

SỰ THAY ĐỔI KIỂU HÌNH TẾ BÀO B ĐIỀU HÒA TRONG MÁU NGOẠI VI Ở BỆNH NHÂN PEMPHIGOID BỌNG NƯỚC

Phạm Đình Hòa^{1,2}, Lê Đức Sơn³, Trần Sơn Tùng^{1,2}

Trần Thị Linh², Quách Thị Hà Giang², Bùi Thị Phương Minh²

Đinh Thị Hương Diệu¹, Đỗ Thị Vinh An⁴, Lưu Ly⁵ và Vũ Huy Lượng^{1,2,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Da liễu Trung ương

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

⁴Bệnh viện Bạch Mai

⁵Bệnh viện Đại học Phenikaa

Nghiên cứu khảo sát đặc điểm kiểu hình các phân nhóm tế bào B điều hòa (Breg) máu ngoại vi ở bệnh nhân pemphigoid bong nước (BP). 76 bệnh nhân BP và 30 người tình nguyện khỏe mạnh được phân tích tế bào dòng chảy. Các dấu ấn chính gồm CD24^{cao}CD27⁺ Breg, IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ Breg và cường độ biểu hiện của CD147 (CD147 MFI). Phân tích thống kê sử dụng kiểm định phi tham số có hiệu chỉnh dương tính giả (FDR) và hồi quy logistic đa biến hiệu chỉnh tuổi, giới. CD24^{cao}CD27⁺ Breg ở nhóm BP cao hơn nhóm chứng [15,25 (9,08 - 26,12)% so với 8,71 (2,78 - 16,18)%; $p = 0,009$]. Ngược lại, IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ Breg trong tế bào B giảm [0,85 (0,10 - 3,42)% so với 3,09 (1,81 - 7,96)%; $p < 0,001$] và CD147 MFI cũng thấp hơn [49,60 (32,95 - 76,90) so với 68,55 (55,60 - 154,50); $p < 0,001$]. Không ghi nhận tương quan có ý nghĩa với BPDAl. BP liên quan với thay đổi kiểu hình Breg ngoại vi, đặc trưng bởi mất cân bằng giữa các phân nhóm tế bào Breg.

Từ khóa: Pemphigoid bong nước, tế bào B điều hòa, Breg, CD24^{cao}CD27⁺, CD147, tế bào dòng chảy.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pemphigoid bong nước (Bullous Pemphigoid - BP) là bệnh da bong nước tự miễn với cơ chế bệnh sinh liên quan đến tự kháng thể kháng BP180/BP230, kéo theo hoạt hóa bổ thể, bạch cầu ái toan, tế bào T, tế bào B và các cytokine viêm.¹⁻⁴

Tế bào B giữ vai trò trung tâm trong BP vì là tiền thân của tương bào sản xuất tự kháng thể. Một số phân nhóm tế bào B còn có khả năng điều hòa đáp ứng miễn dịch (Regulatory B cell - Breg) thông qua IL-10, tương tác với tế bào T, kiểm soát phản ứng viêm và góp phần duy trì dung nạp miễn dịch.^{5,6}

Liu và cộng sự ghi nhận CD19⁺CD24^{cao}CD27⁺ Breg và IL-10⁺CD19⁺ Breg có thể tăng ở bệnh nhân BP, nhưng chức năng điều hòa lại suy giảm, đặc biệt là khả năng ức chế sản xuất tự kháng thể và điều hòa hoạt hóa tế bào T.⁷ Điều này cho thấy tăng tỷ lệ một quần thể Breg không đồng nghĩa với tăng hiệu quả điều hòa miễn dịch.

Hiện nay, Breg được biết đến là một quần thể không đồng nhất với nhiều phân nhóm và cơ chế hoạt động khác nhau. Trong đó, CD24^{cao}CD27⁺ là một kiểu hình Breg dạng nhớ thường được sử dụng để khảo sát sự thay đổi phân bố tế bào B trong các bệnh lý tự miễn.⁸ Tuy nhiên, sự gia tăng của nhánh này không phải lúc nào cũng đi kèm với hiệu quả kiểm soát bệnh. Gần đây, y văn thế giới bắt đầu chú ý đến một trục điều hòa miễn dịch mới: các tế

Tác giả liên hệ: Vũ Huy Lượng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: vuhuyluong@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 03/06/2026

Ngày được chấp nhận: 25/06/2026

bào Breg sản xuất granzyme B. Để nhận diện quần thể này qua các dấu ấn bề mặt, sự kết hợp của $\text{IgM}^+\text{CD1d}^+\text{CD147}^+$ đã được chứng minh là có mối liên hệ với kiểu hình Breg sản xuất granzyme B.⁹

Việc khảo sát song song hai phân nhánh này: một đại diện cho kiểu hình Breg dạng nhớ kinh điển ($\text{CD24}^{\text{cao}}\text{CD27}^+$) và một đại diện cho trục điều hòa bề mặt mới ($\text{IgM}^+\text{CD1d}^+\text{CD147}^+$) sẽ cung cấp cái nhìn đa chiều hơn về sự chuyển dịch của toàn bộ quần thể tế bào B.

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát sự phân bố và tình trạng thay đổi kiểu hình của các quần thể Breg trong máu ngoại vi giữa bệnh nhân BP và nhóm chứng khỏe mạnh. Đồng thời, chúng tôi bước đầu tìm hiểu mối tương quan giữa các dấu ấn này với mức độ hoạt động bệnh theo thang điểm BPDAl. Do chưa thực hiện các thử nghiệm ức chế miễn dịch hay định lượng granzyme B nội bào, các kết quả trong nghiên cứu này có thể cung cấp dữ liệu ban đầu về kiểu hình của Breg trong BP làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về chức năng và hoạt động của Breg trong cơ chế bệnh sinh của BP.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Nhóm bệnh gồm các bệnh nhân từ 18 tuổi trở lên được chẩn đoán xác định pemphigoid bong nước tại Bệnh viện Da liễu Trung ương trong thời gian từ tháng 06/2024 đến tháng 04/2026. Chẩn đoán dựa trên phối hợp đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và miễn dịch huỳnh quang trực tiếp: bong nước căng trên nền da đỏ hoặc phù nề, Nikolsky âm tính; hình ảnh bong nước dưới thượng bì; lắng đọng IgG và/hoặc C3 dạng dải dọc vùng màng đáy. Bệnh nhân được đưa vào nghiên cứu khi có dữ liệu lâm sàng, mẫu máu ngoại vi đạt yêu cầu phân tích tế bào dòng chảy và đồng ý tham gia. Các

trường hợp đã dùng thuốc ức chế miễn dịch toàn thân trong 04 tuần trước lấy mẫu, nhiễm HIV, rút khỏi nghiên cứu hoặc mẫu/dữ liệu không hợp lệ được loại trừ.

Nhóm chứng gồm người tình nguyện khỏe mạnh, không mắc bệnh da viêm hoặc bệnh da tự miễn tại thời điểm lấy mẫu, không có tiền sử bệnh tự miễn được ghi nhận và không dùng thuốc ức chế miễn dịch trong ít nhất 04 tuần trước lấy mẫu. Mẫu máu nhóm chứng được thu thập, xử lý và phân tích theo cùng quy trình với nhóm bệnh.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang có nhóm chứng.

Thời gian, địa điểm

Thời gian nghiên cứu từ tháng 06/2024 đến tháng 04/2026.

Nghiên cứu được thực hiện tại hai cơ sở: Bệnh viện Da liễu Trung ương & Trung tâm Huyết học và Truyền máu, Bệnh viện Bạch Mai.

Cỡ mẫu, phương pháp chọn mẫu và biến số nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện, liên tiếp theo thời gian từ tháng 06/2024 đến 04/2026. Tất cả bệnh nhân pemphigoid bong nước và người tình nguyện khỏe mạnh đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn, không thuộc tiêu chuẩn loại trừ và có dữ liệu tế bào dòng chảy hợp lệ trong thời gian nghiên cứu đều được đưa vào phân tích.

Bộ dữ liệu cuối cùng thu thập được gồm 106 mẫu máu ngoại vi: 76 mẫu thuộc nhóm bệnh nhân pemphigoid bong nước và 30 mẫu thuộc nhóm chứng khỏe mạnh trong câu lạc bộ người cao tuổi chưa phát hiện lí liên quan đến miễn dịch tại thành phố Thái Nguyên

Các biến số nghiên cứu theo đặc điểm nền và lâm sàng gồm tuổi, giới tính, nhóm nghiên cứu (bệnh/ chứng) và điểm BPDAl (đối với

nhóm bệnh). Phân loại mức độ bệnh dựa trên thang điểm BPDAI, bệnh nhân được phân loại thành ba mức độ: Nhẹ (BPDAI ≤ 19 điểm), Vừa (BPDAI 20 - 56 điểm) và Nặng (BPDAI ≥ 57 điểm).¹⁰

Các chỉ số tế bào dòng chảy gồm tỷ lệ tế bào B CD19⁺, tỷ lệ CD24^{cao}CD27⁺ trong tế bào B, tỷ lệ IgM⁺CD1d⁺ trong tế bào B, tỷ lệ IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ trong quần thể IgM⁺CD1d⁺, tỷ lệ IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ trong tế bào B, giá trị CD147 MFI và các phân nhóm CD27/IgM.

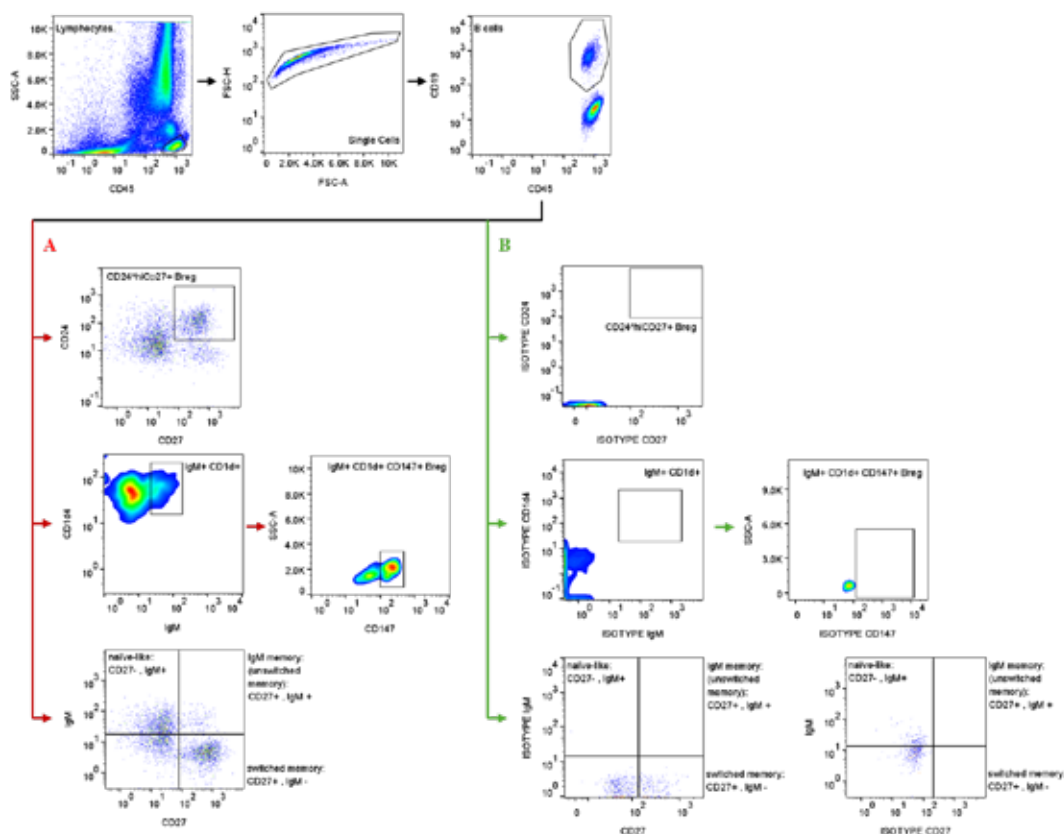
Phương pháp thu thập số liệu

Các thông tin thu thập bao gồm đặc điểm nhân khẩu học, đặc điểm lâm sàng, mức độ

hoạt động bệnh và kết quả phân tích tế bào dòng chảy. Dữ liệu cá nhân của người tham gia được mã hóa bằng mã số nghiên cứu riêng nhằm bảo đảm tính bảo mật trong quá trình nhập liệu, xử lý và phân tích thống kê.

Quy trình phân tích tế bào dòng chảy

Mẫu máu ngoại vi được lấy vào ống chống đông EDTA và xử lý theo quy trình chuẩn của đơn vị xét nghiệm. Phân tích tế bào dòng chảy được thực hiện trên mẫu máu toàn phần theo nguyên tắc nhuộm kháng thể bề mặt, ly giải hồng cầu, rửa mẫu và thu nhận tế bào trên hệ thống NAVIOS EX 10-color flow cytometer (Beckman Coulter).



Hình 1. Chiến lược phân tích (gating strategy) trong phân tích tế bào dòng chảy

(A) Mẫu máu tĩnh mạch của bệnh nhân BP đại diện và (B) Mẫu đối chứng kỹ thuật (isotype control). Từ quần thể tế bào ban đầu, các bước bóc tách lần lượt xác định lympho bào, tế bào đơn (single cells) và quần thể tế bào B (CD19⁺). Từ mốc tế bào B, tiếp tục định lượng tỷ lệ phân nhánh CD24^{cao}CD27⁺ (Breg dạng nhỏ), trực IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ và các dưới nhóm CD27/IgM

Phân tích thống kê

Xử lý bằng FlowJo v10.1, R v4.3, GraphPad Prism v10.1. Sử dụng kiểm định Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis, Spearman và hồi quy logistic đa biến. Đa kiểm định được hiệu chỉnh FDR theo Benjamini-Hochberg (ý nghĩa khi $q < 0,05$).

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Trường Đại học Y Hà Nội phê duyệt theo Giấy chứng nhận số 1346/GCN-HMUIRB ngày 15/4/2024, mã hồ sơ HMUIRB#1346. Người tham gia hoặc người đại diện hợp pháp được cung cấp thông tin và ký đồng thuận trước khi lấy mẫu. Dữ liệu cá nhân được mã hóa, lưu trữ bảo mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm nền của đối tượng nghiên cứu

Bộ dữ liệu phân tích gồm 76 bệnh nhân BP và 30 người thuộc nhóm chứng. Tuổi trung vị của nhóm BP là 75,00 (66,00 - 80,25) tuổi, cao hơn nhóm chứng [67,00 (65,25 - 69,00) tuổi; $p = 0,003$]. Tỷ lệ nữ ở nhóm BP là 31,6%, thấp hơn nhóm chứng (50,0%), nhưng khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p = 0,122$). Trong nhóm BP, trung vị điểm BPDAI là 30,00 (18,75 - 45,25). Phần lớn bệnh nhân thuộc mức độ vừa theo BPDAI [49/76 (64,5%)], tiếp theo là mức độ nhẹ [21/76 (27,6%)] và mức độ nặng [6/76 (7,9%)] (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm nhân khẩu học và lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm BP	Nhóm chứng
Cỡ mẫu	76	30
Tuổi, năm	75,00 (66,00 - 80,25)	67,00 (65,25 - 69,00)
Nữ, n (%)	24 (31,6%)	15 (50,0%)
Nam, n (%)	52 (68,4%)	15 (50,0%)
BPDAI	30,00 (18,75 - 45,25)	Không áp dụng
Mức độ nhẹ BPDAI ≤ 19 , n (%)	21 (27,6%)	Không áp dụng
Mức độ vừa BPDAI 20-56, n (%)	49 (64,5%)	Không áp dụng
Mức độ nặng BPDAI ≥ 57 , n (%)	6 (7,9%)	Không áp dụng

Biến định lượng có phân bố không chuẩn được trình bày dưới dạng trung vị và khoảng tứ phân vị (IQR); biến định tính được trình bày dưới dạng tần số và tỷ lệ phần trăm (%). Thang điểm đánh giá hoạt động bệnh (BPDAI) chỉ áp dụng phân tích trên nhóm bệnh nhân

2. Các quần thể Breg trong máu ngoại vi ở bệnh nhân BP

So với nhóm chứng, nhóm BP có tỷ lệ CD24^{cao}CD27⁺ Breg trong tế bào B cao hơn có ý nghĩa thống kê [15,25 (9,08 - 26,12)% so với 8,71 (2,78 - 16,18)%; $p = 0,009$]. Ngược lại, các chỉ số thuộc trục IgM⁺CD1d⁺CD147⁺/CD147 đều giảm ở nhóm BP. Cụ thể, IgM⁺CD1d⁺CD147⁺

tính theo quần thể IgM⁺CD1d⁺ thấp hơn [17,40 (5,58 - 53,55)% so với 57,30 (28,65 - 71,77)%; $p = 0,002$], IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ tính theo tế bào B thấp hơn [0,85 (0,10 - 3,42)% so với 3,09 (1,81-7,96)%; $p < 0,001$], và CD147 MFI thấp hơn [49,60 (32,95 - 76,90) so với 68,55 (55,60 - 154,50); $p < 0,001$] (Bảng 2).

Bảng 2. Phân bố kiểu hình các quần thể tế bào B điều hòa máu ngoại vi ở nhóm bệnh nhân BP và nhóm chứng

Chỉ số	Nhóm BP	Nhóm chứng	p value
Tế bào B (% trong tế bào đơn lẻ)	10,70 (6,99 - 15,62)	10,54 (6,62 - 18,77)	0,314
CD24 ^{cao} CD27 ⁺ Breg (% trong tế bào B)	15,25 (9,08 - 26,12)	8,71 (2,78 - 16,18)	0,009
Tế bào B nhớ chưa chuyển lớp CD27 ⁺ IgM ⁺ (% trong tế bào B)	2,22 (0,09 - 6,71)	2,25 (0,02 - 6,29)	0,736
IgM ⁺ CD1d ⁺ (% trong tế bào B)	5,36 (1,08 - 15,53)	7,15 (3,71 - 23,73)	0,063
IgM ⁺ CD1d ⁺ CD147 ⁺ (% trong IgM ⁺ CD1d ⁺)	17,40 (5,58 - 53,55)	57,30 (28,65 - 71,77)	0,002
IgM ⁺ CD1d ⁺ CD147 ⁺ (% trong tế bào B)	0,85 (0,10 - 3,42)	3,09 (1,81 - 7,96)	< 0,001
CD147 MFI	49,60 (32,95 - 76,90)	68,55 (55,60 - 154,50)	< 0,001
CD27 ⁺ IgM ⁺ (% trong tế bào B)	13,10 (0,40 - 23,40)	8,54 (0,06 - 19,23)	0,185
CD27 ⁺ IgM ⁻ (% trong tế bào B)	54,40 (36,55 - 69,68)	55,25 (44,60 - 64,38)	0,866
CD27 ⁺ IgM ⁻ (% trong tế bào B)	23,20 (14,25 - 35,60)	27,85 (19,70 - 36,42)	0,185

Dữ liệu được biểu diễn bằng trung vị (IQR). Giá trị p value phản ánh mức ý nghĩa thống kê sau khi áp dụng hiệu chỉnh tỷ lệ dương tính giả (False Discovery Rate - FDR) theo thuật toán Benjamini-Hochberg. Trong nghiên cứu này, sự biểu hiện đồng thời của cụm dấu ấn bề mặt IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ được sử dụng để xác định nhánh tế bào B có kiểu hình liên quan đến tiềm năng sản xuất granzyme B

3. Phân tích theo mức độ bệnh và tương quan với BPDAI

Khi phân tầng bệnh nhân BP theo điểm BPDAI, các dấu ấn Breg chính không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ba mức độ nhẹ,

vừa và nặng. Phân tích tương quan Spearman không ghi nhận có ý nghĩa sau hiệu chỉnh FDR giữa điểm BPDAI và các dấu ấn chính, gồm CD24^{cao}CD27⁺ Breg, IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ và CD147 MFI.

Bảng 3. Phân tích phân tầng và tương quan giữa các dấu ấn tế bào B điều hòa với mức độ hoạt động bệnh (BPDAI)

Dấu ấn	Phân tầng theo mức độ BPDAI			Tương quan với BPDAI		
	Nhẹ BPDAI ≤ 19 n = 21	Vừa BPDAI 20-56 n = 49	Nặng BPDAI ≥ 57 n = 6	P_KW	Hệ số r	p value
CD24 ^{cao} CD27 ⁺ Breg (% trong tế bào B)	15,20 (9,70 - 20,50)	14,20 (8,16 - 27,40)	26,75 (20,65 - 31,12)	0,353	0,063	0,938
IgM ⁺ CD1d ⁺ CD147 ⁺ (% trong tế bào B)	0,44 (0,11 - 2,44)	0,71 (0,02 - 2,80)	3,19 (2,72 - 8,35)	0,145	0,041	0,938
CD147 MFI	43,90 (37,10 - 66,50)	46,60 (29,30 - 79,32)	66,25 (54,22 - 84,57)	0,392	0,021	0,938

Dữ liệu được biểu diễn bằng trung vị (IQR). P_KW (Kruskal-Wallis) là giá trị ý nghĩa chưa hiệu chỉnh, dùng để so sánh sự khác biệt giữa ba phân nhóm hoạt động bệnh. Mỗi tương quan giữa các dấu ấn tế bào và điểm BPDAI được đánh giá bằng hệ số tương quan Spearman (r), kèm giá trị p value sau hiệu chỉnh FDR theo Benjamini-Hochberg

4. Phân tích hồi quy logistic hiệu chỉnh tuổi và giới

Do nhóm BP có tuổi cao hơn nhóm chứng, mô hình hồi quy logistic đa biến được sử dụng để đánh giá mối liên quan giữa các dấu ấn tế bào và tình trạng BP sau hiệu chỉnh tuổi và giới,

đồng thời đối chiếu với mô hình thô ban đầu (Bảng 4). Sau hiệu chỉnh, CD24^{cao}CD27⁺ Breg vẫn tương quan thuận với tình trạng BP; ngược lại, IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ và CD147 MFI tương quan nghịch với tình trạng BP.

Bảng 4. Mối tương quan giữa các dấu ấn tế bào B điều hòa và tình trạng mắc BP qua mô hình hồi quy logistic hiệu chỉnh tuổi giới

Dấu ấn	n	OR thô (95% CI)	OR hiệu chỉnh tuổi, giới (95% CI)	Nhận xét sau hiệu chỉnh
CD24 ^{cao} CD27 ⁺ Breg (% trong tế bào B)	106	1,82 (1,18 - 2,80)	1,93 (1,22 - 3,06)	Tương quan thuận vẫn duy trì sau hiệu chỉnh
IgM ⁺ CD1d ⁺ (% trong tế bào B)	106	0,64 (0,41 - 0,99)	0,56 (0,34 - 0,92)	Tương quan nghịch rõ hơn sau hiệu chỉnh
IgM ⁺ CD1d ⁺ CD147 ⁺ (% trong IgM ⁺ CD1d ⁺)	106	0,36 (0,19 - 0,69)	0,36 (0,18 - 0,72)	Tương quan nghịch duy trì sau hiệu chỉnh
IgM ⁺ CD1d ⁺ CD147 ⁺ (% trong tế bào B)	106	0,56 (0,36 - 0,85)	0,52 (0,32 - 0,83)	Tương quan nghịch ổn định sau hiệu chỉnh
CD147 MFI	97	0,34 (0,18 - 0,62)	0,28 (0,14 - 0,56)	Tương quan nghịch mạnh hơn sau hiệu chỉnh

Tỷ số chênh (Odds Ratio - OR) được tính toán tương ứng với sự gia tăng 1 độ lệch chuẩn (SD) của từng dấu ấn tế bào. Các biến số không âm có phân bố lệch phải được biến đổi qua hàm $\log_{1p}$ trước khi chuẩn hóa. Mô hình đa biến đánh giá mức độ tác động của từng dấu ấn độc lập sau khi đã hiệu chỉnh các yếu tố nhiễu về tuổi và giới tính. CD147 MFI được phân tích trên các mẫu có dữ liệu MFI hợp lệ; cỡ mẫu hợp lệ cho biến này là 97

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu này mô tả kiểu hình Breg trong máu ngoại vi ở 76 bệnh nhân BP và 30 người thuộc nhóm chứng khỏe mạnh. Kết quả cho thấy BP liên quan đến một mô hình biến đổi không đồng nhất của các quần thể Breg: nhánh $CD24^{cao}CD27^{+}$ tăng, trong khi trục $IgM^{+}CD1d^{+}CD147^{+}/CD147$ giảm. Điều này cho thấy sự chuyển dịch đa hướng của các phân nhóm tế bào miễn dịch trong máu ngoại vi, thay vì toàn bộ quần thể Breg đều tăng hoặc giảm đồng nhất như các nhận định trước đây.

Tỷ lệ $CD24^{cao}CD27^{+}$ Breg tăng ở nhóm BP phù hợp với nhận định rằng trong một số bệnh lý viêm, tự miễn, các quần thể Breg có thể tăng về số lượng nhưng chức năng điều hòa vẫn không bảo đảm. Liu và cộng sự đã ghi nhận rối loạn chức năng của $CD19^{+}CD24^{cao}CD27^{+}$ Breg ở bệnh nhân BP, trong đó có suy giảm khả năng kiểm soát tự kháng thể và hoạt hóa tế bào T.⁷ Vì vậy, trong nghiên cứu hiện tại, sự gia tăng $CD24^{cao}CD27^{+}$ có thể được hiểu là sự gia tăng về số lượng, chưa nên kết luận là bằng chứng cho thấy chức năng điều hòa miễn dịch tăng lên.

Điểm đáng chú ý của dữ liệu hiện tại là sự suy giảm nhất quán của nhánh $IgM^{+}CD1d^{+}CD147^{+}/CD147$ Breg. CD147 là phân tử bề mặt liên quan đến hoạt hóa tế bào, tương tác miễn dịch và tái cấu trúc vi môi trường viêm.¹² Trong bệnh BP, việc giảm $IgM^{+}CD1d^{+}CD147^{+}$ và CD147 MFI có thể gợi ý sự suy giảm của một phân nhóm Breg phụ thuộc tương tác bề mặt, trái ngược với sự tăng của nhánh $CD24^{cao}CD27^{+}$ Breg. Một số quan sát ở bệnh tự miễn khác cho thấy Breg sản xuất granzyme B có chức năng ức chế miễn dịch

và sự suy giảm quần thể này có thể liên quan với hoạt động bệnh mạnh hơn.⁹ Tuy nhiên, do nghiên cứu hiện tại chưa định lượng granzyme B nội bào và chưa thực hiện thử nghiệm chức năng ức chế tế bào T, kết quả chỉ nên được xem là bằng chứng kiểu hình, chưa phải bằng chứng về chức năng. Vì vậy, cần nghiên cứu sâu hơn về kiểu hình của nhóm tế bào CD147⁺ Breg này về chức năng miễn dịch và hoạt động sản xuất chất trung gian để khẳng định vai trò trong cơ chế bệnh sinh của BP.

Về ý nghĩa sinh học, sự suy giảm $IgM^{+}CD1d^{+}CD147^{+}/CD147$ Breg gợi ý một hướng nghiên cứu mới về tái cấu trúc mạng lưới tế bào B trong BP. Tuy nhiên, do CD147 được biểu hiện rộng trên nhiều dòng tế bào khác nhau, và nghiên cứu hiện tại chưa đánh giá granzyme B nội bào hay chức năng ức chế miễn dịch, phát hiện này chỉ nên được xem là bằng chứng kiểu hình, cần được kiểm chứng bằng các nghiên cứu chức năng tiếp theo.¹²

Nghiên cứu không ghi nhận mối tương quan có ý nghĩa nào sau hiệu chỉnh FDR giữa các dấu ấn chính và điểm BPDAI. Phát hiện này gợi ý các quần thể Breg trong máu ngoại vi có thể phản ánh tình trạng mắc BP nhiều hơn là mức độ tổn thương da tại một thời điểm. Nói cách khác, các biến đổi kiểu hình quan sát được có thể là dấu ấn nền của cơ địa tự miễn và tái cấu trúc hệ miễn dịch trong máu ngoại vi, thay vì là chỉ số phản ánh trực tiếp mức độ nặng tức thời của bệnh. Cách diễn giải này hợp lý hơn vì BPDAI chịu ảnh hưởng đồng thời bởi diện tích, số lượng và vị trí tổn thương, mức độ ngứa,

điều trị trước lấy mẫu và tình trạng viêm tại mô. Do đó, một dấu ấn tế bào trong máu ngoại vi đơn lẻ khó phản ánh đầy đủ diễn biến lâm sàng đa yếu tố của bệnh BP.

Chênh lệch tuổi giữa nhóm BP và nhóm chứng là yếu tố nhiễu sinh học cần được lưu ý. Lão hóa miễn dịch có thể làm thay đổi số lượng, thành phần phân nhóm và chức năng tế bào B trong máu ngoại vi, đồng thời góp phần vào nền viêm mạn tính ở người cao tuổi.¹³ Vì vậy, một phần kiểu hình Breg quan sát được có thể phản ánh sự cộng hưởng giữa BP và lão hóa miễn dịch. Tuy nhiên, các kết quả chính vẫn duy trì ý nghĩa sau khi hiệu chỉnh tuổi và giới. Trên thực tế, việc tuyển chọn nhóm chứng hoàn toàn khỏe mạnh, không mắc bệnh viêm/tự miễn và không dùng thuốc ảnh hưởng đến miễn dịch ở cùng độ tuổi với bệnh nhân BP là một khó khăn đáng kể. Các nghiên cứu tiếp theo nên ưu tiên ghép cặp tuổi hoặc phân tích phân tầng theo nhóm tuổi.

Nghiên cứu có một số điểm mạnh: cỡ mẫu phân tích tế bào dòng chảy tương đối lớn đối với một bệnh da tự miễn ít gặp; quy trình phân tích được áp dụng thống nhất giữa hai nhóm; và các kết quả chính được kiểm tra thêm bằng hiệu chỉnh FDR cũng như hồi quy logistic điều chỉnh tuổi và giới.

Nghiên cứu cũng có một số hạn chế. Thiết kế nghiên cứu cắt ngang chỉ xác định các yếu tố liên quan không chứng minh được cơ chế bệnh sinh, không cho phép phân tích sâu hơn về diễn biến các quần thể Breg theo quá trình điều trị. Cỡ mẫu còn hạn chế, đặc biệt nhóm BP mức độ nặng, làm giảm mức độ mạnh của thống kê giữa mức độ biểu hiện của dấu ấn và mức độ nặng của BP và hạn chế nghiên cứu các yếu tố hiệu chỉnh và hiện tượng đa cộng tuyến giữa các dấu ấn. Nhóm chứng hạn chế và chưa hoàn toàn tương đồng về tuổi với nhóm bệnh; dù đã hiệu chỉnh tuổi và giới, ảnh

hưởng của lão hóa miễn dịch vẫn có thể còn tồn tại, có thể ảnh hưởng tới phân bố của quần thể tế bào miễn dịch, đặc biệt là Breg. Ngoài ra, nghiên cứu này xác định các quần thể Breg dựa trên các dấu ấn bề mặt, vì vậy chưa thể thay thế các thử nghiệm chức năng như đánh giá IL-10, granzyme B nội bào hoặc khả năng ức chế đáp ứng tế bào T.

V. KẾT LUẬN

Bệnh nhân pemphigoid bong nước có biến đổi kiểu hình Breg trong máu ngoại vi, đặc trưng bởi tăng CD24^{cao}CD27⁺ Breg nhưng giảm IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ và CD147 MFI. Các thay đổi này khác biệt giữa nhóm BP và nhóm chứng, nhưng không tương quan có ý nghĩa với điểm BPDAl. Kết quả gợi ý Breg có thể phản ánh hiện tượng tái cấu trúc quần thể tế bào miễn dịch trong BP hơn là mức độ nặng/nhẹ tức thời của bệnh, đồng thời tạo cơ sở cho các nghiên cứu chức năng và theo dõi điều trị trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN VÀ CAM KẾT

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn người bệnh, người tham gia nhóm chứng, Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Da liễu Trung ương và Trung tâm Huyết học và Truyền máu - Bệnh viện Bạch Mai đã hỗ trợ quá trình khám nghiên cứu, thu thập mẫu và thực hiện xét nghiệm. Nhóm tác giả tuyên bố không có xung đột lợi ích liên quan trực tiếp đến nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yan T, Zhang Z. Adaptive and innate immune pathogenesis of bullous pemphigoid: a review. *Front Immunol*. 2023; 14: 1144429. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1144429>.
2. Bernard P, Antonicelli F. Bullous pemphigoid: a review of its diagnosis, associations and treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2017; 18(4): 513-528. <https://doi.org/10.1007/>

s40257-017-0264-2.

3. Zhang L, Chen Z, Wang L, Luo X. Bullous pemphigoid: the role of type 2 inflammation in its pathogenesis and the prospect of targeted therapy. *Front Immunol.* 2023; 14: 1115083. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1115083>.

4. Maglie R, Antiga E, Quintarelli L, Verdelli A, Caproni M. The cytokine milieu of bullous pemphigoid: current and novel therapeutic targets. *Front Med (Lausanne).* 2023; 10: 1128154. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1128154>.

5. Yang M, Rui K, Wang S, Lu L. Regulatory B cells in autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol.* 2013; 10(2): 122-132. <https://doi.org/10.1038/cmi.2012.60>.

6. Cao T, Shao S, Fang H, Li B, Wang G. Role of regulatory immune cells and molecules in autoimmune bullous dermatoses. *Front Immunol.* 2019; 10: 1746. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01746>.

7. Liu Z, Dang E, Li B, et al. Dysfunction of CD19+CD24hiCD27+ B regulatory cells in patients with bullous pemphigoid. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 703. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19226-z>.

8. Hasan MM, Thompson-Snipes LA, Klintmalm G, et al. CD24hiCD38hi and CD24hiCD27+ human regulatory B cells display

common and distinct functional characteristics. *J Immunol.* 2019; 203(8): 2110-2120. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900488>.

9. Xu L, Liu X, Liu H, et al. Impairment of granzyme B-producing regulatory B cells correlates with exacerbated rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* 2017; 8:768. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00768>.

10. Masmoudi W, Vaillant M, Vassileva S, et al. International validation of the Bullous Pemphigoid Disease Area Index severity score and calculation of cut-off values for defining mild, moderate and severe types of bullous pemphigoid. *Br J Dermatol.* 2021; 184(6): 1106-1112. <https://doi.org/10.1111/bjd.19611>.

11. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol.* 1995; 57(1): 289-300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>.

12. Zhu X, Song Z, Zhang S, Nanda A, Li G. CD147: a novel modulator of inflammatory and immune disorders. *Curr Med Chem.* 2014; 21(19): 2138-2145. <https://doi.org/10.2174/0929867321666131227163352>.

13. Mol J, Kuiper J, Tsiantoulas D, Foks AC. The dynamics of B cell aging in health and disease. *Front Immunol.* 2021; 12:733566. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.733566>.

Summary

PHENOTYPIC ALTERATIONS OF PERIPHERAL BLOOD REGULATORY B-CELL SUBSETS IN PATIENTS WITH BULLOUS PEMPHIGOID

This study aimed to characterize peripheral regulatory B-cell subsets in patients with bullous pemphigoid (BP). 76 BP patients and 30 healthy controls were eligible for inclusion in this study and were analyzed by blood flow cytometry. The primary parameters evaluated were the frequencies of CD24^{hi}CD27⁺ Breg cells, IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ cells and CD147 mean fluorescence intensity (MFI). Group comparisons were performed using non-parametric tests with false discovery rate (FDR) correction, alongside multivariable logistic regression adjusted for age and sex. The proportion of CD24^{hi}CD27⁺ Breg cells were significantly higher in the BP group than in controls [Median (IQR): 15.25 (9.08 - 26.12)% vs. 8.71 (2.78 - 16.18)%; $p = 0.009$]. In contrast, the frequency of IgM⁺CD1d⁺CD147⁺ cells among total B cells was markedly lower in BP patients [0.85 (0.10 - 3.42)% vs. 3.09 (1.81 - 7.96)%; $p < 0.001$], accompanied by a significant reduction in CD147 MFI [49.60 (32.95 - 76.90) vs. 68.55 (55.60 - 154.50); $p < 0.001$]. Multivariable analysis revealed that these alterations were independently associated with BP risk. No significant correlation between these markers and BPDAl scores remained after FDR correction. BP is associated with a distinct peripheral Breg phenotypic imbalance, suggesting heterogeneous alterations among B-cell subsets with regulatory potential.

Keywords: Bullous pemphigoid, regulatory B cell, Breg, CD24^{hi}CD27⁺, CD147, flow cytometry.