doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2208103

论著·临床研究

CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞在幼年特发性关节炎疾病活动中的作用

王君言[1] 朱晓萍[2] 张宇[1] 罗冲[1] 唐雪梅[1] 周娟[1]

（1.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；2.贵州医科大学附属医院贵州省儿童医学中心，贵州贵阳 550004）

［摘要］**目的** 分析幼年特发性关节炎（juvenile idiopathic arthritis，JIA）活动期及稳定期CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞及NKG2D可溶性配体，即可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子A和B（soluble MHC class I chain-related molecules A/B，sMICA/sMICB）表达水平，探讨其在JIA疾病活动中的作用。**方法** 前瞻性纳入2019年11月—2021年12月重庆医科大学附属儿童医院确诊的全身型JIA 19例和关节型JIA 20例，6例健康儿童为对照组。收集外周血标本，采用酶联免疫吸附法测定sMICA和sMICB水平，采用流式细胞术检测CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞比例，采用全身型幼年关节炎疾病活动评分-27（systemic Juvenile Arthritis Disease Activity Score，sJADAS-27）/幼年关节炎疾病活动评分-27（Juvenile Arthritis Disease Activity Score-27，JADAS-27）评估JIA患儿的疾病活动性。采用Pearson相关分析法、受试者工作特征曲线分析CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞及sMICA、sMICB在JIA疾病活动中的作用。**结果** 全身型JIA活动期组及关节型JIA活动期组CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞比例较对照组及各自稳定期组升高（P<0.05）。JIA各组sMICA和sMICB水平均高于对照组（P<0.05）。关节型JIA活动期组sMICB水平高于关节型JIA稳定期组（P<0.05）。JIA患儿CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞比例及sMICA、sMICB水平与sJADAS-27/JADAS-27评分呈正相关（P<0.05）。sMICB对JIA疾病活动性评估的曲线下面积为0.755，特异度为0.90，灵敏度为0.64。**结论** JIA患儿CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞比例及sMICA、sMICB水平较健康儿童升高，且与疾病活动性呈正相关，提示CD4$^+$NKG2D$^+$ T细胞及NKG2D配体可作为JIA疾病活动性评估的新指标。［中国当代儿科杂志，2023，25（2）：166-171］

［关键词］幼年特发性关节炎；自然杀伤细胞活化性受体2D；疾病活动性；儿童

Role of CD4$^+$NKG2D$^+$ T cells in the disease activity of juvenile idiopathic arthritis

WANG Jun-Yan, ZHU Xiao-Ping, ZHANG Yu, LUO Chong, 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 levels of CD4$^+$NKG2D$^+$ T cells and NKG2D soluble ligands, the soluble MHC class I chain-related molecules A and B (sMICA/sMICB) in the active stage and stable stage of juvenile idiopathic arthritis (JIA) and their role in the disease activity of JIA. **Methods** Nineteen children with systemic JIA and 20 children with articular JIA who were diagnosed in Children's Hospital of Chongqing Medical University from November 2019 to December 2021 were enrolled in this prospective study. Six healthy children were enrolled as the control group. After peripheral blood samples were collected, ELISA was used to measure the levels of sMICA and sMICB, and flow cytometry was used to measure the percentage of CD4$^+$NKG2D$^+$ T cells. Systemic Juvenile Arthritis

［收稿日期］2022-08-17；［接受日期］2022-12-21
［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］王君言，女，硕士，住院医师。
［通信作者］周娟，女，主任医师。Email：zhoujuan1112@aliyun.com。

Disease Activity Score-27 (sJADAS-27)/Juvenile Arthritis Disease Activity Score-27 (JADAS-27) was used to evaluate the disease activity in children with JIA. The Pearson correlation analysis and the receiver operating characteristic (ROC) curve were used to assess the role of $CD4^+NKG2D^+$ T cells, sMICA and sMICB in the disease activity of JIA. **Results** The active systemic JIA and active articular JIA groups had a significant increase in the percentage of $CD4^+NKG2D^+$ T cells compared with the control group and their corresponding inactive JIA group ($P<0.05$). The JIA groups had significantly higher levels of sMICA and sMICB than the control group ($P<0.05$), and the active articular JIA group had a significantly higher level of sMICB than the stable articular JIA group ($P<0.05$). In the children with JIA, the percentage of $CD4^+NKG2D^+$ T cells and the levels of sMICA and sMICB were positively correlated with sJADAS-27/JADAS-27 disease activity scores ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that sMICB had an area under the curve of 0.755 in evaluating the disease activity of JIA, with a specificity of 0.90 and a sensitivity of 0.64. **Conclusions** The percentage of $CD4^+NKG2D^+$ T cells and the levels of sMICA and sMICB increase in children with JIA compared with healthy children and are positively correlated with the disease activity of JIA, suggesting that $CD4^+NKG2D^+$ T cells and NKG2D ligands can be used as potential biomarkers for evaluating the disease activity of JIA.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(2): 166-171]

Key words: Juvenile idiopathic arthritis; Natural-killer group 2 member D; Disease activity; Child

幼年特发性关节炎（juvenile idiopathic arthritis，JIA）是儿童时期常见的以慢性滑膜炎为主要特征的风湿性疾病，也是儿童后天致畸和致盲的首要原因，2001 年国际风湿病联盟将 JIA 分为 7 个亚型，以全身型、多关节型、少关节型最为多见[1]。目前 JIA 发病机制尚不完全清楚，认为与 T 细胞过度活化所致的炎症损伤相关。T 细胞活化需双信号刺激，除第一信号 T 细胞受体（T cell receptor，TCR）识别抗原肽外，还需 T 细胞表面协同刺激分子与抗原提呈细胞表面配体结合提供第二信号。自然杀伤细胞活化性受体 2D（natural-killer group 2 member D，NKG2D）是 T 细胞表面提供协同刺激信号的重要受体，最初认为是自然杀伤细胞表面活化性受体，后逐渐发现可广泛表达在 $CD8^+$ T、$\gamma\delta^+$ T 等细胞表面，而 $CD4^+$ T 细胞表面通常不表达或低水平表达，仅在感染、肿瘤、自身免疫性疾病等情况下出现 NKG2D 表达，提供协同刺激信号活化 $CD4^+$ T 细胞[2-4]。NKG2D 特异性配体 MHC-Ⅰ类链相关分子 A 和 B（MHC class I chain-related molecules A/B，MICA/MICB）也是在上述情况诱导下表达增加。

近年来有关于 $CD4^+NKG2D^+$ T 细胞参与系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus，SLE）、类风湿性关节炎（rheumatoid arthritis，RA）、炎症性肠病、糖尿病等多种自身免疫性疾病的报道[5]，但尚无与 JIA 疾病相关的报道。本研究通过检测 JIA 患儿外周血 $CD4^+NKG2D^+$ T 细胞比例及 NKG2D 可溶性配体，即可溶性 MHC-Ⅰ类链相关分子 A 和 B（soluble MHC class I chain-related molecules A/B，sMICA/sMICB）表达水平，初步探讨 $CD4^+NKG2D^+$ T 细胞在 JIA 疾病活动中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

前瞻性纳入 2019 年 11 月—2021 年 12 月重庆医科大学附属儿童医院风湿免疫科门诊及住院部的 JIA 患儿 39 例作为研究对象。JIA 患儿符合 2001 年国际风湿病联盟修订的 JIA 诊断及分类标准[6]，包括全身型 JIA 19 例、关节型 JIA（多关节型、少关节型）20 例，除外感染、恶性疾病、免疫缺陷病、外伤及其他风湿免疫性疾病等。选取同期该院年龄、性别相匹配的健康儿童 6 例作为对照组。对照组纳入标准：（1）年龄<16 岁；（2）近半年内无其他疾病史。本研究已通过重庆医科大学附属儿童医院医学伦理委员会批准（025/2014）；在招募受试者前，法定监护人均知情并同意参与研究。

1.2 外周血 $CD4^+NKG2D^+$ T 淋巴细胞检测

采用密度梯度离心法提取对照组 6 例健康儿童和 JIA 组 21 例患儿外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell，PBMC）。JIA 组 21 例患儿包括全身型 JIA 活动期 5 例，全身型 JIA 稳定期 6 例，关节型 JIA 活动期及稳定期各 5 例。取 PBMC 100 μL 至 1.5 mL EP 管中，加入 CD4-PE 抗体、NKG2D-FITC 抗体充分混匀后，4℃避光孵育 30 min，1 000 rpm 离心 5 min，重复洗涤 3 次后重悬。采用 BD FACS 流式细胞仪进行检测，应用 CellQuest 软件进行数据分析。

1.3 血清 sMICA 和 sMICB 检测

收集 JIA 组中 21 例患儿，包括全身型 JIA 活动期 6 例，全身型 JIA 稳定期 4 例，关节型 JIA 活动期 5 例及关节型 JIA 稳定期 6 例，以及 6 例健康儿童外周血，分离血清。采用酶联免疫吸附法检测 sMICA

和 sMICB 表达水平，测定试剂盒购自北京丽科创欣生物科技有限公司。

1.4 临床资料收集

收集 JIA 患儿临床资料，包括年龄、性别、JIA 亚型、临床体征及实验室检查结果。实验室检查包括白细胞计数（white blood cell，WBC）、血红蛋白（hemoglobin，Hb）、血小板计数（platelet，PLT）、C-反应蛋白（C-reactive protein，CRP）、红细胞沉降率（erythrocyte sedimentation rate，ESR）。采用幼年关节炎疾病活动评分-27（Juvenile Arthritis Disease Activity Score-27，JADAS-27）及全身型幼年关节炎疾病活动评分-27（systemic Juvenile Arthritis Disease Activity Score，sJADAS-27）[7] 分别计算关节型及全身型 JIA 疾病活动性评分。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行数据处理与分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，满足方差齐性者组间比较采用单因素方差分析或两样本 t 检验，方差不齐者组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。非正态分布计量资料以中位数（四分位数间距）［M（P_{25}，P_{75}）］表示，组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验或 Wilcoxon 秩和检验。计数资料以例数和百分率（%）表示，组间比较采用 Fisher 确切概率法。以上组间两两比较采用 Bonferroni 校正。采用 Pearson 相关分析探讨 $CD4^+NKG2D^+$ T 细胞、sMICA、sMICB 与 sJADAS-27/JADAS-27 评分的相关性。采用受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线及曲线下面积（area under the curve，AUC）分析各指标对 JIA 疾病活动性判断的价值。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床表现

39 例 JIA 患儿中，全身型 JIA 活动期 12 例，全身型 JIA 稳定期 7 例，关节型 JIA 活动期 12 例，关节型 JIA 稳定期 8 例。JIA 各组发热、皮疹、淋巴结肿大发生比例和受累关节个数的比较差异有统计学意义（均 P<0.05），其中全身型 JIA 活动期组发热、皮疹、淋巴结肿大发生比例高于其他 3 组（P<0.05），关节型 JIA 活动期组受累关节个数多于全身型 JIA 稳定期组（P<0.05）和关节型 JIA 稳定期组（P<0.05），见表 1。

表 1 JIA 各组的临床表现比较

组别	例数	发热 [例(%)]	皮疹 [例(%)]	淋巴结肿大 [例(%)]	肝脾大 [例(%)]	受累关节 [$M(P_{25}, P_{75})$, 个]
全身型 JIA 活动期组	12	12(100)	7(58)	7(58)	2(17)	2.50(1.25, 4.75)
全身型 JIA 稳定期组	7	1(14)[a]	0(0)[a]	0(0)[a]	0(0)	1.00(0, 2.00)[b]
关节型 JIA 活动期组	12	2(17)[a]	1(8)[a]	1(8)[a]	0(0)	4.50(3.25, 9.00)
关节型 JIA 稳定期组	8	0(0)[a]	0(0)[a]	0(0)[a]	0(0)	0(0, 1.50)[b]
H值		–	–	–	–	17.500
P值		<0.001	0.001	0.001	0.320	<0.001

注：a示与全身型 JIA 活动期组比较，P<0.05；b示与关节型 JIA 活动期组比较，P<0.05。

2.2 实验室检查结果

JIA 各组 Hb、中性粒细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数、CRP、ESR、白蛋白含量的比较差异有统计学意义（均 P<0.05）：其中全身型 JIA 活动期组 Hb、淋巴细胞绝对计数、白蛋白含量较关节型 JIA 稳定期组下降（P<0.05），中性粒细胞绝对计数、CRP、ESR 较关节型 JIA 稳定期组升高（P<0.05）；关节型 JIA 活动期组 ESR 较关节型 JIA 稳定期组升高（P<0.05）。见表 2。

表2　JIA各组实验室检查结果比较　［M（P_{25}，P_{75}）］

组别	例数	WBC（×10⁹/L）	Hb（g/L）	PLT（×10⁹/L）	ANC（×10⁹/L）	LYM（×10⁹/L）	CRP（mg/L）	ESR（mm/h）	ALB（g/L）
全身型JIA活动期组	12	10.4 (6.6, 21.5)	99 (82, 108)	354 (298, 430)	7.4 (4.7, 19.9)	1.7 (1.4, 2.1)	49 (17, 78)	77.0 (32.3, 116.5)	33.7 (31.1, 37.6)
全身型JIA稳定期组	7	9.6 (7.2, 11.2)	124 (83, 141)	381 (332, 421)	6.0 (4.5, 7.5)	2.5 (1.9, 3.2)	8 (8, 26)	24.5 (5.8, 43.3)	38.5 (35.7, 43.5)
关节型JIA活动期组	12	7.3 (5.7, 9.3)	114 (102, 132)	348 (273, 507)	4.8 (3.6, 6.1)	2.2 (1.6, 3.0)	8 (8, 56)	61.5 (21.0, 119.3)	40.8 (33.2, 44.8)
关节型JIA稳定期组	8	7.0 (5.9, 8.2)	126 (122, 135)[a]	226 (187, 395)	3.7 (2.6, 4.6)[a]	3.0 (2.3, 3.6)[a]	<8[#,a]	14.0 (2.0, 20.8)[a,b]	45.1 (43.1, 46.1)[a]
H值		5.749	12.511	4.837	11.166	7.963	12.484	13.601	10.756
P值		0.124	0.006	0.184	0.011	0.047	0.006	0.004	0.013

注：［WBC］白细胞计数；［Hb］血红蛋白；［PLT］血小板计数；［ANC］中性粒细胞绝对计数；［LYM］淋巴细胞绝对计数；［CRP］C-反应蛋白；［ESR］红细胞沉降率；［ALB］白蛋白。a示与全身型JIA活动期组比较，P<0.05；b示与关节型JIA活动期组比较，P<0.05。[#]实验室检测下限为8 mg/L，该组8例患儿CRP均<8 mg/L。

2.3　CD4⁺NKG2D⁺ T淋巴细胞计数

与对照组相比，全身型JIA稳定期组及关节型JIA稳定期组CD4⁺NKG2D⁺ T细胞比例有一定程度升高，但差异无统计学意义（P>0.05）。全身型JIA活动期组及关节型JIA活动期组CD4⁺NKG2D⁺ T细胞比例高于对照组，差异有统计学意义（P<0.001）。见表3。

JIA组间比较显示，全身型JIA活动期组及关节型JIA活动期组CD4⁺NKG2D⁺ T细胞比例较各自稳定期组升高，差异有统计学意义（P<0.001）；关节型JIA活动期组较全身型JIA活动期组升高，差异有统计学意义（P<0.001）。见表3。

表3　各组CD4⁺NKG2D⁺ T细胞比例的比较

（$\bar{x} \pm s$，%）

组别	例数	CD4⁺NKG2D⁺T细胞比例
对照组	6	0.038 ± 0.027
全身型JIA活动期组	5	18.956 ± 10.365[a,c]
全身型JIA稳定期组	6	0.345 ± 0.408[b]
关节型JIA活动期组	5	38.018 ± 4.651[a]
关节型JIA稳定期组	5	8.652 ± 1.101[c]
H值		25.006
P值		<0.001

注：a示与对照组比较，P<0.001；b示与全身型JIA活动期组比较，P<0.001；c示与关节型JIA活动期组比较，P<0.001。

2.4　各组sMICA和sMICB水平的比较

与对照组相比，JIA各组sMICA和sMICB表达水平均增加，差异有统计学意义（P<0.001）。JIA组间比较显示，关节型JIA活动期组sMICB水平高于关节型JIA稳定期组，差异有统计学意义（P=0.022）。见表4。

表4　各组sMICA和sMICB水平的比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	例数	sMICA (ng/mL)	sMICB (pg/mL)
对照组	6	8.5 ± 1.4	96 ± 9
全身型JIA活动期组	6	32.6 ± 7.2[a]	280 ± 54[a]
全身型JIA稳定期组	4	30.8 ± 12.2[a]	240 ± 22[a]
关节型JIA活动期组	5	36.5 ± 4.6[a]	319 ± 33[a]
关节型JIA稳定期组	6	27.8 ± 8.7[a]	247 ± 73[a,b]
F值		12.773	17.170
P值		<0.001	<0.001

注：［sMICA］可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子A；［sMICB］可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子B。a示与对照组比较，P<0.001；b示与关节型JIA活动期组比较，P<0.05。

2.5　各指标与sJADAS-27/JADAS-27评分的相关性分析

全身型JIA活动期组sJADAS-27评分均值高于全身型JIA稳定期组，差异有统计学意义［（23 ± 6）分vs（7 ± 4）分，t=6.395，P<0.001］；关节型JIA活动期组JADAS-27中位评分高于关节型JIA稳定期组，差异有统计学意义［22（18，31）分vs 2（2，9）分，Z=−3.680，P<0.001］。

39例JIA患儿CD4⁺NKG2D⁺ T细胞比例、sMICA水平、sMICB水平、ESR与sJADAS-27/JADAS-27评分呈正相关（P<0.05），Hb、白蛋白含量与sJADAS-27/JADAS-27评分呈负相关（P<0.05），WBC和CRP与sJADAS-27/JADAS-27评分无明显相关性（P>0.05），见表5。

表5　各指标与sJADAS-27/JADAS-27评分的相关性

指标	Pearson系数	*P*值
$CD4^+NKG2D^+$ T细胞比例	0.5827	0.011
sMICA	0.5050	0.019
sMICB	0.5126	0.018
ESR	0.5236	0.001
Hb	−0.3990	0.012
ALB	−0.4295	0.013
WBC	0.1130	0.492
CRP	0.4620	0.054

注：［sMICA］可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子A；［sMICB］可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子B；［ESR］红细胞沉降率；［Hb］血红蛋白；［ALB］白蛋白；［WBC］白细胞计数；［CRP］C-反应蛋白。

2.6　JIA疾病活动性评估

应用ROC曲线分析$CD4^+NKG2D^+$ T细胞、sMICA、sMICB等指标对JIA疾病活动性评估的价值。结果显示，sJADAS-27/JADAS-27评分、ESR、Hb、sMICB对JIA疾病活动性评估的AUC分别为0.967、0.850、0.773、0.755。除Hb外，其余3项评估指标的特异度均高达0.90，灵敏度波动在0.64~0.90之间。$CD4^+NKG2D^+$ T细胞比例和sMICA对JIA疾病活动性评估无统计学意义（分别*P*=0.974、0.139）。见图1和表6。

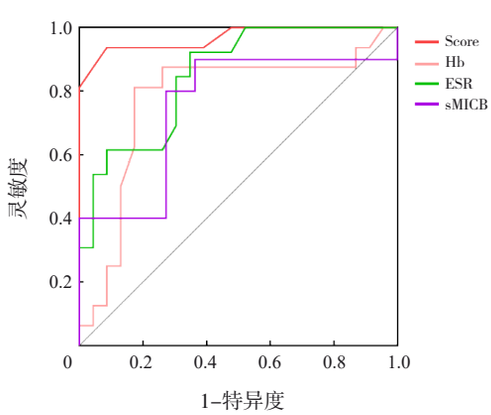

图1　各项指标对JIA疾病活动性评估价值的ROC曲线分析　Score为sJADAS-27/JADAS-27疾病活动性评分；Hb为血红蛋白；ESR为红细胞沉降率；sMICB为可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子B。

表6　各项指标对JIA疾病活动性评估的价值

指标	AUC	最佳临界值	灵敏度	特异度	*P*
Score	0.967	17.0分	0.90	0.90	<0.001
Hb	0.773	83.5 g/L	0.85	0.20	0.004
ESR	0.850	41.0 mm/h	0.75	0.90	<0.001
sMICB	0.755	297.6 pg/mL	0.64	0.90	0.049

注：［AUC］曲线下面积；［Score］sJADAS-27/JADAS-27评分；［Hb］血红蛋白；［ESR］红细胞沉降率；［sMICB］可溶性MHC-Ⅰ类链相关分子B。

3　讨论

JIA是一组高度异质性疾病，临床表现及实验室检查结果多样化，目前缺乏特异性生物学指标用于JIA诊断及疾病活动性评估。大量研究发现NKG2D信号通路在多种自身免疫性疾病中发挥重要作用，$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及NKG2D可溶性配体水平在SLE、RA等患者外周血和局部组织中显著增加，且与原发病疾病活动性呈正相关。抗体阻断NKG2D与配体的活化后，疾病活动得到部分缓解[8-18]，提示$CD4^+NKG2D^+$ T细胞是自身免疫性疾病中重要的炎症反应细胞，靶向$CD4^+NKG2D^+$ T细胞是治疗自身免疫性疾病的新途径。但也有学者发现$CD4^+NKG2D^+$ T细胞作为免疫调节细胞与SLE疾病活动性呈负相关[19-20]。因此，$CD4^+NKG2D^+$ T细胞在自身免疫性疾病中的作用尚有争议。

本研究探讨$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及NKG2D配体在儿童常见的自身免疫性疾病JIA中的作用，发现全身型JIA活动期患儿及关节型JIA活动期患儿外周血$CD4^+NKG2D^+$ T细胞比例及sMICA、sMICB水平较健康对照组及各自稳定期组增加，并且与sJADAS-27/JADAS-27疾病活动性评分呈正相关，提示$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及NKG2D配体活化的信号介导JIA炎症反应，是JIA疾病活动的新型生物学标志。ROC曲线分析显示，sMICB对JIA疾病活动性评估有一定价值。因此，$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及sMICA、sMICB水平的监测对JIA疾病活动性评估有潜在临床应用价值，相较于$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及sMICA，sMICB表达升高对JIA疾病活动性评估更有提示意义。因此，sMICB可作为JIA疾病活动性评估的新指标。

JIA不同亚型间临床表现迥异一直以来都是研究热点，目前认为与全身型JIA及关节型JIA发病免疫性机制不同密切相关。全身型JIA更倾向于天然免疫介导的自身炎症性疾病，关节型JIA则是适应性免疫介导的自身免疫性疾病。本研究发现关节型JIA活动期组$CD4^+NKG2D^+$ T细胞比例及sMICA、sMICB水平较全身型JIA活动期组高。NKG2D配体主要表达在滑膜细胞表面[9-10, 12]，在JIA中介导慢性滑膜病变。因此NKG2D参与的$CD4^+$ T细胞活化在关节型JIA中的作用更突出，可能是JIA关节滑膜慢性损伤的机制之一。此外，本研究还发现关节型JIA活动期组sMICB水平较关节型JIA稳定期组升高，提示NKG2D-MICB可能是关

节型JIA疾病活动的重要炎症反应，sMICB水平的检测对关节型JIA疾病活动性评估更有临床价值。本研究的局限性在于纳入样本量偏少，且未能进一步细化关节型JIA分组，未来可扩大样本量检测$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及NKG2D配体在不同亚型JIA疾病活动中的作用。

综上，$CD4^+NKG2D^+$ T细胞及NKG2D配体介导的炎症反应是JIA疾病的免疫学机制之一，在关节型JIA中的作用可能较全身型JIA更为突出，可作为JIA疾病活动性评估的新型生物学标志。

［参　考　文　献］

[1] 刘大玮, 梁芳芳, 唐雪梅. 儿童风湿病国际相关诊治指南系列解读之二——幼年特发性关节炎分类标准解读[J]. 中国实用儿科杂志, 2020, 35(4): 252-255. DOI: 10.19538/j.ek2020040602.

[2] 张利平, 李志刚, 王天有. MICB/NKG2D信号通路在免疫逃逸和癌症治疗中的研究进展[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2020, 25(1): 37-40. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5323.2020.01.010.

[3] Wensveen FM, Jelenčić V, Polić B. NKG2D: a master regulator of immune cell responsiveness[J]. Front Immunol, 2018, 9: 441. PMID: 29568297. PMCID: PMC5852076. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00441.

[4] 曹伟娅, 李存娣, 王健. NKG2D的结构与功能[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(6): 760-766. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2019.06.024.

[5] 王亚曙, 陶琳琳. 免疫受体NKG2D及其配体介导的细胞免疫与疾病的关系[J]. 国际儿科学杂志, 2019, 46(2): 127-130. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2019.02.014.

[6] 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.

[7] Tibaldi J, Pistorio A, Aldera E, et al. Development and initial validation of a composite disease activity score for systemic juvenile idiopathic arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2020, 59(11): 3505-3514. PMID: 32829413. DOI: 10.1093/rheumatology/keaa240.

[8] Hervier B, Ribon M, Tarantino N, et al. Increased concentrations of circulating soluble MHC class I-related chain A (sMICA) and sMICB and modulation of plasma membrane MICA expression: potential mechanisms and correlation with natural killer cell activity in systemic lupus erythematosus[J]. Front Immunol, 2021, 12: 633658. PMID: 34012432. PMCID: PMC8126610. DOI: 10.3389/fimmu.2021.633658.

[9] Mariotte A, Bernardi L, Macquin C, et al. NKG2D ligands in inflammatory joint diseases: analysis in human samples and mouse models[J]. Clin Exp Rheumatol, 2021, 39(5): 982-987. PMID: 33427619. DOI: 10.55563/clinexprheumatol/klc3h6.

[10] Stojanovic A, Correia MP, Cerwenka A. The NKG2D/NKG2DL axis in the crosstalk between lymphoid and myeloid cells in health and disease[J]. Front Immunol, 2018, 9: 827. PMID: 29740438. PMCID: PMC5924773. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00827.

[11] Babic M, Romagnani C. The role of natural killer group 2, member D in chronic inflammation and autoimmunity[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1219. PMID: 29910814. PMCID: PMC5992374. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01219.

[12] Yang D, Tian Z, Zhang M, et al. $NKG2D^+CD4^+$ T cells kill regulatory T cells in a NKG2D-NKG2D ligand-dependent manner in systemic lupus erythematosus[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1288. PMID: 28455530. PMCID: PMC5430709. DOI: 10.1038/s41598-017-01379-y.

[13] 赵文君, 崔爽爽, 邢国胜, 等. 类风湿关节炎滑膜成纤维细胞MICA及其受体NKG2D表达的初步研究[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(5): 514-517. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2013.05.014.

[14] Pedicino D, Liuzzo G, Trotta F, et al. Adaptive immunity, inflammation, and cardiovascular complications in type 1 and type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Res, 2013, 2013: 184258. PMID: 23762872. PMCID: PMC3676957. DOI: 10.1155/2013/184258.

[15] Giubilato S, Liuzzo G, Brugaletta S, et al. Expansion of $CD4^+CD28^{null}$ T-lymphocytes in diabetic patients: exploring new pathogenetic mechanisms of increased cardiovascular risk in diabetes mellitus[J]. Eur Heart J, 2011, 32(10): 1214-1226. PMID: 21217142. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq499.

[16] Pariente B, Mocan I, Camus M, et al. Activation of the receptor NKG2D leads to production of Th17 cytokines in $CD4^+$ T cells of patients with Crohn's disease[J]. Gastroenterology, 2011, 141(1): 217-226. PMID: 21600899. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.03.061.

[17] Fasth AE, Björkström NK, Anthoni M, et al. Activating NK-cell receptors co-stimulate $CD4^+CD28^-$ T cells in patients with rheumatoid arthritis[J]. Eur J Immunol, 2010, 40(2): 378-387. PMID: 19904767. DOI: 10.1002/eji.200939399.

[18] Groh V, Bruhl A, El-Gabalawy H, et al. Stimulation of T cell autoreactivity by anomalous expression of NKG2D and its MIC ligands in rheumatoid arthritis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(16): 9452-9457. PMID: 12878725. PMCID: PMC170939. DOI: 10.1073/pnas.1632807100.

[19] Hamada S, Caballero-Benitez A, Duran KL, et al. Soluble MICB in plasma and urine explains population expansions of $NKG2D^+CD4$ T cells inpatients with juvenile-onset systemic lupus erythematosus[J]. Open J Immunol, 2017, 7(1): 1-17. PMID: 28944101. PMCID: PMC5604888. DOI: 10.4236/oji.2017.71001.

[20] Dai Z, Turtle CJ, Booth GC, et al. Normally occurring $NKG2D^+CD4^+$ T cells are immunosuppressive and inversely correlated with disease activity in juvenile-onset lupus[J]. J Exp Med, 2009, 206(4): 793-805. PMID: 19289577. PMCID: PMC2715116. DOI: 10.1084/jem.20081648.

（本文编辑：邓芳明）