

## ◇ 临床医学研究 ◇

## Ro60 不同表位自身抗体在 SLE 和 pSS 淋巴细胞减少中的作用

黄媛 帅宗文 张蕾 蔡静 李霖

**摘要** 目的 初步探讨 Ro60 不同表位自身抗体在系统性红斑狼疮 (SLE) 和原发性干燥综合征 (pSS) 患者淋巴细胞 (LC) 减少中的作用。方法 SLE 患者 16 例, pSS 患者 14 例, 均为女性, 所有患者病情处于活动期, 3 个月内未接受过糖皮质激素和免疫抑制剂治疗, Ro60 抗体阳性, 周围血淋巴细胞低于  $1 \times 10^9/L$ , SLE 和 pSS 组 LC 计数分别为  $(0.66 \pm 0.12) \times 10^9/L$  和  $(0.70 \pm 0.16) \times 10^9/L$  ( $P=0.511$ ), 另选择健康对照者 10 例。体外培养 3 组患者的外周血 LC, 加入 Ro60 抗原 3 个不同表位 (aa482-493、aa310-323 和 aa230-241) 的免疫毒素 (IT) (AE1、AE2 和 AE3), MTT 法分别检测其对患者 LC 的毒性, 分析患者不同表位 IT 的细胞毒性与 LC 计数的关系, 同时比较检测 2 组患者周围血相应表位的自身抗体。结果 3 个 IT 对体外培养的对照组 LC 均有一定毒性, 但 AE3 和 AE2 分别对 SLE 和 pSS 患者的 LC 表现有显著增强的细胞毒性, 且与患者的淋巴细胞减少程度显著相关 (SLE 组  $r=0.653$ ,  $P=0.06$ ; pSS 组  $r=0.594$ ,  $P=0.025$ ), 两组患者的周围血中 3 个相应表位的自身抗体阳性率并无显著差异。结论 Ro60 自身抗体在 SLE 和 pSS 患者 LC 减少中可能发挥作用, 但在两种疾病中其作用机制可能不完全相同。

**关键词** 系统性红斑狼疮; 原发性干燥综合征; 淋巴细胞; Ro60 自身抗体; 免疫毒素

**中图分类号** R 593.2

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2014)07-0950-04

抗 SSA/Ro 抗体存在于系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE)、原发性干燥综合征 (primary Sjogren's syndrome, pSS)、类风湿关节炎等多种结缔组织病中, 其中 SLE 和 SS 中抗 Ro 抗体的阳性率分别为 40%~90% 和 70%~100%, 与这些疾病中的多种损害有关<sup>[1]</sup>, 其针对的抗原包括分子量 60 ku 及 52 ku 两种核蛋白, 60 ku SSA/Ro (又称 Ro60) 与 YRNA 结合形成核糖核蛋白, 广泛存在于人体组织细胞的胞核和胞质中。淋巴细胞 (lym-

phocyte cell, LC) 减少是 SLE 和 pSS 中常见的临床损害表现, 导致这一损害的确切机制未明。Ro60 抗原有 20 个抗原表位, 人工合成的这些表位多肽仍保留原有表位的抗原性<sup>[2]</sup>, 这些不同表位的自身抗体可能与不同的临床损害有关<sup>[3]</sup>。用 Ro60 3 个不同表位的单克隆免疫毒素 (immunotoxin, IT) 分别作用于体外培养的 SLE、pSS 患者周围血 LC, 与正常者比较, 探讨 Ro60 不同表位自身抗体在 LC 减少中的可能作用。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集安徽医科大学第一附属医院风湿免疫科 2012 年 5 月~2013 年 5 月间住院或门诊患者共 30 例, 均为女性, 其中 SLE 患者 16 例, 符合 ACR1997 年 SLE 分类标准, 除外继发有干燥综合征的患者。pSS 患者 14 例均符合 2002 年 pSS 的分类标准。SLE 与 pSS 组的年龄分别为 22~48 ( $36.56 \pm 8.03$ ) 岁和 25~46 ( $34.71 \pm 6.88$ ) 岁 ( $P=0.261$ ), 病程分别为 ( $10.63 \pm 5.39$ ) 个月和 ( $14.00 \pm 5.75$ ) 个月 ( $P=0.108$ )。所有患者病情处于活动期, 3 个月内未接受过糖皮质激素和免疫抑制剂治疗, 抗 Ro60 抗体检测 (欧蒙医学实验诊断公司试剂盒) 均阳性, 周围血 LC 绝对计数均小于  $1 \times 10^9/L$ , SLE 组和 pSS 组 LC 绝对计数分别为  $(0.66 \pm 0.12) \times 10^9/L$  和  $(0.70 \pm 0.16) \times 10^9/L$  ( $P=0.511$ )。抽取每例患者周围静脉血并收集其临床资料。另选择健康女性 10 例作为对照组, 年龄 24~47 ( $35.80 \pm 8.16$ ) 岁, 与两个实验组比较差异无统计学意义。

**1.2 周围血 LC 的分离和冻存** 抽取受试者静脉血 10 ml 抗凝, 室温下用 PBS 液 1:1 稀释, 沿试管壁缓慢加至 20 ml 的 Ficoll-Paque 液面上, 1 500 r/min 离心 30 min, 收集中间界面上 LC, PBS 液洗涤, 1 500 r/min 离心 30 min 弃上清液, RPMI 1640 完全培养液中轻柔吹打悬浮细胞后离心弃上清液共 2 次, 用 RPMI 1640 完全培养液 (含 5% DMSO, 20% 血清) 重悬细胞至 LC 浓度为  $(5 \sim 10) \times 10^7/L$ , 4℃ 开始梯度降温至 -80℃ 隔夜 (16~18 h), 转移至液氮中冻存。

2014-02-17 接收

基金项目: 安徽省临床医学重点学科资助项目 (编号: 2008N012)

作者单位: 安徽医科第一附属医院风湿免疫科, 合肥 230022

作者简介: 黄媛, 女, 硕士研究生;

帅宗文, 男, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: shuaizongwen@medmail.com.cn

**1.3 Ro60 不同表位 IT 的制备** 人工合成 Ro60 抗原 3 个表位多肽: aa482-493 (Epitope 1, E1)、aa310-323 (E2) 和 aa230-241 (E3) (军事科学院多肽合成工作室以赖氨酸为支架八倍体合成,经高效液相色谱纯化),用从已构建的 SSA/Ro 噬菌体单链可变区 (Single-chain fragment V, ScFv) 抗体库中筛选获得 3 个相应 ScFv 单抗 cDNA<sup>[4]</sup>。将 3 个 ScFv 单抗 cDNA 分别与铜绿假单胞菌外毒素 A (Pseudomonas aeruginosa exotoxin A, PE) 中 PE40 片段 cDNA 基因重组,获得 3 个 ScFv-PE40 免疫毒素 cDNA,转表达菌 (Origami 菌) 后表达并纯化 3 个 ScFv-PE40 蛋白,分别鉴定每种重组蛋白均具有双功能抗体特性 (特异性抗原识别功能及细胞毒功能)<sup>[5]</sup>,含 ScFv-PE40 cDNA 的 Origami 菌 -80 °C 冻存,实验前重新复苏、扩增、表达、纯化和浓缩 3 种 ScFv-PE40 蛋白 (分别为 AE1、AE2 和 AE3),每种蛋白经 0.22 μm 除菌滤器过滤后,Bradford 法 (Bio-rad 公司蛋白定量试剂盒) 定量, -80 °C 无菌冻存待用。

**1.4 MTT 法检测各表位 IT 对 LC 的毒性** 从液氮中取出 LC 冻存管,立即放入 40 °C 的温水中融化,加 10 倍体积的 RPMI 1640 培养液轻吹打混匀,2 000 r/min 离心 6 min,弃上清液,再重悬 LC 并离心,以洗去保护剂。5 ml 新 RPMI 1640 完全培养液 (含 3% PHA, 10% 胎牛血清, 100 μg/ml 链霉素及 100 μg/ml 青霉素) 重悬每例患者的 LC 并转至培养瓶中,培养瓶置培养箱 (含 5% CO<sub>2</sub> 且为饱和湿度) 37 °C 培养 72 h (期间每 8 h 轻摇培养瓶一次),收集培养瓶中 LC,计数及台盼蓝染色法检测细胞活性。用完全培养液将细胞悬液浓度调至含活性 LC 1 × 10<sup>7</sup> 个/ml,将所得细胞悬液以 100 μl/孔转至 24 孔培养板中 (每例患者 8 孔),使得每孔含细胞 1 × 10<sup>6</sup> 个,加入培养液至每孔体积为 1 ml,相同条件下培养 24 h,每例患者的 8 个培养孔中分别加入 AE1、AE2、AE3 及人血白蛋白 (albumin, ALB) 各 2 μg (每种蛋白为复孔),继续培养 24 h,每孔加入 5 mg/ml 的 四

唑盐 (MTT) 溶液 50 μl 继续培养 4 h,分别收集每孔中的全部培养液 (包括每孔重复 3 次 PBS 洗涤液) 于离心管中,2 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入 DMSO 200 μl 重悬沉淀细胞,待细胞全部溶解,再加 PBS 200 μl,每管取 200 μl 至 96 孔板中,495 nm 波长测定吸光度 (A<sub>495</sub>) 值,取复孔的平均 A<sub>495</sub> 值为样本的检测值。

**1.5 ELISA 法检测患者血清抗 E1、E2、E3 自身抗体** 96 孔酶标板中每孔分别加入 50 μl 的 E1、E2 和 E3 多肽 (浓度为 100 μg/ml),4 °C 过夜进行抗原包被,碱性磷酸酶标记的羊抗人 IgG Fc 端抗体 (Sigma 公司) 为二抗 (1 : 2 000 稀释),其余步骤同常规 ELISA。30 份正常者血清各指标检测值 (A<sub>495</sub>)  $\bar{x} + 2s$  作为判断是否阳性的界值。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较用 *t* 检验,3 组间比较采用 One-Way ANOVA 分析,相关分析用 Pearson 相关分析;计数资料间比较用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

**2.1 不同表位 IT 作用的比较** 各组患者经不同表位 IT 及对照蛋白 ALB 作用后,MTT 法检测细胞毒性作用,见表 1。经 Levene 检验显示各组内不同指标间、各组间相同指标间均方差齐,适用 One-Way ANOVA 分析。经 One-Way ANOVA 分析及多重比较,各组内不同指标间的比较结果及各组间相同指标间的比较结果,见表 1。结果显示在对照组内,AE1 与 ALB 间对 LC 的毒性有显著的统计学意义;在 pSS 组内,AE1 与 AE2 间、AE1 与 ALB 间对 LC 的毒性差异有统计学意义;在 SLE 组内,AE1 与 AE3 间、AE1 与 ALB 间对 LC 的毒性差异有统计学意义;在 SLE 与 pSS 组间,AE2 和 AE3 对 LC 的毒性差异有统计学意义;在 pSS 与对照组间,AE2 和 AE3 对 LC 的毒性差异有统计学意义。

**2.2 患者 LC 计数与 IT 细胞毒性间的关系** 分别

表 1 各组经不同表位 IT 及 ALB 作用后 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | <i>n</i> | AE1           | AE2                           | AE3                           | ALB                          | <i>F</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|------------|----------|---------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------|------------|
| SLE        | 16       | 0.432 ± 0.065 | 0.424 ± 0.050                 | 0.351 ± 0.086 <sup>***</sup>  | 0.536 ± 0.066 <sup>***</sup> | 20.007     | 0.000      |
| pSS        | 14       | 0.441 ± 0.080 | 0.340 ± 0.078 <sup>**◇◇</sup> | 0.428 ± 0.060 <sup>##◇◇</sup> | 0.527 ± 0.083 <sup>***</sup> | 14.241     | 0.000      |
| 对照         | 10       | 0.460 ± 0.087 | 0.461 ± 0.081 <sup>◆◆</sup>   | 0.454 ± 0.084 <sup>◆◆</sup>   | 0.548 ± 0.075 <sup>**</sup>  | 2.984      | 0.044      |
| <i>F</i> 值 |          | 0.440         | 10.149                        | 6.476                         | 0.234                        |            |            |
| <i>P</i> 值 |          | 0.647         | 0.000                         | 0.004                         | 0.793                        |            |            |

与 AE1 比较: \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01; 与 AE2 比较: # *P* < 0.05, ## *P* < 0.01; 与 AE3 比较: \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01; 与 SLE 比较: ◇◇ *P* < 0.01; 与 pSS 比较: ◆◆ *P* < 0.01

将 SLE 和 pSS 患者的周围血淋巴细胞计数与不同表位 IT 细胞毒作用( $A_{495}$  值)进行相关性分析,见表 2。结果显示 SLE 组中,AE3 与淋巴细胞数呈显著正相关,pSS 中 AE2 与淋巴细胞数呈显著正相关。

表 2 SLE 和 pSS 中不同表位免疫毒素与 LC 计数相关性分析

| 组别  | 例数 | AE1 与 LC 计数 |       | AE2 与 LC 计数 |       | AE3 与 LC 计数 |       |
|-----|----|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|
|     |    | r 值         | P 值   | r 值         | P 值   | r 值         | P 值   |
| SLE | 16 | 0.243       | 0.363 | 0.137       | 0.613 | 0.653       | 0.006 |
| pSS | 14 | 0.257       | 0.375 | 0.594       | 0.025 | 0.273       | 0.346 |

### 2.3 2 组患者周围血中 3 个表位自身抗体的检测

SLE 及 pSS 中 E1、E2、E3 表位自身抗体阳性率的比较,见表 3。结果显示 3 个表位自身抗体的阳性率在 2 组间差异并无统计学意义。

表 3 SLE 和 pSS 周围血中 3 个表位自身抗体的阳性率比较(n)

| 组别         | 例数 | 抗 E1 抗体 |    |         | 抗 E2 抗体 |    |         | 抗 E3 抗体 |    |         |
|------------|----|---------|----|---------|---------|----|---------|---------|----|---------|
|            |    | 阳性      | 阴性 | 阳性率 (%) | 阳性      | 阴性 | 阳性率 (%) | 阳性      | 阴性 | 阳性率 (%) |
| SLE        | 16 | 11      | 5  | 68.75   | 12      | 4  | 75.00   | 12      | 4  | 75.00   |
| pSS        | 14 | 9       | 5  | 64.29   | 11      | 3  | 78.57   | 10      | 4  | 71.43   |
| $\chi^2$ 值 |    | 0.067   |    |         | 0.053   |    |         | 0.049   |    |         |
| P 值        |    | 0.796   |    |         | 0.818   |    |         | 0.825   |    |         |

## 3 讨论

LC 减少在 SLE 和 pSS 中常见,其中 LC 减少是 SLE 分类诊断的条件之一,LC 的减少不仅使患者容易发生感染,也给临床积极使用免疫抑制剂治疗带来顾虑。导致 LC 减少的确切机制未明,虽然 SLE 和 pSS 患者的体内存在多种自身抗体,研究<sup>[6]</sup>显示,抗 Ro 抗体平均于 SLE 诊断前 3~4 年出现于患者体内,用 Ro60 抗原免疫 BALB/c 鼠导致鼠出现 SLE 和干燥综合征损害,提示 Ro60 自身抗体在 SLE 及 pSS 的发病及临床损害中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。临床研究<sup>[1]</sup>显示,pSS 患者的 LC 减少与 Ro 自身抗体有关,为进一步探讨 Ro60 不同表位自身抗体在不同疾病 LC 减少中的可能作用,本研究选择 Ro60 抗体阳性伴 LC 减少的 SLE 及 pSS 患者为研究对象,体外研究可以避开体内其他因素(包括其他自身抗体)对研究观察指标的影响。

IT 因同时拥有抗体的特异性识别功能及毒素的细胞毒功能,又称双功能抗体,目前既用于肿瘤的靶向治疗研究<sup>[8]</sup>,又用于疾病发病机制的探讨<sup>[9]</sup>。本研究使用的 3 个 IT 是抗 Ro60 3 个不同表位 ScFv

分别与 PE40 的重组融合蛋白,其分子中 PE40 通过催化尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)中的 ADP-核糖转化致核糖体上的蛋白翻译延长因子 2(eukaryote elongation factors, eEF2),从而终止细胞的蛋白合成而导致细胞死亡<sup>[10]</sup>。ScFv 单抗与表达有相应表位的 LC 结合,介导 LC 的死亡采用 MTT 还原法定量测定。MTT 是一种接受氢离子的染料,可作用于活细胞线粒体中的呼吸链,在琥珀酸脱氢酶和细胞色素 C 的作用下分子中四唑环裂开,生成蓝色的甲月替结晶,该结晶的生成量仅与活细胞数目呈正比(死细胞中琥珀酸脱氢酶消失,不能将 MTT 还原),还原生成的甲月替结晶在 DMSO 中溶解,利用酶标仪测定吸光度值,以定量检测 IT 的细胞毒性,MTT 法是检测 IT 细胞毒功能的常用方法<sup>[8]</sup>。

动物试验中,用不同氧化修饰程度的 Ro60 抗原(修饰表位不同),诱导动物产生的类似 SLE 或 SS 的不同损害,显示针对 Ro60 不同表位的免疫在 2 种疾病损害中的作用<sup>[7]</sup>。多种因素导致 Ro 抗原异常表达于细胞表面,Reed et al<sup>[11-12]</sup>的研究认为,SLE 与 pSS 的 LC 表达有 Ro60 不同的凋亡表位(Apo-tope)。Kurien et al<sup>[13]</sup>研究发现,Ro60 与膜收缩蛋白(Spectrin)间存在交叉抗原性。这些研究结果提示,某些状态下,LC 细胞膜可能表达 Ro60 抗原的不同表位或是与某些表位有交叉免疫的其他抗原分子。

本研究中,IT 对 LC 的细胞毒性大小是由 LC 膜 Ro60 相应表位的表达程度决定的。结果显示,与 ALB 比较,3 种 IT 对正常者的 LC 均有明显的细胞毒作用,考虑正常或凋亡的 LC 表面可能存在 Ro 抗原或与 Ro60 交叉免疫的抗原表达。就观察的 3 个表位 IT 来看,除 AE1 外,AE3 和 AE2 对患者 LC 的毒性存在显著差异,并且 AE3 和 AE2 分别对 SLE 和 pSS 患者 LC 表现出更显著的细胞毒活性,且 AE3 和 AE2 的这种显著毒性增强性作用,与患者体内 LC 计数减少是一致的。提示 2 种疾病的 LC 异常表达 Ro60 的表位(或与其有交叉免疫的其他抗原)不同。进一步分析两组患者体内 3 个表位自身抗体的存在情况,显示阳性率并无差异,由此推测,SLE 与 pSS 患者 LC 的减少不一定是因为抗体分布差异导致,而是由于 2 种自身免疫病 LC 表达的抗原表位存在差异。即 SLE 和 pSS 均表现有与抗 Ro60 抗体相关的 LC 减少,但导致这 2 种常见自身免疫病 LC 减少的机制是不完全相同的。

## 参考文献

- [1] Yoshimi R, Ueda A, Ozato K, et al. Clinical and pathological roles of Ro/SSA autoantibody system [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 606195.
- [2] Huang S C, Yu H, Scofield R H, et al. Human anti-Ro autoantibodies bind peptides accessible to the surface of the native Ro autoantigen [J]. *Scand J Immunol*, 1995, 41(3): 220–8.
- [3] 李娅杰, 刘莉. SSA 抗原及其不同阳性表位的临床意义 [J]. *中华内科杂志*, 2003, 42(3): 165–8.
- [4] 周炜, 张奉春, 唐福林, 等. 抗 SSA 噬菌体抗体库的构建及鉴定 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2003, 7(7): 394–8.
- [5] Shuai Z W, Zhang F C, Xuan Z. An investigation on the pathogenic mechanisms of autoantibodies against different epitopes on 60KD SSA/Ro antigen in related autoimmune diseases [J]. *Int J Rheum Dis*, 2008, 11(suppl. 1): A483.
- [6] Arbuckle M R, McClain M T, Rubertone M V, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349(16): 1526–33.
- [7] Kurien B T, Porter A, Dorri Y, et al. Degree of modification of Ro60 by the lipid peroxidation by-product 4-hydroxy-2-nonenal may differentially induce Sjogren syndrome or systemic lupus erythematosus in BALB/c mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(10): 1222–33.
- [8] Huang J, Li Y M, Massague J, et al. Intracerebral infusion of the bispecific targeted toxin DTATEGF in a mouse xenograft model of a human metastatic non-small cell lung cancer [J]. *J Neurooncol*, 2012, 109(2): 229–38.
- [9] Nagai T, Tanaka M, Hasui K, et al. Effect of an immunotoxin to folate receptor beta on bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2010, 161(2): 348–56.
- [10] Armstrong S, Merrill A R. Toward the elucidation of the catalytic mechanism of the mono-ADP-ribosyltransferase activity of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A [J]. *Biochemistry*, 2004, 43(1): 183–94.
- [11] Reed J H, Jackson M W, Gordon T P. A B cell epitope of Ro 60 in systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4): 1125–9.
- [12] Reed J H, Dudek N L, Osborne S E, et al. Reactivity with dichotomous determinants of Ro 60 stratifies autoantibody responses in lupus and primary Sjogren's syndrome [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(5): 1448–56.
- [13] Kurien B T, Dorri Y, Bachmann M, et al. Induction of anti-Ro60/anti-La by immunisation with spectrin and induction of anti-spectrin by immunisation with Ro60 and 4-hydroxy-2-nonenal-modified Ro60 immunisation [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2012, 30(6): 886–93.

## The roles of autoantibodies to epitopes of Ro60 in the mechanisms of lymphopenia in SLE and primary Sjogren's syndrome

Huang Yuan, Shuai Zongwen, Zhang Lei, et al

(Dept of Rheumatology and Immunology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To investigate preliminarily the roles of autoantibodies to different epitopes on Ro60 in the mechanism of lymphopenia in systemic lupus erythematosus (SLE) and primary Sjogren's syndrome (pSS). **Methods** Sixteen patients with SLE, 14 patients with pSS and 10 healthy controls were involved in this study, and all of them were female. Every patient with active disease from SLE or pSS group had not received glucocorticoid or immunosuppressor for at least 3 months, and they had positive laboratory test for autoantibody against Ro60. Their count of lymphocyte (LC) in peripheral blood was less than  $1 \times 10^9/L$ , and this count from SLE group and pSS group was  $(0.66 \pm 0.12) \times 10^9/L$  and  $(0.70 \pm 0.16) \times 10^9/L$  ( $P=0.511$ ), respectively. The LC from the three groups was cultured *in vitro* with each of the three immunotoxins (AE1, AE2 and AE3), which were specifically combined with one of the three epitopes (aa482-493, aa310-323 and aa230-241, respectively) on Ro60. The cytotoxicity of each immunotoxin (IT) to the cultured LC was measured by MTT colorimetric method. The relationship between the IT cytotoxicity and the LC count was analyzed, and the autoantibodies against the three epitopes in the patient peripheral blood were also comparatively detected. **Results** All the three IT showed some cytotoxicity to control group, however, AE3 and AE2 had more remarkable toxicity to LC from SLE and pSS respectively, and the enhanced cytotoxicity was significantly associated with the LC count ( $r=0.653$ ,  $P=0.06$  in SLE group,  $r=0.594$ ,  $P=0.025$  in pSS group). There was no difference in prevalence of the autoantibodies to the three epitopes on Ro60 between the SLE and pSS group. **Conclusion** It is more likely that autoantibody to Ro60 may play a certain pathogenic role in lymphopenia in SLE and pSS, but the pathogenic mechanisms between the two diseases may be different.

**Key words** lupus erythematosus systemic; primary Sjogren's syndrome; lymphopenia; Ro60 autoantibody; immunotoxin