

• 短篇论著 •

纠正 Th1/Th2 迁移对过敏性紫癜肾炎的预后影响*

魏向阳¹, 葛 凯¹, 朱 锐¹, 洪 泽²

(1. 南京中医药大学沭阳附属医院儿科, 江苏宿迁 223600;
2. 江苏省淮安市第一人民医院儿科, 江苏淮安 223001)

摘要:**目的** 分析纠正 Th1/Th2 迁移对过敏性紫癜肾炎的临床意义及预后影响。**方法** 选取 2018 年 1 月至 2019 年 1 月南京中医药大学沭阳附属医院收治的 104 例过敏性紫癜肾炎患儿, 依据随机数表法将所有患儿分为对照组及观察组。对照组患儿进行常规治疗, 观察组在对照组的基础上加服增强免疫力营养补充剂治疗。比较 2 组治疗前后 Th1/Th2 细胞因子水平及血液指标变化。**结果** 观察组患儿治疗后干扰素(IFN)- γ 及 IFN- γ /白细胞介素(IL)-4 水平高于对照组, IL-4、IL-6、白细胞计数、中性粒细胞、血小板计数及 C 反应蛋白水平低于对照组($P<0.05$); 观察组治疗有效率(96.15%) 高于对照组(82.69%) ($P<0.05$)。**结论** 纠正过敏性紫癜肾炎患儿 Th1/Th2 失衡, 可有效改善患儿预后。

关键词: Th1/Th2 细胞; 过敏性紫癜肾炎; 临床意义
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.23.021 **中图法分类号:** R726.9
文章编号: 1673-4130(2020)23-2912-04 **文献标识码:** B

过敏性紫癜主要是由于药物作用或病原体感染机体等原因造成体内出现循环免疫复合物, 其通常沉积于真皮上层毛细血管, 侵犯皮肤或其他器官中的细小动脉进而造成过敏性血管炎^[1]。临床上多发于儿科, 常出现皮肤淤斑并累及肾, 对患儿的生长发育较为不利^[2]。目前对于过敏性紫癜的发病机制尚未明确, 但众多数据称过敏性紫癜是一种由免疫复合物介导的系统性血管炎^[3-4]。过敏性紫癜肾炎患儿在急性期病程中, 体内存在明显的 Th1/Th2 免疫应答失衡, 白细胞介素(IL)-6、IL-5 及 IL-4 是属于 Th2 类细胞因子, 常出现水平明显增高, Th2 的特异膜蛋白分子 CD30 表达水平也增高, Th1 类细胞因子 IL-2 等分泌减少^[5]。因此, 对过敏性紫癜肾炎患儿进行早期的干预治疗, 有利于遏制疾病向终末期肾病及尿毒症的进展, 以减少患儿肾脏受累而改变预后, 在临床上具有重要的意义, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2019 年 1 月南京中医药大学沭阳附属医院儿科收治的 104 例过敏性紫癜肾炎患儿, 依据随机数表法将所有患儿分为对照组及观察组, 每组患儿 52 例, 2 组患儿性别、年龄、体质量等一般资料比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 见表 1。
1.2 纳入标准 (1) 所有患儿均符合《小儿肾脏病基础与临床》关于小儿过敏性紫癜肾炎的相关诊断标

准^[6]; (2) 在过敏性紫癜病程 180 d 内出现蛋白尿或血尿。血尿诊断标准: 肉眼血尿或 1 周内 3 次镜下血尿, 尿红细胞 ≥ 3 个/高倍视野。蛋白尿诊断标准: 1 周内出现 3 次尿常规定性蛋白阳性; 24 h 尿蛋白量在 150 mg 以上; 1 周内出现 3 次尿微量蛋白在正常范围以上^[7]。

表 1 2 组患儿一般资料比较				
组别	<i>n</i>	男/女(<i>n/n</i>)	年龄($\bar{x}\pm s$, 岁)	体质量($\bar{x}\pm s$, kg)
观察组	52	25/27	7.81 $\pm$ 2.21	26.15 $\pm$ 7.43
对照组	52	26/26	8.01 $\pm$ 2.07	27.01 $\pm$ 6.89
χ^2/t		0.038	0.476	0.612
<i>P</i>		0.844	0.635	0.542

1.3 排除标准 (1) 入院前接受过激素药物; (2) 使用了免疫调节剂; (3) 原发性免疫功能缺陷患儿; (4) 系统性红斑狼疮。
1.4 研究方法
1.4.1 治疗方法 2 组患儿均进行常规治疗, 包括泼尼松、双嘧达莫、钙剂、抗感染、肾炎康复片等治疗, 其中泼尼松 1~2 mg/(kg·d), 晨起顿服, 4 周后依据尿常规的变化情况减少用药剂量至疗程 3 个月停药。观察组在此基础上加服增强免疫力营养补充剂及雷公藤多苷[1 mg/(kg·d) 分 3 次口服], 3 个疗程(3 个月)后根据临床疗效调整剂量。
1.4.2 治疗疗效 2 组患儿治疗 3 个月后参照《临床

* 基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK20170387)。
本文引用格式: 魏向阳, 葛凯, 朱锐, 等. 纠正 Th1/Th2 迁移对过敏性紫癜肾炎的预后影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(23): 2912-2915.

医学》对治疗疗效进行评估^[8]。无效:指患儿临床表现及实验室检查均未改善甚至加重;好转:患儿服药治疗后,全身症状减轻且实验室指标改善,肉眼血尿消失,镜检出现好转,尿蛋白减少至(+)或微量;治愈:服药后实验室检查正常,无其他伴随症状,紫癜全部消退,仅留有色素沉着,15 d 内无复发。有效率=(好转例数+治愈例数)/总例数×100%。

1.4.3 Th1/Th2 细胞因子水平测定 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 Th1/Th2 细胞因子[干扰素(IFN)- γ 、IL-4 及 IL-6]水平,ELISA 试剂盒购自江西塞基生物技术有限公司,按照 ELISA 试剂盒的说明书进行具体操作。在酶标仪的第 1 个孔内加入不同浓度但同剂量的样品及标准品,酶标仪各孔加盖,在 37℃ 的温度下放置 90 min 后,取出酶标板,垂直倒出酶标孔内液体,吸水纸对仪器进行清理,将相应抗体加入每个酶标孔中,在 37℃ 下放置 60 min。使用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤酶标孔,连续操作 3 次,并在每个孔内加入 ABC 工作液,在 37℃ 下放置 30 min 后,使用 PBS 再次洗涤,连续操作 5 次,在暗室内,TMB 显色液加入至每孔中,在 37℃ 避光条件下放置 25 min 后,加入 TMV 终止液,使用美国 BD 公司 FACS Canto II 双激光六色流式细胞仪测定 IFN- γ 水平。同种操作方法测定 IL-4 及 IL-6 的水平。

1.4.4 白细胞计数、中性粒细胞、血小板计数及 C 反应蛋白水平测定 对所有患儿抽取外周静脉血,使用德国罗氏公司 Cobas 8000 全自动蛋白分析仪测定 C

反应蛋白,使用 Sysmex XN9000 全自动血细胞分析仪测定白细胞、中性粒细胞百分比、血小板,并对比分析肾炎组患儿治疗前后白细胞计数、中性粒细胞、血小板计数及 C 反应蛋白水平变化。

1.5 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件分析处理数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数、率表示,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 2 组患儿血浆 IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 及 IL-6 水平比较 2 组患儿治疗前 IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 及 IL-6 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组及对照组治疗后 IFN- γ 及 IFN- γ /IL-4 水平高于治疗前,IL-4 及 IL-6 水平低于治疗前($P < 0.05$);观察组患儿治疗后 IFN- γ 及 IFN- γ /IL-4 水平高于对照组,IL-4 及 IL-6 水平低于对照组($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 2 组患儿白细胞计数、中性粒细胞、血小板计数及 C 反应蛋白水平比较 2 组患儿治疗前白细胞、中性粒细胞、血小板及 C 反应蛋白水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);2 组患儿治疗后白细胞计数、中性粒细胞、血小板计数及 C 反应蛋白水平均低于治疗前,观察组患儿治疗后后白细胞、中性粒细胞、血小板及 C 反应蛋白水平均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 2 组患儿血浆 IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 及 IL-6 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	IFN- γ (pg/mL)	IL-4(pg/mL)	IFN- γ /IL-4	IL-6(pg/mL)
观察组($n=52$)				
治疗前	34.45 $\pm$ 9.25	59.45 $\pm$ 23.77	0.58 $\pm$ 0.39	67.84 $\pm$ 16.03
治疗后	50.48 $\pm$ 12.99 ^a	29.85 $\pm$ 8.08 ^a	1.78 $\pm$ 1.54 ^a	30.31 $\pm$ 10.21 ^a
对照组($n=52$)				
治疗前	35.98 $\pm$ 9.74	57.50 $\pm$ 22.01	0.63 $\pm$ 0.41	65.01 $\pm$ 12.25
治疗后	41.27 $\pm$ 13.43 ^{ab}	35.25 $\pm$ 8.17 ^{ab}	1.12 $\pm$ 1.64 ^{ab}	41.25 $\pm$ 10.06 ^{ab}

注:与治疗前相比,^a $P < 0.05$,与观察组治疗后相比,^b $P < 0.05$ 。

表 3 2 组患儿白细胞计数、中性粒细胞、血小板计数及 C 反应蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	白细胞计数($\times 10^9$ /L)	中性粒细胞($\times 10^9$ /L)	血小板计数($\times 10^9$ /L)	C 反应蛋白(mg/L)
观察组($n=52$)				
治疗前	11.65 $\pm$ 3.77	8.89 $\pm$ 3.25	387.59 $\pm$ 28.87	21.45 $\pm$ 14.89
治疗后	7.07 $\pm$ 1.64 ^a	4.58 $\pm$ 1.08 ^a	195.08 $\pm$ 15.52 ^a	3.41 $\pm$ 1.32 ^a
对照组($n=52$)				
治疗前	10.54 $\pm$ 3.35	7.12 $\pm$ 3.08	379.15 $\pm$ 28.45	22.35 $\pm$ 14.28
治疗后	8.06 $\pm$ 1.65 ^{ab}	6.30 $\pm$ 1.12 ^{ab}	207.58 $\pm$ 16.25 ^{ab}	10.45 $\pm$ 1.48 ^{ab}

注:与治疗前相比,^a $P < 0.05$;与观察组患儿治疗后相比,^b $P < 0.05$ 。

2.3 2 组患儿临床疗效比较 观察组及对照组治疗总有效率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=4.981, P=0.026$)。见表 4。

表 4 2 组患儿临床疗效比较					
组别	<i>n</i>	治愈(<i>n</i>)	好转(<i>n</i>)	无效(<i>n</i>)	有效[<i>n</i> (%)]
观察组	52	22	28	2	50(96.15)
对照组	52	19	24	9	43(82.69)
χ^2					4.981
<i>P</i>					0.026

3 讨 论

过敏性紫癜是一种多发于儿童的疾病, 主要分为单纯型、腹型、肾型及关节型。单纯型主要是与皮肤有关, 病变程度相对较低; 腹型多表现为腹痛, 疼痛部位多发于脐周及腹部等, 常伴有恶心呕吐等胃肠道不良反应^[9-10]; 肾型的临床表现多为蛋白尿及肾损伤等; 关节型累及膝、踝、指、肘等关节, 关节出现疼痛或肿胀等临床表现^[11]。有研究表明, Th1/Th2 平衡打破、体液免疫功能紊乱、凝血异常及纤溶紊乱与过敏性紫癜存在一定关系^[15]。过敏性紫癜继发的肾脏损伤称为过敏性紫癜肾炎, 随着临床检查技术的发展, 肾脏穿刺活检使得过敏性紫癜肾炎的检出率也越来越高^[12]。大量的临床实践表明, 肾脏受累的程度是影响患儿临床症状及预后的主要因素。

有研究学者将辅助 T 细胞分类为 Th1 细胞及 Th2 细胞, 其中 Th1 细胞主要分泌 IFN- γ , IFN- γ 能有效对抗机体细胞内病原体; Th2 细胞主要分泌 IL-5, IL-5 能有效地促进免疫蛋白的合成, 从而与机体细胞外病原体形成对抗^[13-14]。本研究发现, 当 Th1 细胞功能出现异常时, Th1 细胞对 Th2 细胞的拮抗作用减弱, Th2 细胞功能出现亢进, 这种相辅相成且有相互拮抗的作用, 导致过敏性反应的可能性较高。因此, 纠正 Th1 细胞及 Th2 细胞的失衡是治疗过敏性紫癜肾炎的关键。本研究显示, 治疗后观察组患儿 IFN- γ 及 IFN- γ /IL-4 水平高于对照组, IL-4 及 IL-6 水平低于对照组, 提示对过敏性紫癜肾炎患儿进行纠正 Th1/Th2 迁移治疗, 可纠正患儿体内 Th1/Th2 失衡, IL-4、IL-6 及 IFN- γ 水平得到相应的调节, IL-4 水平因机体对其的抵抗作用出现减弱, 观察组患儿在常规治疗的基础上进行了增强免疫力营养补充剂及雷公藤多苷治疗, 营养补充剂能有效地增强机体的免疫能力, 一定程度上也增加了机体的免疫应答能力, 并使机体对免疫复合物的清除能力得到提高, 且巨噬细胞对细菌的吞噬能力也随之增强, 进而减少患儿肾脏损伤并保护了肾脏功能。激素类药物有抗炎及抑制免疫的作用, 有研究数据表明, 雷公藤多苷能加强抗炎作用, 有效减少激素的用量, 缩短用药时间, 减少不良

反应情况等^[15]。本研究表明, 雷公藤多苷对 Th1/Th2 细胞因子的抑制作用更强。本研究显示, 观察组治疗后患儿外周血中性粒细胞绝对值、白细胞计数、C 反应蛋白及血小板计数均高于对照组($P<0.05$), 表明过敏性紫癜肾炎患儿的发病与感染具有密切关系。机体受到感染时, 病原微生物抗原与体内 IgA 结合, 形成 IgA 免疫复合物, 造成患儿出现多发性小血管炎症病变, IgA 免疫复合物主要沉积于全身小血管内皮细胞中^[16]。IgA 常在肾脏免疫复合中产生沉淀, 而患儿出现肾脏受损的主要时间多数在过敏性紫癜发病后的 4~6 周内, 此时间段是机体内免疫复合物沉积高发时间段, 故应对患儿进行及时合理的治疗, 以减少肾损伤的发生。

综上所述, 对过敏性紫癜肾炎患儿及早纠正 Th1/Th2 失衡, 主要是通过 Th1 及 Th2 迁移治疗而达到治疗效果。

参考文献

[1] 刘娜娜, 丁周志, 陈琼, 等. 过敏性紫癜患儿总 IgE、IgA 及补体 C3 水平对疾病预后的预测价值[J]. 中华全科医学, 2019, 17(9): 1463-1466.

[2] 何平, 赵彩霞, 刘婧平, 等. 儿童过敏性紫癜中医证候特点与紫癜性肾损害的相关性研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(4): 873-875.

[3] 王海峰, 阮同德, 高敏, 等. 急性肾损伤患儿诊断早期尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白与血抗增殖蛋白水平观察[J]. 中华全科医师杂志, 2016, 15(8): 623-627.

[4] WANG Y P, PENG C, ZHANG Z, et al. Intravenous infusion of ulinastatin attenuates acute kidney injury after cold ischemia/reperfusion[J]. Int Urol Nephrol, 2019, 51(10): 1873-1881.

[5] 夏利平, 陈旭, 姜毅. 丙种球蛋白冲击治疗儿童腹型过敏性紫癜疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(10): 988-990.

[6] 杨霖云, 白克敏. 小儿肾脏病基础与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 236-240.

[7] 董显燕, 钟涛, 黄郁波, 等. 血清 25-羟维生素 D 与过敏性紫癜发病风险关系的病例对照研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(8): 1076-1078.

[8] 刘亚琼, 陈佳, 余静, 等. 甲基强的松龙冲击联合吗替麦考酚酯治疗肾病综合征型儿童紫癜性肾炎疗效观察[J]. 临床医学, 2018, 38(11): 90-92.

[9] 陈静思, 孙晨, 阳海平, 等. 过敏性紫癜患者中性粒细胞及其 IgA Fc 受体对血管内皮细胞凋亡的影响及机制[J]. 中华皮肤科杂志, 2017, 50(11): 795-799.

[10] KIM D H, SOHN J H, PARK H J, et al. CpG oligodeoxynucleotide inhibits cockroach-induced asthma via induction of IFN- γ^+ Th1 Cells or Foxp3 $^+$ regulatory T Cells in the lung[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2016, 8(3): 264-275.

- [11] 孙颖,王海涛,方芳,等. 过敏性紫癜性肾炎伴肺出血二例[J]. 中华肾脏病杂志,2016,32(1):60-61.
- [12] KAMINUMA O, SAEKI M, NISHIMURA T, et al. Differential contribution of adhesion molecules to Th1 and Th2 cell-mediated lung and bowel inflammation[J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(10):1801-1805.
- [13] 罗颖,黄艳艳,金言,等. 微小 RNA-21 对过敏性紫癜患儿 B 细胞白细胞介素 10 表达的影响[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(12):939-944.
- [14] 树叶,罗鸯鸯,罗勇奇,等. 过敏性紫癜患者 CD4⁺ T 细胞
- 叉头框蛋白 3 基因甲基化水平及其与调节性 T 细胞的关系[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(3):162-166.
- [15] 陈佳佳,梁学军,刘敏,等. 儿童 1 型糖尿病酮症酸中毒合并腹型过敏性紫癜二例[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(6):427-429.
- [16] 蔡青青,解新芳,李晓萍,等. 新月体 IgA 肾病与新月体过敏性紫癜肾炎的临床病理及预后分析[J]. 中华肾脏病杂志, 2016, 32(11):801-807.

(收稿日期:2020-02-15 修回日期:2020-09-12)

• 短篇论著 •

糖尿病自身抗体微阵列芯片检测试剂盒的研制与初步评价^{*}

胡纪文¹,陈卓诚¹,张大准²,段江磊²,高 龙¹,林 珊¹,黄日雄¹,张秀明^{1△}

(1. 广东省深圳市罗湖医院集团医学检验中心,广东深圳 518001;

2. 广东省深圳市伯劳特生物制品有限公司,广东深圳 518054)

摘要:目的 研制糖尿病自身抗体微阵列芯片(Array-ELISA)检测试剂盒,评价其检测性能,探讨其临床应用价值。方法 制备糖尿病自身抗体 Array-ELISA 检测试剂盒,评价 10 份阴性参考品和 10 份阳性参考品符合率、2 份精密度参考品重复性、检出限参考品的性能指标。用 Array-ELISA 检测 1 型糖尿病(T1DM)组血清 42 份,评价其灵敏度和特异度。结果 Array-ELISA 检测 10 份阴性参考品和 10 份阳性参考品符合率均为 100%,重复性变异系数<15%,检出限[谷氨酸脱羧酶抗体(GADA)、酪氨酸磷酸酶抗体(IA-2A)、锌转运体 8 抗体(ZnT8A)、胰岛细胞抗体(ICA)、胰岛素抗体(IAA)5 种抗体阳性指数(PI 值)]分别为 1.998、1.941、2.123、1.987、1.938。Array-ELISA 联合检测 T1DM 组 GADA、IA-2A、ZnT8A、ICA、IAA 5 种抗体的灵敏度为 88.10%,特异度为 90.70%。结论 糖尿病自身抗体 Array-ELISA 检测试剂盒检测 T1DM 自身抗体具有较高的灵敏度和特异度,该方法能够为糖尿病的分型及精准治疗提供指导。

关键词:1 型糖尿病; 自身抗体; 微阵列芯片

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.23.022

文章编号:1673-4130(2020)23-2915-04

中图法分类号:R587.1

文献标识码:B

1 型糖尿病(T1DM)包括免疫介导和特发性两种亚型^[1]。自身免疫性糖尿病(免疫介导型)是以胰岛 β 细胞自身免疫破坏为重要病因的一种疾病,患者体内存在一种或多种针对胰岛 β 细胞胰岛素合成、转运和分泌的关键酶的自身抗体,这些自身抗体在糖尿病的预测、诊断、分型及治疗方面具有重要意义^[2-3]。本研究参照文献[4]建立微阵列芯片(Array-ELISA),用于联合检测 T1DM 组谷氨酸脱羧酶抗体(GADA)、酪氨酸磷酸酶抗体(IA-2A)、锌转运体 8 抗体(ZnT8A)、胰岛细胞抗体(ICA)、胰岛素抗体(IAA)5 种抗体。研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本

1.1.1 参考品血清标本来源与制备 本研究参考品

原材料为不同阳性程度的血清标本和体检者血清标本,经乙型肝炎病毒抗原、丙型肝炎病毒抗体、艾滋病病毒抗体检测均为阴性,用斯德润(北京)医疗诊断用品有限公司生产的糖尿病自身抗体谱检测试剂盒[免疫印迹法(IBT)]检测,阳性参考品和精密度参考品按照检测结果选择合适的阳性血清标本混合,必要时可用阴性血清标本稀释。阴性参考品用阴性血清标本混合。

10 份阳性参考品抗体型别包含 GADA、IA-2A、ICA、ZnT8A、IAA,10 份阴性参考品 GADA、IA-2A、ICA、ZnT8A、IAA 抗体全部为阴性。2 份精密度参考品为 R1(GADA/IA-2A/ICA/ZnT8A/IAA)、R2(GADA/IA-2A/ICA/ZnT8A/IAA)。检测限参考品 1 系列用于对 GADA、IA-2A、ZnT8A 的最低检测限

^{*} 基金项目:广东省深圳市 2018 年罗湖区软科学研究计划项目;广东省深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

[△] 通信作者,E-mail:zxm0760@163.com。