

Changes and Significance of Serum Soluble Complement Receptor 2 in Patients with Primary Sjogren's Syndrome

Ningning Li¹, Yongli Zhang^{1*}, Xiaofei Wang², Yunhua Hou¹, Xiaoyang Ying¹,
Chenchen Wang¹, Ting Zhang¹, Ying Liu¹, Fang Wang³

¹Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian

²Sheng Jing Hospital of China Medical University, Shenyang

³The Central Hospital of Liaoyang, Liaoyang

Email: ning12161121@163.com, Zhangyongli8822@126.com

Received: Apr. 9th, 2014; revised: May 10th, 2014; accepted: May 15th, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

Abstract

Aim: Changes and significance of serum soluble complement receptor 2 (sCR2) in patients with primary Sjogren's syndrome (pSS) are discussed. **Methods:** ELISA was developed for the determination of sera sCR2 concentration in sera of 20 pSS patients and 20 healthy volunteers. Statistical analysis was performed by using SPSS software. **Results:** The level of serum sCR2 in patients with pSS was significantly lower than that in healthy control ($P < 0.01$). In addition, there was no correlation between patients' age and sex in sCR2 levels. The level of serum sCR2 in the self-antibody positive group was lower than that in the negative control group, and there was significant statistical significance ($P < 0.05$). In addition, the level of serum sCR2 in pSS patients showed negative correlation with immunoglobulin IgG and ESR level. **Conclusions:** The evident decrease of serum sCR2 level in pSS patients has negative correlation with the levels of immunoglobulin IgG and ESR, which suggests that sCR2 may play a critical role in the pathogenesis of pSS.

Keywords

Primary Sjogren's Syndrome, Soluble Complement Receptor 2

*通讯作者。

可溶性补体受体2在干燥综合征患者血清中的变化及意义

李宁宁¹, 张永利^{1*}, 王晓非², 侯云华¹, 应晓杨¹, 王晨辰¹, 张婷¹, 刘影¹, 王芳³

¹大连大学附属中山医院, 大连

²中国医科大学附属盛京医院, 沈阳

³辽阳市中心医院, 辽阳

Email: ning12161121@163.com, *Zhangyongli8822@126.com

收稿日期: 2014年4月9日; 修回日期: 2014年5月10日; 录用日期: 2014年5月15日

摘要

目的: 探讨原发性干燥综合征(pSS)患者血清中可溶性补体受体2(sCR2)的变化及意义。方法: 采用ELISA法检测20例原发性干燥综合征患者和20例健康体检者血清中可溶性补体受体2的浓度, 并用SPSS统计软件进行相关统计学分析。结果: pSS患者sCR2水平均明显低于健康体检者(P均<0.01), sCR2与年龄和性别无关, 特别是PSS患者中抗体阳性组血清sCR2水平低于阴性对照组, 存在显著的统计学意义(P < 0.05), 而且pSS患者血清sCR2水平与免疫球蛋白IgG及血沉存在明显负相关。结论: pSS患者血清sCR2水平明显降低, 且与免疫球蛋白IgG及血沉存在明显负相关, 提示sCR2可能参与pSS的发病过程。

关键词

原发性干燥综合征, 可溶性补体受体2

1. 引言

原发性干燥综合征(pSS)是一种主要累及全身外分泌腺的慢性自身免疫性疾病, 以唾液腺和泪腺的症状为主, 是在遗传、病毒感染和性激素异常等多种因素共同作用下, 导致机体细胞免疫和体液免疫的异常反应, 通过各种细胞因子和炎症介质造成组织损伤, 可同时累及甲状腺、肺脏、肝脏、肾脏等多种器官出现多种临床表现, 严重危害人类健康。sCR2 是 C3a 片段的终末产物 C3d、C3dg 的细胞受体, 也是 B 细胞上的 EB 病毒受体[1], 是一种单链表面糖蛋白[2]。sCR2 具有抑制补体经典途径和旁路途径的活化, 协助清除体内的免疫复合物, 调节 B 细胞功能的作用。因此, sCR2 可以对抗过度的炎症和免疫反应。近年来大量研究表明 CR2 在自身免疫病的发展过程中起作用。sCR2 在原发性干燥综合征患者血清中的变化及其意义, 目前国内尚无相关报道。本研究用 ELISA 法检测了 30 例原发性干燥综合征患者及 20 例健康体检者血清中 sCR2 的浓度, 探讨原发性干燥综合征患者血清中 sCR2 的变化及意义, 为了解 pSS 的发病机制提供新的理论试验基础。

2. 材料与方法

2.1. 一般材料

30 例原发性干燥综合征患者(观察组), 均为 2011 年 1 月至 2012 年 10 月在大连大学附属中山医院风

湿免疫科住院病人。全部为女性,平均年龄为(46.1 ± 13.2)岁。所有患者均符合美国风湿病协会(ARA)2002年修订的 SS 的诊断标准。对照组 20 例均为健康体检者,男 3 例、女 17 例,平均年龄为(32.4 ± 9.4)岁。两组性别、年龄差异无显著性($P > 0.05$),具有可比性。

2.2. 观察指标及方法

2.2.1. 观察指标

所有患者及正常对照均于清晨空腹时采静脉血,以所测的血清 sCR2 浓度为观察指标。

2.2.2. 方法

以固相的双抗体夹心酶联免疫吸附实验法(ELISA)为本实验研究方法。

2.3. 仪器及试剂

2.3.1. 仪器

酶标仪,移液器等。

2.3.2. 试剂

购自美国 RapidBio Lab 公司生产的 sCR2 ELISA 试剂盒。

2.4. 检测方法

将抽取的所有患者及正常对照的 3 毫升静脉血,离心后取血清放入血清管中, -80℃ 冰箱冻存。试验前先将试剂盒及冻存的血清标本平衡至室温。从 sCR2 试剂盒中,取出已包被抗体的酶标板,每孔加入 20 μL sCR2 标准品和血清,每孔加入 100 μL 抗人 sCR2 抗体工作液,室温 30 min 甩干液体后洗涤 5 次;每孔加入 150 μL 抗人 sCR2 POD,室温温育 30 min 后洗涤 5 次;每孔依次加入 100 μL TMB 显色液,室温温育 20 min;每孔依次加 50 μL Stop Solution 终止液,450 nm 波长酶标仪测 OD 值,计算浓度。应该还要加 HRP 标记的抗体才能与底物结合;

2.5. 材料分析

以 OD 值为纵坐标, sCR2 的标准品浓度为横坐标,做出标准曲线(已知两者之间为多项式关系),见图 1。根据多项式方程及各样本的 OD 值得出 sCR2 的浓度。

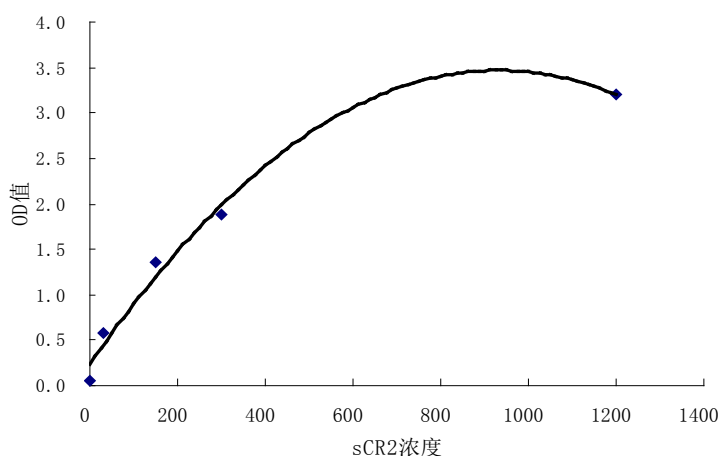


Figure 1. Chart of sCR2 concentration curve

图 1. sCR2 浓度曲线示意图

2.6. 统计学方法

所得数据以均数 \pm 标准差($x \pm s$)表示, 采用 SPSS17.0 统计软件统计, 统计方法采用方差分析, 两组间比较行独立 T 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。sCR2 水平与 pSS 患者其他实验室指标之间关系分析采用直线相关分析, 并计算 Pearson 相关系数 r , 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

1) 两组血清 sCR2 水平, 观察组 SS 患者血清 sCR2 水平为(75.78 ± 62.09) ng/ml, 对照组为(314.45 ± 272.09) ng/ml。由表 1 可以看出, 观察组均明显低于对照组, P 均 <0.05 。1, 抗 SSA 和/或抗 SSB 抗体阳性组, 血清 sCR2 水平明显低于阴性对照组($P < 0.05$, 表 2)。

2) 将 SS 患者血清 sCR2 水平与 SS 患者血清中 RF 及 C3 的浓度进行相关分析, 发现 SS 患者血清 sCR2 水平与其 RF ($r = -0.292$ $P = 0.118$ ($P > 0.05$))及 C3 ($r = -0.209$ $P = 0.267$ ($P > 0.05$))无相关性; 将 SS 患者血清 sCR2 水平与 SS 患者血清中免疫球蛋白 IgG 浓度进行相关分析, 发现 SS 患者血清 sCR2 水平与免疫球蛋白 IgG 及血沉存在明显正相关($r = -0.829$ $P = 0.000$ ($P < 0.05$); $r = -0.549$ $P = 0.002$ ($P < 0.05$))(分别见下图 2、3)

4. 讨论

补体受体 2 型(complement receptor 2, CR2, 又称 CD21)是补体激活调节剂(regulator of complement activation, RCA)家族的一员, 是 C3a 片段的终末产物 C3d、C3dg 的细胞受体, 也是 B 细胞上的 EB 病毒受体[1], 是一相对分子质量为 145,000 单链表面糖蛋白[2]。主要分布于所有成熟 B 细胞和滤泡树突状细胞上, 也存在于某些上皮细胞和 T 细胞系的原始细胞[3]。CR2 有两种形式, 一种是膜相 CR2, 一种是可溶的 CR2 (soluble complement receptor 2, sCR2)。后者只具有膜相 CR2 胞外的活性部位, 可与膜相 CR2 竞争配体[4]。原发性干燥综合征(primary Sjogren's syndrome, pSS)是主要累及唾液和泪腺的自身免疫疾病。B 淋巴细胞高反应性成为其最突出的免疫学特征之一, 临床上可以看到多数 pSS 患者体内存在着高免疫球蛋白血症[5]。除了血清免疫球蛋白的增高, 大约 60%~70% 的患者的抗核苷酸抗体和类风湿因子高滴度和高红细胞沉降率。T 淋巴细胞对 B 淋巴细胞的调控失常是 B 淋巴细胞高度活化产生自身抗体导致自身免疫病的重要因素之一[6]。在 T 辅助细胞的作用下, B 淋巴细胞功能异常, 产生多种自身抗体、多克隆的免疫球蛋白以及免疫复合物, 致使唾液腺和泪腺等组织发生炎症和破坏性病变[7]。

Table 1. The sCR2 concentration of the comparison results between the observation group and the control group

表 1. 观察组与对照组之间 sCR2 浓度的比较结果

	sCR2 水平(ng/ml)	检验值	P 值
观察组	75.78 ± 62.09	3.606	0.001
对照组	314.45 ± 272.09		

Table 2. The comparison results between sCR2 concentration of anti SSA/SSB antibody positive group and negative control group

表 2. 抗 SSA 和/或抗 SSB 抗体阳性组与阴性对照组之间 sCR2 浓度的比较结果

	sCR2 水平(ng/ml)	检验值	P 值
抗体阳性	61.06 ± 51.37	-2.410	0.027
抗体阴性	128.70 ± 74.69		

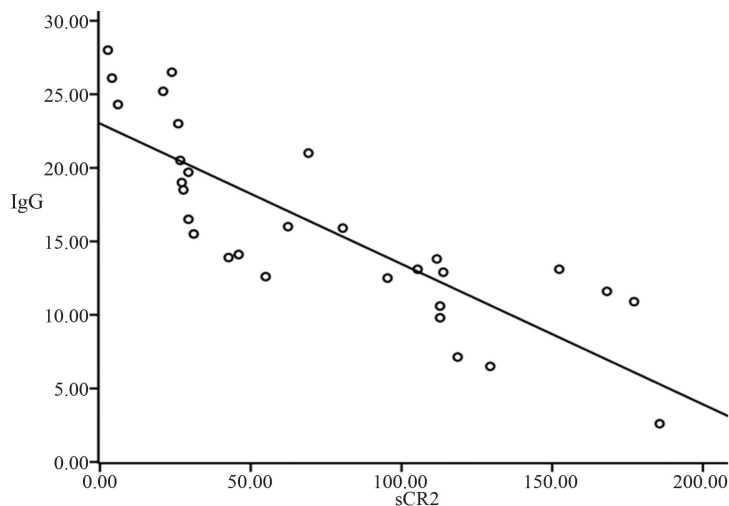


Figure 2. Schematic diagram of the correlation between immunoglobulin IgG level and serum sCR2 level in pSS patients

图 2. pSS 患者血清 sCR2 水平与免疫球蛋白 IgG 的相关性示意图

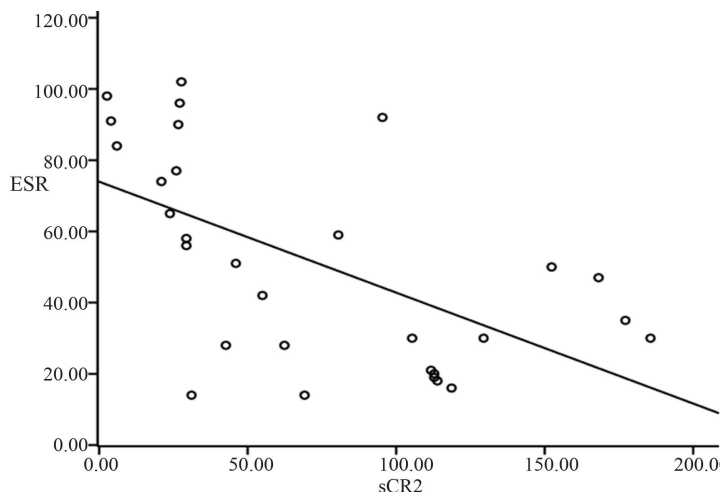


Figure 3. Schematic diagram of the correlation between ESR level and serum sCR2 level in pSS patients

图 3. pSS 患者血清 sCR2 水平与血沉的相关性示意图

本研究中我们发现, SS 患者血清 sCR2 水平明显低于正常对照组, 在 SS 患者中, sCR2 与年龄和性别无关。由此本实验得出结论血清 sCR2 的减少与疾病本身有关, 不仅会导致 sCR2 的低水平, 而且排除了不同年龄组及性别之间的差异。B 细胞受体和被免疫复合物吞噬的 C3d 激活 B 细胞从而减少了 B 细胞表面的 CR2 的浓度[5]。因此, 德国 Konstanz 大学的 Masilamani M 博士推测血清中 sCR2 水平的减少是由两方面引起: B 细胞的激活; 通过循环免疫复合物吞噬的 C3d 来增加血浆 sCR2 的清除[6]。同时, sCR2 的减少导致它的协助清除体内免疫复合物, 调节 B 细胞功能的作用的减弱, 从而加速了自身免疫病的发展, 可见 sCR2 在自身免疫病的发生发展中起了重要作用。sCR2 可与膜型 CR2 竞争配体, 从而阻断抗原与膜型 CR2 结合, 对抗过度的炎症和免疫反应, 避免机体受到损害[8]。曾有动物实验研究表明重组 sCR2 既保留了 CR 的功能与活性结构, 也能在较低的浓度下发挥有效作用[9]。提示 sCR2 在自身免疫病的临床治疗中可能发挥积极作用。本研究还发现, 血清 sCR2 水平在 pSS 中与 RF 无关, 与 C3 无关, 但与免

疫球蛋白 IgG 及血沉存在明显正相关，特别是自身抗体阳性组血清 sCR2 水平显著低于阴性对照组。表明 sCR2 在 pSS 患者体内是促进 B 细胞增殖的，并在调节免疫球蛋白的产生过程中起重要作用[10]。由于 sCR2 水平的降低，致使 B 淋巴细胞反应性增高，多克隆 B 淋巴细胞激活使体内产生大量器官特异性及非特异性自身抗体并可出现高免疫球蛋白血症，更加剧了自身免疫反应及腺体内外损伤，提示 sCR2 可能参与 PSS 的发病过程。

5. 结论

本实验通过检测 SS 患者血清可溶性补体受体 2(sCR2)浓度，发现其明显低于正常对照组，且与免疫球蛋白 IgG 及血沉存在明显负相关，提示 sCR2 可能参与 pSS 的发病过程。同时也提示我们，sCR2 可能在以自身免疫性疾病的发病过程中起重要作用，为我们今后深入研究提供了新的方向。

致 谢

在此，衷心感谢王晓非教授、张永利教授、侯云华教授及实验室老师为本实验及论文提供的指导和帮助，对给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者，以及免疫学研究的编辑部老师表示感谢。感谢所有为本实验及论文倾注心血的人们！

参考文献 (References)

- [1] 马大龙 (1998) 补体受体. *国外医学分子生物学分册*, **10**, 208-212.
- [2] Toozc, J.A. and Bcvan, D.H. (1991) Regulator of complement activation. *Clinical & Experimental Immunology*, **83**, 423-429.
- [3] Fischer, E., Dclibrias, C. and Kazatchkine, M.D. (1991) Soluble complement receptor. *The Journal of Immunology*, **146**,865-869.
- [4] Fcaron, D.T (1991) Primary Sjogren's syndrome. *Clinical & Experimental Immunology*, **86**, 43-46.
- [5] Fox Ri (2005) Sjogren's syndrome. *Lancet*, **366**, 321-331.
- [6] 尹培达, 余步云 (1999) 风湿病. 科学技术文献出版社, 北京.
- [7] Ramos-Casals M., Brito-Zeron, P., Siso-Almirall, A., et al. (2002) Topical and systemic medications for the treatment of primary Sjogren's syndrome. *Nature Reviews Rheumatology*, **8**, 399-411.
- [8] 苗江永, 张祥建, 刘瑞春, 等 (2004) 帕金森病患者外周血清可溶性补体受体 2 的变化及意义. *临床荟萃*, **19**, 1232-1235.
- [9] Mollnes, T.E., Lea, T., Mellbye, O.J., Pahle, J., Grand, O. and Harboe, M. (1986) Complement activation in rheumatoid arthritis evaluated by C3dg and the terminal complement complex. *Arthritis & Rheumatology*, **29**, 715-721.
- [10] Ozaki, K., Spolski, R., Feng, C.G., et al. (2002) A critical role for IL-21 in regulating immunoglobulin production. *Science*, **298**, 1630-1634.