

• 临床检验研究论著 •

初发过敏性紫癜患儿免疫功能变化及其临床意义*

林 珊¹, 林世光², 郭瑞官², 吴汝香¹, 李 晶¹, 黄明清¹

(福建省福州儿童医院/福建省卫生职业技术学院教学医院:1. 检验科;2. 内科, 福建福州 350005)

摘 要:目的 探讨初发过敏性紫癜(HSP)患儿细胞免疫、体液免疫功能变化及其临床意义。方法 采用流式细胞术检测 156 例 HSP 患儿外周血 T 淋巴细胞 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD4⁺CD8⁺, B 淋巴细胞 CD3⁻CD19⁺ 及 NK 细胞 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 的表达水平, 采用散射免疫比浊法检测血清免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM, 以及补体 C3、C4 的水平, 采用免疫化学发光法检测 IgE 水平, 并与 25 例健康儿童进行比较。结果 HSP 患儿 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ 百分比及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均显著下降, CD3⁻CD19⁺ 百分比显著上升, 与健康儿童相比差异均有统计学意义($P < 0.01$), CD3⁺CD4⁺CD8⁺ 百分比上升($P < 0.05$), CD16⁺CD56⁺ 百分比下降($P < 0.05$)。HSP 患儿的 IgA、IgE、IgG、C3 水平升高, 与健康儿童比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 HSP 患儿存在细胞免疫及体液免疫水平失调造成的免疫功能紊乱, 淋巴细胞亚群、免疫球蛋白及补体的检测对于从细胞免疫及体液免疫角度了解患儿的免疫功能, 探讨疾病的发病机制、辅助诊断及预后具有重要意义。

关键词:过敏性紫癜; 儿童; 淋巴细胞亚群; 免疫球蛋白; 补体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)11-1417-03

Change of immune function in children patients with Henoch-Schonlein purpura and its clinical significance*

Lin Shan¹, Lin Shiguang², Guo Ruiguan², Wu Ruxiang¹, Li Jing¹, Huang Mingqing¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Medicine, Fuzhou Children's Hospital/Teaching Hospital of Fujian Health College, Fuzhou, Fujian 350005, China)

Abstract: Objective To discuss the change of cellular immune and humoral immune function in children patients with Henoch-Schonlein purpura (HSP) and to investigate its clinical significance. **Methods** The expression levels of T lymphocyte CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺CD8⁺, B lymphocyte CD3⁻CD19⁺ and NK lymphocyte CD3⁻CD16⁺CD56⁺ in peripheral blood of 156 patients with HSP was detected by flow cytometry. The level of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) and complement (C3, C4) of serum were evaluated by nephelometry immunoassay. The level of immunoglobulin IgE was measured by immunochemiluminometric assays and compared with 25 healthy controls. **Results** Compared with control group, the ratio of CD4⁺/CD8⁺ and the contents of CD3⁺, CD4⁺ cells in HSP patients were decreased significantly ($P < 0.01$), while the content of CD19⁺ was significantly increased ($P < 0.01$). The content of CD16⁺CD56⁺ was decreased ($P < 0.05$), while the content of CD3⁺CD4⁺CD8⁺ was increased ($P < 0.05$), the content of CD8⁺ had no obvious change ($P > 0.01$). The level of IgA and IgE were increased significantly ($P < 0.01$). The level of IgG and C3 were increased ($P < 0.05$), The level of IgM and C4 had no obvious change ($P > 0.05$). **Conclusion** The cellular immune and humoral immune function in children with HSP are in disorder. To detect lymphocyte subsets, immunoglobulin and complement will be of important significance to understand the immune function from the perspective of the cellular immune and humoral immune to explore the pathogenic mechanisms and to assist diagnosis and patient's prognosis.

Key words: Henoch-Schonlein purpura; child; lymphocyte subsets; immunoglobulin; complement

过敏性紫癜(HSP)是儿童时期常见的一种以全身性小血管炎症为主要病变的出血性变态反应性疾病。其发病机制目前尚未完全明了,但多数学者认为它的发生与免疫功能紊乱有关^[1-3]。为进一步研究 HSP 患儿免疫功能变化情况,本研究对初发 HSP 的患儿进行了淋巴细胞亚群、血清免疫球蛋白及补体的测定,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 筛选 2009 年 7 月至 2012 年 9 月在本院就诊的 HSP 急性发作期儿童 156 例为观察对象(HSP 组),纳入标准均符合《血液病诊断及疗效标准》第 3 版的诊断标准^[4];所有受试者均为初次发病的患儿,近 4 周内未使用任何皮质激素或细胞毒性药物;所有受试对象采血前 24 h 未使用任何药物;患儿均知情同意。HSP 组患儿年龄 2~16 岁,其中男 98 例,女 58 例,平均年龄(6.05±2.34)岁。另选取同期 25 例健康儿童

作为对照组,年龄 3~14 岁,无过敏性疾病史,男 15 例,女 10 例,平均年龄(7.35±1.74)岁。2 组性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 采用流式细胞术测定淋巴细胞亚群,仪器为美国 BD 公司 FACS Calibur 型流式细胞分析仪,抗体及溶血素均为美国 BD 公司产品。采用免疫化学发光法测定 IgE,仪器为德国 SIEMENS 公司 IMMULITE 化学发光分析仪,试剂为德国 SIEMENS 公司产品。采用散射免疫比浊法测定免疫球蛋白及补体,仪器为美国 ARCHITECT C8000 全自动生化分析仪,试剂由英国 RANDOX 公司提供。

1.3 方法 HSP 组患儿于入院当日未治疗前采集静脉血,对照组采集清晨空腹静脉血,2 组均取血清 2 mL 用于免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM、IgE 及补体 C3、C4 的测定;取 EDTA-K₂ 抗凝血 2 mL 用于淋巴细胞亚群检测,分别加入以荧光素标记的 4 色抗体

* 基金项目:福州市科技计划项目(2009-S-92)。 作者简介:林珊,女,主任技师,主要从事临床血液免疫学检验研究。

组合抗 CD3⁺-FITC/CD8⁺-PE/CD45⁺-PerCP/CD4⁺-APC、抗 CD3⁺-FITC/CD16⁺ 56⁺-PE/CD45⁺-PerCP/CD19⁺-APC, 室温避光反应 15 min 后加入溶血素裂解红细胞, 室温避光 15 min, 上机。以 CD45-SSC 点图设淋巴细胞门, 以 BD MultiSet 全自动获取分析软件作淋巴细胞亚群分析, 检测 T 淋巴细胞 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD4⁺CD8⁺, B 淋巴细胞 CD3⁻CD19⁺、NK 细胞 CD3⁻CD16⁺CD56⁺, 上机前用校准微球 (CaliBRITEbeads) 对流式细胞仪进行光流路质量调控和荧光补偿, 使仪器各项指标在质控允许值范围。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件进行分析, 组间

比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HSP 患儿急性期外周血淋巴细胞亚群表达水平 检测结果表明, 与对照组比较, 156 例 HSP 患儿 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ 表达水平, 以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均显著下降, 差异有统计学意义 (*P* < 0.01), 其中 CD4⁺ 下降 44%, CD4⁺/CD8⁺ 下降 35%, CD3⁻CD19⁺ 升高 30%, 上升显著, 差异有统计学意义 (*P* < 0.01); CD3⁺CD4⁺CD8⁺ 百分比上升, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), CD16⁺CD56⁺ 百分比下降, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 1~2。

表 1 HSP 患儿 T 淋巴细胞亚群的变化 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
HSP 组	156	56.3 ± 9.7 *	25.1 ± 7.7 *	24.7 ± 7.2	2.8 ± 1.4 #	1.1 ± 0.4 *
对照组	25	69.5 ± 7.3	45.5 ± 7.3	27.0 ± 7.0	2.3 ± 0.9	1.6 ± 0.5

*: *P* < 0.01; #: *P* < 0.05, 与对照组比较。

表 2 HSP 患儿 B 淋巴细胞和 NK 细胞的变化 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺
HSP 组	156	18.9 ± 5.4 *	11.3 ± 6.4 #
对照组	25	15.5 ± 4.8	14.5 ± 6.3

*: *P* < 0.01; #: *P* < 0.05, 与对照组比较。

2.2 HSP 患儿急性期免疫球蛋白及补体水平 与对照组比较, HSP 患儿的 IgA、IgE、IgG、C3 水平显著升高, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05), IgM、C4 水平无明显变化, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 见表 3。

表 3 HSP 患儿免疫球蛋白及补体水平的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	IgE(IU/mL)	C3(g/L)	C4(g/L)
HSP 组	156	6.44 ± 2.83 #	1.31 ± 0.57 *	0.59 ± 0.21	80.90 ± 22.56 *	1.35 ± 0.63 #	0.31 ± 0.10
对照组	25	5.41 ± 2.17	0.23 ± 0.11	0.56 ± 0.16	34.82 ± 17.41	1.15 ± 0.38	0.27 ± 0.16

*: *P* < 0.01; #: *P* < 0.05, 与对照组比较。

3 讨 论

HSP 是与免疫相关的出血性疾病, 研究发现, HSP 的发生与外周血中激活的淋巴细胞增多, 细胞凋亡不足有关^[5]。T 淋巴细胞是参与细胞免疫的主要细胞, 同时通过分泌细胞因子调节体液免疫, 是调控机体免疫功能的中心控制器, 对机体的细胞免疫和体液免疫有重要的调节作用。本研究结果显示, HSP 急性期患儿 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ 表达水平均显著下降, 与对照组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.01), 表明外周血中 T 淋巴细胞增殖分化能力降低, Th 细胞受损。CD3⁺CD4⁺CD8⁺ 表达增多, 提示 HSP 患儿机体在免疫功能紊乱的同时免疫抑制功能增强。虽然本研究中 HSP 患儿 CD3⁺CD8⁺ 细胞表达水平与对照组比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 与文献^[6]报道一致, 但 CD4⁺/CD8⁺ 比值显著下降, 差异有统计学意义 (*P* < 0.01), 也显示了细胞免疫抑制对 HSP 的影响。

感染是 HSP 最主要的诱因, 在炎症反应过程中, 活化的 CD4 细胞通过过度表达膜蛋白 CD40L, 可与 B 淋巴细胞、单核细胞及内皮细胞上的 CD40 结合, 使刺激 B 淋巴细胞的抗原阈值降低, 从而使 B 淋巴细胞活性增强, 诱导了抗体形成及免疫球蛋白同种型的转换及分泌, 参与体液免疫^[7], 引起 B 淋巴细胞及组织炎性介质分泌失控, 致使变态反应发生。本研究中, HSP 患儿较健康儿童的 CD3⁻CD19⁺ 细胞表达增高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.01), 说明 HSP 急性期患儿 B 淋巴细胞百分比增加, 与文献^[8]报道的结果一致, 提示 CD4⁺/CD8⁺ 的降低可能导致 B 淋巴细胞活化、数量增加, 从而产生大量免疫球蛋

白, 形成循环免疫复合物沉积, 引起血管炎及肾小球局部炎症反应^[9]。

CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 是鉴别 NK 细胞的标志, CD16 表达于未成熟的 NK 细胞表面, CD56 则在成熟细胞表面表达, 介导 NK 细胞与靶细胞的结合, 本研究中, HSP 组与对照组比较 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 表达减少, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 可能与 HSP 患儿为急性发作期有关, 提示 HSP 患儿的 NK 细胞水平下降与疾病严重性相关, NK 细胞在各种感染和炎症反应中是第一响应细胞, NK 细胞首先被细胞因子的 mRNA 刺激而激活, 随后在激活作用中快速诱导细胞因子的生成, 决定产生的抗原特异性 T 淋巴细胞反应, 对 T、B 淋巴细胞的增殖、分化有一定的抑制作用。本研究中, HSP 患儿 NK 细胞表达下降, 间接增强了 T、B 淋巴细胞的活化、增殖, 机体免疫应答上调, 有助于自身抗体的产生和炎性介质的释放^[10]。

本研究结果显示, HSP 患儿的 IgA、IgE、IgG、C3 水平与健康儿童相比有明显升高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 而 IgM、C4 水平无明显变化, 提示 HSP 急性期患儿由于 B 淋巴细胞 CD3⁻CD19⁺ 的过度表达及多克隆 B 淋巴细胞活化增强, 导致免疫球蛋白分泌增加, 证明 B 淋巴细胞功能异常是 HSP 发病的又一重要机制。而不同的抗原进入机体的途径不同, 产生的免疫应答也不同, 出现的临床症状也多样化, 如果感染或过敏原作用于机体时经甘露糖结合凝集素可激活补体, IgA 循环免疫复合物的沉积可激活补体替代途径^[11], 如果抗原是多糖、脂多糖等成分时, 机体主要产生黏膜免疫(下转第 1421 页)

($P>0.05$)。关于 HPV 感染的基因型别数量是否提高宫颈病变的发生率的争议颇多,有学者认为 HPV 多重感染比单一持续感染的危险性更大,多重感染更易导致宫颈病变^[10]。对于 HPV 感染女性应加强相关知识宣传,以科学的态度应对疾病十分重要,高危型 HPV 持续感染是导致宫颈癌的主要原因,80% 的妇女在一生中的某个时期会感染上 HPV,但通常情况下感染可以自然消退或被人体免疫,而不会引发疾病^[11]。通过抗病毒治疗,HPV 感染也存在一定的转阴率,即使感染高危型别也是有很大转机的,因为要发生癌变的条件除了感染高危亚型外,还有很多其他因素(持续感染、自身免疫力等),临床即使不能通过治疗让所有亚型完全转阴,也可以通过控制其他因素来延长癌前病变时间,为治疗争取时间^[12]。同时,要做好医患沟通,防止患者情绪焦虑,保持良好心态;鼓励患者多参加体育锻炼、提高自身免疫力,并坚持正确使用安全套等等,均有利于 HPV 的清除和避免 HPV 再次感染。

参考文献

- [1] 尹一兵. 分子诊断学[M]. 北京:高等教育出版社,2007:213-214.
- [2] 刘辉. 宫颈癌早期诊断研究进展[J]. 武警医学,2012,23(7):632-634.
- [3] De Villiers EM. Human papillvirus infection in skin cancer[J]. Biomed Pharmacother,1998,52(1):26-33.
- [4] Rowe LR, Aldeen W, Bentz JS. Prevalence and typing of HPV

- DNA by hybrid apture II in women with ASCUS,ASC-H,LSIL, and AGC on ThinPrep Pap test[J]. Diagn Cytopthol,2004,30(6):426-432.
- [5] Arbyn M, Castellsagué X, De Sanjose S, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008[J]. Ann Oncol,2011,22(12):2675-2686.
- [6] 季雯婷. 人乳头瘤病毒与宫颈病变的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志,2013,40(2):138-141.
- [7] 吴夏枫,喻晶,刘晓翌,等. 1 000 例妇女宫颈人乳头瘤病毒基因分型检测结果分析[J]. 中国实验诊断学,2013,17(5):865-867.
- [8] Zhao F, Forman MR, Belinson J, et al. Risk factors for HPV infection and cervical cancer among unscreened women in a high-risk rural area of China[J]. Int J Cancer,2006,118(2):442-448.
- [9] 黄蓉,凡任芝,孙余婕,等. 尖锐湿疣及疑似患者高危型人乳头瘤病毒检测的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(8):1020-1021.
- [10] 杨晓华,秦晓红,夏凤英,等. 成都农村地区女性宫颈 HPV 感染基因别分布状况[J]. 中国医疗前沿,2012,7(3):82-83.
- [11] 黄军旗. HPV 检测在宫颈癌筛查防治及判断预后中的临床分析[J]. 中国社区医师,2011,13(30):219-223.
- [12] 董海新,刘燕,汤玉美,等. 宫颈病变患者 HPV 基因亚型转阴情况的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志,2012,4(1):23-25.

(收稿日期:2014-01-20)

(上接第 1418 页)

应答,IgA 担负着黏膜免疫防御的任务,是机体抵抗上呼吸道感染的第一道防线,在本研究中 HSP 患儿的 IgA 水平明显升高,也间接说明了上呼吸道感染是 HSP 发病的主要原因。有研究结果表明,血清 IgA 水平升高与肠黏膜免疫系统失调有关^[1],IgA 可与食物抗原形成免疫复合物,沉积于全身小血管壁,介导免疫损伤。Yang 等^[12]发现 HSP 急性期患儿转化生长因子 β 、分泌型 T 淋巴细胞水平明显升高,是血清 IgA 水平升高的关键因素之一。本研究中,HSP 患儿血清中的 IgE 水平也较高,表明 I 型变态反应也可能参与 HSP 的致病机制,患儿免疫病理损伤以皮肤紫癜为主。HSP 患儿 C3 水平升高,显示 HSP 患儿存在 IgA 免疫复合物激活补体的现象,补体的激活主要通过旁路途径与凝集素途径,形成原位膜攻击复合物,而造成肾损伤。HSP 患儿 IgA、C3 及其免疫复合物沉积于受累肾小球系膜区及皮肤、肾小球、胃肠道的小动脉、毛细血管和小静脉血管壁,导致小血管炎,损伤涉及血清 IgA 产生增多、IgA 特异性自身抗体异常、IgA1 结构异常、IgA1 受体表达异常、补体参与等,同时介导黏附分子、细胞因子等表达异常^[1]。

从以上分析可以得出,辅助 T 淋巴细胞、NK 细胞表达的减少和 B 淋巴细胞表达的增多均可导致 HSP 的发病,HSP 患儿存在细胞免疫及体液免疫水平失调造成的免疫功能紊乱,淋巴细胞亚群、免疫球蛋白及补体的检测对于从细胞免疫及体液免疫角度了解患儿的免疫功能,探讨疾病的发病机制、辅助诊断及预后有重要意义。

参考文献

- [1] 胡晓晶,柳方娥. 过敏性紫癜免疫学发病机制研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2010,37(2):183-185.

- [2] 金燕樑,周纬,徐亚珍,等. 儿童过敏性紫癜与 T-细胞亚群研究[J]. 临床儿科杂志,2006,24(9):754-755.
- [3] 侯佳宜. B 细胞激活因子与过敏性紫癜相关性研究[J]. 中国免疫学杂志,2012,28(8):752-754.
- [4] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:北京科学技术出版社,2007:168-170.
- [5] Sakakura M, Wada H, Tawara I, et al. Reduced CD4⁺CD25⁺ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Thromb Res,2007,120(2):187-193.
- [6] Liu B, Zhao H, Poon MC, et al. Abnormality of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Eur J Haematol,2007,78(2):139-143.
- [7] Laman JD, Claassen E, Noelle RJ. Functions of CD40 and its ligand, gp39(CD40L)[J]. Crit Rev Immunol,1996,16(1):59-108.
- [8] Solomou EE, Rezvani K, Mielke S, et al. Deficient CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ T regulatory cells in acquired aplastic anemia[J]. Blood,2007,110(5):1603-1606.
- [9] 林珊. 十种血液病患儿外周血 T 淋巴细胞亚群检测及临床意义[J]. 实验与检验医学,2009,27(2):133-134.
- [10] 王勤,闵月,李晓忠,等. 过敏性紫癜患儿淋巴细胞亚群变化及意义[J]. 江苏医药,2012,38(2):156-158.
- [11] 李秋,杨锡,李永柏,等. 过敏性紫癜 T 淋巴细胞功能状态的研究[J]. 中华儿科杂志,2001,39(3):157-159.
- [12] Yang YH, Huang MT, Lin SC, et al. Increased transforming growth factor β (TGF- β)-secreting T cells and IgA anti-cardiolipin antibody levels during acute stage of childhood Henoch-Schonlein purpura[J]. Clin Exp Immunol,2000,122(2):285-290.

(收稿日期:2014-01-11)