儿童过敏性紫癜 IL-17、HPV-B19 检测的临床意义

马光辉^{*}, 王 静, 付文静, 李 媛, 舒春梅, 李 娜

(滨州医学院附属医院皮肤科, 山东 滨州 256600)

【摘要】 目的 探讨 IL-17、HPV-B19 在儿童过敏性紫癜发病机制中的作用。方法 采用 ELISA 方法检测 60 例过敏性紫癜患儿(患者组)及正常对照组 60 例的外周血清 IL-17 浓度, 采用 PCR 法检测血清 HPV-B19DNA 的表达情况。结果 过敏性紫癜患儿外周血清 IL-17 浓度及 HPV-B19DNA 的表达均高于对照组 ($P < 0.05$)。结论 IL-17、HPV-B19 异常在儿童过敏性紫癜的发病过程中起重要作用。

【关键词】 IL-17; HPV-B19; 过敏性紫癜; 免疫系统

中图分类号: R446.62; R554.73 文献标志码: B doi: 10.3969/j.issn.1002-1310.2021.03.033

过敏性紫癜(anaphylactoid purpura)是皮肤科常见疾病之一,能引起多种脏器损害,尤以(7~9)岁的儿童最常见。在过敏性紫癜免疫学研究中,该病起病初期有多项免疫学指标异常,随着患儿病情的恢复,这些免疫学指标逐渐趋于正常,当出现某些脏器损伤时,这些免疫指标又会再次发生异常,因此这些指标可以作为判断过敏性紫癜预后的良好指标。IL-17、HPV-B19 均能影响机体的免疫功能,本研究旨在研究儿童过敏性紫癜 IL-17、HPV-B19DNA 各自的表达水平,从而进一步研究过敏性紫癜患者的免疫学指标变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者组 60 例过敏性紫癜的患儿选自滨州医学院附属医院皮肤科确诊病例(入选患者均符合 2005 年欧洲儿童肾脏病防治委员会和欧洲风湿病防治委员会及美国风湿协会共同制定的 HSP 诊断标准^[1]),年龄(2~14)岁,平均年龄 8.7 岁,其中男性 25 例,女性 35 例。正常对照组 60 例选自本院儿外科皮肤血管瘤患儿,年龄(5~14)岁,平均年龄 9.2 岁,其中男性 27 例,女性 33 例。两组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义。

1.2 仪器与试剂 IL-17 酶联免疫分析试剂盒;血清病毒 DNA 提取试剂盒;TapDNA 聚合酶, 6×loading buffer, dNTPs, DL100DNA Marker, TP600 梯度 PCR 扩增仪, ELx808 全自动酶标仪, Syngene 凝胶成像系统。

1.3 方法

1.3.1 外周血 IL-17 浓度检测 分别抽取实验组和对照组清晨空腹静脉血 5ml, 收集上清液备用。按照试剂盒说明书要求,采用双抗夹心酶联免疫吸附法标本中 IL-17 浓度。

1.3.2 HPV-B19DNA 检测 分别抽取实验组和对照组清晨空腹静脉血 5ml, 收集上清液, 提取血清标本 DNA, 进行 PCR 扩增反应体系 30μl, 共 35 个循环。

PCR 扩增后,取 5μl 扩增产物,加入 1μl 6×loading Buffer 混匀,将其加入 2% 的琼脂糖凝胶加样孔中,EB 染色,两端加入 6μl DL100DNA Marker, 在 0.5×TBE 缓冲电泳液中电泳 40min, 电泳结束后在凝胶成像系统中观察并拍照。以 59bp 处出现特异荧光区带者为阳性,比较实验组与对照组阳性率的卡方值。

1.4 统计学处理 IL-17 浓度以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学分析。HPV-B19DNA 的表达符合正态分布。

2 结果

2.1 IL-17 浓度结果比较 患者组 IL-17 浓度为(3.8049±2.57) ng/ml, 正常对照组 IL-17 浓度为(2.5141±1.56) ng/ml, 两组比较, $t=4.398$, $P < 0.05$; 患者组血清 IL-17 浓度较正常对照组显著升高,见表 1。

表 1 血清 IL-17 浓度 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

组别	IL-17
患者组	3.8049±2.57
正常对照组	2.5141±1.56
<i>t</i>	4.398
<i>P</i>	< 0.05

2.2 HPV-B19DNA 阳性率比较 患者组 HPV-B19DNA 阳性率为 61.67%, 正常对照组 HPV-B19DNA 阳性率为 3.33%, 两组比较, $\chi^2=66.91$, $P < 0.05$; 患者组外周血 HPV-B19DNA 阳性率较正常对照组显著升高。

3 讨论

过敏性紫癜是一种由免疫复合物介导的过敏性系统性毛细血管和细小血管炎^[2]。与细胞免疫相关指标功能低下、多克隆 B 淋巴细胞活化、炎性介质分泌增多等有关^[3]。目前,过敏性紫癜的病因及发病机制尚未完全清楚,本研究通过对过敏性紫癜患儿与儿外科皮肤血管瘤患儿的外周血 IL-17、HPV-B19 含量相比较,研究结果显示过敏性紫癜患儿外周血清 IL-17 含量明显升高, HPV-B19DNA 表达亦明显升

高。提示过敏性紫癜的发病可能与人体血清 IL-17 含量升高及 HPV-B19 感染有关。推测该地区 IL-17、HPV-B19 引起过敏性紫癜可能的相关发病机制为 IL-17A (又名 IL-17)^[4], 它能诱导 IL-6、IL-8、TNF- α 等表达, 是诱导和维持 Th₁₇ 细胞的关键因子, HSP 发生时调节性 T 细胞亚群数量明显降低, Th₁₇ 细胞过度活化, 能通过分泌前炎性细胞因子或通过分泌 IL-17, 诱导单核/巨噬细胞、内皮细胞、上皮细胞产生多种前炎性细胞因子及趋化因子, 引起免疫抑制效应不足, 从而导致机体炎症反应或自身免疫反应^[5]。HPV-B19 是 1975 年由英国学者偶然发现, 是近年来发现的人细小病毒属中对人类致病的单链线状 DNA 病毒。研究证明, 感染 HPV-B19 病毒可引起一系列疾病, 如原发性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、急性关节炎/关节痛、暂时性再生障碍性贫血危象等。在各种血管炎性综合征的发病中, HPV-B19 病毒也可能起着重要作用。关于 HPV-B19 病毒感染与 HSP 的关系, 国内报道较少。唐宁波等^[6]检测的 28 例过敏性紫癜患儿中, 4 例 HPV-B19 DNA 阳性, 阳性率 14%。对照组 18 例, 无阳性病例, 两组比较, 差异无显著性。因所检测例数较少, 认为 HPV-B19 感染虽不是过敏性紫癜的主要原因, 但很可能是重要原因之一。本次研究结果显示, 过敏性紫癜患儿外周血血清 HPV-B19 DNA 表达明显高于正常对照人群,

提示 HPV-B19 可能是导致过敏性紫癜发生的病原体之一。

IL-17 在机体内浓度升高及 HPV-B19 感染均能引起机体免疫功能紊乱, 与黄河三角洲地区过敏性紫癜发病密切相关, HPV-B19 是过敏性紫癜发病的重要原因之一^[7]。因此临床工作中, 监测该地区过敏性紫癜患儿的相关免疫学指标及进行 HPV-B19 的检测, 能更好地指导治疗控制病情, 防止病情复发并改善预后。

参考文献:

- [1] Ozen S, Ruperto N, Dillon M I, et al. EULAR/PRReS endorsed consensus criteria for the classification of childhood vasculitides[J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(7):936-941.
- [2] 张学军. 皮肤性病学[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2004:156-157.
- [3] 邵传森. 医学免疫学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2003:78-622.
- [4] Bloch D A, Michel B A, Hunder G G, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Patients and methods[J]. Arthritis and rheumatism, 1990, 33(8):1114-1121.
- [5] Zhou L, Littman D R. Transcriptional regulatory networks in Th₁₇ cell differentiation[J]. Curr Opin Immunol, 2009, 21(2):146-152.
- [6] 唐宁波, 李爱敏, 姜兴华, 等. 过敏性紫癜患儿微小病毒 B19-DNA 的检测及其临床意义[J]. 中华儿科杂志, 2000, 38(5):314-315.
- [7] Mcmillan R. The pathogenesis of chronic immunothrombocytopenic purpura[J]. Semin Hematol, 2007, 44(4 Suppl 5):S3-S11.