

DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20190458

• 短篇论著 •

髓过氧化物酶-抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎患者血清 IgG4 及 Th1/Th2 细胞因子检测分析

秦陈浩, 顾爱萍, 展富琴, 冯 萍, 顾昊宇, 杜 鸿*

苏州大学附属第二医院检验科, 苏州 215004

[摘要] **目的** 了解髓过氧化物酶(MPO)-抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎(AAV)患者血清中IgG4及辅助性T细胞(Th)1/Th2细胞因子的表达情况。**方法** 收集苏州大学附属第二医院50例AAV患者及40例同期健康体检者的血清样本,采用免疫比浊法测定IgG水平,采用ELISA法测定IgG4水平,采用流式细胞术微球阵列(CBA)技术检测血清中Th1/Th2细胞因子的水平,比较两组样本上述指标的差异,分析不同指标之间的相关性。

结果 共收集到50例AAV患者血清样本,其中MPO-AAV患者40例(80.0%)。MPO-AAV组血清IgG4水平为 (1.13 ± 0.33) g/L, IgG4/IgG比值为 0.094 ± 0.032 , IL-4水平为 (2.54 ± 0.68) pg/mL, IL-6水平为 $15.22 (8.83, 59.52)$ pg/mL,均高于健康体检者[IgG4水平为 (0.80 ± 0.27) g/L, IgG4/IgG比值为 0.070 ± 0.028 , IL-4水平为 (1.96 ± 0.60) pg/mL, IL-6水平为 $4.95 (2.82, 13.25)$ pg/mL],差异均有统计学意义(P 均 <0.01),且MPO-AAV患者血清IgG4水平与IL-6水平呈正相关($r_s=0.508, P<0.05$)。**结论** 我院AAV患者中MPO-AAV比例较高。MPO-AAV患者血清中IgG4水平及IL-4、IL-6水平均升高,且IgG4升高与IL-6升高呈正相关,提示IgG4的升高与MPO-AAV患者Th1/Th2细胞因子平衡失调有关。

[关键词] 免疫球蛋白G4; 免疫球蛋白G; Th1/Th2细胞因子; 抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎; 髓过氧化物酶

[中图分类号] R 593.2

[文献标志码] A

[文章编号] 2097-1338(2022)03-0341-05

Detection and analysis of serum IgG4 and Th1/Th2 cytokines in patients with myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis

QIN Chen-hao, GU Ai-ping, ZHAN Fu-qin, FENG Ping, GU Hao-yu, DU Hong*

Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of immunoglobulin (Ig) G4 and helper T cell (Th) 1/Th2 cytokines in the serum of patients with myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis (MPO-AAV). **Methods** Serum samples of 50 AAV patients and 40 healthy controls who taking a physical examination in the same period were collected from The Second Affiliated Hospital of Soochow University. The levels of IgG and IgG4 were detected by immunoturbidimetry and enzyme-linked immunosorbent assay, respectively. The expression of Th1/Th2 cytokines in serum was detected by flow cytometry microsphere array (CBA). The differences of the above indexes between the 2 groups were observed, and the correlations between different indexes were analyzed. **Results** Serum samples were collected from all the 50 AAV patients, including 40 of MPO-AAV patients (80.0%). In the MPO-AAV group, the serum IgG4 level was (1.13 ± 0.33) g/L, IgG4/IgG ratio was 0.094 ± 0.032 , IL-4 level was (2.54 ± 0.68) pg/mL, and IL-6 level was $15.22 (8.83, 59.52)$ pg/mL, which were significantly higher than those in the control group (IgG4: $[0.80 \pm 0.27]$ g/L, IgG4/IgG ratio: 0.070 ± 0.028 , IL-4: $[1.96 \pm 0.60]$ pg/mL and IL-6: $4.95 [2.82, 13.25]$ pg/mL; all $P<0.01$), and there was a positive correlation between the serum IgG4 and IL-6 levels in the MPO-AAV patients ($r_s=0.508, P<0.05$). **Conclusion** The proportion of MPO-AAV patients is high in AAV patients in our hospital. The serum IgG4, IL-4 and IL-6 levels in MPO-AAV patients are significantly increased, and the level of IgG4 is positively correlated with the level of IL-6, suggesting that the increase of IgG4 is related to the imbalance of Th1/Th2 cytokines in MPO-AAV patients.

[Key words] immunoglobulin G4; immunoglobulin G; Th1/Th2 cytokines; anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis; myeloperoxidase

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(3): 341-345]

[收稿日期] 2019-05-18

[接受日期] 2021-03-31

[作者简介] 秦陈浩, 硕士, 副主任技师. E-mail: qinchenhao@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0512-67783581, E-mail: hong_du@126.com

抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎 (anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis, AAV) 是一类可累及全身多系统的自身免疫性疾病,以寡免疫性小血管炎和致病性抗中性粒细胞胞质抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA) 存在为特点,根据组织病理学特点可分为显微镜下多血管炎 (microscopic polyangiitis, MPA)、肉芽肿性多血管炎 (granulomatosis with polyangiitis, GPA)、嗜酸性肉芽肿性多血管炎 (eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, EGPA) 和单器官 AAV^[1]。ANCA 的靶抗原以髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 和蛋白酶 3 (proteinase 3, PR3) 为主,还包括人白细胞弹性蛋白酶 (human leukocyte elastase, HLE)、乳铁蛋白 (lactoferrin, LF)、溶酶体 (lysozyme, LYS)、组织蛋白酶 G (cathepsin G, Cath G) 和杀菌/通透性增高蛋白 (bactericidal/permeability increasing protein, BPI) 等。已有研究表明,根据 ANCA 特异性对 AAV 进行分类可以传达更有用的临床诊断信息^[2],2012 年 Chapel Hill 共识会议 (Chapel Hill consensus conference, CHCC) 提出的血管炎分类标准中依据 ANCA 的类型将 AAV 细分为 3 类: MPO-AAV、PR3-AAV 和 ANCA 阴性 AAV^[1,3]。IgG4 相关疾病 (IgG4-related disease, IgG4-RD) 是近年来新发现的一组疾病,主要表现为血清 IgG4 水平升高、受累组织中淋巴细胞和 IgG4⁺浆细胞浸润并伴随纤维化硬化改变。国内外均有研究报道 AAV 与 IgG4-RD 在临床上有一定比例的重叠^[4-6],IgG4 水平在 AAV 患者血液中有明显升高,可能与机体辅助性 T 细胞 (helper T cell, Th) 1/Th2 细胞因子调节有关。本研究收集苏州大学附属第二医院 AAV 患者血清,通过定量检测血清中 IgG4 和 IgG 水平及 Th1/Th2 细胞因子的表达情况,分析两者之间的关系,为 AAV 的诊断和治疗提供实验依据。

1 资料和方法

1.1 资料和标本收集 收集苏州大学附属第二医院 2017 年 1 月至 2019 年 1 月确诊的 AAV 患者 (诊断符合 2012 年 CHCC 提出的血管炎分类标准) 及年龄、性别相匹配的同期健康体检人群资料和血液样本,均排除急慢性感染和风湿免疫性疾病。AAV 患者及对照组血清均保存于 -80 °C 冰箱。研究程

序遵循苏州大学附属第二医院医学伦理委员会制定的伦理学标准,并获得该委员会的批准。样本的采集均在获得受试者知情同意后完成。

1.2 主要试剂与仪器 IgG4 ELISA 检测试剂盒 (批号: E201811; 型号: 96T) 为艾莱萨生物科技 (上海) 有限公司产品, IgG 检测试剂盒 (批号: M801108; 型号: 300T) 为西门子医疗系统有限公司 (中国) 产品, 抗 MPO、PR3 抗体 IgG 检测试剂盒 (批号: D180206AR; 型号: 16T) 为欧蒙医学实验诊断股份公司产品, Th1/Th2 细胞因子流式细胞术微球阵列 (cytometric bead array, CBA) 检测试剂盒 (批号: 7317652; 型号: 80T) 为美国 BD 公司产品。酶标仪 (型号: TECAN Sunrise) 为瑞士帝肯公司产品, 全自动蛋白分析仪 (型号: SIEMENS BN ProSpec System) 为德国西门子公司产品, 流式细胞仪 (型号: BD FACSCanton II) 为美国 BD 公司产品。

1.3 检测方法

1.3.1 IgG4 及 IgG 的测定 按试剂盒说明检测血清 IgG4 水平。在预先包被抗 IgG4 抗体的微孔中,依次加入标准物、临床样本、HRP 标记的二抗,经过温育后洗涤,用底物 TMB 显色,显色后用硫酸终止,用酶标仪在 450 nm 波长下测定光密度 (D_{450}) 值,再根据标准品拟合回归曲线并计算出样本血清中 IgG4 水平。血清 IgG 水平测定采用免疫散射比浊法,在全自动蛋白分析仪上自动完成。

1.3.2 抗 MPO、PR3 抗体测定 按试剂盒说明测定抗 MPO、PR3 抗体。预先将患者血清以 1 : 101 稀释,吸取 1.5 mL 稀释血清加入预先包被纯化 MPO 和 PR3 抗原的膜条温育槽内,室温条件下温育 15 min,洗涤液清洗 3 次后加入 1.5 mL 酶结合物 (碱性磷酸酶标记的羊抗人 IgG) 反应 15 min,再次洗涤液清洗 3 次后加入 1.5 mL 底物,室温反应 15 min,蒸馏水清洗终止反应。实验全程在摇床上进行,最后风干判断结果。根据检测结果将 AAV 分为 MPO-AAV、PR3-AAV 和 ANCA 阴性 AAV。

1.3.3 血清 Th1/Th2 细胞因子测定 按 Th1/Th2 细胞因子 CBA 检测试剂盒说明书配制 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 和干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ) 6 种细胞因子微球混合液,每次实验均需制备标准管和阴性对照管,在试管中加入 6 种微球混合液 50 μ L,再于每管中加入 50 μ L 血清、50 μ L 藻

红蛋白(P-phycoerythrin, PE)标记的荧光二抗,充分混匀室温避光反应3 h;每管加1 mL洗液,250×g离心5 min,弃上清加250 L洗液混匀3~5 s后立即上流式细胞仪检测;最后用BD CBA软件分析检测数据,得到细胞因子结果。

1.4 统计学处理 采用SPSS 17.0软件分析数据。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;非正态分布数据用中位数(下四分位数,上四分位数)表示,两组间比较采用Mann-Whitney U 检验。两指标之间的相关性研究采用Pearson相关分析或Spearman相关分析。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 一般资料 共收集到50例AAV患者血清样本。其中MPO-AAV患者40例(80.0%),男12例、女28例,年龄为25~86(57 ± 18)岁;PR3-AAV

患者7例(14.0%),男3例、女4例,年龄为45~86(69 ± 15)岁;ANCA阴性AAV患者3例(6.0%),男1例、女2例,年龄为47~75(60 ± 14)岁。收集到同期健康体检人群样本40例作为对照组,男12例、女28例,年龄为18~65(39 ± 12)岁。由于PR3-AAV和ANCA阴性AAV病例数较少,可能不具有代表性,不做进一步检测分析。

2.2 MPO-AAV患者血清IgG4、Th1/Th2细胞因子水平分析 MPO-AAV组血清IgG4水平和IgG4/IgG比值均高于对照组,差异均有统计学意义(P 均<0.01);两组IgG水平差异无统计学意义($P>0.05$)。MPO-AAV组Th1细胞因子(IL-2、TNF- α 、IFN- γ)水平与对照组相比差异均无统计学意义(P 均>0.05)。MPO-AAV组Th2细胞因子中的IL-4和IL-6水平均高于对照组,差异均有统计学意义(P 均<0.001);两组IL-10水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 MPO-AAV组和对照组血清IgG4、IgG、Th1/Th2细胞因子水平比较

指标	MPO-AAV组	对照组	统计值	$n=40$ P 值
IgG4/(g·L ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	1.13 ± 0.33	0.80 ± 0.27	$t=4.904$	<0.001
IgG/(g·L ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	12.44 ± 2.58	11.92 ± 2.62	$t=0.890$	0.376
IgG4/IgG, $\bar{x} \pm s$	0.094 ± 0.032	0.070 ± 0.028	$t=3.413$	0.001
IL-2/(pg·mL ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	2.42 ± 0.49	2.30 ± 0.44	$t=1.173$	0.244
TNF- α /(pg·mL ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	1.78 ± 0.40	1.76 ± 0.38	$t=0.183$	0.855
IFN- γ /(pg·mL ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	2.56 ± 1.15	2.39 ± 0.72	$t=0.799$	0.427
IL-4/(pg·mL ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	2.54 ± 0.68	1.96 ± 0.60	$t=4.065$	<0.001
IL-6/(pg·mL ⁻¹), $M(Q_L, Q_U)$	15.22 (8.83, 59.52)	4.95 (2.82, 13.25)	$U=346.000$	<0.001
IL-10/(pg·mL ⁻¹), $\bar{x} \pm s$	2.19 ± 0.54	2.14 ± 0.54	$t=0.465$	0.643

MPO-AAV:髓过氧化物酶-抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎;IgG:免疫球蛋白G;IL:白细胞介素;TNF- α :肿瘤坏死因子 α ;IFN- γ :干扰素 γ ; $M(Q_L, Q_U)$:中位数(下四分位数,上四分位数)。

2.3 MPO-AAV患者血清IgG4水平与IL-4、IL-6水平相关性分析 Pearson相关分析表明, MPO-AAV患者血清IgG4水平与IL-4水平无关($r=-0.050$,

$P>0.05$); Spearman相关分析表明, MPO-AAV患者血清IgG4水平与IL-6水平呈正相关($r_s=0.508$, $P<0.05$)。见图1。

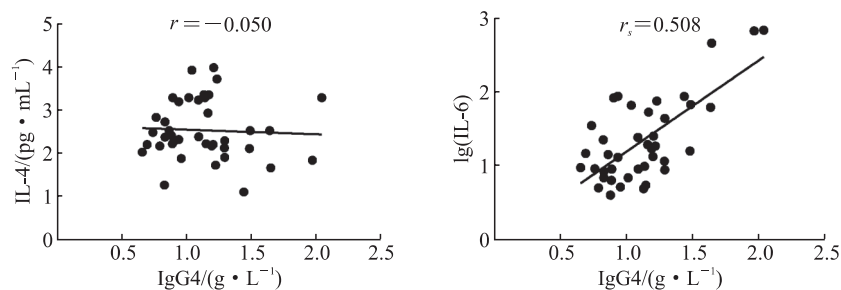


图1 MPO-AAV患者血清IgG4水平与IL-4、IL-6水平的相关性分析

IL-6水平计量单位为pg/mL。MPO-AAV:髓过氧化物酶-抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎;IgG:免疫球蛋白G;IL:白细胞介素。

3 讨 论

本研究结果表明,我院 AAV 中 MPO-AAV 占比高达 80.0%(40/50),MPO-AAV 患者血清 IgG4 升高,Th2 细胞因子中的 IL-4 和 IL-6 均升高,且 IgG4 升高与 IL-6 升高呈正相关。MPO-AAV 和 PR3-AAV 患者通常具有不同的累及器官、血管外炎症反应模式、临床表现、临床结局及遗传相关性,研究表明 GPA 患者主要为 PR3-ANCA 阳性,在欧美多见^[4];而 MPA 患者主要为 MPO-ANCA 阳性,我国人群中以 MPO-ANCA 阳性的 MPA 患者为主,临床表现以肺间质病变/肺出血和肾脏损害最为突出^[7]。从本研究收集的病例来看,我院 AAV 患者也是以 MPO-AAV 为主,这种差别普遍被认为是由于 ANCA 亚型的地域差别造成的^[8]。AAV 患者血清中常能检测出高水平的 ANCA,它不仅可作为诊断 AAV 的重要实验室指标,同时也是致病的重要因素,补体激活特别是旁路激活途径对于 AAV 的发展至关重要,其中间产物 C5a 具有中心作用^[9],激活中性粒细胞并诱导中性粒细胞对内皮细胞的损伤,导致血管发生坏死性炎症反应的自身免疫性疾病^[10]。

IgG4-RD 主要表现为血清 IgG4 水平升高,受累组织中淋巴细胞和 IgG4⁺浆细胞浸润等^[11]。目前 IgG4-RD 尚缺乏国际统一的诊断标准,临床上较多采用的诊断要素是:血清 IgG4 水平>1.35 g/L,病损组织中 IgG4 阳性细胞/IgG 阳性细胞>40%^[12]。IgG4 是健康人外周血中水平最低的 IgG 亚类,其铰链区特殊的氨基酸基序使得不同 IgG4 分子间可进行半分子交换,形成具有 2 种不同抗原表位的独特分子^[13],IgG4 可以通过替代途径激活补体,另外 IgG4 还与慢性过敏性刺激有关,甚至在脱敏后依然可对过敏原产生免疫应答,且有抑制 IgE 产生的作用^[14]。本研究发现 MPO-AAV 患者血清 IgG4 水平升高,可能与 ANCA 及 Th 细胞的调节有关,但值得注意的是 MPO-AAV 患者中有 7 例(17.5%)IgG4 水平超过 1.35 g/L 这一阈值,目前虽尚无证据表明 MPO-AAV 也属 IgG4-RD,但 IgG4 的升高或许可以联合 MPO-ANCA 作为诊断 MPO-AAV 的一项非特异性指标。

ANCA 的生成受到一系列免疫细胞和免疫分子的调节,研究表明,中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap, NET)^[15]和中性粒

细胞微粒(neutrophil microparticle, NMP)^[16]附着的靶抗原(HLE、MPO等)可暴露于自身免疫系统,并被抗原提呈细胞识别、提呈给 T、B 细胞导致自身抗体的产生^[17]。T 细胞主要通过分泌细胞因子发挥免疫调节作用,Th1 可分泌 IL-2、IFN- γ 、IFN- α 和 TNF- β 等,介导细胞毒反应和局部炎症,与细胞免疫有关;Th2 可分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 等,刺激 B 细胞增殖并产生 Ig,与体液免疫有关。本研究中 MPO-AAV 患者血清 Th1 细胞因子升高不明显,而 Th2 细胞因子中 IL-4 和 IL-6 有明显升高,表明 MPO-AAV 患者的 Th1/Th2 平衡偏向 Th2 细胞因子,MPO-AAV 患者体液免疫及 Th2 细胞因子均有激活。因此,抑制体液免疫和相关细胞因子活性将会是 AAV 免疫靶向治疗的有效位点。有研究发现 B 细胞靶向治疗药 CD20 抗体利妥昔单抗(rituximab)配合糖皮质激素能有效治疗 AAV^[18];另一种靶向药物塔西单抗(tocilizumab)是一种针对 IL-6 的人源化单克隆抗体,能够在重度多系统 MPA 患者中诱导完全和持续的疾病缓解,并使 IL-6 相关的促炎细胞因子和趋化因子的循环水平正常化^[19],提示 AAV 的免疫靶向治疗可能是一种较好的辅助治疗方法。IL-4 是负责驱动 Th2 应答的主要细胞因子^[20],它最先被认为是诱导 IgG4 应答的主要细胞因子^[21]。Kuroki 等^[22]发现,当有 Th2 细胞因子特别是 IL-4 存在时,特发性膜性肾病患者 IgG4 的表达显著升高;Akiyama 等^[23]进一步通过 Mikulicz 病患者的外周血单个核细胞体外培养发现,2 型滤泡辅助性 T 细胞(follicular helper T cell, Tfh2)可能通过分泌 IL-4 促进 B 细胞高频突变,向产生 IgG4 方向转化,同时 IL-6 对 IgG4 的升高也有促进作用^[24]。本研究中 MPO-AAV 患者血清 Th2 细胞因子 IL-4 和 IL-6 水平均较正常体检者的高,提示其可能是导致 IgG4 水平增高的重要原因。IgG4 水平与 IL-6 水平呈正相关,但却与 IL-4 水平无明显相关性,原因可能是细胞因子在免疫系统内的调节存在相互协同和拮抗的现象,并不总是表现为完全的一致性。综合本研究结果和既往研究,均提示 AAV 患者免疫平衡偏向 Th2 细胞因子,体液免疫在调节 B 细胞分泌 ANCA 及促进 IgG4 升高的过程中起着十分重要的作用,检测 Th2 细胞因子对治疗和判断患者的免疫状态可能有重要的作用。

综上所述,我院收治的AAV患者中以MPO-AAV为主,IgG4在MPO-AAV患者血清中明显升高,这与Th2细胞因子IL-4、IL-6等的调节密不可分。IgG4虽非特异性抗体,但它的升高或许可以作为联合ANCA辅助诊断MPO-AAV的一项非特异性指标,检测Th2细胞因子有助于MPO-AAV免疫靶向治疗效果的监测。IgG4的生物学特性及其在MPO-AAV中的作用还需要进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] JENNETTE J C, FALK R J, BACON P A, BASU N, CID M C, FERRARIO F, et al. 2012 revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides[J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65: 1-11.
- [2] CORNEC D, CORNEC-LE GALL E, FERVENZA F C, SPECKS U. ANCA-associated vasculitis-clinical utility of using ANCA specificity to classify patients[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12: 570-579.
- [3] JENNETTE J C. Overview of the 2012 revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2013, 17: 603-606.
- [4] DANLOS F X, ROSSI G M, BLOCKMANS D, EMMI G, KRONBICHLER A, DURUPT S, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides and IgG4-related disease: a new overlap syndrome[J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16: 1036-1043.
- [5] DELLA-TORRE E, LANZILLOTTA M, CAMPOCHIARO C, BOZZALLA E, BOZZOLO E, BANDIERA A, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody positivity in IgG4-related disease: a case report and review of the literature[J/OL]. *Medicine*, 2016, 95: e4633. DOI: 10.1097/MD.0000000000004633.
- [6] 高辉,张萍,李贵森,王莉. ANCA相关性肾炎合并IgG4相关性疾病一例[J]. *中华肾脏病杂志*, 2014, 30: 953-954.
- [7] 张清,周惠琼,李艳红,郭娟,徐鹏慧,卢敏辉,等. 抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎46例临床分析[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96: 2146-2149.
- [8] LI Z Y, MA T T, CHEN M, ZHAO M H. The prevalence and management of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis in China[J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2016, 1: 216-223.
- [9] CHEN M, JAYNE D R W, ZHAO M H. Complement in ANCA-associated vasculitis: mechanisms and implications for management[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13: 359-367.
- [10] 徐鹏程,闫铁昆. 抗中性粒细胞胞浆抗体在血管炎中致病机制的研究进展[J]. *免疫学杂志*, 2016, 32: 77-81.
- [11] WALLACE Z S, STONE J H. An update on IgG4-related disease[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2015, 27: 83-90.
- [12] 师千与,刘燕鹰. 免疫球蛋白G4相关疾病的诊治进展[J]. *中华风湿病学杂志*, 2021, 25: 564-569.
- [13] AALBERSE R C, SCHUURMAN J. IgG4 breaking the rules[J]. *Immunology*, 2002, 105: 9-19.
- [14] STONE J H, ZEN Y, DESHPANDE V. IgG4-related disease[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366: 539-551.
- [15] 孟海妹,焦亚冲,刘宜昕,万春友,邢冬红,马骏,等. 中性粒细胞胞外诱捕网促进类风湿关节炎血管新生的初步研究[J]. *天津医药*, 2017, 45: 13-16, 115.
- [16] HONG Y, ELEFTHERIOU D, HUSSAIN A A K, PRICE-KUEHNE F E, SAVAGE C O, JAYNE D, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies stimulate release of neutrophil microparticles[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23: 49-62.
- [17] LEE K H, KRONBICHLER A, PARK D D Y, PARK Y, MOON H, KIM H, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: a comprehensive review[J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16: 1160-1173.
- [18] CHOCOVA Z, HRUSKOVA Z, MARECKOVA H, SVOBODOVA B, DUSKOVA D, BEDNAROVA V, et al. Rituximab use in patients with ANCA-associated vasculitis: clinical efficacy and impact on immunological parameters[J]. *Clin Rheumatol*, 2015, 34: 107-115.
- [19] BERTI A, CAVALLI G, CAMPOCHIARO C, GUGLIELMI B, BALDISSERA E, CAPPIO S, et al. Interleukin-6 in ANCA-associated vasculitis: rationale for successful treatment with tocilizumab[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2015, 45: 48-54.
- [20] TIPPING P G, KITCHING A R. Glomerulonephritis, Th1 and Th2: what's new? [J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 142: 207-215.
- [21] SPIEGELBERG H L. Fc receptors for IgE and interleukin-4 induced IgE and IgG4 secretion[J]. *J Invest Dermatol*, 1990, 94(6 Suppl): 49S-52S.
- [22] KUROKI A, IYODA M, SHIBATA T, SUGISAKI T. Th2 cytokines increase and stimulate B cells to produce IgG4 in idiopathic membranous nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2005, 68: 302-310.
- [23] AKIYAMA M, YASUOKA H, YOSHIMOTO K, TAKEUCHI T. Interleukin-4 contributes to the shift of balance of IgG subclasses toward IgG4 in IgG4-related disease[J]. *Cytokine*, 2018, 110: 416-419.
- [24] CARBONE G, WILSON A, DIEHL S A, BUNN J, COOPER S M, RINCON M. Interleukin-6 receptor blockade selectively reduces IL-21 production by CD4 T cells and IgG4 autoantibodies in rheumatoid arthritis[J]. *Int J Biol Sci*, 2013, 9: 279-288.