

网络出版时间: 2022-11-29 09:43 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20221128.1712.008.html>

类风湿关节炎患者外周血 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞上 PD1 表达及意义

罗清¹, 涂丽娜², 符碧琪³, 李雪¹, 李俊明¹

摘要 目的 探讨程序性死亡分子 1(PD1) 在中国人群类风湿关节炎(RA) 患者外周血趋化因子受体 5(CXCR5)⁺ CD4⁺ T 细胞上的表达及临床意义。方法 应用流式细胞仪检测 82 例 RA 患者和 46 例健康对照者外周血 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞上 PD1 表达水平, 比较 RA 组和健康对照组之间 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞上 PD1 表达水平, 分析其与 RA 实验室检查指标的相关性。结果 ① RA 患者 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞 PD1 表达百分比和平均荧光强度(MFI) 均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.0001$, $U = 1082$; $P < 0.0001$, $U = 917.5$)。② RA 患者外周血 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞 PD1 表达百分比与类风湿因子(RF) ($r_s = 0.2679$, $P = 0.0229$)、升高的 RF($r_s = 0.419$, $P = 0.0011$)、升高的 anti-CCP 抗体($r_s = 0.2607$, $P = 0.0407$)、浆母细胞比例($r_s = 0.3024$, $P = 0.0293$)、疾病活动性评分(DAS28) ESR($r_s = 0.2447$, $P = 0.0427$) 呈正相关。③ RA 患者外周血 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞 PD1 表达 MFI 与淋巴细胞计数(L) ($r_s = -0.3387$, $P = 0.0020$)、L% ($r_s = -0.3479$, $P = 0.0014$)、淋巴细胞与单核细胞比值(LMR) ($r_s = -0.2637$, $P = 0.0174$) 呈负相关; 与中性粒细胞百分比(N%) ($r_s = 0.3047$, $P = 0.0054$)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR) ($r_s = 0.3411$, $P = 0.0018$)、血小板与淋巴细胞比值(PLR) ($r_s = 0.2321$, $P = 0.0371$)、系统性免疫炎症指数(SII) ($r_s = 0.2880$, $P = 0.0091$)、衍生中性粒细胞与淋巴细胞比值(dNLR) ($r_s = 0.3203$, $P = 0.0036$)、血沉(ESR) ($r_s = 0.2595$, $P = 0.0193$)、视觉模拟评分(VAS) ($r_s = 0.2416$, $P = 0.0439$) 呈正相关。高活动组 RA 患者(DAS28-ESR > 5.1) CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞 PD1 表达 MFI 高于非高活动组(DAS28-ESR ≤ 5.1), 差异有统计学意义($P = 0.0407$, $U = 406.0$)。结论 RA 患者外周血 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞 PD1 表达异常, 与疾病的抗体产生、浆母细胞比

例、炎症程度及活动性有关。

关键词 类风湿关节炎; CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞; PD1**中图分类号** R 593.22**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2022)12-1891-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.12.008

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性炎症性自身免疫病, 其主要特点是不可逆的骨关节炎和破坏。RA 的病因比较复杂, 与多种因素有关, 比如遗传、环境和感染等^[1]。虽然 RA 致病机制还不是很清楚, 但研究^[2-3] 表明免疫 T 细胞及其表面表达的相关分子在 RA 炎症状况、病情的诱导及进展中发挥重要作用。近年来, Rao et al^[4] 在 RA 患者关节腔积液首次发现了一种新型 CD4⁺ T 细胞亚群, 定义为“外周辅助性 T 细胞”(T peripheral helper, Tph)。Tph 表达程序性死亡分子 1(programmed death 1, PD-1), 主要分泌 CXCR5 趋化因子配体 13 和白细胞介素-21, 但缺乏 CXCR5 趋化因子受体 5(CXCR5) 的表达, 经典表型为 PD1⁺ CXCR5⁺ CD4⁺ T。随后, 国外研究^[5] 表明 RA 患者外周血中也存在 Tph 细胞。且这些研究表明 Tph 细胞的功能与滤泡辅助性 T 细胞类似, 可促进 B 细胞向浆细胞的转化和致病性自身抗体的产生从而参与 RA 的致病。但目前并未见有关中国人群 RA 患者中 Tph 细胞(PD1⁺ CXCR5⁺ CD4⁺ T) 的比例及临床意义。该研究拟通过检测 RA 患者和健康对照者外周血 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞上 PD1 的表达含量(包括平均荧光强度和百分比), 分析其与疾病活动度指标、炎症指标、浆母细胞比例和自身抗体含量的关系, 探讨 CXCR5⁺ CD4⁺ T 细胞上 PD1 表达在中国人群 RA 患者发病中所起的作用。

1 材料与方法

1.1 病例资料 该研究收集了 2017 年 10 月—2019 年 10 月期间在南昌大学第一附属医院风湿免疫科就诊的 RA 患者 82 例(男 25 例, 女 57 例), 平均年龄(57.4 ± 12.4) 岁, 采用的 RA 诊断标准为 2010 年美国风湿病学会(ACR) 制定的相关标准^[6],

2022-08-19 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 82160307); 江西省重点研发计划项目(编号: 20181BBG70013); 江西省卫生厅课题(编号: 202130158、20175074); 江西省卫生计生委中医药科研课题(编号: 2018A366)

作者单位: 南昌大学第一附属医院¹ 检验科、³ 风湿免疫科, 南昌 330006

² 南昌医学院医学技术学院, 南昌 330052

作者简介: 罗清, 女, 副主任技师, 硕士;

李俊明, 男, 主任技师, 博士, 责任作者, E-mail: lisir361@163.com

并排除其他严重疾病。同时期,收集了 46 例健康志愿者作为对照组(男 18 例,女 28 例),并排除炎症或其他自身免疫性疾病,平均年龄(53.5 ± 14.2)岁。两组在性别、年龄上差异均无统计学意义。详细收集 RA 患者相关临床信息及实验室检查数据,临床信息包含关节疼痛数(pain joint count, PJC)、关节肿胀数(swollen joint count, SJC)、视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)等,并根据评分标准计算其疾病活动性评分(disease activity score 28, DAS28)^[8],且只有 1 例为稳定期(DAS28 < 2.6 分) RA 患者,其余均为活动期(DAS28 $\geq$ 2.6 分) RA 患者,根据评分将 RA 疾病组分为高活动组(DAS28 > 5.1 分)和非高活动组(DAS28 $\leq$ 5.1 分)。RA 患者根据病情严重程度采用相关抗风湿病药物(强的松 15 mg,每日 1 次;硫酸羟氯喹 200 mg,每日 2 次,甲氨蝶呤 12.5 mg/周)进行治疗。该研究获得了南昌大学第一附属医院伦理委员会的批准。

1.2 试剂与仪器 流式细胞抗体 PD1 抗体(fluorescein isothiocyanate-CD40, FITC-PD1)、CXCR5 抗体(PC7-CXCR5)购自美国 eBioscience 公司;流式细胞抗体 CD4 抗体(phycoerythrin-texas red, ECD-CD4)及相应的同型抗体对照 FITC-IgG1、流式细胞仪 Cytomics FC 500、IMMAGE[®] 800 购自美国 Beckman Coulter 公司。外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)分离液(Ficoll-Paque)购自美国 Sigma 公司。抗环瓜氨酸多肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-CCP)购自上海科新生物技术股份有限公司。动态血沉仪购自北京普利生公司。XN-10 型血常规分析仪购自日本 Sysmex 公司。

1.3 PBMC 提取 分别空腹采集每例 RA 患者和健康对照者 5 ml 乙二胺四乙酸抗凝外周血,采集当天对抗凝全血标本进行实验检测。按照 PBMC Ficoll-Paque 分离液操作规程,将收集的新鲜受试者全血、磷酸盐缓冲液、Ficoll-Paque 分离液按照三者同等比例混合,常温离心(1 500 r/min) 20 min 后缓慢减速至停止,吸出为 PBMC 的中间白膜层,采用磷酸盐缓冲液洗涤后重悬用于后续流式检测。

1.4 流式细胞术检测单个核细胞表面分子 取受试者 100 μ l 生理盐水重悬的 PBMC 加入 3 个待测试管中,分别加入以下组合流式检测抗体各 10 μ l: ECD-CD4、PC7-CXCR5、FITC-IgG1; ECD-CD4、PC7-CXCR5、FITC-PD1; PC5-CD19、PE-CD27、FITC-CD38。在 4 $^{\circ}$ C 条件下避光孵育 30 min,如有残留的

红细胞,则需采用红细胞裂解处理,生理盐水洗涤,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,重悬后用 Cytomics FC 500 流式细胞仪检测分析,使用自带分析软件分析 PD1 在 CXCR5⁺CD4⁺细胞上的表达情况以及浆母细胞(CD19⁺CD27⁺CD38⁺)的比例。

1.5 RA 的其他实验室指标检测 采用动态血沉仪法检测血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR),采用速率散色比浊法于 IMMAGE[®] 800 上检测类风湿因子(rheumatoid factor, RF)和 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP),采用酶联免疫吸附法检测 anti-CCP,采用 XN-10 型仪器检测血常规指标,获取白细胞计数(white blood cell, WBC)、血小板计数(platelet, PLT)、淋巴细胞计数(lymphocyte, L)、淋巴细胞百分比(percentage of lymphocyte, L%)、单核细胞计数(monocyte, M)、单核细胞百分比(percentage of monocyte, M%)、中性粒细胞计数(neutrophil, N)、中性粒细胞百分比(percentage of neutrophil, N%),并根据这些指标计算 LMR(L/M)、NLR(N/L)、PLR(PLT/L)、SII(PLT $\times$ N/L)、dNLR[N/(WBC-N)]。

1.6 统计学处理 采用 GraphPad Prism version 5.0 和 SPSS 17.0 统计软件对相关数据进行分析,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, F test 检验方差齐性,方差齐采用 t 检验进行 RA 组与对照组的比较,方差不齐则采用 Mann-Whitney U test。Shapiro-Wilktest 检验正态分布,正态分布数据线性相关性分析采用 Pearson 相关分析,否则采用 spearman 相关分析。取双侧 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 RA 患者组和对照组外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平的比较 RA 组 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达百分比高于健康对照组(HC 组)($U = 1\,082.0, P < 0.000\,1$); RA 组 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达 MFI 高于健康对照组($U = 917.5, P < 0.000\,1$)。见图 1。

2.2 RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平与自身抗体的关系 RA 患者血清中可以出现特异性的 RF、anti-CCP 抗体等自身抗体,将其与 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平进行相关性分析。结果显示,RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达百分率与 RF($r_s = 0.267\,9, P = 0.022\,9$)、升高的 RF(RF > 20 IU/ml)($r_s = 0.419, P = 0.001\,1$)、升高的 anti-CCP 抗体(anti-CCP > 100 RU/ml)($r_s = 0.260\,7, P = 0.040\,7$)呈正相关。

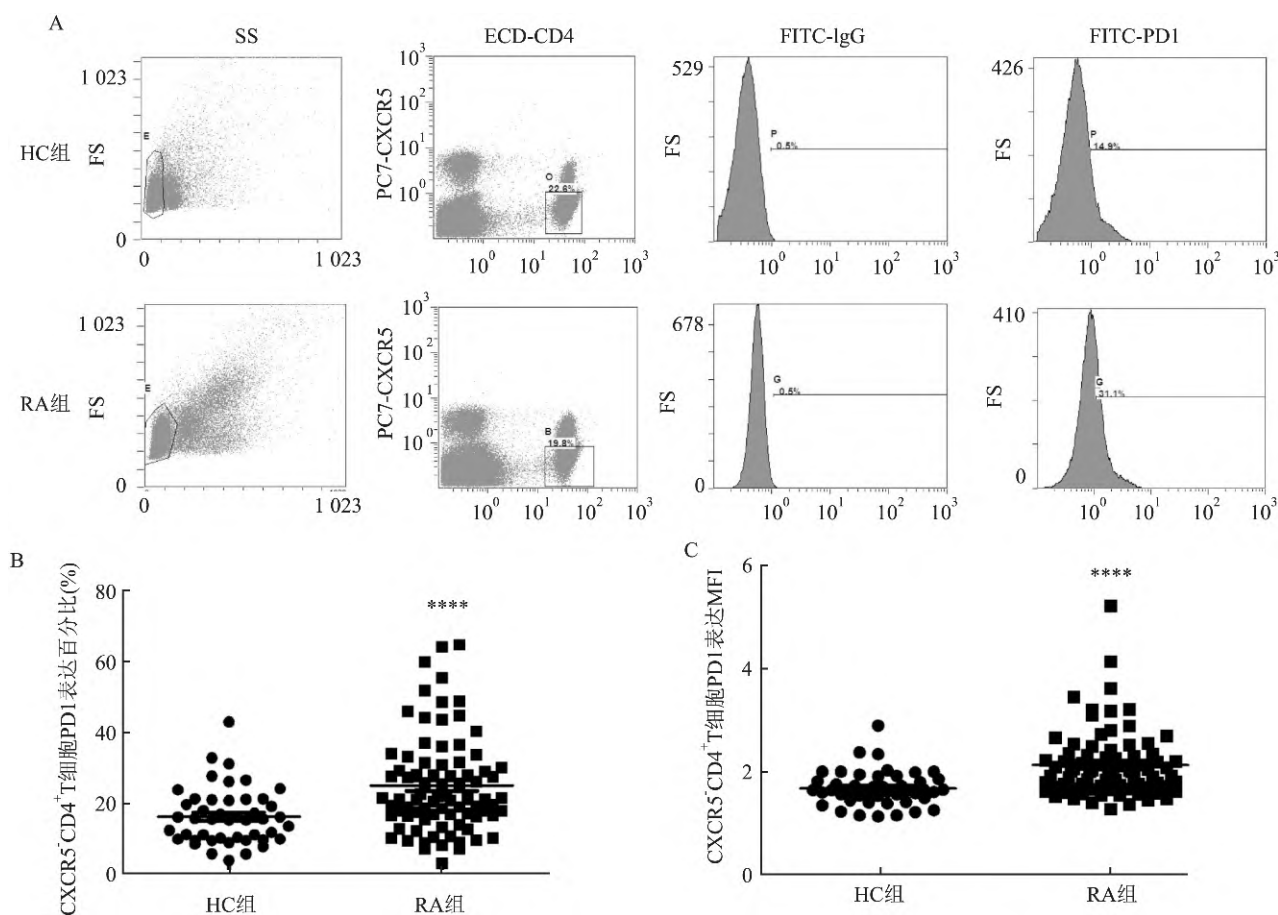


图1 RA患者组和对照组外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平

A: 流式图; B: RA组CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达百分比高于健康对照组; C: RA组CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达MFI高于健康对照组; 与HC组比较: **** $P < 0.0001$

但并未发现CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达MFI与RF、anti-CCP抗体存在相关性。

2.3 RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平与浆母细胞的关系 自身抗体的产生与B细胞转化为浆母细胞(CD19⁺CD27⁺CD38⁺)的能力有关,该研究进一步分析RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平与浆母细胞比例的关系表明,RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达百分比与浆母细胞比例呈正相关($r_s = 0.3024$, $P = 0.0293$),但并未发现CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达MFI与浆母细胞比例存在相关。

2.4 RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平与炎症指标的关系 将能反映RA炎症程度的相关指标(WBC、L、L%、M、M%、N、N%、LMR、NLR、PLR、SII、dNLR、ESR、CRP)与外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平进行相关性分析。结果表明RA患者外周血PD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T细胞百分比与这些炎症指标均无相关性(未显示)。但RA

患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达MFI与L($r_s = -0.3387$, $P = 0.0020$)、L%($r_s = -0.3479$, $P = 0.0014$)、LMR($r_s = -0.2637$, $P = 0.0174$)呈负相关,与N%($r_s = 0.3047$, $P = 0.0054$)、NLR($r_s = 0.3411$, $P = 0.0018$)、PLR($r_s = 0.2321$, $P = 0.0371$)、SII($r_s = 0.2880$, $P = 0.0091$)、dNLR($r_s = 0.3203$, $P = 0.0036$)、ESR($r_s = 0.2595$, $P = 0.0193$)呈正相关。

2.5 RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平与疾病活动性的关系 该研究进一步分析RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达水平与RA患者DAS28-ESR、关节疼痛数(pain joint count, PJC)、关节肿胀数(swollen joint count, SJC)、视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)等疾病活动性指标的关系,发现RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T细胞PD1表达百分比与DAS28-ESR呈正相关($r_s = 0.2447$, $P = 0.0427$),并未发现与其他疾病活动性指标相关;RA患者外周血CXCR5⁺CD4⁺T

细胞 PD1 表达 MFI 与 VAS 呈正相关 ($r_s = 0.2416$, $P = 0.0439$), 并未发现与其他疾病活动性指标相关。进一步根据 DAS28 评分将 RA 患者组分为非高活动组 ($DAS28 \leq 5.1$) 和高活动组 ($DAS28 > 5.1$), 分析这两组之间 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平差异, 发现高活动组 ($DAS28-ESR > 5.1$) RA 患者 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达 MFI 高于非高活动组 ($DAS28-ESR \leq 5.1$), 分别为 (2.25 ± 0.74) 和 (1.88 ± 0.35) ($U = 406.0$, $P = 0.0407$), 但并未发现这两组之间的 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达百分比存在差异。此外, 根据 DAS28-CRP 评分是否大于 5.1 分为高活动组和非高活动组, 并分析两组之间 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平差异, 但并未发现两组之间存在差异。

3 讨论

RA 是一种病因及发病机制不明的的系统性自身免疫性疾病。大量研究^[1]表明, T 细胞功能活化的调节紊乱在 RA 发生发展中发挥着至关重要的作用。Tph(CD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T) 细胞是近年来新发现一种特殊类型、不同于其他辅助性 T 细胞功能的 CD4⁺T 细胞亚群。研究^[2]表明, Tph 细胞及其表面表达的相关分子可调控自身分化、成熟, 抑制免疫反应, 维持免疫耐受, 同时可以调节抗原特异性 B 细胞的成熟、分化以及抗体的产生, 在 RA 的致病中发挥重要作用。该研究表明 RA 患者循环外周血 PD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T 细胞百分比高于健康对照组, 与 Fortea-Gordo et al^[3]的研究结果相同, 提示 PD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T 细胞与 RA 之间存在紧密的联系。

PD1 是一种跨膜蛋白^[4], 动物实验^[5]表明 PD-1 的功能与人体多种自身免疫性疾病相关, 且已有研究^[1, 3-4, 10]表明 PD-1 参与 RA 的发病机制。有研究^[11]表明 PD1 等共刺激分子对于初始 T 细胞、中枢记忆 T 细胞、效应记忆 T 细胞和滤泡辅助性 T 细胞在体内的发展变化至关重要。然而, CXCR5⁺CD4⁺T 细胞表达的表面分子在 RA 中如何变化以及是否在监测疾病活动度方面发挥作用仍不清楚。该研究表明 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达的 MFI 高于健康对照组, 提示 PD1 的表达含量与 RA 患者 PD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T 细胞的功能调控相关。进一步分析 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达的 MFI 与 RA 患者临床的相关性, 结果显示 RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达 MFI 与 L、L%、N%、

LMR、NLR、PLR、SII、dNLR、ESR 等炎症指标相关, 提示 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平越高, 患者炎症程度越高; 结果显示 RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达 MFI 与疾病活动性指标 VAS 呈正相关, 提示 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞 PD1 表达水平越高, 患者活动性程度越高。这些研究结果与张力等^[12]关于滤泡辅助性 T 细胞上 PD1 表达可以作为评估 RA 疾病活动性指标相一致。

Tph(CD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T) 细胞是一群功能类似滤泡辅助性 T 细胞的新型 CD4⁺T 细胞亚群, 可促进浆细胞的转化和自身抗体的产生。RA 患者血清中可检测到 RF 或 anti-CCP 等自身抗体, 该研究结果显示 RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 表达 PD1 百分比与 RF、anti-CCP 呈正相关, 提示 RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 表达 PD1 百分比与自身抗体的产生等自身反应相关。进一步分析 RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 表达 PD1 百分比与调控自身抗体产生的浆母细胞的关系显示, RA 患者外周血 CXCR5⁺CD4⁺T 表达 PD1 百分比与浆母细胞比例呈正相关。这些研究结果提示 CXCR5⁺CD4⁺T 表达 PD1 百分比越高, 浆母细胞比例越高, 从而产生的 RF、anti-CCP 致病性自身抗体含量越高。这与国外学者研究^[3-4]得出的结论相一致, 表明虽然国内外遗传、环境等 RA 诱因有所不同, 但中国人群与国外人群 RA 患者都呈现升高的 PD1⁺CXCR5⁺CD4⁺T 细胞, 且这群细胞可通过调控浆细胞的转化和自身抗体的产生从而参与 RA 致病。

此外, 该研究还存在一些不足之处: 一是 RA 患者研究标本不是特别多; 二是没有检测用药前后新发 RA 患者的 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞表达 PD1 水平差异, 因此无法了解在没有药物干扰情况下 CXCR5⁺CD4⁺T 细胞表达 PD1 水平以及药物对其表达水平的影响。该课题组可在后续的研究中进一步扩大样本量检测, 使研究结果更具有可靠性。

参考文献

- [1] 黄自坤, 李雪, 鞠北华, 等. 类风湿关节炎患者外周血 T 细胞 PD1 表达的分析和意义 [J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52 (12): 1854-9.
- [2] Bennett J C. The role of T lymphocytes in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58 (2 Suppl): S53-7.
- [3] Rao D A, Gurish M F, Marshall J L, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis [J]. Nature, 2017, 542(7639): 110-4.

- [4] Fortea-Gordo P, Nuño L, Villalba A, et al. Two populations of circulating PD-1hiCD4 T cells with distinct B cell helping capacity are elevated in early rheumatoid arthritis [J]. Rheumatology (Oxford), 2019, 58(9):1662–73.
- [5] Aletaha D, Neogi T, Silman A J, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an american college of rheumatology/european league against rheumatism collaborative initiative [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(9):1580–8.
- [6] Prevoo M L, van 't Hof M A, Kuper H H, et al. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 1995, 38(1):44–8.
- [7] Zhang J, Hu X, Dong X, et al. Regulation of T cell activities in rheumatoid arthritis by the novel fusion protein IgD-Fc-Ig [J]. Front Immunol, 2020,11:755.
- [8] Wu X, Gu Z, Chen Y, et al. Application of PD-1 blockade in cancer immunotherapy [J]. Comput Struct Biotechnol J, 2019, 17:661–74.
- [9] Zamani M R, Aslani S, Salmaninejad A, et al. PD-1 /PD-L and autoimmunity: a growing relationship [J]. Cell Immunol, 2016, 310: 27–41.
- [10] 张 力,刘芷宁,李 谔,等. 类风湿性关节炎患者外周血 CD3 + CD8 + 效应记忆 T 细胞和滤泡辅助性 T 细胞 ICOS、PD-1 表达上调且与病情相关 [J]. 细胞与分子免疫学杂志,2019,35(7):641–8.
- [11] Gasper D J, Tejera M M, Suresh M. CD4 T-cell memory generation and maintenance [J]. Crit Rev Immunol,2014,34(2):121–46.

Expression of programmed death 1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cell from the patients with rheumatoid arthritis and clinical significance

Luo Qing¹, Tu Lina², Fu Biqi³, Li Xue¹, Li Junming¹

(¹Dept of Clinical Laboratory,³Dept of Rheumatology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006;²Dept of Medical Technology, Nanchang Medical College, Nanchang 330052)

Abstract Objective To investigate the expression of programmed death 1 (PD1) on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells from the patients with rheumatoid arthritis (RA) and to analyze the clinical relevance to disease severity. **Methods** The expression of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells were examined from 82 RA patients and 46 healthy controls (HC) by the technique of flow cytometry. The expression of PD1 including mean fluorescence intensity (MFI) on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells and percentage of PD1⁺ CXCR5⁺ CD4⁺ T cells were compared between RA patients and HC. Moreover, its correlation with laboratory inspection was analyzed. **Results** ① The percentage of PD1⁺ CXCR5⁺ CD4⁺ T cells and the MFI of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells from RA patients were significantly elevated compared with HC ($P < 0.0001$, $U = 1082$; $P < 0.0001$, $U = 917.5$). ② The percentage of PD1⁺ CXCR5⁺ CD4⁺ T cells in RA patients were positively associated with rheumatoid factors (RF) ($r_s = 0.2679$, $P = 0.0229$), increased RF ($r_s = 0.419$, $P = 0.0011$), increased anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) ($r_s = 0.2607$, $P = 0.0407$), the percentage of plasmablasts ($r_s = 0.3024$, $P = 0.0293$), DAS28-ESR ($r_s = 0.2447$, $P = 0.0427$). ③ The MFI of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells in RA patients were negatively with lymphocytes number ($r_s = -0.3387$, $P = 0.0020$), lymphocytes percentage ($r_s = -0.3479$, $P = 0.0014$), lymphocyte-to-monocyte ratio ($r_s = -0.2637$, $P = 0.0174$). The MFI of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells in RA patients were positively associated with neutrophil percentage ($r_s = 0.3047$, $P = 0.0054$), neutrophil-to-lymphocyte ratio ($r_s = 0.3411$, $P = 0.0018$), platelet-to-lymphocyte ratio ($r_s = 0.2321$, $P = 0.0371$), systemic immune inflammation index ($r_s = 0.2880$, $P = 0.0091$), derived Neutrophil to lymphocyte ratio ($r_s = 0.3203$, $P = 0.0036$), erythrocyte sedimentation rate ($r_s = 0.2595$, $P = 0.0193$), patient visual analogue scale ($r_s = 0.2416$, $P = 0.0439$). The MFI of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells from high active RA patients was significantly elevated compared with non-high active group ($P = 0.0407$, $U = 406.0$). **Conclusion** The abnormal expression of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells are observed in patients with RA. Increased expression of PD1 on CXCR5⁺ CD4⁺ T cells are associated with the production of antibody, the percentage of plasmablasts, inflammation, and also disease activity.

Key words rheumatoid arthritis; CXCR5⁺ CD4⁺ T cells; PD1