

SLE患者外周血淋巴细胞表达 B_{Ly}S 和 CD86 的变化^{*}

张志方¹, 张春艳¹, 杨岫岩², 周毅³, 梁柳琴², 潘敬运¹

(1. 中山大学中山医学院, 广东 广州 510089;

2. 中山大学附属第一医院风湿科, 广东 广州 510080;

3. 暨南大学附属华侨医院风湿科, 广东 广州 510632)

摘要: 采用FACS研究了22例SLE患者外周血淋巴细胞表达 B_{Ly}S 和 CD86 的变化。结果表明, SLE患者外周血 B_{Ly}S⁺ 淋巴细胞和 CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞显著增加, 但二者之间无显著相关。

关键词: SLE; 淋巴细胞; B_{Ly}S; CD86

中图分类号: R392.11; R331.3 **文献标识码:** A

文章编号: 0529-6579 (2002) 05-0126-02

B_{Ly}S (B lymphocyte stimulator) 是最近发现的肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 家族新成员^[1]。动物实验结果表明, B_{Ly}S 与系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 的发生发展可能有关。本研究用我们制备的抗 hB_{Ly}S (human B_{Ly}S) 单克隆抗体^[2] 研究 SLE 患者外周血淋巴细胞表达 B_{Ly}S 和 B 淋巴细胞表达 CD86 的变化及二者的关系, 为阐明人 SLE 发病机理提供新的实验依据。

1 材料和方法

1.1 对象 22例SLE患者, 来自中山大学附属第一医院和暨南大学附属华侨医院住院病人, 符合1982年美国风湿病学会的SLE诊断标准, 全部为女性, 平均年龄(37.9±11.90)岁(15~58岁)。健康对照组14名, 全部为女性, 平均年龄(34.6±7.80)岁(21~48岁), 来自广州血液中心的健康献血员。两组的年龄、性别构成比在统计学上无显著性差异。

1.2 实验材料 RPMI-1640培养液, 购自GIBCO公司; 淋巴细胞分层液购自华美生物工程公司; PE标记 anti-CD86单克隆抗体、PE-CY5标记 anti-CD19单克隆抗体等购自PharMingen公司; anti-hB_{Ly}S单克隆抗体为本课题组制备的单克隆抗体^[2]; FITC标记的兔抗鼠IgG购自DAKO公司。

1.3 人外周血单个核细胞的分离和培养 抽取健康人或SLE患者外周血, 每人15 mL, 肝素(50 U/mL血)抗凝, 采用密度梯度离心法分离单个核细胞, 用φ=10%胎牛血清的RPMI-1640完全培养液调整细胞浓度为1×10⁶/mL待用。

1.4 流式细胞技术 (flow cytometry, FACS) 将上述获得的单个核细胞用预冷的PBS洗1次, 加入我们制备的抗 hB_{Ly}S 单抗 (鼠抗人), 4℃作用1 h,

用预冷的PBS洗3次, 然后分别将其分成2管, 第1管加入FITC标记的兔抗鼠IgG, 第2管同时加入PE-CY5标记-CD19单抗和PE标记-CD86单抗, 4℃作用1 h, 用预冷的PBS洗3次, 用FACS检测。

1.5 统计学分析 所得数据应用SPSS 10.0统计软件处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用*t*检验和直线相关分析作统计学处理。

2 实验结果

2.1 SLE患者外周血淋巴细胞表达 B_{Ly}S 的变化 SLE患者外周血 B_{Ly}S⁺ 淋巴细胞的百分率为4.3±2.70, 而对照组为2.5±0.81, 二者有显著性差异($P < 0.01$)。

2.2 SLE患者外周血 CD19⁺ 淋巴细胞表达 CD86 分子的变化 SLE患者外周血 CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞数量显著高于对照组 ($P < 0.05$), CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞占 CD86⁺ 淋巴细胞的百分率也显著高于对照组 ($P < 0.01$), 而 CD86⁺ 淋巴细胞的百分率与正常对照组无显著性差异 (表1)。

2.3 SLE患者外周血淋巴细胞表达 B_{Ly}S 增高与 CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞增高以及 CD19⁺CD86⁺/CD86⁺ 比例增高等的相关性分析 结果表明, SLE患者 B_{Ly}S⁺ 淋巴细胞增加与 CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞增加 ($r = 0.770, P > 0.05$) 和 CD19⁺CD86⁺/CD86⁺ 比例增高 ($r = -0.167, P > 0.05$) 等无显著相关性。

3 讨论

SLE是一种严重的自身免疫性疾病, 其确切发病机理目前尚不清楚。B_{Ly}S的发现及其动物实验结果表明, 其与SLE密切相关: ① B_{Ly}S转基因小鼠或外源性给予正常小鼠 B_{Ly}S 都使其表现出狼疮样临床表现; ②如果把 B_{Ly}S的可溶性受体TACI Ig注射入NZBWF1小鼠(狼疮模型鼠)体内, 以中和

* 收稿日期: 2002-08-20

作者简介: 张志方 (1964年生) 男, 副教授, 博士, E-mail: zhangzf01@yahoo.com.cn

表 1 SLE 患者外周血 CD86⁺ 淋巴细胞和 CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞的变化¹⁾

Tab 1 Changes of percentage of CD86⁺ lymphocytes and CD19⁺CD86⁺ lymphocytes in peripheral blood in SLE patients

组别	n	CD86 ⁺	CD19 ⁺ CD86 ⁺	$\frac{CD19^+CD86^+}{CD86^+}$
对照	14	1.4±0.71	0.30±0.15	22.9±9.88
SLE	22	2.3±1.96	0.75±0.83 ²⁾	37.1±16.90 ³⁾

1) ($\bar{x} \pm s$)/%; 2) $P < 0.05$; 3) $P < 0.01$

B_{Ly}S 的作用, 则可明显缓解小鼠狼疮样临床表现, 并延长小鼠的存活时间。因此, B_{Ly}S 的发现及其作用机理的初步阐明将要为 SLE 的发病机理研究提供一条新途径。但是, B_{Ly}S 的研究现状尚处于动物实验阶段, 目前仅有两篇最近发表的论文报道了 SLE 患者血浆中 B_{Ly}S 水平增加^[3,4]。我们用制备的抗 hB_{Ly}S 单克隆抗体和 FACS 的检测结果表明, SLE 患者外周血 B_{Ly}S⁺ 淋巴细胞百分率显著增加 ($P < 0.01$)。FACS 检测结果有别于血浆检测结果之处是, 血浆中检测的 B_{Ly}S 是从细胞膜上脱落的 B_{Ly}S 分子膜外段, 其来源除激活的 T 淋巴细胞外, 还有单核细胞和树突状细胞等。因此, 本实验结果更能准确反应 SLE 患者淋巴细胞表达 B_{Ly}S 的情况, 到目前为止, 此结果在国内外尚未见报道。

共刺激信号途径是 T 淋巴细胞活化所需要两种信号途径之一。T 淋巴细胞膜上共同刺激分子的配体是抗原呈递细胞膜上的 B7 分子, B7 包括 CD80 (B7-1) 和 CD86 (B7-2) 两种分子。此调节途径能增加 T 淋巴细胞表达的多种细胞因子的产生, 包括 IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、TNF- α 和 IFN- γ , 但是否影响激活 T 淋巴细胞上 B_{Ly}S 的表达, 目前尚无资料报道。关于 B7 与 SLE 的关系, Bijl 等^[5] 的结果表明, SLE 患者外周血 B 淋巴细胞表达 CD86 显著增

加, 而表达 CD80 无显著改变。本实验结果也证明, SLE 患者外周血 CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞和 CD19⁺CD86⁺ 细胞占 CD86⁺ 细胞的百分率等均显著高于对照组 (分别 $P < 0.05$)。上述实验结果证实了 SLE 患者 B 淋巴细胞的 B7-2 信号途径处于高度激活状态。为了研究 T 淋巴细胞表达 B_{Ly}S 增高是否由 B7-2 信号途径活化增加引起, 我们做了 B_{Ly}S 与 CD86⁺ 淋巴细胞、CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞等变化的相关性分析, 结果表明, B_{Ly}S 表达增加与 CD86⁺ 淋巴细胞、CD19⁺CD86⁺ 淋巴细胞等的变化无显著性相关。此结果说明, 虽然 SLE 患者 B 淋巴细胞表达 B7-2 增加, 但此途径不是影响 T 淋巴细胞表达 B_{Ly}S 增高的主要调节因素。

总之, 本实验结果表明, SLE 患者外周血淋巴细胞表达 B_{Ly}S 显著增加, B 淋巴细胞表达 CD86 显著增加, 但二者之间无显著相关。

参考文献:

[1] MOORE P A, BELVEDERE O, ORR A, et al. B_{Ly}S: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator[J]. Science, 1999, 285(5425): 260-263.
 [2] 张志方, 张春艳, 潘敬运, 等. 基因免疫制备抗人 B_{Ly}S 单克隆抗体及其单抗特性分析[J]. 中国病理生理杂志, 2002, 18(6): 625-630.
 [3] ZHANG J, ROSCHKE V, BAKER K P, et al. Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus[J]. J Immunology, 2001, 166: 6-10.
 [4] CHEEMA G S, ROSCHKE V, HILBERT D M, et al. Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases[J]. Arthritis & Rheumatism, 2001, 44(6): 1313-1319.
 [5] BIJL M, HORST G, LIMBURG P C, et al. Expression of costimulatory molecules on peripheral blood lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus[J]. Ann Rheum Dis, 2001, 60: 523-526.

Expression of B_{Ly}S and CD86 on Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Systemic Lupus Erythematosus

ZHANG Zhi fang¹, ZHANG Chun yan¹, YANG Xiu yan², ZHOU Yi³, LIANG Liu qin³, PAN Jing yun¹

(1. Zhongshan Medical School, Sun Yat sen(Zhongshan) University, Guangzhou 510089, China;
 2. The First Affiliated Hospital, Sun Yat sen(Zhongshan) University, Guangzhou 510080, China;
 3. The Affiliated Huaqiao Hospital, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The expression of B lymphocyte stimulator (B_{Ly}S) and CD86 molecules on peripheral blood lymphocytes in 22 patients with systemic lupus erythematosus (SLE) were investigated by flow cytometry (FACS). B_{Ly}S⁺ lymphocytes and CD19⁺CD86⁺ lymphocytes were increased significantly in patients with SLE ($P < 0.05$, $P < 0.05$). The increase of percentage of B_{Ly}S lymphocytes does not correlate with the increase of percentage of CD19⁺CD86⁺ lymphocytes.

Key words: SLE; lymphocyte; B_{Ly}S; CD86