

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170810.019

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170810.1040.038.html>

狼疮肾炎患者外周血中 ICOS、OX40、CD40 表达量与病情活动的相关性研究

彭 薇, 申利平

(四川省自贡市第一人民医院血液风湿免疫科, 四川 自贡 643000)

[摘要] **目的:** 研究狼疮肾炎(LN)患者外周血中 ICOS、OX40、CD40 表达量与病情活动的相关性。**方法:** 选择在本院诊断为稳定期狼疮性肾炎患者和活动性狼疮性肾炎患者, 分别作为稳定期 LN 组和活动性 LN 组; 选择同期体检的健康志愿者作为对照组。测定外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量及血清中细胞因子、病情活动相关指标的含量。**结果:** 稳定期 LN 组和活动性 LN 组患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量以及血清中 IL-4、IL-5、IL-10、抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量均显著高于对照组, 血清中 TNF- α 、IFN- γ 、C3、C4 的含量均显著低于对照组; 活动性 LN 组患者的上述变化较稳定期 LN 组更为显著; LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量与血清中 IL-4、IL-5、IL-10、抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量呈正相关, 与血清中 TNF- α 、IFN- γ 、C3、C4 的含量呈负相关。**结论:** LN 患者外周血中 ICOS、OX40、CD40 的高表达与 Th1/Th2 的偏移、病情的活动密切相关。

[关键词] 狼疮性肾炎; ICOS; OX40; CD40; 辅助性 T 细胞

[中图分类号] R692.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)15-2067-04

Correlation of peripheral blood COS, OX40 and CD40 expression with disease activity in patients with lupus nephritis

PENG Wei, SHEN Li-ping

(Department of Blood Rheumatology and Immunology, Zigong First People's Hospital in Sichuan Province, Zigong City, Sichuan Province, 643000, China)

[Foundation Project]: This study was supported by project of Zigong Science and Technology Bureau (20165236).

[Author]: PENG Wei (1980-), Female, Zigong Sichuan, M.M., Attending physician, Tel: 15008118227, E-mail: 15008118227@163.com.

Received: 2017-07-19 Revised: 2017-07-28

JHMC, 2017; 23(15): 2067-2070

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] Objective: To study the correlation of peripheral blood COS, OX40 and CD40 expression with disease activity in patients with lupus nephritis (LN). **Methods:** Patients who were diagnosed with stable and active lupus nephritis in Zigong First People's Hospital were selected as stable LN group and active LN group respectively; healthy volunteers who received physical examination during the same period were selected as control group. The ICOS, OX40 and CD40 mRNA expression in peripheral blood nuclear cells as well as the levels of cytokines and disease activity-related indexes in serum were measured. **Results:** ICOS, OX40 and CD40 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells as well as IL-4, IL-5, IL-10, anti-C1q antibody and anti-ds-DNA antibody levels in serum of stable LN group and active LN group were significantly higher than those of control group, while TNF- α , IFN- γ , C3 and C4 levels in serum were significantly lower than those of control group; changes in active LN group were more significant than those in stable LN group; ICOS, OX40 and CD40 mRNA expression in pe-

[基金项目] 自贡市科技局课题项目(20165236)

[作者简介] 彭薇(1980-), 女, 四川自贡人, 硕士, 主治医师, 电话: 15008118227, E-mail: 15008118227@163.com.

[收稿日期] 2017-07-19 [修回日期] 2017-07-28 网络出版时间: 2017-08-10 10:40:55

ipheral blood mononuclear cells of patients with LN were positively correlated with IL-4, IL-5, IL-10, anti-C1q antibody and anti-ds-DNA antibody levels in serum, and negatively correlated with TNF- α , IFN- γ , C3 and C4 levels in serum. **Conclusion:** High expression of ICOS, OX40 and CD40 in the peripheral blood of patients with LN are closely related to the Th1/Th2 shifting and the disease activity.

[KEY WORDS] Lupus nephritis; ICOS; OX40; CD40; Lelper T cell

系统性红斑狼疮(SLE)是常见的自身免疫性疾病,以自身抗体生成及外周免疫复合物形成增多为主要特征,B淋巴细胞增殖和分化的异常被认为与SLE的病情发展变化密切相关^[1,2]。在B淋巴细胞发挥免疫应答的过程中,CD4+T细胞起到辅助调节作用,能够合成和分泌多种细胞因子来影响B淋巴细胞的增殖和分化。SLE多合并存在肾脏损害,又被称为狼疮性肾炎(LN),是目前SLE患者死亡的首要原因^[3,4]。目前,关于LN病情发展变化过程中CD4+T细胞功能的变化情况及具体机制仍未明确。ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L是影响淋巴细胞分化的重要协同刺激信号^[5],我们在下列研究中分析了LN患者外周血中ICOS、OX40、CD40表达量与病情活动的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

入组患者为2014年5月-2017年3月期间在自贡市第一人民医院诊断为狼疮性肾炎的患者,所有患者均符合狼疮性肾炎的诊断且排除各种原发性、继发性肾脏疾病,包括稳定期狼疮性肾炎患者35例、活动性狼疮性肾炎患者52例,分别作为研究的稳定期LN组和活动性LN组。稳定期LN组患者的SLEDAI<4分,包括男性22例,女性13例,年龄42~59岁;活动性LN组患者的SLEDAI \geq 4分,包括男性30例,女性22例,年龄41~60岁。选择同期体检的健康志愿者50例作为对照组,包括男性29例,女性21例,年龄40~60岁。三组受试者一般资料的比较无显著性差异($P>0.05$)。

1.2 研究方法

1.2.1 外周血中协同刺激分子表达量的检测方法 稳定期LN组和活动性LN组患者入院时采集肘静脉血3 mL,对照组志愿者体检时采集肘静脉血3 mL,EDTA抗凝后加入Ficoll分离液,离心后分离得到外周血单个核细胞,抽提细胞中的RNA后进行荧光定量PCR反应,根据反应曲线计算ICOS、OX40、CD40的mRNA表达量。

1.2.2 血清中细胞因子及病情活动相关指标的检测方法 稳定期LN组和活动性LN组患者入院时采集肘静脉血6~8 mL,对照组志愿者体检时采集肘静脉血6~8 mL,室温静置20分钟后离心,分离血清后采用酶联免疫吸附试剂盒测定TNF- α 、IFN- γ 、IL-4、IL-5、IL-10、抗C1q抗体、抗ds-DNA抗体、C3、C4的含量。

1.3 统计学方法

采用SPSS20.0软件录入数据并进行分析,三组间计量资料的比较采用方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血中协同刺激分子的表达量

稳定期LN组和活动性LN组患者外周血单个核细胞中ICOS、OX40、CD40的mRNA表达量均显著高于对照组,活动性LN组患者外周血单个核细胞中ICOS、OX40、CD40的mRNA表达量均显著高于稳定期LN组。三组受试者外周血单个核细胞中ICOS、OX40、CD40 mRNA表达量两两比较的差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 各组受试者外周血单个核细胞中协同刺激分子的表达量($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ICOS	OX40	CD40
稳定期LN组	35	1.84 \pm 0.26*	2.17 \pm 0.32*	1.72 \pm 0.24*
活动性LN组	52	2.89 \pm 0.45* ^a	3.84 \pm 0.55* ^a	3.28 \pm 0.56* ^a
对照组	50	1.02 \pm 0.16	1.05 \pm 0.18	0.98 \pm 0.14

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与稳定期LN组比较,^a $P<0.05$ 。

2.2 血清中Th1和Th2细胞因子的含量

稳定期LN组和活动性LN组患者血清中TNF- α 、IFN- γ 的含量均显著低于对照组,IL-4、IL-5、IL-10的含量均显著高于对照组;活动性LN组患者血清中TNF- α 、IFN- γ 的含量均显著低于稳定期LN组,IL-4、IL-5、IL-10的含量均显著高于稳定期LN组。三组受试者血清中TNF- α 、IFN- γ 、IL-4、IL-5、IL-10含量两两比较的差异有统计学意义($P<0.05$)。

Pearson相关性分析显示:LN患者外周血单个核细胞中ICOS、OX40、CD40的mRNA表达量与Th1细胞因子TNF- α 、IFN- γ 的含量呈负相关,与Th2细胞因子IL-4、IL-5、IL-10的含量呈正相关。

表2 各组受试者血清中Th1和Th2细胞因子的含量(pg/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	Th1 细胞因子		Th2 细胞因子		
		TNF- α	IFN- γ	IL-4	IL-5	IL-10
稳定期LN组	35	29.44 \pm 3.72*	5.72 \pm 0.89*	12.51 \pm 1.94*	13.29 \pm 1.88*	22.31 \pm 3.48*
活动性LN组	52	22.14 \pm 3.53* ^a	4.42 \pm 0.62* ^a	19.44 \pm 2.57* ^a	20.58 \pm 3.14* ^a	36.69 \pm 5.21* ^a
对照组	50	45.26 \pm 6.72	10.25 \pm 1.62	8.21 \pm 1.02	7.93 \pm 0.94	13.21 \pm 1.78

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与稳定期LN组比较,^a $P<0.05$ 。

2.3 血清中病情活动相关指标

三组受试者血清中病情活动相关指标抗 C1q 抗体(RU/mL)、抗 ds-DNA 抗体、C3、C4 含量的分析如下:稳定期 LN 组和活动性 LN 组患者血清中抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量均显著高于对照组,血清中 C3、C4 的含量均显著低于对照组;活动性 LN 组患者血清中抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量均显著高于稳定期 LN 组,血清中 C3、C4 的含量均显著低于稳定期 LN 组。三组受试者血清中抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体、C3、C4 含量两两比较的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组受试者血清中病情活动相关指标的含量(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	抗 C1q 抗体	抗 ds-DNA 抗体	C3	C4
稳定期 LN 组	35	20.32±3.26 *	40.32±4.57 *	0.51±0.08 *	0.20±0.03 *
活动性 LN 组	52	29.51±4.41 * a	56.39±8.21 * a	0.34±0.07 * a	0.13±0.02 * a
对照组	50	13.52±1.88	23.41±3.59	0.89±0.11	0.29±0.04

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与稳定期 LN 组比较, a $P < 0.05$ 。

3 讨论

多种自身抗体生成、循环免疫复合物形成是 SLE 的特征,可累及多系统、多脏器并引起功能损害。狼疮性肾炎是 SLE 最常见累及的靶器官,循环免疫复合物在肾脏沉积是造成肾功能损伤的重要病理因素。ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 是体内调控免疫应答重要的共刺激信号,已有研究证实,外周血单个核细胞中协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强与 SLE 的发生密切相关^[5-7],为了进一步明确上述协同刺激信号与 LN 发生及发展的关系,我们对活动期 LN 患者及稳定性 LN 患者外周血中 ICOS、OX40、CD40 的表达量进行了分析,结果显示:稳定期 LN 组和活动性 LN 组患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量均显著高于对照组且活动性 LN 组患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量均显著高于稳定期 LN 组。这就说明外周血单个核细胞中协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强不仅与 SLE 的发生有关,还与 LN 的发生及病情的发展密切相关。

在 SLE 及 LN 的病情发展变化过程中,B 淋巴细胞的分化和增殖能够合成和分泌大量的自身抗体,而 CD4+ 辅助性 T 细胞亚群对 B 淋巴细胞分化和增殖的调控具有至关重要的作用^[8]。Th1 和 Th2 是重要的 CD4+ T 细胞亚群,Th1/Th2 平衡的偏移会造成免疫应答紊乱并影响 B 淋巴细胞的分化和增殖,进而造成自身抗体合成和分泌的改变。Th1 细胞能够合成 TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子,能够增强细胞免疫应答并抑制体液免疫应答^[9];Th2 细胞能够

合成 IL-4、IL-5、IL-10 等细胞因子,对 B 淋巴细胞的分化、体液免疫应答的激活、自身抗体的分泌均具有促进作用^[10]。我们通过分析活动期 LN 患者及稳定性 LN 患者血清中上述 Th1 和 Th2 细胞因子的含量可知:稳定期 LN 组和活动性 LN 组患者血清中 TNF- α 、IFN- γ 的含量均显著低于对照组,IL-4、IL-5、IL-10 的含量均显著高于对照组且活动性 LN 组患者血清中 TNF- α 、IFN- γ 的含量均显著低于稳定期 LN 组,IL-4、IL-5、IL-10 的含量均显著高于稳定期 LN 组。这就说明 Th1/Th2 的平衡向 Th2 的偏移与 LN 的发生及病情的发展密切相关。

协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 主要参与体内辅助性 T 细胞亚群分化的调节。ICOS 与配体 ICOSL 结合、OX40 与配体 OX40L 结合后能够促进 Th0 细胞向 Th2 分化,同时也能刺激 B 淋巴细胞的分化成熟^[11、12];CD40 与配体 CD40L 则主要介导淋巴细胞向病灶的迁移和浸润,增加循环免疫复合物在肾脏病灶内的沉积^[13]。为了明确协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 对 LN 患者病情发展变化过程中 Th1 和 Th2 分化的影响,我们分析了 LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的表达量与 Th1 细胞因子、Th2 细胞因子含量的关系,结果显示:LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量与 Th1 细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 的含量呈负相关,与 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5、IL-10 的含量呈正相关。这就说明 LN 患者体内协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强能够影响 CD+ T 细胞亚群 Th1 和 Th2 的分化,造成 Th1/Th2 的平衡向 Th2 偏移。

在 LN 的病情活动过程中,抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 等自身抗体发挥了重要作用,抗 C1q 抗体能够参与补体经典途径的启动并促进循环免疫复合物的形成,抗 ds-DNA 抗体能够诱导肾小球免疫复合物的沉积及肾损伤的发生^[14-16]。在循环免疫复合物形成的过程中,补体的激活会造成血液循环中 C3、C4 的降低^[17]。我们通过分析血清中上述病情活动相关指标的含量可知:稳定期 LN 组和活动性 LN 组患者血清中抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量均显著高于对照组,血清中 C3、C4 的含量均显著低于对照组;活动性 LN 组患者血清中抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量均显著高于稳定期 LN 组,血清中 C3、C4 的含量均显著低于稳定期 LN 组。这就说明自身抗体分泌增多、补体消耗增多与 LN 的发生

及病情的发展密切相关。进一步分析 LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的表达量与病情活动相关指标含量的相关性可知:LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量与抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量呈正相关,与 C3、C4 的含量呈负相关。这就说明 LN 患者体内协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强能够与病情的进展密切相关。

LN 患者外周血中协同刺激信号分子 ICOS、OX40、CD40 的表达显著升高;协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强与 Th1/Th2 的偏移、病情的活动密切相关。

参考文献

- Morawski PA, Bolland S. Expanding the B Cell-Centric View of Systemic Lupus Erythematosus [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(5):373-382.
- Rubtsova K, Rubtsov AV, Thurman JM, et al. B cells expressing the transcription factor T-bet drive lupus-like autoimmunity [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1392-1404.
- Kothari R, Digole A, Kamat S, et al. Reproductive Health in Systemic Lupus Erythematosus, An experience from Government Hospital in Western India[J]. *J Assoc Physicians India*, 2016, 64(12):16-20.
- Moroni G, Ponticelli C. Synthetic pharmacotherapy for lupus nephritis [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2017, 18(2):175-186.
- 邵康,张晨星,赵莉,等. ICOS/ICOSL、OX40/OX40L 及 CD40/CD40L 在系统性红斑狼疮患者外周血表达水平及其临床意义 [J]. *现代免疫学*, 2016, 36(4):299-304.
- Duarte JH. Connective tissue diseases; ICOS sustains pathogenic T-cell survival in SLE mouse model [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(5):260.
- Chen JM, Guo J, Wei CD, et al. The association of CD40 polymorphisms with CD40 serum levels and risk of systemic lupus erythematosus [J]. *BMC Genet*, 2015, 16(16): 121.
- Sigdel KR, Duan L, Wang Y, et al. Serum Cytokines Th1, Th2, and Th17 Expression Profiling in Active Lupus Nephritis-IV: From a Southern Chinese Han Population [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016:4927530.
- Tshilela KA, Ikeuchi H, Matsumoto T, et al. Glomerular cytokine expression in murine lupus nephritis [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2016, 20(1): 23-29.
- Piantoni S, Andreoli L, Scarsi M, et al. Phenotype modifications of T-cells and their shift toward a Th2 response in patients with systemic lupus erythematosus supplemented with different monthly regimens of vitamin D [J]. *Lupus*, 2015, 24(4-5): 490-498.
- Jacquemin C, Schmitt N, Contin-Bordes C, et al. OX40 Ligand Contributes to Human Lupus Pathogenesis by Promoting T Follicular Helper Response [J]. *Immunity*, 2015, 42(6): 1159-1170.
- Mittereder N, Kuta E, Bhat G, et al. Loss of Immune Tolerance Is Controlled by ICOS in Sle1 Mice [J]. *J Immunol*, 2016, 197(2): 491-503.
- Xu H, Liu J, Cui X, et al. Increased frequency of circulating follicular helper T cells in lupus patients is associated with autoantibody production in a CD40L-dependent manner [J]. *Cell Immunol*, 2015, 295(1):46-51.
- 张铭明,张锐,肖会,等. 血清抗 C1q 抗体在系统性红斑狼疮患者中的临床价值 [J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(6):900-903.
- 古再丽努尔·赛来阿吉木,王梅红,米娜瓦儿·玉诺斯,等. 狼疮性肾炎患者肾组织中抗-C1q 抗体与疾病活动性的关系研究 [J]. *中国全科医学*, 2016, 19(29):3545-3548.
- 崔婵娟,柏明见,冯珍如,等. 血清抗 C1q 抗体在评价系统性红斑狼疮活动性及狼疮性肾炎病理分型中的临床意义 [J]. *中国全科医学*, 2014, 17(17): 1989-1993.
- Garabet L, Gilboe IM, Mowinckel MC, et al. Antiphospholipid Antibodies are Associated with Low Levels of Complement C3 and C4 in Patients with Systemic Lupus Erythematosus [J]. *Scand J Immunol*, 2016, 84(2):95-99.
- Castiglione R, Salemi M, Vicari LO, et al. Relationship of semen hyperviscosity with IL-6, TNF- α , IL-10 and ROS production in seminal plasma of infertile patients with prostatitis and prostatitis-vesiculitis [J]. *Andrologia*, 2014, 46(10): 1148-1155.
- Hajighorbani M, Ahmadi-Hamedani M, Shahab E, et al. Evaluation of the protective effect of pentoxifylline on carrageenan-induced chronic non-bacterial prostatitis in rats [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25(3): 343-350.
- Hu Y, Niu X, Wang G, et al. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome impairs erectile function through increased endothelial dysfunction, oxidative stress, apoptosis, and corporal fibrosis in a rat model [J]. *Andrology*, 2016, 4(6): 1209-1216.
- Jia YL, Liu X, Yan JY, et al. The alteration of inflammatory markers and apoptosis on chronic prostatitis induced by estrogen and androgen [J]. *Int Urol Nephrol*, 2015, 47(1): 39-46.
- Zhang Y, Huang H, Zhou H, et al. Activation of nuclear factor κ B pathway and downstream targets survivin and livin by SHARPIN contributes to the progression and metastasis of prostate cancer [J]. *Cancer*, 2014, 120(20): 3208-3218.
- Lee JC, Shin EA, Kim B, et al. Auraptene Induces Apoptosis via Myeloid Cell Leukemia 1-Mediated Activation of Caspases in PC3 and DU145 Prostate Cancer Cells [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(6): 891-898.

(上接第 2066 页)