

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.08.018

血清热休克蛋白 70、白细胞介素-4 和白细胞介素-17 在过敏性紫癜中的临床意义

侯海瑞,余丽娜[△]

武汉市汉口医院检验科,湖北武汉 430012

摘要:目的 探讨血清热休克蛋白 70(HSP70)、白细胞介素(IL)-4 和 IL-17 水平检测在过敏性紫癜(HSP)中的临床意义,同时了解其对 HSP 患儿的诊断价值。**方法** 选取 2020 年 9 月至 2022 年 4 月在该院初次就诊的 158 例 HSP 患儿作为观察组,另选取同期 50 例健康体检儿童作为健康对照组。分别收集观察组(急性期和恢复期)、健康对照组的血液标本,采用酶联免疫吸附试验检测并比较两组儿童 HSP70、IL-4 及 IL-17 的水平变化情况;采用 Spearman 相关分析 HSP70 水平与 IL-4、IL-17 水平的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平对 HSP 的临床诊断效能。**结果** 与健康对照组比较,观察组血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平均明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);急性期 HSP 患儿 HSP70、IL-4、IL-17 水平均明显高于恢复期,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关分析结果显示,急性期 HSP 患儿 HSP70 水平与 IL-4、IL-17 水平均呈明显正相关($r=0.784、0.553, P<0.001$)。ROC 曲线分析结果显示, HSP70 诊断急性期 HSP 的曲线下面积(AUC)为 0.966,95%CI 为 0.945~0.987,最佳截断值为 1.765 ng/mL 时诊断灵敏为 86.00%,特异度为 93.04%;IL-4 诊断急性期 HSP 的 AUC 为 0.973,95%CI 为 0.955~0.991,最佳截断值为 4.700 pg/mL 时诊断灵敏为 84.00%,特异度为 92.83%;IL-17 诊断急性期 HSP 的 AUC 为 0.929,95%CI 为 0.882~0.976,最佳截断值为 10.250 pg/mL 时诊断灵敏为 86.00%,特异度为 93.04%。**结论** HSP70 在 HSP 的发病过程中对免疫功能紊乱的调节具有重要作用,且 HSP70 可能通过上调 Th2 和 Th17 细胞的免疫应答来介导 HSP 的发病,HSP70、IL-4 和 IL-17 水平检测有助于对早期 HSP 的辅助诊断。

关键词:热休克蛋白 70; 白细胞介素-4; 白细胞介素-17; 过敏性紫癜

中图法分类号:R554+.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)08-1100-04

Clinical significance of serum heat shock protein 70,interleukin-4 and interleukin-17 in the diagnosis of children with Henoch-Schoenlein purpura

HOU Hairui,YU Lina[△]

Department of Clinical Laboratory,Hankou Hospital of Wuhan,Wuhan,Hubei 430012,China

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of serum heat shock protein 70 (HSP70),interleukin-4 (IL-4) and interleukin-17 (IL-17) in children with Henoch-Schoenlein purpura (HSP),and to understand its predictive value in clinical diagnosis of children with HSP. **Methods** A total of 158 cases of children who were firstly diagnosed with HSP (as observation group) and another 50 cases of physical examination (as the healthy control group) were collected between September 2020 and April 2022 in the hospital,the blood samples of observe group (acute phase and recovery phase) and healthy controls were collected. The detection of HSP70,IL-4 and IL-17 in the samples was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between HSP70,IL-4 and IL-17. Receiver operating Characteristic curve (ROC) was used to analyze the clinical value of HSP70 level in the serum of children with HSP. **Results** Compared with healthy controls,serum levels of HSP70 were significantly higher in children with HSP ($P<0.05$),the level of acute phase was significantly higher than that of recovery phase ($P<0.05$). Inflammatory cytokine tests also showed significant increases in IL-4 and IL-17 levels,with statistically significant differences ($P<0.05$),and the level in the acute phase was significantly higher than that in the recovery phase ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression level of HSP70 was significantly positively correlated with the expression of IL-4 and IL-17 ($r=0.784$ and 0.553 respectively, $P<0.001$). ROC curve showed that the curve area of HSP70 was 0.966,95%CI was 0.945—0.987,diagnostic sensitivity was 86.00%,and specificity was 93.04%,cut-off value was 1.765 ng/mL. ROC

作者简介:侯海瑞,女,技师,主要从事临床检验学基础研究。 [△] 通信作者,E-mail:516630775@qq.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230323.1424.004.html>(2023-03-24)

curve showed that the curve area of IL-4 in diagnosing HSP was 0.973, 95%CI was 0.955—0.991, diagnostic sensitivity was 84.00%, and specificity was 92.83%, cut-off value was 4.700 pg/mL. ROC curve showed that the curve area of IL-17 was 0.929, 95%CI was 0.882—0.976, diagnostic sensitivity was 86.00% and specificity was 93.04%, cut-off value was 10.250 pg/mL. **Conclusion** HSP70 plays an important role in regulating immune dysfunction during the pathogenesis of HSP, and it may mediate the pathogenesis of HSP by upregulating the immune responses of Th2 and Th17 cells. The detection of HSP70, IL-4 and IL-17 is helpful for the diagnosis of early HSP.

Key words: heat shock protein 70; interleukin-4; interleukin-17; Henoch-Schoenlein purpura

过敏性紫癜(HSP)是一种好发于儿童的以小动脉/毛细血管等小血管为主的全身性免疫性血管炎^[1],临床上常表现为双下肢非血小板减少性紫癜,伴或不伴关节肿痛、消化道症状等,严重时常可合并肾功能损害,部分患儿可反复发作,最终进展为肾衰竭而导致死亡^[2]。目前关于 HSP 的病因及发病机制尚未完全明确,但有研究显示,HSP 患儿体内炎症因子水平异常增高,免疫功能紊乱,但机制不明^[3]。热休克蛋白 70(HSP70)是热休克蛋白家族中最保守、水平最高且最重要的一亚家族成员。有研究显示,作为机体先天性免疫系统内源性激活剂的 HSP70 参与了众多自身免疫性疾病(系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、多发性硬化和川崎病等)的发生和发展过程^[4],它可通过 Toll 样受体 4/内毒素受体抗体方式诱导,促使炎症因子释放;同时刺激树突细胞的抗原提呈功能,从而激发 Th2 细胞介导的适应性免疫反应^[5],在对 HSP 患儿进行基因多态性研究时发现,HSP70 是 HSP 患儿发病的遗传诱因^[6]。HSP 机制研究显示,患儿体内 Th 细胞功能失衡,表现为 Th2 细胞和 Th17 细胞的异常活化^[7]。本研究拟通过酶联免疫吸附试验分别检测急性期和恢复期 HSP 患儿及健康体检儿童血清 HSP70、白细胞介素(IL)-4 和 IL-17 水平,分析各项指标对 HSP 的诊断价值,从而探讨 HSP70 在儿童 HSP 发病机制中的可能作用机制,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 9 月至 2022 年 4 月在本院儿科初次就诊的 158 例 HSP 患儿作为观察组,其中男 97 例,年龄 1~13 岁,平均(6.89±2.64)岁;女 61 例,年龄 3~16 岁,平均(7.18±2.63)岁。所有 HSP 患儿的临床诊断均符合《儿童过敏性紫癜循证诊治建议》^[8]中的儿童过敏性紫癜诊断标准。另选取同期 50 例健康体检儿童作为健康对照组,其中男 30 例,年龄 3~13 岁,平均(6.80±2.90)岁;女 20 例,年龄 1~12 岁,平均(7.05±2.60)岁。两组研究对象年龄、性别等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有研究对象家属均知情同意并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会审核批准。纳入标准:(1)所有 HSP 患儿均无自身免疫性或过敏性疾病史;(2)所有 HSP 患儿均未使用过

任何糖皮质激素或其他免疫抑制性药物;(3)所有 HSP 患儿均为初次就诊。排除标准:(1)存在过敏性疾病史或其他自身免疫性疾病的患儿;(2)有糖皮质激素或免疫抑制性药物使用史的患儿;(3)其他原因导致免疫功能紊乱的患儿;(4)既往因 HSP 就诊的患儿。

1.2 仪器与试剂 仪器:BY-150C 型白杨台式低速离心机、深圳汇松全自动洗板机(PW-960)、雷杜全自动酶标仪(RT-6100);试剂:人 HSP70 酶联免疫吸附试验试剂盒(EK7106)、人 IL-4 酶联免疫吸附试验试剂盒(EK0410)、人 IL-17 酶联免疫吸附试验试剂盒(EK0430)。

1.3 方法 分别采集 HSP 患儿入院时和病情恢复出院时静脉血各 2 mL,同时采集同期健康对照组儿童静脉血 2 mL,以 3 000 r/min 离心 5 min,分离血清于-80℃冰箱保存待用。采用酶联免疫吸附试验检测各标本 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平。具体方法:分别取血清 100 μL,加到包被有相应抗体的 96 孔板中,经过孵育、洗涤,酶标抗体孵育、洗涤,底物显色,终止等步骤后经酶标仪在 450 nm 处检测相应吸光度值,根据标准品的吸光度值和水平,计算出相应标本的对应水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析处理。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_5, P_{95})$ 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;采用 Spearman 相关进行相关性分析;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评估 HSP70、IL-4 和 IL-17 对 HSP 的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP 组和健康对照组血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平比较 HSP 组血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平明显高于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 急性期和恢复期 HSP 患儿血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平比较 急性期 HSP 患儿 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平明显高于恢复期,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 急性期 HSP 患儿血清 HSP70 水平与 IL-4、IL-17 水平的相关性 Spearman 相关分析结果显示,急性期 HSP 患儿血清 HSP70 水平与 IL-4、IL-17 水平

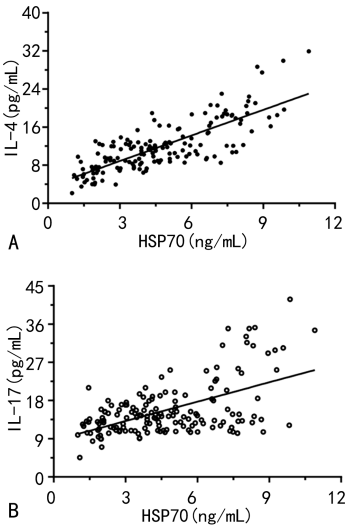
均呈明显正相关($r=0.784、0.553,P<0.001$)。见图 1。

表 1 HSP 组和健康对照组血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平比较[$M(P_5,P_{95})$]

组别	<i>n</i>	HSP70(ng/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-17(pg/mL)
HSP 组	158	4.36(1.46,8.76)	11.09(4.73,21.07)	13.99(9.41,31.05)
健康对照组	50	0.86(0.42,2.31)	2.57(1.25,6.93)	5.13(2.50,13.87)
<i>Z</i>		-10.649	-10.617	-9.133
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

表 2 急性期和恢复期 HSP 患儿 HSP70、IL-4 和 IL-17 水平比较[$M(P_5,P_{95})$]

组别	<i>n</i>	HSP70(ng/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-17(pg/mL)
急性期	158	4.36(1.46,8.76)	11.09(4.73,21.07)	13.99(9.41,31.05)
恢复期	158	1.23(0.46,2.67)	3.58(1.47,7.23)	6.14(3.53,14.38)
<i>Z</i>		-13.605	-14.183	-13.445
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001



注:A 为 HSP70 水平与 IL-4 水平的相关性;B 为 HSP70 水平与 IL-17 水平的相关性。

图 1 HSP70 水平与 IL-4、IL-17 水平的相关性

2.4 血清 HSP70、IL-4 和 IL-17 诊断急性期 HSP 的 ROC 曲线分析 结果显示,HSP70、IL-4 和 IL-17 诊断急性期 HSP 的 AUC 分别为 0.966、0.973、0.929,均具有较高的诊断效能。见表 3。

表 3 HSP70、IL-4 和 IL-17 对急性期 HSP 患儿的诊断效能分析

指标	最佳截数值	AUC	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)
HSP70	1.765 ng/mL	0.966	0.945~0.987	86.00	93.04
IL-4	4.700 pg/mL	0.973	0.955~0.991	84.00	92.83
IL-17	10.250 pg/mL	0.929	0.882~0.976	86.00	93.04

3 讨 论

HSP 是一类以全身小血管炎性病变为主要特点的自身免疫性疾病。流行病学研究表明,HSP 好发于

5~7 岁儿童,尤其是男孩,且 HSP 呈现较明显的季节性,好发于冬春季^[9]。有研究显示,感染是 HSP 的最主要诱发因素,此时机体表现为复杂的免疫反应和炎性病变,从而导致小血管通透性增高,引起皮肤黏膜和脏器损伤,虽然大部分预后较好,但少数严重者可致肾衰竭,甚至死亡^[10]。虽然 HSP 的发病机制尚不清楚,但有研究者认为其发病可能与体液和细胞免疫紊乱、凝血和纤溶紊乱及遗传易感性有关,其中免疫功能紊乱被认为是 HSP 发病的主要机制^[11]。既往有研究表明,在 HSP 患儿中,细胞免疫功能紊乱表现为急性期 Th1/Th2 失衡和主要的 Th2 细胞激活^[12]。此外,Th17 细胞在 HSP 患儿中异常活化,调节性 T 细胞数量减少或活性降低^[7],但具体机制仍不清楚。前期有研究显示,中性粒细胞 CD64 指数、IL-6 和降钙素原水平在 HSP 患儿合并感染中明显升高^[13],本研究拟在此基础上进一步探讨 HSP70 在 HSP 的发病及致病过程中的可能作用,这将为探明 HSP 的发病机制提供一定帮助,对临床及时判断患儿病情,减少多器官损害具有重要临床意义。

近年来有研究显示热休克蛋白家族成员之一的 HSP70 在自身免疫等相关疾病中表现出重要作用,如 MIŠUNOVÁ 等^[4]在对自身免疫性疾病的研究中发现,患者主要组织相容性复合物中 HSPA1A 和 HSPA1B 基因可以作为反映其自身免疫状况的重要标志物,与自身免疫性疾病的发生和发展明显相关。当 HSPA1A 水平增加时,细胞外 HSP70 蛋白水平明显升高,患者易发生特发性皮炎和系统性红斑狼疮。DING 等^[6]对中国 HSP 患儿进行基因多态性研究显示,HSP70-2(+1267A/G)基因多态性与 HSP 患儿密切相关,可能是 HSP 的遗传诱因。因此,探讨 HSP 患儿血清 HSP70 水平对于进一步探明 HSP 发病机制中免疫功能的紊乱十分必要。本研究对 HSP 患儿

和健康体检儿童进行血清 HSP70 水平检测,结果发现,HSP 患儿血清 HSP70 水平较健康体检儿童明显升高,且急性期 HSP 患儿 HSP70 水平也明显高于恢复期,差异均有统计学意义($P < 0.05$);ROC 曲线分析结果显示,HSP70 对急性期 HSP 具有较好的诊断价值,AUC 为 0.966,95%CI 为 0.945~0.987,诊断灵敏为 86.00%,特异度为 93.04%,这进一步证实 HSP70 在 HSP 的发病及致病中起重要作用。

IL-4 是活化 T 细胞尤其是 Th2 细胞亚群分泌的关键性细胞因子,它可抑制 Th1 细胞的形成,致使机体免疫功能失衡,促进体液免疫应答,增加机体炎症反应^[14]。有研究显示,在 HSP 患儿发病过程中,Th17 细胞表达也明显增加,但 Treg 细胞表达与健康儿童无明显差异^[15]。Th17 细胞可通过分泌前炎症细胞因子 IL-17 参与多种感染性疾病及自身免疫病的发病,且 IL-17 在这些疾病中常呈过度表达^[7],尤其是黏膜相关的疾病中,IL-17 发挥了许多关键作用。IL-17 可通过与 IL-17R 结合,激活下游核因子激活的 B 细胞的 κ -轻链、丝裂素活化蛋白激酶等信号通路,促进炎症因子的表达^[16]。本研究结果显示,HSP 患儿血清 IL-4、IL-17 水平均明显高于健康体检儿童,且急性期 HSP 患儿高于恢复期,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Spearman 相关分析结果显示,HSP 患儿血清 HSP70 水平与 IL-4、IL-17 水平均呈明显正相关($r = 0.784, 0.553, P < 0.001$),且 HSP70 水平与 IL-4 水平的相关性要高于 IL-17,由此说明在 HSP 患儿病程进展中,HSP70 对 Th2 细胞亚群的调控可能更加明显,但具体作用机制尚需进一步验证。

综上所述,本研究发现,HSP70 与 HSP 发病密切相关,其水平在 HSP 患儿中明显升高,它可能通过调控机体 Th2 和 Th17 细胞亚群分泌 IL-4 和 IL-17,使其发挥免疫功能紊乱而致 HSP 发生和发展,但具体作用机制本研究尚欠缺,有待在今后的研究中进一步探讨。

参考文献

- [1] LEE K H, HONG S H, JUN J, et al. Treatment of refractory IgA vasculitis with dapsons: a systematic review[J]. Clin Exp Pediatr, 2020, 63(5): 158-163.
- [2] BOSE S, PATHIREDDY S, BARADHI K M, et al. Seizures, renal failure and acute respiratory failure: not your typical case of henoch-schonlein purpura[J]. BMJ Case Rep, 2019, 12(7): e229939.
- [3] 王彬,邵宽芙蓉,董晨. 儿童过敏性紫癜 TLR2、TLR4 表

- 达及其与 Tfh 细胞的相关性[J]. 中国临床研究, 2022, 35(2): 194-197.
- [4] MIŠUNOVÁ M, SVITÁLKOVÁ T, PLEŠTILOVÁ L, et al. Molecular markers of systemic autoimmune disorders: the expression of MHC-located HSP70 genes is significantly associated with autoimmunity development[J]. Clin Exp Rheumatol, 2017, 35(1): 33-42.
- [5] KUMADA K, FUSE N, TAMURA T, et al. HSP70/DNAJA3 chaperone/cochaperone regulates NF- κ B activity in immune responses[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 513(4): 947-951.
- [6] DING G X, WANG C H, CHE R C, et al. Heat shock protein 70-2 and tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in Chinese children with henoch-schonlein purpura[J]. World J Pediatr, 2016, 12(1): 49-54.
- [7] LI B, REN Q, LING J, et al. The change of Th17/Treg cells and IL-10/IL-17 in Chinese children with henoch-schonlein purpura: A PRISMA-compliant meta-analysis[J]. Medicine, 2019, 98(3): e13991.
- [8] 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.
- [9] 翁生良,张优拉. 儿童腹型过敏性紫癜的高危因素[J]. 温州医科大学学报, 2020, 50(8): 658-661.
- [10] WANG J J, XU Y, LIU F F, et al. Association of the infectious triggers with childhood henoch-schonlein purpura in anhui province, China[J]. J Infect Public Health, 2020, 13(1): 110-117.
- [11] 潘春雨,冯爱平. 感染因素与过敏性紫癜的相关性研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(12): 2416-2421.
- [12] 齐海花,何磊,黄占强,等. 不同分型过敏性紫癜患者外周血 Th1/Th2 型细胞因子的相关性研究[J]. 河北医学, 2019, 25(6): 996-998.
- [13] 余丽娜,侯海瑞,张燕妮,等. CD64 指数、IL-6、PCT 检测对儿童过敏性紫癜合并感染的早期诊断价值分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(18): 2638-2642.
- [14] 曹华,屠强. 支气管哮喘患者血清 IL-4、IL-10、IL-17 和 IFN- γ 水平测定及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(12): 1506-1508.
- [15] 兰连成,杨梅雄,单庆文. Th17 在腹型过敏性紫癜胃肠黏膜损伤中的作用机制研究进展[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(1): 154-157.
- [16] JUNIOR H P, OLIVEIRA M F, GAMBERO S, et al. Randomized clinical trial of famciclovir or acyclovir for the treatment of herpes zoster in adults[J]. Int J Infect Dis, 2018, 72: 11-15.

(收稿日期:2022-08-05 修回日期:2022-12-15)