

ANCA 相关血管炎发病机制的研究进展

张文, 薛凌宇, 蔡娇, 提苗

泰山医学院附属医院肾内科, 山东 泰安 271000

关键词: 血管炎; 抗中性粒细胞胞浆抗体; 遗传因素; 抗内皮细胞抗体; 淋巴细胞

中图分类号: R 593.2 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2017)04-0552-05

抗中性粒细胞胞浆抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)相关性血管炎(ANCA-associated vasculitis, AAV)是一组多系统受累的自身免疫性疾病,其病理特点是小血管的炎症与纤维素样坏死,ANCA 是 AAV 特异性的血清学标志物。肾是 AAV 最常见的受累部位,80%~90%的 AAV 有肾受累的临床表现,病理检查几乎 100%累及肾^[1]。据报道,AAV 的年发病率大约为 20/100 万,自然病程死亡率高,预后差,5 年病死率约为 25%^[2]。2012 年新 CHCC(Chapel Hill Consensus Conference)根据病因、种类等将 AAV 正式定义为与 ANCA 相关、伴少量或无免疫复合物沉积并小血管显著受累的一组坏死性血管炎,包括了显微镜下多血管炎(microscopic polyangiitis, MPA),肉芽肿性多血管炎(granulomatosis with polyangiitis, GPA)和嗜酸性肉芽肿性多血管炎(eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, EGPA)。尽管 AAV 的发病原因及发病机制至今尚未完全阐明,但近年来国内外越来越多的研究提示我们 AAV 的发生是多重因素共同作用的结果,ANCA、中性粒细胞、补体、抗内皮细胞抗体、淋巴细胞等在 AAV 的发病中发挥了重要作用。本文就 AAV 主要发病机制的研究进展做一概述。

1 ANCA

1.1 ANCA 的致病机制 1982 年, Davies 等在节段性坏死性肾小球肾炎患者血清中,首次发现了一种 IgG 类的抗体,其靶抗原就是中性粒细胞胞浆抗原,遂该抗体被称为 ANCA。1985 年,在 Wegner 肉芽肿(WG)患者血清中, Vander 发现了 ANCA 的存在,并对 ANCA 与 WG 诊断的特异性给予了肯定。从此以后,许多专家学者致力于血管炎与 ANCA 关系的研究。目前常用的 ANCA 检测方法有间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)、酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)等。根据 IIF, 可将 ANCA 分为胞浆型 ANCA(cytoplasmic ANCA, cANCA)、核周型 ANCA(perinuclear ANCA, pANCA)和介于两者之间的非典型性 ANCA(atypical ANCA)。根据 ELISA, 目前已有 10 余种成分被证实为 ANCA 的靶抗原, 它们多数存在于中性粒细胞的嗜天青颗粒中, 分别为蛋白酶 3(proteinase 3, PR3)、髓过氧化物酶(myeloperoxi-

dase, MPO)、杀菌/渗透性增高蛋白(bactericidal/permeability increasing protein, BPI)、组织蛋白 G(cathepsin G, Cath G)、溶酶体(lysozyme, LYS)和乳铁蛋白(lactoferrin, LF)等。cANCA 的主要靶抗原是 PR3, pANCA 的主要靶抗原之一是 MPO, 且 PR3 和 MPO 是最为常见的 2 种。大量研究证实, PR3-ANCA 和 MPO-ANCA 不仅是 AAV 的生物学标志物, 其本身也具有致病性, 在疾病的发生发展中具有重要的作用。Schlieben 等^[3]报道, 母亲血液循环中的 MPO-ANCA 抗原成分通过胎盘进入胎儿的血液中, 其出生 48 h 以后, 即患有肺肾综合征。这为 ANCA 的致病性提供了最直接的证据。值得注意的是, 天然的 ANCA 抗体亦可存在于正常人中, ANCA 阴性并不排除患有小血管炎的可能^[4]。一般认为 ANCA 的致病机制可能与下列因素相关:

1.1.1 ANCA 诱导中性粒细胞呼吸爆发 MPO 和 PR3 是 ANCA 最主要的抗原成分, 细胞膜上 ANCA 靶抗原的表达是 ANCA 发挥作用的先决条件。对未受刺激的中性粒细胞来说, 其大部分 MPO 和 PR3 存在于胞浆, 仅有少量抗原表达于细胞表面。静息状态下, 在部分中性粒细胞表面表达的 PR3 为膜型 PR3(membrane PR3, mPR3), mPR3 的增加是 AAV 发病的危险因素。研究证实, PR3-ANCA 可以通过 β_2 -整合素(CD18/CD11b)介导的细胞间粘附和 Fc γ 受体增加 mPR3 的表达, 使其有更多的机会与靶抗原接触。CD177 的表达可能与 GPA 患者 mPR3 的增加有关。相关研究证实, CD177 与 PR3 在中性粒细胞表面共表达, mPR3 的受体为 CD177^[5-6]。

当中性粒细胞被促炎因子如某些细胞因子: 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)或白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)刺激后, 其受到预激活, 会在细胞表面表达更多的抗原成分(MPO 和 PR3)。ANCA 的 F(ab')₂ 段可与中性粒细胞表面的 MPO 或 PR3 结合, 其 Fc 段可通过 Fc γ 受体结合同一个细胞或相邻的细胞, 以转导中性粒细胞活化信号, 其中的 Fc γ 受体主要为 Fc γ II a 受体和 Fc γ III b 受体。此外, Ras/MAPK 通路和 PI3K/Akt 通路目前均已被证明与 ANCA 激活中性粒细胞有关^[7]。ANCA 识别中性粒细胞表面的 ANCA 抗原后, 可以诱导中性粒细胞发生呼吸爆发, 造成中性粒细胞的脱颗粒, 释放活性氧及各种蛋白酶, 直接损伤血管内皮细胞。

1.1.2 ANCA 诱导的中性粒细胞与内皮细胞黏附 研究发现, ANCA 使 β_2 -整合素的空间构象发生改变, 并以此来强化中性粒细胞和内皮细胞之间粘附的稳定性; ANCA 也可刺激中性粒细胞产生细胞因子, 如 IL-1 β 和 IL-8, 而 IL-8 可通过中性

粒细胞表面 B 型受体,来促进其向炎症部位聚集。PR3-ANCA 可上调血管内皮细胞表面的 E 选择素、细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1),来促进中性粒细胞与内皮细胞的粘附。研究证实,内皮细胞也积极参与 AAV 的致病过程,其与 ANCA 及中性粒细胞形成了一个炎症发展的恶性循环。PR3-ANCA 及 PR3 均可诱导内皮细胞分泌有强大趋化能力的 IL-8 来参与促炎症过程。Yang 等^[8]研究证明,中性粒细胞活化后释放的 MPO 和 PR3 抗原成分可被血管内皮细胞粘附并摄取,最终可与细胞的染色质相结合。PR3 的摄入可加速血管内皮细胞的凋亡;而 MPO 的摄入可使内皮细胞释放氧自由基。

1.1.3 ANCA 与中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 形成 NETs 是中性粒细胞活化时释放的胞外网状结构,其以 DNA 为骨架,其间镶嵌有组蛋白、中性粒细胞弹性蛋白酶、Cath G、钙网蛋白、MPO、PR3 等具有杀菌和增加通透性作用的蛋白。Darrah 等^[9]研究发现,已鉴定的 NETs 蛋白质中有 84% 为自身免疫病、癌症或两者共有的自身抗原,74% 是自身免疫性疾病自身抗体的靶点。另有研究证实, LAMP-2 抗体等 ANCA 可促进中性粒细胞释放 NETs,暴露 MPO、LAMP-2、PR3 等自身抗体,进而加重 AAV 损伤并形成恶性循环,在 AAV 患者外周循环中 NETs 水平明显增高^[10-11]。

最近 Kessenbrock 等^[12]研究发现 AAV 受损肾脏存在 NETs 的直接证据。另外, Sangaletti 等^[13]研究表明, NETs 自身免疫原性需要完整的 NETs 及胞质蛋白。正常情况下, NETs 与外来微生物接触后,很快会被脱氧核糖核酸酶 (DNase) 降解,进而被清除。但在自身免疫病患者体内普遍存在 DNase 水平或活性降低的现象,这就促进了大量 NETs 的存在。AAV 患者体内的 NETs 不能被及时清除,一方面 NETs 可黏附并破坏血管内皮细胞;另一方面 NETs 还可以激活浆细胞样树突状细胞 (plasmacytoid dendritic cells, pDC),后者可产生干扰素 α 并激活 B 细胞产生 ANCA,维持 NETs 恶性循环的产生。因此人为采用 DNase 或其他能降解 DNA 骨架的方法可能能够促进异常 NETs 的清除,而靶向 NETs 治疗或许能从根本上防止自身免疫病的发生。

1.1.4 ANCA 与补体旁路途径的激活 补体系统是联系先天免疫和适应性免疫的桥梁,通过经典途径、凝集素途径和旁路途径激活补体,可形成膜攻击复合物以引起调理吞噬、杀伤细胞、介导炎症、调节免疫应答和溶解清除免疫复合物等一系列的生物学效应。因为 AAV 患者肾脏受累是以少/无免疫沉积为组织病理学特点的坏死性新月体肾小球肾炎 (necrotizing crescentic glomerulonephritis, NCGN) 为主要表现,故以往补体系统在 AAV 发病过程中的作用常被忽视。但是近年来,越来越多的研究表明补体系统在 AAV 的发病过程中担当着至关重要的角色,其中 C5a 及其受体 C5aR 之间的表达起核心作用。C5a 有 C5aR (CD88) 和 C5L2 两个受体。有研究发现 C5aR 缺乏的小鼠其 NCGN 的发生可得以阻断。基因敲除 C5aR/CD88 和使用 CD88 拮抗剂 (CCX168) 的小鼠可不发展为 NCGN 或者其肾小球新月体可有所减少,肾炎症状能显著好转,证实了 C5aR/CD88 的促炎功能^[14]。

Xiao 等^[15]的体外实验,将 ANCA 与健康人的中性粒细胞进行孵育所得的上清液中,发现了含有可以活化补体途径的物质,此物质可增加补体 C3b,并激活补体旁路途径。2013 年 Gou 等^[16]对 66 例 AAV 急性期患者和 54 例 AAV 静止期患者外周血中的因子进行了检测,结果显示,活动期与缓解期 AAV 患者血浆 C4d 水平相同,而活动期补体 C3a、C5a、C5b-9 和 Bb 水平高于静止期,备解素水平低于静止期,且患者血浆 Bb 水平与肾脏标本中总的新月体与细胞新月体的比例、血沉水平、伯明翰血管炎活动评分有关联。由此推断,循环 Bb 可能成为评估 AAV 疾病活动性的生物标志物。

已经有越来越多的证据证实 ANCA、中性粒细胞和补体之间的作用。在补体 C5a 等因子的作用下,中性粒细胞表面表达的 ANCA 靶抗原成分 (MPO 和 PR3 等) 水平上调,并在 ANCA 的作用下其发生呼吸爆发和脱颗粒,激活补体旁路途径,损伤血管内皮细胞,导致 AAV 的发生;而补体旁路途径的激活可导致中性粒细胞进一步激活,同时,中性粒细胞活化还可以进一步激活补体旁路途径产生 C3 转化酶和 C5 转化酶,产生更多的补体活化产物 C5a,可进一步放大炎症效应,导致 AAV 的发生,补体旁路途径对中性粒细胞的激活有正反馈放大效应^[17]。同时相关研究证实,C5a 主要是通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)、信号调节激酶 (signal-regulated kinase, ERK) 和磷酸肌醇-激酶 (phosphoinositol 3-kinase, PI3K) 以及蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)^[18-19] 信号传导通路诱导细胞内的 ANCA 抗原转移至细胞表面的。

1.2 ANCA 可能的产生机制 ANCA 在整个血管炎的发病机制中起核心作用,它的形成与药物、环境及感染等因素相关。

1.2.1 药物因素 目前已发现多种药物可能诱导 AAV 的发生,包括丙基硫氧嘧啶 (PTU)、胍苯嗪、异烟肼、青霉胺、含左旋咪唑的可卡因和米诺环素等,其中以 PTU 最为常见。PTU 是硫脲类抗甲状腺药,在外周组织有抑制 T4 转化为 T3 的作用。1992 年 Stankus 和 Johnson 首先报道了 PTU 诱发的表现为呼吸衰竭的 ANCA 阳性高敏感性血管炎。1993 年 Dolman 首次从使用 PTU 治疗甲亢后继发小血管炎的患者血清中检测出了 ANCA。此后,抗甲状腺药物诱发 AAV 的发病机制引发了专家学者们的热议。很多科学家认为,PTU 经 MPO 氧化为毒性代谢产物,与人体中性粒细胞内的胞浆抗原或核抗原结合,发挥免疫原性作用,被 T 细胞所识别后,使 B 细胞活化并产生抗体^[20]。ANCA、药物的毒性代谢产物以及中性粒细胞活化后脱颗粒释放的活性氧及各种蛋白酶等均能损伤小血管,致使小血管炎发生。还有学者认为,PTU 可在中性粒细胞内聚集并结合 MPO 分子致使后者空间构象发生改变,从而使敏感的个体产生抗 MPO-ANCA 抗体。此外,还有专家提出了中性粒细胞激活学说^[21],即感染等刺激因素激活中性粒细胞致使其脱颗粒释放 MPO,后者将 PTU 转化为巯基 PTU,致敏 T 细胞,活化 B 细胞并产生相应的自身抗体介导血管损伤。

1.2.2 环境因素 流行病学证据显示,大量环境毒素如含硅物质、化学溶剂和金属物质等长期暴露的人群更易发生 AAV,其中 AAV 的患病与二氧化硅的相关性最强。Lane 等^[22]研究

报道 AAV 患者接触含硅物质概率较高,是狼疮性肾炎和其他肾脏疾病患者的 4.4 倍,这表明硅接触可致 AAV;此外,还发现二氧化硅与 pANCA 的联系较 cANCA 更加密切,更易诱导 MPO-AAV 的发生。还有研究表明,在 ANCA 相关性肾炎或 GPA 中,有 22%~46% 的患者有硅接触史,且与接触时间的关系更为密切^[23]。这可能与二氧化硅可加快外周血中性粒细胞和淋巴细胞的凋亡、活化肺泡巨噬细胞、激活淋巴细胞、诱导中性粒细胞迁移、促进炎症反应发生及激活成纤维细胞等作用相关^[24]。

1.2.3 感染因素 感染是影响 AAV 发生及发展的重要因素,病原体感染可使机体发生免疫紊乱并产生 ANCA,同时感染时炎性因子的释放可引起中性粒细胞致敏,诱导内皮细胞活化,是 ANCA 介导内皮细胞损伤的前提。相关研究显示,病原体感染主要有两种机制启动 ANCA 的自身免疫反应。

一是直接分子模拟机制,即病原体的某些抗原与宿主蛋白的结构相同或相似,导致机体针对病原体产生免疫应答,也作用于结构相似的自身抗原,以致自身抗体形成。研究表明,成熟型 Fim H 蛋白的表位 P72-80 与溶酶体膜蛋白-2 (lysosomal membrane protein-2, LAMP-2) 抗体的 P41-49 表位 100% 同源^[25]。Fim H 是一种黏附素,在革兰阴性菌黏附及致病的过程中有重要的作用。LAMP-2 抗体是新近发现的 ANCA 亚型。1995 年 Kain 等^[25]在针对 84 例活动性 AAV 患者的研究中发现 90% 患者的血清中可检测到 LAMP-2 抗体,疾病缓解时则该抗体消失;体外研究发现 LAMP-2 的单克隆抗体可以使中性粒细胞活化,导致内皮细胞凋亡;多克隆抗 LAMP-2 抗体免疫大鼠后出现了严重的寡免疫复合物局灶坏死性肾小球肾炎,证明在 ANCA 相关性肾炎患者血清中 LAMP-2 抗体高表达,其与肾脏受损程度有关。由此推断,具有 Fim H 的细菌感染后致使易感宿主发生 AAV 的机制,可能是 Fim H 细菌感染机体后,Fim H 与 LAMP-2 发生直接分子模拟导致免疫紊乱,产生 LAMP-2-ANCA,最终致使 AAV。

二为间接分子模拟机制,即对自身抗原的互补或反义链的免疫应答反应,致使抗自身抗原的抗体产生。2004 年 Pendergraft 等^[26]在 AAV 患者血清中不但检测到了抗 PR3 抗体,而且发现了抗互补性 PR3 (complementary PR3, cPR3) 的抗体。cPR3 蛋白是由 PR3 基因的反义序列转录而成,大量资料表明 cPR3 蛋白与金黄色葡萄球菌蛋白的结构相似。Pendergraft 等用 cPR3 免疫小鼠后,在小鼠体内发现了抗 PR3 与抗 cPR3 的抗体,抗 PR3 与抗 cPR3 形成复杂的抗独特性抗体网络,以致自身免疫反应发生。该研究组假设,当患者发生金黄色葡萄球菌感染后,机体产生了相应的抗体,导致抗 cPR3 抗体产生,继而 PR3-ANCA 生成,最终发生 AAV。并且在 PR3-ANCA 患者体内 Pendergraft 等检测到了可识别 cPR3 的 CD4⁺ T 细胞。然而,目前尚无研究表明抗 PR3 的抗体与金黄色葡萄球菌可能有交叉反应;动物实验中,以金黄色葡萄球菌免疫啮齿类动物也没有模拟出 AAV 模型^[27]。

2 遗传因素

遗传因素是 AAV 发病中的一个重要因素。研究发现,

AAV 的发病率具有地域和种族的差异。目前,AAV 相关基因的研究已经越来越多。其中,可与 PR3-ANCA 结合引起氧自由基、细胞因子等释放并导致组织损伤的 PR3 是由 PRTN3 编码的。 α 1 抗胰蛋白酶(α 1-antitrypsin, AAT)是 PR3、弹性蛋白酶的天然抑制剂,有研究表明,AAT 缺乏的 GPA 患者病情相对较重,这证明了 AAT 基因在 PR3-ANCA 阳性血管炎中的致病作用。T 细胞的过度活化在 AAV 的发病机制中有着重要的作用,CTLA4 是抑制 T 细胞活性的信息通路之一,是由 CTLA4 基因编码的,在 GPA 中可见 CTLA4 水平升高。此外研究表明,CTLA4 的 +49G 等位基因在 AAV 患者中出现的频率与对照组相比差异有统计学意义^[28]。蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22 (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22, PTPN22) 是重要的自身免疫性疾病相关的危险因子,其编码一种淋巴样特异性磷酸酶 (lymphoid-specific phosphatase, LYP)。相关研究表明,PTPN22 R620W 等位基因与 GPA 易感性相关,特别是 ANCA 阳性的 GPA 患者有着更高的 PTPN22 R620W 等位基因频率^[29]。CD226 表达于多种血细胞上,其可调节血小板的活化、聚集及血小板和巨核细胞在血管内皮细胞上的黏附。相关研究发现,白种人患 AAV 的概率与 CD226 中的 rs763361 位点有关。Fc γ 受体家族表达于多种免疫细胞表面,为联系体液免疫和细胞免疫的枢纽,主要成员包括 Fc γ R I (CD64)、Fc γ R II a (CD32A)、Fc γ R II b (CD32B)、Fc γ III a (CD16A)、Fc γ III b (CD16B)。研究表明,Fc γ R II a 可能通过结合 ANCA 的 Fc 段,激发中性粒细胞及单核细胞的炎症反应,导致细胞功能改变,并释放炎症分子,引起小血管炎症性坏死,是 AAV 的重要致病机制^[30]。

AAV 亦与人类白细胞抗原(HLA)的基因多态性相关。相关研究表明:GPA 与 HLA-DRB1*04 具相关性,且在 ANCA 阳性的患者中这种相关性更为显著。MPA 与 HLA-DRB1*0901-DQB1*0303 的基因频率相关。高 HLA-DRB4 基因频率是发生 EGPA 的危险因素之一^[31]。PR3-ANCA 与 HLA-DP 基因相关,而 MPO-ANCA 与 HLA-DQ 相关。GPA 患者 HLA-DR1 基因频率降低,EGPA 患者 HLA-DRB4 基因频率较高而 HLA-DRB3 基因频率较低^[31-32]。非裔美国人 PR3-ANCA 阳性患者的危险因素之一为 HLA-DRB1*1501 等位基因^[33]。HLA-DPB1*0401 及位于 HLA-DPB1 区域的 rs3117242 位点和白种人的 GPA 明显相关^[34]。HLA-DRB1*0405 阳性与 AAV 肾功能及疗效呈负相关,而 AAV 患者高全因死亡率独立的危险因素为 HLA-DRB1*0402 阳性^[35]。上述研究表明遗传因素可能在 AAV 的发展过程中有着极为重要的作用。

3 抗内皮细胞抗体(anti-endothelial cell antibody, AECA)

AECA 是存在于外周血中的一种自身免疫性抗体,其主要作用于表达在血管内皮细胞表面或吸附于血管内皮细胞上的一组异质性抗原。AECA 可造成内皮损伤,而内皮损伤是 AAV 的重要病理特征,也是造成肾小球毛细血管损伤的重要环节^[36-37]。AECA 与血管内皮细胞相互作用,可上调内皮细胞表面粘附分子的水平,如 E-选择素、细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1) 和血管细胞粘附分子-

1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 等;促进内皮细胞分泌 IL-1 β 、IL-6、IL-8 及单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)。通过以上作用 AECA 能促进炎症细胞的聚集、细胞间的粘附,并可通过抗体依赖的细胞毒作用杀伤血管内皮细胞。另有相关研究表明,AECA 诱导内皮细胞活化、释放细胞因子与黏附分子、致使内皮细胞损伤、产生坏死性小血管炎,可通过 NF-KB、PI3K/Akt 通路完成。

自 1971 年 Lindquist 发现 AECA 以来,AECA 在血管炎性疾病中的作用机制成为了研究热点。近年来相关研究显示,AECA 在血管炎性疾病中高表达,是血管炎性疾病和血管受损的重要标志^[38]。有关文献报道,在不同 AAV 的类型中血清 AECA 阳性率有显著差异^[39]。另外,血清 AECA 在病情严重程度的评估和临床治疗的指导中具有重要的作用。研究表明,缓解期 AAV 患者血清 AECA 阴性,且随着病情的不断好转,其水平也在不断下降并逐渐趋于正常水平^[40]。另有研究表明,AAV 复发前期,患者血清 AECA 呈升高趋势,AECA 持续阳性与复发风险明显相关^[41]。

4 淋巴细胞

4.1 T 淋巴细胞 T 细胞在 AAV 的发病过程中起着重要作用,但目前其致使 AAV 发病的机制仍尚未阐明。Th17 细胞是一种新型的 CD4⁺T 辅助细胞(T help cell, Th)亚群,其通过分泌 IL-17(IL-17A 和 IL-17F)、IL-21、IL-22 等多种细胞因子募集中性粒细胞、促进炎症反应,进而导致自身免疫性疾病的发生、发展。研究发现,给予 AAV 患者抗 IL-17 抗体或抑制其 Th17 细胞分化,均可减轻 AAV 症状^[42]。Nogueira 等^[43]研究发现,AAV 患者急性期血清 IL-17 水平显著高于正常对照组,提示 Th17 细胞及 IL-17 与 AAV 的发病相关,在一定程度上可反映疾病的活动度。调节 T 淋巴细胞(T regulatory cell, Treg)是 CD4⁺效应 T 细胞的一个亚群,其细胞表型为 CD4⁺CD25⁺Fox P3⁺(转录因子叉形盒 P3, transcription factor forkhead box P3)T 细胞,其对自身免疫反应具有抑制作用,在自身免疫性疾病中其可维持免疫稳定及防止组织损伤。研究表明,AAV 患者出现活动性血管炎时,Treg 数量减少、功能受损,诱导缓解治疗时间延长、病情复发概率增加。

4.2 B 淋巴细胞 以 CD20⁺B 细胞为靶点的利妥昔单抗克隆抗体的出现是 AAV 治疗的一个里程碑,此后,关于 B 淋巴细胞与 AAV 发病关系的研究越来越多。相关研究报道,AAV 活动期患者较缓解期患者或健康人,其循环的 B 细胞分化不正常,尤其在 GPA 活动期患者体内,其 CD38⁺B 细胞显著增加。相关研究证实,正常的免疫系统中存在一类调节 B 淋巴细胞(B regulatory cell, Breg),可产生 IL-10,对自身免疫和炎症反应起到抑制作用。Breg 细胞可抑制纯真 T 细胞分化为 Th1 或 Th7,并促进 Treg 细胞的活动^[44]。B 细胞激活因子(B-cell activating factor, BAFF)在 B 细胞的活化和增殖中起重要的调节作用,是纯真 B 细胞向自身免疫性 B 细胞转化的重要细胞因子,研究发现其血清水平在 AAV 活动期有所升高^[45]。

总之,具有遗传易感性的 AAV 患者在药物、环境、感染等因素的影响下,产生 ANCA 并发生一系列的自身免疫反应。

此过程中,ANCA 触发并促进中性粒细胞活化,细胞因子、黏附分子、趋化因子及补体等均参与了中性粒细胞的聚集、活化及级联放大反应。被激活的中性粒细胞可释放活性氧及各种蛋白酶直接作用于内皮细胞,NETs 的形成引起内皮细胞变性、脱落,导致组织损伤及 AAV 的发生。其中,AECA、T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞均参与了疾病的发生、发展及调节。对 AAV 发病机制的进一步研究,将为疾病的治疗提供新的可能。

参考文献

- [1] Chen M, Yu F, Zhang Y, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis in older patients [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2008, 87(4): 203 - 209.
- [2] Furuta S, Jayne DR. Antineutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis: recent developments [J]. *Kidney Int*, 2013, 84(2): 244 - 249.
- [3] Schlieben DJ, Korbet SM, Kimura RE, et al. Pulmonary-renal syndrome in a newborn with placental transmission of ANCA [J]. *Am J Kidney Dis*, 2005, 45(4): 758 - 761.
- [4] Cui Z, Zhao MH, Segelmark M, et al. Natural autoantibodies to myeloperoxidase, proteinase 3, and the glomerular basement membrane are present in normal individuals [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(6): 590 - 597.
- [5] Bauer S, Abdgawad M, Gunnarsson L, et al. Proteinase 3 and CD177 are expressed on the plasma membrane of the same subset of neutrophils [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(2): 458 - 464.
- [6] von Vietinghoff S, Tunnemann G, Eulenberg C, et al. NB1 mediates surface expression of the ANCA antigen proteinase 3 on human neutrophils [J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4487 - 4493.
- [7] van der Veen BS, Chen M, Müller R, et al. Effects of p38 mitogen-activated protein kinase inhibition on anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody pathogenicity in vitro and in vivo [J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(2): 356 - 365.
- [8] Yang JJ, Preston GA, Pendergraft WF, et al. Internalization of proteinase 3 is concomitant with endothelial cell apoptosis and internalization of myeloperoxidase with generation of intracellular oxidants [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(2): 581 - 592.
- [9] Darrah E, Andrade F. NETs: the missing link between cell death and systemic autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 428.
- [10] 黄鑫,高雪静,王渊,等. 分子伴侣性自噬参与 LAMP-2 抗体诱导中性粒细胞胞外捕网形成 [J]. *免疫学杂志*, 2015, 31(3): 185 - 189.
- [11] Nakazawa D, Shida H, Tomaru U, et al. Enhanced formation and disordered regulation of NETs in myeloperoxidase-ANCA-associated microscopic polyangiitis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(5): 990 - 997.
- [12] Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönemarker U, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis [J]. *Nat Med*, 2009, 15(6): 623 - 625.
- [13] Sangaletti S, Tripodo C, Chiodoni C, et al. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity [J]. *Blood*, 2012, 120(15): 3007 - 3018.

- [14] Xiao H, Dairaghi DJ, Powers JP, et al. C5a receptor (CD88) blockade protects against MPO-ANCA GN[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(2):225-231.
- [15] Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, et al. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies[J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(1):52-64.
- [16] Gou SJ, Yuan J, Chen M, et al. Circulating complement activation in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis[J]. *Kidney Int*, 2013, 83(1):129-137.
- [17] Camous L, Roumenina L, Bigot S, et al. Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation[J]. *Blood*, 2011, 117(4):1340-1349.
- [18] Hao J, Chen M, Zhao MH. Involvement of protein kinase C in C5a-primed neutrophils for ANCA-mediated activation[J]. *Mol Immunol*, 2013, 54(1):68-73.
- [19] Hao J, Meng LQ, Xu PC, et al. p38MAPK, ERK and PI3K signaling pathways are involved in C5a-primed neutrophils for ANCA-mediated activation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):e38317.
- [20] 邓子煜, 徐先祥, 张小鸿, 等. 夏枯草药理学研究进展[J]. *安徽医学*, 2012, 33(7):937-939.
- [21] Yu F, Chen M, Gao Y, et al. Clinical and Pathological Features of Renal Involvement in Propylthiouracil-Associated ANCA-Positive Vasculitis[J]. *Am J Kid Dis*, 2007, 49(5):607-614.
- [22] Lane SE, Watts RA, Bentham G, et al. Are environmental factors important in primary systemic vasculitis? A case-control study[J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(3):814-823.
- [23] Gómez-Puerta JA, Gedmintas L, Costenbader KH. The association between silica exposure and development of ANCA-associated vasculitis: systematic review and meta-analysis[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(12):1129-1135.
- [24] Gatenby PA. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis: nature or nurture[J]. *Intern Med J*, 2012, 42(4):351.
- [25] Kain R, Exner M, Brandes R, et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis[J]. *Nat Med*, 2008, 14(10):1088-1096.
- [26] Pendergraft WF 3rd, Preston GA, Shah RR, et al. Autoimmunity is triggered by cPR-3 (105-201), a protein complementary to human autoantigen proteinase-3[J]. *Nat Med*, 2004, 10(1):72-79.
- [27] Savige J, Nassis L, Cooper T, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated systemic vasculitis after immunisation with bacterial proteins[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2002, 20(6):783.
- [28] Ordonez A, Perez J, Tan L, et al. A single-chain variable fragment intrabody prevents intracellular polymerization of Z1-antitrypsin while allowing its antiproteinase activity[J]. *FASEB J*, 2015, 29(6):2667-2678.
- [29] Martorana D, Maritati F, Malerba G, et al. PTPN22 R620W polymorphism in the ANCA-associated vasculitides[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, 51(5):805-812.
- [30] 魏丹丹, 林旭红, 白春洋. FcγR II a 及相关炎症分子在 ANCA 相关性血管炎中的意义[J]. *现代预防医学*, 2014, 41(22):4184-4185, 4196.
- [31] Vaglio A, Martorana D, Maggiore U, et al. HLA-DRB4 as a genetic risk factor for Churg-Strauss syndrome[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(9):3159-3166.
- [32] Wieczorek S, Hellmich B, Gross WL, et al. Associations of Churg-Strauss syndrome with the HLA-DRB1 locus, and relationship to the genetics of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides: comment on the article by Vaglio et al[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(1):329-330.
- [33] Cao Y, Schmitz JL, Yang J, et al. DRB1*15 allele is a risk factor for PR3-ANCA disease in African Americans[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(6):1161-1167.
- [34] Heckmann M, Holle JU, Arning L, et al. The Wegener's granulomatosis quantitative trait locus on chromosome 6p21.3 as characterised by tagSNP genotyping[J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67(7):972-979.
- [35] Chang DY, Luo H, Zhou XJ, et al. Association of HLA genes with clinical outcomes of ANCA-associated vasculitis[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(8):1293-1299.
- [36] Monach PA, Tomasson G, Specks U, et al. Circulating markers of vascular injury and angiogenesis in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(12):3988-3997.
- [37] Salmela A, Ekstrand A, Joutsu-Korhonen L, et al. Activation of endothelium, coagulation and fibrinolysis is enhanced and associates with renal anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30 Suppl 1:i53-i59.
- [38] Li MT, Ai J, Tian Z, et al. Prevalence of anti-endothelial cell antibodies in patients with pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue diseases[J]. *Chin Med Sci J*, 2010, 25(1):27-31.
- [39] Miura K, Aoun K, Yoshida S, et al. Autoantibodies directed against labile epitopes on cell surface proteins in autoimmune disease patients: proposal of a novel ELISA for the detection of anti-endothelial cell antibodies[J]. *J Immunol Methods*, 2012, 382(1/2):32-39.
- [40] 陈柏瑜, 任少敏. 抗内皮细胞抗体与系统性血管炎关系的研究进展[J]. *临床儿科杂志*, 2013, 31(9):891-893.
- [41] 刘秀艳, 翟力军. 以肾损害为首发的 ANCA 相关性小血管炎误诊 20 例[J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(15):3298-3299.
- [42] Abdulhad WH, Lamprecht P, Kallenberg CG. T-helper cells as new players in ANCA-associated vasculitides[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(4):236.
- [43] Nogueira E, Hamour S, Sawant D, et al. Serum IL-17 and IL-23 levels and autoantigen-specific Th17 cells are elevated in patients with ANCA-associated vasculitis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(7):2209-2217.
- [44] Flores-Borja F, Bosma A, Ng D, et al. CD19⁺CD24^{hi}CD38^{hi} B cells maintain regulatory T cells while limiting TH1 and TH17 differentiation[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(173):173ra23.
- [45] Cartin-Ceba R, Peikert T, Specks U. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2012, 14(6):481-493.