

论著 · 临床研究

系统性红斑狼疮患者外周血 B 细胞中 PD-L1 的表达及临床意义

陆 燕,覃小升[△]

(来宾市兴宾区人民医院检验科,广西来宾 546100)

摘 要:**目的** 探讨系统性红斑狼疮(SLE)患者外周血中 B 细胞表达程序性死亡分子配体 1(PD-L1)的水平与狼疮病情活动程度及肾脏损伤程度的关系。**方法** 选择 2015 年 5 月至 2017 年 5 月期间 50 例在该院诊断为 SLE 的患者作为研究对象,并以 20 例健康体检人群为对照组,所有患者均进行狼疮活动度评分,采用流式细胞仪检测 B 细胞中 PD-L1 表达水平,探讨 SLE 患者 B 细胞 PD-L1 与患者病情活动评分及肾脏损伤的关系。**结果** SLE 活动期患者 CD19⁺ 占 B 细胞总数的比例为(11.35±3.65)%,PD-L1 在 CD19⁺ B 细胞表达的阳性率为(2.47±0.89)%,明显高于非活动期患者及对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);根据 CD19⁺ 和 CD19⁺/PD-L1 的中位数水平将患者分为低水平和高水平组,CD19⁺ 高水平组和 CD19⁺/PD-L1 高水平的患者肾损伤的发生率明显更高,CD19⁺/PD-L1、狼疮性肾炎(LN)Ⅳ期是患者肾功能不全发生的独立危险因素。**结论** SLE 患者外周 CD19⁺/PD-L1 的水平显著增加并与疾病的活动程度及肾脏损伤密切相关,是患者肾功能不全的独立危险因素。

关键词: 系统性红斑狼疮; 程序性死亡分子配体 1; 肾脏损伤; 疾病活动程度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.04.017

中图法分类号:R593.24

文章编号:1673-4130(2019)04-0445-03

文献标识码:A

Expression and clinical relevance of PD-L1 on circulating B cells in patients with systemic lupus erythematosus

LU Yan, QIN Xiaosheng[△]

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital in Xingbin

District, Laibin, Guangxi 546100, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the levels of programmed death ligand 1(PD-L1) on circulating B cells and disease severity as well as renal injury of patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** 50 patients with SLE were enrolled from May 2015 to May 2017, and 20 healthy individuals were enrolled as the control group. All patients were scored for their disease severity and renal injury. The expression of PD-L1 on circulating B cells were evaluated by flow cytometry. **Results** In the group of patients with active SLE, the percentage of CD19⁺ in B cells was (11.35±3.65)% and the percentage of in CD19⁺ B cells was (2.47±0.89)%, both of which were significantly higher than that in the group of patients with non-active SLE and control group ($P<0.05$). In addition, patients with SLE were divided into lower group and higher group according to the median percentage of CD19⁺ and CD19⁺/PD-L1 B cells. The incidence of kidney lesion was robustly increased in the high group, and CD19⁺/PD-L1 B cells, LN Ⅳ were independent risk factors of renal insufficiency in lupus nephritis. **Conclusion** The level of peripheral CD19⁺/PD-L1 in SLE patients increased significantly and was closely related to the activity degree and renal injury of the disease, which was an independent risk factor for renal insufficiency in patients.

Key words: systemic lupus erythematosus; programmed death ligand 1; renal injury; disease activity

系统性红斑狼疮(SLE)是我国最常见的自身免疫系统疾病,也是一种累及机体多系统、多脏器的疾病^[1]。SLE 可导致机体多种脏器功能障碍, SLE 患者病情活动度不同,预后不同^[2]。狼疮性肾炎(LN)是

我国最常见继发性的肾小球疾病,是由于自身抗体产生导致肾脏免疫复合物形成和沉积,免疫复合物通过经典和旁途径激活补体系统造成肾脏损伤^[3-4]。血清中程序性死亡分子 1(PD-1)与其配体(PD-L1)组成

作者简介:陆燕,女,副主任医师,主要从事自身免疫性疾病、过敏性疾病的检测方面研究。 [△] 通信作者, E-mail:237606298@qq.com。

本文引用格式:陆燕,覃小升. 系统性红斑狼疮患者外周血 B 细胞中 PD-L1 的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(4): 445-447.

的信号途径是对 T 细胞激活的调节和 T 细胞耐受的维持有重要的临床意义^[5]。积极评价 SLE 患者病情严重程度和肾脏损伤情况具有重要的临床意义,本研究探讨了 SLE 患者外周血 B 细胞中 PD-L1 水平与患者肾脏损伤及病情的关系,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 5 月至 2017 年 5 月在本院诊断为 SLE 的 50 例患者为研究对象,SLE 的诊断参照中华医学会指定的相关诊断标准。纳入标准:(1)确诊为 SLE;(2)依从性好,同意进行本研究的,能完成随访。排除标准:(1)既往合并高血压、糖尿病、冠心病、甲状腺疾病、肝脏疾病等其他慢性疾病的患者;(2)精神异常或合并其他认知功能障碍的患者;(3)合并其他自身免疫系统疾病或其他可能导致患者肾脏功能损伤疾病的患者;(4)合并妊娠、哺乳或其他认知功能障碍的患者;(5)近期使用了激素或免疫抑制剂治疗或其他可能影响病情评价药物的患者。纳入研究的 50 例 SLE 患者中,男 6 例,女 44 例;平均(34.2±6.5)岁;体质指数(BMI)为(22.5±3.5) kg/m²。根据 SLE 疾病活动指数分级(SLEDAI)将 SLE 患者分为 SLE 活动期组(25 例)和 SLE 非活动期组(25 例),SLE 活动期组 SLEDAI 评分≥10 分,SLE 非活动组 SLEDAI 评分<10 分。SLE 活动期患者中,男 2 例,女 23;平均(35.6±6.7)岁,SLE 非活动期组中,男 4 例,女 21 例,平均(33.8±6.3)岁。另选择同期 20 例健康成人作为对照组,其中男 3 例,女 17 例;平均(34.8±6.2)岁;BMI(22.7±3.2) kg/m²;两组性别、年龄、BMI 等比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 观察指标 (1)肾脏损伤评价:本研究中所有 LN 患者均经皮肾穿刺进行肾脏病理活检,根据肾穿刺活检结果分为 I、II、III、IV、V、VI 型狼疮;(2)外周血 B 细胞 PD-L1 表达水平检测:采用收集患者和健康人外周血单个核细胞制备单核细胞悬液加入 2 支试管中,分别加入 FITC 标记的抗人 PD-L1 抗体(anti-HPD-L1-FITC)和 PE 标记的抗人 CD19 抗体(anti-HCD19-PE)(均购自 ATCC 公司),1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,4%多聚甲醛固定后加入 300 μL PBS 上机采用流式细胞仪进行分析,以双色点图分析 B 淋巴细胞 PD-L1 的表达。

1.3 统计学处理 应用统计学软件 SPSS21.0 对数据进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组计量资料间比较采用 t 检验,多组计量资料组间比较采用单因素方差分析。等级资料以频数(频率)表示,两组等级资料之间的比较采用秩和检验,多组等级资料组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。采用 logistic 回归

分析方法分析 LN 患者肾功能不全发生的风险因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病情的 SLE 患者 B 细胞中 CD19⁺、CD19⁺/PD-L1 水平比较 SLE 活动期组患者 CD19⁺水平均高于 SLE 非活动期组和对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);SLE 活动期患者 CD19⁺/PD-L1 水平均高于非活动期患者和对照组患者,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同组 B 细胞中 CD19⁺ 水平和 CD19⁺/PD-L1 水平比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD19 ⁺	CD19 ⁺ /PD-L1
对照组	20	2.67±1.02	0.45±0.14
SLE 非活动期组	25	4.39±1.34 [#]	1.03±0.21 [#]
SLE 活动期组	25	11.35±3.65 [*]	2.47±0.89 [*]
<i>F</i>		3.510	3.294
<i>P</i>		0.036	0.043

注:与对照组对比,* $P<0.05$;与 SLE 活动期组对比,[#] $P<0.05$

2.2 不同 CD19⁺ 和 CD19⁺/PD-L1 水平的患者肾脏损伤程度的关系 根据 CD19⁺ 和 CD19⁺/PD-L1 水平分为低水平和高水平组(以 CD19⁺ 或 CD19⁺/PD-L1 水平的中位数为参考点,低于其中位数水平为低水平组,高于其中位数水平为低水平组),CD19⁺ 高水平 and CD19⁺/PD-L1 高水平的患者肾损伤的发生率更高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 不同 CD19⁺ 和 CD19⁺/PD-L1 水平的患者肾脏损伤程度的关系

项目	<i>n</i>	CD19 ⁺		CD19 ⁺ /PD-L1	
		低水平	高水平	低水平	高水平
无肾损伤	13	9	4	10	3
LN I、II	12	3	9	3	9
LN III、IV	13	5	8	3	10
LN V、VI	12	4	8	3	9
χ^2		8.193		11.310	
<i>P</i>		0.045		0.008	

表 3 LN 患者肾功能不全发生的风险因素分析

变量	风险比(HR)	95%CI	<i>P</i>
LN IV	2.78	1.38~1.95	0.02
PD-L1	1.67	2.24~3.14	0.02

2.3 SLE 患者发生肾功能不全发生的风险因素分析 以性别、年龄、BMI、尿蛋白定量、肾脏病理分级、血清中 CD19⁺、CD19⁺/PD-L1,以肾功能不全为终点事件,采用 logistic 回归分析探讨结果提示,CD19⁺/PD-

LI、LN IV 期是 LN 患者肾功能不全发生的独立危险因素,见表 3。

3 讨 论

SLE 的发生、发展与 T 细胞异常活化和共同刺激免疫表达有关,研究提示 PD-1/PD-L1 在外周血免疫耐受和自身免疫疾病过程中有重要的临床意义,研究证实 PD-1 基因过表达的小鼠可以诱发自身免疫性扩大性心脏病^[6]。PD-1 影响 T 细胞的生物学行为,进而影响多种细胞因子的表达,导致患者 T 细胞功能下降^[7],进而参与自身免疫系统疾病的发生、发展。

SLE 是多系统受累的自身免疫系统疾病,临床表现多种多样。SLE 根据病情轻重不一,病情稳定者可不出现任何脏器损伤情况,病情严重者可累及患者多种脏器,导致患者脏器功能障碍,甚至危及患者生命^[8-10]。狼疮病情活动评分是评价 SLE 病情的重要指标之一,当患者病情活动时可出现肾脏损伤、血液系统疾病,甚至狼疮性脑病。本研究采用 SLEDAI 对患者病情进行评分,发现病情活动的患者 CD19⁺ 细胞表达和 PD-1 水平明显更高,这就意味着 B 细胞表面 PD-L1 表达水平可能参与 B 细胞的生物学行为,促进免疫损伤的进展,进而调控 SLE 的病情发展。

LN 是导致继发性肾损伤的主要疾病, LN 是多种免疫复合物导致肾脏损伤, LN 发病过程中大量细胞外基质大量沉积、诱发肾脏病理生理改变^[11-13]。LN 病情及预后不一,轻者对患者肾功能无明显影响,病情严重者可导致患者肾功能衰竭进入尿毒症甚至导致死亡^[14-15]。找到一种无创评价患者肾脏病变程度的评价指标具有重要的临床意义。相关性分析结果也证实了外周血中 B 细胞含量及 PD-L1 表达水平与患者肾脏损伤程度密切相关, PD-L1 水平不仅可以用于评价 SLE 病情也可以运用于评价患者肾脏损伤程度。

4 结 论

不少 SLE 患者肾功能损伤最终可能发展为肾功能不全,本研究探讨了 SLE 患者肾功能不全的危险因素,结果发现 B 细胞表达的 PD-L1 水平、LN IV 是患者进展为肾功能不全的独立危险因素,提示外周血 B 细胞的 PD-L1 水平与患者病情损伤密切相关,可能成为 SLE 患者疾病进展和预后的指标。

参考文献

[1] 郭根凯,梁军,侯亚义,等. SLE 患者骨髓间质干细胞对 B

淋巴细胞免疫抑制作用的初步研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2007, 11(9): 524-527.

[2] 王元元. SLE 患者外周血 T 淋巴细胞 PD-1 分子, 单个核细胞 PD-L1 分子的表达[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2011.

[3] 张之蕙. 活血养阴方对狼疮性肾炎的治疗及对血清/尿液巨噬细胞移动抑制因子水平的影响[D]. 苏州: 苏州大学, 2009.

[4] 雷向宏, 涂卫平, 秦晓华. 狼疮性肾炎患者尿蛋白对 HK-2 细胞 NF- κ B、TNF- α 、IL-6 表达的影响及意义[J]. 山东医药, 2009, 49(7): 38-40.

[5] 赵欢. PD-1 在冠心病患者外周血 T 细胞表达的意义及辛伐他汀的调节作用[D]. 广州: 南方医科大学, 2010.

[6] 吴萍萍, 沈冬, 郭云娣, 等. SLE 患者外周血单核细胞 PD-L2 分子的表达及其临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(3): 414-417.

[7] 孟凡鹏, 徐雯. B 细胞免疫耐受缺陷与 SLE 的最新研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2015, 38(4): 358-361.

[8] 彭传梅, 高辉, 付晓野, 等. 云南汉族人群 Tim-1 基因多态性与系统性红斑狼疮关联性研究[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(12): 1961-1965.

[9] 邢桂芝, 石哲群, 褚金龙, 等. 自身抗体检测对系统性红斑狼疮的诊断价值分析[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(8): 1321-1323.

[10] 陈杰, 胡娜, 苏斌涛, 等. 系统性红斑狼疮患者血清中 Tim-1 蛋白水平及其基因多态性[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(1): 114-116.

[11] 叶莉莉, 徐星铭. 狼疮性肾炎患者 HMGB1 和 RAGE 的表达及意义[J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(4): 533-536.

[12] 夏琼, 徐星铭. CXCL16 及 CXCL10 在狼疮性肾炎患者中的表达及与疾病活动的相关性[J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49(4): 491-494.

[13] 李海英, 左灿, 王艳兰, 等. 血清胱抑素 C 及同型半胱氨酸和视黄醇结合蛋白联合检测在狼疮性肾炎诊断中的意义[J]. 广东医学, 2014, 35(6): 864-866.

[14] 谭德敏, 向阳, 谭千林. 狼疮性肾炎患者外周血树突状细胞功能的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(4): 570-572.

[15] 周世菊, 宋庆银, 吴玉梅, 等. 来氟米特与环磷酰胺治疗狼疮性肾炎的对比研究[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(3): 100-102.

(收稿日期: 2018-10-14 修回日期: 2018-10-25)