

免疫与感染

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000254

复方甘草酸苷对儿童过敏性紫癜 Th17/Treg 细胞免疫的影响

黄应波,唐雪梅,张宇,李瑞娟,刘玮,吴道奇,李秋

(重庆医科大学附属儿童医院肾脏免疫科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、

重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地,重庆 400014)

【摘要】目的:探讨复方甘草酸苷(compound glycyrrhizin, GL)治疗儿童过敏性紫癜(Henoch-Schonlein purpura, HSP)的临床疗效,从 Treg、Th17 细胞及促炎因子方面探讨其免疫学机制。**方法:**27 例初发 HSP 病人作为治疗组,26 例作为疾病对照组,25 例健康儿童作为正常对照组。治疗组在疾病对照组的基础上增加 GL(0.5~2.0 ml/kg)静脉注射 7 d 治疗;留取治疗前后全血 PBMC 行流式检测 Treg、Th17 细胞阳性率,血浆 ELISA 法检测促炎因子 TNF- α ,干扰素诱导蛋白-10(interferon inducible protein-10, IP-10),白介素 17(interleukin-17, IL-17),干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)浓度变化。**结果:**①临床症状:治疗组皮疹消退时间较疾病对照组有缩短趋势,肾损害有缓解,1 月内紫癜复发率低;②Treg、Th17 细胞比例:治疗组治疗前 Treg 细胞阳性率低于正常对照组($P=0.010$);治疗后与正常对照组无统计学差异($P=0.059$);疾病对照组治疗后 Treg 低于治疗前及正常对照组($P=0.006$, $P=0.013$)。治疗组治疗前 Th17 细胞阳性率高于治疗后及正常对照组水平($P=0.024$, $P=0.013$);治疗后 Th17 与正常对照组无统计学差异($P=0.337$)。疾病对照组治疗前 Th17 亦明显高于治疗后水平($P=0.014$)。③炎症因子:2 组 HSP 治疗前血浆 IL-17, IFN- γ 浓度均高于正常对照组水平($P=0.013$, $P=0.010$);治疗组治疗后与正常对照组无统计学差异($P=0.052$, $P=0.154$),疾病对照组两指标治疗前后比较无统计学差异($P=0.218$, $P=0.970$)。治疗组治疗前血浆 TNF- α , IP-10 均高于治疗后($P=0.011$, $P=0.037$),疾病对照组治疗前后 2 指标无统计学差异($P=0.247$, $P=0.709$)。**结论:**①GL 治疗儿童 HSP,可减轻肾损害、短期内减少紫癜复发。②HSP 患儿急性期,具有促炎作用的 Th17 和抗炎作用的 Treg 可能共同参与了其免疫发病。③GL 具有下调 Th17、上调 Treg 细胞比例,降低血浆 IL-17、IFN- γ 、TNF- α 、IP-10 水平的作用,提示 GL 可能具有一定 T 细胞免疫调节功能,在佐治儿童 HSP 免疫炎症方面有一定疗效。

【关键词】过敏性紫癜;复方甘草酸苷;Th17/Treg;促炎因子**【中图分类号】**R593**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-09-25

Effect of compound glycyrrhizin on Th17/Treg cells in children with Henoch-Schonlein purpura

Huang Yingbo, Tang Xuemei, Zhang Yu, Li Ruijuan, Liu Wei, Wu Daoqi, Li Qiu

(Department of Nephrology and Immunology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders)

【Abstract】Objective: To investigate the role of Th17/Treg and some cytokines imbalance in the pathogenesis of childhood Henoch-Schonlein purpura (HSP) and to further explore the clinical effectiveness and immunomodulatory effects of compound glycyrrhizin (GL) in HSP. **Methods:** Twenty-seven HSP patients were chose as GL-treated group, another 26 patients were used as conventional therapy group, and 25 age- and sex-matched healthy children were used as healthy controls. Intravenous injection of 0.5-2.0 ml/kg GL for 7 days was provided in GL-treated group on the basis of treatments in conventional therapy group. Blood samples of patients were obtained at the acute stage and after 7 days' treatment. Positive cell rates of peripheral Th17 and Treg cells were detected by flow cytometry using intracellular staining. Serum levels of interleukin-17, interferon- γ , TNF- α , interferon inducible protein-10 were detected by ELISA. **Results:** ①Clinical effectiveness: renal complications in GL-treated group were relieved and recurrence of HSP within 1 month was lower. ②Positive cell rate of Treg and Th17 cell: compared with that of healthy controls, the positive cell rate of Treg in GL-treated group was significantly down-regulated during acute phase ($P=0.010$) and was up-regulated after the treatment ($P=0.059$). In conventional therapy group, positive cell rate of Treg was lower after the treatment compared with that before treatment and that of healthy control group ($P=0.006$, $P=0.013$). The positive cell rate of Th17 in GL-treated group was significantly higher before the treatment compared with that after the treatment and that of conventional therapy group ($P=0.024$, $P=0.013$). After the treatment, there was no difference in the positive cell rate of Th17 between GL-treated group and conventional therapy group ($P=0.337$). The

作者介绍:黄应波, Email: 1239885009@qq.com,

研究方向:儿童风湿免疫。

通信作者:唐雪梅, Email: tangxuemei2008@163.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000254.html>ment compared with that after the treatment and that of conventional therapy group ($P=0.024$, $P=0.013$). After the treatment, there was no difference in the positive cell rate of Th17 between GL-treated group and conventional therapy group ($P=0.337$). The

positive cell rate of Th17 in conventional therapy group was significantly higher before the treatment compared with that after the treatment ($P=0.014$). ③Cytokines: Serum levels of IL-17 and IFN- γ were higher in GL-treated group and conventional therapy group than in healthy control group before the treatment ($P=0.013, P=0.010$). There was no difference in serum levels of IL-17 and IFN- γ between GL-treated group after the treatment and healthy control group ($P=0.052, P=0.154$). There was no difference in serum levels of IL-17 and IFN- γ in conventional therapy group before and after the treatment ($P=0.218, P=0.970$). Serum levels of TNF- α and IP-10 in GL-treated group were down-regulated after the treatment ($P=0.011, P=0.037$). But no difference was detected in conventional therapy group before and after the treatment ($P=0.247, P=0.709$). **Conclusion:** ①GL could relieve the renal complications and decrease recurrence of HSP in a short period of time. ②Treg and Th17 might in part contribute to the process of HSP. ③GL could help to up-regulate Treg and down-regulate Th17, IL-17, IFN- γ , TNF- α , IP-10 level, thus regulating the Th17/Treg deviation and cytokine imbalance and alleviating cellular immunity in HSP.

【Key words】Henoch-Schonlein purpura; compound glycyrrhizin; Th17/Treg; cytokines

过敏性紫癜, 又称亨-舒综合征 (Henoch-Schonlein purpura, HSP), 是儿童时期常见的小血管炎性疾病, 以非血小板减少型紫癜、腹痛、关节炎、肾脏损害等多器官受累为特征^[1]。目前认为: 细胞及体液免疫异常为其主要发病机制之一。近年来, Th17/Treg 失衡学说在各种免疫性疾病中的作用越来越受到重视。复方甘草酸苷 (compound glycyrrhizin, GL) 是一类同时具有抗过敏、抗炎、免疫调节作用的药物, 本实验拟通过对 Th17/Treg 细胞亚群及相关炎症因子的研究, 进一步探讨 GL 治疗儿童 HSP 的免疫作用机制。

1 资料和方法

1.1 研究对象及分组

收集 2012 年 5 月至 2013 年 6 月于我院肾脏免疫科住院的初诊 HSP 患儿 53 例 (采集标本时间在皮疹初发 7 d 以内), 符合 2010 年的欧洲抗风湿病联盟和欧洲儿科风湿病学共同制定的 HSP 诊断标准^[2], 按照随机数字法分为 2 组: 治疗组 27 例, 其中男 15 例、女 12 例, 年龄: 4 岁~15 岁 9 月, 平均年龄: 8 岁零 7 月; 疾病对照组 26 例, 其中男 15 例、女 11 例, 年龄: 2 岁 6 月至 14 岁 11 月, 平均年龄: 8 岁零 1 月。疾病对照组给予抗过敏及改善循环治疗如氯雷他定、西米替丁、肝素钠等, 治疗组在其基础上予以 GL 注射液 (深圳健安医药有限公司, 商品名: 美能) 0.5~2.0 ml/kg 静脉注射 7 d, 2 组在治疗前后均未使用糖皮质激素及其他免疫抑制剂。入选患者均除外血液系统疾病、肝炎、肿瘤及免疫缺陷病等, 观察期间因消化道出血或肾损害加重退出试验 8 例 (治疗组 2 例, 疾病对照组 6 例)。另选择 25 例儿童保健门诊的健康儿童作为正常对照组, 各组性别及年龄比较无统计学差异。本研究经过医院伦理委员会书面审查通过, 患方监护人均签署知情同意书。

1.2 临床观察

2 组 HSP 患儿临床症状如表 1 所示, 观察用药 7 d 后紫癜样皮疹, 消化道症状 (腹痛、大便隐血阳性), 关节症状 (关节疼痛、肿胀) 缓解时间, 肾损害 (血尿及蛋白尿) 减轻或缓解情况, 病程 1 月内紫癜样皮疹复发情况。血尿以尿常规中红细胞 (red blood cell, RBC) >3/高倍镜 (high power lens, HP) 或

尿隐血 (blood, BLD) 阳性为标准, 治疗后尿 RBC 减少, BLD 由++或+++减少至+或-为好转; 蛋白尿以 24 h 尿蛋白定量或尿常规中尿蛋白 (protein, PRO) 阳性为标准, 治疗后 24 h 尿蛋白定量减少或尿常规中尿 PRO 由++或+++减轻至+或-为好转; 反之, 为血尿及蛋白尿无改善或加重。

表 1 治疗组、疾病对照组患儿主要临床症状

临床症状	治疗组 (n=25)	疾病对照组 (n=20)
单纯皮疹	6	8
皮疹伴消化道症状	11	2
皮疹伴关节症状	4	0
皮疹伴血尿、无蛋白尿	4	7
皮疹伴血尿及蛋白尿	5	4

1.3 标本采集及实验方法

采集 53 例 HSP 患儿治疗前后及健康儿童的抗凝血 6 ml, 离心后取血浆, 分装于 EP 管内, 置于 -80 °C 冰箱冻存。双抗体夹心 ELISA 法检测患者及正常儿童血浆白介素-17 (interleukin-17, IL-17)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、干扰素诱导蛋白-10 (interferon inducible protein-10, IP-10) 水平, 操作按说明书进行。

将采集的抗凝血用淋巴细胞分离液分离出外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC), PBS 洗涤后重悬, 并对细胞进行计数。各注入 100 μ l PBMC 至阳性管与同型管, 阳性管加入抗人 CD₄-FITC、抗人 CD₂₅-PerCP-Cy5.5, 同型管加入抗人 CD₄-FITC、鼠 IgG₁ 同型-PerCP-Cy5.5, 4 °C 避光孵育 30 min。Fixation/Permeabilization 固定、打孔; Buffer 洗涤。阳性及同型管分别加入抗人 FoxP₃-PE、鼠 IgG₁ 同型-PE, 4 °C 避光 30 min, 染色完毕。流式上机检测 CD₄⁺CD₂₅⁺FoxP₃⁺Treg 占 CD₄⁺T 细胞阳性率。

将 Treg 检测后剩余 PBMC 用 RPMI1640 (含 10% 胎牛血清) 重悬, 加入离子霉素、佛波酯、高尔基体阻断剂, 转入 24 孔板, 置于 37 °C 孵箱 (含 5% CO₂) 培养 4 h。刺激完成后, 孵育抗体方法同 Treg, 流式上机检测 CD₃⁺CD₈⁻IL-17⁺Th17 占 CD₄⁺T 细胞阳性率。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件分析。计量资料采用中位数及四分位间距 $M(Q_1, Q_3)$ 表示; 不服从正态分布的两组内比较

采用相关样本的 Wilcoxon 带符号秩检验, 3 组及以上组间比较采用 H 检验、两两比较采用 Bonferroni 法调整检验水准; 计数资料采用卡方检验、Fisher 确切概率法及两组等级资料秩和检验; 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 临床症状缓解情况

治疗组皮疹消退时间较疾病对照组有缩短趋势(腹痛及关节症状缓解情况因例数太少, 未行统计学分析); 短期内治疗组复发频率低于疾病对照组($P=0.013$); 在改善肾损害(血尿)方面, 治疗组优于疾病对照组($P=0.015$)(表 2、表 3)。

表 2 2 组 HSP 临床症状缓解时间

指标	治疗组 ($n=25$)	疾病对照组 ($n=20$)	χ^2 值/ Z 值	P 值
皮疹消退(d)	3.0(3.0, 5.0)	4.0(3.0, 4.75)	-0.978	0.328
1月内复发(n)	3(25)	9(20)	6.188	0.013

表 3 治疗组、疾病对照组治疗 1 周后肾损害变化情况

肾损害(n)	治疗组	疾病对照组	P 值
单纯血尿 ^a	4	7	0.015
无改善及加重	0	6	
好转	4	1	
血尿+蛋白尿 ^b	5	4	0.089
无改善及加重	0	1	
仅血尿好转	1	0	
仅蛋白尿好转	4	3	
血尿及蛋白尿均好转	0	0	

注: a, Fisher 确切概率法; b, 2 组等级资料秩和检验

2.2 Treg 细胞亚群检测

治疗组于治疗前 $CD_4^+CD_{25}^+FoxP_3^+Treg/CD_4^+T$ 细胞阳性率低于正常对照组($P=0.010$), 经 GL 治疗后, Treg 恢复到正常水平($P=0.059$); 疾病对照组, 治疗后 Treg 细胞比例反低于自身治疗前($P=0.006$)及正常组水平($P=0.013$)(表 4)。

2.3 Th17 细胞亚群检测

治疗组在治疗前 $CD_3^+CD_8^-IL-17^+Th17/CD_4^+T$ 细胞阳性率高于治疗后($P=0.024$)及正常对照组($P=0.013$), 经 GL 治疗后, Th17 恢复到正常水平($P=0.337$); 疾病对照组, 治疗前后 Th17 比例亦有统计学差异($P=0.014$), 但治疗前、后与正常对照组相比无统计学差异($P=0.102, P=0.235$)(表 5)。

2.4 不同类型 HSP 患者 Treg、Th17 细胞亚群检测

入组 HSP 病人中, 有腹部症状者 Treg 阳性率低于正常人水平($P=0.007$), Th17 阳性率高于正常人水平($P=0.003$); 伴关节症状者 Th17 阳性率亦高于正常人水平($P=0.004$), 但 Treg 阳性率与正常水平无统计学差异($P=0.626$); 而单纯皮疹者 Treg、Th17 阳性率与正常水平均无统计学差异($P=0.938, P=0.059$)(表 6)。

2.5 血浆 IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IP-10 表达

治疗组在治疗后血浆炎症因子 IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IP-10 均明显低于治疗前水平($P=0.021, P=0.011, P=0.021, P=0.037$), 治疗前 IL-17、IFN- γ 高于正常水平($P=0.013, P=0.010$), TNF- α 、IP-10 与正常水平无统计学差异($P=0.086, P=0.076$)。疾病对照组, 其治疗后血浆 IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IP-10 与治疗前均无统计学差异($P=0.218, P=0.247, P=0.970, P=0.709$), 治疗前 IL-17、IFN- γ 高于正常水平($P=0.000, P=0.001$), TNF- α 、IP-10 与正常水平无统计学差异($P=0.217, P=0.584$)(表 7)。

表 4 治疗前后外周血 Treg 细胞比例(%)

组别	例数(n)	Treg/ CD_4^+T (%)	P_1 值 ^a	P_2 值 ^a	Z_3 值	P_3 值
治疗组	25					
治疗前		5.68(4.51, 8.32)	0.010	0.013	-0.229	0.819
治疗后		6.55(4.76, 8.96)	0.059	0.508		
疾病对照组	20					
治疗前		8.57(7.06, 12.44)	0.553		-2.763	0.006
治疗后		6.14(4.31, 8.13)	0.013			
正常对照组	25	8.73(7.21, 9.59)				

注: a, Bonferroni 法调整检验水准 $\alpha=0.017$; P_1 , 与正常对照组相比; P_2 , 组间治疗前及组间治疗后相比; P_3 , 组内治疗前后相比

表 5 治疗前后外周血 Th17 细胞比例(%)

组别	例数(n)	Th17/ CD_4^+T (%)	P_1 值 ^a	P_2 值 ^a	Z_3 值	P_3 值
治疗组	25					
治疗前		0.76(0.42, 1.06)	0.013	0.503	-2.257	0.024
治疗后		0.50(0.34, 0.84)	0.337	0.113		
疾病对照组	20					
治疗前		0.60(0.46, 0.80)	0.102		-2.461	0.014
治疗后		0.38(0.30, 0.53)	0.235			
正常对照组	25	0.49(0.35, 0.66)				

注: a, Bonferroni 法调整检验水准 $\alpha=0.017$; P_1 , 与正常对照组相比; P_2 , 组间治疗前及组间治疗后相比; P_3 , 组内治疗前后相比

表 6 不同类型 HSP 患者外周血 Treg、Th17 细胞比例 (%)					
Tab.6 Positive cell rate of Treg and Th17 in different types of HSP (%)					
类型	例数 (n)	Treg/CD ₄ ⁺ T (%)		Th17/CD ₄ ⁺ T (%)	
		M (Q ₁ , Q ₃)	P ₁ 值 ^a	M (Q ₁ , Q ₃)	P ₂ 值 ^b
腹型	13	5.30 (3.38, 7.01)	0.007	1.21 (0.56, 1.60)	0.003
关节型	4	5.69 (2.49, 8.90)	0.626	1.38 (0.84, 1.75)	0.004
单纯皮疹型	14	8.39 (5.87, 12.84)	0.938	0.73 (0.47, 0.82)	0.059
正常组	25	8.73 (7.21, 9.59)		0.49 (0.35, 0.66)	

注: a, 方差分析; b, Bonferroni 法调整检验水准 $\alpha=0.017$; P₁, 各型 HSP 患者 Treg 比例与正常水平相比; P₂, 各型 HSP 患者 Th17 比例与正常水平相比

表 7 治疗前后血浆炎症因子表达情况 (pg/ml)											
Tab.7 Cytokines level before and after the treatment (pg/ml)											
组别	例数 (n)	IL-17					TNF- α				
		浓度	P ₁ 值 ^a	P ₂ 值 ^a	Z ₃ 值	P ₃ 值	浓度	P ₁ 值 ^a	P ₂ 值 ^a	Z ₃ 值	P ₃ 值
治疗组	25										
治疗前		30.73 (23.44, 36.89)	0.013	0.373	-2.314	0.021	168.75 (78.34, 370.66)	0.086	0.063	-2.543	0.011
治疗后		28.63 (23.28, 33.70)	0.052	0.071			83.93 (58.32, 290.63)	0.992	0.664		
疾病对照组	20				-1.232	0.218					
治疗前		31.21 (29.38, 32.88)	0.000				73.30 (34.50, 347.08)	0.217		-1.157	0.247
治疗后		31.19 (28.02, 36.40)	0.000				95.72 (70.48, 138.37)	0.855			
正常对照组	25	24.80 (23.26, 27.35)					139.19 (63.25, 185.59)				

组别	例数 (n)	IFN- γ					IP-10				
		浓度	P ₁ 值 ^a	P ₂ 值 ^a	Z ₃ 值	P ₃ 值	浓度	P ₁ 值 ^a	P ₂ 值 ^a	Z ₃ 值	P ₃ 值
治疗组	25										
治疗前		30.48 (24.74, 39.15)	0.010	0.873	-2.301	0.021	150.85 (64.77, 342.69)	0.076	0.209	-2.085	0.037
治疗后		26.63 (21.64, 33.85)	0.154	0.061			133.05 (56.55, 246.41)	0.516	0.784		
疾病对照组	20										
治疗前		28.68 (25.85, 39.25)	0.001		-0.037	0.970	113.61 (78.86, 155.60)	0.584		-0.373	0.709
治疗后		30.00 (27.11, 35.80)	0.000				105.74 (83.61, 169.31)	0.698			
正常对照组	25	22.45 (20.86, 27.17)					103.19 (85.39, 127.94)				

注: a, Bonferroni 法调整检验水准 $\alpha=0.017$; P₁, 与正常对照组相比; P₂, 组间治疗前及组间治疗后相比; P₃, 组内治疗前后相比

3 讨 论

HSP是儿童时期常见的小血管炎性疾病。发病机制不清^[3-4];体液免疫紊乱, B 细胞多克隆活化, 大量 IgA 为主的免疫复合物沉积, 以及 T 细胞亚群失衡, 各种细胞因子的异常分泌是导致血管炎的主要原因。

Treg、Th17 是近年来发现的不同于 Th1、Th2 的 CD₄⁺ T 细胞亚群。调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是一类发挥抑制效应性 T 细胞功能的主要细胞群体, 核因子 FoxP₃ 为其分化发育及发挥抑制功能的关键因子, 对正常免疫功能的维持及调控至关重要^[5]。Th17 细胞是一类能特异性产生 IL-17 的 CD₄⁺ T 细胞亚群, 其分泌的 IL-17 具有强大的促炎作用, 与多种自身免疫性疾病密切相关^[6]。Th17/Treg 细胞平衡对维持正常免疫应答、防止炎症性及自身

免疫性疾病具有重要意义。

GL 是一种以甘草酸苷、甘氨酸、盐酸半胱氨酸等为主要成分的制剂;甘草酸苷为其主要作用成分, 药理作用广泛:抗变态反应、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节、类固醇样作用等, 主要用于治疗肝炎, 以及多种过敏性皮肤疾患^[7]。近年来, GL 在儿童 HSP 疾病上的应用越来越多见, 国内关于 GL 治疗 HSP 临床疗效观察的文献也层出不穷^[8], 但对其作用机制方面的研究却是空白。

本研究中, 在 HSP 患儿临床症状改善方面, 随访发现:治疗组血尿好转及 HSP 复发的概率均优于疾病对照组, 皮疹消散时间亦有缩短趋势, 一定程度上证明 GL 在预防 HSP 皮疹复发及改善肾损害方面具有临床疗效。

本研究发现:在 HSP 治疗组中外周血 Treg 细胞阳性率明显降低、Th17 阳性率显著增高;而疾病对照组中 Treg 及 Th17 降低及增高均不明显;治疗组和

疾病对照组入组时 Treg 阳性率差别较大;这些结果的差异可能与治疗组 HSP 患儿的类型较复杂,腹型、关节型所占比例高于疾病对照组有关。研究同时发现:单纯皮疹者,Th17、Treg 细胞阳性率升高降低均不明显;腹型 HSP 中,Treg 阳性率明显降低、Th17 阳性率明显升高;关节型 HSP 中,Th17 阳性率亦明显升高、Treg 阳性率降低却不明显;可能提示不同类型 HSP 免疫炎症状态复杂多样,正好解释了结果中存在的差异。GL 治疗后,具有免疫调节作用的 Treg 细胞比例升高,而具有促炎作用的 Th17 细胞比例降低,Th17/Treg 平衡逐渐趋于正常;而疾病对照组患儿 Th17 细胞明显降低,同时 Treg 细胞亦下降,Th17/Treg 处于失衡状态,证实 GL 在治疗 HSP 中可能通过调节 Th17/Treg 平衡来达到免疫调节作用。在短期随访中,疾病对照组患儿 HSP 皮疹复发率高于治疗组,可能与 GL 在恢复细胞免疫平衡中的作用有关。

炎症因子的高表达是致 HSP 的重要因素之一。IL-17 为具有强大促炎作用的细胞因子,可通过促进释放前炎性细胞因子来放大炎症反应,并对中性粒细胞有强大的趋化作用,增强其聚集和活化^[9]。本文结果显示在 HSP 急性期 IL-17 的表达明显增高,与文献^[9]报道一致,证实 IL-17 的过表达可能是 HSP 重要发病因素之一。经 GL 治疗后,IL-17 水平下降,而疾病对照组中,治疗后 IL-17 仍维持在高表达水平,提示 GL 可能通过下调 IL-17 水平以降低炎症反应。TNF- α 是 Th1 细胞分泌的具有多种生物学效应的细胞因子,是炎症和感染机制中的首要介导因子及众多肾脏疾病的主要致病因子^[10],可致肾小球系膜区细胞外基质重构,加重肾损害。本文中 HSP 急性期 TNF- α 未见明显升高,这可能与纳入对象为初发病例、有蛋白尿的紫癜肾炎例数太少有关,因有文献报道^[10-11]:在伴蛋白尿的紫癜肾炎中,急性期 TNF- α 的表达明显高于无肾损害及仅有血尿的紫癜肾炎组;经 GL 治疗后 TNF- α 显著降低,疾病对照组中,TNF- α 较急性期无明显差异,表明 GL 可能通过降低 TNF- α 表达来影响 HSP 的免疫失衡。IFN- γ ^[12]同为 Th1 型细胞因子,可通过增强黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 及趋化因子 IP-10、MCP-1 等的表达募集特定的免疫细胞,放大炎症反应。本研究发现 HSP 治疗前 IFN- γ 表达显著增高,经 GL 干预治疗后,IFN- γ 水平下降,而疾病对照组治疗后 IFN- γ 仍处于高水平,进一步证实 GL 可能通过影响 Th1 细胞表达,减轻 HSP 的炎症反应。同时,本研究发现:HSP 急性期,血浆中趋化因子 IP-10 表达未

增高,表明 IP-10 可能不是 HSP 的主要致病因素,但经 GL 治疗后,IP-10 仍呈显著下调;而疾病对照组中,治疗前后的 IP-10 水平无明显差异,提示 GL 亦具有一定程度降低 IP-10 的作用。

以上结果显示,在治疗儿童初发 HSP 中,GL 能上调外周血中具有免疫抑制作用的 Treg 细胞阳性率,下调具有促进炎症作用的 Th17 细胞阳性率,降低血浆炎症因子 IL-17、IFN- γ 、TNF- α 、IP-10 表达水平,对预防 HSP 皮疹复发,减轻肾损害具有一定作用。证实了 GL 可能通过抑制 Th1 的异常分泌,以及调节 Th17/Treg 细胞比例来达到免疫治疗的作用,为阐明 GL 对儿童 HSP T 细胞免疫调控机制提供了实验基础及理论依据。但 GL 对紫癜肾炎的长期预防及治疗作用尚有待延长随访时间,多中心大样本研究进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Tizard EJ, Hamilton-Ayres MJ. Henoch - Schonlein purpura[J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2008, 93(1): 1-8.
- [2] Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, et al. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch - Schönlein 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.
- [3] Li YY, Li CR, Wang GB, et al. Investigation of the change in CD4⁺ T cell subset in children with Henoch-Schonlein purpura[J]. Rheumatol Int, 2012, 32(12): 3785-3789.
- [4] Lau KK, Suzuki H, Novak J, et al. Pathogenesis of Henoch - Schonlein purpura nephritis[J]. Pediatr Nephrol, 2010, 25(1): 19-26.
- [5] Feuerer M, Hill J A, Mathis D, et al. FoxP3⁺ regulatory T cells: differentiation, specification, subphenotypes[J]. Nat Immunol, 2009, 10(7): 689-695.
- [6] Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 cells[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27(4): 485-517.
- [7] Marianecchi C, Rinaldi F, Mastriota M, et al. Anti-inflammatory activity of novel ammonium glycyrrhizinate/niosomes delivery system: Human and murine models[J]. J Control Release, 2012, 164(1): 17-25.
- [8] 孙瑞丽. 复方甘草酸苷联合一清胶囊治疗单纯型过敏性紫癜 66 例疗效观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2013, 27(2): 221-222.
- [9] Jen HY, Chuang YH, Lin SC, et al. Increased serum interleukin-17 and peripheral Th17 cells in children with acute Henoch-Schonlein purpura[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2011, 22(8): 862-868.
- [10] Ha TS. The role of tumor necrosis factor- α in Henoch-Schonlein purpura[J]. Pediatr Nephrol, 2005, 20(2): 149-153.
- [11] 王士杰, 鹿玲. 过敏性紫癜患儿血 IL-21、TGF- β 1、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.
- [12] Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, et al. Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions[J]. J Leukoc Biol, 2004, 75(2): 163-189.

(责任编辑:唐宗顺)