

联合抗幽门螺杆菌治疗儿童免疫性血小板减少症的临床研究*

唐 瑛¹, 孙长岗², 刘 永¹, 王海英¹, 王占聚^{1△}

(1. 潍坊医学院附属医院血液科, 山东潍坊 261031; 2. 山东省潍坊市中医医院肿瘤中心 261041)

摘要:目的 探讨免疫性血小板减少症(ITP)患儿感染幽门螺杆菌(Hp)的特点及抗感染治疗的意义。方法 采用¹³C尿素呼气试验检测 142 例 ITP 患儿和 92 例健康儿童 Hp 感染情况。将 ITP 患儿中 97 例阳性者分为两组:联合治疗组 49 例,应用糖皮质激素联合抗 Hp 治疗;单药治疗组 48 例,单用糖皮质激素治疗。分别检测两组治疗前后血小板相关参数、血小板相关抗体和淋巴细胞亚群的变化。结果 ITP 患儿 Hp 的感染率为 69.7%,明显高于健康儿童(40.2%)。两组患儿治疗 6 个月后,联合治疗组患儿血小板计数、PCT、CD3⁺、CD3⁺CD4⁺和 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺升高水平明显高于单药治疗组($P < 0.01$),而 MPV、PDW、PAIgG、PAIgA、CD3⁺CD8⁺下降水平均高于单药治疗组($P < 0.01$)。结论 ITP 患儿 Hp 感染率高于健康儿童;Hp 可能通过影响机体免疫功能参与了儿童 ITP 的发病和发展过程,联合抗 Hp 治疗可改善 ITP 患儿机体免疫状态,提高治疗效果。

关键词:血小板减少;螺杆菌幽门;儿童;淋巴细胞亚群;血小板相关抗体

中图分类号:R558

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2015)04-0482-03

Clinical study on the anti-helicobacter pylori treatment on immune thrombocytopenia in children*

Tang Ying¹, Sun Changgang², Liu Yong¹, Wang Haiying¹, Wang Zhanju^{1△}

(1. Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang, Shandong 261031, China;

2. Department of Oncology, Weifang Traditional Chinese Medicine Hospital, Weifang, Shandong 261041, China)

Abstract: Objective To explore the clinic character of immune thrombocytopenia (ITP) children infected with helicobacter pylori (Hp) and the effects of anti-helicobacter pylori treatment on those children. **Methods** One hundred and forty-two ITP children and 92 healthy children were conducted the ¹³C-Urea breath test to determine the infections of Hp. The ITP children infected with Hp were divided into two groups: single drug group (48 cases, treated only with corticosteroid) and combined drugs group (49 cases, treated with corticosteroid and anti-helicobacter pylori treatment). The platelet parameters, platelet associated immunoglobulin and some lymphocyte subsets were analyzed. **Results** Ninety seven children infected with Hp were found in 142 ITP children (69.7%). In the mean time, 37 children infected with Hp were observed in 92 healthy children (40.2%). After treatment of 6 months, the PLT, PCT, CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ and CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ of ITP children in both group were increased, and the increased degree of those parameters were much higher in combined drug group than those in single drug group ($P < 0.01$). However, the MPV, PDW, PAIgG, PAIgA and CD3⁺CD8⁺ were more decreased than that of the single drug group ($P < 0.01$). **Conclusion** The ITP children have a higher infection rate of Hp, which may be involved in the pathogenesis of ITP. Anti-helicobacter pylori therapy would improve the therapy efficacy of ITP children infected with Hp by improving their immunity.

Key words: thrombocytopenia; helicobacter pylori; child; lymphocyte subsets; platelet associated immunoglobulin

儿童免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)是发生在儿童时期的一种常见的自身免疫性出血性疾病,多表现为突发急性皮肤黏膜出血、牙龈出血、鼻衄及脏器出血。ITP的病因及发病机制尚未阐明,多考虑与感染等因素引起免疫功能紊乱有关。近年研究发现^[1-3],幽门螺杆菌(helicobacter pylori, Hp)感染与 ITP 发病及病情变化密切相关。前期研究表明^[4-6], ITP 患儿的 Hp 感染率高于健康儿童,联合抗 Hp 治疗可明显提高疗效。本研究拟观察 ITP 患儿感染 Hp 的临床特点,初步探讨作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 4 月至 2012 年 8 月在潍坊医学院附属医院初诊为 ITP 的患儿 142 例,均符合新诊断 ITP 诊断标准^[2],经检测 97 例患儿 Hp 感染阳性,将 Hp 阳性患儿分为联

合治疗组(49 例)和单药治疗组(48 例)。另设健康对照组,为 92 例健康查体儿童,排除肝炎、风湿免疫性、消化系统及血液系统其他疾病。经统计学分析,两组资料年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 治疗方法 联合治疗组,应用糖皮质激素联合抗 Hp 治疗^[1,4],先用强的松 1 mg/kg,治疗 7~14 d 后减量,总疗程 1~2 个月,每 1~2 周减 5~10 mg,减至 5~10 mg/d,维持治疗 3~6 个月。抗菌治疗采用“三联疗法”,阿莫西林 1.0 g,每日 2 次,共 7 d;克拉霉素 10~15 mg·kg⁻¹·d⁻¹,分 2 次口服,共 7 d;洛塞克 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹,口服,共 7 d。单药治疗组患儿,单纯应用糖皮质激素治疗(方法同上)。开始治疗前,出血症状明显者,与患儿家属协商后给予新鲜机采血小板 1 个治疗量输注。

* 基金项目:潍坊市科技发展计划项目(201102054)。 作者简介:唐瑛(1977-),主治医师,硕士,主要从事血液病的基础与临床研究。

△ 通讯作者, E-mail: wyfyxyk@163.com。

表 1 两组血小板参数水平变化($\bar{x}\pm s, \times 10^9/L$)

组别	n	治疗前				治疗 6 个月后			
		PLT	MPV	PCT	PDW	PLT	MPV	PCT	PDW
单药治疗组	48	15.10±0.30	22.07±0.90	0.03±0.80	37.50±0.80	80.60±1.10	15.32±0.70	0.16±0.40	21.40±0.30
联合治疗组	49	14.80±0.40	24.74±0.10	0.04±0.10	35.60±0.40	160.40±1.00	9.86±0.90	0.25±0.60	17.50±0.80

表 2 两组治疗前后血小板抗体的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	治疗前			治疗 6 个月后		
		PAIgG	PAIgA	PAIgM	PAIgG	PAIgA	PAIgM
单药治疗组	48	267.51±39.62	36.96±9.78	52.84±7.41	127.87±21.78	22.06±4.94	44.12±2.53
联合治疗组	49	281.85±43.47	37.65±11.4	53.43±7.68	108.16±23.14	15.12±4.64	43.54±4.32

表 3 两组治疗前后患儿外周血相关淋巴细胞亚群的变化($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD19 ⁺
单药治疗组					
治疗前	59.64±2.35	25.14±0.32	0.59±0.08	41.9±3.62	20.42±7.42
治疗 6 个月后	64.65±3.17	31.23±6.17	1.04±0.14	30.12±4.34	16.83±6.82
联合治疗组					
治疗前	57.42±2.66	24.8±0.42	0.57±0.04	43.32±2.11	20.54±10.32
治疗 6 个月后	69.91±3.84	36.32±1.43	1.36±0.09	26.72±3.21	15.84±8.46

1.3 主要仪器和试剂 仪器:全自动血细胞计数仪(美国 Coulter JEN 公司)、流式细胞仪(美国 Beeton Dickinson 公司)、¹³C 呼气试验分析仪(北京龙科祥科技有限公司)。试剂:藻红蛋白(PE)标记的鼠抗人单克隆抗体 CD8、异硫氰酸荧光素(FITC)标记的鼠抗人单克隆抗体 CD4、藻红蛋白耦连物(PE-cy5)标记的鼠抗人单克隆抗体 CD3、PE 标记的鼠抗人单克隆抗体 CD19(均购自天津协科生物股份有限公司),血小板相关抗体检测试剂盒(上海太阳生物技术公司),幽门螺杆菌检测试剂盒(深圳中核海得威生物科技有限公司)。

1.4 检测方法 用¹³C 呼气试验分析仪检测患儿 Hp 感染情况;治疗前后分别抽取患儿空腹时外周静脉血置于 EDTA 抗凝管充分混匀,送实验室检测血小板相关参数血小板计数、MPV、PCT 和 PDW;用 ELISA 法检测血小板相关抗体 PAIgG、PAIgA 和 PAIgM;采用四色标记免疫荧光染色检测淋巴细胞表面抗原标记,用流式细胞仪检测分析 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD8⁺、CD19⁺ 淋巴细胞亚群。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件包分析,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组间采用 χ^2 检验进行比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Hp 感染状况 142 例 ITP 患儿中感染 Hp 的有 97 例,感染率为 69.7%(97/142),而健康对照组 Hp 感染率 40.2%(37/92),ITP 患儿阳性率明显高于健康儿童($P<0.05$)。

2.2 血小板相关参数水平变化 治疗 6 个月后,两组 ITP 患儿的血小板计数、PCT 均较治疗前明显升高,且联合治疗组的升高幅度明显高于单药治疗组($P<0.01$);两组患儿的 MPV、PDW 均降低,联合治疗组的下降幅度明显大于单药治疗组($P<0.01$)。见表 1。

2.3 血小板相关抗体水平变化 两组患者治疗后,外周血中血小板相关抗体 PAIgG、PAIgA 和 PAIgM 水平均下降,联合治疗组的 PAIgG、PAIgA 下降幅度明显高于单药治疗组($P<0.05$),PAIgM 下降幅度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.4 外周血中淋巴细胞亚群变化 治疗后,两组 ITP 患儿 CD3⁺T 淋巴细胞百分比、CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞百分比及 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 均明显升高($P<0.01$)。CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞百分比明显降低($P<0.01$),但联合治疗组的变化幅度大于单药治疗组($P<0.05$)。两组患者 CD19⁺ 治疗后均下降,两组对比差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

3 讨 论

ITP 是临床常见的一种出血性疾病,约占出血性疾病总数的 30.0%^[3]。以往多数研究认为 ITP 的发病机制与血小板自身抗体的产生及由其引起的血小板破坏有关。但随着近期研究的深入,现在多认为 ITP 的发病是由产生抗体的体液免疫紊乱与细胞免疫紊乱,以及两者之间的相互作用共同导致。

T 淋巴细胞是体内细胞免疫的重要细胞成分,按照细胞表面分化抗原等标志的不同,分为 CD4⁺T 淋巴细胞和 CD8⁺T 淋巴细胞两大亚群。如果 CD4⁺/CD8⁺T 淋巴细胞比值上升,提示正免疫调节占优势。细胞免疫紊乱又导致 B 细胞激活,产生大量抗体,引起血小板生存时间缩短,同时抑制骨髓巨核细胞,使其成熟障碍,血小板生成减少^[7-8]。CD19 是分布于除浆细胞外不同发育阶段的 B 细胞,是 B 细胞的重要标志之一,参与 B 细胞活化、信号转导及生长调节。目前认为 T 淋巴亚群功能异常,比例失常是 ITP 发病的重要因素,B 淋巴亚群产生的自身抗体结合血小板,并破坏血小板是 ITP 发病的直接因素。

Hp 是由澳大利亚科学家巴里·马歇尔和罗宾·沃伦首

先发现的一种定植于胃黏膜表面和黏液层之间的革兰染色阴性微需氧菌^[7]。曾有研究表明在儿童 Hp 感染时,局部胃黏膜 T 细胞增殖明显异常。体外研究发现, Hp 可抑制人 T 细胞生长及其功能,从而使感染持续存在^[9]。

近年来国内外研究发现, Hp 与 ITP 的发病密切相关。1998 年 Gasbarrini 等^[9]通过抗 HP 治疗后,感染 Hp 的 ITP 患者血小板计数明显增加,抗血小板自身抗体也随之消失,从而首先提出了 Hp 感染可能是部分 ITP 患者发病直接因素的观点。有相关研究也进一步印证了这一观点^[6-8]。

目前关于 ITP 与 Hp 关系的研究主要集中在成人 ITP 方面^[1,8,10], Hp 感染后其引起的机体外周血 T、B 淋巴细胞的变化及与儿童 ITP 发病与病情演变的关系,少有报道。国内外有关儿童 ITP 与 Hp 感染的研究主要集中在二者的相关性上,而且结果也不尽一致,关于 Hp 参与儿童 ITP 病理过程及机制研究较少。

前期研究结果表明^[4-6], ITP 患儿的 Hp 感染率高于健康儿童,抗 Hp 治疗后, ITP 的显效率、进步率和有效率均明显提高。Hp 感染阳性的 ITP 患儿进行抗 Hp 治疗后,相同时间血小板升高幅度大于单药治疗组。本研究发现,联合治疗组患儿外周血中的血小板计数、PCT 升高水平明显高于单药治疗组,而 MPV、PDW 降低幅度也明显大于单药治疗组,差异有统计学意义,提示 Hp 引起的免疫反应,可能影响骨髓巨核细胞的成长与成熟,导致巨核细胞成熟障碍。

ITP 患者通常免疫功能存在异常^[11-12]。有学者认为^[13-14], 尿素酶 B 与血小板 GPⅢa 存在交叉表达, Hp 可刺激机体产生黏膜先天性免疫应答,使 B 细胞增殖,尿素酶 B 表达增加,从而产生抗血小板自身抗体。本研究结果显示两组患儿治疗前血小板相关抗体(PAIgG、PAIgA 和 PAIgM)水平均升高,经治疗两组患儿指标均下降,与单药治疗组相比,联合治疗组 PAIgG、PAIgA 的下降水平明显高于单药治疗组,差异有统计学意义, PAIgM 下降水平与单药治疗组比较,差异无统计学意义。本研究结果显示抗 Hp 治疗后, ITP 患儿 CD3⁺ T 淋巴细胞的百分比、CD3⁺ CD4⁺ T 淋巴细胞的百分比及 CD3⁺ CD4⁺ /CD3⁺ CD8⁺ 比值明显升高, CD3⁺ CD8⁺ T 淋巴细胞的百分比明显降低,表明 Hp 可引起患儿体液免疫功能紊乱,抗 Hp 治疗后,患儿的免疫功能有所好转^[15]。

总之,本研究进一步证实了 Hp 感染参与了儿童 ITP 的起病与进展, Hp 感染可能是部分 ITP 患儿的重要病因之一,通过引起的细胞及体液免疫紊乱参与了 ITP 患儿的发病和发展过程,对合并 Hp 感染的患儿应联合抗 Hp 治疗,可改善机体的免疫功能,提高治疗效果。

参考文献:

[1] Emilia G, Longo G, Luppi M, et al. Helicobacter pylori eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Blood, 2001, 97(3): 812-814.

[2] Gan GG, Norfaizal AL, Bee PC, et al. Helicobacter pylori infection in chronic immune thrombocytopenic purpura

patients in Malaysia[J]. Med J Malaysia, 2013, 68(3): 231-233.

- [3] 李蔚, 侯明, 张茂宏, 等. 自身免疫性血小板减少性紫癜的特异性免疫学诊断的研究[J]. 中华血液学杂志, 2001, 22(7): 374-376.
- [4] Kodama M, Kitadai Y, Ito M, et al. Immune response to cagA protein is associated with improved platelet count after helicobacter pylori eradication in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Helicobacter, 2007, 12(1): 36-42.
- [5] Hashino S, Mori A, Suzuki S, et al. Platelet recovery in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura after eradication of Helicobacter pylori[J]. Int J Hematol, 2003, 77(2): 188-191.
- [6] 唐瑛, 王书春, 王鲁娟, 等. 幽门螺杆菌在儿童特发性血小板减少性紫癜中的临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(2): 419-421.
- [7] Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium active chronic gastritis[J]. Lancet, 1984, 1(8390): 1311-1315.
- [8] Kohda K, Kuga T, Kogawa K, et al. Effect of helicobacter pylori eradication on platelet recovery in Japanese patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura and secondary autoimmune thrombocytopenic purpura[J]. Br J Haematol, 2002, 118(2): 584-588.
- [9] Gasbarrini A, Franeesehi F, Tartaglione R, et al. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of Helicobacter pylori[J]. Lancet, 1998, 352(9131): 878.
- [10] 何兵, 向传平, 周华. 幽门螺旋杆菌感染与特发性血小板减少性紫癜的相关性分析[J]. 航空航天医学杂志, 2014, 25(3): 354-355.
- [11] Ohe M, Hashino S. Successful treatment with erythromycin for idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Korean J Hematol, 2011, 46(2): 139-142.
- [12] 饶燕飞, 严志民, 杨桂玲, 等. 幽门螺杆菌感染在特发性血小板减少性紫癜中的临床意义[J]. 重庆医学, 2012, 41(2): 113-116.
- [13] Yamanishi S, Iizumi T, Watanabe E, et al. Implications for induction of autoimmunity via activation of B-1 cells by helicobacter pylori urease[J]. Infect Immun, 2006, 74(1): 248-256.
- [14] Campuzano-Maya G. Proof of an association between Helicobacter pylori and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin America[J]. Helicobacter, 2007, 12(3): 265-273.
- [15] Cines DB, McMillan R. Pathogenesis of chronic immune thrombocytopenic purpura[J]. Curr Opin Hematol, 2007, 14(5): 511-514.