

论著 • 临床研究

T 细胞亚群和 TSP-1、 β 2-GP1-Ab 检测在系统性红斑狼疮中的诊断价值

高振庄¹, 梁 妍², 李 伟³, 郭亚平⁴, 王雅宁¹, 杨桂云^{5△}

(保定市第一中心医院东院:1. 检验科;2. 产科,河北保定 071000;3. 保定市中心血站,河北保定 071000;
4. 保定市第一中心医院西院检验科,河北保定 071000;5. 保定市第一中心医院体检科,河北保定 071000)

摘 要:**目的** 探讨 T 细胞亚群和血小板反应蛋白 1(TSP-1)、抗 β 2 糖蛋白 1 抗体(β 2-GP1-Ab)检测在系统性红斑狼疮(SLE)中的诊断价值。**方法** 选择 2016 年 8 月至 2018 年 8 月保定市第一中心医院收治的抗磷脂抗体阳性 SLE 患者 65 例进行研究(SLE 组),同期选取该院体检健康者 35 例作为对照组。采用流式细胞术检测两组受试者的 T 细胞亚群包括 Th1、Th2、Th17、调节性 T 细胞(Treg),酶联免疫吸附测定(ELISA)检测两组受试者的血清 TSP-1、 β 2-GP1-Ab 水平。比较两组受试者的 T 细胞亚群和 TSP-1、 β 2-GP1-Ab 水平变化情况,并分析其与 SLE 疾病活动指数(SLEDAI)的相关性,对有价值指标采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)进行分析。**结果** 与对照组比较,SLE 组的 Treg、 β 2-GP1-Ab 水平明显降低,而 Th2、Th17、TSP-1 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);相关性分析显示,Th2、Th17、TSP-1 与 SLEDAI 评分呈正相关($r = 0.552, 0.318, 0.364, P = 0.000, 0.014, 0.001$), β 2-GP1-Ab、Treg 与 SLEDAI 评分呈负相关($r = -0.552, -0.353, P = 0.000, 0.003$)。ROC 曲线分析显示,TSP-1、 β 2-GP1-Ab 检测的 ACU 下面积均明显大于 Th17、Th2 及 Treg 单独检测($Z_{TSP-1} = 2.637, 3.964, 2.871, P = 0.008, 0.001, 0.004; Z_{\beta 2-GP1-Ab} = 2.412, 3.964, 2.802, P = 0.016, 0.000, 0.005$),TSP-1、 β 2-GP1-Ab 检测的灵敏度、特异度均优于单独检测($P < 0.05$)。**结论** SLE 患者存在 T 细胞亚群失衡和 TSP-1、 β 2-GP1-Ab 水平异常表达,且与 SLEDAI 评分相关,对其系统检测在临床诊断及病情评估中均有积极价值。

关键词:T 细胞亚群; 系统性红斑狼疮; 血小板反应蛋白 1; β 2 糖蛋白 1 抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.024 **中图法分类号:**R593.242

文章编号:1673-4130(2019)24-3041-04 **文献标识码:**A

Diagnostic value of clear blood T cell subsets and TSP-1, β 2-GP1-Ab in systemic lupus erythematosus

GAO Zhenzhuang¹, LIANG Yan², LI Ka³, GUO Yaping⁴, WANG Yaning¹, YANG Guiyun^{5△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Obstetrics, East Hospital of Baoding No. 1 Central Hospital, Baoding, Hebei 071000, China; 3. Baoding Central Blood Station, Baoding, Hebei 071000, China; 4. Department of Clinical Laboratory, West Hospital of Baoding No. 1 Central Hospital, Baoding, Hebei 071000, China; 5. Department of Physical Examination, Baoding No. 1 Central Hospital, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of T cell subsets and thrombospondin 1(TSP-1) and β 2 glycoprotein 1 antibody(β 2-GP1-Ab) in systemic lupus erythematosus(SLE). **Methods** A total of 65 patients with antiphospholipid antibody-positive SLE admitted to Baoding No. 1 Central Hospital from August 2016 to August 2018 were enrolled in the SLE group. A total of 35 healthy subjects from a hospital were selected as the control group. Flow cytometry was used to detect T cell subsets (including Th1, Th2, Th17, Treg) in both groups, and ELISA was used to measure serum TSP-1 and β 2-GP1-Ab levels in both groups. The T cell subsets and TSP-1 and β 2-GP1-Ab levels were compared between the two groups, and their correlation with the systemic lupus erythematosus disease activity index(SLEDAI) was analyzed. The indicators were analyzed using the ROC curve. **Results** Compared with the control group, the levels of Treg and β 2-GP1-Ab in the SLE group were significantly decreased, while the levels of Th2, Th17 and TSP-1 were significantly increased, the difference was statistically significant($P < 0.05$). Correlation analysis showed that Th2, Th17 and TSP-1 There was a positive correlation with SLEDAI score($r = 0.552, 0.318, 0.364, P = 0.000, 0.014,$

作者简介:高振庄,男,副主任技师,主要从事血液学检验研究。△ **通信作者,**E-mail:gsave@qq.com。

本文引用格式:高振庄,梁妍,李伟,等. T 细胞亚群和 TSP-1、 β 2-GP1-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.

0.001), and $\beta 2$ -GP1-Ab, Treg was negatively correlated with SLEDAI score($r = -0.552, -0.353, P = 0.000, 0.003$). ROC curve analysis showed that the area under ACU detected by TSP-1 and $\beta 2$ -GP1-Ab was significantly higher than that of Th17, Th2 and Treg(ZTSP-1=2.637, 3.964, 2.871, $P = 0.008, 0.001, 0.004$; Z $\beta 2$ -GP1-Ab=2.412, 3.964, 2.802, $P = 0.016, 0.000, 0.005$), the sensitivity and specificity of TSP-1 and $\beta 2$ -GP1-Ab detection were better than those of single detection($P < 0.05$). **Conclusion** Patients with systemic lupus erythematosus have imbalance of T cell subsets and abnormal expression of TSP-1 and $\beta 2$ -GP1-Ab, and are associated with SLEDAI score. The systemic detection has positive value in clinical diagnosis and disease assessment.

Key words: T cell subsets; systemic lupus erythematosus; thrombospondin 1; $\beta 2$ glycoprotein 1 antibody

系统性红斑狼疮(SLE)是一种可累及机体多脏器损害的自身免疫性疾病,其中70%~90%为女性患者^[1]。SLE发病机制十分复杂,但目前确切机制尚未完全阐明。研究报道,SLE的发生可能与环境、遗传等因素有关,尤其是T细胞亚群失衡及细胞因子分泌紊乱最终导致的免疫系统异常应答在SLE的发病及病情迁延中起着重要作用^[2]。T细胞亚群包含了Th1、Th2、Th17及调节性T细胞(Treg),各种细胞分泌的细胞因子及在体内免疫方面发挥着不同作用。最初,人们认为Th1/Th2失衡与SLE患者的发病有关,但研究发现,抗心磷脂抗体异常、动静脉血栓、内分泌异常等均是SLE发病的危险因素^[3-4]。本研究通过观察SLE患者T细胞亚群及血小板反应蛋白1(TSP-1)、 $\beta 2$ 糖蛋白1抗体($\beta 2$ -GP1-Ab)变化情况,并分析其在SLE中诊断应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2016年8月至2018年8月保定市第一中心医院收治的抗磷脂抗体阳性SLE患者65例进行研究(SLE组),所有患者均符合1997年美国风湿病学会(ACR)制定的分类标准^[5],其中男27例,女38例,年龄(42.36 ± 10.69)岁,平均病程(28.65 ± 12.57)月,根据《系统性红斑狼疮诊断及治疗指南》^[6]以SLEDAI积分评估疾病活动性:轻度21例,中度33例,重度14例。同期选取本院体检健康者35例作为对照组,其中男4例,女31例,年龄(42.19 ± 9.67)岁。本研究得到所有受试者知情同意,并得到本院伦理委员会核准。两组受试者的基本资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 纳入标准与排除标准 纳入标准:(1)符合上述诊断和分类标准者;(2)年龄>18岁者;(3)临床资料完整者;(4)经肾脏病理学检查证实。排除标准:(1)近期使用过可能影响本研究结果的药物者;(2)伴有原发性心血管疾病、糖尿病及其他肾损害者;(3)具有家族免疫性疾病史者;(4)正在参与其他研究者。

1.3 仪器与试剂 FACSCalibur型流式细胞仪(美国Sigma公司生产),Microfuge 20型离心机(贝克曼

库尔特生产),酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒(武汉默沙克生物科技有限公司)。

1.4 方法 SLE组患者于入院治疗前清晨静脉空腹采血5 mL,对照组于体检当天采集血液标本5 mL。采用美国贝克曼ALLEGRAX-12医用离心机3 000 r/min离心15 min后,分离血清,置于-60℃冰箱保存待测。采用美国BD医疗器械有限公司FACSCalibur型流式细胞仪进行Th1、Th2、Th17及Treg检测,酶联免疫吸附测定(ELISA)进行TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab检测。所有指标均检测3次取平均值。操作流程由专业检验人员严格按照仪器及试剂盒说明书进行操作。

1.5 观察指标 记录并观察两组受试者的Th1、Th2、Th17、Treg、TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab水平变化情况,分析其与SLEDAI评分的关系,对模型中有价值指标进行受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析评估其在SLE中的诊断价值。

1.6 统计学处理 采用SPSS22.0进行数据处理,T细胞亚群和TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab水平各指标等计量资料用表示,进行 t 检验,Pearson相关性分析,计数资料进行 χ^2 检验,有价值指标进行ROC曲线分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受试者的T细胞亚群检测结果比较 与对照组比较,SLE组的Treg水平明显降低,而Th2、Th17水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组受试者的T细胞亚群检测结果比较(% , $\bar{x} \pm s$)					
组别	<i>n</i>	Th1	Th2	Th17	Treg
对照组	35	1.18 $\pm$ 0.85	4.89 $\pm$ 2.76	0.66 $\pm$ 0.31	7.61 $\pm$ 2.34
SLE组	65	1.12 $\pm$ 0.45	6.21 $\pm$ 2.12	0.91 $\pm$ 0.36	5.67 $\pm$ 2.74
<i>t</i>		0.462	2.463	3.472	3.548
<i>P</i>		0.645	0.016	0.001	0.001

2.2 两组受试者的TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab水平比较 与对照组比较,SLE组患者的TSP-1水平明显升高,

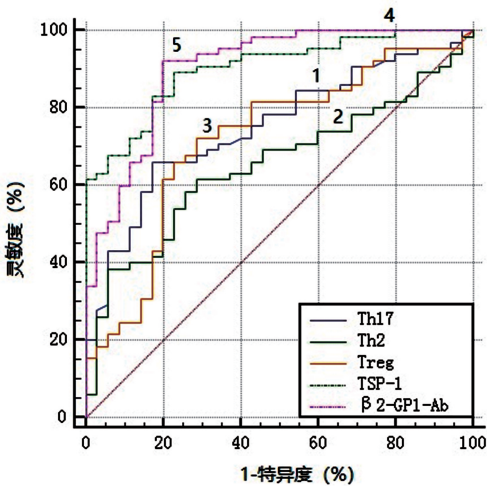
$\beta 2$ -GP1-Ab 水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组受试者的 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 水平比较($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	TSP-1(pg/mL)	$\beta 2$ -GP1-Ab(U/mL)
对照组	35	625.91±156.78	60.57±20.58
SLE 组	65	948.36±230.27	10.21±3.41
<i>t</i>		7.403	19.322
<i>P</i>		0.000	0.000

2.3 T 细胞亚群和 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 水平与 SLE-DAI 评分的相关性 相关性分析显示,Th2、Th17、TSP-1 与 SLEDAI 评分呈正相关($r = 0.552、0.318、0.364, P = 0.000、0.014、0.001$), $\beta 2$ -GP1-Ab、Treg 与 SLEDAI 评分呈负相关($r = -0.552、-0.353, P = 0.000、0.003$)。

2.4 T 细胞亚群和 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 检测诊断 SLE 的效能分析 将 T 细胞亚群和 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 水平与 SLEDAI 评分存在相关性的指标应用 ROC 分析其诊断效能。因变量为二分类变量,对照组标记为 0,SLE 组标记为 1。自变量为血清 Th17、Th2、Treg 及 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 水平,ROC 曲线分析

显示,TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 检测的 ACU 下面积均明显大于 Th17、Th2 及 Treg 单独检测($Z_{TSP-1} = 2.637、3.964、2.871, P = 0.008、0.001、0.004; Z_{\beta 2-GP1-Ab} = 2.412、3.964、2.802, P = 0.016、0.000、0.005$),TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 检测的灵敏度、特异度均优于单独检测($P < 0.05$),见图 1 和表 3。



注:1 为 Th17;2 为 Th2;3 为 Treg;4 为 TSP-1;5 为 $\beta 2$ -GP1-Ab

图 1 血清各指标诊断 SLE 的 ROC 曲线

表 3 T 细胞亚群指标和 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 诊断 SLE 的价值

检验变量	AUC	<i>P</i>	95%CI	临界值	灵敏度(%)	特异度(%)
Th17	0.751	<0.05	0.656~0.847	0.781(%)	66.15	74.86
Th2	0.652	<0.05	0.545~0.759	5.478(%)	61.54	72.43
Treg	0.720	<0.05	0.614~0.826	6.544(%)	72.31	71.43
TSP-1	0.902	<0.05	0.826~0.952	678.234(pg/mL)	89.23	79.12
$\beta 2$ -GP1-Ab	0.901	<0.05	0.825~0.952	27.484(U/mL)	92.31	80.00

3 讨论

SLE 是一种自身免疫介导的,以免疫性炎症为主要表现累及多脏器、多系统的弥漫性结缔组织疾病^[7]。其病情迁延难愈,病死率较高,确切病因至今尚未阐明。多数学者认为,SLE 的发病机制中,Th 细胞亚群比例失衡是重要环节之一,“Th2 优势”说、“Th1 优势”说等多种免疫紊乱状态均被证实^[8]。Th2 优势学说表明 SLE 患者存在 Th2 功能亢进,即 Th1 相关细胞因子 IL-12、IFN- γ 等主导细胞免疫的细胞因子分泌降低;即 Th2 相关细胞因子 IL-4、IL-10 等促抗体生成参与体液免疫的细胞因子分泌增加,促进 B 细胞增殖、成熟及活化,导致产生多种自身抗体,进一步引起组织损伤。此外,抗磷脂综合征、免疫应答异常也与 SLE 的发生发展关系密切^[9]。

细胞因子既是免疫系统功能执行介质,又是其他系统如内分泌、神经系统等联系的重要桥梁。但有研究表明,在 SLE 活动期患者的“Th2 优势”说、“Th1

优势”说中细胞因子异常分泌的表现并不一致^[10]。本研究发现,与对照组比较,SLE 组的 Th2 水平明显升高,这提示本研究 SLE 患者是偏向 Th2 失衡型,与 GERGIANAKI 等^[11]和陈海莲等^[12]研究报道的狼疮肾炎患者的 CD4⁺ T 细胞绝大多数表达 Th2 型相关趋化因子 CCR4 受体,而很少表达 Th1 型 CCR5 受体基本一致。Treg 和 Th17 是调节性 T 细胞新近发现的两个成员,研究证实在 Th1/Th2 失衡的基础上,Treg/Th17 失衡也在 SLE 疾病的发生、进展中发挥着重要作用^[13]。Treg 是具有免疫抑制作用 CD4⁺ T 细胞,通过分泌 IL-4、IL-10 等细胞因子在介导炎症、防御感染和免疫应答调控等过程中发挥作用^[14]。本研究中,与对照组比较,SLE 组的 Treg 水平明显降低,而 Th17 水平明显升高。TSP-1 是血小板的重要组成部分,是一种多功能细胞外基质蛋白,最初从血小板细胞膜中分离得到,在新血管生成、细胞凋亡中均有重要作用,且参与机体免疫应答反应关系密

切^[15]。血管异常性病理改变也是 SEL 患者主要的病理基础之一,可出现在机体任何器官中。研究证实,SEL 患者血小板数量减少,可导致患者自发性出血,加重预后^[16]。正常情况下,吞噬细胞吞噬活化或衰老的血小板不会引起炎症反应,但当 $\beta 2$ -GP1-Ab 异常表达时刻引起吞噬细胞释放炎症因子介导免疫炎症, $\beta 2$ -GP1-Ab 还可通过血小板 Fc 受体抑制血小板活化,大量凝集血小板导致血小板数量减少。本研究结果显示,与对照组比较,SLE 组患者的 TSP-1 水平明显升高, $\beta 2$ -GP1-Ab 水平明显降低,这进一步证实其参与 SLE 的发生与进展。近年来,研究也指出 $\beta 2$ -GP1-Ab 与血栓性疾病之间存在直接关系^[17]。本研究从 T 细胞亚群,以及 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 水平方面入手,分析了其在 SLE 中的应用价值。

Pearson 相关性分析提示,Th2、Th17、TSP-1 与 SLEDAI 评分呈正相关($r=0.552,0.318,0.364, P=0.000,0.014,0.001$), $\beta 2$ -GP1-Ab、Treg 与 SLEDAI 评分呈负相关($r=-0.552,-0.353, P=0.000,0.003$)。提示 SLE 患者的 Th17、Th2、Treg、TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 指标均异常与病情存在一定关系。与相关研究结果一致^[18]。本研究进一步应用 ROC 曲线分析了其在 SLE 患者诊断中的价值,结果显示,TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 检测的 ACU 下面积均明显大于 Th17、Th2 及 Treg 单独检测,TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 检测的灵敏度、特异度均优于单独检测($P<0.05$)。这提示,SLE 患者存在 T 细胞亚群失衡和 TSP-1、 $\beta 2$ -GP1-Ab 异常表达,且与 SLEDAI 评分相关,对其系统检测在临床诊断及病情评估中均有积极价值。

4 结 论

本研究存在一定局限性,样本例数偏少,未能按照 SLE 疾病严重程度进行分级比较,在疾病不同阶段可能主导的细胞因子不同,有待于后续大样本多中心的深入研究。

参考文献

- [1] 杨滨宾,邓丹琪.蛋白质组学在系统性红斑狼疮研究中的进展[J].临床皮肤科杂志,2016,45(5):400-402.
- [2] ZECEVIC L,KARAMEHIC J,CORIC J,et al. Potential immune biomarkers in diagnosis and clinical management for systemic lupus erythematosus[J]. J Med Biochem, 2018,37(2):163-171.
- [3] 王恕歆,赵志丹,钟白云,等.血清 C1q 检测在系统性红斑狼疮疾病活动性判断及狼疮肾炎诊断中的价值[J].中国现代医学杂志,2016,26(9):54-58.
- [4] 秦韬,杨峻,全裔,等.抗心磷脂抗体及抗 $\beta 2$ 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.
- [5] HOCHBERG M C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 1997,40(9):1725.
- [6] 中华医学会风湿病学分会.系统性红斑狼疮诊断及治疗指南中华医学会风湿病学分会[J].中华风湿病学杂志,2010,14(5):342-346.
- [7] 王慧英,叶艺璇,于莎莎,等.免疫指标对妊娠合并系统性红斑狼疮患者妊娠结局的指导意义研究[J].中国全科医学,2016,19(16):1895-1899.
- [8] 张路,曹欣欣,王书杰,等.Castleman 病合并系统性红斑狼疮的临床特征分析[J].中国医学科学院学报,2016,38(5):543-547.
- [9] 高旗,马宁,赵令,等.系统性红斑狼疮患者 IL-37 的表达及其与其他细胞因子的相关性[J].中国现代医学杂志,2017,27(10):47-51.
- [10] YOSHIOKA K,TATEISHI C,KATO H,et al. Systemic lupus erythematosus with refractory ulcerated livedoid vasculopathy:Successful treatment with intravenous immunoglobulin and warfarin[J]. Clin Case Rep, 2018,6(11):2045-2047.
- [11] GERGIANAKI I,BORTOLUZZI A,BERTSIAS G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2018,32(2):188-205.
- [12] 陈海莲,杨晓娥.系统性红斑狼疮患者外周血单个核细胞 Toll 样受体 9 和核因子- κB 水平的测定及其临床意义[J].中国现代医学杂志,2016,26(11):63-67.
- [13] 张文兰,白力,胡同平.抗 IgG、IgM、IgA 型心磷脂抗体和抗 $\beta 2$ 糖蛋白 1 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.
- [14] TINELLI E,PONTECORVO S,MORREALE M,et al. H-magnetic resonance spectroscopy:diagnostic tool in recurrent headache in systemic lupus erythematosus: A case report[J]. Radiol Case Rep, 2018,14(2):175-178.
- [15] 代荣翠,张金彪.血小板检测参数与系统性红斑狼疮疾病活动的相关性分析[J].中国现代医学杂志,2017,27(5):121-124.
- [16] 陈斯玲,陶怡,陈瑞林.系统性红斑狼疮患者血清 IL-1 β 和 IL-18 的表达及意义[J].广东医学,2017,38(16):2473-2475.
- [17] KREPS A,PALTOO K,MCFARLANE I. Cardiac manifestations in systemic lupus erythematosus: a case report and review of the literature[J]. Am J Med Case Rep, 2018,6(9):180-183.
- [18] 刘洪江,石连杰,胡凡磊,等.趋化因子配体 19 在系统性红斑狼疮中的表达及其与 B 细胞异常的相关性研究[J].北京大学学报(医学版),2017,49(5):829-834.