

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.08.015

过敏性紫癜与紫癜性肾炎患儿免疫功能的比较及临床意义探讨*

刘 梅¹, 王 军², 孙 红², 袁纯辉², 向 赞², 胡玉海^{1△}(1. 湖北省武汉市汉口医院检验科 430015; 2. 华中科技大学同济医学院
附属武汉儿童医院检验部, 武汉 430015)

摘 要:目的 通过检测过敏性紫癜及紫癜性肾炎患儿外周血免疫细胞、免疫球蛋白及补体的改变,探讨过敏性紫癜及紫癜性肾炎患儿免疫功能的差异及其意义。方法 收集 2017 年 9 月至 2018 年 4 月收治入院明确诊断为过敏性紫癜的患儿 280 例及紫癜性肾炎患儿 68 例,分别采用流式细胞术检测外周血 T 淋巴细胞亚群、B 淋巴细胞群及 NK 细胞群细胞数量,分析其比例,采用速率散射免疫比浊法分别检测外周血(免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM、IgE 及补体 C3、C4 水平)及晨尿(尿微量清蛋白及尿肌酐)水平。结果 与过敏性紫癜组相比,紫癜性肾炎组患儿尿肌酐显著降低,尿微量清蛋白与尿肌酐比值(ACR)显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);淋巴细胞亚群数量下降明显,尤其是 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD19⁺ 淋巴细胞的数量显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 CD8⁺、CD16⁺CD56⁺ NK 细胞数量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),但是 CD3⁺、CD8⁺ 淋巴细胞比例显著升高,CD19⁺ 细胞比例显著下降,Th/Ts 显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);免疫球蛋白 IgA、IgG 及补体 C4 显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 过敏性紫癜及紫癜性肾炎患儿肾脏功能都有损伤,但紫癜性肾炎患儿肾脏损伤更加严重,表现为以 CD8⁺ 为代表的细胞毒性损伤及补体消耗、免疫复合物在肾脏的沉积。

关键词: 儿童; 过敏性紫癜; 紫癜性肾炎; 淋巴细胞; 免疫功能

中图分类号:R726.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)08-1060-04

Comparison of immunological function between Henoch-Schonlein purpura and
Henoch-Schonlein purpura nephritis and its clinical significance*

LIU Mei¹, WANG Jun², SUN Hong², YUAN Chunhui², XIANG Yun², HU Yuhai^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Hankou Hospital of Wuhan, Wuhan, Hubei 430015, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Wuhan Children's Hospital,
Huazhong University of Science and Medicine, Wuhan, Hubei 430015, China)

Abstract: **Objective** To investigate the differences of immune function and its significance in children with Henoch-Schonlein purpura and Henoch-Schonlein purpura nephritis by detecting the changes of immune cells, immunoglobulin and complement in peripheral blood. **Methods** A total of 280 cases diagnosed as Henoch-Schonlein Purpura and 68 cases of Henoch-Schonlein purpura nephritis were collected from Sep 2017 to Apr 2018, detecting peripheral blood T lymphocyte subsets, B lymphocyte group and NK cell group by flow cytometry, and the proportion was analyzed. The peripheral blood (immunoglobulin IgA, IgG, IgM, IgE and complement C3, C4) and morning urine (microalbuminuria and urinary creatinine) were detected by rate scatter immunoassay. **Results** Compared with Henoch-Schonlein purpura Group, urinary creatinine of children with Henoch-Schonlein purpura nephritis was significantly reduced, Urinary albumin and urinary creatinine ratio (ACR) significantly increased, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); The number of lymphocyte subsets decreased obviously, especially in CD3⁺, CD4⁺ and CD19⁺ lymphocytes, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), the number of CD8⁺ and CD16⁺CD56⁺ cells has no difference, but the proportion of CD3⁺ and CD8⁺ lymphocytes increased markedly, the proportion of CD19⁺ cells decreased significantly, and the Th/Ts decreased significantly, The difference was statistically significant ($P < 0.05$); immunoglobulin IgA, IgG and complement C4 significantly decreased, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The renal function of Henoch-Schonlein purpura and Henoch-Schonlein purpura nephritis is impaired, but the kidney injury in children with Henoch-Schonlein purpura nephritis is more serious, which

* 基金项目:湖北省武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(WX18Q27)。

作者简介:刘梅,女,检验技师,主要从事免疫学检验研究。△ 通信作者, E-mail:2434377339@qq.com。

is manifested by cytotoxicity (CD8⁺T), complement depletion and immune complex deposition in kidney.

Key words: children; Henoch-Schonlein purpura; Henoch-Schonlein purpura nephritis; lymphocyte; immune function

过敏性紫癜(HSP)是一种好发于儿童的自身免疫性小血管炎,临床常以毛细血管瘀点、瘀斑为首发症状,同时常伴关节、消化道、肾脏、神经等系统的损伤^[1]。其中伴发肾脏损伤较为常见,是影响 HSP 预后的重要因素之一。当 HSP 累及肾脏,造成肾脏损伤时,出现血尿和蛋白尿则可诊断为过敏性紫癜性肾炎(HSPN)。HSPN 为 HSP 的严重并发症,多数预后较好,但少数可进展为慢性肾病,给患者造成严重影响^[2-3]。目前,关于 HSP 及 HSPN 发病机制尚不清楚,但普遍观点认为 HSP 的发病过程中患者免疫功能异常,导致循环免疫复合物在肾脏毛细血管壁沉积造成肾脏的损伤,进而导致的肾炎^[4-5]。因此,鉴于其发病过程中存在免疫功能的紊乱,本研究以 HSP 及 HSPN 患儿为研究对象,分别进行淋巴细胞亚群、免疫球蛋白及补体的检测,从实验室指标中探讨其致病差异,为 HSPN 的早期诊断及治疗提供良好的实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集武汉儿童医院 2017 年 9 月至 2018 年 4 月诊断为 HSP 的患儿 280 例,其中男 148 例,女 132 例,男女比为 1.12 : 1.00,年龄 3~14 岁。HSP 诊断符合中华医学会儿童过敏性紫癜循证诊治建议^[6];同时收集该期间诊断为 HSPN 的患儿 68 例,其中男 43 例,女 25 例,男女比为 1.72 : 1.00,年龄 4~14 岁,HSPN 诊断符合中华医学会紫癜性肾炎诊治循证指南(2016)^[7]。

1.2 仪器与试剂 FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司),BN II 特种蛋白检测分析仪(德国 Siemens 公司),A15 全自动特定蛋白分析仪(西班牙 Biosystems 公司)。全血淋巴细胞亚群检测采用 BD 公司 TBNK 淋巴细胞亚群检测试剂盒,血清免疫球蛋白及补体检测采用 Siemens 公司试剂盒,尿微量清蛋白(UMALB)与尿肌酐(UCRE)采用 Biosystems 公司配

套试剂。

1.3 方法 HSP 患儿及 PN 患儿入院后治疗前分别采集外周血并留取晨尿标本,采集的外周血分别装入无抗凝剂分离胶管和 EDTA 抗凝管各 3 mL,晨尿 3 mL。对 EDTA 抗凝剂血标本经样本前处理后采用 BD FACSCanto II 流式细胞仪进行外周血淋巴细胞亚群数量及比例检测和分析;无抗凝剂分离胶管血标本分离血清后采用 Siemens 公司生产的 BN II 特种蛋白分析仪进行免疫球蛋白及补体的测定;将晨尿标本中加入稳定剂后离心,采用西班牙 Biosystems 公司 A15 全自动特定蛋白分析仪进行 UMALB 与 UCRE 检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP 组与 HSPN 组尿液相关指标比较 通过对 HSP 及 HSPN 患儿晨尿标本进行检测,发现两组患儿晨尿中 UMALB 都明显增高,但二者之间差异无统计学意义(*P* > 0.05),但 HSPN 患儿中 UCRE 较 HSP 患者显著降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05),HSPN 患者尿微量清蛋白与尿肌酐比值(ACR)显著增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见表 1。

表 1 HSP 组与 HSPN 组尿液相关指标($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	UMALB (mg/L)	UCRE (mmol/L)	ACR (mg/mmol)
HSP 组	280	763.0 ± 1286.5	10.60 ± 4.75	76.10 ± 127.43
HSPN 组	68	897.7 ± 1235.1	8.26 ± 4.55	125.34 ± 164.10
<i>t</i>		0.303 3	2.302 0	3.708 0
<i>P</i>		0.762 1	0.022 8	<0.000 1

表 2 HSP 组与 HSPN 组淋巴细胞亚群数量($\bar{x} \pm s$, 个/微升)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD19 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺
HSP 组	280	1 608 ± 815	814 ± 472	691 ± 366	552 ± 338	255 ± 177
HSPN 组	68	1 198 ± 623	578 ± 476	554 ± 204	239 ± 152	215 ± 155
<i>t</i>		3.322 0	2.360 0	1.855 0	4.633 0	1.058 0
<i>P</i>		0.001 0	0.019 3	0.065 1	<0.000 1	0.291 2

2.2 HSP 组与 HSPN 组淋巴细胞亚群数量比较 与 HSP 组相比,HSPN 组患者中淋巴细胞亚群数量明显减少,尤其表现在 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD19⁺ 淋巴细胞数

量的显著降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05);而 CD8⁺、CD16⁺CD56⁺ NK 细胞数量比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 2。

2.3 HSP 组与 HSPN 组间淋巴细胞亚群比例比较 通过对两组淋巴细胞亚群比例进行分析发现, HSPN 组 CD3⁺、CD8⁺ 淋巴细胞比例显著升高, 差异有统计学意义($P<0.05$), CD19⁺ 细胞比例显著下降,

Th/Ts 显著下降, 差异有统计学意义($P<0.05$), CD4⁺、CD16⁺CD56⁺ NK 细胞比例比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 3。

表 3 HSP 组与 HSPN 组间淋巴细胞亚群比例比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD19 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺	Th/Ts
HSP 组	280	63.5±9.8	31.3±7.9	27.2±5.6	22.9±8.5	11.6±7.1	1.17±0.42
HSPN 组	68	71.5±7.2	30.7±9.4	35.5±7.2	14.0±3.9	11.6±4.6	0.94±0.53
<i>t</i>		4.008 0	0.317 1	6.744 0	5.249 0	0.968 5	3.882 0
<i>P</i>		<0.000 1	0.751 5	<0.000 1	<0.000 1	0.334 0	<0.000 1

表 4 HSP 组与 HSPN 组免疫球蛋白及补体水平比较($\bar{x}\pm s, g/L$)

组别	<i>n</i>	IgA	IgG	IgM	IgE	C3	C4
HSP 组	280	1.99±0.89	10.56±4.02	1.16±0.46	164.55±170.66	1.23±0.25	0.24±0.08
HSPN 组	68	1.86±0.85	7.65±2.94	1.25±0.54	146.15±140.01	1.22±0.18	0.20±0.07
<i>t</i>		2.280 0	8.386 0	1.600 0	0.282 9	1.094 0	3.934 0
<i>P</i>		0.023 2	<0.000 1	0.110 6	0.777 4	0.274 6	0.000 1

2.4 HSP 组与 HSPN 组免疫球蛋白及补体水平比较 HSPN 组 IgA、IgG 及 C4 较 HSP 组显著下降, 差异有统计学意义($P<0.05$); IgM、IgE 及 C3 比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 4。

3 讨 论

HSP 常伴随肾脏损伤, 导致持续血尿/蛋白尿时可诊断为 HSPN^[7]。如尿液中蛋白持续增高, 表明肾脏损伤严重, 易继发肾衰竭。UCRE 可以反映患者蛋白排泄状况, 尿肌酐可以反映患者肾脏功能状况, 但两者受影响因素较多, 不能准确反映患者具体蛋白排泄状况。研究表明 ACR 相对较为恒定, 受干扰因素少, 可以很好地反映患者肾脏损伤及蛋白排泄状况^[8]。本研究通过对 HSP 及 HSPN 患者晨尿中 UMALB 及 UCRE 的检测, 并计算 ACR, 发现与 HSP 患儿相比, HSPN 患者 UCRE 显著低于 HSP 组, ACR 显著增高, 这表明 HSPN 患者出现了明显的肾脏损伤, 尿蛋白排泄较多。

研究表明, HSP 及 HSPN 发病过程中存在免疫功能的紊乱, HSP 患儿体内 CD4⁺ T 淋巴细胞的失衡紊乱表现突出^[9-10]。而关于 HSPN 主要集中于 CD4⁺ CD25⁺ Treg 与 Th17 细胞, 研究表明在 HSPN 患者中 CD4⁺ CD25⁺ Treg 显著降低, 而分泌 IL-17 的 Th17 细胞显著增高, HSPN 患者体内存在 Treg/Th17 的紊乱, 表现为比值增高, 分泌大量炎症因子促进肾脏的损伤^[11-12]。本研究显示, 与 HSP 患者相比, HSPN 患者 CD3⁺ T 及 CD19⁺ B 淋巴细胞数量及比例严重下降, CD4⁺ 淋巴细胞数量显著较少, 但是两组患者 CD4⁺ 比例没有明显区别, CD8⁺ T 淋巴细胞数量下降

差异无统计学意义($P>0.05$), 但是细胞比例显著增高, 导致 Th/Ts 显著下降。CD16⁺CD56⁺ NK 细胞在两者中差异无统计学意义($P>0.05$)。这说明在 HSP 发展致 HSPN 的过程中, 参与细胞免疫的 T 淋巴细胞扮演者重要作用, 表现为 CD8⁺ T 细胞增多, Th/Ts 倒置, 细胞毒性增强, 分泌细胞因子增多, 加重肾脏损伤。

而同时 HSPN 患者 CD19⁺ 淋巴细胞数量及比例的下降, 表明 HSPN 患者体内体液免疫也出现了异常。本研究显示, HSPN 患者 IgA、IgG 显著降低, 这可能与免疫复合物的沉积及消耗有关。研究表明 HSP 患者 IgA 显著升高, 且主要表现为 IgA1 的升高, 患者体内存在小分子 IgA1 循环免疫复合物的形成, 易沉积于周围毛细血管, 而 HSPN 体内主要为 IgA1 分子的异常糖基化, 表现为大分子 IgA1-IgG 循环免疫复合物在肾脏的沉积, 导致肾脏的损伤^[13-14]。IgM 在两者中差异无统计学意义可能是由于 IgM 为体液免疫中最早出现的抗体, 在发病早期升高, 后期变化不明显。两者 IgE 水平虽差异无统计学意义, 但是均明显升高, 这也显示 HSP 与 HSPN 患者机体仍处于超敏状态。补体 C4 的降低目前原因仍不明确^[15]。

综上所述, 虽然 HSPN 是由 HSP 发展而来, 但是两者肾脏损伤程度、淋巴细胞亚群分布及免疫球蛋白和补体的水平均差异有统计学意义($P<0.05$)。HSPN 患儿肾脏损伤更加严重, 表现为以 CD8⁺ 为代表的细胞毒性损伤及补体消耗、免疫复合物在肾脏的沉积, 因此临床可通过这些指标的不同来进行早期诊

断与治疗。

参考文献

[1] 谢鹏,张高福. 过敏性紫癜性肾炎发病机制与预后研究进展[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(17): 2615-2618.

[2] RADHAKRISHNAN J, CATTRAN D C. The KDIGO practice guideline on glomerulonephritis: reading between the (guide) lines: application to the individual patient[J]. *Kidney Int*, 2012, 82(8): 840-856.

[3] NARCHI H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schönlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review[J]. *Arch Dis Child*, 2005, 90(9): 916-920.

[4] 唐雪梅. 过敏性紫癜病因及免疫发病机制[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(21): 1634-1636.

[5] HILHORST M, VAN PAASSEN P, VAN BREDA VRIESMAN P, et al. Immune complexes in acute adult-onset Henoch-Schönlein nephritis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(12): 3960-3967.

[6] 中华医学会儿科学分会免疫学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童过敏性紫癜循证诊治建议[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(7): 502-507.

[7] 中华医学会儿科学分会肾脏学组. 紫癜性肾炎诊治循证指南(2016)[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(9): 647-651.

[8] LI F, GUO H, ZOU J, et al. Urinary excretion of uric acid is negatively associated with albuminuria in patients with chronic kidney disease: a cross-sectional study[J]. *Bmc Nephrol*, 2018, 19(1): 95.

[9] LI Y Y, LI C R, WANG G B, et al. Investigation of the change in CD4⁺ T cell subset in children with Henoch-Schönlein purpura[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(12): 3785-3792.

[10] LI Y L, ZHOU Y P, ZHU D Q, et al. The role of T cells in the development of Henoch-Schönlein purpura [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018, 23(3): 837-851.

[11] SHAO X, JIANG C, LI Y, et al. Function of CD4(+) CD25(+) regulatory T cells in Henoch-Schönlein purpura nephritis in children[J]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2014 (52): 516-520.

[12] CHEN O, ZHU X B, REN H, et al. The imbalance of Th17/Treg in Chinese children with Henoch-Schönlein purpura[J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 16(1): 67-71.

[13] LAU K K, WYATT R J, MOLDOVEANU Z, et al. Serum levels of galactose-deficient IgA in children with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura [J]. *Pediatr Nephrol*, 2007, 22(12): 2067-2072.

[14] 李振, 徐元宏. 糖基化异常的 IgA1 分子与 IgA 肾病[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(23): 3236-3238.

[15] KOHSAKA T, JIN D K, ABE J. The significance of C4 locus II deletion in IgA nephropathy and Henoch-Schönlein nephritis and it's correlation with other HLA genes[J]. *Nihon Rinsho Japanese J Clin Med*, 1992, 50 (12): 3064.

(收稿日期: 2018-07-29 修回日期: 2018-10-18)

(上接第 1059 页)

均在此过程中发挥重要作用^[8]。Th1 细胞可分泌杀死或抑制病毒复制相关的细胞因子, 因而于机体清除病毒有利; Th2 细胞分泌的细胞因子可抑制 Th1 细胞的免疫应答, Treg 对机体免疫具有负性调节作用, 可抑制免疫应答, 两者均不利于机体清除病毒。基于以上机制, 本研究通过检测患者外周静脉血中上述细胞亚群水平评估机体免疫状态, 结果显示, 试验组患者外周血 Th1 细胞水平高于对照组, Th2、Th17、Treg 细胞水平低于对照组, 与杨年欢等^[9]的研究结论基本一致, 提示联合用药可增强 CHB 肝纤维化过程中的免疫应答, 这也是其逆转肝纤维化、疗效更佳的另一可能机制。

综上所述, CHB 肝纤维化患者予以复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦抗病毒治疗疗效确切, 可改善患者肝功能与免疫应答状态, 有利于缓解肝纤维化进程。

参考文献

[1] 刘婷, 徐铭益. 肝纤维化的血清学诊断研究进展[J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(1): 125-128.

[2] 陈永鹏, 汪艳, 侯金林, 等. 肝纤维化/肝硬化的动态变化

及其诊断进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(4): 244-246.

[3] 夏晖, 张宁, 周双男, 等. 复方鳖甲软肝片抗肝纤维化研究进展[J]. 医药导报, 2013, 32(4): 500-503.

[4] 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎诊断标准(2015 年版)[J]. 中西医结合肝病杂志, 2015, 25(6): 384-384.

[5] 吴龙龙. 恩替卡韦联合扶正化癥胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22 (35): 3952-3953.

[6] 姜一鸣, 姜学连, 刘新军, 等. 中医综合治疗慢性乙型肝炎肝纤维化优化方案的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(1): 75-77.

[7] 张瑞凤, 姚云洁, 游忠岚, 等. 复方鳖甲软肝片联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的观察[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(18): 1961-1963.

[8] 高海丽, 杨道坤, 梁海军, 等. 苦参素对乙型肝炎患者免疫及纤维化状态的治疗研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(5): 985-987.

[9] 杨年欢, 袁国盛, 周宇辰, 等. 恩替卡韦联合复方鳖甲软肝片治疗慢性乙型肝炎肝纤维化 96 周的临床疗效[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(6): 775-779.

(收稿日期: 2018-08-12 修回日期: 2018-12-18)