

淋巴细胞亚群检测在小儿过敏性紫癜诊治中的应用

蔡莉莉,郝维敏,夏宏林

(宿州市立医院检验科,安徽 宿州 234000)

摘要:目的 探讨淋巴细胞亚群检测在小儿过敏性紫癜(HSP)诊治中的作用及意义。方法 选取73例HSP患儿作为HSP组,并根据是否感染溶血性链球菌分为链球菌感染组(31例)和链球菌未感染组(35例),并设同期正常体检的30例儿童为健康对照组。分析两组患儿入院时及采用相同治疗方案2周后的临床症状和淋巴细胞亚群检测结果。结果 与健康对照组比较,HSP组存在 $CD4^+$ [33.572 ± 7.408]% 比 (37.225 ± 5.789)%]、 $CD4^+/CD8^+$ [1.270 ± 0.218]% 比 (1.582 ± 0.176)%]及 $CD16^+CD56^+$ [12.301 ± 4.946]% 比 (15.553 ± 4.249)%]细胞比值下降, $CD8^+$ [29.887 ± 5.538]% 比 (24.500 ± 3.589)%]、 $CD19^+$ [20.603 ± 4.713]% 比 (14.100 ± 3.699)%]细胞比值上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗2周后,链球菌感染组患儿淋巴细胞亚群检测数值及临床症状改善均不明显,而链球菌非感染组患儿的淋巴细胞亚群数值和临床症状明显改善,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 HSP患儿急性期存在细胞免疫紊乱,溶血性链球菌感染会进一步加重该类患者细胞免疫功能紊乱,淋巴细胞亚群检测对小儿HSP诊治具有重要的作用与意义。

关键词:淋巴细胞亚群检测;过敏性紫癜;抗溶血性链球菌O;儿童

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.08.021

Clinical significance of diagnosis and treatment of lymphocyte subsets in children with Henoch-Schonlein purpura

CAI Lili, HAO Weimin, XIA Honglin

(Department of Clinical Laboratory, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Anhui 234000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the change of lymphocyte subsets in children with Henoch-Schonlein purpura and beneficial for clinical care. **Methods** Seventy-three cases of Henoch-Schonlein purpura were divide into infected and uninfected groups with hemolytic streptococcus. Compared with 30 normal children, the lymphocyte data and clinical symptoms at admission and after two weeks' treatment were analyzed. **Results** Compared to the normal control group, the number of $CD4^+$ [33.572 ± 7.408]% vs. (37.225 ± 5.789)%], the ratio of $CD4^+/CD8^+$ [1.270 ± 0.218]% vs. (1.582 ± 0.176)%] and $CD16^+CD56^+$ [12.301 ± 4.946]% vs. (15.553 ± 4.249)%] were all decreased. The number of $CD8^+$ [29.887 ± 5.538]% vs. (24.500 ± 3.589)%] and $CD19^+$ [20.603 ± 4.713]% vs. (14.100 ± 3.699)%] were increased ($P < 0.05$). At admission, the number of $CD19^+$ of infected group was higher than uninfected group, and the number of patients with hematuria and proteinuria were higher than uninfected group. After two weeks' treatment, there was no obviously improved about the lymphocyte data and clinical symptoms of infected group, while uninfected group improved ($P < 0.05$). **Conclusion** Cellular immune disorders in the acute phase of HSP, hemolytic streptococcal infection can further aggravate the cellular immune disorders. Diagnosis and treatment of lymphocyte subsets are with great significance in children with HSP.

Key words: Detection of lymphocyte subsets; Henoch-schonlein purpura; Hemolytic streptococcus O; Children

过敏性紫癜(henoch-schonlein purpura, HSP)又叫亨舒综合征,是儿科常见的小血管出血性炎症,病因复杂,多与感染、过敏等因素有关,病变引起全身免疫功能紊乱,表现为免疫球蛋白IgA介导的免疫复合物沉积在小血管管壁,引起小血管脆性增加,导致出血^[1-3]。如何在疾病早期正确的判断患儿病情轻重,成为摆在广大儿科医师面前的一个难题。本次研究对HSP患儿进行淋巴细胞亚群检测,与同期未感染患儿的正常对照组进行比较分析,同时根据是否合并溶血性链球菌感染(以下简称链球菌)将HSP患儿分为链球菌感染组和链球菌未感染组进行

比较分析,探讨淋巴细胞亚群检测在HSP诊治中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取宿州市立医院2014年3月至2017年3月因HSP首次就诊的患儿73例,为HSP组,其中男45例,女28例,男女之比为1.61:1;年龄(4.8 ± 1.9)岁,年龄范围为2.5~13.3岁,病程均在15d以内;选取同期门诊同年龄阶段体检儿童30例进入健康对照组。本次研究内容均按照医院医学伦理委员会所制定的标准并取得伦理委员会批准,所有患儿家长、健康对照组儿童家长均已知晓研

究内容并签署知情同意书。

1.2 纳入和排除标准 所有患儿入院前 1 月内均无过敏性或(和)免疫性疾病,未使用激素类及免疫抑制剂类药物,符合 2005 年欧洲风湿病联盟(ELAR)和欧洲儿童肾病防治委员会(ESPN)及美国风湿协会(ACR)共同制定的 HSP 诊断标准^[4];两组患儿入院后均给予常规的治疗方案,包括抗过敏、抗血小板聚集及根据药敏结果选取敏感抗生素使用,在治疗过程中排除因病情变化需使用激素治疗的患儿 7 例。

1.3 HSP 患儿分组 根据 HSP 患儿是否合并链球菌感染,分为链球菌感染组(31 例)和链球菌未感染组(35 例),其中链球菌感染组男 19 例,女 12 例,年龄(6.7±2.0)岁,发病天数(7.0±2.3) d;链球菌未感染组男 21 例,女 14 例,年龄(6.1±1.9)岁,发病天数(7.4±3.1) d,两组患者性别构成比、基本资料等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.4 研究方法

1.4.1 仪器与试剂 多色流式细胞仪(FAcs calibur,美国 BD 公司),所用试剂鼠抗人 BD Multitest™ IMK kit 四色荧光抗体试剂盒(Cat No: 340503),抗体组合为 CD3⁻ FITC/CD8⁻ PE/CD45⁻ PerCP/CD4⁻ APC 及 CD3⁻ FITC/CD16⁺ 56-PE/CD45⁻ PerCP/CD19⁻ APC (CD3⁻ FITC、CD4⁻ APC、CD45⁻ PerCP 及 CD8⁻ PE 单克隆抗体)及其他配套耗材均购自美国 BD 公司。

1.4.2 标本采集与处理 所有患儿采血过程中严格无菌操作,留取使用 EDTA-K2 抗凝的外周血 2 mL,在室温(15~25℃)保存,于 4 h 内完成标本检测。

1.4.3 流式细胞仪检测 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD16⁺ CD56⁺ 和 CD19⁺ 细胞检测应用抗凝血在多色流式细胞仪上进行检测。采用 Multi TEST 自动软件获取和分析淋巴细胞亚群,得到各群细胞相对百分含量。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件对所有数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验,前后比较采用配对 t 检验;计数资料用率(%)描述,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP 组患儿和正常对照组儿童淋巴细胞亚群检测结果比较 结果见表 1。HSP 组患儿与正常对照组比较,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 及 CD16⁺ CD56⁺ 细胞比值明显下降,CD8⁺、CD19⁺ 比值上升,差异有统计学意义($P<0.05$);两组 CD3⁺ 数值比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 链球菌感染组及链球菌未感染组治疗前后淋巴细胞亚群检测结果分析 结果见表 2。链球菌感染组治疗前后比较,淋巴细胞亚群检测数值均未见明显好转,差异无统计学意义($P>0.05$);链球菌未感染组治疗前后比较,淋巴细胞亚群检测数值明显好转,差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗前比较,CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 差异无统计学意义($P>0.05$),CD4⁺、CD16⁺ CD56⁺、CD19⁺ 差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗后比较,CD3⁺ 差异无统计学意义($P>0.05$),其余数值差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 链球菌感染组及链球菌未感染组治疗前后临床症状比较 结果见表 3,链球菌感染组治疗前后比较,临床症状仅皮肤紫癜好转,差异有统计学意义($P<0.05$),其余症状均无明显好转,差异无统计学意义($P>0.05$);链球菌未感染组治疗前后比较,所有临床症状均明显好转,差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗前比较,临床症状表现差异无统计学意义($P>0.05$);两组治疗后比较,所有临床症状均明显好转,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

HSP 发病与感染及过敏因素关系较密切,常见的感染病原体有链球菌、肺炎支原体及 EB 病毒等,在临床上,各种原因引起的 HSP 表现出的临床症状相似,但其实验室检测尤其是淋巴细胞亚群检测的数值则有所不同,本研究选取的链球菌感染引起的 HSP 患儿作为研究对象,但其他感染如肺炎支原体引起的 HSP 患儿也不在少数,因篇幅限制,在本文中就不予赘述。链球菌在自然界中分布较广,常可引起细菌性心内膜炎、猩红热和风湿热、肾小球肾炎等变态反应,其致病性与链球菌感染的特殊致病机制有关^[5],链球菌能够在体内释放链球菌溶血素 O,

表 1 HSP 组和正常对照组淋巴细胞亚群检测结果比较/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD19 ⁺
对照组	30	64.433±7.440	37.225±5.789	24.500±3.589	1.582±0.176	15.533±4.249	14.100±3.699
HSP 组	73	63.274±8.289	33.572±7.408	29.887±5.538	1.270±0.218	12.301±4.946	20.603±4.713
t 值		-0.664	-18.354	4.903	-6.954	-3.133	6.745
P 值		0.508	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000

表 2 链球菌感染组及未感染组治疗前后淋巴细胞亚群检测结果比较/(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD19 ⁺
链球菌感染组	31						
治疗前		64.323±8.738	29.548±5.732	28.484±5.316	1.197±0.228	11.419±4.574	23.258±4.195
治疗后		62.645±7.830	28.807±4.969	26.936±5.482	1.250±0.190	13.419±5.920	22.355±3.988
治疗前后比较							
配对 <i>t</i> 值		0.796	0.545	1.129	-0.999	-1.488	0.869
<i>P</i> 值		0.429	0.588	0.263	0.322	0.142	0.388
链球菌未感染组	35						
治疗前		64.143±8.806	34.229±5.610	29.286±5.539	1.258±0.273	14.171±3.601	20.114±4.248
治疗后		60.057±5.070	37.886±4.904	22.600±5.564	1.429±0.231	16.943±4.621	16.371±3.273
治疗前后比较							
配对 <i>t</i> 值		2.379	-2.904	5.038	-2.826	-2.799	4.129
<i>P</i> 值		0.020	0.005	0.000	0.006	0.007	0.000
两组治疗前比较							
<i>t</i> 值		0.083	-2.572	-0.598	-0.992	-3.217	3.018
<i>P</i> 值		0.934	0.012	0.552	0.325	0.002	0.004
两组治疗后比较							
<i>t</i> 值		1.672	-6.154	3.123	-3.417	-3.939	6.691
<i>P</i> 值		0.099	0.000	0.003	0.001	0.000	0.000

表 3 链球菌感染组及链球菌未感染组治疗前后临床症状的比较/例(%)

组别	例数	皮肤紫癜	腹痛	关节肿痛	血尿	蛋白尿
链球菌感染组	31					
治疗前		31(100.00)	19(61.29)	16(51.61)	9(29.03)	8(25.81)
治疗后		23(74.19)	16(51.61)	9(29.03)	8(25.81)	6(19.35)
治疗前后比较						
χ^2 值		9.185	0.590	3.284	0.081	0.369
<i>P</i> 值		0.002	0.442	0.070	0.776	0.544
链球菌未感染组	35					
治疗前		35(100.00)	21(60.00)	17(48.57)	7(20.00)	5(14.29)
治疗后		12(34.28)	4(11.43)	3(8.57)	1(2.86)	0(0)
治疗前后比较						
χ^2 值		34.225	17.982	13.720	4.884	5.385
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.027	0.020
两组治疗前比较						
χ^2 值		-	0.011	0.061	0.308	0.738
<i>P</i> 值		-	0.915	0.805	0.567	0.390
两组治疗后比较						
χ^2 值		10.511	12.569	4.626	7.352	7.452
<i>P</i> 值		0.001	0.000	0.031	0.007	0.006

除本身能够引起血液内的红细胞溶解外,还可以刺激机体产生免疫反应,形成抗原抗体复合物,分泌的杀白细胞素能够使正常的白细胞变形破裂,而白细胞的广泛碎裂也进一步加重了肾脏损害,本次研究根据患儿血清抗链球菌溶血素 O 抗体(ASO)测定、血培养及咽拭子培养结果以及结合临床症状和体征,来判定是否存在链球菌感染。近年来大量研究发现 HSP 患儿机体存在不同程度的免疫紊乱^[6-7],其紊乱程度与患儿感染的病原体和机体自身的免疫系统有关。本次研究中,HSP 组患儿在急性期 CD3⁺、CD4⁺和 CD8⁺细胞比例的变化,同国内的研究基本一致^[8],变化的原因应是多种致病因素共同导致的机体 T 细胞免疫功能失调,而免疫功能的紊

乱也在疾病本身的进程中起着重要的作用。CD4⁺/CD8⁺的比值持续倒置可以使病情的进程进入肾脏持续损伤的阶段,而在此阶段的时间越长,肾脏的不可逆损害就越显著。CD4⁺细胞在急性期的减少主要是 Th1 细胞的明显减少,而 Th2 细胞却异常活化,Th2 细胞能够诱导 B 细胞多克隆活化增殖,B 细胞特有的表面抗原是 CD19⁺,由骨髓中的淋巴干细胞分化而来,受到抗原刺激后,分化增殖为浆细胞;增多的浆细胞参与了机体合成和分泌免疫球蛋白尤其是 IgA 的产生,IgA 与补体 C3 形成免疫复合物,沉积在消化道黏膜和皮肤肾脏小血管壁的表面,引起腹痛、紫癜和血尿、蛋白尿等一系列症状^[9]。NK 细胞又叫自然杀伤细胞,在体内免疫监视过程中发挥

着重要的作用,可以激活体内的巨噬细胞释放白细胞介素-1(IL-1),使 Th 细胞活化增加,增强体内 T 细胞的免疫效应,同时可以直接抑制 B 细胞的活化或抑制辅助细胞的抗原提呈作用,调节抗体蛋白的产生,NK 细胞的数量与 IL-2 呈正相关,在前文中提到 HSP 患儿的 CD4⁺ 细胞减少主要是由于 Th1 细胞的减少,而 IL-2 主要由 Th1 细胞分泌,这也解释了本次研究中 HSP 组患儿的 CD16⁺ CD56⁺ 入院时检测的比值降低的原因。

两组患儿入院时临床及实验室数据说明不同原因导致的 HSP 患儿临床症状上无明显区别,但淋巴细胞亚群检测提示患儿辅助性 T 淋巴细胞及 B 细胞活性增强,表现在机体内 IgA 的增多,国内外研究关于 HSP 急性期 IgA 数据的不一致^[10-11],应与选取病例时没有充分考虑患儿的致病因素有关。目前国内大部分医院治疗 HSP 还停留在根据临床症状选取药物治疗的阶段,这种缺乏免疫学数据支持的治疗虽然能够缓解皮肤紫癜的症状,但其他症状尤其是肾脏损害的症状并没有缓解,肾脏损害的症状不仅容易引起 HSP 的复发,而且复发后的肾脏损害会较首次发作明显加重^[12],肾脏损害的严重程度直接决定了 HSP 患儿的预后^[13]。临床研究证明,年龄越小的 HSP 患儿,如果在早期能够接受针对性的治疗,其肾脏损害的危险性就会降低^[14],并能够减少紫癜性肾炎的发病概率^[15],虽然早期临床症状区分很困难,但是淋巴细胞亚群检测却能够表现出明显的不同,如果这个时候治疗可以针对性的加入抑制免疫反应的药物,必然可以获得更好的治疗效果。表 2 和表 3 列出两组患儿的数据说明经过两个星期的常规治疗后,链球菌未感染组患儿免疫紊乱已经有一定程度的缓解,其临床症状也较入院时明显好转,说明临床常规治疗对于单纯型的 HSP 效果尚可,但是对于合并免疫紊乱的 HSP 患儿治疗效果不尽如人意,实际上在临床工作中并非只有链球菌感染的 HSP 患儿才有免疫紊乱,其他病因导致的 HSP 也存在不同程度的免疫紊乱,如果能够正确的区分患儿,进行针对性治疗,临床效果会更好,如果在早期不能确定病因的情况下可以根据淋巴细胞亚群检测的结果进行治疗,不仅可以早期缓解患儿的临床症状,而且对于治疗 HSP 和防止复发起到很好的效果。

综上所述,HSP 患儿急性期存在的细胞免疫紊乱,溶血性链球菌感染引起 HSP 患儿应采用针对性方案进行治疗,淋巴细胞亚群检测对小儿 HSP 诊治

具有重要的作用与意义。

参考文献

- [1] YUKIHIKO KAWASAKI. The pathogenesis and treatment of pediatric Henoch-Schonlein purpura nephritis[J]. Clin Exp Nephrol, 2011,15(5): 648-657.
- [2] RESTIVO V, COSTANTINO C, TRAMUTO F et al. Hospitalization rates for intussusception in children aged 0-59 months from 2009 to 2014 in Italy [J]. Hum Vaccin Immunother, 2017, 13(2): 445-449.
- [3] 潘瑞,杨春芳,潘家华. 过敏性紫癜伴肺出血 1 例报道[J]. 安徽医药, 2015, 19(3): 526-526.
- [4] OZEN S, PISTORIO A, IUSAN SM, et al. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schonlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(5): 798-806.
- [5] HE L, PENG Y, LIU H, et al. Activation of the interleukin-4/signal transducer and activator of transcription 6 signaling pathway and homeodomain-interacting protein kinase 2 production by tonsillar mononuclear cells in IgA nephropathy [J]. Am J Nephrol, 2013, 38(4): 321-332.
- [6] EI HUSSEINI A, AHMED A, SABUCEDO A, et al. Refractory Henoch-Schönlein purpura: atypical aetiology and management [J]. J Ren Care, 2013, 39(2): 77-81.
- [7] 王士杰, 鹿玲. 过敏性紫癜患儿血 IL-21、TGF-β1、TNF-α 和免疫球蛋白变化及意义 [J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(2): 159-161.
- [8] 钱毅, 封其华. 儿童过敏性紫癜急性期免疫状态研究 [J]. 中国实用儿科杂志, 2009, 24(3): 203-205.
- [9] YUKIHIKO KAWASAKI. The pathogenesis and treatment of pediatric Henoch-Schonlein purpura nephritis [J]. Clin Exp Nephrol, 2011, 15(5): 648-657.
- [10] 丁艳, 尹薇, 何学莲, 等. 儿童过敏性紫癜急性期免疫功能探讨 [J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(5): 518-521, 525.
- [11] KAWASHIMA N, KAWADA JI, NISHIKADO Y, et al. Abnormal urinalysis on day 7 in patients with IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) [J]. Nagoya J Med Sci, 2016, 78(4): 359-368.
- [12] 胡海玉, 鹿玲. 过敏性紫癜患儿复发与反复的危险因素分析 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2012, 27(21): 1663-1665.
- [13] TENG MC, WANG LC, YU HH, et al. Kawasaki disease and Henoch-Schönlein purpura-10 years' experience of childhood vasculitis at a university hospital in Taiwan [J]. Journal of Microbiology Immunology & Infection, 2012, 45(1): 22-30.
- [14] LIU Z, WEI YD, HOU Y, et al. Differences in pathological characteristics and laboratory indicators in adult and pediatric patients with Henoch-Schönlein purpura nephritis [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2016, 36(5): 659-666.
- [15] DAVIN JC, COPPO R. Henoch-Schonlein purpura nephritis in children [J]. Nat Rev Nephrol, 2014, 10(10): 563-573.

(收稿日期:2017-05-30,修回日期:2017-07-15)