

·论著·

重度抑郁症患者免疫细胞组成及特征分析

方政华,周志强,周剑,梁小丽,李冬凤,刘学军,杨萍

作者单位

湖南省脑科医院
(湖南省第二人民医院)
精神科
长沙 410007

基金项目

湖南省自然科学基金
(No. 2019JJ8002
5、2020JJ8008);
湖南省中医药科
研计划项目(No.
2020031);
湖南省卫生健康委
重点指导课题
(No. 20201050);
湖南省发改委创
新研发项目(No.
25);

湖南省脑科医院
院级课题(No. 20
18B03,2018D07)

收稿日期

2021-05-09

通讯作者

杨萍

cuteping12384@
126.com

摘要 目的:研究重度抑郁症(MDD)患者体内免疫细胞的变化,以及炎症和吸烟对MDD患者免疫细胞占比的影响。**方法:**选择GEO数据库(GSE19738)中33例MDD患者和34例健康对照的数据为研究对象,利用CIBERSORT计算并比较MDD患者和健康对照的免疫细胞成分;并分析炎症和吸烟对MDD患者免疫细胞占比的影响。**结果:**通过CIBERSORT法分析得到免疫细胞共包括22种免疫亚型,MDD患者体内单核细胞的含量相比健康对照人群出现显著下降($P<0.05$)。脂多糖(LPS)刺激后MDD患者的CD8⁺T细胞占比明显高于健康对照人群($P<0.05$),浆细胞占比明显低于健康对照人群($P<0.05$)。吸烟MDD患者的CD8⁺T细胞占比明显高于戒烟患者的CD8⁺T细胞占比($P<0.05$),吸烟患者与戒烟患者相比,CCL5、ORM1、GPR84、GDNF基因的表达明显升高。**结论:**CD8⁺T细胞可能在MDD的发病中起到重要作用。

关键词 重度抑郁症;CIBERSORT;免疫细胞;炎症;CD8⁺T细胞

中图分类号 R741;R741.02;R749 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20201116

本文引用格式:方政华,周志强,周剑,梁小丽,李冬凤,刘学军,杨萍.重度抑郁症患者免疫细胞组成及特征分析[J].神经损伤与功能重建,2021,16(12):706-709.

Immune Cell Proportions and Characteristics in Patients with Major Depressive Disorder FANG Zheng-hua, ZHOU Zhi-qiang, ZHOU Jian, LIANG Xiao-li, LI Dong-feng, LIU Xue-jun, YANG Ping. Department of Psychiatry, The Hunan Brain Hospital, Changsha 410007, China

Abstract Objective: To study the proportion of immune cells in patients with major depressive disorder (MDD) and in healthy controls, and to analyze the influence of inflammation and smoking on immune cell proportions.

Methods: The GEO database (GSE19738) was used to select 33 patients with MDD and 34 healthy controls. We used CIBERSORT analysis to calculate and compare the immune cell composition of the MDD patients and healthy controls. The effect of inflammation and smoking on immune cell proportions in MDD patients was studied. **Results:** CIBERSORT analysis revealed 22 kinds of immune cells, and the proportion of monocytes in MDD patients was significantly lower than that in healthy controls ($P<0.05$). Following lipopolysaccharide (LPS) stimulation, the proportion of CD8⁺T cells in patients with MDD was significantly higher ($P<0.05$) and that of plasma cells was significantly lower ($P<0.05$) than those in healthy controls. The proportion of CD8⁺T cells in smoking patients was significantly higher than that in patients who quit smoking ($P<0.05$). Smoking patients showed greater expression of CCL5, ORM1, GPR84, and GDNF genes compared to those who quit smoking. **Conclusion:** CD8⁺T cells may play an important role in the pathogenesis of MDD.

Key words major depressive disorder; CIBERSORT; immune cells; inflammation; CD8⁺T cells

抑郁症主要表现为悲伤、思维困难和注意力不集中,以及食欲和睡眠时间显著增加或减少^[1],抑郁症患者会感到沮丧、绝望,甚至有自杀念头^[2]。重度抑郁症(major depressive disorder, MDD)会对患者的生活造成重大影响^[3,4]。抑郁症的发病机制与遗传、环境、自身心理状态等有关^[5]。近年研究表明,抑郁症患者体内的炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin 6, IL-6)高于正常对照^[6]。细胞因子干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)含量与抑郁症的严重程度相关^[7]。免疫治疗对抑郁症有一定疗效。MRI检测显示IFN- α 和内毒素治疗可使白质结构、大脑全局连通性和功能激

活快速变化。上述研究结果均提示免疫反应可能参与了抑郁症的病理生理过程^[8]。故本研究拟通过分析MDD患者免疫细胞及免疫反应的变化,探讨相关免疫机制,为抑郁症的免疫治疗研究寻找依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择美国国立生物技术信息中心GEO数据库(GSE19738)中的MDD患者33例和健康对照34例的相关数据为研究对象(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)。

1.2 方法

1.2.1 免疫细胞数据提取 从CIBERSORT

分析下载 GEO 数据后,利用 CIBERSORT 分析计算 MDD 患者和健康对照的免疫细胞成分。CIBERSORT 是一种转换方法,利用相关函数对复杂的转录组数据进行分析。对相近细胞类型表达矩阵进行相关的去卷积分析,同时反褶积去噪及其他混合物。使用 cor-test 判断基因与免疫细胞的相关性。通过分析,获得 B 细胞的 2 种亚型、树突细胞的 2 种亚型、嗜酸性细胞、巨噬细胞的 3 种亚型、肥大细胞的 2 种亚型、单核细胞、中性粒细胞、NK 细胞的 2 种亚型、浆细胞和 T 细胞的 7 种亚型,共 22 种免疫细胞亚型在总免疫细胞中的比例。该比例代表该亚型免疫细胞在免疫微环境中的免疫浸润结果。所有免疫细胞亚型的比例总和为 1(100%)。使用 R 语言中的 ggplot2 包对结果进行可视化图形展现。

1.2.2 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激对免疫细胞占比的影响 从 GEO 数据库中的微阵列数据分析了用 LPS(10 ng/mL)刺激 5~6 h 后各样本的全血基因表达。通过 Limma 函数包(来自 R 语言)分析组间的基因表达差异,提取其中显著差异表达的基因。

1.2.3 吸烟对免疫细胞占比的影响 从以上相同的 GEO 数据集将 MDD 患者分为戒烟 9 例、吸烟 15 例、不吸烟 9 例,进行不同细胞含量在 3 类吸烟状态的患者之间差异分析及可视化图形展示,并针对患者之间的基因表达量进行差异分析及可视化作图。

1.3 统计学处理

SPSS 20.0 软件处理数据。正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验;非正态分布资料采用非参数检验;wilcox-test 检验分析不同组间差异; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MDD 患者与健康对照免疫细胞占比情况

MDD 患者中的单核细胞、CD8⁺T 细胞、Treg 细胞占比 >10%;巨噬细胞、中性粒细胞占比 5%~10%;其他细胞占比 <5%。在健康对照人群中,单核细胞、CD8⁺T 细胞占比 >10%;巨噬细胞、中性粒细胞、Treg 细胞占比 5%~10%;其他细胞占比 <5%。入组 67 例样本的淋巴细胞总体分布比例的热图见图 1。

2 组不同亚型免疫细胞间的差异比较结果显示, MDD 患者体内单核细胞的含量相比健康对照人群出现显著下降($P < 0.05$);其他细胞虽呈现上升或下降趋势,但未达到统计学差异($P > 0.05$);部分细胞含量 < 0.01 的水平,不足以进行统计分析,见表 1。

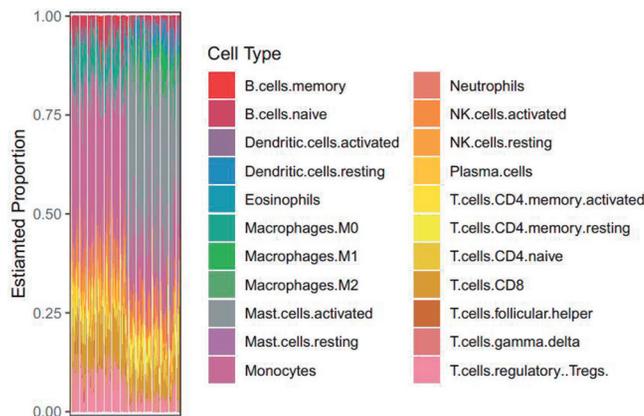


图 1 所有入组样本的淋巴细胞总体分布比例热图

表 1 MDD 患者与健康对照免疫细胞占比比较

类型	健康对照组	MDD 组	P 值
记忆 B 细胞	0	0	-
初始 B 细胞	0.02941	0.01482	0.75
活化树突细胞	0.02767	0.03446	0.32
静息树突细胞	0	0	-
嗜酸性细胞	0	0	-
M0 型巨噬细胞	0.08296	0.08718	0.96
M1 型巨噬细胞	0	0	-
M2 型巨噬细胞	0	0	-
活化肥大细胞	0.00980	0.01193	0.65
静息肥大细胞	0.00138	0	0.75
单核细胞	0.37314	0.32485	0.01
中性粒细胞	0.07902	0.07395	0.55
活化 NK 细胞	0.02346	0.02796	0.98
静息 NK 细胞	0.03234	0.02895	0.91
浆细胞	0.01104	0.01084	0.81
活化 CD4 ⁺ T 细胞	0	0	-
静息 CD4 ⁺ T 细胞	0.03244	0.01955	0.24
初始 CD4 ⁺ T 细胞	0.02526	0.01334	0.21
CD8 ⁺ T 细胞	0.11183	0.11602	0.41
滤泡样辅助 T 细胞	0	0	-
调节 T 细胞	0.09906	0.104203	0.37
γδT 细胞	0	0	-

2.2 LPS 刺激后 MDD 患者与健康对照免疫细胞占比情况

LPS 刺激后,在 MDD 患者免疫细胞中,活化肥大细胞、单核细胞占比 >10%。CD8⁺T 细胞、活化 NK 细胞、M1 型巨噬细胞占比 5%~10%。其他细胞占比 < 5%。LPS 刺激后,健康对照人群免疫细胞中,活化肥大细胞、单核细胞占比超过 10%。CD8⁺T 细胞、活化 NK 细胞占比 5%~10%。其他细胞占比 < 5%。LPS 刺激后 MDD 患者的 CD8⁺T 细胞占比明显高于健康对照人群($P < 0.05$),浆细胞占比明显低于健康对照人群($P < 0.05$),见图 2;其他细胞虽呈现上升或下降趋势,

但无统计学意义 ($P > 0.05$); 部分细胞含量 < 0.01 的水平不足以进行统计分析, 见表 2。

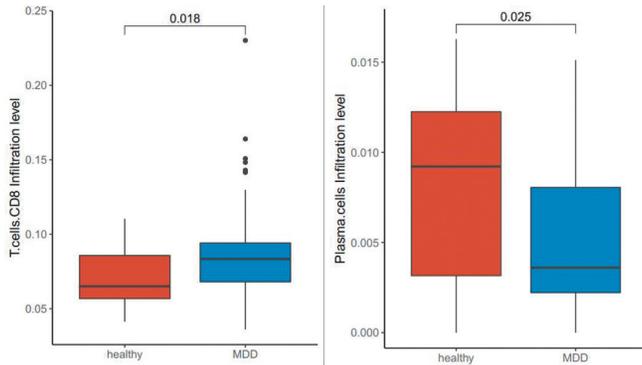


图2 LPS 刺激后 MDD 和健康对照 CD8⁺T 细胞和浆细胞占比

表 2 LPS 刺激后 MDD 患者与健康对照免疫细胞占比比较

类型	健康对照	MDD	P 值
记忆 B 细胞	0	0	-
初始 B 细胞	0.00562	0.01197	0.22
活化树突细胞	0.01471	0.01685	0.48
静息树突细胞	0.02512	0.01527	0.92
嗜酸性细胞	0.01205	0.01269	0.40
M0 型巨噬细胞	0	0	-
M1 型巨噬细胞	0.04930	0.05911	0.07
M2 型巨噬细胞	0	0	-
活肥大细胞	0.43197	0.38113	0.23
静息肥大细胞	0	0	-
单核细胞	0.17355	0.16490	0.98
中性粒细胞	0.00050	0.00217	0.51
活化 NK 细胞	0.08314	0.08193	0.84
静息 NK 细胞	0	0	-
浆细胞	0.00921	0.00360	0.03
活化 CD4 ⁺ T 细胞	0	0	-
静息 CD4 ⁺ T 细胞	0.04347	0.03779	0.23
初始 CD4 ⁺ T 细胞	0.02025	0.01933	0.18
CD8 ⁺ T 细胞	0.06505	0.08336	0.02
滤泡样辅助 T 细胞	0	0	-
调节 T 细胞	0.02425	0.02585	0.47
γδT 细胞	0	0	-

2.3 吸烟对 MDD 患者免疫细胞占比的影响

吸烟 MDD 患者的 CD8⁺T 细胞占比明显高于戒烟患者的 CD8⁺T 细胞占比 ($P < 0.05$), 见图 3; 其他细胞虽呈现上升或下降趋势, 但无统计学意义 ($P > 0.05$); 部分细胞含量 < 0.01 的水平不足以进行统计分析, 见表 3。不吸烟 MDD 患者与吸烟患者、戒烟患者免疫细胞相比无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 吸烟对 MDD 患者基因的影响

吸烟患者与戒烟患者相比, CCL5、ORM1、GPR84、GDNF 基因的表达明显升高, 见图 4。

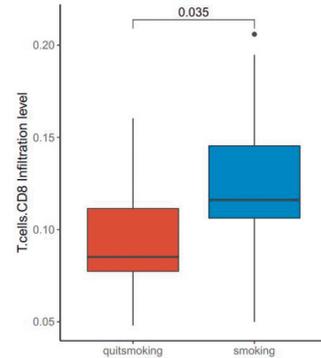
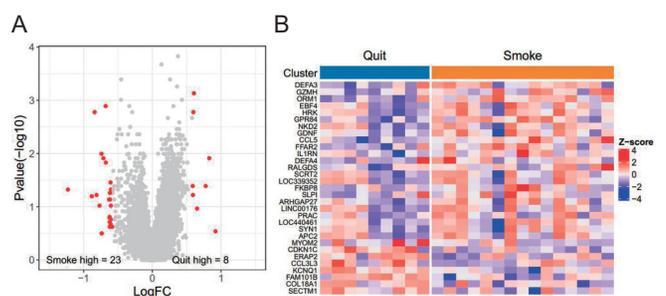


图 3 吸烟与戒烟 MDD 患者 CD8⁺T 细胞占比

表 3 吸烟与戒烟 MDD 患者免疫细胞占比比较

类型	戒烟	吸烟	P 值
记忆 B 细胞	0	0	-
初始 B 细胞	0	0.03476	0.32
活化树突细胞	0.02980	0.03688	0.14
静息树突细胞	0	0	-
嗜酸性细胞	0	0	-
M0 型巨噬细胞	0.09440	0.08942	0.68
M1 型巨噬细胞	0	0	0.71
M2 型巨噬细胞	0	0	-
活肥大细胞	0.00676	0.03587	0.86
静息肥大细胞	0	0	-
单核细胞	0.37025	0.32485	0.08
中性粒细胞	0.07395	0.07639	0.29
活化 NK 细胞	0.02796	0.02374	0.90
静息 NK 细胞	0.02423	0.03824	0.55
浆细胞	0.01440	0.00221	0.09
活化 CD4 ⁺ T 细胞	0	0	-
静息 CD4 ⁺ T 细胞	0.02673	0.00795	0.81
初始 CD4 ⁺ T 细胞	0.04366	0.01334	0.16
CD8 ⁺ T 细胞	0.08517	0.11602	0.04
滤泡样辅助 T 细胞	0	0	-
调节 T 细胞	0.10092	0.10420	0.64
γδT 细胞	0	0	-



注: (A) 火山图; (B) 热图

图 4 吸烟与戒烟 MDD 患者火山图和热图

3 讨论

MDD 与神经免疫紊乱有关。患有自身免疫性疾病、恶性肿瘤、慢性炎症的患者更容易患 MDD, 这提示

MDD可能与免疫反应紊乱密切相关^[9]。既往研究表明MDD患者大脑及血清里的炎症因子明显高于正常人,相关免疫炎症因子包括IL-1、TNF、IFN- γ 、IL-6等^[10]。动物实验表明,脑组织中TNF含量与小鼠抑郁情况呈正相关。TNF抑制IL-6增加可以造成神经递质功能障碍和氧化应激,增强神经损伤。这些细胞因子均由免疫细胞分泌与调控,所以MDD的发生发展与免疫细胞也密切相关^[12]。

本研究分析了正常人与MDD患者体内不同免疫细胞的不同,以及LPS刺激后不同免疫细胞的不同。首先,在MDD患者中单核细胞呈现出显著的含量下降特征。在既往的报道中单核细胞降低主要表征机体的免疫能力下降,由此推断免疫机能的下降可能会是诱发MDD的原因之一。本研究还发现,LPS刺激后MDD患者的CD8⁺T细胞占比明显高于健康对照人群。既往的研究者往往将MDD的免疫反应相关研究着眼于先天性免疫,对适应性免疫反应尤其是T细胞在抑郁症中的潜在作用研究甚少。目前越来越多的数据表明T细胞在MDD的发展与治疗中有重要的作用^[13]。CD8⁺T细胞在免疫反应中起重要的作用,除了能够在适应性免疫中起到细胞毒作用,还能产生大量的细胞因子,如TNF- α 、IL-1和IL-6等,加重炎症反应^[14]。推测MDD患者体内的炎症反应增加,可能与CD8⁺T细胞有密切关系。CD8⁺T细胞可能通过产生大量免疫炎症因子,导致免疫反应增强,促进MDD的发生发展。

此外,本研究还分析了吸烟在MDD患者中的作用。既往研究认为,吸烟与精神疾病之间存在正相关,吸烟暴露与以后的抑郁有关^[15]。抑郁症患者群体中,吸烟的比例往往也比健康人群高^[16]。本研究发现,吸烟患者的CD8⁺T细胞占比明显高于戒烟患者的CD8⁺T细胞占比。所以推测吸烟可能增加MDD的风险,其致病机制可能与CD8⁺T细胞相关。最后,本研究还发现吸烟患者体内,CCL5、ORM1的表达与不吸烟患者相比明显增加。CCL5、ORM1均与炎症相关,炎症状态增加时以上基因表达增加^[17]。

综上所述,本研究发现MDD患者体内单核细胞的

含量显著低于健康对照人群;LPS刺激后MDD患者的CD8⁺T细胞占比明显高于健康对照人群。CD8⁺T细胞可能在MDD的发病中起到重要作用。吸烟患者的CD8⁺T细胞占比明显高于不吸烟患者,吸烟可能增加MDD的风险,其致病机制可能与CD8⁺T细胞相关。但要获得更确切的结论,尚需进一步深入研究。

参考文献

- [1] Malhi GS, Mann JJ. Depression [J]. *Lancet*, 2018, 39: 2299-2312.
- [2] 王叶艳, 陈莹. 氟西汀合并无抽搐电休克治疗伴自杀意念抑郁症的疗效和对认知功能的影响[J]. *神经损伤与功能重建*, 2019, 14: 654-655.
- [3] Fico G, Anmella G, Pacchiarotti I, et al. The biology of aggressive behavior in bipolar disorder: A systematic review[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 119: 9-20.
- [4] Knight MJ, BauneBT. Cognitive dysfunction in major depressive disorder [J]. *Curr Opin Psychiatry*, 2018, 31: 26-31.
- [5] Cuomo A, BeccariniCrescenzi B, Bolognesi S, et al. S-Adenosylmethionine (SAME) in major depressive disorder (MDD): a clinician-oriented systematic review [J]. *Ann Gen Psychiatry*, 2020, 19: 50.
- [6] Otte C, Gold SM, Penninx BW, et al. Major depressive disorder[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16065.
- [7] Rothschild AJ. Challenges in the treatment of major depressive disorder with psychotic features[J]. *Schizophr Bull*, 2013, 39: 787-96.
- [8] Edinoff A, Ruoff MT, Ghaffar YT, et al. Cariprazine to Treat Schizophrenia and Bipolar Disorder in Adults[J]. *Psychopharmacol Bull*, 2020, 50: 83-117.
- [9] Rubin LF, Haaga DAF, Pearson JL, et al. Depression as a moderator of the prospective relationship between mood and smoking[J]. *Health Psychol*, 2020, 39: 99-106.
- [10] Thornicroft G, Chatterji S, Evans-Lacko S, et al. Undertreatment of people with major depressive disorder in 21 countries[J]. *Br J Psychiatry*, 2017, 210: 119-124.
- [11] Fico G, Anmella G, Pacchiarotti I, et al. The biology of aggressive behavior in bipolar disorder: A systematic review[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 119: 9-20.
- [12] Ménard C, Hodes GE, Russo SJ. Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies[J]. *Neuroscience*, 2016, 321: 138-162.
- [13] Petralia MC, Mazzon E, Fagone P, et al. The cytokine network in the pathogenesis of major depressive disorder. Close to translation[J]? *Autoimmun Rev*, 2020, 19: 102504.
- [14] Cernackova A, Durackova Z, Trebaticka J, et al. Neuroinflammation and depressive disorder: The role of the hypothalamus[J]. *J ClinNeurosci*, 2020, 75: 5-10.
- [15] Beurel E, Toups M, Nemeroff CB. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble[J]. *Neuron*, 2020, 107: 234-256.
- [16] Toben C, BauneBT. An Act of Balance Between Adaptive and Maladaptive Immunity in Depression: a Role for T Lymphocytes[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2015, 10: 595-609.
- [17] Weinberger AH, Kashan RS, Shpigel DM, et al. Depression and cigarette smoking behavior: A critical review of population-based studies [J]. *Am J Drug Alcohol Abuse*, 2017, 43: 416-431.

(本文编辑:唐颖馨)