

Changes of Soluble Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Antigen-4 in Children with Henoch-Schonlein Purpura and Its Clinical Significance

Yuzhen Dong^{1,2}, Yun Li¹, Haofei Tan³, Qiuye Zhang^{1*}

¹Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Pediatrics, Gaomi People's Hospital, Gaomi Shandong

³Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Email: 31894434@qq.com, *qyzt9816@163.com

Received: Aug. 5th, 2019; accepted: Aug. 21st, 2019; published: Aug. 28th, 2019

Abstract

Objective: To investigate the changes and significance of serum soluble cytotoxic t-cell-associated antigen-4 (sCTLA-4) in patients with Henoch-Schonlein purpura (HSP) in acute phase. **Methods:** 49 children hospitalized with HSP from December 2017 to May 2018 were selected as study subjects (HSP group), and 62 healthy children were selected as normal control group (control group). Serum sCTLA-4 concentrations of children with HSP and control group were detected by double-antibody sandwich ELISA. **Results:** The serum sCTLA-4 level in HSP group was (3749.5 ± 804.5) pg/ml. It was significantly lower than the control group [(5101.8 ± 566.7) pg/ml], and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Serum sCTLA-4 levels in children with/without prodrome infection were (3446.1 ± 773.2) pg/ml and (4065.6 ± 723.0) pg/ml ($P > 0.05$), respectively. Serum sCTLA-4 levels in children with/without early renal damage in the HSP group were (3801.6 ± 839.7) pg/ml and (3724.3 ± 799.0) pg/ml, respectively. Serum sCTLA-4 levels of HSP children with/without gastrointestinal symptoms in the acute phase were (3927.8 ± 242.3) pg/ml and (3670.9 ± 126.9) pg/ml ($P > 0.05$), respectively, and there was no statistically significant difference between each group (all $P > 0.05$). There was no significant correlation between serum sCTLA-4 levels and immunoglobulin IgA, IgG, IgM, IgE levels in HSP group ($r = -0.172 - 0.187$, all $P > 0.05$). **Conclusion:** Serum sCTLA-4 level in children with HSP in acute phase is reduced, and T cell inhibition signal is insufficient, suggesting that sCTLA-4 may play a certain role in the pathogenesis of HSP in children.

Keywords

Henoch-Schonlein Purpura, Cytotoxic t-Cell Associated Antigen-4, Serum, Children

*通讯作者。

过敏性紫癜患儿血清可溶性CTLA-4表达变化与临床意义

董玉珍^{1,2}, 李云¹, 谭好飞³, 张秋业^{1*}

¹青岛大学附属医院儿科, 山东 青岛

²高密市人民医院儿科, 山东 高密

³青岛大学附属医院, 山东 青岛

Email: 31894434@qq.com, *qyzh9816@163.com

收稿日期: 2019年8月5日; 录用日期: 2019年8月21日; 发布日期: 2019年8月28日

摘要

目的: 探讨过敏性紫癜(Henoch-Schonlein Purpura, HSP)患儿急性期血清可溶性细胞毒性T细胞相关抗原-4 (sCTLA-4)的水平变化及意义。方法: 选择2017年12月至2018年5月期间住院治疗的HSP患儿49例为研究对象(HSP组), 62名健康儿童为正常对照组(对照组), 应用双抗体夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)检测HSP患儿和对照组儿童血清sCTLA-4的浓度。结果: HSP组患儿急性期血清sCTLA-4水平为(3749.5 ± 804.5) pg/ml; 明显低于对照组[(5101.8 ± 566.7) pg/ml], 差异有显著统计学意义($P < 0.01$)。有/无前驱感染的HSP患儿血清sCTLA-4水平分别为(3446.1 ± 773.2) pg/ml和(4065.6 ± 723.0) pg/ml ($P > 0.05$), 有/无早期肾损害的HSP组患儿血清sCTLA-4水平分别为(3801.6 ± 839.7) pg/ml和(3724.3 ± 799.0) pg/ml, 急性期有/无消化道症状的HSP患儿血清sCTLA-4水平分别为(3927.8 ± 242.3) pg/ml和(3670.9 ± 126.9) pg/ml ($P > 0.05$), 各组间差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。HSP组患儿急性期血清sCTLA-4水平与免疫球蛋白IgA、IgG、IgM、IgE水平间均无明显相关性($r = -0.172 \sim 0.187$, P 均 > 0.05)。结论: HSP患儿急性期血清sCTLA-4水平降低, T细胞抑制信号不足, 提示sCTLA-4在儿童HSP的发病机制中可能发挥一定作用。

关键词

过敏性紫癜, 细胞毒性T细胞相关抗原-4, 血清, 儿童

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

过敏性紫癜(Henoch-Schonlein Purpura, HSP), 是儿童时期常见的一种系统性血管炎性疾病, 临床主要表现为非血小板减少性皮肤紫癜, 常伴关节痛、腹痛、便血及血尿或蛋白尿等。其病因及发病机制迄今尚未完全阐明。既往的临床及流行病学观察发现感染与HSP发病有关。实验研究亦提示HSP患儿异常增高的炎症细胞因子、趋化因子或循环免疫复合物(CIC)参与其发病, 但感染导致免疫功能紊乱的机制仍不清楚[1]。目前认为, HSP主要与细菌、病毒、食物、药物等各种抗原刺激导致机体免疫功能紊乱有关。普遍研究认为HSP患儿体内存在T淋巴细胞相关的免疫紊乱[2]。细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4 (Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)属B7分子家族, 是淋巴细胞表面的一种与免疫信号传

递有关的配体蛋白分子,又称 CD152,它属于免疫球蛋白超家族成员。CTLA-4 分子是激活的 CD4+ CD8+T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞表达的,通过与 CD28 竞争性抗原提呈细胞(Antigen Presenting Cell, APCs)表面的 B7 分子结合,负性调控 T 细胞增殖与活化、诱导 T 细胞耐受。sCTLA-4 是 CTLA-4 的可溶形式,与细胞膜表面 CTLA-4 一样,通过与 CD28 竞争性结合 APCs 表面的 B7 分子,干扰共刺激信号途径来干扰 T 细胞的活化。已有研究显示, sCTLA-4 与多种免疫性疾病相关,如自身免疫性甲状腺疾病[3]、系统性红斑狼疮[4]、克罗恩病[5]等。有关儿童 HSP 血清 CTLA-4 水平变化的文献资料较少。本研究采用双抗体夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)方法对 HSP 患儿急性期血清 sCTLA-4 水平进行检测,旨在观察 HSP 患儿血清 sCTLA-4 水平变化特点,以探讨 CTLA-4 在儿童 HSP 的发病机制中的作用。

2. 对象与方法

2.1. 研究对象

1) HSP 组: 2017 年 12 月至 2018 年 5 月期间住院治疗的 HSP 患儿 49 例作为研究对象,其中女 26 例,男 23 例,年龄为(7.80 岁 \pm 2.90)岁,所有 HSP 患儿均符合 2012 年 10 月中华医学会儿科分会免疫学组制定的儿童过敏性紫癜循证诊治建议中的 HSP 的诊断标准[6]。参照中华医学会儿科学分会肾脏病学组制定的儿童紫癜性肾炎诊治循证指南中的紫癜性肾炎的诊断标准[7]。依据患儿急性期和缓解后 4 周内尿常规有无异常分为有肾损害组和无肾损害组,其中有肾损害组 16 例:男 5 例,女 11 例,年龄为(8.94 \pm 2.29)岁,无肾损害组 33 例:男 17 例,女 16 例,年龄为(8.94 \pm 2.3)岁。依据疾病急性期患儿主诉有无腹痛、血便或/和呕血症状,或大便常规异常,或腹部 CT 有肠套叠等消化道症状,分为有、无消化道症状组。前者共 15 例,其中男 7 例,女 8 例,平均年龄 8.20 岁 \pm 3.1 岁;无消化道症状组患儿 34 例,其中男 16 例,女 18 例,平均年龄 7.62 岁 \pm 2.83 岁。根据病前可能的诱因分为有、无前驱感染组。前者 25 例,其中男 9 例,女 16 例,平均年龄 7.84 岁 \pm 2.85 岁;无前驱感染组患儿 24 例,其中男 14 例,女 10 例,平均年龄 7.75 岁 \pm 3.0 岁。所有患儿采血前 4 周内均未使用任何糖皮质激素以及其他的免疫抑制剂,所有患儿无其他自身免疫性疾病、过敏性疾病病史。

2) 对照组:选取同期在青岛大学附属儿童保健科和体检中心查体的健康儿童 62 名作为正常对照组,其中男 52 例,女 10 例,年龄为(6.87 \pm 2.76)岁。性别、年龄构成与 HSP 组差异无显著性。

本研究所有受试对象均已取得家属知情同意。

2.2. 检测方法

HSP 组患儿与对照组儿童均空腹采血 3 ml,将离心管及样品管平衡放置于离心机后,设置合适转速,大约离心 20 分钟后收集上层血清置于-80℃冰箱中保存待检。采用 ELISA 方法检测血清 sCTLA-4 水平,试剂盒系北京冬歌博业生物科技有限公司生产,主要操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

2.3. 统计方法

结果使用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料用平均数 \pm 标准差 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据的比较采用独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。sCTLA-4 与免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM、IgE 之间的关系分析采用直线相关性分析。

3. 结果

3.1. HSP 组急性期血清 sCTLA-4 水平变化

HSP 组患儿急性期血清中 sCTLA-4 水平为(3749.5 \pm 804.5) pg/ml,正常对照组为(5101.8 \pm 566.7) pg/ml,

HSP 组明显低于对照组, 差异有显著性统计学意义($t = 8.722, P < 0.01$)。

3.2. 有/无前驱感染 HSP 患儿间血清 sCTLA-4 表达水平比较

有前驱感染组 HSP 患儿急性期血清 sCTLA-4 水平为(3446.1 ± 773.2) pg/ml, 无前驱感染组 HSP 患儿血清 sCTLA-4 水平为(4065.6 ± 723.0) pg/ml, 两者之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组比较 sCTLA-4 水均明显降低。

3.3. 有/无肾损害 HSP 患儿血清 sCTLA-4 水平的比较

有早期肾损害的 HSP 患儿急性期血清 sCTLA-4 水平为(3801.6 ± 839.7) pg/ml 而早期无肾损害 HSP 患儿组血清 sCTLA-4 水平为(3724.3 ± 799.0) pg/ml, 两者间差异无显著性统计学意义($t = 0.564, P > 0.05$)。

3.4. 有/无消化道症状 HSP 患儿血清 sCTLA-4 表达水平比较

有消化道症状组 HSP 患儿血清 sCTLA-4 水平为(3927.8 ± 242.3) pg/ml, 无消化道症状组 HSP 患儿血清 sCTLA-4 水平为(3670.9 ± 126.9) pg/ml, 两者之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组比较 sCTLA-4 水均明显降低。

3.5. HSP 患儿血清 sCTLA-4 水平与血清免疫球蛋白水平相关性分析

对 HSP 患儿急性期血清 sCTLA-4 水平与血清免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM 和 IgE)水平进行相关性分析, 结果显示期间均无明显相关性($r = -0.172 \sim -0.187, P$ 均 > 0.05)。

4. 讨论

过敏性紫癜发病机制复杂, 其可能与感染、遗传、药物等因素的刺激诱发所致的体液免疫、细胞免疫功能异常, 细胞因子及炎症介质的参与有关。其中, IgA 免疫复合物在 HSP 发病中可能起着关键的作用[8]。众多研究证实, HSP 患者存在 T 淋巴细胞亚群异常及免疫功能紊乱[9] [10]。

CTLA-4 属 B7 分子家族, 是淋巴细胞表面的一种转导负性免疫信号的配体蛋白分子[11]。它与 CD28 分子结构具有 70% 的同源性, 两者结合相同的配体 B7。它表达于活化的 T 淋巴细胞表面, 在静止的 T 淋巴细胞上表达很弱。CD28/CTLA-4 竞争性结合 B7, 组成了一个具有正、负向调节 T 细胞的系统, 通过 CTLA-4 和 CD28 在时间和空间上的差异表达, 保证正、负信号共同参与免疫过程。而 sCTLA-4 是 CTLA-4 的可溶形式, 通过干扰共刺激通路, 抑制 T 细胞的活化。已有研究显示, sCTLA-4 在某些自身免疫性疾病中水平有所增高[12]。国内外许多研究证实, CTLA-4 涉及的免疫性疾病众多。CTLA-4 在儿童过敏性哮喘[13]、系统性红斑狼疮、川崎病[14]、炎症性肠病[15]等多种自身免疫性疾病的发病过程中均有参与。CTLA-4 存在多位点的基因多态性, 其多态性可影响 CTLA-4 的功能及分子表达, 导致自身免疫性疾病。已有文献报道[16], CTLA-4 基因多态性与多种免疫相关性疾病有关联性。张蓉等[17]发现类风湿关节炎患者的外周血 CD4+CD25+调节性 T 细胞表面的 CTLA-4 的表达水平低于正常人, 说明 CTLA-4 的低表达导致 T 细胞功能异常, 从而参与了类风湿关节炎的发病。白冷媚等[18]人研究发现, 在 SLE 患者中, CTLA-4 较健康组低表达, 可能是由于 CTLA-4 为瞬时表达并快速进入细胞质, 也不能排除其低表达是否与 SLE 患者 CTLA-4 分子下调功能的受损或与 T 细胞耗竭有关。Oaks 等[19]发现自身免疫性甲状腺疾病患者血清 sCTLA-4 水平升高, 郑维红等[20]研究发现重症肌无力患者血清 sCTLA-4 水平明显高于对照组, 其病理意义尚有争议。因其可与细胞膜 CTLA-4 和 CD28 同时竞争性与 APCs 表面 B7 结合, 发挥负性免疫调控作用抑或阻止对 T 细胞反应的下调, 有待进一步探讨。

有关 HSP 患者血清 sCTLA-4 水平变化情况, 国内外报道未见。侯红红等[21] [22]曾对 CTLA-4 基因

多态性与过敏性紫癜的相关性进行研究。证实了-1722 位点 CC 基因型及 C 等位基因在病例组和对照组之间无统计学意义, 但可增加 HSP 发生肾脏损害的风险。而 CTLA-4(AT)n 基因重复次数为 16 时可能为 HSP 发病的易感基因, 重复次数为 15 时则可能为女性 HSP 患儿发病的易感基因。Soylemezoglu 等对土耳其 100 名 HSP 患者的研究认为, +49 位点基因多态性与 HSP 及 HSPN 均无相关性, 但 CTLA-4AG 基因型和 HLA-DRB1 的存在可能是这些患者发生肾脏损害的危险因素[23]。本研究采用双抗体夹心 ELISA 方法检测了 49 例 HSP 患儿急性期血清中 sCTLA-4 的水平, 发现 HSP 患儿急性期血清 sCTLA-4 水平均明显低于健康患儿对照组, 有/无前驱感染组间血清 sCTLA-4 水平无显著性差异, 提示 HSP 患儿急性期 T 细胞 CTLA-4 表达降低, 对免疫应答的负性调控作用低下, 在 HSP 的发病机制中可能扮演重要角色。T 细胞的活化需要两种信号的参与。第一信号即为 TCR 与抗原肽-MHCII 分子复合物的特异性结合, 此信号对 T 细胞活化是必需的; 第二信号也被称为共刺激信号, 包括 CD28/CTLA-4-B7 等, 他们组成了一个具有正、负向调节 T 细胞的系统, 通过 CTLA-4 和 CD28 在时间和空间上的差异表达, 保证正、负信号共同参与免疫过程。CTLA-4 与 B7 结合后, 则可抑制 T 细胞的增殖和活化, 是细胞周期停滞在 G0/G1 期, 不向 S 期发展[24]。同时, CTLA-4 可促进 T 细胞分泌 TGF- β , 减少 IL-2 等细胞因子的分泌, 从而负性调控 T 细胞的应答。同时, CTLA-4/B7 相互作用可减低 IL-4 的产生, 抑制 CD4+T 细胞向 Th2 发育。Oosterwegel 等发现, CTLA-4 被封闭或缺乏将导致 CD4+T 细胞向 Th2 亚群分化[25]。由此可见, CTLA-4 作为负调节因子, 在 T 细胞反应的起始和终止过程中起着重要的作用。然而, 本研究资料显示 HSP 患儿急性期血清 sCTLA-4 水平与血清免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM 和 IgE)之间均无明显相关性。同时发现有、无早期肾损害 HSP 患儿间急性期血清 CTLA-4 水平并无显著性差异, 提示 sCTLA-4 水平变化在 HSP 与紫癜性肾炎发病机制中的地位需要进一步探讨。

参考文献

- [1] 陈小红, 陈德宇. 过敏性紫癜发病机制研究进展[J]. 西南军医, 2012, 14(2): 298-300.
- [2] Yang, Y.H., Yu, H.H. and Chiang, B.L. (2014) The Diagnosis and Classification of Henoch-Schönlein Purpura: An Updated Review. *Autoimmunity Reviews*, **13**, 355-358. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.031>
- [3] 王宇, 张进安, 肖婉侠, 等. 自身免疫性甲状腺病患者外周血 T 淋巴细胞 CTLA-4 和 CD40L 的表达[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(18): 1791-1793.
- [4] 王一冰, 崔广梅, 孙清, 等. 血清 sCTLA-4 在儿童系统性红斑狼疮中的表达及意义[J]. 国际儿科学杂志, 2017, 44(1): 64-66.
- [5] 陈志涛, 周峰, 夏冰, 等. 克罗恩病患者血清可溶性细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 水平高表达及其临床意义[J]. 中华消化杂志, 2011, 31(3): 150-154.
- [6] 中华医学会儿科学分会免疫学组. 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] Van Egmond, M., Damen, C.A., Spriel, A.B., et al. (2001) IgA and IgA Fc Receptor. *Trends in Immunology*, **22**, 205-211. [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)01873-7](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(01)01873-7)
- [9] 王艳玲. 性紫癜患儿外周血调节性及辅助性 T 细胞表达水平观察[J]. 临床合理用药, 2017, 10(10A): 159-160.
- [10] 林林东, 王晓冬, 龚娅. 过敏性紫癜患儿免疫球蛋白及 T 淋巴细胞亚群水平与疾病严重程度的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(13): 1651-1653.
- [11] Brunet, J.F., Denizot, F., Luciani, M.F., et al. (1987) A New Member of the Immunoglobulin Superfamily-CTLA-4. *Nature*, **328**, 267-270. <https://doi.org/10.1038/328267a0>
- [12] 林夏鸿, 李希圣, 林玲. Graves 病血清 sCTLA-4 与 Th1/Th2 细胞因子平衡偏离的关系[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(3): 242-244.
- [13] 钱力, 鲁继荣. 我国北方地区小儿哮喘 CTLA-4 基因多态性的相关研究[J]. 中华妇幼保健, 2007, 25(22): 3578-3579.

- [14] 马慧芳. B7/CD28 家族共刺激分子在蒙古族儿童的川崎病发病机制中的作用[J]. 内蒙古医学杂志, 2010, 42(10): 1167-1170.
- [15] 侯炜, 夏冰, 毛琳, 等. 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 基因多态性与汉族溃疡性结肠炎患者的相关性研究[J]. 中华消化杂志, 2005, 25(4): 199-201.
- [16] 翟芸, 周钢桥, 贺福初. CTLA-4 基因多态性与自身免疫性疾病的相关性研究进展[J]. 军事医学科学院院刊, 2006, 30(2): 191-194.
- [17] 张蓉, 刘秀梅. CD4+CD25+Treg 细胞表面 CTLA-4 及血清 IL-10、TGF- β 1 在类风湿关节炎中的表达及意义[J]. 中国现代医生, 2010, 48(19): 1-5.
- [18] 白冷媚, 谢传美. 共信号分子 CD28、ICOS、PD-1、CTLA-4 在系统性红斑狼疮患者外周血中的表达水平及意义[J]. 川北医学院学报, 2018, 33(6): 832-839.
- [19] Oaks, M.K. and Hsiltet, K.M. (2000) Cutting Edge: A Soluble form of CTLA-4 in Patients with Autoimmune Thyroid Disease. *The Journal of Immunology*, **164**, 5015-5018. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.10.5015>
- [20] 郑维红, 王文杰, 刘肇绩, 等. 血清可溶性 CTLA-4 表达与重症肌无力的相关性研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33(7): 513-517.
- [21] 侯红红, 黄燕萍, 等. CTLA-4 基因多态性与儿童过敏性紫癜的相关性研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2017, 19(3): 296-302.
- [22] 侯红红, 贺改涛, 刘丽, 黄燕萍. CTLA-4(AT)n 基因多态性与过敏性紫癜的相关性研究[J]. 中国妇幼保健研究, 2017, 28(40): 31-34.
- [23] Soylemezoglu, O., Peru, H., Gonen, S., *et al.* (2008) CTLA-4+49 A/G Genotype and HLA-DRB 1 Polymorphisms in Turkish Patients with Henoch-Schonlein Purpura. *Pediatric Nephrology*, **23**, 1239-1244. <https://doi.org/10.1007/s00467-008-0837-7>
- [24] Sharpe, A.H. and Freeman, G.J. (2002) The B7-CD28 Super Family. *Nature Reviews Immunology*, **2**, 116. <https://doi.org/10.1038/nri727>
- [25] Oosterwegel, M.A., Mandelbrot, D.A., Boyd, S.D., *et al.* (1999) The Role of CTLA-4 in Regulating Th2 Differentiation. *The Journal of Immunology*, **163**, 2634-2639.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页: <http://cnki.net/>, 点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”, 跳转至: <http://scholar.cnki.net/new>, 搜索框内直接输入文章标题, 即可查询;
或点击“高级检索”, 下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8712, 即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版: <http://www.cnki.net/old/>, 左侧选择“国际文献总库”进入, 搜索框直接输入文章标题, 即可查询。

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: acm@hanspub.org