

· 临床研究 ·

## 过敏性紫癜患儿血、尿标本中 IL-13 受体 $\alpha 2$ 水平及其他细胞因子的检测分析

余艳红<sup>1</sup>, 潘凯丽<sup>1</sup>, 李琦<sup>2</sup>, 张宝娟<sup>1</sup>, 黄莹<sup>1</sup>, 张静静<sup>1</sup>, 杜莉<sup>1</sup>

(1. 第四军医大学西京医院 1. 儿科; 2. 免疫学教研室, 陕西 西安 710032)

**[摘要]** 目的 探讨过敏性紫癜(HSP)患儿血清和尿中 IL-13 受体  $\alpha 2$  (IL-13R $\alpha 2$ )与白细胞介素(IL)-4, -6, -8, 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )的关系及其临床意义。方法 采用 ELISA 法检测了 52 例 HSP 患儿(其中 29 例有肾脏损害)以及 45 例正常健康儿童的血清和尿 IL-13R $\alpha 2$  及 IL-4, -6, -8, TNF- $\alpha$  水平,比较上述各组患儿的 IL-13R $\alpha 2$  与各细胞因子水平的关系。结果 ①HSP 患儿的血清中 IL-4, IL-6, IL-8, IL-13R $\alpha 2$  及 TNF- $\alpha$  水平高于健康对照组( $P < 0.01$ 或 $0.05$ );HSP 患儿尿液中 IL-6, TNF- $\alpha$  水平高于正常对照组( $P < 0.01$ )。②有肾损害(HSPN)组血清IL-4, -6, -8, IL-13R $\alpha 2$  及 TNF- $\alpha$  水平均高于健康对照组;有肾损害(HSPN)组尿液中 IL-6, IL-13R $\alpha 2$  及 TNF- $\alpha$  水平高于健康对照组。结论 IL-13R $\alpha 2$ , IL-4, -6, -8, TNF- $\alpha$  均可能参与 HSP/HSPN 的发病过程。

[中国当代儿科杂志, 2009, 11(1): 37-40]

**[关键词]** 过敏性紫癜; 紫癜性肾炎; 白介素; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 细胞因子; 儿童

**[中图分类号]** R554<sup>+</sup>.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)01-0037-04

### Roles of serum and urinary interleukins 13R $\alpha 2$ and other cytokines in pediatric Henoch-Schonlein purpura

YU Yan-Hong, PAN Kai-Li, LI Qi, ZHANG Bao-Juan, HUANG Ying, ZHANG Jing-Jing, DU Li. Department of Pediatrics, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China (Pan K-L, Email: kailipan@fmmu.edu.cn)

**Abstract: Objective** To study the roles of serum and urinary interleukins (IL)-13R $\alpha 2$ , IL-4, IL-6, IL-8 and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in pediatric Henoch-Schonlein purpura (HSP). **Methods** Serum and urinary levels of IL-13R $\alpha 2$ , IL-4, IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  were examined using ELISA in 52 children with HSP and 45 healthy children. The results were compared between the two groups. **Results** Serum levels of IL-13R $\alpha 2$ , IL-4, IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  in HSP patients with or without renal lesions were higher than those in the control group ( $P < 0.01$  or  $0.05$ ). Urinary levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in HSP patients without renal lesions were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Except for urinary levels of IL-6 and TNF- $\alpha$ , urinary IL-13R $\alpha 2$  levels in HSP patients with renal lesions (HSPN) were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Cytokines IL-13R $\alpha 2$ , IL-4, IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  may play roles in the pathogenesis of pediatric HSP/HSPN. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11(1): 37-40]

**Key words:** Henoch-Schonlein purpura; Henoch-Schonlein purpura nephritis; Interleukin; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Cytokine; Child

过敏性紫癜(Henoch-Schonlein purpura, HSP)是一种系统性小血管变态反应性炎症,17岁以下儿童年发病率为13~20人/10万<sup>[1]</sup>。伴肾脏损害的称为过敏性紫癜性肾炎(HSPN)。HSPN是导致儿童慢性肾功能不全的主要疾病。Davín等<sup>[2]</sup>20年的随访观察发现,在HSPN中逐渐发展为慢性肾功能衰竭者高达20%。HSP及HSPN病因及发病机制尚未明确。但近年来的研究显示HSP存在着明显

的免疫功能紊乱,表现为多克隆B细胞异常活化,T细胞亚群紊乱,其中Th1和Th2类免疫细胞的失调则引起免疫功能紊乱。研究发现<sup>[3]</sup>,Th细胞亚群在HSPN患者体内发生明显改变。在HSP急性期,Th1/Th2出现失衡<sup>[4]</sup>,呈现Th2相对优势,患儿体液免疫应答为主导地位,Th1/Th2失衡,细胞因子网络也发生改变,引起全身和肾脏局部免疫紊乱,从而促进了HSP/HSPN的发生、进展。而白细胞介素

[收稿日期]2008-05-06;[修回日期]2008-06-18

[作者简介]余艳红,女,硕士研究生。主攻方向:儿童肾脏疾病。

[通讯作者]潘凯丽,女,教授,第四军医大学西京医院儿科,邮编:710032。

(IL)-4,-6,-8,-13Rα2 及肿瘤坏死因子 α (TNF-α) 作为调节细胞免疫重要细胞因子,在 HSP/HSPN 发病机制中起重要作用。本实验对上述因子进行检测,找出其中关系,为研究 HSP/HSPN 发病机制提供免疫学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 对象

52 例 HSP 患儿均为我院 2007 年 2 月至 2008 年 1 月初次住院,且符合 HSP 诊断标准<sup>[5]</sup>。HSP 组男 31 例,女 21 例,年龄 4~14 岁,平均为 8.4 ± 4.9 岁。52 例患儿根据是否存在肾损害分为伴有肾损害组(29 例)和不伴有肾损害组(23 例)。对照组 45 例为我院门诊体检健康儿童。男 25 例,女 20 例,年龄 2~12 岁,平均为 8.1 ± 5.4 岁。两组在年龄、性别上无明显差别。

### 1.2 方法

取 HSP 组、HSPN 组治疗前及正常对照组清晨空腹静脉血 2 mL,2 000 r/min,离心 10 min,分离收集血清,并留取 3 组新鲜清晨中段尿 5 mL,2 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,置于 -20℃ 冰箱保存

待测。

血清和尿液 IL-13Rα2、IL-4、IL-6、IL-8、TNF-α 采用双抗体夹心 ELISA 测定。试剂盒由第四军医大学免疫学教研室提供,敏感度为 100 μg/L,酶标仪 Microplate Reader 为美国 Bio-Rad 公司产品,在 450 nm 处读出吸光度(A)值,操作严格按照说明书进行。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件进行处理。计量资料用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较用 *t* 检验,多组间的两两比较用 *q* 检验,*P* < 0.05 差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 3 组儿童血清各因子水平比较

有肾损害组及无肾损害组血清中 5 种细胞因子水平均明显高于对照组(表 1)。

### 2.2 3 组儿童尿液各因子水平比较

尿液中有肾损害组 IL-13Rα2、TNF-α 及 IL-6 水平高于对照组,无肾损害组 IL-6、TNF-α 高于对照组(表 2)。

表 1 3 组儿童血清 IL-13Rα2,IL-4,IL-6,IL-8,TNF-α 水平比较

( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )

组别	例数	IL-13Rα2	IL-4	IL-6	IL-8	TNF-α
对照组	45	2.175 ± 1.755	0.121 ± 0.109	0.084 ± 0.075	0.039 ± 0.048	0.076 ± 0.065
无肾损害组	23	3.547 ± 2.711 <sup>b</sup>	0.785 ± 0.141 <sup>a</sup>	0.697 ± 0.335 <sup>a</sup>	0.912 ± 0.487 <sup>a</sup>	0.834 ± 0.288 <sup>a</sup>
有肾损害组	29	7.562 ± 5.829 <sup>a</sup>	0.945 ± 0.279 <sup>a</sup>	0.832 ± 0.707 <sup>a</sup>	1.045 ± 0.504 <sup>a</sup>	1.452 ± 0.627 <sup>a</sup>

与对照组比较,a:*P* < 0.01; b:*P* < 0.05

表 2 3 组儿童尿液 IL-13Rα2,IL-4,IL-6,IL-8,TNF-α 水平比较

( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )

组别	例数	IL-13Rα2	IL-4	IL-6	IL-8	TNF-α
对照组	45	10.089 ± 0.832	0.384 ± 0.037	0.155 ± 0.123	1.211 ± 0.015	0.018 ± 0.007
无肾损害组	23	11.026 ± 3.430	0.422 ± 0.343	0.459 ± 0.130 <sup>a</sup>	1.394 ± 0.721	1.518 ± 1.331 <sup>a</sup>
有肾损害组	29	17.904 ± 4.599 <sup>b</sup>	0.570 ± 0.515	0.816 ± 0.239 <sup>a</sup>	1.591 ± 0.949	3.309 ± 1.892 <sup>a</sup>

a:与对照组比较,*P* < 0.01; b:*P* < 0.05

## 3 讨论

HSP 是儿童时期一种常见的免疫复合物引起的系统性小血管炎,血管壁因免疫损伤而通透性增高,血液和淋巴液渗出,从而引起皮肤、黏膜、内脏器官等多部位病变。发病率高,且易反复发作,容易累及肾脏引起 HSPN。HSP 时 HSPN 的发生率以尿常规改变估计,为 30%~60%,但若以肾病理改变为标

准估计,在 90% 以上<sup>[6]</sup>。HSP/HSPN 发病机制主要为体液免疫异常,也涉及细胞免疫,同时有细胞因子与炎症介质的参与,凝血与纤溶紊乱和基因多态性改变也发挥重要作用<sup>[7]</sup>。目前的研究显示 HSPN 的发生、发展乃至硬化的序贯过程与细胞因子关系密切。本试验研究结果显示 IL-4,-6,-8,IL-13Rα2 及 TNF-α 与 HSP/HSPN 的发生和发展存在一定的相关性。

IL-4,IL-6,IL-8,TNF-α 作为前炎症细胞因子,

在 HSPN 肾小球损害中起破坏作用;IL-13 作为抗炎性细胞因子,在 HSPN 肾小球损害中起保护作用。在肾小球肾炎的过程中存在前炎症因子和抗炎因子途径的平衡,这种平衡通过聚集前炎症和抗炎因子来调节。本文研究结果显示 HSP 患儿血清中 IL-4、-6、-8,IL-13R $\alpha$ 2 及 TNF- $\alpha$  水平均显著高于健康对照组,其中 IL-4 促进活化 B 细胞的增殖,并可促进 B 细胞产生 IgG1,IgE 和 sIgM,调节 B 细胞和单核细胞表达 IgE Fc 受体 Fc $\epsilon$ R II (CD23),而参与变态反应性疾病的发病过程<sup>[8]</sup>。由于大量 IgE 吸附在肥大细胞上,当 IgE 与变应原结合后使肥大细胞释放出生物活性介质,导致变态反应性炎症。故 IL-4 对 IgE 有重要作用,IL-4 通过促进 IgE 合成,可能引起 HSP 的发病。本实验提示 HSP 患儿血清 IL-4 水平较健康组明显升高,与朱国际<sup>[9]</sup>研究结果相符。IL-6 是一种具有多种免疫调节功能的细胞因子,人肾小球系膜细胞在正常情况下,体内不表达 IL-6,而在增殖性的肾小球肾炎的肾小球系膜细胞 IL-6 表达上调。IL-6 不仅可促进 T 细胞活化、增殖,而且可以直接刺激肾小球系膜组织增生,并导致肾小球纤维化。另外,IL-6 促使 B 细胞分化和 IgA 分泌活跃,IgA 沉积于毛细血管壁和肾小球系膜区,对毛细血管和肾小球造成一定损伤。HSPN 的主要病理改变为系膜增殖性肾炎(MPGN),Fukatsu 等<sup>[10]</sup>证实 MPGN 患者的循环系统和尿中 IL-6 水平明显高于正常人或微小病变患者。Watts 等<sup>[11]</sup>报道 HSPN 的 IL-6 水平在治疗前高于对照组,治疗后正常。本实验 HSP 伴有肾损害组及无肾损害组患儿血清和尿液中 IL-6 水平均高于对照组,说明 IL-6 参与了 HSP/HSPN 的发病过程。IL-8 是强效中性粒细胞趋化因子,可使中性粒细胞在全身小血管周围聚集并激活,而活化的中性粒细胞自身也可产生 IL-8,使中性粒细胞进一步聚集,引起炎症的自身放大效应,加重 HSPN 的炎症反应。研究显示 IL-8 在 HSP 急性期升高<sup>[12]</sup>。另有研究表明,急性期 HSP 患者血清和循环免疫复合物 IgA 刺激血管内皮细胞释放 IL-8<sup>[13]</sup>,本实验结果与之相符。说明 IL-8 作为 HSP/HSPN 的重要炎症性因子,参与了 HSP/HSPN 的病理生理过程。TNF- $\alpha$  是一种强效的炎症性细胞因子,TNF- $\alpha$  能诱导肾小球内皮细胞和系膜细胞表达 MHC I、II 类分子,特别是诱导 ICAM-1 的持续表达,在不同组织异常表达的结果通常都是炎症和组织损伤。在多种实验性肾炎动物及肾小球肾炎病人的血清、尿液可见到 TNF- $\alpha$  表达增加<sup>[14,15]</sup>。有研究表明 TNF- $\alpha$  和 IL-6 在儿童 HSP 中急性期高于恢复

期及健康对照<sup>[16]</sup>。Ha<sup>[17]</sup>发现 HSPN 急性期血清中 TNF- $\alpha$  较 HSP 无肾脏受累增高,HSPN 患儿急性期尿液中 TNF- $\alpha$  升高无显著性。本实验 HSP 伴有肾损害组及无肾损害组患儿血清和尿液中 TNF- $\alpha$  水平均高于对照组,提示 TNF- $\alpha$  水平增高与 HSP/HSPN 密切相关。

IL-13 通过受体复合物介导发挥多效性的免疫调节细胞因子作用,IL-13R $\alpha$ 2 仅与 IL-13 结合具有高亲和力。IL-13 与细胞膜上受体结合,能够活化信号传导途径而使 IL-13 的生物学活性得以充分表现出来。顾晓虹等<sup>[18]</sup>研究显示长期存在高浓度 IL-13 能持续活化受体的信号通路,很容易使机体处于过敏性疾病的易感状态。Kimata 等<sup>[19]</sup>研究结果表明肾病综合征患者外周血中有 IL-13R 的表达。Bernard 等<sup>[20]</sup>研究示 IL-13R $\alpha$ 2 在肾细胞癌中呈现高表达。用抗 IL-13R 抗体阻断 IL-13R 生物效应,下调 ICAM-1 表达,有利于增强肾肿瘤的治疗效果。本实验 HSPN 组血和尿中 IL-13R $\alpha$ 2 水平明显高于无肾损害组及对照组,因此将 IL-13 受体水平的变化作为 HSPN 的一个免疫学指标具有一定的临床意义。关于 IL-13R $\alpha$ 2 在 HSP/HSPN 中的表达还需深入研究,尤其是 IL-13R $\alpha$ 2 细胞因子与其他因子在 HSP/HSPN 发病过程中的关系还有待进一步研究。

HSP 发病与多种细胞因子有关<sup>[21-23]</sup>,IL-4、-6、-8,IL-13R $\alpha$ 2 及 TNF- $\alpha$  均参与了 HSP/HSPN 的病理生理过程,但是 IL-13R $\alpha$ 2 细胞因子比其他因子更能反映发病过程。临床上进行不同种类细胞因子血清及尿液含量的检测(包括细胞因子受体及其拮抗剂的检测),可以作为 HSP 病情轻重和预后判断的指标,可以根据细胞因子受体的基因型对易感患儿采取保护措施,中和细胞因子或抑制其受体,在治疗上为 HSP/HSPN 提供了新途径。

#### [参 考 文 献]

- [1] Yang YH, Chuang YH, Wang LC, Huang HY, Gershwin ME, Chiang BL. The immunobiology of Henoch-Schönlein purpura [J]. *Autoimmun Rev*, 2008, 7(3):179-184.
- [2] Davin JC, Weening JJ. Diagnosis of Henoch-Schönlein purpura: renal or skin biopsy? [J]. *Pediatr Nephrol*, 2003, 18(12):1201-1203.
- [3] 许自川,曾雪琪,党西强,何小解. Th1/Th2 迁移与紫癜性肾炎的研究进展[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2007, 27(1):64-67.
- [4] Tahan F, Dursun I, Poyrazoglu H, Gurgoze M, Dusunsel R. The role of chemokines in Henoch Schonlein Purpura[J]. *Rheumatology Int*, 2007, 27(10):955-960.
- [5] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京:人民卫生出版社, 2002, 689-690.

- [6] 杨霁云. 小儿过敏性紫癜性肾炎诊治中的几个问题[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2004, 13(2):147-149.
- [7] 徐志泉, 何小解, 易著文. 过敏性紫癜性肾炎发病机制的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(5):677-679.
- [8] Mire-Sluis AR, Thorpe R. Cytokines[M]. San Diego: Academic Press Inc, 1998, 53.
- [9] 朱国际. 儿童过敏性紫癜 CD40-CD40L 的表达[J]. 中国血液流变学杂志, 2005, 15(1):115-116.
- [10] Fukatsu A, Matsuo S, Tamai H, Sakamoto N, Matsuda T, Hirano T. Distribution of interleukin-6 in normal and diseased human kidney[J]. Lab Invest, 1991, 65(1):61-66.
- [11] Watts RA, Scott DG. Epidemiology of the vasculitides[J]. Curr Opin Rheumatol, 2003, 15(1):11-16.
- [12] Yang YH, Lai HJ, Huang CM, Wang LC, Lin YT, Chiang BL. Sera from children with active Henoch-Schönlein purpura can enhance the production of interleukin 8 by human umbilical venous endothelial cells[J]. Ann Rheum Dis, 2004, 63(11):1511-1513.
- [13] Ozaltin F, Bakkaloglu A, Ozen S, Topaloglu R, Kavak U, Kalyoncu M, et al. The significance of IgA class of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in childhood Henoch-Schönlein purpura[J]. Clin Rheumatol, 2004, 23(5):426-429.
- [14] Bertani T, Abbate M, Zoja C, Corna D, Perico N, Ghezzi P. Tumor necrosis factor induces glomerular damage in the rabbit[J]. Am J Pathol, 1989, 134(2):419-430.
- [15] Ozen S, Saatci U, Tinaztepe K, Bakkaloglu A, Barut A. Urinary tumor necrosis factor levels in primary glomerulopathies[J]. Nephron, 1994, 66(3):291-294.
- [16] Tsuji Y, Abe Y, Hisano M, Sakai T. Urinary leukotriene E4 in Henoch-Schönlein purpura[J]. Clin Exp Allergy, 2004, 34(8):1259-1261.
- [17] Ha TS. The role of tumor necrosis factor-alpha in Henoch-Schönlein purpura[J]. Pediatr Nephrol, 2005, 20(2):149-153.
- [18] 顾晓虹, 刘文彬, 王太森, 王剑峰, 郑淑梅, 李琴. 初发过敏性紫癜患儿免疫功能研究[J]. 西南国防医药, 2004, 14(2):136-137.
- [19] Kimata H, Hujimoto M, Furusho K. Involvement of interleukin (IL)-13, but not IL-4, in spontaneous IgE and IgG4 production in nephrotic syndrome[J]. Eur J Immunol, 1995, 25(6):1497-1501.
- [20] Bernard J, Treton D, Vermot-Desroches C, Boden C, Horellou P, Angevin E, et al. Expression of interleukin 13 receptor in glioma and renal cell carcinoma: IL13R alpha 2 as a decoy receptor for IL13[J]. Lab Invest, 2001, 81(9):1223-1231.
- [21] 孙大庆, 张秋业, 董增义, 白枫. 过敏性紫癜患儿树突细胞分泌白细胞介素-12 水平与 TH1/TH2 的变化[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(4):307-310.
- [22] 廖培元, 吴升华. 过敏性紫癜患儿血清白三烯 B4, 白介素-5 的测定及临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(3):198-200.
- [23] 江华, 丁甫月, 顾龙君. 过敏性紫癜患儿血清 TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4 水平的变化[J]. 中国当代儿科杂志, 2002, 4(2):117-118.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

## 《儿童脑性瘫痪综合诊治与康复》一书已出版

由华夏英才基金资助、郭新志主编的《儿童脑性瘫痪综合诊治与康复》一书由科学出版社出版, 本书共分十四章, 系统地论述了脑性瘫痪的定义、病因、临床分型及中医对脑性瘫痪的认识, 重点介绍了中西医综合对脑性瘫痪的康复治疗; 详细介绍了现代康复治疗技术如 Bobath、Voita 技术; 重点介绍了中医康复治疗的方法, 如推拿疗法、针刺疗法、穴位药物注射、中药治疗、头足反射疗法等在脑性瘫痪康复中的应用。同时还介绍了脑性瘫痪的现代化康复治疗的方法、康复工程在脑性瘫痪康复中的应用及网络远程康复和教育、汽车医院康复; 详细阐述了脑性瘫痪的预防, 包括孕前、孕期、围生期及产后的预防。本书详细介绍了郭新志及课题组多年在临床中使用的各种经验方剂。本书可供脑瘫预防和治疗、儿童康复、残疾人工作者等专业技术人员、科研机构、医学院校等使用, 可作为政府计划生育和卫生行政机构相关人员的工具书, 脑瘫康复培训班的教科书及中外学习班的教材及患儿家长的参考书。

各地新华书店和医学专业店有售, 定价 50.00 元。邮购电话: 010-64034601, 地址: 北京市东黄城根北街 16 号 科学出版社温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、是否要发票等)。邮编: 100717