

论著·临床研究

高迁移率族蛋白1在过敏性紫癜患儿血清中的表达及意义

王凤英¹ 蒋星美¹ 鲁曼²

(1. 泰兴市人民医院儿科, 江苏 泰兴 225400; 2. 泰安市中心医院儿科, 山东 泰安 271000)

[摘要] **目的** 检测过敏性紫癜(HSP)患儿外周血高迁移率族蛋白1(HMGB1)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)及D-二聚体(D-D)的表达,探讨HMGB1在HSP患儿中的意义。**方法** HSP儿童(HSP组)40例和健康儿童(对照组)30例作为研究对象。采用酶联免疫吸附法检测血清HMGB1的水平,全自动生化分析仪和全自动血凝分析仪检测血清hs-CRP及血浆D-D水平。**结果** HSP组外周血急性期HMGB1、hs-CRP、D-D含量均较对照组增高,差异有统计学意义(均 $P<0.05$);伴有肾损害者其含量高于无肾损害者($P<0.05$)。HSP患儿HMGB1表达水平与hs-CRP及D-D的表达均呈正相关(分别 $r=0.878$ 、 0.625 ,均 $P<0.001$)。**结论** HMGB1的表达与HSP患儿的炎症反应及高凝状态有关, HMGB1可能参与了儿童HSP及HSP肾损害的发病。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(8): 792-795]

[关键词] 高迁移率族蛋白1; 超敏C反应蛋白; D二聚体; 过敏性紫癜; 儿童

Expression and clinical significance of serum high-mobility group protein box 1 in children with Henoch-Schönlein purpura

WANG Feng-Ying, JIANG Xing-Mei, LU Man. Department of Pediatrics, Taixing City People Hospital, Taixing, Jiangsu 225400, China (Email: wfy6699@163.com)

Abstract: Objective To determine the expression of high-mobility group protein box 1 (HMGB1), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), and D-dimer (D-D) in the peripheral blood of children with Henoch-Schönlein purpura (HSP) and to investigate the clinical significance of HMGB1 in children with HSP. **Methods** A total of 40 children with HSP (HSP group) and 30 healthy children (control group) were involved in the study. The level of serum HMGB1 was determined using enzyme-linked immunosorbent assay, and the levels of serum hs-CRP and plasma D-D were determined using automatic biochemical analyzer and automatic blood coagulation analyzer, respectively. **Results** The levels of HMGB1, hs-CRP, and D-D in the peripheral blood of the HSP group in the acute phase were significantly higher than in the control group ($P<0.05$). The levels of the three indicators were significantly higher in HSP children with renal damage than in those without renal damage ($P<0.05$). In children with HSP, the expression of HMGB1 was positively correlated with the expression of hs-CRP and D-D ($r=0.878$, $P<0.001$; $r=0.625$, $P<0.001$). **Conclusions** The expression of HMGB1 is related to the inflammatory response and hypercoagulability in children with HSP. HMGB1 may be involved in the development of HSP and associated renal damage in children.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(8): 792-795]

Key words: High-mobility group protein box 1; High-sensitivity C-reactive protein; D-dimer; Henoch-Schönlein purpura; Child

过敏性紫癜(Henoch-Schönlein purpura, HSP)是一种以小血管为主要病变的变态反应性疾病,2012年6月欧洲风湿病年会将HSP更名为IgA血管炎,分类上隶属于小血管炎下的免疫复合

物性血管炎。HSP为儿童常见病,近年来发病率逐年增加,但其确切的发病机制迄今尚未完全清楚^[1]。目前认为HSP的发病非单一因素所致,在环境因素、个体遗传等作用下,机体出现细胞和

[收稿日期] 2014-12-12; [接受日期] 2015-02-05

[作者简介] 王凤英,女,硕士,副主任医师。

体液免疫功能紊乱,产生多种细胞因子、炎症介质、抗体等,抗体、补体和纤维蛋白原等沉积于肾小球系膜、皮肤和肠道小血管,导致小血管结构异常和损伤,进而可引起血液高凝状态及局部微血栓形成等。其中细胞因子是HSP发病中重要的因素之一^[2]。高迁移率族蛋白1(high mobility group protein box1, HMGB1)是一种新型的炎性细胞因子,具有强大的致炎作用,介导免疫炎症反应的发生和发展。研究发现HMGB1参与了类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等多种自身免疫性疾病的发生和发展^[3]。目前国内甘世伟等^[4]报道了HSP患儿HMGB1表达较对照儿童增高,且伴有肾损害、消化道症状、关节症状等的患儿与无上述症状患儿相比表达有明显差异;Chen等^[5]研究提示HMGB1可能通过诱导肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素(interleukin, IL)-6参与HSP的发病机制。超敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)是使用高敏感的检测方法检测到的低浓度的CRP,在过敏性紫癜急性期CRP等反映炎症的指标可增高。D-二聚体(D-dimer, D-D)是反映机体高凝状态和继发性纤溶的分子标志物之一。本研究通过检测HSP患儿血HMGB1、hs-CRP、D-D的表达水平,分析HMGB1与hs-CRP、D-D的相关性,旨在进一步探讨HMGB1在儿童HSP发病过程中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

采用病例对照研究,选择HSP患儿以及健康对照儿童作为研究对象。HSP组入选标准:(1)符合儿童HSP诊断标准^[6];(2)初次发病的患儿,病程在3d内;(3)近4周内未使用任何糖皮质激素或细胞毒性药物,采血前24h未使用任何药物;(4)除外伴有其他儿内科疾病者或HSP暂不能确诊者。以同期健康体检儿童为对照组,对照组入选标准:(1)年龄、性别与HSP患儿相匹配;(2)既往无过敏性疾病病史;(3)近4周内未使用任何糖皮质激素或细胞毒性药物,采血前24h未使用任何药物。本研究经我院医学伦理委员会批准,所有受试对象家长均知情同意。

40例HSP患儿纳入本研究,其中男23例,

女17例,平均年龄 7.4 ± 2.1 岁(范围3~12岁)。对照组纳入30例,其中男17例,女13例,平均年龄 7.2 ± 2.0 岁(范围4~11岁)。两组儿童的年龄、性别差异无统计学意义(分别 $t=0.461$, $P=0.646$; $\chi^2=0.005$, $P=0.944$)。40例HSP患儿中,12例合并肾损害,28例随访半年未发现肾损害。

1.2 标本采集

HSP患儿入院当日或次日清晨采集空腹外周静脉血2mL,对照组于体检日采集空腹外周静脉血2mL,离心取血清, -20°C 冰箱保存待测HMGB1含量。同时分别用临床免疫管和血凝管采集外周血测定hs-CRP和D-D含量。

1.3 血清HMGB1的检测

采用酶联免疫吸附法检测血清HMGB1的水平,试剂盒购自上海百沃科技有限公司,按照仪器操作规程和试剂盒说明书要求进行,严格控制,减少误差。以标准品浓度作为横坐标,OD值作为纵坐标,绘制标准曲线,得出标准方程,根据标准方程计算出每个样本的浓度。

1.4 血hs-CRP和D-D含量的检测

应用全自动生化分析仪检测血清hs-CRP,采用全自动血凝分析仪检测血浆D-D,严格按照操作程序完成定标和检测,同时进行室内质量控制。血清hs-CRP正常参考值0~8.83mg/L,血浆D-D为0~500mg/L。

1.5 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数的比较采用成组 t 检验。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用卡方检验。采用Pearson进行参数间的相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组儿童血HMGB1、hs-CRP及D-D含量的比较

HSP组急性期血HMGB1、hs-CRP、D-D含量均较对照组增高,差异有统计学意义,见表1。以血hs-CRP >8.83 mg/L和D-D >500 mg/L作为阳性判断结果,则HSP组血hs-CRP和D-D阳性率明显高于对照组(均 $P<0.05$),见表2。

表1 HSP组和对照组血HMGB1、hs-CRP及D-D含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 ($\mu\text{g/L}$)	hs-CRP (mg/L)	D-D (mg/L)
对照组	30	7.8 ± 1.7	1.5 ± 1.0	322 ± 155
HSP组	40	15.7 ± 3.4	10.8 ± 5.9	913 ± 678
<i>t</i> 值		11.74	8.40	6.10
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 HSP组和对照组血hs-CRP和D-D阳性率的比较

[*n* (%)]

组别	例数	hs-CRP 阳性	D-D 阳性
对照组	30	0	0
HSP组	40	22(55)	29(72)
χ^2 值		24.06	37.13
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 有无肾损害的HSP患儿血HMGB1、hs-CRP及D-D含量的比较

伴肾损害组HSP患儿血HMGB1、hs-CRP、D-D含量较无肾损害组患儿增高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表3。

表3 伴或不伴肾损害HSP儿童HMGB1、hs-CRP、D-D含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 ($\mu\text{g/L}$)	hs-CRP (mg/L)	D-D (mg/L)
非肾损组	28	14.7 ± 2.9	9.2 ± 5.4	713 ± 421
肾损组	12	18.1 ± 3.2	14.4 ± 5.8	1382 ± 922
<i>t</i> 值		3.32	2.74	3.18
<i>P</i> 值		0.002	0.009	0.003

2.3 不同性别HSP组血HMGB1、hs-CRP及D-D含量的比较

男性HSP患儿血HMGB1平均含量较女性患儿稍高,hs-CRP、D-D平均含量较女性患儿稍低,但差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表4。

表4 不同性别HSP患儿HMGB1、hs-CRP及D-D检测结果的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 ($\mu\text{g/L}$)	hs-CRP (mg/L)	D-D (mg/L)
男性	23	16.2 ± 3.2	10.0 ± 6.3	892 ± 798
女性	17	15.0 ± 3.6	11.8 ± 5.4	943 ± 492
<i>t</i> 值		1.11	0.93	0.23
<i>P</i> 值		0.273	0.359	0.818

2.4 HSP组血HMGB1与血hs-CRP及D-D的相关性

HSP患儿血HMGB1与hs-CRP、D-D均呈正相关(分别 $r=0.878$ 、 0.625 ,均 $P < 0.001$);hs-CRP与D-D呈正相关($r=0.622$, $P < 0.001$)。

3 讨论

HMGB1作为一种核内非组蛋白被发现,在细胞内参与DNA的复制、转录、翻译和修复等过程,在细胞外,具有细胞因子的功能,具有强大的致炎作用。同时也可作为内源性损伤相关的分子模式激活抗原提呈细胞,参与T、B淋巴细胞的分化、成熟和活化,从而参与多种疾病发生和发展^[7-8]。研究证实HMGB1能活化单核巨噬细胞、中性粒细胞等多种炎症细胞,促进一系列细胞因子和炎症因子如IL-1、IL-6、IL-8、基质金属蛋白酶等大量释放^[8-9];反之,许多炎症介质,如肿瘤坏死因子(TNF) α 、脂多糖、IL-1等,能促使单核巨噬细胞、中性粒细胞等加速表达和分泌HMGB1,如此恶性循环,触发瀑布式的炎症反应^[10-12]。近年研究认为HMGB1可通过调节凝血酶-血栓调节蛋白复合物、结合组织型纤溶蛋白酶原和纤溶酶原等影响凝血和纤溶系统,具有促进血栓形成和激活纤溶防治血栓形成的双重作用^[13]。HMGB1在癌症、感染性疾病、免疫性疾病、动静脉血栓、动脉粥样硬化等发生和发展中都起了重要作用^[13-14]。

hs-CRP敏感性和特异性均较CRP高,已成为临床检测的炎症标志物^[15]。本研究结果显示HSP组hs-CRP水平显著高于对照组,以阳性率来统计,对照组无一例阳性,hs-CRP阳性率达55%,与有关文献报道一致^[16]。新近研究表明CRP本身也是促炎症介质,可直接参与炎症过程,其水平高低与炎症反应的程度有关^[17-18]。以上研究结果提示,HSP患儿体内高浓度的hs-CRP可损伤血管内皮细胞,直接参与患儿的小血管炎症反应。D-D升高或阳性反映了凝血和纤溶系统的双重激活,临床上广泛用于机体高凝状态的检测。Yilmaz等^[19]研究认为D-D可作为HSP高凝状态标志物。本研究结果表明HSP组D-D阳性率明显高于对照组,测定的浓度也明显高于对照组,提示HSP患儿存在高凝状态,与已有的文献报道一致^[20-21]。可能原因

为HSP病理变化是以毛细血管炎为主的广泛的小血管炎、血管内皮细胞损伤、肿胀,病变累及部位均可有微血栓形成和继发性纤溶。本研究发现有肾损害组血hs-CRP和D-D含量均明显高于非肾损害组,提示hs-CRP和D-D增高明显者更易出现肾损害。

本研究通过检测HMGB1在HSP儿童中的表达,研究其与hs-CRP、D-D的相关性来研究HSP在儿童HSP中的作用。本研究结果显示,HSP组HMGB1血清水平较对照组明显增高,同时研究发现肾损害组HMGB1血清水平较非肾损害组明显增高。既往发现在HSP发病中,有多种细胞因子的参与,TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-26、IL-28、血管内皮生长因子、转化生长因子- β 等均可能是HSP及HSP肾炎发病的重要原因^[2,22]。本研究结果提示HMGB1可能参与了儿童HSP及HSP肾损害的发病,HMGB1增高程度高者更易发生肾损害。相关分析表明HSP患儿血清HMGB1与hs-CRP、D-D均呈正相关;hs-CRP与D-D呈正相关,因此推测HMGB1参与了HSP的血管炎症反应。HMGB1高者可间接反映HSP患儿存在血液的高凝状态,主要机制可能是HMGB1通过活化多种免疫炎症细胞,与多种细胞因子交互作用,破坏免疫平衡引起免疫紊乱、触发和加重炎症反应,引起全身小血管的损伤和炎症,而血管炎症和损害加之HMGB1本身对凝血功能的影响等可致微血栓形成,进而活化纤溶系统。近年研究认为HMGB1可作为治疗的靶点来干预多种免疫相关疾病^[23],我们拟进一步研究HMGB1参与HSP发病的分子机制,研究不同病程及药物干预下的表达等,为HMGB1治疗免疫性疾病的临床应用提供理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Rigante D, Castellazzi L, Bosco A, et al. Is there a crossroad between infections, genetics, and Henoch-Schönlein purpura[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(10): 1016-1021.
- [2] 余艳红,潘凯丽. 细胞因子在过敏性紫癜性肾炎发病机制中的作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(10): 869-872.
- [3] 潘舒月,青玉凤,周京国. 高迁移率族蛋白B1:自身免疫性疾病重要炎症分子[J/CD]. *中华临床免疫和变态反应杂志(电子版)*, 2013, 7(2): 198-202.
- [4] 甘世伟,赵林胜,王燕. HMGB1在过敏性紫癜患儿血清中的表达及临床意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2014, 39(12): 1767-1770.
- [5] Chen T, Guo ZP, Wang WJ, et al. Increased serum HMGB1 levels in patients with Henoch-Schönlein purpura[J]. *Exp Dermatol*, 2014, 23(6): 419-423.
- [6] 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.
- [7] Huang W, Tang Y, Li LH. MGB1, a potent proinflammatory cytokine in sepsis[J]. *Cytokine*, 2010, 51(2): 119-126.
- [8] Yang H, Tracey KJ. Targeting HMGB1 in inflammation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1-2): 149-156.
- [9] Venereau E, Schiraldi M, Uguccioni M, et al. HMGB1 and leukocyte migration during trauma and sterile inflammation[J]. *Mol Immunol*, 2013, 55(1): 76-82.
- [10] Wang H, Vishnubhakat JM, Bloom O, et al. Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor and interleukin 1) stimulate release of high mobility group protein-1 by pituitary cells[J]. *Surgery*, 1999, 126(2): 389-392.
- [11] Beyer C, Stearns NA, Giessl A, et al. The extracellular release of DNA and HMGB1 from Jurkat T cells during in vitro necrotic cell death[J]. *Innate Immun*, 2012, 18(5): 727-737.
- [12] Luo Y, Chihara Y, Fujimoto K, et al. High mobility group box 1 released from necrotic cells enhances regrowth and metastasis of cancer cells that have survived chemotherapy[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(3): 741-751.
- [13] 刘洋,袁海,金星. 高迁移率族蛋白B1与周围血管疾病相关性的研究进展[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(13): 6072-6075.
- [14] Kang R, Chen R, Zhang Q, et al. HMGB1 in health and disease[J]. *Mol Aspects Med*, 2014, 40C: 1-116.
- [15] Tanaskovic S, Isenovic ER, Radak D. Inflammation as a marker for the prediction of internal carotid artery restenosis following eversion endarterectomy—evidence from clinical studies[J]. *Angiology*, 2011, 62(7): 535-542.
- [16] 周利江,高纯,蒋天如,等. 血清Cys-C、ASO、hs-CRP和尿mALB对过敏性紫癜患儿早期肾功能损伤的诊断意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(23): 2908-2909.
- [17] Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis[J]. *Psychosom Med*, 2009, 71(2): 171-186.
- [18] 李平. 过敏性紫癜肾炎患儿血清hs-CRP、MMP-9的表达意义[J]. *中国实用医药*, 2013, 8(3): 10-12.
- [19] Yilmaz D, Kavakli K, Ozkayin N. The elevated markers of hypercoagulability in children with Henoch-Schönlein purpura[J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2005, 22(1): 41-48.
- [20] 赵建国. 儿童过敏性紫癜血浆D-二聚体纤维蛋白原降解物检测的临床意义及应用[J]. *中国全科医学*, 2010, 13(8C): 2725-2726.
- [21] Strizhakov LA, Chegaeva EP, Krivosheev OG, et al. Signs of hypercoagulation and activation of fibrinolysis in patients with Wegeners's granulomatosis and Schoenlein-Genoch's purpura[J]. *Klin Med (Mosk)*, 2012, 90(5): 43-45.
- [22] 江华,丁甫月,顾龙君. 过敏性紫癜患儿血清IFN- α 、IL-2、IL-4、TNF- α 水平的变化[J]. *中国当代儿科杂志*, 2002, 4(2): 117-118.
- [23] Nogueira-Machado JA, de Oliveira Volpe CM. HMGB-1 as a target for inflammation controlling[J]. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*, 2012, 6(3): 201-209.

(本文编辑: 邓芳明)