF- $\beta_1$ 之间的相互关系可能在ITP的发展中起一定作用。

ITP一直被认为是Th<sub>1</sub>介导的Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub>失衡疾病,并且以Th<sub>1</sub>极化为特征。Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub>的平衡在调节免疫系统中起着重要作用,其在许多自身免疫性疾病中均有改变。在ITP中,通常通过评估IFN- $\gamma$ 和IL-4的分泌来进行Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub>比值分析。一些研究已经发现ITP患者免疫反应的Th<sub>1</sub>极化的证据<sup>[22]</sup>。我们也发现在新诊断ITP患者的免疫反应中存在Th<sub>1</sub>极化,而慢性ITP患者的Th<sub>1</sub>极化减弱。我们推测Th<sub>1</sub>极化可能是因为TGF- $\beta_1$ 降低从而抑制了Th<sub>1</sub>活性。目前尚无关于Sema3A与Th<sub>1</sub>极化相关性的报道。

综上所述,本研究证实了ITP患者中NRP-1与

其配体以及 Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> 平衡之间的关系,提示 NRP-1 可能参与 ITP 的发病,但具体机制尚需继续研究。

### 参考文献

- [1] 刘新光, 侯明. 成人原发免疫性血小板减少症: 2019 版美国血液学会指南与国际共识报告更新解读[J]. 中华血液学杂志 2020, 41 (6): 441- 445. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253- 2727. 2020.06.001.
- [2] Semple JW, Provan D, Garvey MB, et al. Recent progress in understanding the pathogenesis of immune thrombocytopenia [J]. Curr Opin Hematol, 2010, 17(6): 590-595. DOI: 10.1097/MOH.0b013e32833eae3.
- [3] Piccirillo CA, d'Hennezel E, Sgouroudis E, et al. CD4+Foxp3+ regulatory T cells in the control of autoimmunity: in vivo veritas [J]. Curr Opin Immunol, 2008, 20(6):655-662. DOI: 10.1016/j.coi.2008.09.006.
- [4] Jiao YM, Liu CE, Luo LJ, et al. CD4+CD25+CD127 regulatory cells play multiple roles in maintaining HIV-1 p24 production in patients on long-term treatment: HIV-1 p24-producing cells and suppression of anti-HIV immunity[J]. Int J Infect Dis, 2015, 37: 42-49. DOI: 10.1016/j.ijid.2015.06.008.
- [5] Campos-Mora M, Morales RA, Gajardo T, et al. Neuropilin-1 in transplantation tolerance[J]. Front Immunol, 2013, 4: 405. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00405.
- [6] 黄鑫亮, 代小艳. 神经纤毛蛋白-1 的研究进展[J]. 生理科学进展, 2020, 51 (1): 71076. DOI: 10.3969/j.issn.0559- 7765.2020. 01.018.
- [7] Vadasz Z, Ben- Izhak O, Bejar J, et al. The involvement of immune semaphorins and neuropilin-1 in lupus nephritis [J]. Lupus, 2011, 20 (14): 1466- 1473. DOI: 10.1177/ 0961203311417034.
- [8] Bondeva T, Wolf G. Role of Neuropilin-1 in diabetic nephropathy [J]. J Clin Med, 2015, 4 (6): 1293- 1311. DOI: 10.3390/ jcm4061293.
- [9] Romano E, Chora I, Manetti M, et al. Decreased expression of neuropilin-1 as a novel key factor contributing to peripheral microvasculopathy and defective angiogenesis insystemic sclerosis [J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75 (8): 1541-1549. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-207483.
- [10] 中华医学会血液学分会止血与血栓学组. 成人原发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. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 0253-2727.2016.02.001.
- [11] Shim EJ, Chun E, Kang HR, et al. Expression of semaphorin 3A and neuropilin 1 in asthma[J]. J Korean Med Sci, 2013, 28(10): 1435-1442. DOI: 10.3346/jkms.2013.28.10.1435.
- [12] Chen K, Wei H, Ling S, et al. Expression and significance of transforming growth factor-β1 in epithelial ovarian cancer and its extracellular matrix [J]. Oncol Lett, 2014, 8 (5): 2171-2174. DOI: 10.3892/ol.2014.2448.
- [13] 陈艳伟, 韩正祥. NRP-1 的生物学特征及其在非小细胞肺癌发生、发展中的作用 [J]. 肿瘤药, 2020, 10 (1): 6-11. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2020.01.02.
- [14] Solomon BD, Mueller C, Chae WJ, et al. Neuropilin-1 attenuates autoreactivity in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (5): 2040-2045. DOI: 10.1073/pnas.1008721108.
- [15] Takamatsu H, Kumanogoh A. Diverse roles for semaphorin-plexin signaling in the immune system [J]. Trends Immunol, 2012, 33(3): 127-135. DOI: 10.1016/j.it.2012.01.008.
- [16] Takamatsu H, Takegahara N, Nakagawa Y, et al. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II [J]. Nat Immunol, 2010, 11 (7): 594-600. DOI: 10.1038/ni.1885.
- [17] Rubtsov YP, Rudensky AY. TGFβ signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity [J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7(6): 443-453. DOI: 10.1038/nri2095.
- [18] Pellet- Many C, Frankel P, Evans IM, et al. Neuropilin-1 mediates PDGF stimulation of vascular smooth muscle cell migration and signalling via p130Cas [J]. Biochem J, 2011, 435 (3): 609-618. DOI: 10.1042/bj20100580.
- [19] Glinka Y, Stoilova S, Mohammed N, et al. Neuropilin-1 exerts co-receptor function for TGF-β-1 on the membrane of cancer cells and enhances responses to both latent and active TGF-β-1 [J]. Carcinogenesis, 2011, 32 (4): 613- 621. DOI: 10.1093/ carcin/bgq281.
- [20] Andersson PO, Olsson A, Wadenvik H. Reduced transforming growth factor- β-1 production by mononuclear cells from patients with active chronic idiopathic thrombocytopenic purpura [J]. Br J Haematol, 2002, 116 (4): 862- 867. DOI: 10.1046/ j.0007-1048.2002.03345.x.
- [21] Ma L, Liang Y, Fang M, et al. The cytokines (IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-10, IL-17) and Treg cytokine (TGF-β-1) levels in adults with immune thrombocytopenia [J]. Pharmazie, 2014, 69 (9): 694-697.
- [22] Lyu M, Li Y, Hao Y, et al. Elevated Semaphorin 5A correlated with Th1 polarization in patients with chronic immune thrombocytopenia [J]. Thromb Res, 2015, 136 (5): 859- 864. DOI: 10.1016/j.thromres.2015.07.032.

(收稿日期:2020-08-06)

(本文编辑:徐茂强)