

周围血程序性死亡分子-配体2 (sPD-L2)在系统性红斑狼疮中的水平变化及临床意义

周东青*, 帅宗文#

安徽医科大学第一附属医院风湿免疫科, 安徽 合肥

收稿日期: 2024年4月19日; 录用日期: 2024年5月14日; 发布日期: 2024年5月21日

摘要

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫性疾病, 发病机制仍不明确。初步探讨sPD-L2在SLE患者外周血清中的表达水平变化及临床意义。选择SLE患者101例, 类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者26例和健康体检者(healthy control, HC) 32例, 收集患者的临床资料, 抽取周围静脉血, 应用ELISA方法检测外周血清中sPD-L2表达水平, 根据数据特点和研究目的, 采用Mann-Whitney U检验、 χ^2 检验或Spearman相关分析法, 比较分析其与SLE常见临床表现及实验室指标的关系。结果: 1) 与健康对照组比较, SLE患者周围血中sPD-L2表达显著升高(28.04 ± 3.68 pg/mL vs 7.59 ± 2.07 pg/mL, $P < 0.0001$)。2) 与RA患者组相比, SLE患者血清中sPD-L2表达显著升高(28.04 ± 3.68 pg/mL vs 23.07 ± 3.39 pg/mL, $P < 0.0001$)。3) SLE患者中, sPD-L2与年龄($r = 0.296$, $P = 0.003$), 病程($r = -0.245$, $P = 0.014$), 浆膜炎($r = 0.208$, $P = 0.038$)、SLEDAI-2K ($r = 0.223$, $P = 0.026$)、抗dsDNA增高($r = 0.205$, $P = 0.040$)、低补体血症($r = 0.196$, $P = 0.068$)、胸膜炎($r = 0.253$, $P = 0.011$)、脓尿($r = 0.271$, $P = 0.006$)、CRP ($r = 0.211$, $P = 0.036$)呈正相关关系, 而与eGFR呈现出负相关关系($r = -0.360$, $P = 0.002$)。结论: 1) 与健康人和RA患者人群比较, SLE患者周围血中sPD-L2的表达水平, 不仅显著高于健康人群, 且显著高于RA患者。2) SLE患者周围血中sPD-L2表达水平与SLE疾病活动度成正相关, 可能成为临床判断SLE病情活动程度的潜在生物标志物。

关键词

系统性红斑狼疮, 可溶性程序性死亡分子-配体2, 生物标志物

*第一作者。

#通讯作者。

Changes in the Levels of Soluble Programmed Death Molecule-Ligand 2 (sPD-L2) in the Peripheral Blood of Systemic Lupus Erythematosus and Their Clinical Significance

Dongqing Zhou*, Zongwen Shuai#

Department of Rheumatology and Immunology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: Apr. 19th, 2024; accepted: May 14th, 2024; published: May 21st, 2024

Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease whose pathogenesis remains unclear. To preliminarily investigate the changes in the expression level of sPD-L2 in the peripheral serum of SLE patients and its clinical significance, a total of 101 patients with SLE, 26 patients with rheumatoid arthritis (RA) and 32 healthy control (HC) patients were selected, the clinical data of the patients were collected, peripheral venous blood was drawn, and the expression levels of sPD-L2 in peripheral serum were detected by ELISA. According to the characteristics of the data and the purpose of the study, it is adopted that Mann-Whitney U test, chi-square test or Spearman correlation analysis were used to compare and analyze their relationship with common clinical manifestations and laboratory indicators of SLE. Results: 1) Compared with the healthy control group, the expression of sPD-L2 in the peripheral blood of SLE patients was significantly increased (28.04 ± 3.68 pg/mL vs 7.59 ± 2.07 pg/mL, $P < 0.0001$). 2) Compared with RA patients, the expression of sPD-L2 in serum was significantly increased in SLE patients (28.04 ± 3.68 pg/mL vs 23.07 ± 3.39 pg/mL, $P < 0.0001$). 3) In SLE patients, sPD-L2 was significantly associated with age ($r = 0.296$, $P = 0.003$), course of disease ($r = -0.245$, $P = 0.014$), serositis ($r = 0.208$, $P = 0.038$), SLEDAI-2K ($r = 0.223$, $P = 0.026$), increased anti-dsDNA ($r = 0.205$, $P = 0.040$), hypocomplementemia ($r = 0.196$, $P = 0.068$), and pleurisy ($r = 0.253$, $P = 0.011$), pyuter ($r = 0.271$, $P = 0.006$), and CRP ($r = 0.211$, $P = 0.036$) were positively correlated, while eGFR was negatively correlated ($r = -0.360$, $P = 0.002$). Conclusions: 1) Compared with healthy and RA patients, the expression level of sPD-L2 in the peripheral blood of SLE patients was not only significantly higher than that of healthy people, but also significantly higher than that of RA patients. 2) The expression level of sPD-L2 in the peripheral blood of SLE patients is positively correlated with SLE disease activity, which may become a potential biomarker for clinical judgment of SLE disease activity.

Keywords

Systemic Lupus Erythematosus, Soluble Programmed Death Molecule-Ligand 2, Biomarker

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫性疾病, 其病因非常复杂, 至今尚未完全明了[1]。据统计, 目前系统性红斑狼疮的发病率为 30~50/10 万人患病, 主要是育龄妇女, 死亡率为 2.4%~5.9% [2]。系统性红斑狼疮患者临床症状复杂多变, 具体表现为发热、面部皮疹、口腔溃疡和关节炎等, 严重者可累及全身多个器官, 甚至导致死亡[3]。

免疫细胞表达的程序性细胞死亡蛋白 1 (programmed cell death-1, PD-1)和含粘蛋白域分子-3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing molecule-3, TIM-3), 以及 T 细胞免疫球蛋白, 被称为免疫检查点(Immune Checkpoints, ICP) [4] [5]。PD-1 在体内发挥免疫抑制作用, 主要是通过与其配体 PD-L1 (B7-H1; CD274)和 PD-L2 (B7-DC; CD273)结合, 抑制 T 细胞受体的活化和增殖, 减少产生细胞因子, 以此调节自身免疫。PD-1 与配体 PD-L1 和 PD-L2 相互作用, 形成一条协同刺激途径, 通过抑制细胞增殖、介导程序性细胞死亡和减少 T 细胞反应, 调节 T 细胞活化、耐受性和免疫介导的组织损伤之间的平衡[6]。

在免疫调节途径中, 共刺激分子不仅存在膜结合形式, 还有可溶形式, PD-L2 以可溶性 PD-L2 (soluble programmed cell death-L2, sPD-L2)的形式存在于外周血中[7]。最近的研究报道, sPD-L2 在自身免疫调节中发挥着重要作用, 在系统性硬化症中研究提示, 血清 sPD-L2 水平在系统性硬化症中升高, 并与纤维化程度和免疫异常相关[8]。但 SLE 患者中 sPD-L2 的变化及其与疾病发病间的关系, 尚未见研究报道。

2. 材料与方法

2.1. 研究对象

本研究纳入 2022 年 8 月至 2023 年 11 月就诊安徽医科大学第一附属医院风湿免疫科住院部及门诊的 101 例 SLE 患者(SLE 组), 其中女性 89 例(89/101, 88.12%)和男性 12 例(12/101, 11.88%), 平均年龄 42.64 ± 11.98 岁; 26 例类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)患者(RA 组), 其中女性 23 例(23/26, 88.46%)和男性 3 例(3/26, 11.54%), 平均年龄 54.38 ± 7.77 岁; 以及同期安徽医科大学第一附属医院体检中心进行体检的 32 名健康人(healthy controls, HC)组, 其中男性 3 例(3/32, 9.37%), 女性 29 例(29/32, 90.62%), 平均年龄 39.84 ± 8.51 岁; 三组间年龄与性别分布比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。本研究经医院伦理委员会审查通过, 且所有患者均知情同意。

Table 1. General information of SLE, RA, and HC

表 1. SLE、RA、HC 三组一般资料

	n	男/女(n/n)	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)
SLE	101	12/89	42.64 ± 11.98
RA	26	3/23	54.38 ± 7.77
HC	32	3/29	39.84 ± 8.51

2.2. 纳入排除标准

2.2.1. 纳入标准

受试者中, 所有 SLE 患者均符合美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR) 1997 年修订的分类标准; 选取同期在安徽医科大学第一附属医院体检中心进行体检的 32 名健康人, 其年龄和性别与 SLE 患者组匹配, 且排除自身免疫性疾病及相关家族史。

受试者中, RA 的诊断依据参照 1987 年及 2010 年美国风湿病学会联合欧洲风湿病联盟(European League Against Rheumatism, EULAR)推荐的诊断标准, 即累及总分大于 6 分或以上, 可明确诊断为类风湿关节炎。

2.2.2. 排除标准

- 1) 合并严重心血管疾病、肺部疾病及肝、肾功能不全疾病史的患者(除外 SLE 疾病本身引起);
- 2) 合并恶性肿瘤的患者;
- 3) 合并其他结缔组织病(如 ANCA 相关性血管炎、皮炎、IgG4 相关性疾病、系统性硬化症等)的患者;
- 4) 合并感染的患者。

2.3. 主要实验仪器与材料

sPD-L2 的 ELISA 试剂盒购于上海酶联生物科技有限公司。

2.4. 研究方法

2.4.1. 一般资料收集

收集患者人口学信息, 临床资料等, 包括姓名、年龄、性别、民族、住院号、门诊号、病程、身高、体重、基础疾病、合并症、临床症状; 实验室检查结果: 血常规, 尿常规, 24 小时尿蛋白定量, SLE 相关抗体: 抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)、抗核小体抗体(anti-nucleosome antibody, AnuA)、抗双链 DNA 抗体(anti-dsDNA Ab)、抗 SSA 抗体(抗 SSA)、抗 SSB 抗体(抗 SSB)、抗 Smith 抗体(anti-Smith antibody, Smith)、抗心磷脂抗体(anti-cardiolipinantibody, ACL), 免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig) G、IgM、IgA, 补体成分 3 (complement component 3, C3), 补体成分 4 (complement component 4, C4), C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP), 红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR), 谷丙转氨酶(Alanine amino transferase, ALT)、谷草转氨酶(Aspartate amino transferase, AST)、估测的肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, EGFR)、超声心动图结果, 以及同时使用 2000 年 SLE 疾病活动度(systemic lupus erythematosus disease activity index 2000, SLEDAI-2K)评估 SLE 患者的疾病活动。

2.4.2. 标本收集

- 1) 使用促凝管采集 SLE 组、RA 组、NC 组受试者各 10 ml 外周血, 采血前嘱受试者空腹 8 小时以上, 采血部位为左/右肘正中静脉。
- 2) 采集后立刻在低速离心机(L3-5K 低速离心机)上离心, 条件: 10℃, 3000 r/min, 10 分钟, 使用移液枪提取血清至 EP 管中, 标注姓名、性别、编号并存入-80℃冰箱备用。

2.5. 酶联免疫吸附法试剂盒定量检测 sPD-L2 水平

采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)严格按照试剂公司的操作说明使用 ELISA 试剂盒, 测量血清中 sPD-L2 的表达水平。板内变异系数小于 10%, 板间变异系数小于 15%。

2.5.1. 实验原理

试剂盒采用双抗体二步夹心法酶联免疫吸附试验。往预先包被 sPD-L2 捕获抗体包被微孔中, 依次加入标本、标准品孵育, 加入生物化抗体进行抗体生物素化, 经过温育并彻底后加入 HRP 标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色, TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 sPD-L2 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值), 计算样品浓度。

2.5.2. 检测前准备工作

- 1) 需提前 20 分钟从冰箱中取出试剂盒, 平衡至室温。
- 2) 将浓缩洗涤液置于室温下的冰箱中, 轻轻摇动使其均匀化, 待晶体完全溶解后再调整洗涤液。可将 20 ml 浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水稀释配置成 400 ml 工作浓度的洗涤液, 未用完的放回 4℃ 冰箱。
- 3) 20×洗涤缓冲液的稀释: 蒸馏水按 1:20 稀释, 即 1 份 20×洗涤缓冲液加 19 份蒸馏水。

2.5.3. 实验步骤

- 1) 从室温平衡 60 min 后的铝箔袋中取出所需板条, 剩余板条用自封袋密封放回 4℃。
- 2) 设置标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL。
- 3) 样本孔中加入待测样本 50 μL; 空白孔不加。如果需要稀释样品, 使用稀释试剂盒对样品进行必要的稀释。
- 4) 每孔加入生物素标记抗体 50 μL, 用封板膜封住反应孔, 37℃ 水浴锅或恒温箱温育 30 min; 标准孔空白孔不加!
- 5) 倾倒液体, 吸水纸吸净, 在每个孔中注入清洗液(350 μL), 静置 1 分钟, 甩掉清洗液, 在吸水纸上吸净, 然后重复清洗 5 次(也可使用洗板机清洗)。
- 6) 在每个标准孔和样品孔中加入 100 μL 辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗体, 用密封膜封住反应孔, 在 37℃ 水浴或恒温箱中孵育 30 min。
- 7) 弃去液体, 用吸水纸吸干, 向每个孔注入洗液(350 μL), 静置 1 分钟, 冲洗掉洗液, 用吸水纸吸干, 如此反复。重复洗板 5 次(也可以用洗板机洗板)。
- 8) 每孔加入底物 A、B 各 50 μL, 37℃ 避光孵育 15 min。
- 9) 每孔加入 50 μL 终止液, 持续 15 分钟, 在 450 nm 波长下测量每孔的 OD 值。
- 10) 绘制标准曲线: 在 Excel 工作表中, 以标准品浓度作横坐标, 对应 OD 值作纵坐标, 绘制出标准品线性回归曲线, 按曲线方程计算各样本浓度值。

2.6. 统计学处理

采用 SPSS27.0 统计软件进行统计分析, 符合正态分布的计量资料使用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 不符合非正态分布计量资料则用中位数(四分位间距) [M (P25, P75)]表示; 三组间差异性分析采用方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-t 检验; 符合正态分布的变量采用 Pearson 法分析相关性, 不符合采用 Spearman's 法分析相关性; 使用 GraphPadPrism9 进行图片绘制。所有 P 值均为双侧检验, 小于 0.05 被认为具有统计学意义。

3. 结果与分析

3.1. 一般资料

表 2 列出了 101 例 SLE 患者的临床基线特征, SLE 组年龄平均为 42.64 ± 11.97 岁, 其中女性 89 例 (88.12%), 26 例 RA 组平均年龄为 54.380 ± 7.77 岁, 其中女性 23 例 (88.46%); 以及 32 名 HC 组平均年龄为 39.84 ± 8.51 岁, 女性 29 例 (90.62%); 三组之间年龄和性别互相匹配。

SLE 患者平均病程为 108 (1~360) 月, 同时平均 SLEDAI-2K 评分为 10.11, 其中, 50 例 (50/101, 49.5%) 伴有皮肤黏膜受累, 37 例 (27/101, 36.63%) 伴有肾脏受累, 44 例 (44/101, 43.56%) 伴有肌肉骨骼受累, 24 例 (24/101, 23.76%) 伴有血液受累, 36 例 (36/101, 35.64%) 伴有浆膜炎, 6 例 (6/101, 5.94%) 伴有胃肠道受累, 25 例 (25/101, 24.75%) 伴有心脏呼吸受累, 13 例 (13/101, 12.87%) 伴有发热, 12 例 (12/101, 11.88%) 伴有血小板减少, 18 例 (18/101, 17.82%) 伴有白细胞减少, 54 例 (54/101, 53.47%) 出现抗 dsDNA 增高, 51 例 (51/101,

50.50%)出现低补体血症, 42 例(42/101, 41.58%)出现新出皮疹, 3 例(3/101, 2.97%)出现粘膜溃疡, 7 例(7/101, 6.93%)出现脱发, 22 例(22/101, 21.78%)出现胸膜炎, 23 例(36/101, 77%)出现心包炎, 12 例(12/101, 11.88%)出现脓尿, 32 例(32/101, 31.68%)出现蛋白尿, 32 例(32/101, 31.68%)出现血尿, 11 例(11/101, 10.89%)出现肌炎, 40 例(40/101, 30.96%)出现关节炎, 37 例(37/101, 36.63%)出现肺动脉高压。

Table 2. Clinical and laboratory characteristics of SLE patients

表 2. SLE 患者组临床及实验室特征

	SLE (n = 101)	
	频数	百分比(%)
女性患者	89	88.12
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	42.64 \pm 11.97	
病程[月, M (P25, P75)]	108 (36, 213)	
临床症状及实验室指标	频数	占 SLE 组百分比(%)
皮肤粘膜受累	50	49.50
肾脏受累	37	36.63
肌肉骨骼受累	44	43.56
血液受累	24	23.76
浆膜炎	36	35.64
胃肠道受累	6	5.94
心脏呼吸受累	25	24.75
发热	13	12.87
血小板减少	12	11.88
白细胞减少	18	17.82
抗 dsDNA 增高	54	53.47
低补体血症	51	50.50
新出皮疹	42	41.58
黏膜溃疡	3	2.97
脱发	7	6.93
胸膜炎	22	21.78
心包炎	23	22.77
脓尿	12	11.88
蛋白尿	32	31.68
血尿	32	31.68
肌炎	11	10.89
关节炎	40	39.60
肺动脉高压	37	36.63

续表

ANA	89	88.12
Anti-dsDNA	59	58.42
Anti-Nucleos	26	25.74
Anti-Histone	33	32.67
Anti-CENPB	13	12.87
Anti-Sm	31	30.69
Anti-PO	25	24.75
Anti-SSA52	41	40.59
Anti-SSA60	59	58.42
Anti-SSB	16	15.84
Anti-U1snRNP	37	36.63

3.2. SLE 组 sPD-L2 表达水平升高

比较健康对照组及 RA 组外周血清中 sPD-L2 检测水平, 统计学检验结果发现, SLE 患者组 sPD-L2 平均水平 28.04 ± 3.68 pg/mL, 较 RA 对照组的 23.07 ± 3.39 pg/mL 及 HC 对照组的 17.59 ± 2.07 pg/mL 对比显著升高($P < 0.0001$), 见表 3, 图 1。

Table 3. Comparison of clinical expression levels in SLE, RA, and HC ($\bar{x} \pm s$)

表 3. SLE 组、RA 组、HC 组的临床表达水平对比($\bar{x} \pm s$)

	组别			F	P
	HC (n = 32)	RA (n = 26)	SLE (n = 101)		
sPD-L2 (pg/mL)	17.59 ± 2.07	23.07 ± 3.39	28.04 ± 3.68	122.515	0.000**

注: 方差分析* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

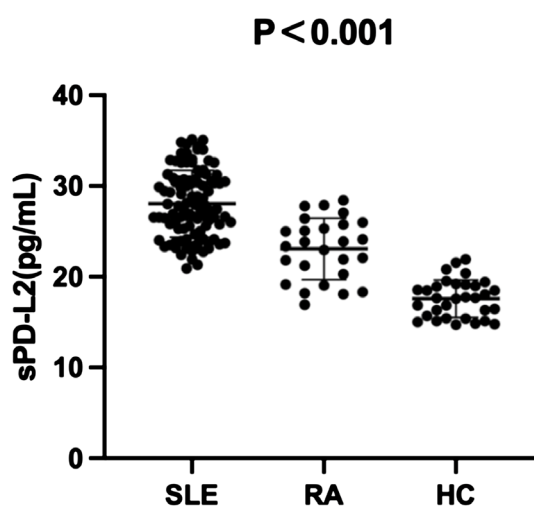


Figure 1. Serum expression levels of sPD-L2 in SLE, RA group and healthy control group were detected by ELISA

图 1. ELISA 法检测 SLE, RA 组, 健康对照组 sPD-L2 的血清表达水平

3.3. sPD-L2 表达水平与 SLE 疾病活动度及相关临床指标的相关性分析结果

统计分析结果显示, sPD-L2 与年龄($r = 0.296, P = 0.003$)、病程($r = -0.245, P = 0.014$)、SLEDAI-2K ($r = 0.023, P = 0.026$)、CRP ($r = 0.211, P = 0.036$)呈现出显著正相关关系, 而与 eGFR ($r = -0.360, P = 0.002$)呈现出负相关关系, 见表 4, 表 5。

Table 4. Correlation between sPD-L2 and disease activity and related clinical indicators

表 4. sPD-L2 与疾病活动度及相关临床指标的相关性

	sPD-L2	
	t	P
性别(女)	0.876	0.383
皮肤粘膜受累	0.920	0.360
肾脏受累	0.383	0.703
肌肉骨骼受累	0.784	0.218
血液系统受累	0.324	0.747
浆膜炎	2.194*	0.015
神经系统受累	-0.548	0.585
胃肠道受累	0.933	0.353
心脏呼吸受累	1.511	0.067
血栓	-1.584	0.116
发热	0.730	0.234
血小板减少	-0.444	0.329
白细胞减少	-0.026	0.979
抗 dsDNA 增高	2.149*	0.034
低补体血症	1.986*	0.050
新出皮疹	1.490	0.139
黏膜溃疡	-1.197	0.117
脱发	0.420	0.777
胸膜炎	2.563*	0.012
心包炎	0.393	0.695
脓尿	2.778**	0.007
蛋白尿	1.152	0.252
血尿	1.779	0.078
肌炎	0.911	0.364
关节炎	0.659	0.511

注: 均为 t 检验* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 浆膜炎评估时同时纳入胸膜炎、心包炎。

Table 5. Correlation between sPD-L2 and related clinical indicators**表 5.** sPD-L2 与相关临床指标的相关性

	sPD-L2	
	r	P
年龄(岁)	0.296**	0.003
病程(月)	-0.245*	0.014
SLEDAI-2K	0.223*	0.026
白细胞计数	-0.029	0.777
中性粒细胞百分比	0.070	0.491
淋巴细胞百分比	0.031	0.758
红细胞计数	-0.14	0.164
血红蛋白	-0.132	0.192
红细胞比容	-0.146	0.147
血小板计数	0.031	0.764
尿蛋白 24H	-0.088	0.457
尿肌酐 24H	0.08	0.500
尿酸 24H	0.088	0.460
尿素	0.095	0.349
肌酐	0.184	0.068
尿酸	0.160	0.112
估算的肾小球滤过率	-0.306**	0.002
ESR	0.173	0.085
CRP	0.211*	0.036
免疫球蛋白 G	0.213	0.058
免疫球蛋白 A	0.035	0.758
免疫球蛋白 M	0.002	0.989
IgE	0.218	0.103
C3	-0.099	0.328
C4	0.020	0.850
dsDNA	0.008	0.938
Nucleos	0.117	0.325
Sm	0.017	0.874
CENPB	-0.159	0.169
PO	0.027	0.822

续表

SSA52	-0.017	0.879
SSA60	0.009	0.937
SSB	0.113	0.316
AMAM2	0.071	0.564
PCNA	0.158	0.192
U1snRNP	0.051	0.653
dsDNA 定量	-0.006	0.958

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 均为 Spearman's 相关性分析。

4. 讨论

本研究表明, SLE 患者周围血血清中的 sPD-L2 水平高于健康对照组, 亦高于 RA 患者。SLE 是一种自身免疫性疾病, 其发病机制尚不清楚, 常伴有多器官损害, 主要表现为乏力、面部蝶形红斑、关节炎、浆膜炎, 严重者可出现全身多器官损害。统计数据显示, 系统性红斑狼疮的发病率为 30~50 人/10 万人之间, 女性发病率约为男性的 11 倍, 育龄妇女的发病率最高, 不同种族的发病率也不尽相同, 亚洲高于欧洲和美国, 约为 3.7~127/10 万人[1]。另一方面, RA 是一种以滑膜炎为特征的全身性自身免疫性疾病, 伴有明显的活动受限和残疾, 与系统性红斑狼疮不同的是, 该病多见于 50 岁左右的女性[9]; 女性的患病率约为男性的 4 倍, 中国的流行病学研究显示, RA 的患病率约为 0.42%, 而欧美国家的患病率约为 0.5%~1.0% [10]。在我们的这项研究中, 为减少干扰因素, 入选的 SLE 和 RA 患者组间性别和年龄匹配, 无统计学差异。

同时, 在自身免疫性疾病中, Xia 等人发现 IgG4 相关疾病患者外周血血浆中 sPD-L2 的表达水平较高, 且 sPD-1 的水平与 IgG4 相关疾病的活动性呈正相关[11]。Koichi 等人发现, 系统性硬化症患者外周血清中的 sPD-1 和 sPD-L2 升高, 并与纤维化程度和免疫异常相关, 他们还假设, 在系统性硬化症中, T 细胞因子是通过 T 细胞和 B 细胞之间的同源相互作用产生的, 其中膜 PD-L2 起调节作用[8], 然而, 他们并未证明 sPD-L1 的相关性, 这可能是因为它们的产生方式不同, 膜结合蛋白裂解产生 sPD-L1, 而 sPD-L2 是通过选择性剪接产生的, 它们与受体结合的分子机制不同, 会竞争性地与受体结合, 干扰膜 PD-L1 和 PD-L2 与膜 PD-1 的结合[7] [12]。提示血清中 sPD-1、sPD-L1 和 sPD-L2 的表达水平在自身免疫性疾病的诊断中有极大的潜力。

在较早的一项研究中, Kiraly 通过 ELISA 方法检测了 21 名盘状红斑狼疮患者、18 名亚急性红斑狼疮患者、13 名系统性红斑狼疮患者和 20 名健康对照者的血清 sPD-1 和 sPD-L1 水平, 结果发现系统性红斑狼疮患者的 sPD-1 水平明显高于健康对照者, 而 sPD-L1 水平则没有差异[13]。但 Yan 等人检测了系统性红斑狼疮患者外周血清中 sPD-1 和 sPD-L1 的表达水平, 发现与健康对照组相比, sPD-1 和 sPD-L1 的表达水平升高, 可能是由于其样本量不足或试剂盒灵敏度不均导致阴性结果[14], 在这项研究中, 我们检测了单中心的 101 名住院及门诊系统性红斑狼疮患者血清中 sPD-L2 的表达水平, 结果显示, 与 RA 组和健康对照组相比, 系统性红斑狼疮患者血清中 sPD-L2 的表达水平升高, 且有统计学差异, Hirahara 研究系统性红斑狼疮患者血清中的 sPD-L2 表达水平与 SLEDAI-2K 评分相关, 这与我们的研究一致[15]。进一步分析发现, sPD-L2 与年龄、病程、浆膜炎、SLEDAI-2K、抗 dsDNA 升高、低补体血症、胸膜炎和脓尿存在正相关性, 在此研究之前尚未见研究报道, SLE 的疾病活动包括 CRP 升高, 但 CRP 升高可由感染引起, 本研究纳入的患者均排除合并感染患者, 同时 SLEDAI-2K 评分是评估 SLE 疾病活动的重要

依据, 以上研究表明血清中的 sPD-L2 表达水平可能有助于系统性红斑狼疮的诊断, sPD-L2 可能是预测系统性红斑狼疮活动性的潜在细胞因子。

本研究存在有局限性。首先, 本研究只检测了患者外周血清中 sPD-L2 的表达水平, 而没有检测它们在细胞表面的表达水平, 因此没有研究 PD-1/PD-Ls 通路在 SLE 发病机制中的作用; 其次, 由于本研究的研究对象为汉族人但单中心研究, 因此无法确定 sPD-L2 在不同种族患者中的表达水平和结果偏移。再次, 本研究尚未包括检测治疗前后 sPD-L2 水平的变化, 因此需要进一步前瞻性研究来进一步探讨治疗对血清 sPD-L2 水平的影响。因此, 本研究的初步结果未来仍需通过扩大样本量和开展多中心队列研究来证实。

5. 结论

SLE 患者的血清 sPD-L2 表达水平明显高于 RA 和健康人群, 其中, sPD-L2 表达水平增加与 SLE 的疾病活动程度呈正相关, 提示 SLE 患者周围血中 sPD-L2 可能成为临床有助于评估 SLE 病情活动度的潜在血清学标志物。

参考文献

- [1] D’Cruz, D.P., Khamashta, M.A. and Hughes, G.R. (2007) Systemic Lupus Erythematosus. *Lancet*, **369**, 587-596. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60279-7)
- [2] Francisco, L.M., Sage, P.T. and Sharpe, A.H. (2010) The PD-1 Pathway in Tolerance and Autoimmunity. *Immunological Reviews*, **236**, 219-242. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x>
- [3] Nielsen, C., Ohm-Laursen, L., Barington, T., et al. (2005) Alternative Splice Variants of the Human PD-1 Gene. *Cellular Immunology*, **235**, 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2005.07.007>
- [4] Onlamoon, N., Rogers, K., Mayne, A.E., et al. (2008) Soluble PD-1 Rescues the Proliferative Response of Simian Immunodeficiency Virus-Specific CD4 and CD8 T Cells during Chronic Infection. *Immunology*, **124**, 277-293. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02766.x>
- [5] Sugiura, D., Shimizu, K., Maruhashi, T., et al. (2021) T-Cell-Intrinsic and -Extrinsic Regulation of PD-1 Function. *International Immunology*, **33**, 693-698. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxab077>
- [6] Zhang, K., Kong, X., Li, Y., et al. (2022) PD-1/PD-L1 Inhibitors in Patients with Preexisting Autoimmune Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, 854967. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.854967>
- [7] Chen, Y., Wang, Q., Shi, B., et al. (2011) Development of a Sandwich ELISA for Evaluating Soluble PD-L1 (CD274) in Human Sera of Different Ages as Well as Supernatants of PD-L1+ Cell Lines. *Cytokine*, **56**, 231-238. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.06.004>
- [8] Yanaba, K., Hayashi, M., Yoshihara, Y., et al. (2016) Serum Levels of Soluble Programmed Death-1 and Programmed Death Ligand-1 in Systemic Sclerosis: Association with Extent of Skin Sclerosis. *The Journal of Dermatology*, **43**, 954-957. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.13339>
- [9] Greisen, S.R., Kragstrup, T.W., Thomsen, J.S., et al. (2022) The Programmed Death-1 Pathway Counter-Regulates Inflammation-Induced Osteoclast Activity in Clinical and Experimental Settings. *Frontiers in Immunology*, **13**, 773946. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.773946>
- [10] Onuora, S. (2020) EULAR Updates Its RA Management Recommendations. *Nature Reviews Rheumatology*, **16**, 128. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0385-5>
- [11] Zhang, X., Lu, H., Peng, L., et al. (2022) The Role of PD-1/PD-Ls in the Pathogenesis of IgG4-Related Disease. *Rheumatology (Oxford)*, **61**, 815-825. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keab360>
- [12] Fukasawa, T., Yoshizaki, A., Ebata, S., et al. (2017) Contribution of Soluble Forms of Programmed Death 1 and Programmed Death Ligand 2 to Disease Severity and Progression in Systemic Sclerosis. *Arthritis & Rheumatology*, **69**, 1879-1890. <https://doi.org/10.1002/art.40164>
- [13] Király, Z., Nagy, E., Bokor, L., et al. (2023) The Possible Clinical Significance of a Decreased Serum Level of Soluble PD-L1 in Discoid Lupus Erythematosus, But Not in Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus: A Pilot Study. *Journal of Clinical Medicine*, **12**, 5648. <https://doi.org/10.3390/jcm12175648>
- [14] Du, Y., Nie, L., Xu, L., et al. (2020) Serum Levels of Soluble Programmed Death-1 (sPD-1) and Soluble Programmed Death Ligand 1 (sPD-L1) in Systemic Lupus Erythematosus: Association with Activity and Severity. *Scandinavian*

Journal of Immunology, **92**, e12884. <https://doi.org/10.1111/sji.12884>

- [15] Hirahara, S., Katsumata, Y., Kawasumi, H., *et al.* (2020) Serum Levels of Soluble Programmed Cell Death Protein 1 and Soluble Programmed Cell Death Protein Ligand 2 Are Increased in Systemic Lupus Erythematosus and Associated with the Disease Activity. *Lupus*, **29**, 686-696. <https://doi.org/10.1177/0961203320916517>