

T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域在幼年特发性关节炎中作用的初步研究

肖丽萍 周丽娜 陈俊杰 张燕 唐雪梅 周娟

(重庆医科大学附属儿童医院风湿免疫科/国家儿童健康与疾病临床医学研究中心/儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地/儿童感染免疫重庆市重点实验室/儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 重庆 400014)

[摘要] **目的** 分析 T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域 (V-domain Ig suppressor of T cell activation, VISTA) 在幼年特发性关节炎 (juvenile idiopathic arthritis, JIA) 患儿外周血的表达情况, 探讨其在发病中的作用。**方法** 前瞻性收集不同亚型 JIA 患儿 (47 例) 及健康儿童 (10 例) 的外周血, 利用流式细胞术检测 CD14⁺ 单核细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞上 VISTA、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的表达情况。**结果** VISTA 在 JIA 患儿中的表达水平比健康儿童低 ($P < 0.05$); 不同亚型 JIA 患儿 VISTA 表达差异有统计学意义, 以全身型表达水平最低 ($P < 0.05$); 不同免疫细胞表达 VISTA 差异有统计学意义, 单核细胞表面 VISTA 表达水平更高 ($P < 0.05$)。相关性分析发现 CD4⁺ T 细胞上 VISTA 与 IFN- γ ($r = -0.436$, $P < 0.05$)、TNF- α ($r = -0.382$, $P < 0.05$) 表达呈负相关, CD8⁺ T 细胞上 VISTA 与 IFN- γ ($r = -0.348$, $P < 0.05$)、TNF- α ($r = -0.487$, $P < 0.05$) 表达呈负相关; CD14⁺ 单核细胞上 VISTA 与 IFN- γ ($r = -0.582$, $P < 0.05$)、TNF- α ($r = -0.603$, $P < 0.05$) 表达呈负相关。**结论** VISTA 表达不足可能与 JIA 发病相关, 增强 VISTA 的免疫调节作用可能是未来治疗 JIA 的途径之一。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (3): 272-277]

[关键词] 幼年特发性关节炎; T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域; 单核细胞; 淋巴细胞; 儿童

A preliminary study on the role of V-domain Ig suppressor of T cell activation in juvenile idiopathic arthritis

XIAO Li-Ping, ZHOU Li-Na, CHEN Jun-Jie, ZHANG Yan, TANG Xue-Mei, ZHOU Juan. Department of Rheumatology and Immunology, Children's Hospital of Chongqing Medical University/National Clinical Research Center for Child Health and Disorders/China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders/Chongqing Key Laboratory of Child Infection and Immunity/Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing 400014, China (Zhou J, Email: zhoujuan1112@aliyun.com)

Abstract: Objective To study the expression of V-domain Ig suppressor of T cell activation (VISTA) in peripheral blood of children with juvenile idiopathic arthritis (JIA) and its role in the pathogenesis of JIA. **Methods** In this prospective study, peripheral blood was collected from 47 children with different subtypes of JIA and 10 healthy children. Flow cytometry was used to measure the expression levels of VISTA, interferon- γ (IFN- γ), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) on CD14⁺ mononuclear cells, CD4⁺ T lymphocytes, and CD8⁺ T lymphocytes. **Results** The children with JIA had a significantly lower expression level of VISTA than the healthy children ($P < 0.05$). There was a significant difference in the expression of VISTA between the children with different subtypes of JIA, with the lowest expression level in those with systemic JIA ($P < 0.05$). There was also a significant difference in the expression of VISTA between different immune cells, with a significantly higher expression level on the surface of monocytes ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that VISTA was negatively correlated with the expression of IFN- γ and TNF- α on CD4⁺ T cells ($r =$

[收稿日期] 2022-11-20; [接受日期] 2023-01-31

[基金项目] 国家重点研发计划项目 (2021YFC2702003); 重庆医科大学未来医学青年创新团队支持计划 (W0114); 重庆渝中区科技局科研项目 (20210136)。

[作者简介] 肖丽萍, 女, 硕士研究生, 住院医师。

[通信作者] 周娟, 女, 主任医师。Email: zhoujuan1112@aliyun.com。

-0.436 and -0.382 respectively, $P<0.05$), $CD8^+$ T cells ($r=-0.348$ and -0.487 respectively, $P<0.05$), and $CD14^+$ mononuclear cells ($r=-0.582$ and -0.603 respectively, $P<0.05$). **Conclusions** The insufficient expression of VISTA may be associated with the pathogenesis of JIA, and enhancing the immunomodulatory effect of VISTA might be one option for the treatment of JIA in the future. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(3): 272-277]

Key words: Juvenile idiopathic arthritis; V-domain Ig suppressor of T cell activation; Monocyte; Lymphocyte; Child

幼年特发性关节炎 (juvenile idiopathic arthritis, JIA) 是一组具有遗传异质性、病因不明、以慢性关节滑膜炎为主要特征的儿童时期常见的结缔组织病, 不同亚型间临床表现迥异, 反复发作导致关节畸形和慢性虹膜睫状体炎, 是儿童致残和失明的首要原因^[1-2]。免疫过度活化和失衡是 JIA 发病的重要免疫学机制^[3]。T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域 (V-domain Ig suppressor of T cell activation, VISTA) 是新发现的 CD28-B7 家族的协同抑制分子, 在免疫微环境中兼有受体和配体双重功能, 对天然免疫和适应性免疫应答中多种细胞有强大的免疫调节作用^[4-5], 从一发现就受到肿瘤、过敏和自身免疫研究领域的关注, 自身免疫性脑脊髓炎、银屑病、狼疮等动物模型的研究提示其功能缺陷是诱发自身免疫性疾病的重要因素^[6-8]。JIA 属于自身免疫性疾病, 常见多发, 但目前无 VISTA 在幼年起病的 JIA 中作用的研究报道。本项目研究不同亚型 JIA 患儿外周血不同免疫细胞表达 VISTA 的情况, 探讨其在 JIA 发病中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

前瞻性选取 2021 年 9 月—2022 年 9 月重庆医科大学附属儿童医院风湿免疫科门诊和病房收治的符合诊断标准^[9]的 47 例初诊 JIA 患儿, 其中男 23 例, 女 24 例, 诊断年龄范围为 2.5~15.9 岁, 平均年龄 (8.8 ± 3.7) 岁。按诊断标准将上述患儿分为 4 个亚型: 全身型幼年特发性关节炎 (systemic juvenile idiopathic arthritis, sJIA) 7 例, 男 1 例, 女 6 例, 平均年龄 (7.1 ± 2.6) 岁; 多关节型幼年特发性关节炎 (polyarthritis juvenile idiopathic arthritis, p-JIA) 13 例, 男 5 例, 女 8 例, 平均年龄 (8.2 ± 4.1) 岁; 少关节型幼年特发性关节炎 (oligoarthritis juvenile idiopathic arthritis, o-JIA) 16 例, 男 8 例, 女 8 例, 平均年龄 (8.5 ± 4.0) 岁; 附着点炎症相关的关节炎 (enthesitis related arthritis, ERA) 11 例, 男 4 例, 女 6 例, 平均年龄

(11.2 ± 2.6) 岁。所有患儿初诊前均未使用过糖皮质激素、免疫抑制剂, 且不合并其他自身免疫性疾病、感染性疾病、恶性肿瘤等疾病。收集患儿白细胞 (white blood cell, WBC) 计数、C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) 结果。另选同期我院儿童保健门诊 10 例健康儿童为健康对照组, 男 6 例, 女 4 例, 年龄范围为 3.6~14.5 岁, 平均年龄 (8.0 ± 4.0) 岁。健康对照组与各型 JIA 患儿的性别 ($\chi^2=4.360$, $P=0.324$)、年龄 ($F=0.838$, $P=0.135$) 比较差异均无统计学意义。本研究经过重庆医科大学附属儿童医院医学伦理委员会批准 (批件号: 2021 年伦审研第 187 号), 研究对象监护人签署知情同意书。

1.2 主要仪器和试剂

BV510 标记的人 CD3 抗体, 异硫氰酸荧光素标记的人 CD4 抗体, 多甲藻叶绿素蛋白标记的人 CD8 抗体, 藻红蛋白标记的人 CD14 抗体, 别藻蓝蛋白标记的人干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 抗体, 藻红蛋白-花青素 7 标记的人肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 抗体, 以上均购于美国 Biotend 公司。别藻蓝蛋白标记的人 VISTA 抗体及 VISTA 同型对照抗体购于美国 RD 公司。FACS Canto II 流式细胞仪购于美国 BD 公司。

1.3 外周单个核细胞提取

采用肝素钠抗凝采血管, 以无菌静脉穿刺方式采集研究对象 3 mL 全血, 利用聚蔗糖-泛影葡胺密度梯度离心法收集外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 并用全自动细胞计数仪进行计数。所有血标本均在 4 h 内完成 PBMC 提取。

1.4 外周血单核细胞、T 淋巴细胞上 VISTA 表达情况

取 1×10^6 /mL PBMC 于流式管中, 分别加入 5 μ L 的 CD3、CD4、CD8、CD14、VISTA 单克隆抗体, 并设置 VISTA 同型对照管, 室温避光孵育 30 min 后离心洗涤 2 次, 200 μ L 流式缓冲液重悬, 通过 FACS Canto II 流式细胞仪检测 CD14 $^+$ 单核细胞、CD4 $^+$ T 淋巴细胞、CD8 $^+$ T 淋巴细胞上 VISTA 表达比

例及平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI)。如果无法立即上机检测, 将染色后的样本固定后 4℃ 冰箱放置, 避光储存 (12 h 内上机)。

1.5 不同免疫细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α 情况

将无菌分离的 PBMC 用含 10% 小牛血清 RPMI1640 培养基调至 $2 \times 10^6/\text{mL}$, 加入刺激剂佛波醇酯 (100 ng/mL) 和离子霉素 (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 于 37℃、5% CO_2 条件下培养 1 h 后加入莫能霉素 (1 $\mu\text{L}/\text{mL}$), 混匀后继续培养 5 h。培养结束后收集洗涤细胞分别加入 5 μL CD3、CD4、CD8、CD14 单克隆抗体室温避光孵育 30 min, 涡旋洗涤细胞后加入 Fix & Perm Kit 固定破膜剂固定 30 min, 打孔 15 min; 洗涤 2 次加入 5 μL 的 IFN- γ 、TNF- α 单克隆抗体室温避光孵育 30 min, 结束后洗涤收集细胞, 200 μL 流式缓冲液重悬, 通过流式细胞仪检测 CD14⁺ 单核细胞、CD4⁺ 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞上 IFN- γ 、TNF- α 表达比例及 MFI。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计数资料以频数和率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用两样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验; 非正态分布的计量资料以中位数 (四分位数间距) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, 组间两两比较采用 Bonferroni 法。相关性分析采用 Pearson 分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同亚型 JIA 患儿的临床资料

不同亚型 JIA 组间病程比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。sJIA 患儿 WBC、CRP、ESR 水平高于其他亚型 JIA (均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同亚型 JIA 患儿的临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	病程 (月)	WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	CRP (mg/L)	ESR (mm/h)
sJIA 组	7	1.8 ± 1.2	14.4 ± 8.0	58 ± 38	79 ± 18
p-JIA 组	13	5.3 ± 3.8	8.9 ± 3.1^a	18 ± 11^a	42 ± 29^a
o-JIA 组	16	5.5 ± 3.8	7.5 ± 1.7^a	11 ± 6^a	24 ± 11^a
ERA 组	11	5.0 ± 3.8	7.2 ± 2.1^a	18 ± 6^a	48 ± 28^a
F 值		2.058	6.705	14.762	9.777
P 值		0.120	0.001	< 0.001	< 0.001

注: [sJIA] 全身型幼年特发性关节炎; [p-JIA] 多关节型幼年特发性关节炎; [o-JIA] 少关节型幼年特发性关节炎; [ERA] 附着点炎症相关的关节炎; [WBC] 白细胞; [CRP] C-反应蛋白; [ESR] 红细胞沉降率。a 示与 sJIA 组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 JIA 患儿和健康对照儿童外周血不同免疫细胞上 VISTA 表达情况比较

JIA 组外周血 CD14⁺ 单核细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞表面 VISTA 表达 MFI 均比健康对照组下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。JIA 组和健康对照组 CD14⁺ 单核细胞上 VISTA 表达 MFI 均高于各自组的 CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而两组内的 CD8⁺ T 细胞和 CD4⁺ 细胞 VISTA 表达 MFI 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 健康对照组和 JIA 组不同免疫细胞上 VISTA 表达 MFI 比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	例数	CD14 ⁺ 单核细胞	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞	H 值	P 值
健康对照组	10	1 217.5(726.8, 1 752.5)	47.0(68.0, 125.0) ^a	55.4(23.9, 81.6) ^a	20.119	< 0.001
JIA 组	47	242.5(165.2, 314.0)	14.7(9.5, 23.6) ^a	25.2(15.2, 41.1) ^a	89.917	< 0.001
Z 值		4.700	4.352	2.319		
P 值		< 0.001	< 0.001	0.020		

注: [JIA] 幼年特发性关节炎; [VISTA] T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域; [MFI] 平均荧光强度。a 示与 CD14⁺ 单核细胞比较, $P < 0.05$ 。

2.3 VISTA 在不同亚型 JIA 患儿中的表达比较

不同亚型 JIA 患儿外周血 CD14⁺ 单核细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞 VISTA 表达 MFI 比较差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。不同亚型间两两比较发现 sJIA 在 CD14⁺ 单核细胞、CD4⁺ T 淋巴

细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞上 VISTA 表达 MFI 均低于其他亚型 JIA ($P < 0.05$), 而 p-JIA、o-JIA、ERA 之间上述免疫细胞 VISTA 表达 MFI 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 不同亚型 JIA 患儿 VISTA 表达 MFI 情况 [M (P₂₅, P₇₅)]

组别	例数	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞	CD14 ⁺ 单核细胞
sJIA 组	7	6.3(3.1, 8.7)	4.7(2.6, 14.2)	104.1(32.3, 148.4)
p-JIA 组	13	18.5(10.6, 28.9) ^a	20.7(10.3, 28.3) ^a	300.9(243.9, 348.0) ^a
o-JIA 组	16	18.2(14.3, 27.3) ^a	17.2(11.9, 28.9) ^a	267.4(179.6, 399.7) ^a
ERA 组	11	13.4(9.4, 17.4) ^a	13.5(8.7, 18.1) ^a	225.4(167.5, 255.7) ^a
H 值		16.672	11.797	15.784
P 值		0.001	0.008	0.001

注: [JIA] 幼年特发性关节炎; [VISTA] T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域; [MFI] 平均荧光强度; [sJIA] 全身型幼年特发性关节炎; [p-JIA] 多关节型幼年特发性关节炎; [o-JIA] 少关节型幼年特发性关节炎; [ERA] 附着点炎症相关的关节炎。a 示与 sJIA 组比较, $P<0.05$ 。

2.4 不同亚型 JIA 患儿不同免疫细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α 情况

JIA 患儿外周血 IFN- γ 表达以 CD4⁺T 淋巴细胞表达最高, TNF- α 以 CD14⁺单核细胞表达最高, 差异有统计学意义 (均 $P<0.05$), 见表 4。CD14⁺单核细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞中, 不同亚型 JIA 患儿分泌 IFN- γ 、TNF- α 水平差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 5~6。

2.5 JIA 患儿中 VISTA 与细胞因子表达相关性分析

JIA 患儿外周血 CD14⁺单核细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞表达 VISTA 的表达均与细胞因子

IFN- γ 、TNF- α 分泌呈负相关关系 ($P<0.05$), 见表 7。

表 4 JIA 患儿中不同免疫细胞 IFN- γ 、TNF- α 表达 MFI 情况 [n=47, M (P₂₅, P₇₅)]

不同免疫细胞	IFN- γ	TNF- α
CD4 ⁺ T 细胞	311.0(176.8, 572.5)	235.0(126.3, 420.5)
CD8 ⁺ T 细胞	166.0(78.7, 272.0) ^a	228.0(88.0, 546.0)
CD14 ⁺ 单核细胞	89.45(52.3, 147.3) ^a	529.5(387.3, 762.3) ^{a,b}
H 值	32.090	21.389
P 值	<0.001	<0.001

注: [JIA] 幼年特发性关节炎; [IFN- γ] 干扰素- γ ; [TNF- α] 肿瘤坏死因子- α ; [MFI] 平均荧光强度。a 示与 CD4⁺T 细胞比较, $P<0.05$; b 示与 CD8⁺T 细胞比较, $P<0.05$ 。

表 5 不同亚型 JIA 患儿 IFN- γ 表达 MFI 情况 [M (P₂₅, P₇₅)]

组别	例数	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞	CD14 ⁺ 单核细胞
sJIA 组	7	359.5(176.6, 469.8)	113.0(62.2, 429.5)	111.0(51.9, 157)
p-JIA 组	13	301.0(151.1, 635.0)	171.0(27.8, 430.0)	74.8(29.5, 133.5)
o-JIA 组	16	271.0(135.0, 432.1)	188.0(138.0, 260.0)	83.5(53.5, 140.0)
ERA 组	11	321.0(219.5, 601.5)	111.5(73.2, 171.0)	65.7(58.2, 87.3)
H 值		0.267	2.145	1.656
P 值		0.966	0.543	0.647

注: [JIA] 幼年特发性关节炎; [IFN- γ] 干扰素- γ ; [MFI] 平均荧光强度; [sJIA] 全身型幼年特发性关节炎; [p-JIA] 多关节型幼年特发性关节炎; [o-JIA] 少关节型幼年特发性关节炎; [ERA] 附着点炎症相关的关节炎。

表 6 不同亚型 JIA 患儿 TNF- α 表达 MFI 情况 [M (P₂₅, P₇₅)]

组别	例数	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞	CD14 ⁺ 单核细胞
sJIA 组	7	226.0(104.0, 441.0)	158.0(144.0, 713.0)	638.0(490.0, 895.0)
p-JIA 组	13	128.0(92.2, 291.5)	369.0(189.0, 469.5)	609.5(474.8, 743.5)
o-JIA 组	16	214.0(117.0, 374.0)	288.0(102.0, 657.0)	516.0(220.5, 867.8)
ERA 组	11	155.0(94.3, 210.3)	113.7(62.5, 356.3)	462.0(308.5, 717.0)
H 值		1.583	3.566	1.583
P 值		0.663	0.312	0.663

注: [JIA] 幼年特发性关节炎; [TNF- α] 肿瘤坏死因子- α ; [MFI] 平均荧光强度; [sJIA] 全身型幼年特发性关节炎; [p-JIA] 多关节型幼年特发性关节炎; [o-JIA] 少关节型幼年特发性关节炎; [ERA] 附着点炎症相关的关节炎。

表 7 JIA 患儿 VISTA 与细胞因子表达相关性分析

($n=47$)

不同细胞上 VISTA 表达	IFN- γ		TNF- α	
	r 值	P 值	r 值	P 值
CD4 ⁺ T 细胞	-0.436	0.003	-0.382	0.011
CD8 ⁺ T 细胞	-0.348	0.026	-0.487	0.001
CD14 ⁺ 单核细胞	-0.582	0.006	-0.603	0.005

注: [JIA] 幼年特发性关节炎; [VISTA] T 细胞活化免疫球蛋白抑制 V 型结构域; [IFN- γ] 干扰素- γ ; [TNF- α] 肿瘤坏死因子- α 。

3 讨论

JIA 是儿童时期常见的自身免疫病, 目前认为 JIA 主要为辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2 亚群功能失衡, 辅助性 T 细胞 17 过度活化和/或调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 功能不足引起前炎症细胞因子大量释放, 导致免疫系统功能紊乱, 引起组织器官损伤^[10]。而 VISTA 可拮抗 CD28 的协同刺激作用, 对初始和已活化的记忆 T 细胞传递协同抑制信号, 不仅诱导初始 T 细胞分化为 Treg 细胞, 也促进胸腺来源的 Treg 细胞自然产生, 还抑制天然免疫 $\gamma\delta$ T 细胞分泌白细胞介素-17, 发挥不依赖于胞内段信号转导的免疫抑制作用^[11-12]。VISTA 是诱发自身免疫性疾病的重要因素, 但 VISTA 在 JIA 中的表达情况及潜在作用目前尚无报道。

本研究结果表明 JIA 患儿外周血中各免疫细胞 VISTA 表达水平明显低于健康对照组, 这提示 VISTA 表达不足可能与 JIA 的发病相关。进一步比较 VISTA 在不同免疫细胞上表达情况, 发现 VISTA 在 CD14⁺单核细胞上表达最高, 这与其他研究者发现在 PBMC 中 VISTA 主要表达在 CD14⁺单核细胞、中性粒细胞、髓系 CD11c⁺树突状细胞, 也可表达于 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞上相似^[13]。JIA 是异质性疾病, 可分为多个亚型, 其中 sJIA 被认为是一个特殊类型, 疾病初期以发热等全身症状为主, 关节症状不突出, 易漏诊、误诊, 如不能及时评估疾病活动性并治疗, 10% 的 sJIA 可进展为致死性巨噬细胞活化综合征^[14], 因此 sJIA 的早期识别或特异性生物学标志物的研究是关注的热点。本研究比较发现不同亚型 JIA 患儿 VISTA 表达有差异, sJIA 外周血各免疫细胞上 VISTA 表达明显低于以关节症状为主的其他亚型, 这提示 VISTA 表达不足可能参与 JIA 发病, 并且可能在 sJIA 中作用更突出。本课题组既往研究发现 VISTA 主要表达于 CD14⁺单核细胞, 其是参与自身炎症反应的重要细胞, 近年来研究提示 sJIA 的

发生发展以非特异性免疫细胞参与的自身炎症反应为主^[15], 这可能是 VISTA 在 sJIA 中作用更突出的原因之一。此外单核细胞具有良好的抗原呈递和加工性能, 刺激 T 细胞活化, 单核细胞 VISTA 的表达不足不仅影响固有免疫参与的自身炎症反应还影响适应性免疫参与的自身免疫应答。实验室检查发现 sJIA 患儿的 WBC、CRP、ESR 高于其他亚型 JIA, VISTA 与这些指标结合可能更利于 sJIA 的早期诊断, 但其是否可作为 sJIA 鉴别与其他亚型 JIA 的生物学标志物有待进一步研究。

TNF- α 、IFN- γ 是参与 JIA 发病的重要细胞因子, TNF- α 主要由单核巨噬细胞产生, 参与局部炎症, 促进骨质破坏, 介导关节损伤; 而 IFN- γ 主要是由辅助性 T 细胞 1 细胞产生的多效性细胞因子, 参与调控辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2 平衡, 两者相互协同调节巨噬细胞的活化、介导炎症反应^[16-17]。我们研究 JIA 患儿不同免疫细胞分泌细胞因子情况也发现 IFN- γ 在 CD4⁺T 淋巴细胞中表达最高, TNF- α 在 CD14⁺单核细胞中表达最高。进一步研究 JIA 患儿外周血各免疫细胞上 VISTA 表达与各自细胞因子 IFN- γ 、TNF- α 的表达相关性, 结果呈负相关。这与 Wang 等^[18] 研究报道吻合, VISTA 基因缺乏的小鼠尽管出生时健康, 造血发育正常, 但随着年龄增长外周血清中可检测出大量自发激活的 T 细胞及产生炎症细胞因子, 如 IFN- γ 、白细胞介素-17 和 TNF- α , 这种自发的 T 细胞激活表明 VISTA 缺乏可能降低了 T 细胞受体介导的对自身抗原的激活阈值, VISTA 表达不足促进炎症因子的产生, 促进炎症损伤和临床症状。

目前 JIA 的传统治疗包括非甾体抗炎药、改善病情的抗风湿药物, 但缓解率不超过 60%, 而且其致残率高^[19], 靶向于协同刺激分子的新型生物制剂为难治性风湿性疾病开辟了新的免疫治疗途径。动物实验已经证明了 VISTA 在抗肿瘤免疫方面的明确作用, VISTA 特异性拮抗剂已进入临床研究阶段^[20-21]。小鼠实验也证明抗 VISTA 激动剂可通过抑制免疫力来防止移植物抗宿主病的发展^[22]。本研究提示 VISTA 功能不足可能参与 JIA 的发病, 那么增强 VISTA 在幼年个体的免疫调节作用可能是未来治疗 JIA 的途径之一, 特别是难治性 sJIA 的治疗, 这为未来 JIA 个体化治疗提供了思路。但目前 VISTA 的确切受体及胞内信号转导途径还不明确, 有关于 VISTA 在 JIA 发病中的具体作用有待探究。

综上所述, 本研究发现JIA患儿VISTA表达较健康儿童低, 不同免疫细胞上VISTA表达以单核细胞最高, 不同亚型JIA患儿中以sJIA表达最低且其与IFN- γ 、TNF- α 表达呈负相关。VISTA表达不足可能参与JIA的发病, 并且可能在sJIA的发病作用更突出, 增强VISTA的免疫调节作用可能是未来治疗JIA的途径之一。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] 李彩凤, 黄新翔, 王永福, 等. 幼年特发性关节炎诊疗规范[J]. 中华内科杂志, 2022, 61(2): 142-156. PMID: 35090249. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20210929-00666.
- [2] 曾华松. 幼年特发性关节炎国际分类标准及治疗[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(9): 721-724. DOI: 10.3969/j.issn.1003-515X.2011.09.032.
- [3] Lin YT, Wang CT, Gershwin ME, et al. The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis[J]. Autoimmun Rev, 2011, 10(8): 482-489. PMID: 21320644. DOI: 10.1016/j.autrev.2011.02.001.
- [4] Huang X, Zhang X, Li E, et al. VISTA: an immune regulatory protein checking tumor and immune cells in cancer immunotherapy[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 83. PMID: 32600443. PMCID: PMC7325042. DOI: 10.1186/s13045-020-00917-y.
- [5] Wu C, Cao X, Zhang X. VISTA inhibitors in cancer immunotherapy: a short perspective on recent progresses[J]. RSC Med Chem, 2021, 12(10): 1672-1679. PMID: 34778768. PMCID: PMC8528208. DOI: 10.1039/d1md00185j.
- [6] ElTanbouly MA, Zhao Y, Nowak E, et al. VISTA is a checkpoint regulator for naïve T cell quiescence and peripheral tolerance[J]. Science, 2020, 367(6475): eaay0524. PMID: 31949051. PMCID: PMC7391053. DOI: 10.1126/science.aay0524.
- [7] ElTanbouly MA, Croteau W, Noelle RJ, et al. VISTA: a novel immunotherapy target for normalizing innate and adaptive immunity[J]. Semin Immunol, 2019, 42: 101308. PMID: 31604531. PMCID: PMC7233310. DOI: 10.1016/j.smim.2019.101308.
- [8] Rogers BM, Smith L, Dezso Z, et al. VISTA is an activating receptor in human monocytes[J]. J Exp Med, 2021, 218(8): e20201601. PMID: 34106206. PMCID: PMC8193568. DOI: 10.1084/jem.20201601.
- [9] Petty RE, Southwood TR, Manners P, et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001[J]. J Rheumatol, 2004, 31(2): 390-392. PMID: 14760812.
- [10] Zaripova LN, Midgley A, Christmas SE, et al. Juvenile idiopathic arthritis: from aetiopathogenesis to therapeutic approaches[J]. Pediatr Rheumatol Online J, 2021, 19(1): 135. PMID: 34425842. PMCID: PMC8383464. DOI: 10.1186/s12969-021-00629-8.
- [11] ElTanbouly MA, Schaafsma E, Noelle RJ, et al. VISTA: coming of age as a multi-lineage immune checkpoint[J]. Clin Exp Immunol, 2020, 200(2): 120-130. PMID: 31930484. PMCID: PMC7160665. DOI: 10.1111/cei.13415.
- [12] ElTanbouly MA, Zhao Y, Schaafsma E, et al. VISTA: a target to manage the innate cytokine storm[J]. Front Immunol, 2020, 11: 595950. PMID: 33643285. PMCID: PMC7905033. DOI: 10.3389/fimmu.2020.595950.
- [13] Lines JL, Pantazi E, Mak J, et al. VISTA is an immune checkpoint molecule for human T cells[J]. Cancer Res, 2014, 74(7): 1924-1932. PMID: 24691993. PMCID: PMC3979527. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1504.
- [14] Lee JJY, Schneider R. Systemic juvenile idiopathic arthritis[J]. Pediatr Clin North Am, 2018, 65(4): 691-709. PMID: 30031494. DOI: 10.1016/j.pcl.2018.04.005.
- [15] 唐雪梅. 全身型幼年特发性关节炎免疫发病机制研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(9): 644-646. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2013.09.002.
- [16] Mezouar S, Mege JL. Changing the paradigm of IFN- γ at the interface between innate and adaptive immunity: macrophage-derived IFN- γ [J]. J Leukoc Biol, 2020, 108(1): 419-426. PMID: 32531848. DOI: 10.1002/JLB.4MIR0420-619RR.
- [17] Jang DI, Lee AH, Shin HY, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5): 2719. PMID: 33800290. PMCID: PMC7962638. DOI: 10.3390/ijms22052719.
- [18] Wang L, Rubinstein R, Lines JL, et al. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses[J]. J Exp Med, 2011, 208(3): 577-592. PMID: 21383057. PMCID: PMC3058578. DOI: 10.1084/jem.20100619.
- [19] 王亚军, 万健. 幼年特发性关节炎生物制剂临床应用进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(9): 646-650. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.09.002.
- [20] Tagliamento M, Agostinetti E, Borea R, et al. VISTA: a promising target for cancer immunotherapy? [J]. Immunotargets Ther, 2021, 10: 185-200. PMID: 34189130. PMCID: PMC8235942. DOI: 10.2147/ITT.S260429.
- [21] Yuan L, Tatineni J, Mahoney KM, et al. VISTA: a mediator of quiescence and a promising target in cancer immunotherapy[J]. Trends Immunol, 2021, 42(3): 209-227. PMID: 33495077. PMCID: PMC8088836. DOI: 10.1016/j.it.2020.12.008.
- [22] Xu W, Dong J, Zheng Y, et al. Immune-checkpoint protein VISTA regulates antitumor immunity by controlling myeloid cell-mediated inflammation and immunosuppression[J]. Cancer Immunol Res, 2019, 7(9): 1497-1510. PMID: 31340983. PMCID: PMC6726548. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0489.

(本文编辑: 王颖)