·临床研究·

狼疮肾炎患者外周血 B 细胞中 X-盒结合蛋白 1 的表达和临床意义

杨明[1] 房叶华[2]

[1] 中南大学湘雅医学院附属株洲医院肾内科，株洲 412007；[2] 中南大学湘雅医学院附属株洲医院临床心理科，株洲 412007

通信作者：房叶华，Email: 13647410249@163.com

【摘要】 目的 检测狼疮肾炎(lupus nephritis, LN)患者和健康者外周血 $CD19^+$B 细胞中未剪接型 X 盒结合蛋白 1(X-box binding protein 1 unspliced, XBP1u)和剪接型 X 盒结合蛋白 1 转录因子(X-box binding protein 1spliced, XBP1s)mRNA 的表达，并探讨 XBP 1 在 LN 患者的临床意义。**方法** 应用实时荧光定量 PCR 技术检测 65 例 LN 患者和 30 名健康对照组外周血 $CD19^+$B 细胞中 XBP1u、XBP1s 的表达水平，用流式细胞术检测外周血中 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例，分析 LN 患者 XBP1 表达与 B 细胞亚群及临床相关指标的相关性。**结果** (1)LN 组 $CD19^+$B 细胞活动期组中 XBP1u mRNA 的表达水平为(0.078±0.034)，高于健康对照组的(0.035±0.011)($P<0.05$)、高于稳定期组的(0.049±0.016)($P<0.05$)；LN 组 $CD19^+$B 细胞活动期组中 XBP1s mRNA(0.076±0.037)，高于健康对照组的(0.022±0.010)($P<0.05$)、高于稳定期组的(0.043±0.017)($P<0.05$)；(2)LN 组中 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例活动期组为(0.059±0.024)，显著高于健康对照组的(0.034±0.011)($P<0.01$)、活动组(0.059±0.024)高于稳定组的(0.073±0.036)($P<0.05$)；(3)LN 患者 XBP1u、XBP1s 表达与 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例呈正相关(r 值分别为 0.138、0.036)，与抗双链 DNA 抗体、系统性红斑狼疮疾病活动性指数评分值呈正相关(r 值分别为 0.417、0.058)，与血红蛋白、补体 C3 呈负相关(r 值分别为−0.559、−0.219)。**结论** (1)LN 患者外周血单个核细胞中 XBP1u、XBP1s mRNA 在活动组中表达量较健康组增加，且与系统性红斑狼疮疾病活动性指数评分值及抗双链 DNA 抗体呈正相关；(2)XBP 1 在 LN 患者 B 细胞中表达升高，与浆细胞明显相关，提示 XBP 1 可能通过促进 B 细胞分化而参与 LN 的发病。

【关键词】 狼疮肾炎；X 盒结合蛋白 1；内质网应激

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2024.03.005

Expression and clinical significance of X-box binding protein 1 in peripheral blood B cells of patients with lupus nephritis

Yang Ming[1], *Fang Ye-hua*[2]

[1] *Department of Nephrology, Affiliated Zhuzhou Hospital, Xiangya School of Medicine, Central South University, Zhuzhou* 412007, *China*; [2] *Department of Clinical Psychology, Affiliated Zhuzhou Hospital, Xiangya School of Medicine, Central South University, Zhuzhou* 412007, *China*

Corresponding author: Fang Ye-hua, Email: 13647410249@163.com

【Abstract】 Objective To detect the expressions of X-box binding protein 1 unspliced (xbp1u) and X-box binding protein 1 spliced (xbp1s) mRNA in peripheral blood $CD19^+$B cells of patients with lupus nephritis (LN) and healthy subjects and explore the clinical significance of XBP1 in LN patients. **Methods** The expression levels of xbp1u and xbp1s in peripheral blood $CD19^+$B cells of 65 LN patients and 30 healthy controls were detected by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). And the ratio of $CD19^-CD138^+$plasma cells/$CD19^+$B cells in peripheral blood was detected by flow cytometry. **Results** The expression level of xbp1u mRNA in $CD19^+$B cells of active LN group (0.078±0.034) was higher than that

in control group(0.035±0.011)(P< 0.05) and in stable group(0.049±0.016)(P< 0.05). The expression level of xbp1s mRNA in CD19$^+$B cells of active LN group(0.076±0.037)was higher than that in control group(0.022±0.010)(P< 0.05) and stable group(0.043±0.017)(P< 0.05). The ratio of CD19$^-$CD138$^+$ plasma cells /CD19$^+$B cells in LN group(0.059±0.024)was significantly higher than that in control group (P< 0.01) and stable group (0.073±0.036)(P< 0.05); XBP1 expression in LN patients was correlated positively with the ratio of CD19$^-$CD138$^+$ plasma cells/CD19$^+$B cells (r value = 0.138 & 0.036), positively with anti-ds-DNA antibody and systemic lupus erythematosus disease activity index(SLEDAI)score (r value = 0.417 & 0.058) and negatively with hemoglobin and complement C3 (r value = −0.559 & −0.219). **Conclusion** The expressions of xbp1u and xbp1s mRNA in peripheral blood mononuclear cells of LN patients in active group are higher than those in healthy group. Both are correlated positively with SLEDAI score and anti-DS DNA antibody. The expression of XBP1 is up-regulated in B cells of LN patients and it is significantly correlated with plasma cells. It implies that XBP1 may participate in the pathogenesis of LN through promoting the differentiation of B cells.

【Key words】 Lupus nephritis; X-box binding protein 1; Endoplasmic reticulum stress

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2024.03.005

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫性疾病，伴随大量自身抗体的产生[1]，狼疮肾炎(lupus nephritis, LN)为 SLE 严重并发症之一。自身抗体在肾脏中的沉积诱发炎症从而促使 LN 的发生、发展，最终导致肾衰竭[2]。抗双链 DNA 抗体是 SLE 的标志性抗体，同时与 LN 的疾病活动相关[3]。目前 LN 治疗主要依赖激素和免疫抑制剂，然而这些治疗带有严重的长期不良反应，对肾损伤的改善不完全有效。高达 30% 患者最终发展为终末期肾病[2]。因此，急需新的治疗 LN 的方法。

研究表明，内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)参与自身免疫性疾病和肾脏疾病[4]。相关研究表明，ERS 参与 SLE 的发病，其中 ERS 在 LN 中也起重要的作用[4]。ERS 在 LN 中的作用尚不清楚。

ERS 中 X 盒结合蛋白 1(X-box-binding protein1, Xbp1)基因在许多自身免疫性疾病的发病中起重要的作用[5]。研究发现，ERS 中 Xbp1 与浆细胞分泌抗体密切相关[6]。Xbp1 在 B 细胞的分化过程中起重要作用。研究表明，活化的肌醇需求酶 1α(inositol requiring enzyme 1 alpha, IRE1α)核糖核酸内切酶通过对 Xbp1 的剪接作用将 26 个核苷酸序列从 Xbp1mRNA 切除，Xbp1mRNA 是 IRE1 核糖核酸内切酶的唯一底物[6-8]。剪接型 X 盒结合蛋白 1 转录因子(X-box binding protein 1spliced, XBP1s)mRNA 翻译编码 Xbp1s 蛋白，人 Xbp1s 蛋白由 376 个氨基酸组成，在其羧基端包含转录激活结构域。Xbp1s 蛋白转移进入细胞核激活其目标基因。非剪接 Xbp1-mRNA 编码的蛋白质(X-box binding protein 1 unspliced, XBP1u)由 261 个氨基酸组成，它的氨基端含有一个与 Xbp1s 同样的核定位区域，但 Xbp1u 缺乏转录激活结构域，因此不能促进基因转录。Xbp1u 在一定条件下能抑制 Xbp1s 向细胞核转移及其转录激活功能，调节 UPR-IRE1-Xbp1 轴。狼疮鼠模型显示，Xbp1 为高水平免疫球蛋白分泌的必要因素，B 细胞分化为浆细胞的终末阶段 Xbp1 表达是增加的，Xbp1 是浆细胞分化成熟的关键转录因子之一[9]。动物实验表明，敲除 Xbp1 基因的 B 细胞分化为浆细胞及产生抗体的功能严重受损[10]。Reimold 等[7]应用 Xbp1$^{-/-}$Rag$^{-/-}$嵌合子小鼠模型探讨 Xbp1 在免疫系统中所起作用时发现 Xbp1$^{-/-}$Rag$^{-/-}$嵌合子小鼠中所有类别的免疫球蛋白基础水平均下降，且对 T 细胞依赖抗原及非 T 细胞依赖抗原均丧失了免疫应答能力，被免疫后的 Xbp1$^{-/-}$Rag$^{-/-}$嵌合子小鼠不表达浆细胞表面特异标志蛋白 CD138，且其周围淋巴器官也未出现浆细胞[11]。转录抑制因子 B 淋巴细胞诱导成熟蛋白 1 (lymphocyte induced maturation protein 1, Blimp1) 可调节终末 B 细胞、浆细胞分化，促进浆细胞分泌抗体，Blimp1 是 SLE 易感基因之一，Blimp1 在 SLE 患者中表达明显升高[12]，浆细胞分化时需要两个重要调控因子 Blimp1 和 Xbp1，Blimp1 能调节 Xbp1 的表达[6]，它们共同促进浆细胞的分化及抗体的产生，通过以上研究发现 Xbp1 在抗体形成过程中起重要作用，其在以抗体沉积为特征的 LN 发病过程中也可能起非常重要的作用，意味着抑制 Xbp1 的活性可能是治疗 LN 的一种潜在方法。目前还没

有 Xbp1 在 LN 中的相关研究。因此，该研究通过检测 LN 患者外周血 $CD19^+$B 细胞中 Xbp1 的表达及将其与浆细胞及实验室指标的相关性进行分析，初步探讨 Xbp1 在 LN 发病中的作用。

对象与方法

一、研究对象

选取 2020 年 6 月 1 日至 2022 年 10 月 31 日在中南大学湘雅医学院附属株洲医院肾内科及风湿科确诊的 LN 患者 65 例，符合 2021 年美国风湿病学会制定的 LN 治疗指南[13]。按有无肾脏损害的临床表现 [持续性尿蛋白＞0.5 g/d，出现红细胞、血红蛋白、颗粒管型或混合性细胞管型尿，多次尿蛋白＞(+++)]，根据系统性红斑狼疮疾病活动指数(systemic lupus erythematosus disease activity index，SLEDAI)评分将 LN 分为活动组和稳定组，其中 SLEDAI 评分＜10 分为 LN 稳定组，SLEDAI 评分≥10 分为活动组。稳定期 LN 组 30 例，男 2 例，女 28 例；活动期 LN 组 35 例，男 2 例，女 33 例。纳入标准：(1)入院前未使用保肾药及利尿剂等药物；(2)既往无精神障碍史；(3)可自由交流和沟通；(4)未使用激素、免疫抑制剂、生物制剂等药物。排除标准：(1)孕妇；(2)近 3 个月有手术、创伤史；(3)心肝功能严重异常者；(4)排除感染、恶性肿瘤、心功能不全、泌尿系结石等对肾损害的疾病，同期选择中南大学湘雅医学院附属株洲医院门诊体检正常者 30 名为对照组。稳定期 LN 组、活动期 LN 组性别比例、年龄、吸烟、饮酒分布及体重指数水平与对照组比较，差异无统计学意义(P＞0.05)，具有可比性。以上患者均知情同意参与，该研究经中南大学湘雅医学院附属株洲医院伦理委员会审批同意，伦理审批号：202005012。

二、主要试剂与仪器

磁珠分选柱、CD19 磁珠(德国美天旎)、异硫氰酸荧光素标记的鼠抗人 CD138 抗体(艾美捷科技有限公司)、PerCPCY5. 5 标记的鼠抗人 CD19 抗体(北京百奥创新科技公司)、FACSCalibur 流式细胞仪(碧迪医疗器械(上海)有限公司)、qPCR 逆转录试剂盒(日本 TOYOBO 公司)、荧光定量 PCR 试剂盒(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司)、人淋巴细胞分离液(北京鼎国试剂公司)、PBS 磷酸盐缓冲液、无水乙醇(湖南师大化学试剂厂)、PCR 引物(海生物工程有限公司)、图像采集与分析技术及凝胶成像分析系统(苏州医疗设备厂)、PCR 扩增仪(上海天能公司)、7300 实时荧光定量 PGR 系统(上海普迪生物技术有限公司)。

三、方法

1. 外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells，PBMCs)收集　清晨采集研究者静脉血 20 mL，经抗凝后采用分离液密度梯度离心法分离出 PBMCs，分别用流式细胞术检测 B 细胞亚群和磁珠分选 $CD19^+$B 细胞。

2. RNA 提取和 cDNA 合成　将 $CD19^+$B 细胞在冰上待其融化后，用三氯甲烷、异丙醇、75% 乙醇萃取、沉淀，提取细胞 RNA，将 RNA 溶于无 RNA 酶水中，测定其浓度与纯度。使用 PrimeScript 逆转录试剂盒中 5×引物处理缓冲液 2 μL、反转录酶混合液 0.5 μL、寡脱氧核苷酸引物(50 μmol/L)0.5 μL、随机六核苷酸引物(100 μmol/L) 0.5 μL，加入模板 RNA(终浓度≤500 ng)，最后加入 RNase Free dH_2O 至 10 μL，充分混合后放在水浴箱中 37 ℃、15 min，接着在 98 ℃ 条件下反应 5 min 后，冷藏于−20 ℃ 冰箱：保存或直接进行 PCR 扩增。

3. 荧光实时定量 PCR 反应　PCR 反应液配制：SYBR Green PCR 混合液(2×)5 μL、正向引物(10 μmol/L)0.1 μL、反向引物(10 μmol/L)0.1 μL、ROX 校正染剂(50×)0.2 μL、cDNA 模板 2 μL、ddH_20 2.6 μL，充分混匀后加入光反应八连管中，置于 PCR 仪中进行反应，设置反应条件为：95 ℃、10 min 预变性(95 ℃、30 s 退火；60 ℃、35 s，延伸 72 ℃、30 s，42 个循环，后延伸 72 ℃，10 min，再 4 ℃ 保存)。引物序列：XBP1u F：5' AGTCCGCAGCACTCAGACTAT3'；XBP1u R：5' GGTCCAACTTGTCCAGAATGC3'；XBP1s F：5'GCTGAGTCCGCAGCAGGTG 3'；XBP1s R：5'GGTCCAACTTGTCCAGAATGCC3'；β-actin F：5' TCACCAACTGGGACGACAT 3'；β-actin R：5' GCACAGCCTGGATAGCAAC 3。应用双标准曲线法计算基因相对表达量。

4. 荧光标记人外周血 PBMC 及流式细胞术检测　用 400 μL PBS 重悬 PBMCs，设空白对照、$CD19^-$PerCP 5.52 μL 单标、CD138-FITC 单标 4 μL、$CD19^-$PerCP5.5+CD138-FITC 4 μL 双标本样管混匀，置于 4 ℃ 避光孵育 30 min；各管加入 2 mLPBS 混匀、离心 5 min(4 ℃，离心半径为 14 cm，离心转速 1 000 r/min)，弃上清液；各管加固定液 200 μL，混

匀，4 ℃，避光待测。2 h 后上机检测，用 WinMD 软件分析流式数据。

四、统计学方法

本研究数据分析均用 SPSS17.0 统计软件进行，正态分布计量资料使用$\bar{x}\pm s$描述；采用单因素方差分析(One-wayANOVA)对多组计量资料进行比较；采用 Pearson 相关分析及多元线性逐步回归分析明确变量之间的相关关系；采用 Spearman 秩相关分析不服从正态分布的资料，且均为双侧检验，以 α=0.05 作为检验水准，差异有统计学意义(P<0.05)。

结　果

一、一般资料比较

各组间性别、年龄、白细胞、球蛋白、总胆固醇、IgA、IgG、IgE、IgM、C4 差异无统计学意义。健康对照组与 LN 组间比较，血红蛋白、白蛋白差异有统计学意义。LN 稳定期组与活动期组比较，红细胞、血红蛋白、白蛋白、红细胞沉降率、补体 C3、SLEDAI 差异有统计学意义。(表 1)

二、外周血 $CD19^+B$ 细胞中 Xbp1mRNA 的表达

LN 组 Xbp1mRNA 表达显著高于正常对照组(P＜0.05)，LN 活动组 Xbp1mRNA 的表达显著高于 LN 稳定组(P＜0.05)。Xbp1mRNA 表达 LN 稳定组与正常对照组比较，差异无统计学意义。LN 活动期组 Xbp1u、Xbp1s mRNA 的表达水平明显高于稳定期组和健康对照组，且差异具有统计学意义(P＜0.01)。稳定期组 Xbp1u、Xbp1s mRNA 的表达水平高于健康对照组，差异有统计学意义(P＜0.01)。(表 2)

三、外周血中 B 细胞亚群的比例

与正常对照组相比，LN 组 $CD19^-CD138^+$ 浆细胞/$CD19^+B$ 细胞比例显著增高(P＜0.05)；LN 活动组 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+B$ 细胞比例显著高于 LN 稳定组(F=8.15，P＜0.05)；$CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+B$ 细胞比例在 LN 稳定组与正常对照组比较，差异无统计学意义。(表 3)

表 1　LN 患者与健康对照组一般资料的比较

Tab 1　Comparison of general clinical profiles of LN patients versus healthy controls

组别	例数	年龄(岁)	女性[例(%)]	血红蛋白(g/L)	血小板($\times10^9$/L)	白细胞($\times10^{12}$/L)
健康对照组	30	36.58 ± 7.12	27(90.0)	127.68 ± 13.12	215.12 ± 51.66	5.46 ± 0.72
稳定期组	30	34.02 ± 12.16	28(93.3)	115.65 ± 21.68	161.36 ± 62.10	6.52 ± 3.68
活动期组	35	36.02 ± 11.85	33(94.3)	87.28 ± 22.67[b]	155.67 ± 82.29[a]	5.03 ± 3.73

组别	例数	白蛋白(g/L)	球蛋白(g/L)	总胆固醇(mmol/L)	ESR(mm/h)	IgG(g/L)
健康对照组	30	44.52 ± 3.53	27.84 ± 4.96	4.84 ± 1.27	-	-
稳定期组	30	37.04 ± 8.07	31.27 ± 9.13	4.44 ± 1.95	42.20 ± 29.80	13.68 ± 7.96
活动期组	35	27.29 ± 8.86[ac]	26.03 ± 7.50	5.65 ± 1.98	56.38 ± 31.01[d]	11.16 ± 6.56

组别	例数	IgE(IU/mL)	IgM(g/L)	补体 C3(g/L)	SLEDAI(分)
健康对照组	30	-	-	-	-
稳定期组	30	268.09 ± 631.05	1.38 ± 0.91	0.75 ± 0.31	5.64 ± 2.72
活动期组	35	157.47 ± 268.16[a]	1.32 ± 0.69	0.48 ± 0.25[b]	13.89 ± 2.80

注：ESR 为红细胞沉降率；C3 为补体 C3；IgG 为免疫球蛋白 G；IgE 为免疫球蛋白 E；IgM 为免疫球蛋白 M；SLEDAI 为 SLE 疾病活动性指数；LN 为狼疮肾炎；活动期组与健康对照组比较，[a]P<0.05，[b]P<0.01；活动期组与稳定期组比较，[c]P<0.05，[d]P<0.01；“-”表示无数据；数据形式除标注外，均为$\bar{x}\pm s$。

表 2　3 组受试者 $CD19^+B$ 细胞中 Xbp1u、Xbp1s mRNA 的相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Comparison of relative expression of Xbp1u/Xbp1s mRNA in $CD19^+B$ cells($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Xbp1u mRNA 相对表达量	Xbp1s mRNA 相对表达量
健康对照组	30	0.035±0.011	0.022±0.010
稳定期组	30	0.049±0.016[a]	0.043±0.017[a]
活动期组	35	0.078±0.034[ab]	0.076±0.037[ab]

注：xbp1u 为非剪接的 xbp1-mRNA 编码的蛋白质；xbp1s 为剪接型 x 盒结合蛋白 1 转录因子；与健康对照组比较，[a]P<0.01；与稳定期组比较，[b]P<0.01。

四、Xbp1 的表达水平与 B 细胞亚群间的相关性

LN 患者 Xbp1u 表达与 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例呈显著正相关（rs=0.138, P=0.028），Xbp1s 表达与 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例呈显著正相关（rs=0.336, P=0.034）；Xbpu1、Xbp1s 表达与 $CD19^+CD27^+$记忆 B 细胞/$CD19^+$B 细胞比例无显著相关。（表 4）

五、LN 患者 Xbp1mRNA 与临床指标相关性分析

采用 Pearson 相关分析 LN 患者 Xbp1mRNA 表达与血红蛋白、补体 C3 呈负相关（P＜0.05），与抗 dsDNA 抗体呈显著正相关性（P＜0.05），与 SLEDAI 评分值呈正相关性（P＜0.05）。（表 5）

以 Xbp1u、Xbp1smRNA 表达水平为因变量，白细胞、血红蛋白、红细胞沉降率、24 h 尿蛋白定量、白蛋白、球蛋白、IgA、IgG、IgE、IgM、补体 C3、SLEDIA 为自变量，通过去除混杂因素发现 Xbp1u 和 Xbp1s 与 SLEDAI 呈正相关。

讨　论

本研究发现，LN 组 $CD19^+$B 细胞中 Xbp1u、Xbp1smRNA 的表达水平高于健康对照组，同时活动组高于稳定组；LN 组 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例显著高于健康对照组，同时活动

表 3　LN 组患者与正常对照组浆细胞、记忆 B 细胞占 $CD19^+$B 细胞的比例（%, $\bar{x}\pm s$）

Tab 3　Ratio of plasma cells and memory B cells to $CD19^+$B cells in LN and normal control groups（%, $\bar{x}\pm s$）

组别	例数	浆细胞/B 细胞	记忆细胞/B 细胞
健康对照组	30	0.034±0.011	0.038±0.015
LN 活动组	35	0.059±0.024[a]	0.037±0.014
LN 稳定组	30	0.073±0.036[ab]	0.035±0.014

注：与健康对照组比较，[a]P＜0.01；与稳定组比较，[b]P＜0.05；LN 为狼疮肾炎。

表 4　Xbp1 的表达水平与浆细胞、记忆 B 细胞占 $CD19^+$B 细胞比例的相关性

Tab 4　Correlation between Xbp1 expression levels and the proportion of plasma cells and memory B cells to $CD19^+$ B cells

项目	Xbp1umRNA		Xbp1smRNA	
	r 值	P 值	r 值	P 值
浆细胞/B 细胞	0.138	0.028	0.036	0.034
记忆细胞/B 细胞	0.058	0.125	0.601	0.069

注：r 值为相关系数；Xbp1 为 X-盒结合蛋白 1。

表 5　Xbp1u、Xbp1smRNA 相对表达量的相关性分析

Tab 5　Correlation analysis of relative expression of Xbp1u/Xbp1s mRNA

项目	Xbp1u mRNA		Xbp1s mRNA	
	r 值	P 值	r 值	P 值
白细胞	0.138	0.028[a]	0.036	0.034[a]
血红蛋白	−0.045	0.020[a]	−0.559	0.001[b]
血小板	−0.271	0.175	−0.220	0.254
抗 dsDNA 滴度	0.417	0.001[b]	0.287	0.023[a]
白蛋白	−0.402	0.201	−0.312	0.260
球蛋白	0.101	0.318	0.1238	0.224
ESR	0.087	0.499	0.326	0.009[b]
IgA	0.086	0.503	−0.086	0.526
IgE	0.146	0.253	−0.003	0.982
IgG	0.114	0.373	0.034	0.790
IgM	0.095	0.461	0.135	0.229
C3	−0.448	0.000[b]	−0.219	0.047[a]
SLEDIA	0.058	0.000[b]	0.600	0.000[b]

注：[a] 为 P＜0.05；[b] 为 P＜0.01；ESR 为红细胞沉降率；C3 为补体 C3；IgA 为免疫球蛋白 A；IgG 为免疫球蛋白 G；IgE 为免疫球蛋白 E；IgM 为免疫球蛋白 M；抗 dsDNA 滴度为抗双链 DNA 抗体；SLEDAI 为 SLE 疾病活动性指数；r 值为相关系数；xbp1 为 x 盒结合蛋白 1.。

组高于稳定组。LN 患者 Xbp1 表达与 $CD19^-CD138^+$ 浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例呈正相关，与抗 ds-DNA 抗体、SLEDAI 评分值呈正相关，与血红蛋白、补体 C3 呈负相关。

基础研究证实，*Xbp*1 与浆细胞产生抗体及自身抗体形成密切相关，敲除 *Xbp*1 基因后浆细胞产生抗体的量明显减少[6, 14-15]。$Xbp1^{CD19}$ 小鼠是 B 细胞缺乏 *Xbp*1 基因且能阻止自身抗体介导的狼疮小鼠模型形成，提示内质网应激蛋白 Xbp1 与自身抗体相关。研究发现，蛋白酶抑制剂能抑制 Xbp1 的表达，并发现在狼疮小鼠模型中蛋白酶抑制剂能减少狼疮自身抗体产生，改善狼疮小鼠的蛋白尿、皮疹等临床症状[16]，同时临床研究发现在 SLE 患者中 Xbp1 的表达也明显增高[17]，而本临床研究发现 Xbp1 在 LN 中表达明显升高且与活动性相关，提示 Xbp1 可能在 LN 发病机制中起了重要作用。

Xbp1 可能在参与自身抗体形成中起重要作用。抗 dsDNA 抗体在 LN 的发病机制中起重要作用。已经证明，同型半胱氨酸诱导一种内质网应激诱导蛋白（endoplasmic reticulum stress-inducing proteins, Herp）能够结合抗 dsDNA 抗体是抗 DNA 反应的潜在触发抗原，这意味着抗双链 DNA 抗体具有功能联系[17]，而 Xbp1 能调节 Herp 的表达，$Xbp1^{+/+}$小鼠模型中血清抗肽和抗 dsDNA 抗体很容易被探测到，而 $Xbp1^{CD19}$ 小鼠中仅仅少量存在[15]。由此推测，Xbp1 可能通过调节 Herp 的表达参与 dsDNA 抗体的产生。由用敲除 *Xbp*1 基因的 B 细胞研究表明，Xbp1 能促进 IgM 的合成及分泌[18]。在原代 B 细胞分化为浆细胞过程中 IgM 的合成受 Xbp1 的正反馈调节[19]。Reimold等[7]用 $Xbp1^{-/-}Rag^{-/-}$嵌合子小鼠发现所有类别的免疫球蛋白基础水平下降。芯片数据显示，*Xbp*1 下游的靶基因中至少有 48 个参与了浆细胞分化过程[20]。我们实验结果表明，Xbp1s 与 Xbp1u 在 LN 均升高与疾病活动呈正相关，并且 Xbp1u 与 Xbp1s 呈正相关，ERS 发生时 IRE1α 发生自体磷酸化进一步剪切 XBP1u mRNA，产生移码突变，生成转录因子 XBP1s，XBP1s 入核发挥转录调控作用。Xbp1u 同时也能调节 Xbp1s 的转录共同参与 LN 的发病。我们的研究发现，LN 患者 Xbp1 表达与 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例呈正相关，与抗 ds-DNA 抗体、SLEDAI 评分值呈正相关。基础研究表明，B 细胞在 LN 发病中起重要作用，且与 LN 活动性呈正相关。临床研究也发现，LN 患者 B 细胞数量明显增高，同时在 LN 患者中抗 dsDAN 抗体明显升高，这与我们的研究发现 LN 组 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例显著高于健康对照组，同时活动组高于稳定组结果相一致，同时基础研究发现 Xbp1 在 B 细胞中起重要作用，Xbp1 能抑制 B 细胞活化为浆细胞以及抗体产生[6, 14]。在造血系统中，CD138 主要表达于 B 细胞分化的后期，是浆细胞的特异的标记物。我们研究发现，LN 患者 Xbp1 表达与 $CD19^-CD138^+$浆细胞/$CD19^+$B 细胞比例呈正相关。本研究发现，Xbp1 与补体 C3 呈负相关，与 ESR 呈正相关，补体、红细胞沉降率与 LN 疾病活动度相关，进一步提示 Xbp1 与 LN 活动程度存在一定相关性。本研究发现，Xbp1 与血红蛋白含量呈负相关，这可能是由于表达升高 Xbp1 诱导浆细胞过度活化产生抗红细胞抗体，使血红蛋白受到破坏。以上我们通过 Pearson 相关分析发现，Xbp1u mRNA 的相对表达与 24 h 尿蛋白定量、SLEDAI 呈正相关，与血红蛋白、补体 C3 负相关；Xbp1s mRNA 的相对表达与血红蛋白、补体 C3 负相关，与 IgM、SLEDAI、ESR 正相关。为进一步探讨 Xbp1u、Xbp1s mRNA 表达水平影响因素，并在 Pearson 相关分析的基础上，以 Xbp1u、Xbp1smRNA 表达水平为因变量，白细胞、血红蛋白、红细胞沉降率、24 h 尿蛋白定量、白蛋白、球蛋白、IgA、IgG、IgE、IgM、补体 C3、SLEDIA 为自变量通过去除混杂因素发现，Xbp1u 和 Xbp1s 与 SLEDAI 呈正相关。

本研究发现，Xbp1 与白细胞、血小板、白蛋白、球蛋白等临床生化指标均无显著相关性，可能与本研究患者例数、疾病严重程度、药物等因素有关。此外，本研究显示 Xbp1 表达水平与白细胞、血小板数量呈负相关性，推测 LN 患者 Xbp1 表达升高，导致浆细胞异常分化并产生自身抗体，这些自身抗体也包括破坏外周淋巴细胞、中性粒细胞的抗体、抗血小板抗体、抗血小板生成素抗体等，使白细胞、血小板受到破坏或生成减少，也未发现与不同临床亚型的关联，可能与本组患者各临床亚型组的例数较少有关。

本研究首次在 LN 患者中检测外周血 B 细胞中 Xbp1mRNA 的表达，同时通过与临床指标进行分析发现，它可能参与 LN 的发病，抑制其表达，可能成为治疗 LN 的一种新的治疗方案。但由于 LN 是多种不同因素和调控基因共同作用的结果。因此，*Xbp*1 基因具体通过什么机制促使 LN 自身抗体形成还有待于进一步研究探索。因此，将来我们需

要增加 LN 样本量，同时在 LN 动物模型上探讨 Xbp1 在 LN 发病中的意义。

综上所述，在 LN 患者外周血 B 细胞中 Xbp1u、Xbp1smRNA 表达量明显增加，且与 LN 患者 SLEDAI 及临床指标相关，提示 Xbp1 参与 LN 的发病。外周血 Xbp1 的表达量的变化在 LN 发生、发展中存在重要作用。

利益冲突　所有作者均声明没有利益冲突

参 考 文 献

［1］ Yu C, Li P, Dang X, et al. Lupus nephritis: new progress in diagnosis and treatment[J]. J Autoimmun, 2022, 132: 102871. DOI: 10.1016/j.jaut.2022.102871.

［2］ Kostopoulou M, Pitsigavdaki S, Bertsias G. Lupus nephritis: improving treatment options[J]. Drugs, 2022, 82(7): 735-748. DOI: 10.1007/s40265-022-01715-1.

［3］ Liou LB, Chen CC, Chiang WY, et al. De-sialylated and sialylated IgG anti-dsDNA antibodies respectively worsen and mitigate experimental mouse lupus proteinuria and possible mechanisms[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 109: 108837. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108837.

［4］ Miglioranza Scavuzzi B, Holoshitz J. Endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and rheumatic diseases[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(7): 1306. DOI: 10.3390/antiox11071306.

［5］ Chaudhary V, Ah Kioon MD, Hwang SM, et al. Chronic activation of pDCs in autoimmunity is linked to dysregulated ER stress and metabolic responses[J]. J Exp Med, 2022, 219(11): e20221085. DOI: 10.1084/jem.20221085.

［6］ Wöhner M, Pinter T, Bönelt P, et al. The Xbp1-regulated transcription factor Mist1 restricts antibody secretion by restraining Blimp1 expression in plasma cells[J]. Front Immunol, 2022, 13: 859598. DOI: 10.3389/fimmu.2022.859598.

［7］ Reimold AM, Iwakoshi NN, Manis J, et al. Plasma cell differentiation requires the transcription factor XBP-1[J]. Nature, 2001, 412(6844): 300-307. DOI: 10.1038/35085509.

［8］ Todd DJ, Lee AH, Glimcher LH. The endoplasmic reticulum stress response in immunity and autoimmunity[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(9): 663-674. DOI: 10.1038/nri2359.

［9］ Taubenheim N, Tarlinton DM, Crawford S, et al. High rate of antibody secretion is not integral to plasma cell differentiation as revealed by XBP-1 deficiency[J]. J Immunol, 2012, 189(7): 3328-3338. DOI: 10.4049/jimmunol.1201042.

［10］ Benhamron S, Hadar R, Iwawaky T, et al. Regulated IRE1-dependent decay participates in curtailing immunoglobulin secretion from plasma cells[J]. Eur J Immunol, 2014, 44(3): 867-876. DOI: 10.1002/eji.201343953.

［11］ Wu JF, Yang K, Cai SW, et al. A p38α-BLIMP1 signalling pathway is essential for plasma cell differentiation[J]. Nat Commun, 2022, 13: 7321. DOI: 10.1038/s41467-022-34969-0.

［12］ Mei Y, Xin Y, Li X, et al. Aberrant expression of JMJD3 in SLE promotes B-cell differentiation[J]. Immunobiology, 2023, 228(2): 152347. DOI: 10.1016/j.imbio.2023.152347.

［13］ Anders HJ, Loutan J, Bruchfeld A, et al. The management of lupus nephritis as proposed by EULAR/ERA 2019 versus KDIGO 2021[J]. Nephrol Dial Transplant, 2023, 38(3): 551-561. DOI: 10.1093/ndt/gfab351.

［14］ Lee AH, Iwakoshi NN, Anderson KC, et al. Proteasome inhibitors disrupt the unfolded protein response in myeloma cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(17): 9946-9951. DOI: 10.1073/pnas.1334037100.

［15］ Todd DJ, McHeyzer-Williams LJ, Kowal C, et al. XBP1 governs late events in plasma cell differentiation and is not required for antigen-specific memory B cell development[J]. J Exp Med, 2009, 206(10): 2151-2159. DOI: 10.1084/jem.20090738.

［16］ Neubert K, Meister S, Moser K, et al. The proteasome inhibitor bortezomib depletes plasma cells and protects mice with lupus-like disease from nephritis[J]. Nat Med, 2008, 14(7): 748-755. DOI: 10.1038/nm1763.

［17］ Gu ZF, Meng Y, Tao T, et al. Endoplasmic reticulum stress participates in the progress of senescence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Cell Tissue Res, 2015, 361(2): 497-508. DOI: 10.1007/s00441-015-2131-x.

［18］ Tirosh B, Iwakoshi NN, Glimcher LH, et al. XBP-1 specifically promotes IgM synthesis and secretion, but is dispensable for degradation of glycoproteins in primary B cells[J]. J Exp Med, 2005, 202(4): 505-516. DOI: 10.1084/jem.20050575.

［19］ Kallies A, Nutt SL. Terminal differentiation of lymphocytes depends on Blimp-1[J]. Curr Opin Immunol, 2007, 19(2): 156-162. DOI: 10.1016/j.coi.2007.01.003.

［20］ Shaffer AL, Shapiro-Shelef M, Iwakoshi NN, et al. XBP1, downstream of blimp-1, expands the secretory apparatus and other organelles, and increases protein synthesis in plasma cell differentiation[J]. Immunity, 2004, 21(1): 81-93. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.06.010.

（收稿日期：2023-05-21）