doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2018.10.009

论著·临床研究

内皮细胞微粒在过敏性紫癜患儿中的表达及意义

付书琴　郭燕军　宋春兰

（郑州大学附属儿童医院 / 河南省儿童医院 / 郑州儿童医院 /
郑州市儿童急危重症医学重点实验室，河南 郑州　450000）

［摘要］　**目的**　探讨内皮细胞微粒（EMPs）在过敏性紫癜患儿中的表达及意义。**方法**　100 例初治过敏性紫癜患儿分为紫癜性肾炎组（HSPN 组，40 例）和非肾炎组（60 例），并以 30 例健康体检儿童为对照组。采用流式细胞术或 ELISA 方法检测各组血清 EMPs、Th17 及 IL-17 的表达或含量。**结果**　Th17 及 IL-17 在 HSP 的肾炎组和非肾炎组均高于对照组，以 HSPN 组最高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。HSP 肾炎组和非肾炎组的 EMPs 水平较对照组升高，以 HSPN 组最高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。紫癜性肾炎组的 Th17、IL-17 水平与 EMPs 水平呈正相关（$r=0.830$、0.644，$P<0.05$）。**结论**　EMPs 在过敏性紫癜的发病机制中起一定作用，EMPs 升高可能是过敏性紫癜患儿肾脏受累的原因之一。

［中国当代儿科杂志，2018，20（10）：831-834］

［关键词］　内皮细胞微粒；过敏性紫癜；紫癜性肾炎；儿童

Expression and significance of endothelial microparticles in children with Henoch-Schönlein purpura

FU Shu-Qin, GUO Yan-Jun, SONG Chun-Lan. Children's Hospital of Zhengzhou University/Children's Hospital of Henan Province/Zhengzhou Children's Hospital/Zhengzhou Children's Critical Medical Key Laboratory, Zhengzhou 450000, China (Guo Y-J, Email: 15838106076@163.com)

Abstract: Objective　To study the expression and significance of endothelial microparticles (EMPs) in children with Henoch-Schönlein purpura (HSP). **Methods**　A total of 100 previously untreated children with HSP were classified to Henoch-Schönlein purpura nephritis (HSPN) group ($n=40$) and non-nephritis group ($n=60$). Thirty healthy children who underwent physical examination were enrolled as control group. Serum levels of EMPs, T helper 17 cells (Th17), and interleukin-17 (IL-17) were compared between groups. **Results**　The HSPN and non-nephritis groups had significantly higher levels of Th17 and IL-17 than the control group, and the HSPN group had the highest levels ($P<0.05$). The HSPN and non-nephritis groups had a significantly higher level of EMPs than the control group, and the HSPN group had the highest level ($P<0.05$). In the HSPN group, the levels of Th17 and IL-17 were positively correlated with the level of EMPs ($r=0.830$ and 0.644 respectively; $P<0.05$). **Conclusions**　EMPs play an important role in the pathogenesis of HSP. The increase in EMPs might be one of the reasons for renal involvement in children with HSP.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(10): 831-834]

Key words: Endothelial microparticle; Henoch-Schönlein purpura; Henoch-Schönlein purpura nephritis; Child

过敏性紫癜（Henoch-Schönlein, HSP）是一种由免疫复合物介导的小血管炎，儿童较常见，常表现为皮肤对称性紫癜，部分伴有腹痛、消化道出血、关节疼痛、肾脏损害等，其中紫癜性肾炎（Henoch-Schönlein purpura nephritis, HSPN）是最常见的一种继发性肾脏病，影响过敏性紫癜的发展及预后。HSP 的血管损伤机制尚不完全清楚，近年研究发现，内皮细胞损伤在 HSP 的发病机制中起重要作用[1]。内皮细胞微粒（endothelial microparticles, EMPs）是一种直径为 0.1~1 μm 的小

［收稿日期］2018-06-23；［接受日期］2018-08-05
［作者简介］付书琴，女，硕士，住院医师。
［通信作者］郭燕军，女，主任医师。

囊泡，由内皮细胞在激活、凋亡或代谢时释放，与动脉硬化、肿瘤及糖尿病等多种疾病的发生发展密切相关[2]。EMPs 作为内皮细胞损伤的标志物，目前已成为研究热点，但其与过敏性紫癜的关系却鲜有报道。本研究将健康儿童与 HSP 患儿的 EMPs 水平进行比较，探讨 EMPs 与 HSP 内皮细胞损伤的相关性，进一步研究 HSP 内皮细胞损伤的机制，为 HSP 及 HSPN 的诊断提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2016 年 1 月至 2017 年 12 月在河南省儿童医院初诊并治疗的 100 例 HSP 患儿为研究对象，其中尿检异常、经肾穿刺活检符合 HSPN 诊断的 40 例，非 HSPN 的 60 例。过敏性紫癜诊断参照 2006 年欧洲风湿病联盟（EULAR）和欧洲儿科风湿病学会（PRES）新标准[3]。HSPN 诊断参照 2009 年中华医学会儿科学分会肾脏病学组制定的紫癜性肾炎诊断标准[4]。并以同年龄段我院门诊体检的健康儿童 30 例为对照组。100 例 HSP 患儿的平均年龄 4.9 ± 2.1 岁。对照组平均年龄 4.6 ± 1.8 岁。HSPN、非 HSPN 及对照组三组间的年龄差异均无统计学意义（F=0.834，P>0.05）。

研究获得医院医学伦理委员会批准以及患儿家长知情同意。

1.2 EMPs 测定

所有研究对象在治疗前取空腹静脉血 5 mL（枸橼酸钠抗凝），160 rpm 离心 10 min，取上清 180 rpm 离心 10 min，取上清得到贫血小板血浆（platelets-free plasma, PFP），分装后 –80℃冰箱保存。

EMPs 测定参照文献[5]：37℃水浴箱中溶解 PFP 样本，4℃下 1500 rpm 离心 30 min，弃去上清，取 50 μL 沉淀，加入特异性荧光标记抗体（抗 CD31- 藻红蛋白、抗 CD42b-FITC 抗体，购自美国 BD 公司）10 μL，室温避光孵育 30 min，加入 1 mL PBS 待流式细胞仪检测。标本上机前用直径 1.0 μm 的标准微球进行前向角设门，使门内的微颗粒直径 <1.0 μm，然后将标本混匀上机检测，收集门内微颗粒进一步行 FITC 和 PE 荧光强度分析。EMPs 定义为直径 <1.0 μm 且 $CD31^+/CD42b^-$。每个样本收集 10000 个微粒，获得 $CD31^+/CD42b^-$EMPs 的含量。

1.3 Th17 细胞含量及血清 IL-17 水平测定

所有研究对象在治疗前采集空腹静脉血 2 mL（肝素钠抗凝），采用流式细胞术三色荧光标记法检测 Th17 细胞（$CD3^+CD8^-IL\text{-}17^+$ 细胞）含量，CD3-FITC、CD8-PerCP、IL-17-PE 抗体来自美国 BD Bioscience 公司。采用 ELISA 方法检测血清 IL-17 水平，试剂盒购自德国 QIAGen 公司。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 22.0 进行数据处理。正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，多组间两两比较采用 SNK-q 检验。两个变量的相关性分析采用 Perason 直线相关性分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组间 Th17、IL-17 及 EMPs 水平比较

Th17、IL-17 在 HSPN 及非 HSPN 组均高于对照组，以 HSPN 组最高，差异有统计学意义（P<0.05）；HSPN 及非 HSPN 患儿的 EMPs 水平较健康对照组升高，以 HSPN 组最高，差异有统计学意义（P<0.05）。见表 1。

表 1 3 组间 Th17、IL-17 及内皮细胞微粒水平比较

（$\bar{x} \pm s$）

组别	例数	Th17 (%)	IL-17 (ng/mL)	EMPs (%)
对照组	30	0.7 ± 0.3	13 ± 4	5.2 ± 1.7
非 HSPN 组	60	1.3 ± 0.2[a]	19 ± 5[a]	11.0 ± 2.6[a]
HSPN 组	40	1.6 ± 0.5[a,b]	29 ± 6[a,b]	15.2 ± 3.9[a,b]
F 值		28.771	160.429	327.849
P 值		<0.001	<0.001	0.003

注：[HSPN] 紫癜性肾炎。a 示与对照组比较，P<0.05；b 示与非 HSPN 组比较，P<0.05。

2.2 HSPN 患儿的 Th17、IL-17 水平与 EMPs 的相关性分析

HSPN 患儿的 Th17、IL-17 水平与 EMPs 水平呈正相关（r=0.830、0.644，P<0.05），见图 1、2。

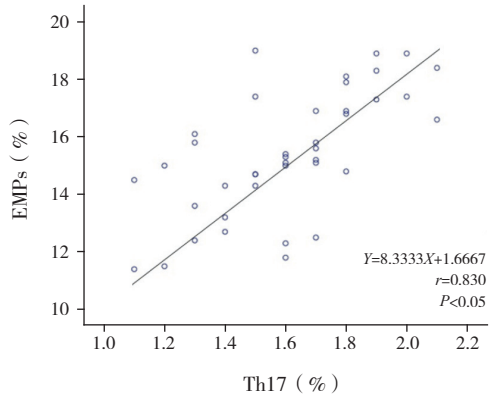

图 1　紫癜性肾炎患儿的 Th17 水平与内皮细胞微粒水平的相关性分析

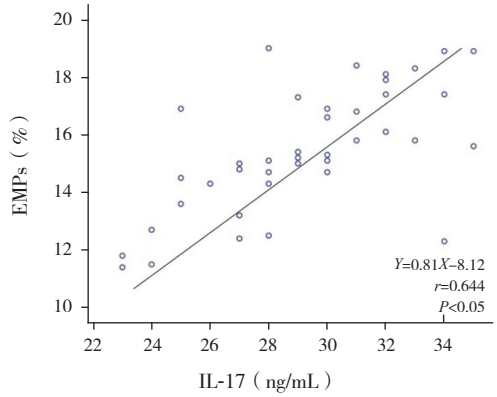

图 2　紫癜性肾炎患儿的 IL-17 水平与内皮细胞微粒水平的相关性分析

3　讨论

中性粒细胞浸润、内皮细胞损伤是过敏性紫癜的重要病理生理基础 [6]。内皮细胞损伤可释放大量促炎因子、内皮细胞微粒（EMPs）及黏附分子等，进一步诱导内皮损伤、促进炎症反应。

内皮细胞微粒（EMPs）是由活化或凋亡的血管内皮细胞释放的小囊泡，EMPs 促进 IL-6 及 IL-17 释放，而炎性因子又诱导 EMPs 产生 [7]。EMPs 损伤血管内皮细胞的机制包括：（1）一氧化氮（nitric oxide, NO）是内皮细胞性血管舒张因子，而 EMPs 可抑制内皮细胞释放 NO，降低由乙酰胆碱介导的血管舒张功能，导致内皮细胞功能损伤 [8]。（2）EMPs 促进内皮细胞损伤处的血小板聚集形成微血栓，促进血管内皮细胞损伤；（3）EMPs 影响 T 淋巴细胞活化及其功能。有研究 [9] 发现，高浓度 EMPs 干预组的 CD69 表达水平较高，而 CD69 是 T 细胞活化早期表达的蛋白 。EMPs 还可诱导 TH1 型细胞因子分泌如 IFN-γ 和 IL-2，而 IFN-γ 和 IL-2 的表达增加又可促进 Th 细胞的增殖及分化 [10]。Th 细胞的过度活化进一步激活 B 淋巴细胞，导致免疫功能紊乱。

有研究 [11] 表明，EMPs 在白塞病、脑血管疾病、急性冠脉损伤综合征、慢性肾病等均有明显升高。这些疾病均有不同程度的血管内皮细胞损伤，而血管内皮细胞损伤也是过敏性紫癜的重要病理生理基础。EMPs 在过敏性紫癜患儿中的表达及其意义尚不清楚。本研究发现，EMPs 在 HSP 的肾炎和非肾炎患儿中均明显升高，提示 EMPs 在过敏性紫癜的发病机制中可能起一定作用。而且 HSP 患儿的 IL-17 较对照组升高，提示 EMPs 可以促进 IL-6、IL-17 等炎性因子释放，与文献研究一致。结果还表明，过敏性紫癜有肾损伤患儿的 EMPs、IL-17 更高，提示升高的 EMPs 可能是过敏性紫癜患儿肾脏受累的原因之一。

免疫机制紊乱在 HSP 发生发展中占重要地位。本研究 HSPN 组的 EMPs 与 Th17 及 IL-17 表达均呈正相关，提示 EMPs 可能诱导 Th17 活化，刺激机体产生 IL-17。与文献报道一致。另有研究 [12] 表明，Th17 细胞及其分泌的 IL-17 在 HSPN 的表达高于无肾脏受累的 HSP 患儿。本研究的 Th17、IL-17 水平也是以 HSPN 组最高。

综上所述，EMPs 在过敏性紫癜的发病机制中起一定作用，升高的 EMPs 可能是过敏性紫癜患儿肾脏受累的原因之一。

［参　考　文　献］

[1] 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.
[2] 刘成海，胡厚源．细胞衍生微粒与疾病 [J]. 中国动脉硬化杂志，2016, 24(11): 1179-1182.
[3] Ozen S, Ruperto N, Dillon MJ, et al. EULAR/PReS endorsed consensus criteria for the classification of childhood vasculitides[J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(7): 936-941.
[4] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组．紫癜性肾炎的诊治循证指南（试行）[J]. 中华儿科杂志，2009, 47(12): 911-912.
[5] 姜敏，王晶，张洪平，等．频繁急性加重型慢性阻塞性肺病患者血浆血管内皮微粒水平分析 [J]. 临床检验杂志，2017, 35(7): 514-517.
[6] 李成荣，周玉峰，付劲蓉．粘附分子在过敏性紫癜患者血管内皮细胞中的作用探讨 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志，

2002, 22(5): 563-565.
[7] Nazari A, Zahmatkesh M, Mortaz E, et al. Effect of methamphetamine exposure on the plasma levels of endothelial-derived microparticles[J]. Drug Alcohol Depend, 2018, 186: 219-225.
[8] Mezentsev A, Merks RM, O'Riordan E, et al. Endothelial microparticles affect angiogenesis in vitro: role of oxidative stress[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(3): H1106-H1114.
[9] Alari-Pahissa E, Notario L, Lorente E, et al. CD69 does not affect the extent of T cell priming[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e48593.
[10] 刘长营 , 孙奕 . 内皮细胞微粒诱导 T 细胞活化并产生 Th1 型细胞因子 [J]. 检验医学 , 2014, 29(4): 357-362.
[11] 范秋玉 , 许珂 , 张莉芸 , 等 . 白塞病血循环内皮微粒的检测及临床意义分析 [J]. 中华风湿病学杂志 , 2017, 21(12): 824-828.
[12] 张建江 , 史佩佩 , 王淼 , 等 . Th17/Treg 失衡及 IL-17、TGF-β1 水平在儿童过敏性紫癜和紫癜性肾炎中的研究 [J]. 中华肾脏病杂志 , 2014, 30(9): 702-703.

（本文编辑：俞燕）

·消息·

关于举办 2018 亚洲新生儿医学国际研讨会的通知

复旦大学附属儿科医院、国家儿童医学中心、国家卫健委新生儿疾病重点实验室拟于 2018 年 11 月 23~25 日在上海举办第二届亚洲新生儿医学国际研讨会（The Neonate 2018: 2nd International Symposium for Asia），内容包括国际新生儿医学临床新技术理论研究最前沿进展及亚洲与中国新生儿医学发展、交流与合作中的热点议题。大会学术交流包括主题演讲、工作研讨会、壁报讨论及专题卫星会议等。主办方委托上海迈诗会展有限公司承办大会所有会务事宜。

中方大会学术委员会主席为孙波教授(bsun@shmu.edu.cn)，中方组织委员会主席为孙波、陈超教授(chen6010@163.com）。会议地点：上海虹桥假日酒店（旗舰店），上海市闵行区七莘路 3555 号，邮编 201101。大会将对主题演讲提供中文同声翻译服务。对正式注册的国内代表授予国家级继续医学教育Ⅰ类学分 10 分。

壁报投稿须知：

1. 投稿交流论文须提供英文摘要，按目的、方法、结果、结论四段式格式书写，第一作者须为投稿者本人，并且是该研究的主要完成者。随稿用英文注明作者姓名、单位、联系方式等基本信息。

2. 投稿论文内容须为 2018 年 5 月 1 日以前未公开发表的，属于以下类别的研究(包括临床研究及相关基础研究)。

- Stabilization of high risk infants
- Pulmonary diseases and respiratory care
- BPD
- Brain injury, outcome
- Neurology
- Follow-up
- Infections, neonatal sepsis
- Nutrition and metabolism
- Drugs
- Preventive strategies

投稿方式，请链接获得具体要求：www.mcascientificevents.eu/the-neonate/abstract-submission 或登录以下中文网址：neonate2018.medmeeting.org。

不接受邮件投稿。投稿截止日期：2018 年 10 月 1 日，经学术委员会专家评议后，于 2018 年 10 月 15 日前通知投稿者结果。

中国参会代表可登录 http://neonate2018.medmeeting.org/cn 注册并付费，及预订旅馆住宿。大会会务组确认并发送正式参会邀请函。

联系方式：会务：上海迈诗会展有限公司朱老师，电话：18201820813，Email：Jasonzhu@shanghaimice.com；学术：复旦大学附属医院袁琳医师（会议秘书），Email：drlynnyuan@163.com。

复旦大学附属儿科医院
2018 年 4 月 30 日