

· 论著 ·

血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1对系统性红斑狼疮免疫功能、疾病活动度的影响

王晓娟* 邢广栋

濮阳市人民医院检验科(河南 濮阳 457000)

【摘要】目的 探究血清抗β2糖蛋白I抗体(anti-β2GPI)、卵泡抑素样蛋白(FSTL1)、程序性死亡受体1(PD-1)对系统性红斑狼疮(SLE)患者免疫功能、疾病活动度的影响。**方法** 选取我院2019年1月~2022年6月SLE患者113例作为观察组,另选取同期健康体检者105例作为对照组。比较两组、不同疾病活动度患者血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平,评价各血清指标与疾病活动度的关系,并根据观察组血清表达水平分为高表达者、低表达者,对比两者免疫功能(CD4+、CD8+、CD4+/CD8+),分析各血清指标与免疫功能相关性。**结果** 观察组血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1高于对照组($P<0.05$);血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1高表达患者CD4+、CD4+/CD8+低于低表达患者,CD8+高于低表达患者($P<0.05$);血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与CD4+、CD4+/CD8+呈负相关,与CD8+呈正相关($P<0.05$);血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平随疾病活动度增加呈升高趋势,且重度活动患者>中度活动患者>轻度活动患者>病情稳定患者($P<0.05$);血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与疾病活动度显著相关($P<0.05$)。**结论** 血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1高表达可能参与SLE患者细胞免疫功能紊乱、疾病活动度加重发生过程。

【关键词】 抗β2糖蛋白I抗体; 卵泡抑素样蛋白; 程序性死亡受体1; 系统性红斑狼疮; 免疫功能; 疾病活动度

【中图分类号】 R593.24+1

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.7.054

Effects of Serum Anti-β2GPI, FSTL1, PD-1 on Immune Function and Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

WANG Xiao-juan*, XING Guang-dong.

Clinical Laboratory, Puyang People's Hospital, Puyang 457000, Henan Province, China

Abstract: Objective To investigate the effects of serum anti-β2 glycoprotein I antibody (anti-β2GPI), follicle inhibin-like protein (FSTL1) and programmed death receptor 1 (PD-1) on immune function and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** From January 2019 to June 2022 in our hospital, 113 cases of SLE patients were selected as the observation group, and 105 healthy medical examinees were selected as the control group. Comparing the serum anti-β2GPI, FSTL1, PD-1 levels of the two groups and patients with different disease activities, and evaluating the relationship between each serum index and disease activity. According to the serum expression level of the observation group, they were divided into high-expressors and low-expressors. The immune functions (CD4+, CD8+, CD4+/CD8+) of the two were compared, and the correlation between each serum index and immune function was analyzed. **Results** The serum anti-β2GPI, FSTL1, and PD-1 in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$); patients with high expression of serum anti-β2GPI, FSTL1 and PD-1 had lower CD4+, CD4+/CD8+ than low-expression patients, and CD8+ was higher than low-expression patients ($P<0.05$); serum anti-β2GPI, FSTL1, PD-1 was negatively correlated with CD4+, CD4+/CD8+, and positively correlated with CD8+ ($P<0.05$); serum levels of anti-β2GPI, FSTL1 and PD-1 showed an increasing trend with the increase of disease activity, and patients with severe activity>patients with moderate activity>patients with mild activity>patients with stable condition ($P<0.05$); serum anti-β2GPI, FSTL1, and PD-1 were significantly correlated with disease activity ($P<0.05$). **Conclusion** The high expression of serum anti-β2GPI, FSTL1, and PD-1 may be involved in the occurrence of cellular immune dysfunction and increased disease activity in patients with SLE.

Keywords: Anti-β2 Glycoprotein I Antibody; Follicle-statin-like Protein; Programmed Death Receptor 1; Systemic Lupus Erythematosus; Immune Function; Disease Activity

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种以体内高滴度自身抗体为主要特征的自身免疫慢性炎症性疾病^[1-2],流行病学调查显示,全球SLE平均发病率为每年12/10万~39/10万,而我国则为13/10万~70.41/10万,以女性为主^[3]。SLE发病机制尚未完全阐明,近期研究证实^[4-5],机体对自身抗原的免疫耐受缺失,可诱导自身反应性淋巴细胞大量活化、增殖,产生大量自身抗体,释放过度炎症介质,最终摧毁多个靶器官,其中,免疫调节异常是SLE发生、发展的主要病理改变。另有学者发现, SLE患者抗β2糖蛋白1(β2 glycoprotein 1, β2GPI)抗体阳性率高达35.0%~45.0%^[6],并在多种自身免疫性疾病患者外周血清中发现抗卵泡抑素样蛋白(follistatin-like protein 1, FSTL1)抗体^[7]。而程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)通过结合其配体PD-L,参与传导负性协同刺激信号、阻断T、B淋巴细

胞增殖活化过程^[8]。然而有关anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与SLE患者细胞免疫之间关系尚未见报道。基于此,本研究尝试分析血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1对SLE患者免疫功能、疾病活动度的影响。详情如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取我院2019年1月~2022年6月SLE患者113例作为观察组,另选取同期健康体检者105例作为对照组。其中观察组:女108例,男5例,年龄27~53岁,平均(35.96±3.77)岁;病程0.2~4.8年,平均(2.58±1.14)年;体质量指数18.3~25.9kg/m²,平均(22.84±1.30)kg/m²;采用系统性红斑狼疮疾病活动度指数(systemic lupus erythematosus disease activity index, SLEDAI)评估疾病活动度:25例为病情稳定(SLEDAI评分0~4分)、

【第一作者】王晓娟,女,主管技师,主要研究方向:临检,微生物,PCR。E-mail: liyacai199005@163.com

【通讯作者】王晓娟

30例轻度活动(SLEDAI评分5~6分)、36例为中度活动(SLEDAI评分10~14分)、22例重度活动(SLEDAI评分≥15分);对照组:女101例,男4例,年龄28~55岁,平均(36.10±4.05)岁;体质量指数18.0~26.2kg/m²,平均(23.04±1.27)kg/m²。两组基本资料(年龄、性别、体质量指数)均衡可比(P>0.05)。本研究经我院医学伦理委员会审批同意。

纳入标准:观察组符合以下临床症状及体征、实验室检查6项者即可证实为SLE:临床症状及体征:面颊蝶形或盘形红斑、脱发、雷诺氏现象或血管炎、口腔黏膜溃疡、光过敏;实验室检查:血沉升高;白细胞、血小板下降;蛋白尿或管型尿;溶血性贫血;经细菌培养显示狼疮细胞呈阳性、抗核抗体呈阳性;两组临床资料完整,并经患者及家属签署知情同意书。排除标准:非SLE所致靶器官功能障碍者;近4周内有无免疫抑制剂、糖皮质激素等药物服用史者;处于产褥期、哺乳期等特殊时期女性;合并甲状腺功能减退、垂体瘤等所致高泌乳素血症者;精神行为异常者。

1.2 方法 空腹取5 mL静脉血:(1)离心12 min,3000 r/min,分离取血清,置于-80℃低温保存。采用酶标仪(型号:MR-96A)以酶联免疫吸附试验检测血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1,仪器购自南京贝登医疗股份有限公司,试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,具体操作:取出所需板条,设置标准品孔、样本孔,除空白孔外,于标准品孔中分别加入50 μL不同浓度标准品,样本孔中加入待测样本50 μL,并于标准品孔、样本孔内分别加入100 μL辣根过氧化物酶标记的检测抗体,封住反应孔,37℃条件下温育1 h。弃去液体,拍干,每孔加入350 μL洗涤液,静置60 s,甩去洗涤液,拍干,循环5次。每孔分别加入50 μL底物A、B,37℃避光条件下孵育15 min,加入终止液50 μL,15 min内测量吸光度值。(2)加入CD4-PE,CD8-ECD单克隆抗体,各5 μL,震荡混匀后常温避光孵育20 min,加入300 μL红细胞裂解液,孵育10 min,加入1.5 mL磷酸缓冲盐溶液洗涤1次,1 000 r/min,离心5 min,弃上清,加入500 μL磷酸缓冲盐溶液,震荡混匀后上机,采用流式细胞仪(型号:CytomicsTMFC 500)检测CD4+、CD8+、CD4+/CD8+水平,仪器购自常州必达生物科技有限公司,严格按照仪器说明书操作。

1.3 观察指标 (1)比较两组血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平。(2)比较不同血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1表达患者免疫功能(CD4+、CD8+、CD4+/CD8+)。(3)分析血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与免疫功能(CD4+、CD8+、CD4+/CD8+)相关性。(4)比较不同疾病活动度患者血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平。(5)分析血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与疾病活动度的关系。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0软件分析处理数据,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,t检验,方差不齐采用t'检验,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用LSD-t检验,计数资料用n(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用Logistic进行多因素回归分析,采用Pearson进行线性相关性分析,P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平 由表1可知,观察组血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1高于对照组(P<0.05)。

2.2 不同血清水平患者免疫功能 由表2可知,血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1高表达患者CD4+、CD4+/CD8+低于低表达患者,CD8+高于低表达患者(P<0.05)。

2.3 血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与免疫功能相关性 由图1-3可知,Pearson线性相关性分析,血清anti-β2GPI(r=-0.415、-0.309、0.384)、FSTL1(r=-0.506、-0.530、0.552)、PD-1(r=-0.543、-0.491、0.563)与CD4+、CD4+/CD8+呈负相关,与CD8+呈正相关(P<0.05)。

2.4 不同疾病活动度患者各血清指标水平 由表3可知,单因素方差分析,不同疾病活动度患者血清anti-β2GPI、FSTL1、

PD-1水平比较,差异有统计学意义(P<0.05);血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平随疾病活动度增加呈升高趋势(P<0.05)。

2.5 各血清指标与疾病活动度的关系 由表4可知,Logistic多因素回归分析显示,血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与疾病活动度显著相关(P<0.05)。

表1 两组血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平比较

组别	例数	anti-β2GPI(U/mL)	FSTL1(ng/mL)	PD-1(ng/mL)
观察组	113	10.71±3.04	20.23±5.27	2.68±0.82
对照组	105	3.10±1.02	13.40±3.86	1.20±0.37
t'		24.403	10.848	16.958
P		<0.001	<0.001	<0.001

表2 不同血清水平患者免疫功能比较

指标	组别	例数	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+
anti-β2GPI (U/mL)	高表达患者	60	26.41±3.92	27.73±3.16	0.95±0.21
	低表达患者	53	30.42±4.15	24.46±3.31	1.24±0.23
	t		5.279	5.369	7.006
	P		<0.001	<0.001	<0.001
FSTL1(ng/mL)	高表达患者	62	26.25±4.03	27.39±2.33	0.96±0.20
	低表达患者	51	30.77±4.41	25.06±2.19	1.23±0.24
	t		5.686	5.434	6.524
	P		<0.001	<0.001	<0.001
PD-1(ng/mL)	高表达患者	65	26.18±4.10	27.58±3.02	0.95±0.22
	低表达患者	48	31.15±4.57	24.94±2.40	1.25±0.26
	t		6.066	5.000	6.630
	P		<0.001	<0.001	<0.001

表3 不同疾病活动度患者血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1水平比较

组别	例数	anti-β2GPI(U/mL)	FSTL1(ng/mL)	PD-1(ng/mL)
病情稳定患者	25	7.45±1.17	16.19±2.43	1.82±0.37
轻度活动患者	30	9.26±1.46	19.07±2.71	2.31±0.42
中度活动患者	36	11.34±2.23	21.44±3.01	2.93±0.51
重度活动患者	22	15.36±3.01	24.42±3.26	3.75±0.74
F		64.813	36.024	62.678
P		<0.001	<0.001	<0.001

表4 血清anti-β2GPI、FSTL1、PD-1与疾病活动度的关系

变量	β	S.E.	Wald χ^2	P	OR	95%CI
anti-β2GPI	1.075	0.391	7.553	<0.001	2.929	1.609~5.331
FSTL1	1.439	0.406	12.561	<0.001	4.216	1.826~9.735
PD-1	1.775	0.547	10.530	<0.001	5.900	3.114~11.180

3 讨论

相关研究表明,免疫功能紊乱是导致SLE病理性自身抗体产生的主要原因^[9-10],免疫复合物沉积或抗体直接侵袭会引发中小血管管壁炎症,甚至坏死,继发血栓,加重局部组织缺血、功能障碍,从而诱发机体多系统、多脏器损害。因此早期评估SLE患者免疫功能对促进预后改善具有重要意义。

已有研究证实^[11],共刺激分子PD1/PD-L1是维持免疫细胞激活、功能的关键因素。Wang J F等^[12]研究还认为,中性粒细胞表达的PD-L1对T细胞信号具有负向传递作用。通过Pearson线性相关性分析,血清PD-1与CD4+、CD4+/CD8+存在负相关关系,与CD8+存在正相关关系。SLE患者血清PD-L1升高,一定程度会抑制PD-1/PD-L1相互作用,进而抑制负性调控信号传导,诱导T细胞过度活化、增殖,刺激转录激活因子的磷酸化,降低Treg免

疫抑制活性,进而引发自身组织免疫损伤。提示SLE患者发生免疫功能紊乱时,血清PD-1水平上调,参与T细胞活性的调控。另外,姚芳苒等^[13]采用流式细胞仪检测发现,PD-L1+中性粒细胞百分率与SLE患者病情活动度及严重程度具有一定关联性,推测其水平上升是机体为抑制过强自身免疫反应所致严重组织损伤而产生的负向反馈调节。通过Logistic多因素分析进一步证实,血清PD-1水平高表达是SLE疾病活动度加重的独立危险因素,可见SLE患者血清PD-1水平上调与疾病活动度相关,可作为临床评估SLE患者病情活动的一项有力指标。

安宏玉等^[14]报道指出,FSTL1在除淋巴细胞、单核细胞外所有器官与组织中广泛表达,可通过调节白介素、肿瘤坏死因子及基质金属蛋白酶等免疫因子,参与细胞免疫反应过程。通过酶联免疫吸附试验检测可知,血清FSTL1高表达,可能诱导SLE患者CD4+、CD4+/CD8+、CD8+异常表达,分析机制在于:血清FSTL1上调可通过旁分泌方式,降低巨噬细胞抗原呈递能力,抑制巨噬细胞免疫功能^[15-16],增强效应T细胞活性,诱导机体免疫失衡,加重免疫细胞周期紊乱,提高免疫病理损伤发生风险,促进疾病发生、发展。Hayakawa S等^[17]实验还显示,将重组FSTL1加入体外人工培养系膜细胞内,有利于抑制TNF- α 诱导炎症因子表达,在肾脏损伤中发挥重要抗炎作用。然而对比研究发现,血清FSTL1水平随疾病活动度增加呈明显升高趋势,与上述

研究存在差异,可能与FSTL1具有抗炎、促炎双重机制有关,过量FSTL1通过介导转化生长因子 β /SMAD信号通路,可释放炎症细胞因子与趋化因子,激活机体炎症反应,加重机体免疫细胞紊乱,进一步加快SLE疾病活动。

anti- β 2GPI是抗心磷脂抗体的主要靶抗原,秦韬等^[18]研究认为,anti- β 2GPI通过抑制活化蛋白C,可阻止血小板聚集,负反馈调节纤溶机制,加速单核细胞黏附,促进巨噬细胞摄取氧化低密度脂蛋白,活化血小板。本研究表明,血清anti- β 2GPI上调可能参与SLE患者CD4+、CD4+/CD8+、CD8+水平的调控。 β 2GPI及anti- β 2GPI可形成抗原抗体复合物,活化血小板,调节吞噬细胞吞噬过程,增强T淋巴细胞、B淋巴细胞活性,诱导树突细胞、巨噬细胞释放肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素1 β 等炎症细胞因子,进而介导内皮细胞损害、细胞凋亡、凝血纤溶异常等引发一系列细胞内信号传导,诱发瀑布式炎症反应与组织损伤。研究进一步证实,血清anti- β 2GPI水平随疾病活动度增加呈升高趋势,与张文兰等^[19]结果一致,可能与anti- β 2GPI可将血小板抗原传递给树突细胞等抗原递呈细胞,对SLE病情造成二次打击,从而加重SLE顽固免疫紊乱,参与狼疮性肾炎、肺动脉高压等SLE多脏器损害过程有关。

综上所述,血清anti- β 2GPI、FSTL1、PD-1高表达可能参与SLE患者细胞免疫功能紊乱、疾病活动度加重的发生过程。

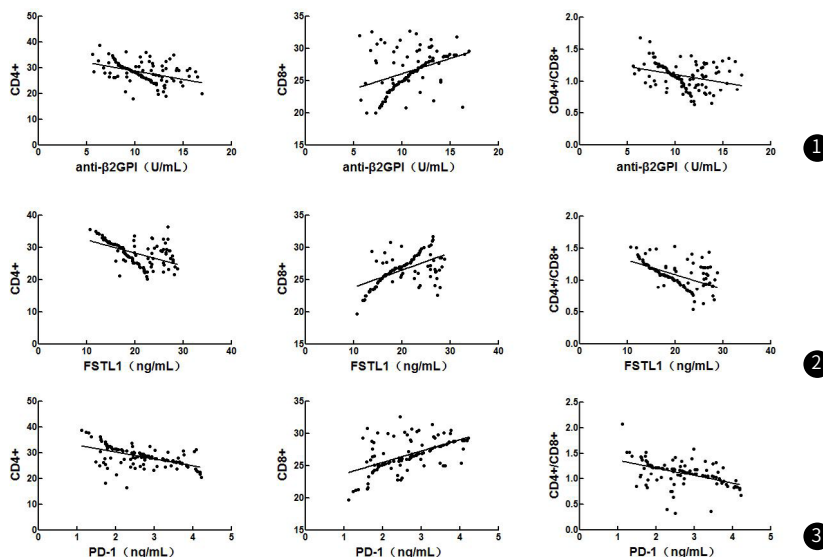


图1 血清anti- β 2GPI与免疫功能相关性。图2 血清FSTL1与免疫功能相关性。图3 血清PD-1与免疫功能相关性。

参考文献

- [1] Yelin E, Yazdany J, Trupin L. Relationship between process of care and a subsequent increase in damage in systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2017, 69 (6): 927-932.
- [2] Shinde R, Hezaveh K, Halaby M J, et al. Apoptotic cell-induced AhR activity is required for immunological tolerance and suppression of systemic lupus erythematosus in mice and humans [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19 (6): 571-582.
- [3] 殷丽丽, 王心怡, 徐莉. 抗 β 2糖蛋白I抗体在系统性红斑狼疮患者中的表达及与实验室指标的关系 [J]. *国际免疫学杂志*, 2019, 42 (4): 343-346.
- [4] Huang H T, Chen J M, Guo J, et al. The association of interleukin-31 polymorphisms with interleukin-31 serum levels and risk of systemic lupus erythematosus [J]. *Rheumatol Int*, 2016, 36 (6): 799-805.
- [5] 李秋钰, 于峰. 抗C反应蛋白自体抗体在系统性红斑狼疮中的研究进展 [J]. *中国医学科学院学报*, 2019, 41 (5): 678-684.
- [6] 高振庄, 梁妍, 李伟, 等. T细胞亚群和TSP-1、 β 2-GPI-Ab检测在系统性红斑狼疮中的诊断价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40 (24): 3041-3044.
- [7] 张红, 胡晓霞, 洛若愚, 等. 卵泡抑素样蛋白1与宫颈鳞癌高危型HPV感染关联性研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2019, 26 (10): 675-681.
- [8] Chen K, Cheng G, Zhang F, et al. Prognostic significance of programmed death-1 and programmed death-ligand 1 expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (21): 30772-30780.
- [9] Khamashta M, Merrill J T, Werth V P, et al. Sifalimumab, an anti-interferon- α monoclonal antibody, in moderate to severe systemic lupus erythematosus: a randomised, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75 (11): 1909-1916.
- [10] He J, Zhang X, Wei Y, et al. Low-dose interleukin-2 treatment selectively

modulates CD4+ T cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Nat Med*, 2016, 22 (9): 991-993.

- [11] 贺庆, 高华, 王军志. PD-1基因多态性与相关疾病易感性的分析 [J]. *中国新药杂志*, 2019, 28 (21): 2553-2561.
- [12] Wang J F, Li J B, Zhao Y J, et al. Up-regulation of programmed cell death 1 ligand 1 on neutrophils may be involved in sepsis-induced immunosuppression: an animal study and a prospective case-control study [J]. *Anesthesiology*, 2015, 122 (4): 852-863.
- [13] 姚芳苒, 黄自坤, 李雪, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血中性粒细胞PD-L1表达和临床意义 [J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52 (5): 740-745.
- [14] 安宏玉, 余莲, 田畔. 颗粒蛋白前体及卵泡抑素样蛋白1在系统性红斑狼疮患者血清中表达水平及临床意义 [J]. *免疫学杂志*, 2017, 33 (7): 612-618.
- [15] Jiang H, Zhang L, Liu X, et al. Angiocrine FSTL1 (follistatin-like protein 1) insufficiency leads to atrial and venous wall fibrosis via SMAD3 activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40 (4): 958-972.
- [16] 柳亚慧. TSLP结合人肺成纤维细胞表面受体通过p38-STAT3信号通路诱导哮喘气道重塑的作用机制研究 [D]. *山东大学*, 2018: 1-57.
- [17] Hayakawa S, Ohashi K, Shibata R, et al. Cardiac myocyte-derived follistatin-like 1 prevents renal injury in a subtotal nephrectomy model [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26 (3): 636-646.
- [18] 秦韬, 杨峻, 全裔, 等. 抗心磷脂抗体及抗 β 2糖蛋白I抗体对系统性红斑狼疮患者发生血栓并发症的预测价值 [J]. *血栓与止血学*, 2019, 25 (5): 738-740, 743.
- [19] 张文兰, 白力, 胡同平. 抗IgG、IgM、IgA型心磷脂抗体和抗 β 2糖蛋白I抗体在系统性红斑狼疮患者中的意义 [J]. *免疫学杂志*, 2017, 33 (1): 59-62.

(收稿日期: 2023-05-25)

(校对编辑: 韩敏求)