

维生素 D 通过 STAT3-CD23 轴抑制屋尘螨过敏患儿 B 细胞活化及 IgE 分泌

刘翠翠¹, 段波¹, 吴守振², 王宁¹, 石晓岚¹, 赵龙¹, 王静¹

(西安市儿童医院 1. 呼吸哮喘科, 2. 检验科, 陕西 西安 710003)

[摘要] **目的:** 探讨维生素 D 对屋尘螨过敏患儿 B 细胞活化及总免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 分泌的影响及其潜在的分子机制。**方法:** 纳入 126 例屋尘螨过敏患儿(屋尘螨过敏组)及 81 例健康儿童(健康对照组), 检测血清中 25-羟维生素 D [25-(OH)D]、IgE、人屋尘螨变应原(dermatophagoides pteronyssinus peptidase 1, Derp1)特异性 IgE 及可溶性 CD23 (sCD23) 水平; 采用 Pearson 相关性分析 25-(OH)D 水平与总 IgE 水平、Derp1 特异性 IgE 水平、sCD23 水平以及外周血 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例之间的关系; 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 25-(OH)D 水平对屋尘螨过敏的诊断价值。分离屋尘螨过敏患儿 CD19⁺B 细胞, 将其分为阴性对照组(常规培养)、阳性对照组(1 μg/mL 脂多糖)和 10、50、100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ 组[分别用对应 10、50、100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ 处理], 共培养 48 h; 采用流式细胞术检测各组细胞中 CD23 膜表达, 蛋白免疫印迹法检测信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、STAT5、p-STAT3 和 p-STAT5 水平; 采用 ELISA 检测 IgE 分泌水平。通过时间动力学实验观察 100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ 处理不同时间点 STAT3 磷酸化和 IgE 分泌的动态变化。将 CD19⁺B 细胞分为阴性对照组(常规培养)、1, 25-(OH)₂D₃ 组[100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃]、IL-6 组(20 ng/mL IL-6)和 1, 25-(OH)₂D₃+IL-6 组[100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃+20 ng/mL IL-6], 检测各组细胞中 CD23 膜表达和 IgE 分泌水平。**结果:** 屋尘螨过敏组中 25-(OH)D 水平显著低于健康对照组($P<0.001$), 且与 sCD23 水平呈弱负相关($r=-0.248$)。ROC 曲线结果显示, 血清 25-(OH)D 水平对屋尘螨过敏患儿具有一定的诊断价值(AUC=0.769)。体外实验结果显示, 与阴性对照组相比, 不同浓度 1, 25-(OH)₂D₃ 组中 CD23 膜表达、p-STAT3 表达及 IgE 分泌均显著减少, 呈浓度依赖性(P 均 <0.01)。时间动力学实验结果显示, 100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ 处理 30 min 即显著抑制 p-STAT3 表达, 处理 48 h 显著降低 IgE 分泌($P<0.01$)。与 1, 25-(OH)₂D₃ 组相比, 1, 25-(OH)₂D₃+IL-6 组 CD23 膜表达和 IgE 分泌明显增加($P<0.05$)。**结论:** 维生素 D 可能通过抑制 STAT3 磷酸化下调 CD23 表达, 进而减少 B 细胞 IgE 分泌。

[关键词] 屋尘螨; 维生素 D; B 细胞; STAT3; 免疫球蛋白 E

[中图分类号] R392.8; R729 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-7783(2026)04-0326-07

DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.y250086

[引用格式] 刘翠翠, 段波, 吴守振, 等. 维生素 D 通过 STAT3-CD23 轴抑制屋尘螨过敏患儿 B 细胞活化及 IgE 分泌[J]. 江苏大学学报(医学版), 2026, 36(4): 326-332, 342.

Vitamin D suppresses B cell activation and IgE secretion via STAT3-CD23 axis in children with house dust mite allergy

LIU Cuicui¹, DUAN Bo¹, WU Shouzhen², WANG Ning¹, SHI Xiaolan¹, ZHAO Long¹, WANG Jing¹

(1. Department of Respiratory and Asthma, 2. Department of Laboratory, Xi'an Children's Hospital, Shaanxi Xi'an 710003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of vitamin D on B cell activation and total immunoglobulin E (IgE) secretion in children with house dust mite allergy and the underlying molecular mechanisms. **Methods:** A total of 126 children with house dust mite allergy (allergy group) and 81 healthy children (control group) were enrolled. Serum levels of 25-hydroxyvitamin D [25-(OH)D], total IgE, dermatophagoides pteronyssinus peptidase 1 (Derp1)-specific IgE, and soluble CD23 (sCD23) were measured. Pearson correlation analysis was used to assess the relationships between serum 25-(OH)D levels and total IgE, Derp1-specific IgE, sCD23 levels, and the proportion of CD19⁺CD23⁺B cells in

[作者简介] 刘翠翠(1981—), 女, 安徽宿州人, 硕士, 副主任医师, 主要从事儿内科疾病的研究。

peripheral blood. The diagnostic value of serum 25-(OH)D for house dust mite allergy was assessed using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. CD19⁺B cells isolated from allergic children were divided into negative control group (routine culture), positive control group (1 μg/mL lipopolysaccharide), and three treatment groups with 10, 50, and 100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃, respectively; cells were co-cultured for 48 hours. Flow cytometry was used to detect membrane expression of CD23, while Western blotting was assessed levels of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), STAT5, p-STAT3, and p-STAT5. ELISA was employed to measure IgE secretion. Time-course experiments were conducted to observe dynamic changes in STAT3 phosphorylation and IgE secretion at different time points after 100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ treatment. CD19⁺B cells were further divided into four groups: negative control group (routine culture), 1, 25-(OH)₂D₃ group [100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃], IL-6 group (20 ng/mL IL-6), and 1, 25-(OH)₂D₃ + IL-6 group [100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ + 20 ng/mL IL-6]. Membrane expression of CD23 and IgE secretion were analyzed in each group. **Results:** Serum 25-(OH)D level in the allergy group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.001$) and showed a weak negative correlation with sCD23 levels ($r = -0.248$). ROC curve analysis indicated that serum 25-(OH)D had moderate diagnostic value for house dust mite allergy in children (AUC = 0.769). *In vitro* experiments demonstrated that compared with the negative control group, CD23 membrane expression, p-STAT3 expression and IgE secretion were significantly reduced in the 1, 25-(OH)₂D₃ groups in a concentration-dependent manner (all $P < 0.01$). Time-course experiments revealed that 100 nmol/L 1, 25-(OH)₂D₃ significantly inhibited p-STAT3 expression within 30 minutes and markedly reduced IgE secretion after 48 hours ($P < 0.01$). Compared with the 1, 25-(OH)₂D₃ group, the 1, 25-(OH)₂D₃ + IL-6 group showed significantly increased CD23 membrane expression and IgE secretion ($P < 0.05$). **Conclusion:** Vitamin D may downregulate CD23 expression by inhibiting STAT3 phosphorylation, thereby reducing IgE production from B cells in house dust mite allergy.

[**Key words**] house dust mite; vitamin D; B cells; STAT3; immunoglobulin E

尘螨是过敏性疾病的主要致病因素,人眼睛、鼻子、下呼吸道、皮肤和肠道上皮细胞接触后,可引起相应的过敏和特应性症状,如结膜炎、鼻炎、鼻窦炎、哮喘和特应性皮炎等^[1]。屋尘螨过敏是导致儿童过敏性疾病的常见原因^[2]。近来,B 细胞在过敏性疾病中的作用受到广泛关注^[3]。CD23 是 B 细胞表面分化抗原,也是低亲和力免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE)受体,细胞膜表面 CD23 经蛋白水解酶作用在体内裂解成可溶性 CD23 (soluble CD23, sCD23)^[4-5]。膜 CD23 与 sCD23 对 IgE 合成具有正向调节作用,且 sCD23 可诱导肥大细胞释放组胺,加重过敏性鼻炎、哮喘等过敏性疾病的相关症状^[6]。维生素 D 作为一种营养物质,参与调节 B 细胞功能^[7]。研究报告,过敏性鼻炎患儿血清中 25-羟维生素 D [25-hydroxyvitamin D, 25-(OH)D] 水平低于健康儿童,且与血清特异性 IgE 水平呈明显负相关^[8]。然而,维生素 D 是否通过调节 B 细胞功能进而影响屋尘螨过敏患儿 IgE 合成尚不明确。本研究旨在分析屋尘螨过敏患儿血清 25-(OH)D 水平与 B 细胞活化以及 IgE

水平的关系,探究 25-(OH)D 对 B 细胞的作用机制。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2022 年 6 月至 2024 年 6 月在西安市儿童医院就诊的 126 例屋尘螨过敏患儿作为屋尘螨过敏组,其中,男 69 例,女 57 例,年龄(9.72±2.37)岁。纳入标准:6~14 岁;有明显过敏症状,确诊为屋尘螨过敏;过敏原检查结果显示屋尘螨 3 级以上;排除标准:对其他常见过敏原(如花粉、宠物毛发等)有显著过敏症状;研究期间或研究前一个月内接受维生素 D 补充剂;患自身免疫性疾病、免疫缺陷病或其他可能影响 B 细胞功能的疾病;患严重的心、肺、肝、肾等器质性疾病或并发症。另外选择 81 例同期健康体检儿童作为健康对照组,其中,男 39 例,女 42 例,年龄(10.04±2.35)岁。纳入标准:6~14 岁;排除标准:有过敏性疾病史;有家族过敏史;近期内接受过可能影响免疫功能的医疗检查或治疗。本研究经西安市儿童医院伦理委员会批准(论 20190022);

受试者的监护人均已签署知情同意书。

健康对照组和屋尘螨过敏组性别($P=0.353$)和年龄($P=0.351$)比较无显著差异,具有可比性。

1.2 主要试剂与仪器

Ficoll 淋巴细胞分离液(美国 GE Healthcare 公司);人 CD19⁺B 细胞分选试剂盒(德国 Miltenyi Biotec 公司);CD19-FITC 抗体、CD23-APC 抗体(美国 BioLegend 公司);信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)抗体、磷酸化 STAT3(p-STAT3)抗体、STAT5 抗体、p-STAT5 抗体、 β -肌动蛋白抗体(英国 Abcam 公司);人 IgE ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司);1,25-二羟维生素 D₃[1,25-(OH)₂D₃]、脂多糖(美国 Sigma-Aldrich 公司);RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂,美国 Thermo Fisher 科技有限公司);BCA 蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司)。

API 4000 高效液相色谱-质谱联用仪(美国 AB SCIEX 公司);FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司);Synergy H1 酶标仪(美国 BioTek 公司);Mini-PROTEAN 电泳及转膜系统(美国 Bio-Rad 公司);Tanon 5200 化学发光成像仪(上海天能科技有限公司);5425R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);CO₂ 细胞培养箱、超低温冰箱(美国 Thermo Fisher 科技有限公司)。

1.3 外周血采集与血清免疫指标检测

采集屋尘螨过敏组和健康对照组儿童晨起空腹外周血各 5 mL,3 500 r/min 离心 10 min,分离血清,于-80 ℃冰箱中保存待检。

1.3.1 高效液相色谱-串联质谱法测定血清 25-(OH)D 水平 取血清 200 μ L,加入内标后用乙腈沉淀蛋白,涡旋混匀,12 000 r/min 离心 10 min;取上清液 500 μ L,室温氮气流吹干,初始流动相复溶后进样分析。色谱柱为 C18 柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μ m),流动相为水-甲醇(含 2 mmol/L 甲酸铵),梯度洗脱,流速 0.4 mL/min。质谱采用电喷雾电离正离子模式,多反应监测。以标准品与内标峰面积比值计算浓度。

1.3.2 ELISA 法测定血清总 IgE、人屋尘螨变应原特异性 IgE 及 sCD23 水平 按试剂盒说明书操作。总 IgE 和 sCD23 采用双抗体夹心法:取待测血清加入预包被酶标板,37 ℃ 孵育 60 min;洗涤,加酶标抗体孵育 30 min;显色后于 450 nm 处测光密度值。人屋尘螨变应原(dermatophagoides pteronyssinus peptidase

1,Derp1)特异性 IgE 采用捕获法:酶标板预包被抗人 IgE 抗体,加血清孵育 60 min;洗涤,加生物素标记的 Derp1 抗原孵育 30 min;加酶标链霉亲和素孵育 30 min;显色测定;根据标准曲线计算各指标浓度。

1.3.3 流式细胞仪分析外周血中 CD19⁺B 细胞和 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例 取 100 μ L EDTA 抗凝全血,加入 CD19-FITC 和 CD23-APC 抗体各 5 μ L,室温避光孵育 30 min;加入细胞裂解液 2 mL,室温避光裂解 5~8 min;离心,弃上清液;PBS 洗涤 2 次;用 300 μ L PBS 重悬细胞,上机检测,每样本收集 10 000 个淋巴细胞;以同型对照设门,记录 CD19⁺B 细胞占淋巴细胞的百分比及 CD19⁺CD23⁺B 细胞占 CD19⁺B 细胞的百分比。

1.4 CD19⁺B 细胞分离、分组与处理

1.4.1 浓度梯度实验:筛选最适 1,25-(OH)₂D₃ 浓度 取屋尘螨过敏组患儿外周血,6 h 内采用 Ficoll 密度梯度离心法(20 ℃ 行 1 500 $\times g$ 离心 30 min)分离外周血单个核细胞;PBS 洗涤;用 MACS 磁珠分选试剂盒纯化 CD19⁺B 细胞,采用流式细胞术(CD19-FITC 抗体)验证纯度>95%。取分选后的 CD19⁺B 细胞,接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,分为阴性对照组(常规培养)、阳性对照组(1 μ g/mL 脂多糖)和 10、50、100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃组[分别用对应浓度 10、50、100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃处理],共培养 48 h。

1.4.2 机制验证实验:IL-6 干预阻断 1,25-(OH)₂D₃ 作用 另取分离的 CD19⁺B 细胞,接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养,分为阴性对照组(常规培养)、1,25-(OH)₂D₃组[100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃]、IL-6 组(20 ng/mL IL-6)和 1,25-(OH)₂D₃+IL-6 组(先用含 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃处理 48 h,再用 20 ng/mL IL-6 处理 24 h),用于验证 1,25-(OH)₂D₃是否通过抑制 STAT3 信号通路下调 CD23 表达及 IgE 分泌。

1.4.3 时间动力学实验:观察 STAT3 磷酸化及 IgE 分泌的动态变化 取分离的 CD19⁺B 细胞用 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃处理,分别于 0、15、30、60、120 min 弃培养基,用预冷 PBS 洗涤;立即加入 RIPA 裂解液(含蛋白酶及磷酸酶抑制剂)于冰上裂解;收集蛋白样品用于蛋白免疫印迹法检测 STAT3 磷酸化水平的动态变化。此外,用 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃分别处理 0、24、48、72 h,收集细胞上清液用于 ELISA 检测 IgE 分泌水平的动态变化。

1.5 流式细胞仪检测 CD23 膜表达

取“1.4.1”和“1.4.2”分组 CD19⁺B 细胞,PBS 洗涤;4℃避光孵育 CD19-FITC 与 CD23-APC 抗体 20 min;流式细胞仪检测。数据分析时,首先通过 FSC/SSC 散点图圈选淋巴细胞群,随后在 CD19⁺门内分析 CD23⁺细胞比例,采用 FlowJo 10.8 软件计算百分比,确保每组样本重复检测 3 次。

1.6 蛋白免疫印迹法检测 STAT3/STAT5 磷酸化水平

取“1.4.1”和“1.4.3”分组收集的 CD19⁺B 细胞,加入 RIPA 裂解液(含蛋白酶及磷酸酶抑制剂)提取细胞总蛋白,BCA 法测定浓度;取 20 μg 蛋白样品行 10% SDS-PAGE,先 80 V 电泳 20 min,再 120 V 电泳 60 min;200 mA 转膜 90 min 至 PVDF 膜;用 5% 脱脂奶粉(以 TBST 配制)室温封闭 2 h,以封闭非特异性抗原结合;TBST 洗膜 3 次;分别加入兔抗人 p-STAT3(1:2 000),兔抗人 STAT3(1:1 000)、兔抗人 p-STAT5(1:1 000),兔抗人 STAT5(1:1 000)以及兔抗人 β-肌动蛋白(1:5 000),4℃孵育过夜;TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(1:5 000),室温孵育 1 h;TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;ECL 化学发光显影;用 Image J 软件分析条带灰度值,以 β-肌动蛋白为内参标准化。

1.7 ELISA 试剂盒检测 IgE 分泌水平

取“1.4.2”分组 CD19⁺B 以及“1.4.3”100 nmol/L

1,25-(OH)₂D₃处理 0、24、48、72 h 的细胞上清液,4℃行 2 000×g 离心 10 min,去除沉淀;按人 IgE ELISA 试剂盒说明书操作,标准曲线范围为 3.12~200.00 ng/mL。每样本设置 3 个复孔,采用酶标仪测定 450 nm 处光密度值,计算 IgE 浓度。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 27.0 软件进行数据分析。计数资料以 n(%)表示,组间比较采用χ²检验;符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey 检验。采用 Pearson 相关性分析屋尘螨过敏患儿中血清 25-(OH)D 水平与总 IgE 水平、Derp1 特异性 IgE 水平、sCD23 水平以及外周血 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例之间的关系。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 25-(OH)D 水平预测屋尘螨过敏的价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健康对照组与屋尘螨过敏组生化指标差异分析

结果如表 1 所示,与健康对照组比较,屋尘螨过敏组 25-(OH)D 水平显著降低($P<0.001$),总 IgE、Derp1 特异性 IgE 和 sCD23 水平以及 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例明显升高(P 均 <0.001),CD19⁺B 细胞比例无显著差异($P=0.171$)。

表 1 健康对照组和屋尘螨过敏组临床特征比较

临床特征	健康对照组($n=81$)	屋尘螨过敏组($n=126$)	t 值	P 值
25-(OH)D/(ng/mL)	33.90±8.91	25.23±6.67	7.983	<0.001
总 IgE/(U/mL)	27.24±3.29	217.56±30.38	-56.132	<0.001
Derp1 特异性 IgE/(U/mL)	1.03±0.39	11.65±2.37	-39.991	<0.001
CD19 ⁺ B 细胞/%	9.65±1.33	9.92±1.57	-1.327	0.171
CD19 ⁺ CD23 ⁺ B 细胞/%	2.08±0.33	4.33±0.67	-31.794	<0.001
sCD23/(ng/mL)	0.31±0.05	0.58±0.11	-23.902	<0.001

2.2 屋尘螨过敏患儿血清 25-(OH)D 水平与 IgE 水平及 B 细胞活化的相关性

相关性分析结果显示,屋尘螨过敏患儿血清 25-(OH)D 水平与血清 sCD23 水平呈较弱负相关($r=$

$-0.248,P=0.005$),与血清总 IgE 水平($r=-0.191,P=0.032$)、外周血 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例($r=-0.194,P=0.030$)以及 Derp1 特异性 IgE 水平($r=-0.078,P=0.388$)未发现明显的相关性。见图 1。

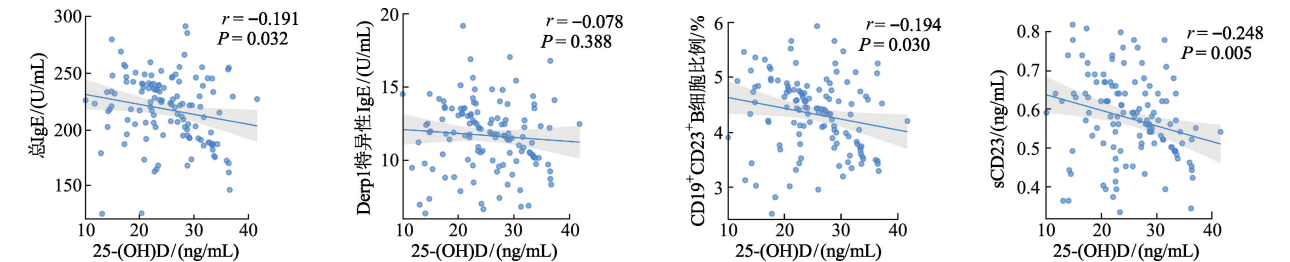


图 1 屋尘螨过敏患儿血清 25-(OH)D 水平与 IgE 水平及 B 细胞活化的相关性分析

2.3 血清 25-(OH)D 水平对屋尘螨过敏的诊断价值

ROC 曲线分析结果显示,血清 25-(OH)D 水平诊断屋尘螨过敏的 AUC 为 0.769 (95%CI:0.701~0.836),最佳截断值为 35.175 ng/mL。见图 2。

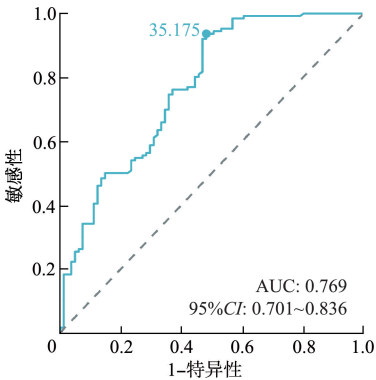
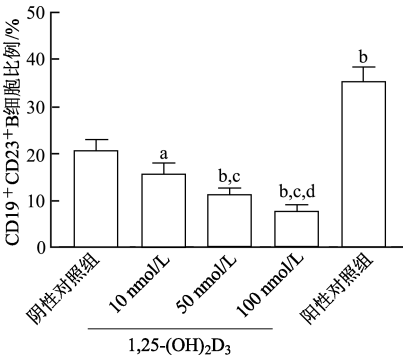


图 2 25-(OH)D 诊断屋尘螨过敏的 ROC 曲线

2.4 1,25-(OH)₂D₃ 处理抑制细胞 CD23 膜表达

流式细胞术分析结果显示,与阴性对照组相比,阳性对照组中 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例显著升高 ($P<0.01$),不同浓度 1,25-(OH)₂D₃ 组中 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例均显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),呈剂量依赖性;其中,与 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较,50、100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例显著降低 (P 均 <0.05);与 50 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较,100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例显著降低 ($P<0.05$)。见图 3。



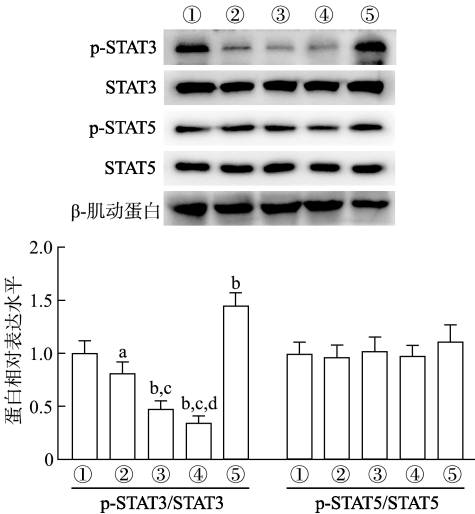
a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与阴性对照组比较; c: $P<0.05$, 与 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较; d: $P<0.05$, 与 50 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较

图 3 各组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例比较

2.5 1,25-(OH)₂D₃ 处理抑制 STAT3/STAT5 磷酸化表达水平

蛋白免疫印迹结果显示(图 4),与阴性对照组相比,不同浓度 1,25-(OH)₂D₃ 组 p-STAT3/STAT3 比值显著降低 (P 均 <0.01),总 STAT3 蛋白表达量

未发生显著变化 ($P>0.05$),而 p-STAT5 和 STAT5 总蛋白表达均无显著变化 ($P>0.05$)。此外,与 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组相比,50 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组和 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组中 p-STAT3 水平显著降低 ($P<0.01$);与 50 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组相比,100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组中 p-STAT3 水平明显降低 ($P<0.01$),p-STAT5 水平无显著变化 ($P>0.05$)。与阴性对照组比较,阳性对照组 p-STAT3 水平明显升高 ($P<0.01$),p-STAT5 水平无显著变化 ($P>0.05$)。



①: 阴性对照组; ②: 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组; ③: 50 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组; ④: 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组; ⑤: 阳性对照组; a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与阴性对照组比较; c: $P<0.05$, 与 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较; d: $P<0.05$, 与 50 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较

图 4 各组 p-STAT3/STAT3 和 p-STAT5/STAT5 比值比较

如图 5 所示,与 0 min 相比,100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 处理 30、60、120 min p-STAT3/STAT3 比值明显降低 (P 均 <0.01),且 60 min 最低。

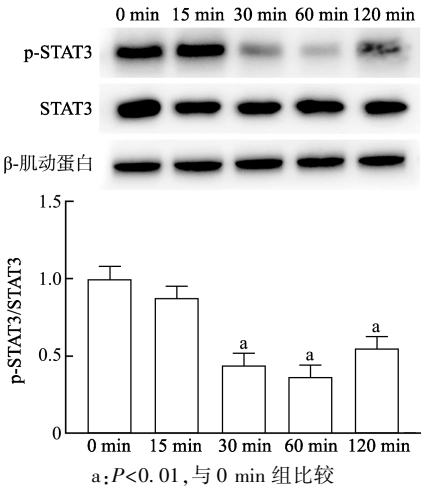
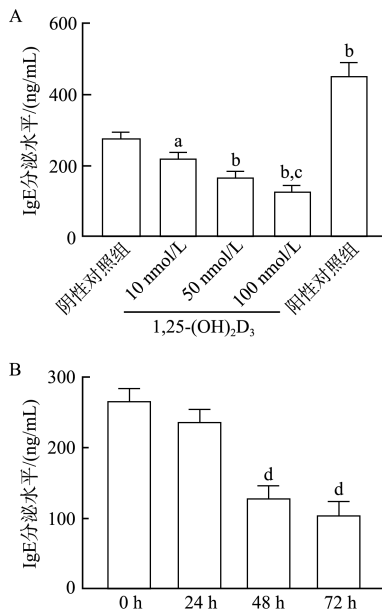


图 5 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 处理不同时间点 p-STAT3/STAT3 比值比较

2.6 1,25-(OH)₂D₃ 处理抑制 IgE 分泌水平

ELISA 结果显示(图 6),与阴性对照组相比,阳性对照组 B 细胞中 IgE 分泌水平显著增加($P<0.01$),不同浓度 1,25-(OH)₂D₃ 组 B 细胞中 IgE 分泌水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组相比,100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组 IgE 分泌水平显著降低($P<0.01$)。此外,与 0 h 相比,100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 处理 48 h 和 72 h B 细胞中 IgE 分泌水平显著降低(P 均 <0.01)。



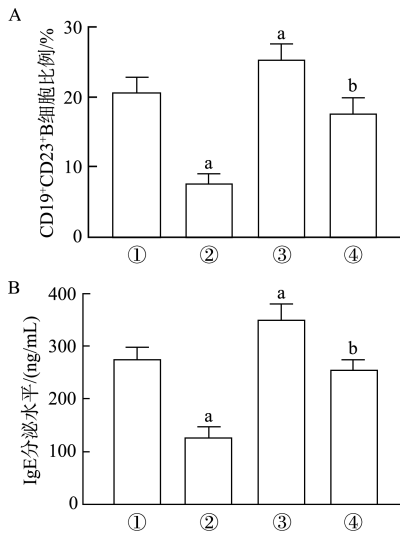
A: 浓度梯度实验;B: 时间动力学实验;a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与阴性对照组比较; c: $P<0.05$, 与 10 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 组比较; d: $P<0.01$, 与 0 h 组比较

图 6 各组细胞上清液中 IgE 水平比较

2.7 IL-6 逆转 1,25-(OH)₂D₃ 对 CD23 膜表达和 IgE 分泌的抑制作用

鉴于上述实验结果中 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 对细胞中 CD23 膜表达、pSTAT3 以及 IgE 分泌水平的显著抑制作用,为确保能够达到最大抑制效应,故选择 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 进行后续实验。

结果显示(图 7),与阴性对照组相比,1,25-(OH)₂D₃ 组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例显著减少($P<0.05$),IL-6 组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例明显增加($P<0.05$);与 1,25-(OH)₂D₃ 组相比,1,25-(OH)₂D₃+IL-6 组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例显著升高($P<0.05$)。同样,与阴性对照组相比,1,25-(OH)₂D₃ 组 IgE 分泌水平明显减少($P<0.05$),IL-6 组 IgE 分泌水平显著增加($P<0.05$);与 1,25-(OH)₂D₃ 组比较,1,25-(OH)₂D₃+IL-6 组 IgE 分泌水平显著增加($P<0.05$)。



①: 阴性对照组; ②: 1,25-(OH)₂D₃ 组; ③: IL-6 组; ④: 1,25-(OH)₂D₃+IL-6 组; a: $P<0.05$, 与阴性对照组比较; b: $P<0.05$, 与 1,25-(OH)₂D₃ 组比较

图 7 各组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例(A)以及 IgE 分泌水平(B)比较

3 讨论

本研究结果显示,屋尘螨过敏患儿血清 25-(OH)D 水平显著低于健康儿童($P<0.001$),与 Bener 等^[9]研究一致,其研究还报道维生素 D 缺乏(<20 ng/mL)与儿童过敏性疾病的发病率升高显著相关。维生素 D 缺乏可能通过多种途径参与过敏性疾病的发生发展,包括调节免疫细胞功能、影响上皮屏障完整性及调控炎症因子分泌^[10]。值得注意的是,本研究未发现 25-(OH)D 水平与总 IgE 或 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例相关,但与 sCD23 水平呈弱负相关($r=-0.248$, $P<0.05$),提示维生素 D 对 B 细胞活化的调控作用存在阈值效应。此外,ROC 曲线结果显示,血清 25-(OH)D 水平对屋尘螨过敏有一定的诊断价值($AUC=0.769$),提示其作为辅助生物标志物的潜力。

本研究结果显示,随着 1,25-(OH)₂D₃ 浓度增加,CD23 膜表达、STAT3 磷酸化及 IgE 分泌均呈剂量依赖性下降($P<0.05$),其中,50、100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 可显著抑制上述指标,而 100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 效果更为明显,这与生理状态下维生素 D 活性代谢物的血浆浓度范围(50~150 nmol/L)相吻合^[11]。此外,时间动力学实验结果显示,100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃ 处理 30 min 即可显著抑制 STAT3 磷酸化,早于 IgE 分泌(48 h 显著降低)的变化,为“维生素 D 通过调节 STAT3 信号通路抑制 IgE 分泌”提供了关键证据。这种剂量和时

间效应关系为临床补充维生素 D 的剂量选择提供了实验依据,提示维持适当的血清维生素 D 水平可能对调节过敏反应至关重要。此外,50、100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃处理组中 IgE 分泌水平无统计学差异($P>0.05$),表明维生素 D 的免疫调节效应存在平台期,由此解释了流行病学研究中维生素 D 水平与过敏症状呈现非线性关系的原因^[12]。

B 细胞活化及 IgE 分泌是过敏反应的核心环节。研究发现,1,25-(OH)₂D₃能够抑制外周血单核细胞中 CD23 表达,这种抑制同时发生在蛋白和 mRNA 水平^[13]。本研究结果证实,1,25-(OH)₂D₃以剂量依赖性方式抑制 CD23 膜表达以及 STAT3 磷酸化,进一步抑制 IgE 分泌,而对 STAT5 无显著影响。STAT3 是 B 细胞活化的关键调控因子,其磷酸化可促进 CD23 表达及 IgE 类别转换^[14]。时间动力学实验进一步证实,抑制 STAT3 磷酸化是维生素 D 作用的早期事件,这表明维生素 D 通过抑制 STAT3 磷酸化阻断 CD23 表达,进而减少 IgE 分泌,这与既往报道的维生素 D 抑制 Th2 型免疫反应的作用一致^[15]。此外,Saeedfar 等^[16]研究发现,STAT3 抑制剂可显著减轻小鼠过敏性哮喘症状。值得注意的是,本研究结果显示,1,25-(OH)₂D₃+IL-6 组 CD23 膜表达和 IgE 分泌水平较 1,25-(OH)₂D₃组明显增加,IL-6 作为 STAT3 激活剂,减弱 1,25-(OH)₂D₃对 CD23 表达以及 IgE 分泌的抑制作用,由此进一步支持 STAT3 在通路中的核心作用。然而,IL-6 逆转作用不完全,提示维生素可能通过其他通路(表观遗传修饰)调控 B 细胞功能。

本研究结果显示,屋尘螨过敏组 CD19⁺CD23⁺B 细胞比例显著高于健康对照组($P<0.001$)。B 细胞上 CD23 决定 IgE 介导的过敏原摄取以及过敏原特异性 T 细胞的激活^[4]。CD23 作为低亲和力 IgE 受体,其表达上调可促进 B 细胞向浆细胞分化并增强 IgE 合成^[17]。体内实验证实,通过鼻内抗 CD23 治疗能够降低血清 IgE 水平,减少小鼠过敏性鼻炎模型的过敏反应^[18]。利用抗 CD23 锚蛋白重复蛋白(DARPins)可抑制 IgE 与 CD23 结合,导致 IgE 合成减少^[19],这表明单独靶向 CD23 足以抑制 IgE 合成。本研究结果表明,1,25-(OH)₂D₃处理以剂量依赖性方式抑制 CD23 膜表达。Heine 等^[20]研究显示,维生素 D 通过抑制 NF- κ B 通路减少 CD23 转录,而 sCD23 水平升高可能通过正反馈环路加剧过敏反应^[4],提示靶向 CD23 可能为潜在治疗策略。

本研究结果显示,50~100 nmol/L 1,25-(OH)₂D₃

在体外实验中即出现显著抑制效应,且在生理浓度范围内,由此提示临床可能需要将血清 25-(OH)D 水平维持在 30~50 ng/mL(相当于 75~125 nmol/L)才能发挥类似的免疫调节作用。该发现对指导临床维生素 D 补充具有一定的意义。然而,本研究存在以下局限性:横断面设计无法推断因果关系;动物模型数据待补充以验证体内效应。未来研究可从以下几个方面入手:维生素 D 与抗 CD23 单抗的协同治疗效应;STAT3 去磷酸化与 CD23 启动子甲基化的交互作用;维生素 D 干预对过敏患儿长期预后的影响。

综上所述,本研究结果表明,维生素 D 可能通过剂量依赖性抑制 STAT3 磷酸化从而下调 CD23 表达,进而减少 B 细胞中 IgE 分泌。

[参考文献]

[1] Miller JD. The role of dust mites in allergy[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2019, 57(3): 312-329.

[2] Núñez-Núñez ME, Lafarga-Díaz CA, Tejera OEN, et al. Comparable prevalence of aeroallergen sensitization among pediatric patients with allergic respiratory diseases[J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2026, 54(1): 64-71.

[3] Satitsuksanoa P, Iwasaki S, Boersma J, et al. B cells: the many facets of B cells in allergic diseases[J]. J Allergy Clin Immunol, 2023, 152(3): 567-581.

[4] Engeroff P, Vogel M. The role of CD23 in the regulation of allergic responses[J]. Allergy, 2021, 76(7): 1981-1989.

[5] Moulder K, Barton A, Weston B. CD23-mediated homotypic cell adhesion: the role of proteolysis[J]. Eur J Immunol, 1993, 23(9): 2066-2071.

[6] Dhaliwal B, Pang MOY, Keeble AH, et al. IgE binds asymmetrically to its B cell receptor CD23[J]. Sci Rep, 2017, 7: 45533.

[7] Ruiz-Ballesteros AI, Meza-Meza MR, Vizmanos-Lamotte B, et al. Association of vitamin D metabolism gene polymorphisms with autoimmunity: evidence in population genetic studies[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9626.

[8] 高楠,刘姜伟,张永岗,等.血清 25-羟基维生素 D 水平与儿童过敏性鼻炎病情严重程度关系[J].海南医学, 2022, 33(19): 2526-2529.

[9] Bener A, Ehlayel MS, Bener HZ, et al. The impact of Vitamin D deficiency on asthma, allergic rhinitis and wheezing in children: an emerging public health problem[J]. J Family Community Med, 2014, 21(3): 154-161.

of recurrence [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(2): 689–697.

[10] Dess RT, Hartman HE, Mahal BA, et al. Association of black race with prostate cancer-specific and other-cause mortality[J]. JAMA Oncol, 2019, 5(7): 975–983.

[11] Rendall MS, Weden MM, Favreault MM, et al. The protective effect of marriage for survival: a review and update[J]. Demography, 2011, 48(2): 481–506.

[12] Epstein JI, Amin MB, Reuter VE, et al. Contemporary gleason grading of prostatic carcinoma; an update with discussion on practical issues to implement the 2014 international society of urological pathology (ISUP) consensus conference on gleason grading of prostatic carcinoma[J]. Am J Surg Pathol, 2017, 41(4): e1–e7.

[13] Whittemore DE, Hick EJ, Carter MR, et al. Significance of tertiary gleason pattern 5 in gleason score 7 radical prostatectomy specimens [J]. J Urol, 2008, 179(2): 516–522.

[14] Ma B, Wells A, Wei L, et al. Prostate cancer liver metastasis: dormancy and resistance to therapy [J].

Semin Cancer Biol, 2021, 71: 2–9.

[15] Teo MY, Rathkopf DE, Kantoff P. Treatment of advanced prostate cancer[J]. Annu Rev Med, 2019, 70: 479–499.

[16] Parker C, Castro E, Fizazi K, et al. Prostate cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2020, 31(9): 1119–1134.

[17] Wang CY, Yang J, Zi H, et al. Nomogram for predicting the survival of gastric adenocarcinoma patients who receive surgery and chemotherapy [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 10.

[18] Zhang H, Jiang X, Jiao L, et al. Development and external validation of a novel prognostic nomogram for overall survival in prostate cancer patients with bone metastatic: a retrospective study of the SEER-based and a single Chinese center[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(14): 12647–12658.

[收稿日期] 2025-04-07 [编辑] 郭欣

(上接第 332 页)

[10] Zhang P, Xu Q, Zhu R. Vitamin D and allergic diseases[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1420883.

[11] Tuckey RC, Cheng CYS, Slominski AT. The serum vitamin D metabolome: what we know and what is still to discover[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2019, 186: 4–21.

[12] Mirzakhani H, Al-Garawi A, Weiss ST, et al. Vitamin D and the development of allergic disease; how important is it? [J]. Clin Exp Allergy, 2015, 45(1): 114–125.

[13] Fargeas C, Wu CY, Luo HY, et al. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ inhibits the CD23 gene expression by human peripheral blood monocytes [J]. J Immunol, 1990, 145(12): 4053–4058.

[14] Redhu NS, Shan L, Al-Subait D, et al. IgE induces proliferation in human airway smooth muscle cells: role of MAPK and STAT3 pathways [J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2013, 9(1): 41.

[15] Ghaseminejad-Raeini A, Ghaderi A, Sharafi A, et al. Immunomodulatory actions of vitamin D in various immune-related disorders: a comprehensive review[J]. Front Immunol, 2023, 14: 950465.

[16] Saeedfar K, Behmanesh M, Mortaz E, et al. The expression of *STAT3* and *STAT5A* genes in severe refractory asthma[J]. Tanaffos, 2017, 16(1): 1–8.

[17] Lemieux GA, Blumenkron F, Yeung N, et al. The low affinity IgE receptor (CD23) is cleaved by the metalloproteinase ADAM10 [J]. J Biol Chem, 2007, 282(20): 14836–14844.

[18] Zhou M, Du D, Zhao K, et al. *In vivo* intranasal anti-CD23 treatment inhibits allergic responses in a murine model of allergic rhinitis [J]. J Mol Histol, 2013, 44(3): 327–338.

[19] Fellmann M, Buschor P, Röthlisberger S, et al. High affinity targeting of CD23 inhibits IgE synthesis in human B cells[J]. Immun Inflamm Dis, 2015, 3(4): 339–349.

[20] Heine G, Anton K, Henz BM, et al. 1α, 25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits anti-CD40 plus IL-4-mediated IgE production *in vitro* [J]. Eur J Immunol, 2002, 32(12): 3395–3404.

[收稿日期] 2025-06-03 [编辑] 刘星星