

·基础研究·

狼疮肾炎DN2细胞的CRAC和病情活动相关性分析

李雪, 曾琴, 王双, 叶宝奎, 杨念生
(中山大学附属第一医院风湿科, 广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨狼疮肾炎(LN)患者外周血双阴性B细胞2(DN2)细胞的比例,以及DN2细胞钙离子释放激活的钙离子通道(CRAC)蛋白表达情况及其与临床相关性。【方法】流式细胞学检测健康对照者(HC, $n=15$)、狼疮肾炎(LN, $n=30$)、类风湿关节炎(RA, $n=15$)和原发性干燥综合征(pSS, $n=15$)患者外周血DN2细胞的比例以及DN2细胞CRAC蛋白Orai1表达情况;用单因素方差分析四组间差异,用Pearson相关性分析探讨Orai1表达与LN疾病活动指标的相关性。【结果】四组研究对象外周血DN2细胞比例差异有统计学意义($F=9.315, P<0.0001$),LN患者DN2细胞比例显著高于HC、RA患者和pSS患者[(2.60 ± 2.20)% vs. (0.68 ± 0.56)% vs. (0.69 ± 0.45)% vs. (1.04 ± 0.72)%],并与24h尿蛋白定量呈正相关($r=0.5999, P=0.0005$)。四组研究对象DN2细胞的Orai1表达差异有统计学意义($F=7.935, P<0.0001$),LN患者DN2细胞的Orai1表达显著高于HC、RA患者和pSS患者(2.30 ± 1.50 vs. 0.86 ± 0.39 vs. 1.34 ± 0.57 vs. 1.13 ± 0.64),并与SLEDAI评分($r=0.56, P<0.005$)、血抗dsDNA抗体水平($r=0.43, P<0.05$)和24h尿蛋白定量($r=0.44, P<0.05$)水平呈正相关,与血补体C3水平($r=-0.39, P<0.05$)呈负相关。【结论】LN患者DN2细胞比例增加,其Orai1表达增加,且与疾病活动度相关;DN2细胞的SOCE可能是LN潜在的治疗靶点。

关键词:狼疮肾炎;DN2细胞;钙离子释放激活的钙离子通道;Orai1

中图分类号:R593.24

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2021)06-0824-07

DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2021.0604

Expression of CRAC Protein Orai1 in DN2 Cells Is Correlated with Disease Activity in Lupus Nephritis

LI Xue, ZENG Qin, WANG Shuang, YE Bao-kui, YANG Nian-sheng

(Department of Rheumatology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Correspondence to: YANG Nian-sheng; E-mail: yangnsh@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objective】The aim of this study is to investigate the proportion of DN2 cell and the correlation between the expression of calcium ion release activated calcium ion channel (Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} , CRAC) protein in DN2 cells and the clinical activity of lupus nephritis (LN).【Methods】Flow cytometry was used to detect the proportion of DN2 cells in healthy controls (HC, $n=15$), LN (HC, $n=30$), rheumatoid arthritis (RA, $n=15$) and primary Sjogren syndrome (pSS, $n=15$) patients and the expression of SOCE protein Orai1 in DN2 cells. One-way ANOVA was used to analyze the differences among the four groups. The correlation between Orai1 expression and LN disease activity was analyzed by Pearson correlation analysis.【Results】There was a statistically significant difference in the proportion of DN2 cells in peripheral blood among the four groups ($F=9.315, P<0.0001$). The proportion of DN2 cells in the peripheral blood of patients with LN was significantly higher than that of HC, RA and pSS [(2.60 ± 2.20)% vs. (0.68 ± 0.56)% vs. (0.69 ± 0.45)% vs. (1.04 ± 0.72)%] and was correlated with 24-hour urinary protein excretion ($r=0.5999, P=0.0005$). There was a statistically significant difference in the Orai1 expression in DN2 cells among the four groups ($F=7.935, P<0.0001$). The

收稿日期:2021-07-15

基金项目:国家自然科学基金(81971519)

作者简介:李雪,博士生,研究方向:系统性红斑狼疮,E-mail:lixue56@mail2.sysu.edu.cn;杨念生,通信作者,医学博士,教授,研究方向:系统性红斑狼疮,E-mail:yangnsh@mail.sysu.edu.cn

Orai1 expression in DN2 cells of LN was significantly higher than that of HC, RA and pSS (2.30±1.50 vs. 0.86±0.39 vs. 1.34±0.57 vs. 1.13±0.64). Orai1 expression in DN2 cells was positively correlated with SLEDAI ($r=0.56$, $P<0.005$), blood anti-dsDNA antibody level ($r=0.43$, $P<0.05$) and 24-hour urinary protein excretion ($r=0.44$, $P<0.05$), and negatively correlated with complement C3 ($r=-0.39$, $P<0.05$). [Conclusions] The proportion of DN2 cells and the expression of Orai1 increases in patients with LN and is correlated with disease activity. SOCE of DN2 cells may be a potential therapeutic target for LN.

Key words: lupus nephritis; calcium ion release activated calcium ion channel; DN2 cells; Orai1

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2021, 42(6): 824-830]

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种典型的自身免疫性疾病,以产生抗核抗体和抗dsDNA抗体等自身抗体为特征^[1-2]。狼疮肾炎(lupus nephritis, LN)是SLE最常见并发症之一,也是严重影响预后的临床表现之一^[3]。LN发病机制不清,目前认为,自身反应性B细胞激活后产生的自身抗体,与抗原结合形成免疫复合物沉积于肾脏,激活补体系统,引起肾脏损害,可见B细胞与SLE及LN的发生和发展有密切关系^[4-5]。LN患者存在B细胞异常,包括初始B细胞降低、记忆性B细胞增加、抗体分泌细胞及CD138⁺浆细胞增加^[6-9]。近几年研究发现SLE患者外周血中DN2细胞即双阴性B细胞比例增高,这类细胞为CD19⁺CD27⁻IgD⁻CD11c⁺CD21⁻,高表达转录因子T-bet,为自身免疫抗体分泌细胞前体细胞^[10]。Ca²⁺是细胞内重要的第二信使^[11]。钙库操纵性钙内流(store-operated Ca²⁺ entry, SOCE)是淋巴细胞主要的钙内流途径,为免疫反应所必须^[12]。钙离子释放激活的钙离子通道(Ca²⁺ release-activated Ca²⁺, CRAC)介导SOCE钙内流。CRAC组成蛋白包括位于细胞膜上的钙离子通道Orai蛋白和内质网上的基质互作蛋白(stromal interaction molecule, STIM)^[13-14]。然而DN2细胞的CRAC蛋白表达情况目前仍不清楚,需要进一步探索。因此,本研究拟探讨狼疮肾炎(LN)患者外周血DN2细胞的比例,以及DN2细胞钙离子释放激活的钙离子通道(CRAC)蛋白的表达情况及其与临床指标的相关性。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂和仪器

流式抗体:CD19-PE/CY7、CD27-AF700、anti-IgD-BV421、CD11c-Percy5.5和CD21 APC/Fire 750

(Biolegend, 美国);Orai1(Abcam R&D, 英国),羊抗兔IgG AF488(Thermo Fisher, 美国)。Fluo 3-AM(Sigma, 美国)、流式细胞仪(CytoFLEX S Beckman Coulter, 美国)。

1.2 研究对象

收集2019年11月-2021年5月在中山大学第一附属医院就诊的30例LN患者,患者均符合1997年美国风湿病学会SLE分类标准^[15],同时具有肾损害,并满足以下标准1项以上:经肾活检证实存在狼疮肾炎;持续性蛋白尿>0.5 g/d或>3+;细胞管型:可为红细胞、血红蛋白、颗粒管型或混合型管型^[15]。排除存在妊娠、肿瘤、其他免疫性疾病、传染性疾病及其他各系统疾病的患者。年龄、性别匹配的原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)和类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者来自中山大学第一附属医院风湿免疫科住院患者,年龄、性别匹配的健康对照者来自广州市血液中心献血者,无自身免疫疾病史及家族史。本研究获得中山大学附属第一医院伦理委员会批准和患者理解并书面知情同意。

1.2.1 患者资料收集 收集正常对照组(HC)、LN、pSS和RA四组研究对象的年龄、性别,汇总见表1。记录参与研究的LN患者临床和相关实验室资料,汇总见表2。临床治疗包括年龄、性别、是否初次就诊、发病至诊断时间和既往治疗方案等。实验室资料包括外周血白细胞(WBC)、红细胞(RBC)及血小板(PLT)计数、血色素(Hb)、24 h蛋白尿定量、血肌酐(Cr)、白蛋白(ALB)、红细胞沉降率(ESR)、自身抗体、补体C3(C3)、补体C4(C4)、免疫球蛋白IgM、IgG和IgA水平等。

1.2.2 病情活动性评分 使用SLEDAI-2000积分评估SLE病情:病情无活动为0~4分,病情轻度活动为5~9分,病情中度活动为10~14分,病情重度

活动为 ≥ 15 分^[16]。

1.3 人外周血单个核细胞(PBMC)分离

本研究采用密度梯度离心法分离人的PBMC。使用肝素抗凝管采集患者或健康对照者的外周血;将外周血加入PBS稀释混匀后轻柔加到淋巴细胞分离液面上,此步骤注意避免打破分离界面;水平离心机($300\times g$)离心22 min,升降速均为3,使液体明显分层;小心吸取中间的淋巴细胞层至新的试管,不吸取淋巴细胞层下面的中性粒细胞层面,加入冷PBS洗细胞,去除淋巴细胞分离液;得到PBMC,混匀后计数细胞。

1.4 流式细胞术

采用密度梯度离心法分离人的PBMC,取 1×10^6 个细胞,加入流式抗体:CD19-PE/CY7、CD27-AF700、抗IgD-BV421、CD11c-Percy5.5和CD21-APC/Fire 750,室温避光染色30 min。用1 mL PBS洗细胞2次后重悬,进行胞浆染色,或用于流式细胞仪检测。表面染色后的细胞沉淀加入50 μ L固定/破膜液,冰上避光破膜30 min,破膜洗液洗细胞2次后,加入胞浆流式抗体抗Orai1抗体室温避光染色30 min,洗细胞后加入山羊抗兔二抗-Alexa Fluor® 488,室温避光染色30 min,PBS洗细胞后,重悬上机。

1.5 细胞内Ca²⁺测定

采用密度梯度离心法分离人的PBMC,取 1×10^6 个细胞,离心($300\times g$)、5 min;用50 μ L无钙PBS重悬细胞,加入相应的流式抗体比例加入表面流式抗体及Fluo-3am,室温避光染色30 min;加入10 mL PBS洗两次,离心($300\times g$)、5 min;用400 μ L无钙PBS稀释细胞,用超高速流式分析仪检测细胞内钙浓度,流式过程中,加入抗人-IgM刺激钙峰值。

1.6 统计分析

数据表示为平均值 \pm 标准差。本研究以Graphpad Prism 8.0软件对实验数据进行统计学分析。两组间比较选用双侧 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),多组间的两两比较采用Bonferroni法,两组间相关性根据数据类型选用Pearson相关性分析。

2 结果

2.1 研究对象的基本情况

本组研究对象共75人,分为正常对照组($n=$

15)、LN($n=30$)、pSS($n=15$)和RA($n=15$)四组。四组人群的年龄、性别比例无差异。四组研究对象的性别和年龄信息见表1。LN患者的临床特征及实验室检查结果见表2。

表1 研究对象的性别和年龄
Table 1 Sex and age of the study groups
[$n(\%)$ or ($\bar{x}\pm s$)]

Groups	n	Male	Age/years
HC	15	4 (36.3)	31 \pm 13
LN	30	9 (42.8)	29 \pm 10
RA	15	5 (33.3)	32 \pm 13
pSS	15	5 (33.3)	36 \pm 16
χ^2/F		0.22	1.07
P		0.97	0.37

2.2 LN患者外周血DN2细胞比例增加

使用流式细胞仪检测研究对象外周血CD19⁺B细胞中DN2的比例,经单因素方差分析,四组间差异有统计学意义($F=9.315$, $P<0.0001$);采用Bonferroni法进一步作两两比较。如图1E, LN患者外周血CD19⁺B细胞中DN2细胞的比例[(2.60 \pm 2.20)%]显著高于HC[(0.68 \pm 0.56)%], $P<0.005$]; RA患者[(0.69 \pm 0.45)%], $P<0.005$]和pSS患者[(1.04 \pm 0.72)%], $P<0.01$]。进一步研究DN2比例与蛋白尿相关性,经Pearson相关性分析发现, DN2细胞的比例与24 h尿蛋白定量呈正相关($r=0.5999$, $P=0.0005$;图1F)。

2.3 LN患者DN2细胞的钙信号增高

我们进一步用流式细胞仪检测LN患者的外周血DN2细胞SOCE引起的钙内流情况。与HC相比, LN患者外周血DN2细胞抗IgM抗体刺激后的Ca²⁺内流峰值高于HC(图2)。

2.4 不同研究对象DN2细胞Orai1表达情况

我们进一步使用流式细胞仪检测研究人群外周血DN2的Orai1表达情况,经单因素方差分析,四组间差异有统计学意义($F=7.935$, $P<0.0001$);采用Bonferroni法进一步作两两比较,如图3, LN患者外周血的DN2细胞Orai1表达(2.30 \pm 1.50)显著高于正常对照组(0.86 \pm 0.39, $P<0.005$)、RA患者(1.34 \pm 0.57, $P<0.05$)和pSS患者(1.13 \pm 0.64, $P<0.05$)。

表2 LN临床特征和实验室检查结果

Table 2 Clinical features and laboratory results of LN

($\bar{x} \pm s$)

Parameters	Patients (n=30)	Normal references
Newly-onset/n	14/16	
Time since onset/years	1.30 ± 0.75	
SLEDAI	16.2 ± 5.2	
ESR/(mm/h)	45 ± 33	(≤34)
ANA/(U/mL)	206 ± 103	(0~12.00)
Anti-dsDNA antibody/(U/mL)	213 ± 104	(0~30.00)
C3/(g/L)	0.39 ± 0.19	(0.79~1.17)
C4/(g/L)	0.12 ± 0.08	(0.17~0.31)
WBC/(×10 ⁹ /L)	4.8±1.7	(4.00~10.00)
Hb/(g/L)	114±38	(115~150)
PLT/(×10 ⁹ /L)	170±60	(100~300)
IgG/(g/L)	12.5 ± 3.1	(10.13~15.13)
IgA/(g/L)	1.73 ± 0.79	(1.45~3.45)
IgM/(g/L)	0.75 ± 0.60	(0.92~2.04)
ALB/(g/L)	27.84 ± 6.90	(35~50)
Creatinine/(μmol/L)	89 ± 75	(53~115)
Proteinuria/(g/24 h)	3.5 ± 5.3	(0~0.12)

SLEDAI: Systemic lupus erythematosus disease activity index; ESR: Erythrocyte sedimentation rate; ANA: Antinuclear antibody; anti-dsDNA antibodies: Anti-double stranded DNA antibodies; C3: Complement 3; C4: Complement 4; WBC: White blood cell; Hb: hemoglobin; PLT: Platelets; IgG: Immunoglobulin G; IgA: Immunoglobulin A; IgM: Immunoglobulin M; ALB: Albumin.

2.5 LN患者DN2细胞Orai1MFI值与患者病情相关性

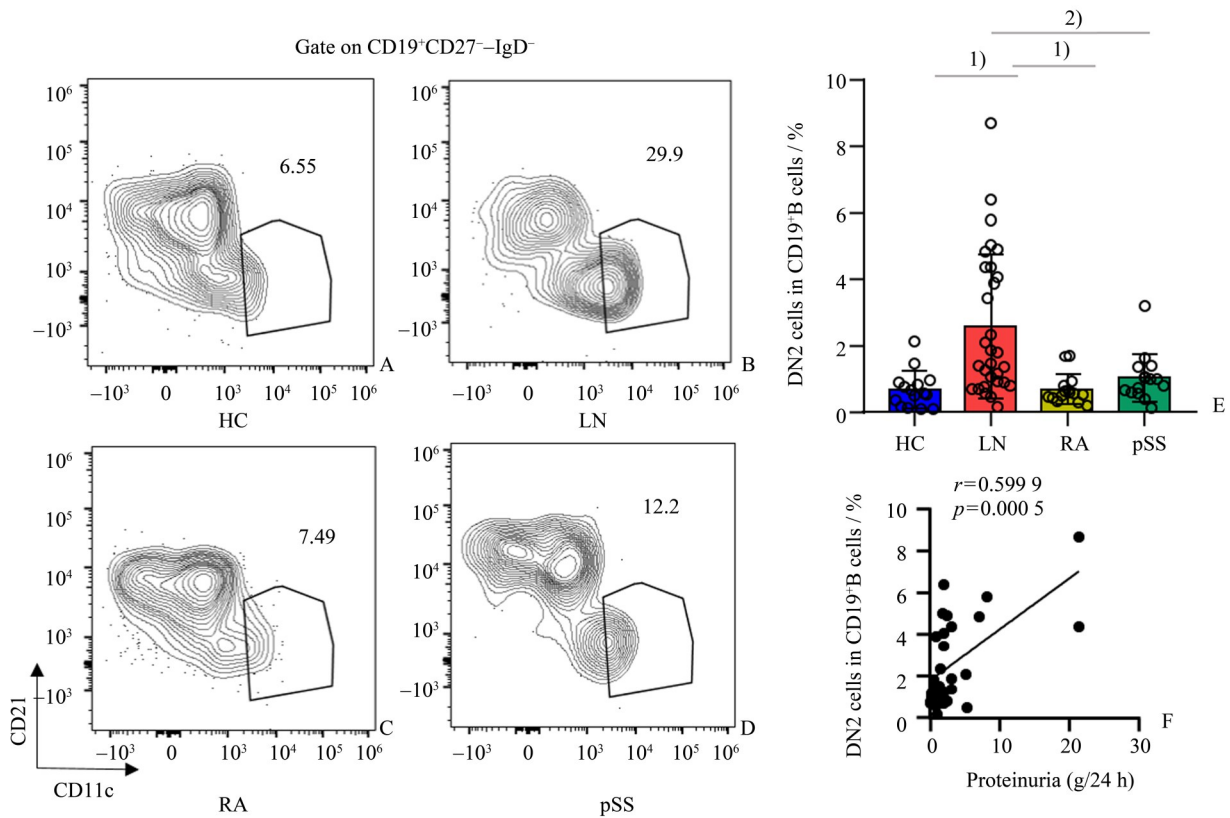
我们用Pearson相关性分析研究DN2的Orai1表达与疾病活动相关性,结果发现, DN2细胞的Orai1 MFI值与SLEDAI评分($r=0.562$, $P<0.005$)、24 h尿蛋白定量($r=0.439$, $P<0.05$)和抗ds-DNA抗体($r=0.432$, $P<0.05$)水平呈正相关; DN2细胞的Orai1 MFI值与补体C3水平($r=-0.386$, $P<0.05$)呈负相关(图4)。

3 讨论

狼疮肾炎(LN)是影响系统性红斑狼疮(SLE)患者预后主要因素之一,目前由于对LN发病机制认识有限,部分LN疗效不佳或经常复发。虽然近来在SLE的治疗中靶向B细胞的治疗有了进展^[17],但是B细胞在LN中活化的确切机制尚不清楚,有必要进一步深入研究,以寻找更好的B细胞靶向治

疗方案。

SLE患者存在自身反应性B细胞,参与疾病的发生发展。这种自身反应性B细胞可能可以作为B细胞干预治疗的靶点。本研究发现LN患者的外周血中DN2细胞比例明显高于正常对照者,提示LN患者体内存在DN2细胞扩增。DN2细胞是CD19⁺CD27⁻IgD⁻非典型记忆B细胞中CXCR5⁻和CD21⁻的一群细胞,其表达CD11c和T-bet, DN2细胞可以分化为产生自身抗体的细胞,这群细胞可以产生大量自身抗体,增加LN患者疾病活动度^[17]。我们发现LN患者外周血DN2比例明显高于RA和pSS患者,可能是相对于RA和pSS患者, LN患者的自身抗体更多,自身免疫性B细胞更活跃。我们还发现外周血DN2细胞比例与患者24 h蛋白尿呈正比,提示DN2细胞比例反映了LN肾脏病变程度,推测DN2细胞可能参与LN的发病机制。有研究提示DN2细胞在非裔美国人SLE患者中明显增加,且与高疾病活动性、狼疮肾炎、抗Sm和抗RNA自身抗



(A-D) The percentage of CD19⁺CD27⁻IgD⁻CD11c⁺CD21⁻ DN2 cells derived from LN (*n*=30), RA (*n*=15) or pSS (*n*=15) patients or HC (*n*=15) was determined by flow cytometry. Representative counter plots were shown. E: Percentage of DN2 cells in CD19⁺B cells from LN (*n*=30), RA (*n*=15) or pSS (*n*=15) patients or HC (*n*=15) was summarized and shown as dot plot with bar. All data are mean ± SD, 1) *P*<0.001, 2) *P*<0.001 by one-way ANOVA. F: The correlations between percentage DN2 cell in CD19⁺B cell and 24-hour urinary protein excretion of LN patients were shown by Pearson coefficient of correlation (*r*=0.599 9, *P*=0.000 5, *n*=30).

图1 研究人群DN2细胞在CD19⁺B细胞中的比例

Fig. 1 The proportion of DN2 cells in CD19⁺B cells in the study population

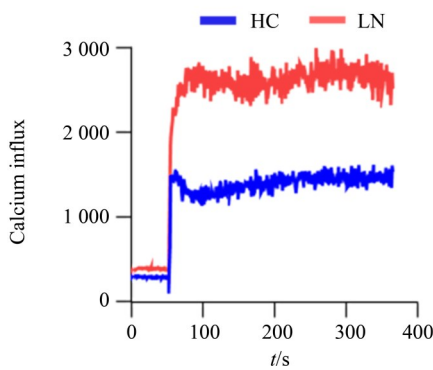
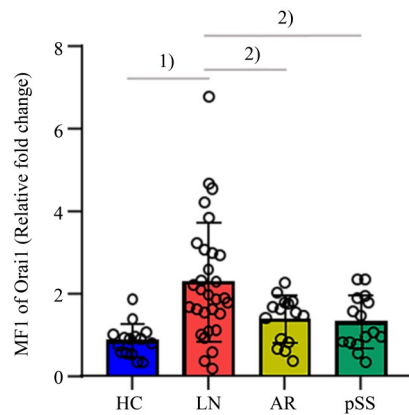


图2 LN患者外周血的DN2细胞钙信号更高

Fig. 2 The calcium signal of DN2 cells is higher in patients with LN

体相关^[18], 而我们的结果则证明了亚裔人LN的DN2细胞比例增加, 并与病情相关。

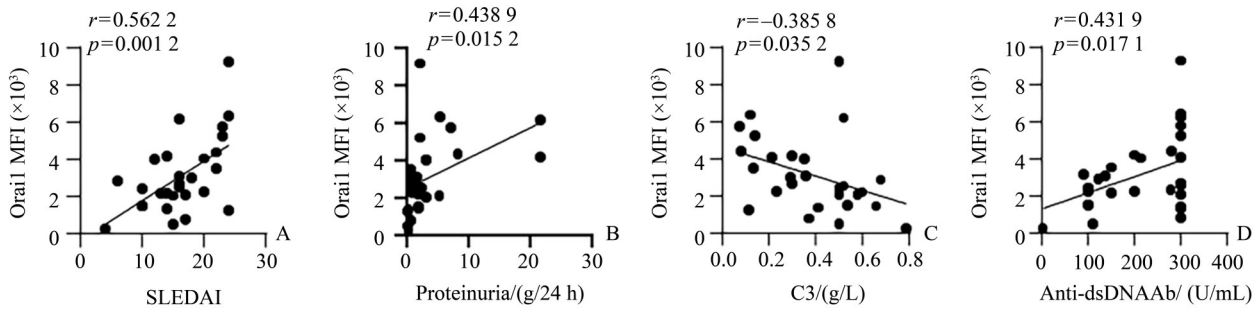
Ca²⁺是细胞内重要的第二信使, 参与细胞的多种活动, 如基因组转录、蛋白质翻译后修饰、细胞发



Mean fluorescence intensity (MFI) of Orai1 in DN2 cells from LN (*n*=30), RA (*n*=15) or pSS patients (*n*=15) or HCs (*n*=15) was summarized and shown as dot plot with bar. All data are mean ± SD, 1) *P*<0.005, 2) *P*<0.05 by one-way ANOVA.

图3 研究人群DN2细胞Orai1的MFI值

Fig. 3 MFI of Orai1 in DN2 cells of the study population



The correlations between Orai1 expression and SLEDAI, Anti-dsDNA Ab, C3 and 24-hour urinary protein excretion of LN patients were shown ($n=30$).

图4 LN患者DN2细胞Orai1 MFI值与疾病活动度的相关性

Fig. 4 Correlation between Orai1 expression of DN2 cells and disease activity in LN patients

育、增殖、分化和凋亡等,对细胞活动起关键作用^[11]。DN2细胞的钙信号情况目前尚无文献报告。我们的研究发现抗IgM抗体刺激LN患者外周血DN2细胞产生钙内流峰值高于正常对照。既往研究提示Ca²⁺信号调节淋巴细胞功能,Ca²⁺信号增强会导致B细胞高度反应,产生自身抗体,出现自身免疫性疾病^[19]。因此,LN患者DN2细胞Ca²⁺内流增高,可能促进其向抗体分泌细胞分化,从而参与了LN的发病机制。

CRAC通道介导的SOCE是控制淋巴细胞Ca²⁺内流的主要通道^[12]。目前暂未见DN2细胞SOCE通道的研究。当BCR识别并结合抗原后,IP3生成增加,IP3与内质网上的IP3受体结合,内质网钙库清空,引起STIM1蛋白构象变化移位至细胞膜内侧,激活细胞膜上的Orai蛋白,触发B细胞中的SOCE,引起细胞外钙内流。CRAC组成蛋白包括位于细胞膜上的钙离子通道Orai蛋白和内质网上的基质互作蛋白(stromal interaction molecule, STIM)^[13],人Orai蛋白包括Orai1、Orai2和Orai3三种,其中Orai1是表达最多的蛋白,是控制CRAC通道引起钙内流的关键蛋白,也是目前研究最多的^[20-21],因此本研究选择Orai1蛋白作为代表性CRAC通道蛋白来进行探讨。我们发现DN2细胞的Orai1蛋白表达比正常人、RA和pSS患者增加,而且LN患者

SOCE引起细胞外钙内流也增加,表明LN患者DN2细胞不仅仅只是比例增高,而且还在功能上有增强。

我们还发现:LN患者Orai1蛋白与24h尿蛋白定量、SLEDAI和抗ds-DNA抗体呈正相关,与血补体C3呈负相关,表明DN2细胞的Orai1表达反映患者的疾病活动度及肾脏受损情况。因此,我们推测LN患者DN2细胞Orai1表达增加引起钙内流增加,促使其分化为产生自身抗体的细胞,产生自身抗体,特别是抗dsDNA抗体,引起免疫复合物的沉积,从而导致肾脏损伤。既往研究显示CRAC通道蛋白编码基因突变可减少淋巴细胞SOCE的钙内流,导致患者出现严重的联合免疫缺陷疾病^[22-24]。在胶原诱导的关节炎模型中,用慢病毒沉默小鼠全身CRAC基因后,小鼠关节炎和自身免疫反应减弱^[25]。给胶原诱导性关节炎小鼠注射CRAC通道抑制剂YM-58483,可缓解小鼠类风湿关节炎症状,抑制骨破坏^[26]。综合我们的结果和上述分析,提示CRAC在LN发病机制中发挥重要的作用。

总之,本研究发现LN患者外周血DN2细胞增加,DN2细胞的Orai1表达增加,并与LN患者的病情呈正相关。DN2细胞的SOCE可能是LN潜在的治疗靶点。

参考文献

- [1] Bengtsson AA, Ronnblom L. Systemic lupus erythematosus: still a challenge for physicians [J]. J Intern Med, 2017, 281(1): 52-64.
- [2] Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus [J]. N Engl J

Med, 2011, 365(22): 2110-2121.

- [3] Morales E, Galindo M, Trujillo H, et al. Update on lupus nephritis: looking for a new vision [J]. Nephron, 2021, 145(1): 1-13.

- [4] 杨念生. 系统性红斑狼疮的治疗:问题及对策[J]. 中华风湿病学杂志, 2016, 20(11): 721-724.
Yang NS. Problems and countermeasures in the treatment of systemic lupus erythematosus [J]. Chin J Rheumatol, 2016, 20(11): 721-724.
- [5] Narváez J. Systemic lupus erythematosus [J]. Med Clin (Barc), 2020, 155(11): 494-501.
- [6] Wu C, Fu Q Guo Q, et al. Lupus-associated atypical memory B cells are mTORC1-hyperactivated and functionally dysregulated [J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(8): 1090-1100.
- [7] 何伟珍, 张会昌, 莫入, 等. 艾拉莫德联合昆仙胶囊治疗难治性狼疮性肾炎一例[J]. 新医学, 2020, 51(1): 71-73.
He WZ, Zhang HC, Mo R, et al. Igaratimod combined with Kunxian capsule in treatment of refractory lupus nephritis: a case report [J]. J New Med, 2020, 51(1): 71-73.
- [8] Minowa K, Amano H, Nakano S, et al. Elevated serum level of circulating syndecan-1 (CD138) in active systemic lupus erythematosus [J]. Autoimmunity, 2011, 44(5): 357-362.
- [9] Abd-Elbaky NM, Albeltagy ES, Hammour AE, et al. Evaluation of serum β 2-microglobulin in egyptian patients with systemic lupus erythematosus [J]. Egypt J Immunol, 2019, 26(2): 143-153.
- [10] Feng Y, Yang M, Wu H, et al. The pathological role of B cells in systemic lupus erythematosus: From basic research to clinical [J]. Autoimmunity, 2020, 53(2): 56-64.
- [11] Islam MS. Calcium signaling: from basic to bedside [J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1131: 1-6.
- [12] Lunz V, Romanin C, Frischauf I, STIM1 activation of orai1 [J]. Cell Calcium, 2019, 77: 29-38.
- [13] Ma G, Wei M, He L, et al. Inside-out Ca^{2+} signaling prompted by STIM1 conformational switch [J]. Nat Commun, 2015, 6: 7826.
- [14] Srikanth S, Jew M, Kim KD, et al. Junctate is a Ca^{2+} -sensing structural component of Orai1 and stromal interaction molecule 1 (STIM1) [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(22): 8682-8687.
- [15] YuF, Haas M, Glasscock R, et al. Redefining lupus nephritis: clinical implications of pathophysiologic subtypes [J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 13(8): 483-495.
- [16] Jesus D, Matos A, Henriques C, et al. Derivation and validation of the SLE Disease Activity Score (SLE-DAS): a new SLE continuous measure with high sensitivity for changes in disease activity [J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(3): 365-371.
- [17] Sachinidis A, Xanthopoulos K, Garyfallos A. Age-associated B Cells (ABCs) in the prognosis, diagnosis and therapy of systemic lupus erythematosus (SLE) [J]. Mediterr J Rheumatol, 2020, 31(3): 311-319.
- [18] Jenks SA, Cashman KS, Zumaquero E, et al. Distinct Effector B cells induced by unregulated toll-like Receptor 7 contribute to pathogenic responses in systemic lupus erythematosus [J]. Immunity. (2018) 49: 725-739.
- [19] Baba Y, Kurosaki T. Role of calcium signaling in B cell activation and biology [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2015, 393: 143-174.
- [20] Feske S, Picard C, Fischer A. Immunodeficiency due to mutations in ORAI1 and STIM1 [J]. Clin Immunol, 2010, 135(2): 169-182.
- [21] Silva-Rojas R, Laporte J, Bhm J. STIM1/ORAI1 Loss-of-function and gain-of-function mutations inversely impact on SOCE and calcium homeostasis and cause multi-systemic mirror diseases [J]. Front Physiol, 2020, 4, 11: 604941.
- [22] Mccarl CA, Picard C, Khalil S, et al. ORAI1 deficiency and lack of store-operated Ca^{2+} entry cause immunodeficiency, myopathy, and ectodermal dysplasia [J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(6): 1311-1318.
- [23] Lacruz RS, Feske S. Diseases caused by mutations in ORAI1 and STIM1 [J]. Ann N Y Acad Sci, 2015, 1356(1): 45-79.
- [24] Feske S, Gwack Y, Prakriya M, et al. A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function [J]. Nature, 2006, 441(7090): 179-185.
- [25] Liu S, Kiyoi T, Takemasa E, et al. Systemic lentivirus-mediated delivery of short hairpin RNA targeting calcium release-activated calcium channel 3 as gene therapy for collagen-induced arthritis [J]. J Immunol, 2015, 194(1): 76-83.
- [26] Miyoshi M, Liu S, Morizane A, et al. Efficacy of constant long-term delivery of YM-58483 for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 824: 89-98.