

· 论 著 ·

重组人型肿瘤坏死因子受体-抗体融合蛋白治疗活动性强直性脊柱炎对患者 T 淋巴细胞亚群和单核细胞 CD36 表达的影响*

王倩¹, 成善毅², 罗斌¹, 李智伟^{1△}

1. 新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心, 新疆乌鲁木齐 830001; 2. 新疆医科大学, 新疆乌鲁木齐 830011

摘要:目的 初步探讨重组人型肿瘤坏死因子受体-抗体融合蛋白(RhTNFR-Fc)治疗活动性强直性脊柱炎(AS)对患者外周血 T 淋巴细胞亚群及单核细胞 CD36 表达的影响。方法 选取 2017 年 1 月至 2019 年 12 月于新疆维吾尔自治区人民医院风湿科首次进行生物制剂治疗的活动性 AS 患者 78 例, 将所有活动性 AS 患者按随机数字表法分为观察组和对照组, 每组 39 例。其中对照组进行常规治疗, 采用非甾体类药物口服治疗; 观察组在常规治疗基础上应用 RhTNFR-Fc 治疗。根据 BASDAI 评分、BASFI 评分、C 反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)评估 AS 患者疾病活动度, 判断转归情况。应用流式细胞学检测活动性 AS 患者治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群(Th1、Th2、Th17、Treg 细胞)比例及单核细胞 CD36 荧光强度的变化。分析活动性评估指标与 T 淋巴细胞亚群和单核细胞 CD36 荧光强度的相关性。结果 与治疗前相比, 观察组患者在治疗 2、4、6 个月后临床 BASDAI 评分、BASFI 评分、CRP、ESR、Th1 细胞比例、Th17 细胞比例均明显下降($P < 0.05$), 单核细胞 CD36 荧光强度增高($P < 0.05$)。治疗 2、4、6 个月观察组 BASDAI 评分、BASFI 评分、Th17 细胞比例均明显低于对照组($P < 0.05$), 且观察组评分结果下降幅度明显大于对照组($P < 0.05$); 而单核细胞 CD36 荧光强度在治疗 2、4、6 个月后观察组均高于对照组($P < 0.05$), 且升高幅度大于对照组($P < 0.05$)。活动性 AS 患者外周血 Th1、Th17 细胞比例与骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分呈正相关($r > 0, P < 0.05$); 单核细胞 CD36 荧光强度与 Th1 细胞比例、Th17 细胞比例、骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分呈负相关($r < 0, P < 0.05$), 与 Th2 细胞、Treg 细胞比例呈正相关($r > 0, P < 0.05$)。结论 RhTNFR-Fc 蛋白联合非甾体类药物共同治疗活动性 AS 起效快, 可有效缓解活动性 AS 临床症状, 达到协同用药效果。Th1、Th17、Treg 细胞可能用于 RhTNFR-Fc 治疗活动性 AS 的疗效监测, 有助于临床了解患者机体免疫细胞紊乱情况, 及时干预治疗。单核细胞 CD36 荧光强度可以间接反映 AS 患者机体活动性炎症。

关键词:活动性强直性脊柱炎; 重组人型肿瘤坏死因子受体-抗体融合蛋白; T 淋巴细胞亚群; 单核细胞 CD36

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.11.014

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2022)11-1342-07

文献标志码:A

Effect of recombinant human tumor necrosis factor receptor-antibody fusion protein for treating active ankylosing spondylitis on T lymphocyte subsets and monocyte CD36 expression*

WANG Qian¹, CHENG Shanyi², LUO Bin¹, LI Zhiwei^{1△}

1. Center of Clinical Laborator, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi, Xinjiang 830001, China; 2. Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China

Abstract: Objective To preliminarily explore the effect of recombinant human tumor necrosis factor receptor-antibody fusion protein (RhTNFR-Fc) for treating active ankylosing spondylitis (AS) on peripheral blood T lymphocyte subsets and the monocyte CD36 expression. **Methods** A total of 78 patients with active AS treated with the biological agents for the first time in the rheumatology department of Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital from January 2017 to December 2019 were selected and divided into the observation group and control group according to the random number table method, 39 cases in each group. The control group conducted the routine therapy by adopting oral non-steroidal drugs; on the basis of the routine therapy the observation group used RhTNFR-Fc. The active AS disease activity and outcome were evaluated according to the BASDAI score, BASFI score, C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR). The flow cytometry was used to detect the expression proportion of peripheral blood T lymphocyte subsets (Th1, Th2, Th17, Treg cells) and monocyte CD36 fluorescence intensity before and after treatment in

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2020D01C091); 新疆维吾尔自治区人民医院院内课题项目(20190116)。

作者简介:王倩,女,技师,主要从事感染免疫研究。△ 通信作者, E-mail:13899994455@163.com。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220424.1526.006.html\(2022-04-25\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220424.1526.006.html(2022-04-25))

the patients with active AS. The correlation between the activity assessment indicators with T lymphocyte subsets and monocyte CD36 fluorescence intensity was analyzed. **Results** Compared with before treatment, the clinical BASDAI score, BASFI score, CRP, ESR, Th1 cell ratio and Th17 cell ratio after treatment in the observation were significantly decreased ($P < 0.05$), and the monocyte CD36 fluorescence intensity was increased ($P < 0.05$). The BASDAI score, BASFI score, and Th17 cell ratio after 2, 4, 6 months of treatment in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$), moreover the decrease range of the scores in the observation group was significantly greater than that in the control group ($P < 0.05$). Whereas the monocyte CD36 fluorescence intensity after 2, 4, 6 months of treatment in the observation group was higher than that in the control group ($P < 0.05$), moreover the increase range was greater than that in the control group ($P < 0.05$). The ratios of peripheral blood Th1 and Th17 cells in the patients with active AS were positively correlated with the CT grade of the sacroiliac joint, BASDAI score and BASFI score ($r > 0, P < 0.05$); the monocyte CD36 fluorescence intensity was negatively correlated with Th1 cells proportion, Th17 cells proportion, sacroiliac joint CT grade, BASDAI score and BASFI score ($r < 0, P < 0.05$), and positively correlated with Th2 cells and Treg cell levels ($r > 0, P < 0.05$). **Conclusion** RhTNFR-Fc combined with non-steroidal drugs for commonly treating active AS takes the effect rapidly, can effectively alleviate the clinical symptoms of active AS, and achieve the effect of synergistic medication. Th1, Th17, and Treg may be used to monitor the efficacy of RhTNFR-Fc in the treatment of active AS, which is helpful for clinic to understand the immune cell disorder of the patients and timely take the intervention treatment. The monocyte CD36 fluorescence intensity could indirectly reflect the active inflammation of AS patients.

Key words: active ankylosing spondylitis; recombinant human tumor necrosis factor receptor-Fc fusion protein; T lymphocyte subsets; monocyte CD36

强直性脊柱炎(AS)是一种以中轴性关节病变为特征的慢性进行性全身免疫系统疾病,可累及周围关节、内脏及其他组织,严重时可能导致患者躯体功能障碍甚至致残^[1-2]。该病青壮年多发,男性患病率明显高于女性,国际上其比例为2:1^[3],有家族聚集性,可能与遗传相关^[3]。其发病机制复杂,迄今未明。除遗传假说(HLA-B27、内质网氨肽酶)和微生物感染假说(细菌、支原体)外,免疫假说也备受关注。关于免疫假说的研究主要集中于CD4⁺T淋巴细胞的亚群[如Th1、Th2、Th17、调节性T细胞(Treg)]调节异常及亚群紊乱^[4-5]。CD36是一个表达于单核细胞、血小板、巨噬细胞的黏附分子和清道夫受体。最近有学者发现,单核细胞CD36的异常表达与AS病程也密切相关^[6-7]。近年来,随着肿瘤坏死因子(TNF)抗体为代表的生物制剂的广泛应用,极大提高了AS临床症状的缓解率,减轻关节损害,并显著改善了疾病预后^[8-10],使该病转为低活动状态。本文旨在比较活动性AS患者注射重组人型肿瘤坏死因子受体-抗体融合蛋白(RhTNFR-Fc)治疗前后患者外周血T淋巴细胞亚群比例和单核细胞CD36荧光强度的变化,探讨生物制剂治疗对活动性AS患者各指标的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2017年1月至2019年12月于新疆维吾尔自治区人民医院风湿科首次进行生物制剂治疗的活动性AS患者作为研究对象,共78例,男57例(73.01%)、女21例(26.92%),年龄14~61岁。临床检查结果显示,78例活动性AS患者中骶髂关节CT I级31例,II级21例,III级19例,IV级7例。将所有活动性AS患者按随机数字表法分为观察组和对

照组,每组39例。两组患者性别、年龄、病程、骶髂关节CT分级、疾病类型、巴氏强直性脊柱炎疾病活动性指数(BASDAI)和巴氏强直性脊柱炎功能指数(BASFI)等基线资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。同时,本研究选取同期在新疆维吾尔自治区人民医院体检的20例体检健康者作为健康对照组,且健康对照组研究对象的年龄、性别与活动性AS患者比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会审核批准,患者及家属均签署知情同意书。

1.1.1 活动性AS的诊断标准 AS的诊断基于1984年的纽约标准^[11],且存在放射学诊断为骶髂关节炎的证据。采用BASDAI评分判断AS患者的疾病活动性,以BASDAI评分 >4 分定义为活动性AS。

1.1.2 纳入标准 (1)明确诊断为AS(依据1984年修订的AS纽约标准);(2)治疗前为活动性AS;(3)入组前正在使用治疗AS的植物药制剂(如雷公藤、白芍总苷等)、沙利度胺或正在接受物理治疗的患者,需停用至少4周。

1.1.3 排除标准 (1)患其他自身免疫性疾病,比如系统性红斑狼疮、炎症肠病及风湿性关节炎;(2)患血液性疾病、糖尿病、高血压、心血管疾病及传染性疾病;(3)有肝肾功能损伤、恶性肿瘤及精神性疾病;(4)接受过TNF生物制剂治疗。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 全自动血液分析仪(深圳迈瑞公司生产,型号:BC-5390);流式细胞仪(美国BD公司生产,型号:BD FACS Canto)。

1.2.2 试剂 CD3-FITC(美国BD公司生产,批号:

554832)、CD4-FITC(美国 BD 公司生产,批号:553650)、CD8-PE(美国英杰生命技术有限公司生产,批号:MHCD0804)、CD14-PE(美国 BD 公司生产,批号:553740)、CD36-FITC(美国 BD 公司生产,批号:555454)、CD69-APC(美国 BD 公司生产,批号:555533)、IFN- γ -APC(美国 BD 公司生产,批号:341117)、IL-4-APC(美国 BD 公司生产,批号:554486)、CD183-PE(美国 BD 公司生产,批号:551128)、CD196-APC(美国 BD 公司生产,批号:

560619)、CD25-APC(美国 BD 公司生产,批号:555434)、CD127-PE(美国 BD 公司生产,批号:552543)、鞘液(美国 BD 公司生产,批号:342003)、Iono(上海碧云天生物技术有限公司生产,批号:S1672)、Monensin(上海宝曼生物科技有限公司生产,批号:K0048)、破膜剂+固定剂(杭州联科生物技术有限公司生产,批号:70-GAS003/2)、溶血素(美国 BD 公司生产,批号:349202)。

表 1 两组患者基线资料比较

组别	n	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	性别(男/ 女,n)	病程 ($\bar{x}\pm s$,年)	骶髂关节 CT 分级(n)				疾病类型(中轴/ 合并,n/n)	BASDAI 评分 ($\bar{x}\pm s$,分)	BASFI 评分 ($\bar{x}\pm s$,分)
					I级	II级	III级	IV级			
观察组	39	27.87 \pm 9.24	28/11	4.15 \pm 1.35	15	11	9	4	31/8	5.77 \pm 1.03	5.26 \pm 1.13
对照组	39	28.20 \pm 8.92	29/10	4.44 \pm 1.17	16	10	10	3	28/11	5.56 \pm 1.02	5.22 \pm 1.38
健康对照组	20	27.59 \pm 8.81	10/10	—	—	—	—	—	—	—	—
P		0.92	0.80	0.67	0.82	0.80	0.79	0.70	0.30	0.38	0.89

注:—表示无数据。

1.3 方法

1.3.1 治疗方案 对照组患者口服柳氮磺嘧啶,1 g/d,小剂量非甾体抗炎药口服,连续用药 6 个月,进行治疗前、治疗后的疗效评估。观察组在对照组治疗基础上给予 RhTNFR-Fc(商品名:强克,上海赛金生物医药有限公司生产,批准文号:国药准字 S20110004)25 mg 皮下注射,每周 2 次。当 AS 患者为低疾病活动度时,进行剂量递减个体化治疗;每 2 个月进行一次效果评估。

1.3.2 标本采集 采集所有研究对象静脉血 4 mL 于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,颠倒混匀,1 h 内进行检验。

1.3.3 单核细胞 CD36 的检测 取所有研究对象 EDTA 抗凝管新鲜血液 50 μ L 加入 CD14-PE 和 CD36-FITC 抗体各 10 μ L 标记单个核细胞,避光孵育,分析 FITC 和 PE 双阳性细胞单核细胞 CD36 的荧光强度。

1.3.4 Th1、Th2 细胞检测 取所有研究对象 EDTA 抗凝管新鲜血液加入 PMA、Iono、Monensin 刺激,放入 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 4~6 h。取 50 μ L 刺激后全血,加入 CD3-FITC、CD8-PE 抗体各 10 μ L,避光孵育 20 min,加入 BD 溶血素孵育 8 min,离心洗涤,经过固定、破膜后,分别加入 IFN- γ -APC、IL-4-APC 抗体 10 μ L 避光孵育 15 min 后进行胞内染色。采用 FACSCanto 流式细胞仪测定外周血 Th1(CD3⁺ CD8⁻ IFN- γ ⁺)、Th2(CD3⁺ CD8⁻ IL-4⁺) 细胞比例。

1.3.5 Th17、Treg 细胞检测 取所有研究对象 EDTA 抗凝管新鲜血液 50 μ L 分别加入 CD3-PerCP-Cy5-5、CD4-FITC、CD183-PE、CD196-APC 标记 Th17 细胞,CD4-FITC、CD25-APC、CD127-PE 标记 Treg 细胞,避光

静置 15 min,加 BD 溶血素避光静置 8 min,离心、洗涤、重悬细胞于 BD FACS Canto 流式细胞仪检测外周血 Th17(CD3⁺ CD4⁺ CD183⁻ CD196⁺)、Treg(CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low})细胞比例。

1.3.6 红细胞沉降率(ESR)及 C 反应蛋白(CRP)指标检测 用 109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝剂对血液标本进行抗凝,抗凝剂与血液按 1:4 的比例置于特制刻度测定管内,垂直立于室温中,1 h 观察红细胞层下沉距离,用毫米(mm)报告结果,即 ESR。CRP 采用乳胶增强免疫比浊法在迈瑞全自动血液分析仪 BC-5390 上定量检测。

1.4 观察指标 (1)记录健康对照组 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及单核细胞 CD36 荧光强度;(2)记录活动性 AS 患者注射 RhTNFR-Fc 治疗前及治疗 2、4、6 个月后 ESR、CRP 水平, Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及单核细胞 CD36 荧光强度;(3)记录活动性 AS 患者注射 RhTNFR-Fc 治疗 2、4、6 个月后 BASDAI 和 BASFI 评分;(4)分析骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分与 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及单核细胞 CD36 荧光强度的相关性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析;采用 Spearman 相关分析骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分与 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及单核细胞 CD36 荧光强度的相关性;以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床病情活动度评估指标于治疗期间的变化比较 与治疗前相比,观察组患者在治疗后 2、4、6 个月后临床 BASDAI 评分、BASFI 评分、CRP 水

平、ESR 均明显降低($P < 0.05$), 对照组患者治疗后 4 个月、6 个月后临床 BASDAI 评分、BASFI 评分、CRP 水平、ESR 均明显降低($P < 0.05$)。治疗 2、4、6 个月观察组 BASDAI 评分、BASFI 评分均明显低于对照组($P < 0.05$), 且观察组评分结果下降幅度明显大于对照组($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 两组患者治疗前后及健康对照组 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及单核细胞 CD36 荧光强度见表 3。与健康对照组相比, 治疗前活动性 AS 患者的 Th1、Th17 细胞比例明显增高($P < 0.05$), Th2、

Treg 细胞比例下降($P < 0.05$)。与治疗前相比, 观察组患者在治疗 2、4、6 个月后 Th1、Th17 细胞比例明显下降($P < 0.05$), 而单核细胞 CD36 荧光强度增高($P < 0.05$)。治疗 2、4、6 个月后观察组 Th17 细胞比例低于对照组($P < 0.05$), 且观察组 Th17 细胞比例下降幅度明显大于对照组($P < 0.05$)。治疗 2、4、6 个月后观察组单核细胞 CD36 荧光强度高于对照组($P < 0.05$), 且观察组升高幅度大于对照组($P < 0.05$)。

表 2 两组患者治疗前后临床病情活动度评估指标的变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	ESR(mm/h)	CRP(mg/L)	BASDAI 评分(分)	BASFI 评分(分)
观察组	治疗前	38.23±12.48	28.95±9.60	5.77±1.04	5.26±1.13
	治疗 2 个月	27.61±8.69*	21.18±6.96*	3.95±0.89*#	3.78±0.87*#
	治疗 4 个月	20.00±4.85*	14.64±4.04*	2.67±0.84*#	2.33±0.79*#
	治疗 6 个月	13.84±4.49*	9.97±3.94*	1.72±0.6*#	1.56±0.47*#
	P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
对照组	治疗前	36.97±11.66	29.92±9.02	5.56±1.02	5.22±1.38
	治疗 2 个月	29.30±9.19	23.28±7.86	4.49±0.99	4.29±0.94
	治疗 4 个月	23.85±7.25*	18.92±6.51*	3.67±0.80*	3.50±0.98*
	治疗 6 个月	19.02±6.07*	15.83±5.66*	2.92±0.93*	2.87±0.87*
	P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与组内治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组同期相比,# $P < 0.05$ 。

表 3 两组患者治疗前后及健康对照组 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及单核细胞 CD36 荧光强度($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	Th1 细胞(%)	Th2 细胞(%)	Th17 细胞(%)	Treg 细胞(%)	单核细胞 CD36 荧光强度
观察组	治疗前	18.32±2.96 [△]	1.19±0.42 [△]	2.12±0.74 [△]	1.05±0.32 [△]	0.31±0.09 [△]
	治疗 2 个月	14.14±2.47*	1.31±0.39	1.65±0.54*#	1.18±0.38	0.38±0.11*#
	治疗 4 个月	12.88±2.42*	1.47±0.39	1.40±0.51*#	1.30±0.36	0.43±0.15*#
	治疗 6 个月	11.80±2.45*	1.55±0.35	1.27±0.44*#	1.49±0.38	0.54±0.14*#
	P	0.003	0.071	0.018	0.091	0.017
对照组	治疗前	18.49±2.77 [△]	1.20±0.41 [△]	2.08±0.70 [△]	1.04±0.30 [△]	0.32±0.10 [△]
	治疗 2 个月	16.99±3.22	1.23±0.40	1.79±0.55	1.09±0.37	0.35±0.12
	治疗 4 个月	16.24±2.61	1.29±0.37	1.77±0.53	1.25±0.36	0.38±0.11
	治疗 6 个月	15.60±4.08*	1.47±0.42	1.62±0.41*	1.43±0.46	0.46±0.13*
	P	0.223	0.640	0.643	0.514	0.062
健康对照组		6.17±1.42	2.44±0.68	0.69±0.21	4.03±0.77	0.92±0.30

注:与健康对照组比较,[△] $P < 0.05$;与组内治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组同期比较,# $P < 0.05$ 。

2.3 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例与骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分的相关性分析 由表 4 可见, Spearman 相关分析显示, 活动性 AS 患者外周血 Th1、Th17 细胞比例与骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分呈正相关($r > 0$, $P < 0.05$)。

2.4 单核细胞 CD36 荧光强度与外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例及骶髂关节 CT 分级、BASDAI

评分、BASFI 评分的相关性分析 活动性 AS 患者单核细胞 CD36 荧光强度与外周血 Th1 细胞比例($r = -0.39$, $P = 0.008$)、Th17 细胞比例($r = -0.36$, $P = 0.016$)及骶髂关节 CT 分级($r = -0.37$, $P = 0.021$)、BASDAI 评分($r = -0.41$, $P = 0.018$)、BASFI 评分($r = -0.43$, $P = 0.015$)呈负相关, 与外周血 Th2 细胞($r = 0.33$, $P = 0.010$)、Treg 细胞比例($r = 0.31$, $P = 0.016$)呈正相关。

表 4 活动性 AS 患者外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞比例与疾病相关评分的相关性分析

项目	Th1 细胞	Th2 细胞	Th17 细胞	Treg 细胞
骶髂关节 CT 分级				
<i>r</i>	0.392	-0.265	0.372	-0.259
<i>P</i>	0.017	0.086	0.019	0.068
BASDAI 评分				
<i>r</i>	0.460	-0.292	0.409	-0.287
<i>P</i>	0.009	0.021	0.012	0.031
BASFI 评分				
<i>r</i>	0.474	-0.280	0.393	-0.277
<i>P</i>	0.004	0.019	0.010	0.022

3 讨 论

目前,对 TNF 在自身免疫性疾病中的深入研究显示,该因子在自身免疫性疾病及炎性骨吸收等方面发挥了作用^[12-13]。AS 患者 TNF- α 水平明显升高,其不但可通过瀑布效应使免疫炎症放大,而且可通过对 IGF-1、Ox α 及 Run2 的抑制作用而抑制成骨细胞分化,并刺激破骨形成^[14]。因此,研发以 TNF 为靶点的治疗性抗体以阻断 TNF 发挥生物学效应成为目前治疗 AS 的新策略。而目前对于 TNF 抑制剂治疗 AS 后对患者 T 淋巴细胞亚群和单核细胞 CD36 荧光强度的影响尚不清楚。

近年来,T 淋巴细胞亚群在各类疾病治疗的监测中备受瞩目,目前有研究表明其与系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等自身免疫性疾病的转归具有相关性^[15-16]。活动性 AS 患者体内有大量活化的 T 淋巴细胞和单核细胞,同时被激活的 Th1 细胞能产生 IL-2、IL-10 和 TNF- α 等细胞因子协同促进巨噬细胞、自然杀伤细胞等效应细胞的活化,通过上调细胞间黏附分子、血管细胞黏附分子的表达,进一步加剧骨关节破坏。IL-17 还可调节黏附分子和 Th1 细胞,促进 TNF- α 的表达,进而促进炎症反应,在骨关节炎的进程中,软骨细胞产生的 TNF- α 通过自分泌和旁分泌作用使关节损害放大^[17]。本研究利用临床研究分析了生物制剂治疗活动性 AS 前后 T 淋巴细胞亚群的动态变化,与健康对照组相比,治疗前活动性 AS 患者外周血 Th17 细胞比例显著高于健康对照组,Treg 细胞比例则相反,提示在活动性 AS 患者体内 Th17 细胞处于激活状态,Treg 细胞受到抑制,Th17 细胞/Treg 细胞免疫格局偏向 Th17。据研究报道,Th1 细胞通过分泌一系列细胞因子加剧机体炎症反应,引起组织炎症损伤^[18]。在本研究中发现活动性 AS 患者外周血 Th1 细胞处于优势状态,Th1/Th2 细胞亚群向 Th1 偏移,提示 Th1 细胞导致患者机体处于过度炎症状态。

活动性 AS 患者在常规治疗基础上联合应用

RhTNFR-Fc,治疗 2 个月时,观察组 BASDAI 评分、BASFI 评分、CRP、ESR 改善程度明显优于对照组,表明 RhTNFR-Fc 能显著缓解临床症状,提高临床疗效。同时,治疗 2 个月时,观察组 Th1 和 Th17 细胞比例也较对照组明显减低,Treg 细胞比例一定程度增高,提示 RhTNFR-Fc 可快速降低细胞免疫反应,有效改善 T 淋巴细胞亚群紊乱,减轻炎症反应,有利于缓解病情。有研究表明,IL-17 可通过与 TNF- α 之间的协同效果,作用于微环境导致骨关节损害,从而促进 AS 的进展^[19],RhTNFR-Fc 作为 TNF 拮抗剂可以极大程度抑制 TNF 的活化表达,进一步抑制 Th17 细胞的增殖,减缓体内炎症反应状态。另一方面,本研究还发现活动性 AS 患者外周血 Th2、Treg 细胞比例与 BASDAI 评分和 BASFI 评分呈负相关,Th1、Th17 细胞比例与骶髂关节 CT 分级、BASDAI 评分和 BASFI 评分呈正相关。本研究推测外周血 T 淋巴细胞比例与活动性 AS 患者的机体炎症反应密切相关,从炎症反应角度间接明确其对 AS 病情评估的作用。

CD36 是一种存在于单核细胞、血小板、血管内皮细胞表面的清道夫受体,据报道发现其参与了动脉粥样硬化、炎症、血栓形成等众多生理和病理过程^[20-22]。经深入研究证实,单核细胞 CD36 的表达与炎症性疾病、糖尿病、心血管疾病及脑卒中等均密切相关^[23-24],而目前有学者发现该指标与 AS 也具有相关性^[7-8]。研究表明;金属蛋白酶 17 缺失时 CD36 表达水平显著升高,体内巨噬细胞对凋亡细胞的摄取增加,促进了炎症的消退^[25];另一方面,炎症因子可抑制 CD36 启动子的调节而减少 CD36 的表达^[26-28]。此外,单核细胞 CD36 的表达在机体中与过氧化物酶体增殖物激活受体及 TNF 呈负相关^[29],可推测单核细胞 CD36 的表达可能受机体炎症的影响。本研究证实,单核细胞 CD36 荧光强度在活动性 AS 患者中下调。观察组在治疗前与治疗 2、4、6 个月后相比,单核细胞 CD36 荧光强度明显增高,推测单核细胞 CD36 参与了 AS 转归的这一过程,RhTNFR-Fc 治疗可能缓解机体炎症状态,恢复单核细胞 CD36 的表达。

CD36 通过过氧化物酶体增殖物激活受体 β 信号通路对线粒体适应性进行调控,对 Treg 细胞进行编程使其适应富含乳酸的肿瘤微环境。据报道,某研究团队近日取得一项新成果:在肿瘤内 Treg 细胞中,CD36 作为中央代谢调节剂而被选择性上调;进一步研究发现,CD36 缺陷型小鼠的肿瘤负荷情况有所减轻,肿瘤内的 Treg 细胞数量与功能皆下降,而健康组织 Treg 数量和功能却无变化,CD36 缺乏症可使肿瘤内 Treg 线粒体的数量和功能下降,导致细胞凋亡^[30]。在本研究中发现,单核细胞 CD36 荧光强度与 Treg 细胞比例呈正相关,证实了单核细胞 CD36 的表达与 Treg 细胞密切相关,而具体作用机制还亟待深入研究。

综上所述,RhTNFR-Fc 通过干预 TNF 过表达而

发挥作用。本研究提示 RhTNFR-Fc 联合非甾体类药物共同治疗活动性 AS 起效快,可有效缓解活动性 AS 临床症状,达到协同用药效果。此外,活动性 AS 炎症与 T 淋巴细胞亚群动态变化密切相关,经 RhTNFR-Fc 治疗可调节免疫细胞平衡,抑制 Th1、Th17 细胞驱动的炎性反应,Treg 细胞则随治疗时间的延长而逐渐回升,缓解病情发展。通过初步了解 RhTNFR-Fc 治疗活动性 AS 后患者外周血 T 淋巴细胞亚群的动态变化,本研究团队推测 Th1、Th17、Treg 细胞日后可能会成为 RhTNFR-Fc 治疗活动性 AS 的疗效监测指标,这将有助于临床了解患者机体免疫细胞紊乱情况,及时干预治疗。此外,单核细胞 CD36 荧光强度可以提示活动性 AS 患者机体炎症状况。经 RhTNFR-Fc 治疗后炎症负荷缓解,单核细胞 CD36 表达增高,可间接评估 AS 患者疾病活动度。单核细胞 CD36 荧光强度与 Treg 细胞比例也密切相关,在 TNF 拮抗剂治疗后二者明显回升,可缓解机体局部及全身炎性反应,减少骨损伤。

参考文献

[1] EL MAGHRAOUI A. Extra-articular manifestations of ankylosing spondylitis: prevalence, characteristics and therapeutic implications[J]. *Eur J Intern Med*, 2011, 22(6):554-560.

[2] RAYCHAUDHURI S P, DEODHAR A. The classification and diagnostic criteria of ankylosing spondylitis[J]. *J Autoimmun*, 2014, 48:128-133.

[3] SIEPER J, PODDUBNY D. Axial spondyloarthritis[J]. *Lancet*, 2017, 390(10089):73-84.

[4] VORUGANTI A, BOWNESS P. New developments in our understanding of ankylosing spondylitis pathogenesis[J]. *Immunology*, 2020, 161(2):94-102.

[5] DULIC S, VASARHELYI Z, BAJNOK A, et al. The impact of anti-TNF therapy on CD4⁺ and CD8⁺ cell subsets in ankylosing spondylitis[J]. *Pathobiology*, 2018, 85(3):201-210.

[6] LAI N L, ZHANG S X, WANG J, et al. The proportion of regulatory T cells in patients with ankylosing spondylitis: a meta-analysis[J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019:1058738.

[7] 覃巍, 廉凯, 郭青, 等. 单核细胞 CD36 表达与强直性脊柱炎[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(29):4695-4699.

[8] PENG Y F, ZHANG Q, CAO L, et al. Red blood cell distribution width: a potential maker estimating disease activity of ankylosing spondylitis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(12):5289-5295.

[9] ZHANG T, ZHU J, HE D, et al. Disease activity guided stepwise tapering or discontinuation of rhTNFR:Fc, an etanercept biosimilar, in patients with ankylosing spondylitis: a prospective, randomized, open-label, multicentric study[J]. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2020, 12:1759720X20929441.

[10] 谭树聪. 两种肿瘤坏死因子 α 拮抗药治疗强直性脊柱炎的疗效分析[J]. *医学综述*, 2015, 21(8):1519-1521.

[11] VAN DER LINDEN S, VALKENBURG H A, CATS A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. *Arthritis Rheum*, 1984, 27(4):361-368.

[12] JANG D I, LEE A H, SHIN H Y, et al. The role of tumor necrosis factor alpha(TNF-alpha) in autoimmune disease and current TNF-alpha inhibitors in therapeutics[J]. *Int J Mol*, 2021, 22(5):2719.

[13] ZHAO B. Intrinsic restriction of TNF-mediated inflammatory osteoclastogenesis and bone resorption[J]. *Front Endocrinol(Lausanne)*, 2020, 11:583561.

[14] GENRE F, LÓPEZ-MEJÍAS R, RUEDA-GOTOR J, et al. GF-1 and ADMA levels are inversely correlated in nondiabetic ankylosing spondylitis patients undergoing anti-TNF-alpha therapy[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:671061.

[15] 贾慧宇, 程光慧. Th17 细胞与 Treg 细胞及相关细胞因子在 SLE 患者外周血中的表达及意义[J]. *河北医学*, 2018, 24(8):1277-1281.

[16] 梁洁, 赵向聪, 闫宁, 等. PTEN 调控类风湿关节炎 Th17/Treg 免疫失衡的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(9):717-720.

[17] LIU D, LIU B D, LIN C R, et al. Imbalance of peripheral lymphocyte subsets in patients with ankylosing spondylitis: a meta-analysis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:696973.

[18] IMÓN-CAMACHO L, VARGAS-ROJAS M I, VÁZQUEZ-MELLADO J, et al. In vivo peripheral blood proinflammatory T cells in patients with ankylosing spondylitis[J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(4):830-835.

[19] LI X Y, CHEN L N, WU Z B, et al. levels of circulating th17 cells and regulatory t cells in ankylosing spondylitis patients with an inadequate response to anti-TNF- α therapy[J]. *J Clin Immunol*, 2013, 33(1):151-161.

[20] CHOROMAŃSKA B, MYŚLIWIEC P, CHORO MAŃSKA K, et al. The role of CD36 receptor in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2017, 26(4):717-722.

[21] BHAT A, DAS S, YADAV G, et al. Hyperoxidized albumin modulates platelets and promotes inflammation through CD36 receptor in severe alcoholic hepatitis[J]. *Hepatol Commun*, 2019, 4(1):50-65.

[22] YANG M, SILVERSTEIN R L. CD36 signaling in vascular redox stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 136:159-171.

[23] RAMOS-ARELLANO L E, MUÑOZ-VALLE J F, DE LA CRUZ-MOSSO U, et al. Circulating CD36 and oxLDL levels are associated with cardiovascular risk factors in young subjects[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2014, 28(14):54.

[24] KIM E H, TOLHURST A T, SZETO H H, et al. Targeting CD36-mediated inflammation reduces acute brain injury in transient, but not permanent, ischemic stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(4):385-391.

[25] DRISCOLL W S, VAISAR T, TANG(下转第 1353 页)

达,ATF4、KL-6 蛋白均呈高表达,在 COPD 病情发展、气道重塑中 SIRT1、ATF4、KL-6 蛋白均有参与,在 COPD 临床诊断中具有良好的诊断效能,可作为 COPD 诊断及气道重塑后续临床治疗的新研究方向。

参考文献

- [1] 刘丽,张春燕,邱毓文.慢性阻塞性肺疾病急性加重期呼吸道病毒感染检出率及危险因素分析[J].临床肺科杂志,2018,23(6):1118-1122.
- [2] 成玮,陈平.慢性阻塞性肺疾病与合并症[J].中国医师杂志,2019,21(10):1441-1443.
- [3] 郑立,陈彩明,唐悦婵.舒利迭联合标准桃金娘油肠溶胶囊治疗慢性阻塞性肺疾病的疗效及对血清 SIRT1 sfrp5 MRpro-ADM 的影响[J].河北医学,2019,25(6):961-965.
- [4] WANG X B, HAN X Q, YU C L, et al. Study on the influence on expression of γ -GCS in ATF3 and ATF4 in lung tissue of patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Clin Experimental Med, 2018, 17(8): 810-813.
- [5] FUSHTEY I M, NIKOLAIEVA K L. Systolic function of the left ventricle in patients with pulmonary hypertension on the background of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Modern Med Technol, 2020, 44(1): 12-16.
- [6] 崔红生,张文娟,杨建宇,等.慢性阻塞性肺疾病诊疗指南[J].中国中医药现代远程教育,2011,6(12):121-122.
- [7] 黎相照,薛小磊,张中满,等.免疫组化染色检测脑胶质瘤 IDH1 的优化及染色特点[J].中华神经医学杂志,2016,15(6):558-562.
- [8] 肖甜,陈晓英,王娜,等.中国城市社区 COPD 患者急性加

重的相关因素调查[J].中华疾病控制杂志,2017,21(2):110-113.

- [9] CAROLLO C, URSO C, PRESTI R L, et al. Sirtuins and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Food Nutr Sci, 2018, 9(10): 1254-1260.
- [10] WANG S, HE N, XING H, et al. Function of hesperidin alleviating inflammation and oxidative stress responses in COPD mice might be related to SIRT1/PGC-1 α /NF- κ B signaling axis[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2020, 40(2): 388-394.
- [11] 刘燕,颜培正,张庆祥.温阳化饮方通过调节 MMP-9 活性干预支气管哮喘寒饮蕴肺证气道重塑的机制[J].中华中医药杂志,2018,33(1):279-283.
- [12] 郭国华,肖建宏,宋彬,等.沉默信息调节因子 2 相关酶 1 在慢性阻塞性肺疾病患者血清中的表达水平及临床意义[J].中国呼吸与危重监护杂志,2018,17(4):336-340.
- [13] 李洁,戴爱国,胡瑞成,等.慢性阻塞性肺疾病患者肺组织中 ATF3 与 ATF4 对 γ -GCS 表达的影响[J].中国呼吸与危重监护杂志,2017,16(1):9-14.
- [14] 刘娜,赵然然.乙酰半胱氨酸辅助治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床分析[J/CD].中华肺部疾病杂志(电子版),2020,13(2):54-58.
- [15] NAKAMURA T, NAKAMURA M, TAKAHASHI N. Neonatal high-permeability pulmonary edema based on serial cytokine profiles and KL-6 in serum: case report [J]. Fukushima J Med Sci, 2017, 63(1): 22-27.
- [16] 彭伟,陈津,魏伟,等.血清 KL-6 预测肺癌患者放疗后发生放射性肺炎风险的研究[J].中华放射医学与防护杂志,2017,37(12):891-895.

(收稿日期:2021-09-10 修回日期:2022-03-15)

(上接第 1347 页)

- J, et al. Macrophage ADAM17 deficiency augments CD36-dependent apoptotic cell uptake and the linked anti-inflammatory phenotype[J]. Circ Res, 2013, 113(1): 52-61.
- [26] ASADA K, SASAKI S, SUDA T, et al. Antiinflammatory roles of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human alveolar macrophages [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 169: 195-200.
- [27] CHUNG E Y, LIU J, HOMMA Y, et al. Interleukin-10 expression in macrophages during phagocytosis of apoptotic cells is mediated by homeodomain proteins Pbx1 and Prep-1[J]. Immunity, 2007, 27: 952-964.
- [28] BOTTCHEA A, GAJPL U S, FURNROHR B G, et al. Involvement of phosphatidylserine, alphavbeta3, CD14,

CD36, and complement C1q in the phagocytosis of primary necrotic lymphocytes by macrophages [J]. Arthritis Rheum, 2006, 54: 927-938.

- [29] HU Y F, YE H I, TSAO H M, et al. Impact of circulating monocyte CD36 level on atrial fibrillation and subsequent catheter ablation[J]. Heart Rhythm, 2011, 8(5): 650-656.
- [30] WANG H, FRANCO F, TSUI Y C, et al. CD36-mediated metabolic adaptation supports regulatory T cell survival and function in tumors[J]. Nat Immunol, 2020, 21(3): 298-308.

(收稿日期:2021-10-23 修回日期:2022-03-11)