

过敏性紫癜患儿外周血 Toll 样受体 2 与血浆细胞因子的相关性

孙洪强¹ 郑静娴¹ 陈晓蕊¹ 张剑白¹

[摘要] 目的:分析过敏性紫癜(HSP)合并肾损害患儿外周血单核细胞 Toll 样受体 2(TLR2)表达水平及其与血浆细胞因子 γ -干扰素(INF- γ)、白细胞介素 4(IL-4)的相关性。方法:采用回顾性研究,收集 78 例 HSP 患儿的临床资料,依据是否伴有肾损害,分为肾损害组(35 例)与无肾损害组(43 例)。选取同期健康体检儿童 40 例为对照组。比较受测者入院时血浆 INF- γ 、IL-4 的含量,以及外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白的水平。采用 Pearson 分析 HSP 合并肾损害患儿外周血单核细胞 TLR2 蛋白与血浆 INF- γ /IL-4 比值的相关性。结果:与对照组比较,HSP 组血浆 INF- γ 、INF- γ /IL-4 比值均明显降低,IL-4 含量明显升高($P < 0.05$)。与对照组比较,THSP 组 TLR2 mRNA 和蛋白的水平均明显上升($P < 0.05$)。与无肾损害组比较,肾损害组的 HSP 患儿 TLR2 mRNA 和蛋白的水平均明显上升($P < 0.05$)。HSP 合并肾损害患儿 TLR2 蛋白与血浆 INF- γ /IL-4 比值存在负相关($P < 0.05$)。结论:HSP 患儿存在 TLR2 mRNA 和蛋白的水平上调,且伴有肾损害的患儿尤为明显,提示机体内存在免疫表达失衡的情况,TLR2 可能参与 HSP 的免疫发病机制。

[关键词] 过敏性紫癜;肾损害;外周血单核细胞;Toll 样受体 2; γ -干扰素;白细胞介素 4

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.02.002

[中图分类号] R554 **[文献标志码]** A

Correlation between Toll like receptor 2 and plasma cytokines in children with henoch schonlein purpura

SUN Hongqiang ZHENG Jingxian CHEN Xiaorui ZHANG Jianbai

(Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150001, China)

Corresponding author: ZHANG Jianbai, E-mail: zjbhmu@126.com

Abstract Objective: To analyze the expression level of Toll like receptor 2(TLR2) in peripheral blood mononuclear cells of children with Henoch-Schonlein purpura(HSP) and its correlation with plasma gamma-interferon(INF- γ) and interleukin-4(IL-4). **Methods:** The clinical data of 78 children with HSP were collected by retrospective study. According to whether there was renal damage, they were divided into renal damage group(35 cases) and non renal damage group(43 cases). At the same time, 40 healthy children were selected as the control group. The levels of plasma INF- γ and IL-4 were compared at admission, and the expression of TLR2 protein and mRNA in peripheral blood monocytes were detected. Pearson correlation was used to analyze the relationship between the expression of TLR2 protein in peripheral blood monocytes and the ratio of INF- γ / IL-4 in plasma. **Results:** Compared with the control group, the plasma INF- γ and the ratio of INF- γ /IL-4 in HSP group were significantly decreased, and the content of IL-4 was significantly increased($P < 0.05$). Compared with the control group, the expression of TLR2 protein and mRNA in peripheral blood mononuclear cells of HSP group were significantly increased($P < 0.05$). Compared with the group without renal damage, the expression of TLR2 protein and mRNA in peripheral blood mononuclear cells of HSP children in renal damage group were significantly increased($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that TLR2 protein in peripheral blood mononuclear cells was negatively correlated with the ratio of plasma INF- γ /IL-4 in children with HSP and renal damage($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of TLR2 protein and mRNA in peripheral blood mononuclear cells were up-regulated in children with HSP, especially in children with renal damage, which suggested that there was imbalance of immune expression in the body and TLR2 might participate in the immune pathogenesis of HSP.

Key words henoch-schonlein purpura; renal damage; peripheral blood mononuclear cells; toll like receptor 2; gamma-interferon; interleukin-4

过敏性紫癜(henoch-schonlein purpura, HSP)是一种常见的儿科临床疾病,具有高发病率的特

点,临床主要表现为肾脏、皮肤、关节和胃肠道病变,重者可危及生命安全^[1-2]。约 20%~60% 患儿合并存在肾脏损害,有研究发现,Toll 样受体(toll like receptors, TLRs)细胞信号转导在机体内炎症

¹哈尔滨医科大学附属第一医院儿内科(哈尔滨,150001)
通信作者:张剑白, E-mail: zjbhmu@126.com

反应和多种自身免疫性疾病等方面起到重要的调节作用^[3]。由此推测,TLR2 可能在 HSP 免疫发病机制过程中发挥着重要作用,其可能参与了紫癜性肾损伤的发生发展。因此,本文通过分析 HSP 合并肾损害患儿外周血中单核细胞的 TLR2 表达水平及其与血浆细胞因子水平的相关性,从而探讨其免疫相关性,旨在为 HSP 诊断、治疗及预后的评估提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 资料

采用回顾性研究收集我院 2016 年 1 月—2019 年 12 月 78 例 HSP 患儿的临床资料,依据是否伴有肾损害,分为肾损害组(35 例)与无肾损害组(43 例)。其中,肾损害组男 21 例,女 14 例;年龄 3~15 岁,平均(6.06±1.33)岁。无肾损害组男 23 例,女 20 例;年龄 3~13 岁,平均(6.89±1.48)岁。选取同期健康体检儿童 40 例为对照组,男 22 例,女 18 例;年龄 4~15 岁,平均(6.57±1.89)岁。3 组一般基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 纳入与排除标准

HSP 的诊断严格参照该病的诊断标准。纳入标准:①血尿伴蛋白尿,且病程小于 3 个月;②3 次微量尿蛋白>正常值,尿常规蛋白入院 1 周 3 次均呈阳性;③未接受糖皮质激素治疗;④未接受免疫抑制剂治疗。排除标准:①伴有感染性疾病;②伴有心脑血管疾病;③肝功能不全、肺部疾病等;④血液系统疾病、传染性疾病、先天性疾病等;⑤伴有免疫系统疾病;⑥出现凝血功能障碍;⑦临床资料不完全。

1.3 检测方法

入院后次日,取所有研究对象清晨空腹静脉血 3 mL,置于肝素抗凝管中,行离心处理,置于-80℃冻存。酶联免疫吸附试验法检测(南京金斯瑞生物科技有限公司)血浆 γ -干扰素(γ -interferon, INF- γ)和白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4)。分离并培养外周血单核细胞(密度梯度离心法),采用全自动流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司, FACS Calibur 型)检测外周血单核细胞 TLR2 蛋白表达,实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)(德国罗氏诊断公司, z480 型)及其配套试剂盒检测 TLR2 mRNA 表达,由上海生工生物工程股份有限公司进行合成 PCR 引物,内参照采用甘油醛-3-磷酸脱氢酶为定量,目的基因相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 版统计学软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示并采用 t 检验,多组比较采用方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验,计数资料以例数表示并采用 χ^2 检验,采用 Pearson 相关性分析 HSP 合

并肾损害患儿外周血单核细胞 TLR2 蛋白表达与血浆 INF- γ /IL-4 比值的关系,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP 组与对照组血浆 INF- γ 、IL-4 及 INF- γ /IL-4 比值的比较

与对照组比较,HSP 组血浆 INF- γ 、INF- γ /IL-4 比值均明显降低,IL-4 含量明显升高($P<0.05$),见表 1。

表 1 HSP 组与对照组血浆 INF- γ 、IL-4 及 INF- γ /IL-4 比值

组别	例数	INF- γ / (ng·L ⁻¹)	IL-4/ (ng·L ⁻¹)	INF- γ / IL-4
对照组	40	29.05±8.24	14.63±3.49	1.79±0.55
HSP 组	78	23.59±6.88	35.90±8.25	0.77±0.24
t		3.81	15.58	14.02
P		<0.01	<0.01	<0.01

2.2 HSP 组与对照组外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平比较

与对照组比较,HSP 组外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平均明显上升($P<0.05$),见表 2。

表 2 HSP 组与对照组外周血单核细胞 LR2 mRNA 和蛋白水平

组别	例数	TLR2 蛋白	TLR2 mRNA
对照组	40	0.12±0.02	1.11±0.27
HSP 组	78	0.36±0.08	1.58±0.41
t		18.64	6.55
P		<0.01	<0.01

2.3 3 组外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平比较

肾损害组与无肾损害组的 HSP 患儿外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白的水平均明显高于对照组($P<0.05$)。与无肾损害组比较,肾损害组外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平均明显上升($P<0.05$),见表 3。

表 3 3 组外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平

组别	例数	TLR2 蛋白	TLR2 mRNA
对照组	40	0.12±0.02	1.11±0.27
无肾损害组	43	0.23±0.06 ¹⁾	1.43±0.36 ¹⁾
肾损害组	35	0.41±0.09 ¹⁾²⁾	1.80±0.53 ¹⁾²⁾

与对照组比较,¹⁾ $P<0.05$;与无肾损害组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

2.4 HSP 合并肾损害患儿外周血单核细胞 TLR2 蛋白与血浆 INF- γ /IL-4 比值的相关性分析

经 Pearson 相关性分析显示, HSP 合并肾损害患儿外周血单核细胞 TLR2 蛋白与血浆 INF- γ /IL-4 比值存在负相关($r=0.55, P<0.01$)。

3 讨论

HSP 的发病率不容忽视^[4], HSP 的传统治疗方案可在一定程度上减轻临床症状, 但从长期上看, 常规疗法的效果并不理想, 使得临床预后较差。目前, 尚未完全明确 HSP 的具体发病机制, 但普遍观点认为其与机体免疫功能异常有关^[5]。同时, HSP 的病理发展过程与机体内自身免疫系统异常存在一定关系, 且与 IgA 介导的免疫炎症反应、机体内凝血和纤溶系统的激活有关^[6]。经患儿体液免疫检测可发现 B 细胞活化功能障碍, 使得患儿免疫球蛋白数量骤然增多。临床研究报道, 约有 9% 的 HSP 患者发展为肾功能衰竭, 有 14% 的患者引起迁延性肾病^[7]。因此, 需引起临床高度重视。

TLRs 是一种 I 型跨膜蛋白, 在适应性免疫和人体固有免疫中扮演重要角色, 因而该蛋白质在人体中的作用及其地位相对重要。本研究发现, 相比对照组, HSP 组外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平均明显上升; 相比无肾损害组, 肾损害组的 HSP 患儿外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平均明显上升。结果表明, HSP 患儿存在外周血单核细胞 TLR2 mRNA 和蛋白水平上调的情况, 且伴有肾损害的患儿尤为明显, 分析原因, 可能是 TLRs 诱导细胞内信号传导机制, 可能是识别病原中的相关部分分子, 可进一步刺激炎症细胞因子的释放, 从而与之共同产生适应性免疫应答^[8-9]。这与其他学者的研究结果相似, TLRs 及其信号通路在超敏反应、炎症性疾病、自身免疫性疾病、移植排斥反应及细胞凋亡等方面起到重要作用^[10-11]。但目前有关 TLRs 在 HSP 免疫发病机制中的作用及其地位仍未完全明确。不同的 TLR2 可以识别不同的配体, 主要分布于中性粒细胞、淋巴细胞、单核巨噬细胞等多种免疫细胞表面^[12]。此外, TLR2 信号具有介导糖尿病肾病和狼疮性肾炎等多种疾病的作用^[13-14]。

本研究显示, 相比对照组, HSP 组血浆 INF- γ 、INF- γ /IL-4 比值均明显降低, IL-4 含量明显升高。分析其原因, 可能在于 HSP 发病后, 患儿机体内细胞免疫功能紊乱, Th1/Th2 免疫应答可表现出失衡等情况, 造成减弱 Th1 功能, 增强 Th2 功能, 明显减少机体内 Th1 类细胞因子, 如 IL-2 等的含量, 异常升高多种 Th2 类细胞因子如 IL-4、IL-5、IL-6 等的水平^[15]。另外, 本研究经 Pearson 相关性分析显示, HSP 合并肾损害患儿 TLR2 蛋白与血浆 INF- γ /IL-4 比值存在负相关($P<0.05$), 其原因可

能是外源性配体刺激可促使 TLR2 蛋白通过不同途径参与并调节 Th0 的分化, 介导 Th1/Th2 反应, 进而在机体内诱导多种炎症细胞因子的释放, 使得免疫应答失衡, 最终诱发 HSP^[16]。

综上所述, HSP 患儿存在 TLR2 mRNA 和蛋白的水平上调, 且伴有肾损害的患儿尤为明显, 提示机体内存在免疫表达失衡, TLR2 可能参与 HSP 的免疫发病机制。

参考文献

- [1] Gómez S, Pérez M, Pellegrini M, et al. Henoch-Schönlein purpura in pediatrics; Ten years of experience at a moderate risk office of a general hospital [J]. Arch Argent Pediatr, 2020, 118(1): 31-37.
- [2] Wang JJ, Xu Y, Liu FF, et al. Association of the infectious triggers with childhood Henoch-Schönlein purpura in Anhui province, China [J]. J Infect Public Health, 2020, 13(1): 110-117.
- [3] Xu H, Jiang G, Shen H, et al. Association of TLR4 gene polymorphisms with childhood Henoch-Schönlein purpura in a Chinese population [J]. Rheumatol Int, 2017, 37(11): 1909-1915.
- [4] Brom M, Gandino IJ, Scolnik M. IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) in Argentina: Comparison between pediatric and adult populations [J]. Mayo Clin Proc, 2020, 95(2): 422-424.
- [5] Dumont C, Mérouani A, Ducruet T, et al. Clinical relevance of membrane attack complex deposition in children with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura [J]. Pediatr Nephrol, 2020, 35(5): 843-850.
- [6] Ekinci RMK, Balci S, Sari Gokay S, et al. Do practical laboratory indices predict the outcomes of children with Henoch-Schönlein purpura? [J]. Postgrad Med, 2019, 131(4): 295-298.
- [7] Buscatti IM, Casella BB, Aikawa NE, et al. Henoch-Schönlein purpura nephritis: initial risk factors and outcomes in a Latin American tertiary center [J]. Clin Rheumatol, 2018, 37(5): 1319-1324.
- [8] Hao Y, Li H, Li Y, et al. Decreased TLR4 expression on monocytes may cause regulatory T cells abnormality in patients with primary immune thrombocytopenia [J]. Autoimmunity, 2017, 50(5): 283-292.
- [9] Liu Q, Imaizumi T, Kawaguchi S, et al. Toll-like receptor 3 signaling contributes to regional neutrophil recruitment in cultured human glomerular endothelial cells [J]. Nephron, 2018, 139(4): 349-358.
- [10] Dvornikova KA, Bystrova EY, Platonova ON, et al. Polymorphism of toll-like receptor genes and autoimmune endocrine diseases [J]. Autoimmun Rev, 2020, 19(4): 102496.
- [11] Flórez-Álvarez L, Ruiz-Perez L, Taborda N, et al. Toll-like receptors as a therapeutic target in cancer, infections and inflammatory diseases [J]. Immunotherapy, 2020, 12(5): 311-322.

结肠癌中长链非编码 RNA LUCAT1 水平与患者预后的关系及对结肠癌细胞迁移、侵袭的影响*

程莉莉¹ 王琳¹ 董颖¹

[摘要] 目的:分析结肠癌中长链非编码 RNA(lncRNA)肺相关转录本 1(LUCAT1)水平与患者预后的关系及对结肠癌细胞迁移、侵袭的影响。方法:选择 2016 年 1 月—2017 年 12 月收治的行手术治疗的 53 例结肠癌患者作为研究对象,检测受试者肿瘤病灶组织和癌旁组织中 lncRNA LUCAT1 表达水平。取 LoVo 细胞检测分为空白组、阴性对照组、干预组,检测细胞增殖、迁移、侵袭活性。结果:肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 水平明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$);肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 水平是影响患者总生存期和无进展生存期的独立性威胁因素($P < 0.05$);低 lncRNA LUCAT1 表达患者总生存期和无进展生存期明显低于高 lncRNA LUCAT1 表达患者,差异有统计学意义($P < 0.05$);24 h 和 48 h 时空白组、阴性对照组和干预组 LoVo 细胞增殖活性存在明显差异,其中空白组最高,干预组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$);3 组 LoVo 细胞迁移及侵袭活性存在明显差异,其中空白组迁移及侵袭活性最高,干预组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:结肠癌肿瘤病灶组织中高 lncRNA LUCAT1 是影响患者预后质量的独立性威胁因素,且可促进结肠癌细胞迁移、侵袭。

[关键词] 结肠癌;lncRNA LUCAT1;预后;细胞迁移;细胞侵袭

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.02.003

[中图分类号] R735.3 **[文献标志码]** A

Relationship between lncRNA LUCAT1 level in colon cancer and prognosis of patients and its effect on colon cancer cell migration and invasion

CHENG Lili WANG Lin DONG Ying

(Department of Laboratory Medicine, Rugao People's Hospital, Rugao, 226500, China)

Corresponding author: WANG Lin, E-mail: fhsuwj@163.com

Abstract Objective: To analyze the relationship between the level of lncRNA LUCAT1 in colon cancer and the prognosis of patients and its impact on colon cancer cell migration and invasion. **Methods:** A total of 53 patients with colon cancer who underwent surgical treatment between January 2016 and December 2017 in our hospital were selected as the research object. The expression level of lncRNA LUCAT1 in the lesion tissue and adjacent tissue of the subject was detected. LoVo cell detection was divided into blank group, negative control group and intervention group, which were tested for cell proliferation, migration and invasion activity. **Results:** The level of lncRNA LUCAT1 in tumor tissue was significantly higher than that in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The level of lncRNA LUCAT1 in tumor tissue was an independent threat factor that affected the overall survival and progression-free survival of patients ($P < 0.05$). The overall survival and progression-free survival of the patients with low lncRNA LUCAT1 expression were significantly lower than those with high lncRNA LUCAT1 expression, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There were significant differences in the proliferation activity of LoVo cells among the blank group, negative control group and intervention group at 24 h and 48 h, among which the blank group was the highest and the intervention group was

*基金项目:南通市科研计划项目(No:WKZD2018029)

¹如皋市人民医院检验科(江苏如皋,226500)

通信作者:王琳,E-mail:fhsuwj@163.com

[12] 朱海涛,吕进泉,王秋霞,等. 过敏性紫癜患儿外周血单个核细胞 Toll 样受体 2 的表达变化及意义[J]. 山东医药,2018,58(31):87-89.

[13] Panchapakesan U, Pollock C. The role of toll-like receptors in diabetic kidney disease [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2018,27(1):30-34.

[14] Feng X, Yang R, Tian Y, et al. HMGB1 protein promotes glomerular mesangial matrix deposition via TLR2 in lupus nephritis[J]. J Cell Physiol, 2020, 235

(6):5111-5119.

[15] 常红,张秋业,程娜,等. 过敏性紫癜患儿外周血单个核细胞 TLR2、TLR4 表达及其与 Th1 和 Th2 型免疫应答相关性观察[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013,33(11):839-844.

[16] 黄可. 过敏性紫癜患儿 TLR2、TLR4 表达及其与 Th1 和 Th2 型免疫应答的关系[J]. 海南医学院学报, 2015,21(12):1664-1667.

(收稿日期:2020-09-17)