

# TIGIT、CD226、CD96 和 CD155 在血小板糖蛋白自身抗体阳性的原发性免疫性血小板减少症的表达及临床意义\*

骆婷婷<sup>1</sup> 张瑞<sup>1</sup> 王秀娟<sup>1</sup> 王璐<sup>1</sup> 陈双<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨 TIGIT、CD226、CD96 和 CD155 在血小板糖蛋白自身抗体(platelet glycoprotein autoantibody, GPs)阳性的原发性免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)患者外周血 CD8<sup>+</sup> T 细胞和树突状细胞(dendritic cell, DC)膜表面的表达,并分析其临床意义。方法:选取 41 例 GPs 阳性的 ITP 患者和 20 例健康对照者,采用流式细胞术检测 CD8<sup>+</sup> T 细胞表面 TIGIT、CD226 和 CD96 表达比例,并检测 ITP 患者外周血 DC 细胞的亚群变化及浆细胞样 DC(plasma DC, pDC)上 CD155 的表达比例。结果:GPs 阳性 ITP 组患者的 pDC 和 CD155<sup>+</sup> pDC 比例均明显高于对照组,且 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup>组均明显高于 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组( $P < 0.05$ ,  $F = 40.83$ ;  $P < 0.01$ ,  $F = 59.50$ )。GPs 阳性 ITP 组患者的 TIGIT<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例明显低于对照组,且 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup>组明显低于 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组( $P < 0.05$ ,  $F = 36.41$ ),但 CD226<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞与 CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例均明显高于对照组,且 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup>组均明显高于 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组( $P < 0.05$ ,  $F = 45.01$ ;  $P < 0.01$ ,  $F = 41.66$ )。GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组与 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup>组的 CD155<sup>+</sup> pDC 与 TIGIT<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例呈负相关( $P < 0.01$ ,  $r = -0.54$ ;  $P < 0.01$ ,  $r = -0.76$ ),与 CD226<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞和 CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例呈正相关( $P < 0.05$ ,  $r = 0.61$ ;  $P < 0.05$ ,  $r = 0.51$ ;  $P < 0.01$ ,  $r = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ,  $r = 0.73$ )。结论:TIGIT、CD226、CD96 与 CD155 表达异常,导致 GPs 阳性的 ITP 的免疫耐受,可能参与了疾病发生。

**[关键词]** 免疫性血小板减少症;抑制性分子;CD226;CD96

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2024.03.008

**[中图分类号]** R558.2 **[文献标志码]** A

## Expression and clinical significance of TIGIT, CD226, CD96, and CD155 in platelet glycoprotein autoantibody-positive primary immune thrombocytopenia

LUO Tingting ZHANG Rui WANG Xiujuan WANG Lu CHEN Shuang

(Laboratory of Hematology Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Hematology Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, 830054, China)

Corresponding author: CHEN Shuang, E-mail: 104531747@qq.com

**Abstract Objective:** To investigate the expression of TIGIT, CD226, CD96 and CD155 on CD8<sup>+</sup> T cells and dendritic cells(DC) in the peripheral blood of patients with platelet glycoprotein autoantibody(GPs)-positive primary immune thrombocytopenia(ITP) and to analyze their clinical significance. **Methods:** Forty-one GP-positive ITP patients and 20 healthy individuals were selected. The flow cytometry was used to detect the percentage of TIGIT, CD226, and CD96 expression on CD8<sup>+</sup> T cells and the changes in DC cell subsets and the percentage of CD155 expression on plasma DC(pDC) were analyzed. **Results:** The percentage of pDC and CD155<sup>+</sup> pDC in the GPs-positive ITP group were significantly higher than those in the healthy control group, and they were significantly higher in the GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup> group than those in the GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> group( $P < 0.05$ ,  $F = 40.83$ ;  $P < 0.01$ ,  $F = 59.50$ ). On the other hand, the percentage of TIGIT<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells in the GPs-positive ITP group was significantly lower than that in the healthy control group, and it was significantly lower in the GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup> group than that in the GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> group( $P < 0.05$ ,  $F = 36.41$ ). However, the percentages of CD226<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells and CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells were significantly higher than those in the control group, and they were significantly higher in the GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/+</sup> group than those in the GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> group.

\*基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金青年项目(No:2022D01C754)

<sup>1</sup>新疆医科大学第一附属医院血液病中心实验室,新疆维吾尔自治区血液病研究所(乌鲁木齐,830054)

通信作者:陈双, E-mail:104531747@qq.com

引用本文:骆婷婷,张瑞,王秀娟,等. TIGIT、CD226、CD96 和 CD155 在血小板糖蛋白自身抗体阳性的原发性免疫性血小板减少症的表达及临床意义[J]. 临床血液学杂志, 2024, 37(3):183-189, 195. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2024.03.008.

II b/III a<sup>+</sup> group ( $P < 0.05$ ,  $F = 45.01$ ;  $P < 0.01$ ,  $F = 41.66$ ). The percentages of CD155<sup>+</sup> pDC in the GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> group and GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup> group were negatively correlated with TIGIT<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells ( $P < 0.01$ ,  $r = -0.54$ ;  $P < 0.01$ ,  $r = -0.76$ ), while it positively correlated with the percentages of CD226<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells and CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T cells ( $P < 0.05$ ,  $r = 0.61$ ;  $P < 0.05$ ,  $r = 0.51$ ;  $P < 0.01$ ,  $r = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ,  $r = 0.73$ ). **Conclusion:** The abnormal expression of TIGIT, CD226, CD96, and CD155 contributes to immune intolerance in GPs-positive ITP, which may be involved in the pathogenesis of the disease.

**Key words** immune thrombocytopenia; inhibitory molecule; CD226; CD96

原发性免疫性血小板减少症 (immune thrombocytopenia, ITP) 是一种以出血和血小板计数低于  $100 \times 10^9/L$  为特征的血液系统自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。导致 ITP 发病的因素主要有以下几种: ①血小板糖蛋白特异性自身抗体 (glycoprotein, GP I b/IX 和 GP II b/III a) 介导的血小板的破坏过多和生成不足; ②自身反应性 B 细胞活化产生大量抗体与血小板自身抗原结合, 脾巨噬细胞通过 Fc 受体吞噬自身抗体结合的血小板; ③ CD8<sup>+</sup> T 细胞参与 ITP 患者免疫耐受失衡导致的血小板破坏<sup>[2-3]</sup>。研究发现 ITP 患者体内的细胞毒性 T 细胞能够直接溶解血小板及抑制、破坏巨核细胞的功能<sup>[4]</sup>。ITP 患者体内免疫功能紊乱导致血小板免疫性破坏、外周血血小板减少的发病机制仍不明确。越来越多的证据表明, ITP 的发生、发展主要是由效应细胞和调节性免疫细胞之间的相互作用不平衡而导致<sup>[5]</sup>。这种不平衡的反应导致免疫耐受性失调, 使免疫细胞对血小板的清除增加, 并且影响血小板生成<sup>[6]</sup>。树突状细胞 (dendritic cell, DC) 作为专业抗原提呈细胞, 有显著的表型异质性和功能可塑性。DC 大致分为 2 种亚型: 浆细胞样 DC (plasma DC, pDC) 和髓样 DC (medullary DC, mDC)。在 ITP 患者中 DC 上吡啶胺 2,3-双加氧酶的表达明显低于正常对照, 说明其对 DC 的免疫耐受功能下降。因此, DC 的功能状态可能决定着 ITP 的发生、发展<sup>[7]</sup>。T 细胞免疫球蛋白和免疫受体酪氨酸基序 (T-cell immunoglobulin and immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif domain, TIGIT) 是一种免疫抑制受体, 主要表达在 T 细胞和 NK 细胞上, 与之相关的免疫激活受体 CD226 和另一种免疫受体 CD96 均可以与配体 CD155 (Poliovirus receptor, PVR) 结合, 形成免疫细胞的激活与抑制平衡轴, 在免疫应答的调节中起至关重要的作用<sup>[8]</sup>。

我们发现 GPs 阳性的 ITP 患者存在 TIGIT、CD226、CD96 和 CD155 的表达异常, 提示 TIGIT 相关调节因子对 GPs 阳性的 ITP 患者 T 细胞紊乱可能有较为重要的作用。本研究通过观察 GPs 阳性的 ITP 患者及健康者外周血 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 TIGIT、CD226 和 CD96 的表达情况, 同时检测 DC 细胞上 TIGIT 配体 CD155 的表达情况; 分析上述检测指标在 ITP 患者中的差异, 初步探讨共抑制分

子 TIGIT、相关调节因子 CD226、CD96 和配体 CD155 在不同分组的 GPs 阳性 ITP 患者中的表达差异及相关性, 可能参与了疾病的发生, 现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

选择 2021 年 1 月—2022 年 6 月在新疆医科大学第一附属医院血液科初诊的 41 例 GPs 阳性的 ITP 患者, 其中男 16 例, 女 25 例; 中位年龄 63 (41~82) 岁; GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup> 患者 18 例 (男 7 例, 女 11 例), GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> 患者 23 例 (男 9 例, 女 14 例)。20 例健康者为对照组, 其中男 11 例, 女 9 例, 中位年龄 60 (43~80) 岁。2 组受试者性别及年龄比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。所有患者近 3 个月内均未输注血小板, 采集标本时患者血小板计数均低于  $100 \times 10^9/L$ 。所有 ITP 患者均进行骨髓及外周血细胞形态学检查和血小板糖蛋白特异性自身抗体检测, 诊断标准根据成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南 (2020 年版)<sup>[9]</sup>。临床资料包括年龄、性别、血小板计数和血小板糖蛋白特异性自身抗体检测结果等, 所有研究对象签署知情同意书。

### 1.2 试剂与仪器

所用荧光抗体包括 CD45-V500、CD3-V450、CD19-V450、CD20-percp、CD56-APC、CD14-APC、HLA-DR-APC-cy7、CD123-PE-cy7、CD11c-FITC、CD155-PE、CD3-APC-cy7、CD8-PE-cy7、CD96-FITC、TIGIT-APC 和 CD226-PE, 均购自美国 BD 公司。流式细胞仪 FACS Canto II 购自美国 BD 公司。血小板糖蛋白特异性自身抗体检测试剂盒购自苏州元德维康。

### 1.3 血小板糖蛋白特异性自身抗体检测及血小板制备

样本制备: 采集 EDTA-K2 抗凝的外周血 5 mL,  $200 \times g$  离心 5 min, 分离富血小板血浆, 再  $3000 \times g$  离心 2 min, 弃上清, 下层沉淀为血小板, 加入 800  $\mu$ L 血小板洗涤液,  $3000 \times g$  离心 2 min, 洗涤 3 遍。阴性对照: 用 3 份正常人外周血制备; 阳性对照: 提取 1 份正常人血小板, 加入 110  $\mu$ L 试剂盒内阳性对照,  $18 \sim 25^\circ\text{C}$  摇床 1 h, 加入 800  $\mu$ L 血小板洗涤液,  $3000 \times g$  离心 2 min, 洗涤 3 遍。向上述 3 种样本中加入 110  $\mu$ L 裂解液震荡混匀摇

床 30 min,  $3\ 000 \times g$  离心 20 min, 取上清, 加入  $50\ \mu\text{L}$  荧光微球, 避光摇床 1 h, 加入微球洗涤液, 离心留沉淀, 加入 GAH-FITC  $10\ \mu\text{L}$ , 避光摇床 30 min, 洗涤, 上机检测。

#### 1.4 流式细胞术检测外周血中 DC 细胞亚群分类及 pDC 上 CD155 的表达

采集 ITP 患者治疗前及对照组外周肝素钠抗凝血 5 mL, 流式管内分别加入 CD45-V500、CD3-V450、CD19-V450、CD20-percp、CD56-APC、CD14-APC、HLA-DR-APC-cy7、CD123-PE-cy7、CD11c-FITC、CD155-PE 各  $5\ \mu\text{L}$ ; 同型对照组流式管中加入 CD45-V500、CD3-V450、CD19-V450、CD20-percp、CD56-APC、CD14-APC、HLA-DR-APC-cy7、CD123-PE-cy7、CD11c-FITC、IgG1-PE, 加入抗体后充分混匀, 避光 15 min, 在室温下孵育 15 min。加入  $2\ 000\ \mu\text{L}$  的红细胞裂解液, 避光 5 min,  $1\ 500 \times g$ , 离心 5 min, 弃上清。PBS 洗涤 2 次, 最后加入  $300\ \mu\text{L}$  PBS 缓冲液重悬细胞, 上机检测。SSC 和 CD45 识别 DC 大致位置, 先选定 HLA-DR<sup>+</sup> 细胞群, 再选定 CD3<sup>-</sup> CD19<sup>-</sup> CD14<sup>-</sup> CD56<sup>-</sup> CD20<sup>-</sup> 细胞, 通过 CD123 与 CD11c, 将 DC 分为 pDC (CD123<sup>+</sup> CD11c<sup>-</sup>) 与 mDC (CD123<sup>-</sup> CD11c<sup>+</sup>), 进而分析 pDC 细胞上 CD155 的表达情况。

#### 1.5 流式细胞术检测外周血中 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 TIGIT、CD226、CD96 的表达

流式管内分别加入 CD3-APC-cy7、CD8-PE-cy7、CD96-FITC、TIGIT-APC 和 CD226-PE 各  $5\ \mu\text{L}$ , 同型对照组流式管中加入 CD3-APC-cy7、CD8-PE-cy7、IgG1-FITC、IgG1-APC 和 IgG1-PE

各  $5\ \mu\text{L}$ ; 加入抗体后充分混匀, 后续操作同前。上机检测, 以 SSC 和 FSC 设门, 圈出淋巴细胞群, 以 CD3<sup>+</sup> 细胞设门, 再设 CD8<sup>+</sup> 细胞门, 分别记录 TIGIT<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>、CD226<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> 和 CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞占 CD8<sup>+</sup> T 细胞的比例。

#### 1.6 统计学处理

采用 SPSS 26.0 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, 2 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 多个样本间的两两比较采用 SNK 检验。非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示, 2 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验, 多个样本间的两两比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验和 Bonferroni 校正。采用 Pearson 法分析 TIGIT、CD155、CD226、CD96 表达的相关性。使用 GraphPad Prism 9.5 制图。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>-</sup> 组与 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组 DC 亚群、CD155<sup>+</sup> pDC 和 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例的比较

GPs 阳性的 ITP 患者中, GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>-</sup> 组与 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组患者的 mDC 和 pDC 比例比较差异无统计学意义, CD155 在 pDC 上的表达水平亦无统计学意义。2 组 TIGIT、CD226、CD96 在 CD8<sup>+</sup> T 细胞上的表达差异不明显, 均无统计学意义(表 1)。故以下实验设计将 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>-</sup> 组与 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组合并为 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组。

表 1 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>-</sup> 组与 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组 DC 亚群、CD155<sup>+</sup> pDC 和 CD226<sup>+</sup>/TIGIT<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例的比较

组别	例数	pDC/%	mDC/%	CD155 <sup>+</sup> pDC/%	CD226 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> T/%	TIGIT <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> T/%	CD96 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> T/%
GPIb/IX <sup>+</sup> /IIb/IIIa <sup>-</sup> 组	13	18.82 (16.32, 21.02)	46.93 (44.32, 58.51)	21.75 (19.86, 25.32)	27.31 (26.21, 29.32)	7.49 (5.69, 15.36)	13.21 (12.65, 15.65)
GPIb/IX <sup>+</sup> /IIb/IIIa <sup>+</sup> 组	5	19.03 (18.96, 19.03)	51.63 (44.18, 57.82)	22.01 (17.48, 25.41)	27.32 (22.23, 30.28)	8.21 (4.95, 13.65)	14.23 (10.94, 15.48)
<i>Z</i>		-0.093	-0.246	-0.049	-0.542	-0.197	-0.187
<i>P</i>		0.926	0.805	0.961	0.588	0.844	0.766

### 2.2 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组 ITP 患者治疗前 DC 的亚群比例

与对照组比较, GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组 ITP 患者的 pDC 水平明显升高, 且 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组 pDC 比例明显高于 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组 ( $P < 0.05$ ,  $F = 40.83$ ); mDC 比例在 3 组间差异无统计学意义(图 1、2)。

### 2.3 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组 ITP 患者治疗前 pDC 上 CD155 的表达水平

与对照组比较, GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组 pDC 上 CD155 的表达水平明显升高, 且 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组明显高于 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组 ( $P < 0.01$ ,  $F = 59.50$ )(图 3)。

2.4 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 ITP 患者治疗前 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 TIGIT、CD226 和 CD96 的表达水平

与对照组比较,GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 TIGIT 的表达水平明显降低,且 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组明显低于 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组( $P < 0.05, F = 36.41$ )(图 4a);与对照组比较,GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 CD226 的表达水平明显升高,且 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组明显高于 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组( $P < 0.05, F = 45.01$ )(图 4b);与对照组比较,GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 CD96 的表达水平亦明显升高( $P < 0.01, F = 41.66$ ),但 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/

IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组间差异无统计学意义(图 4c)。

2.5 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 CD155<sup>+</sup> pDC 比例分别与 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞比例的相关性

分析 CD155<sup>+</sup> pDC 与 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞的相关性发现,GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组均有相同的趋势,2 组 CD155<sup>+</sup> pDC 与 TIGIT<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞呈负相关( $P < 0.01, r = -0.54; P < 0.01, r = -0.76$ )(图 5a、d),与 CD226<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞和 CD96<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞呈正相关( $P < 0.05, r = 0.61; P < 0.05, r = 0.51; P < 0.01, r = 0.79; P < 0.01, r = 0.73$ )(图 5b、c、e、f)。

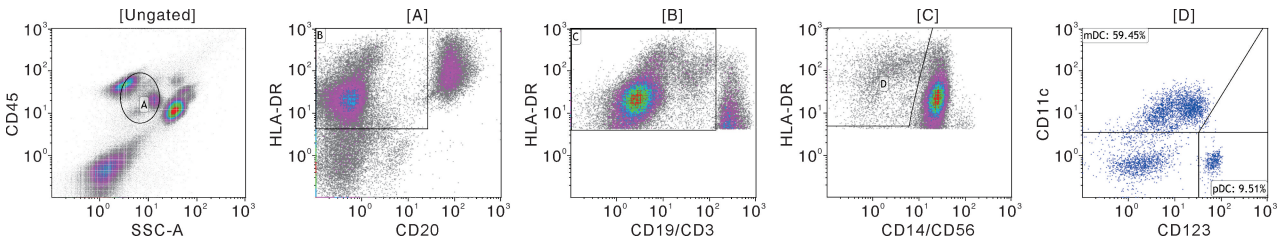
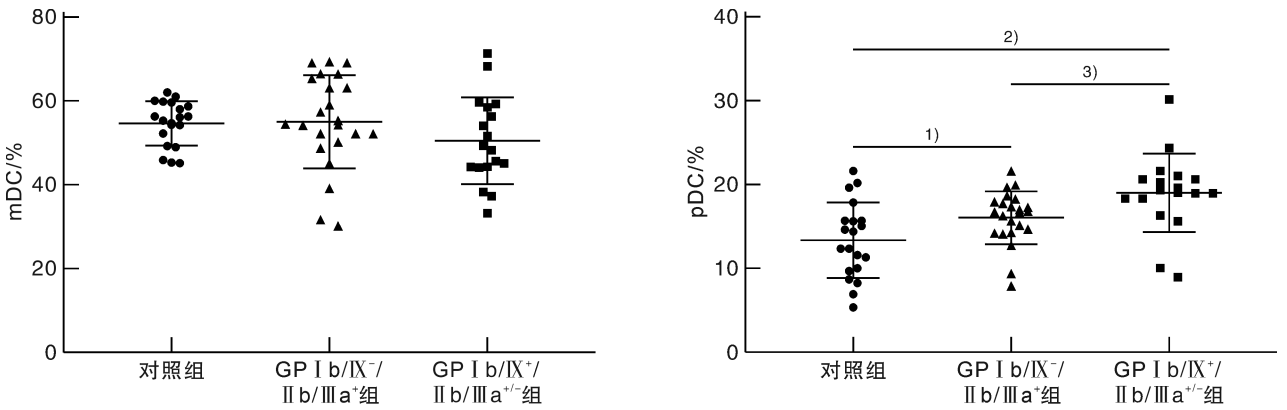
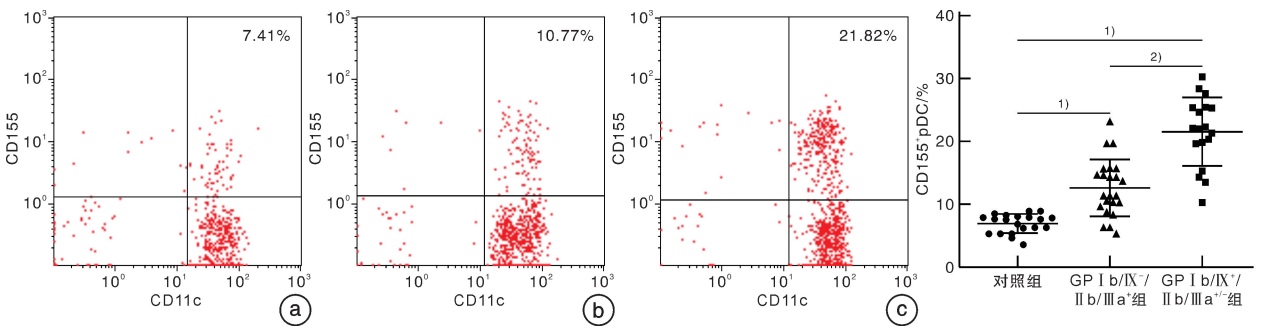


图 1 流式细胞术检测 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 ITP 患者外周血中 DC 的亚群比例



与对照组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组比较,<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

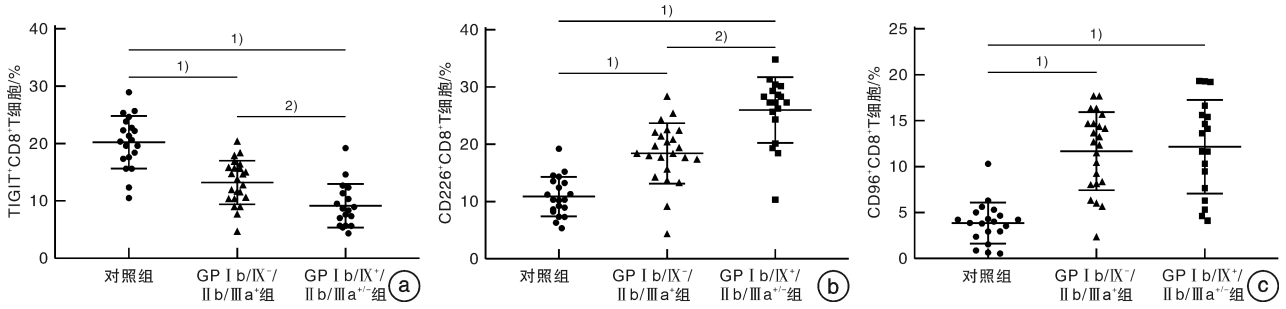
图 2 对照组、GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组 mDC 和 pDC 的比例



a:对照组;b:GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组;c:GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组。与对照组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与 GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组比较,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

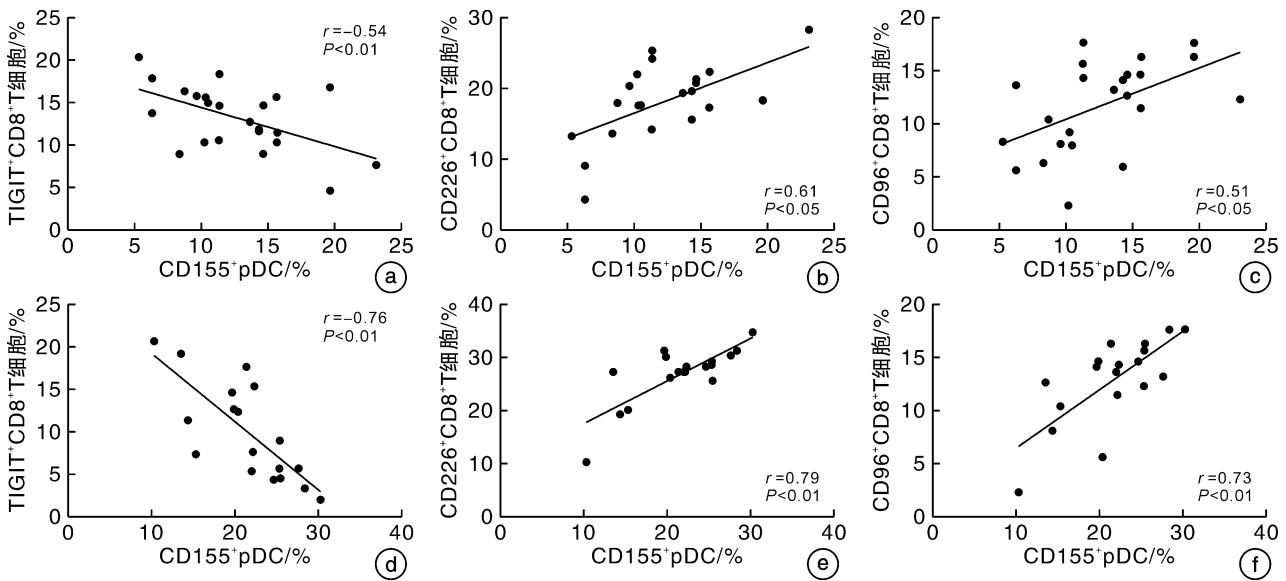
图 3 对照组、GPIb/IX<sup>-</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup>组和 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup>组治疗前 pDC 上 CD155 的表达





a;3 组间 TIGIT<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞比例;b;3 组间 CD226<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞比例;c:3 组间 CD96<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞比例。与对照组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组比较,<sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

图 4 对照组、GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组和 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup>组治疗前 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞的比例



a、b、c:GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组 CD155<sup>+</sup>pDC 比例与 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞比例的相关性;d、e、f: GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup>组 CD155<sup>+</sup>pDC 比例与 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞比例的相关性。

图 5 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组和 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup>组 CD155<sup>+</sup>pDC 比例与 TIGIT<sup>+</sup>/CD226<sup>+</sup>/CD96<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞比例的相关性

### 3 讨论

原发性 ITP 的发生、发展由多种免疫细胞的参与,调节性 T 细胞的功能受损导致辅助 T 细胞(Th1/Th2)比率的失衡,并进一步导致细胞毒性 T 细胞数量和活性的增加<sup>[10]</sup>。随后,这些活性增强的细胞毒性 T 细胞导致血小板破坏的增加,并伴有自身反应性 B 细胞的清除障碍。自身反应性 B 细胞的存活率增强促进了自身抗体的大量产生,导致血小板清除速度加快<sup>[11-12]</sup>。自身抗体促进了血小板的吞噬、凋亡以及阻碍血小板的生成。血小板表面抗原与自身抗体的可变区结合形成抗原抗体复合物,巨噬细胞通过识别自身抗体的恒定区吞噬复合物、破坏血小板,此过程主要在脾脏中完成<sup>[13]</sup>。最近研究发现 ITP 自身抗体可以在血小板 GPs 上引发糖基修饰<sup>[14]</sup>。在被肝细胞膜表面表达的 Ashwell-Morell 受体进一步识别后,这种 GPs 修饰导致肝脏对血小板清除加速<sup>[15]</sup>。ITP 患者的

CD8<sup>+</sup>T 细胞也会诱导肝细胞对血小板进行脱唾液酸化和吞噬。这也解释了为什么一部分 ITP 患者脾切除手术无效<sup>[16]</sup>。Quach 等<sup>[17]</sup>的研究发现,体内携带 GP I b/IX 自身抗体的 ITP 患者往往对治疗无效,预后较差。研究表明在携带抗 GP I a/II a 自身抗体的 ITP 患者血液中未发现凋亡血小板,而携带抗 GP II b/III a 和抗 GP I b 自身抗体的患者中凋亡血小板明显增多,这表明自身抗体 GP II b/III a 和 GP I b 具有促进血小板凋亡的作用<sup>[18]</sup>。ITP 患者体内的自身抗体不仅影响血小板的存活,而且阻碍巨核细胞的分化与成熟<sup>[19-20]</sup>。研究发现自身抗体与巨核细胞的特异性结合阻碍巨核细胞成熟,使巨核细胞发育停滞在颗粒巨核阶段<sup>[21]</sup>。我们利用流式微球技术测定 ITP 患者血清中血小板糖蛋白自身抗体发现,GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>-</sup>组与 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+</sup>组 ITP 患者的 pDC 与 mDC 百分比差异无统计学意义,进一步观察 CD155 在 pDC 上

的表达水平亦无统计学意义。2 组 TIGIT、CD226、CD96 在 CD8<sup>+</sup> T 细胞膜表面的表达均差异无统计学意义。故我们对研究分组进行了调整,将 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>-</sup> 组与 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+</sup> 组统称为 GPIb/IX<sup>+</sup>/IIb/IIIa<sup>+/-</sup> 组。

在 ITP 患者中,DC 参与自身免疫反应。ITP 中的单核细胞衍生树突状细胞能够吞噬凋亡血小板并刺激特定的 T 细胞<sup>[22]</sup>。它们的吞噬能力与对照组的 DC 相似,但它们表达的共刺激分子 CD86 和 CD80 更高,并且产生更多的 IL-12<sup>[23]</sup>。然而,外周血 DC 无法自发诱导自身反应性 T 细胞增殖,而脾巨噬细胞能够做到这一点。为了获得自身反应性 T 细胞增殖,DC 首先被 GP II b III a<sup>-</sup> 抗原肽装载,进一步向 T 细胞提呈新的隐藏抗原表位,从而促进更多的自身反应性 T 细胞产生,表明在 ITP 中 DC 细胞可能是更强效的抗原呈递细胞,从而促使脾脏高效吞噬血小板<sup>[24]</sup>。有研究发现血液中 DC 亚群的定量,ITP 患者和对照组中的 pDC 和 mDC 水平相似,地塞米松治疗会导致 pDC 数量减少<sup>[20-21]</sup>。而 pDC 在自身免疫疾病如系统性红斑狼疮中发挥重要作用<sup>[25]</sup>。本研究发现 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> 组和 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup> 组 ITP 患者 pDC 水平明显升高,且 GP I b/IX<sup>+</sup>/II b/III a<sup>+/-</sup> 组 pDC 比例明显高于 GP I b/IX<sup>-</sup>/II b/III a<sup>+</sup> 组; mDC 比例在组间差异无统计学意义。这可能与选取样本种类不同有关,需要进一步的大样本研究完善结论。

在 ITP 的发生、发展中,CD8<sup>+</sup> T 细胞被认为是血小板破坏的机制之一<sup>[26]</sup>。在 Olsson 等<sup>[18]</sup> 研究中,DNA 微阵列筛选显示活动期 ITP 患者的 CD3<sup>+</sup> T 细胞表达高水平的细胞毒素基因,如穿孔素和 A、B 两种颗粒酶。该研究还证明来自活动期 ITP 患者的体外刺激的 CD8<sup>+</sup> T 细胞能够诱导正常血小板表达磷脂酰丝氨酸,诱导血小板凋亡。有研究认为 CD8<sup>+</sup> T 细胞可以诱导血小板脱唾液酸化,即从血小板表面剪切末端唾液酸基,从而促进 ITP 中的血小板清除。CD8<sup>+</sup> T 细胞表达唾液酸酶 Neu1 和 Neu3,在 ITP 患者 CD8<sup>+</sup> T 细胞存在的情况下,无论是体外还是在 CD61 基因敲除的小鼠 ITP 模型中,血小板都显示出溶解、凋亡和去唾液酸化的迹象,而去唾液酸化的血小板随后被肝脏清除<sup>[16]</sup>。研究发现与对照组比较,ITP 患者血浆中颗粒酶 A 和 B 水平升高,表明 ITP 患者存在更为显著的细胞介导的细胞毒性作用<sup>[27]</sup>。因此,CD8<sup>+</sup> T 细胞在 ITP 中高度活跃且具有细胞毒性,但尚不完全清楚 CD8<sup>+</sup> T 细胞的细胞毒性针对血小板的具体作用机制。

共刺激和共抑制免疫受体 DNAX 辅助分子-1 (也称为 CD226)和具有免疫球蛋白和免疫受体酪氨酸基序结构域(TIGIT)的 T 细胞免疫受体分别于 1996 年和 2009 年被鉴定出来<sup>[28]</sup>。它们是成对

的激活和抑制受体,共享配体脊髓灰质炎病毒受体(PVR,也称为 CD155)及其家族成员凝集素-2(也称为 CD112)<sup>[29]</sup>。最近的研究表明,这些配对的受体相互调节先天性和适应性免疫反应。尽管 T 细胞激活增加的晚期表达蛋白(也称为 CD96)是一种免疫受体,也与 CD155 结合,但其作用机制仍不明确<sup>[30]</sup>。CD226 属于免疫球蛋白受体超家族,并介导细胞的活化和分化,全基因组关联研究提供了大量证据表明,染色体 18q22 上 CD226 基因外显子中的非同义单核苷酸多态性(rs22)导致细胞质区残基 307(G307S)处从甘氨酸到丝氨酸的氨基酸突变,改变了 CD226 转录本的剪接,影响下游信号传导,增加了 T 细胞和 NK 细胞的活化,与多种自身免疫性疾病(包括 1 型糖尿病)、多发性硬化症、类风湿性关节炎、幼年特发性关节炎和自身免疫性甲状腺疾病的高发病率有关<sup>[31]</sup>。CD226 作为一种免疫活化受体,通过与其配体(如 CD155)结合,促进效应淋巴细胞(包括 CD4 辅助性 T 细胞、CD8 细胞毒性 T 淋巴细胞和 NK 细胞)的活化、增殖,促使细胞因子产生细胞毒性活性,而 TIGIT 抑制 CD226 这些功能,TIGIT 抑制免疫功能在肿瘤免疫逃逸方面研究较多<sup>[32]</sup>。另外,CD226 与 TIGIT 竞争性结合调节性 T(Treg)细胞上的配体 CD155,下调 Treg 细胞功能<sup>[33]</sup>。因此,CD226 通过增强效应淋巴细胞功能和抑制 Treg 细胞功能来增强抗肿瘤免疫和炎症反应,而 TIGIT 通过抑制效应淋巴细胞功能和增强 Treg 细胞功能来相互抑制这些免疫反应<sup>[34]</sup>。部分研究表明 CD96 在 NK 细胞介导的肿瘤细胞杀伤中具有免疫抑制作用<sup>[35]</sup>。最近的一项研究发现,CD96 在效应记忆 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞上表达最高。转录组分析揭示 CD96 高表达的记忆 T 细胞在静息和激活状态下具有独特的转录特点,而 CD96 高表达的 T 细胞在激活后也表现出不同的功能表型,表明 CD96 可能在 T 细胞分化和激活中起作用<sup>[36]</sup>。因此,TIGIT、CD226 和 CD96 在结合 CD155 时存在竞争关系,它们之间的平衡对于免疫应答的调节至关重要。

本研究发现 GPs 阳性的 ITP 患者体内 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 CD226 和 CD96 的表达均增高,TIGIT 表达减低,我们推测 CD226 与 CD96 的表达异常影响了 CD8<sup>+</sup> T 细胞的功能,TIGIT 的下调似乎使得 CD8<sup>+</sup> T 细胞的免疫抑制功能减弱,CD226 与 CD96 的上调增强了 CD8<sup>+</sup> T 细胞的效应能力,进一步打破这种免疫稳态。GPs 阳性的 ITP 疾病状态下,CD8<sup>+</sup> T 细胞上 CD226、CD96 的过表达和 TIGIT 的低表达,与 pDC 细胞上 CD155 所发挥的功能在临床中的意义研究甚少,我们假设 CD226、CD96、TIGIT 与 CD155 的相互作用可能在细胞免疫功能的调节中很重要。故通过流式细胞术检测发现 ITP 患者 pDC 上 CD155 的表达明显高于对照组,且携带 GPIb/IX 抗体的患者明显高于携带 GPIIb/IIIa

抗体组。本研究还发现 GPs 阳性的 ITP 患者 CD155<sup>+</sup> pDC 细胞与 CD8<sup>+</sup> T 细胞上 CD226 和 CD96 的表达水平呈正相关,而与 TIGIT 的表达水平呈负相关。说明在携带 GPs 抗体的 ITP 患者外周循环中,CD8<sup>+</sup> T 细胞表面 TIGIT 的表达降低,与 pDC 上的 CD155 结合减弱,导致抑制 T 细胞活化的功能减弱,而 CD226 与 CD96 在 CD8<sup>+</sup> T 的表达上调与 pDC 细胞上的 CD155 结合可能促进了细胞毒性 T 细胞活化的功能。表明 TIGIT、CD226、CD96 和 CD155 参与了 ITP 的发生,与其免疫紊乱有关。本课题组下一步的研究计划为探索 TIGIT、CD226、CD96/CD155 共刺激轴是否参与了 GPs 阳性的 ITP 患者的发生、发展。

综上所述,GPs 阳性的 ITP 患者 TIGIT、CD226、CD96 与 CD155 的表达异常可能是其致病因素之一,探索 TIGIT、CD226、CD96 与 CD155 在 ITP 患者免疫耐受中的作用机制,不仅能够更好地理解 ITP 的发病机制,还能为 ITP 的治疗提供新的方向,改善难治性 ITP 患者的预后。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Neunert C, Terrell DR, Arnold DM, et al. American Society of Hematology 2019 guidelines for immune thrombocytopenia [J]. *Blood Adv*, 2019, 3 (23): 3829-3866.
- [2] Singh A, Uzun G, Bakchoul T. Primary Immune Thrombocytopenia: Novel Insights into Pathophysiology and Disease Management [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(4):789.
- [3] 桑海强,马慧慧,冯蕊涵. 替罗非班诱导的血小板减少症对患者预后影响的回顾性对照研究 [J]. *临床心血管病杂志*, 2022, 38(2):113-118.
- [4] Vrbensky JR, Nazy I, Clare R, et al. T cell-mediated autoimmunity in immune thrombocytopenia [J]. *Eur J Haematol*, 2022, 108(1):18-27.
- [5] Wen R, Wang Y, Hong Y, et al. Cellular immune dysregulation in the pathogenesis of immune thrombocytopenia [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2020, 31(2): 113-120.
- [6] Audia S, Mahevas M, Nivet M, et al. Immune Thrombocytopenia: Recent Advances in Pathogenesis and Treatments [J]. *Hemasphere*, 2021, 5(6):e574.
- [7] Xu SQ, Wang CY, Zhu XJ, et al. Decreased indoleamine 2,3-dioxygenase expression in dendritic cells and role of indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells in immune thrombocytopenia [J]. *Ann Hematol*, 2012, 91(10):1623-1631.
- [8] Harjunpaa H, Guillerey C. TIGIT as an emerging immune checkpoint [J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 200(2):108-119.
- [9] 侯明,刘新光. 立足中国实际的原发免疫性血小板减少症诊治——2020 版成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南解读 [J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(1):1-4.
- [10] Zhao Z, Yang L, Yang G, et al. Contributions of T lymphocyte abnormalities to therapeutic outcomes in newly diagnosed patients with immune thrombocytopenia [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e126601.
- [11] Audia S, Mahevas M, Samson M, et al. Pathogenesis of immune thrombocytopenia [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16(6):620-632.
- [12] Yu TS, Wang HY, Zhao YJ, et al. Abnormalities of bone marrow B cells and plasma cells in primary immune thrombocytopenia [J]. *Blood Adv*, 2021, 5(20): 4087-4101.
- [13] Bakchoul T, Walek K, Krautwurst A, et al. Glycosylation of autoantibodies: insights into the mechanisms of immune thrombocytopenia [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 110(6):1259-1266.
- [14] Li J, van der Wal DE, Zhu G, et al. Desialylation is a mechanism of Fc-independent platelet clearance and a therapeutic target in immune thrombocytopenia [J]. *Nat Commun*, 2015, 6:7737.
- [15] Tao L, Zeng Q, Li J, et al. Platelet desialylation correlates with efficacy of first-line therapies for immune thrombocytopenia [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):46.
- [16] Qiu J, Liu X, Li X, et al. CD8(+) T cells induce platelet clearance in the liver via platelet desialylation in immune thrombocytopenia [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27445.
- [17] Quach ME, Dragovich MA, Chen W, et al. Fc-independent immune thrombocytopenia via mechanomolecular signaling in platelets [J]. *Blood*, 2018, 131(7): 787-796.
- [18] Olsson B, Jernas M, Wadenvik H. Increased plasma levels of granzymes in adult patients with chronic immune thrombocytopenia [J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(6):1182-1184.
- [19] Marini I, Zlamal J, Faul C, et al. Autoantibody-mediated desialylation impairs human thrombopoiesis and platelet lifespan [J]. *Haematologica*, 2021, 106(1): 196-207.
- [20] 周婕,徐敏,黄琳琳,等. 血小板特异性自身抗体在免疫性血小板减少症患者的临床特征和预后评估中的作用 [J]. *临床血液学杂志*, 2022, 35(7):469-473.
- [21] Mason KD, Carpinelli MR, Fletcher JI, et al. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span [J]. *Cell*, 2007, 128(6):1173-1186.
- [22] Zhang X, Wang Y, Zhang D, et al. CD70-silenced dendritic cells induce immune tolerance in immune thrombocytopenia patients [J]. *Br J Haematol*, 2020, 191(3):466-475.
- [23] 黎晓鹏,李晓双. ITP 患者外周血 DC 亚群和 CD80、CD86 表达变化及其与地塞米松治疗效果的相关性分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(6): 1752-1756.
- [24] Semple JW, Rebetz J, Maouia A, et al. An update on the pathophysiology of immune thrombocytopenia [J]. *Curr Opin Hematol*, 2020, 27(6):423-429.

- haematopoietic stem cell transplantation for patients with severe aplastic anaemia using the porcine anti-lymphocyte globulin-containing conditioning regimen [J]. *Ann Hematol*,2020,99(8):1863-1871.
- [16] 张璞,冯凯,付杰,等. 国产猪抗人淋巴细胞免疫球蛋白在重型再生障碍性贫血异基因造血干细胞移植中的应用研究[J]. *中国医师进修杂志*,2019,42(1):22-25.
- [17] 马秀慧,赵文理,卢俊,等. 抗淋巴细胞球蛋白和抗胸腺淋巴细胞球蛋白治疗儿童重型再生障碍性贫血的不良反应比较[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*,2015,9(7):1238-1241.
- [18] 刘硕,周征,翟文静,等. 急性髓系白血病患者异基因造血干细胞移植后 aGVHD 的发生与移植中免疫细胞成分的关系[J]. *中国实验血液学杂志*,2023,31(2):539-545.
- [19] 陈欣,魏嘉璘,黄勇,等. 猪抗人淋巴细胞免疫球蛋白在替代供者移植治疗重型再生障碍性贫血患者中的疗效及安全性[J]. *中华血液学杂志*,2018,39(1):22-27.
- [20] Admiraal R, van Kesteren C, Jol-van der Zijde CM, et al. Association between anti-thymocyte globulin exposure and CD4+ immune reconstitution in paediatric haemopoietic cell transplantation; a multicentre, retrospective pharmacodynamic cohort analysis[J]. *Lancet Haematol*,2015,2(5):e194-e203.
- [21] Whangbo JS, Antin JH, Koreth J. The role of regulatory T cells in graft-versus-host disease management [J]. *Expert Rev Hematol*,2020,13(2):141-154.
- [22] Leblanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study [J]. *Lancet*,2008,371(9624):1579-1586.
- [23] Ning H, Yang F, Jiang M, et al. The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients; outcome of a pilot clinical study [J]. *Leukemia*,2008,22(3):593-599.
- [24] Al-kadhimi Z, Gul Z, Rodriguez R, et al. Anti-thymocyte globulin (thymoglobulin), tacrolimus, and sirolimus as acute graft-versus-host disease prophylaxis for unrelated hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012, 18 ( 11 ): 1734-1744.
- [25] 上官思雨,惠卉,余浩源,等. 异基因造血干细胞移植后巨细胞病毒感染的危险因素分析[J]. *临床血液学杂志*,2023,36(5):349-353.

(收稿日期:2023-10-08)

(上接第189页)

- [25] Liu J, Zhang X, Cao X. Dendritic cells in systemic lupus erythematosus: From pathogenesis to therapeutic applications [J]. *J Autoimmun*,2022,132:102856.
- [26] Malik A, Sayed AA, Han P, et al. The role of CD8+ T-cell clones in immune thrombocytopenia [J]. *Blood*,2023,141(20):2417-2429.
- [27] Zhou H, Qiu JH, Wang T, et al. Interleukin 27 inhibits cytotoxic T-lymphocyte-mediated platelet destruction in primary immune thrombocytopenia [J]. *Blood*,2014,124(22):3316-3319.
- [28] Sanchez-Correa B, Gayoso I, Bergua JM, et al. Decreased expression of DNAM-1 on NK cells from acute myeloid leukemia patients [J]. *Immunol Cell Biol*,2012,90(1):109-115.
- [29] Jin HS, Park Y. Hitting the complexity of the TIGIT-CD96-CD112R-CD226 axis for next-generation cancer immunotherapy [J]. *BMB Rep*,2021,54(1):2-11.
- [30] Chiang EY, de Almeida PE, de Almeida ND, et al. CD96 functions as a co-stimulatory receptor to enhance CD8(+) T cell activation and effector responses [J]. *Eur J Immunol*,2020,50(6):891-902.
- [31] Song G, Bae SC, Choi S, et al. Association between the CD226 rs763361 polymorphism and susceptibility to autoimmune diseases; a meta-analysis [J]. *Lupus*,2012,21(14):1522-1530.
- [32] Braun M, Aguilera AR, Sundarajan A, et al. CD155 on Tumor Cells Drives Resistance to Immunotherapy by Inducing the Degradation of the Activating Receptor CD226 in CD8(+) T Cells [J]. *Immunity*,2020,53(4):805-823.
- [33] Liu L, You X, Han S, et al. CD155/TIGIT, a novel immune checkpoint in human cancers (Review) [J]. *Oncol Rep*,2021,45(3):835-845.
- [34] Wu L, Mao L, Liu JF, et al. Blockade of TIGIT/CD155 Signaling Reverses T-cell Exhaustion and Enhances Antitumor Capability in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma [J]. *Cancer Immunol Res*,2019,7(10):1700-1713.
- [35] Sun H, Huang Q, Huang M, et al. Human CD96 Correlates to Natural Killer Cell Exhaustion and Predicts the Prognosis of Human Hepatocellular Carcinoma [J]. *Hepatology*,2019,70(1):168-183.
- [36] Lepletier A, Lutzky VP, Mittal D, et al. The immune checkpoint CD96 defines a distinct lymphocyte phenotype and is highly expressed on tumor-infiltrating T cells [J]. *Immunol Cell Biol*,2019,97(2):152-164.

(收稿日期:2023-05-14)