

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.33.007

EGF、PAF-AH 对过敏性紫癜肾脏损害的临床诊断意义*

张静¹, 陆彪^{1△}, 刘静¹, 陈丽君²

(1. 宁夏医科大学总院儿科, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学第二附属医院肾内科, 银川 750004)

[摘要] **目的** 探讨表皮生长因子(EGF)、血小板活化因子酰水解酶(PAF-AH)与过敏性紫癜(HSP)肾脏损害的关联性及其临床诊断意义,为临床早期诊断紫癜性肾炎(HSPN)及判断预后提供一种新思路。**方法** 收集 2013 年 9 月至 2014 年 1 月在宁夏医科大学总院住院的 HSP 患儿 86 例,病例组按有无肾脏损害将其分为非 HSPN 组和 HSPN 组。健康儿童 50 例为健康对照组,支气管肺炎 30 例为肺炎对照组。PCR 检测血 EGF、PAF-AH 的表达水平变化;ELISA 检测血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 的水平变化。**结果** 检测血 PAF-AH、EGF mRNA,病例组较健康对照组明显升高,HSPN 组血 PAF-AH mRNA 较非 HSPN 组亦升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);病例组较肺炎对照组血 PAF-AH 明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HSPN 组血 EGF mRNA 较非 HSPN 组升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。病例组血 PAF-AH、EGF 和尿 EGF 较健康对照组明显升高,且病例组恢复期较急性期明显降低($P < 0.05$)。**结论** 血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 参与 HSP 的发病过程,并且与肾脏损害有相关性。

[关键词] 紫癜,过敏性;肾炎;儿童;表皮生长因子;血小板活化因子**[中图分类号]** R72 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)33-4627-03

The clinical diagnosis significance of EGF and PAF-AH on henoch-schonlein purpura renal damage*

Zhang Jing¹, Lu Biao^{1△}, Liu Jing¹, Chen Lijun²

(1. Department of Pediatrics, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Department of Renal Medicine, Second Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

[Abstract] **Objective** To explore the correlation and clinical diagnostic significance between EGF, PAF-AH on henoch-schonlein purpura (HSP) renal damage in children, in order to provide a new way of thinking for early diagnosis and clinical prognosis for HSP nephritis(HSPN). **Methods** Totally 86 cases of children with HSP from September 2013 to January 2014 in hospital were collected. According to the presence of renal damage, the patients were divided into non-HSPN group and HSPN group, 50 cases of healthy children as control group, and 30 cases were diagnosed as "bronchial pneumonia". Using PCR technique to detect the change of blood EGF and PAF-AH, and using ELISA to detect the change of blood EGF, PAF-AH and urine EGF. **Results** Detection of blood PAF-AH mRNA, EGF mRNA in case group obviously higher than control group, and detection of blood PAF-AH mRNA in HSPN group were also higher than non-HSPN group ($P < 0.05$). Detection of blood EGF mRNA in HSPN group higher were than non-HSPN group, but there was no statistically significant difference ($P > 0.05$). Detection of serum PAF-AH, EGF and urine EGF in case group obviously higher than control group and the case group significantly lower recovery than acute stage ($P < 0.05$). **Conclusion** Blood EGF, PAF-AH and urine EGF process involved in the pathogenesis of HSP, and is related to renal damage.

[Key words] purpura, henoch schonlein; nephritis; children; epidermal growth factor; platelet-activating factor

过敏性紫癜(HSP)是一种以 IgA 介导的全身小血管炎为主要病变的变态反应性疾病。HSP 最严重的并发症是肾脏损害。紫癜性肾炎(HSPN)在 HSP 病程中出现血尿和(或)蛋白尿即可诊^[1]。是儿童最常见的继发性肾脏病之一,有无肾脏损害是决定 HSP 患儿预后的关键因素^[2]。肾活检才是 HSPN 的早期诊断的金标准,但其为创伤性检查,家属及患儿均难以接受。因此拟通过检测血表皮生长因子(EGF)、血小板活化因子乙酰水解酶(PAF-AH)和尿 EGF 的表达,探讨与 HSP 肾脏损害的关联性,判断是否这三者具有临床诊断意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例组:收集宁夏医科大学总院儿科 2013 年 9 月至 2014 年 1 月住院的 HSP 急性发作期患儿 86 例,符合诊

断标准^[3],初次诊断,近十天内未使用过肾上腺皮质激素及免疫抑制剂等药物。确诊后按是否发生肾脏损害分为非 HSPN 组和 HSPN 组。其中非 HSPN 组 60 例,男 27 例,女 33 例;汉族 42 例,回族 17 例,满族 1 例;发病年龄 3~14 岁,平均(7.17±2.06)岁。HSPN 组 26 例,男 17 例,女 9 例;汉族 16 例,回族 10 例;发病年龄 3~14 岁,平均(9.19±2.62)岁。HSP 起病前有明确感染者非 HSPN 组 17 例,HSPN 组 21 例。住院后给予抗过敏、抗凝、改善血管通透性等治疗 2 周后症状消失再次采血标本进行复查。健康对照组:为同期体检的健康儿童 50 例。男 27 例,女 23 例;汉族 38 例,回族 12 例;年龄 2.9~14.0 岁,平均(4.89±2.83)岁。近两周无过敏、肾脏病、风湿及哮喘病史。病例组与健康对照组儿童的性别、年龄、民

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81060005)。 作者简介:张静(1981-),医师,在读硕士,主要从事小儿肾脏及免疫系统疾病。

△ 通讯作者, E-mail: 37300911@qq.com。

族差异均无统计学意义($P>0.05$)。肺炎对照组:为同期住院确诊的支气管肺炎儿童 30 例。男 19 例,女 11 例;汉族 24 例,回族 6 例;年龄 0.9~14.0 岁,平均(3.71±3.14)岁。近两周无过敏、肾脏病、风湿病史。本研究已征得所有家属同意。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂 RNA 分离及抽提试剂、反转录-PCR 试剂盒、实时荧光定量 PCR 检测试剂盒(北京中科亚光生物科技公司);ELISA 试剂盒(武汉华美生物工程公司)。

1.2.2 主要仪器 低温冰箱,高速离心机,荧光 PCR 仪,酶标仪,电热恒温培养箱。

1.2.3 实验方法

1.2.3.1 留取标本 (1)所有研究对象入院当天分别采静脉血(非空腹)2 mL,一份加入无菌采血管(无抗凝剂),室温放置 2 h,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液分装,于-80 °C 冰箱备用。另一份加入无菌 EDTA-K₂ 采血管,-80 °C 冰箱备用。(2)所有研究对象第 2 天取晨尿中段尿 3 mL,离心取上清液,-80 °C 冰箱保存。

1.2.3.2 实时荧光定量 PCR 检测血 PAF-AH、EGF 水平

(1)总 RNA 的提取;(2)紫外线吸收法测定;(3)样品 cDNA 合成;(4)按梯度稀释的标准品及待测样品的实时荧光定量 PCR 检测;(5)制备用于绘制梯度稀释标准曲线的 DNA 模板。

1.2.3.3 ELISA 检测血中 EGF、PAF-AH 和尿 EGF 水平 将-80 °C 冰箱保存的血清和尿标本放置室温溶化。依次按照说明取出酶标板,加入标准品,酶标记溶液,显色剂,终止液。混匀后即在波长 450 nm 的酶标仪上读取各孔的光密度(OD)值,由标准曲线计算出样品血 EGF、PAF-AH 和尿 EGF 的实际浓度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 来表示,组间比较用配对 t 检验,差异比较采用 χ^2 检

验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血 EGF、PAF-AH mRNA 水平比较 病例组较健康对照组明显升高($P<0.05$),见表 1。HSPN 组血 PAF-AH mRNA 较非 HSPN 组明显升高($P<0.05$);HSPN 组血 EGF mRNA 较非 HSPN 组亦升高,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 1 病例组与健康对照组血 EGF、PAF-AH mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | EGF | PAF-AH |
|----------|----------|-----------|------------|
| 健康对照组 | 50 | 6.57±3.28 | 13.25±5.74 |
| 病例组 | 86 | 8.76±5.12 | 16.96±7.71 |
| <i>t</i> | | 2.570 | 2.894 |
| <i>P</i> | | 0.013 | 0.006 |

表 2 HSPN 组及非 HSPN 组血 EGF、PAF-AH mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | EGF | PAF-AH |
|----------|----------|------------|-------------|
| 非 HSPN 组 | 60 | 7.83±4.30 | 17.05±7.71 |
| HSPN 组 | 26 | 11.31±4.21 | 25.44±10.21 |
| <i>t</i> | | 1.415 | 2.199 |
| <i>P</i> | | 0.169 | 0.037 |

2.2 各组血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 水平比较 恢复期血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 较急性期明显降低($P<0.05$),见表 3。HSPN 组血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 较非 HSPN 组明显升高($P<0.05$),见表 4。病例组血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 较健康对照组明显升高($P<0.05$),见表 5。病例组较肺炎对照组血 PAF-AH 明显升高($P<0.05$),血、尿 EGF 降低,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 6。

表 3 HSPN 组及非 HSPN 组急性期与恢复期各指标水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

| 项目 | 血 PAF-AH | | 血 EGF | | 尿 EGF | |
|----------|-------------|--------------|-------------|---------------|-------------|-------------|
| | 非 HSPN 组 | HSPN 组 | 非 HSPN 组 | HSPN 组 | 非 HSPN 组 | HSPN 组 |
| 急性期 | 29.73±21.73 | 125.86±95.41 | 28.98±20.03 | 196.63±196.09 | 19.92±19.01 | 49.76±66.88 |
| 恢复期 | 11.08±7.11 | 30.51±27.14 | 10.80±5.54 | 25.21±17.28 | 11.17±8.65 | 19.20±14.51 |
| <i>t</i> | 6.489 | 5.250 | 7.160 | 4.319 | 3.389 | 2.414 |
| <i>P</i> | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.010 | 0.023 |

表 4 HSPN 组及非 HSPN 组儿童血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

| 组别 | <i>n</i> | 血 PAF-AH | 血 EGF | 尿 EGF |
|----------|----------|--------------|---------------|-------------|
| 非 HSPN 组 | 60 | 29.73±21.73 | 28.98±20.03 | 19.92±19.01 |
| HSPN 组 | 26 | 125.86±95.41 | 196.63±196.09 | 49.76±66.88 |
| <i>t</i> | | 6.173 | 4.629 | 3.052 |
| <i>P</i> | | 0.000 | 0.000 | 0.005 |

表 6 病例组及肺炎对照组儿童血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

| 组别 | 血 PAF-AH | 血 EGF | 尿 EGF |
|----------|-------------|-------------|-------------|
| 肺炎对照组 | 79.17±11.85 | 8.22±2.97 | 10.22±9.12 |
| 病例组 | 43.45±51.39 | 22.02±11.99 | 21.90±20.25 |
| <i>t</i> | 3.172 | 1.935 | 2.536 |
| <i>P</i> | <0.05 | >0.05 | >0.05 |

表 5 病例组及健康对照组儿童血 EGF、PAF-AH 及尿 EGF 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

| 组别 | <i>n</i> | 血 PAF-AH | 血 EGF | 尿 EGF |
|----------|----------|-------------|-------------|-------------|
| 健康对照组 | 50 | 6.35±3.56 | 5.33±3.20 | 12.37±6.62 |
| 病例组 | 86 | 43.45±51.39 | 22.02±11.99 | 21.90±20.25 |
| <i>t</i> | | 5.228 | 10.720 | 3.014 |
| <i>P</i> | | 0.000 | 0.000 | 0.004 |

3 讨论

HSP 是一种由免疫复合物介导以系统性小血管炎为主要病变的变态反应性疾病。其发病机制尚未明确。国内外研究认为 HSP 患儿体液免疫功能异常,T 细胞功能紊乱和多种促炎症因子失调,而导致免疫复合物通过激活补体而发挥作用^[4]。因肾脏有强大的贮备能力,在炎症反应和免疫损伤的早

期,难以发现肾脏损害,错过治疗的最佳时期。近几年临床研究重点探讨如何预防肾脏受损和早期判断肾脏受损的实验室指标^[5]。

肾脏是人体内合成 EGF 的重要器官之一。EGF 在调节肾脏细胞增殖和促进肾小管损伤后修复方面发挥重要作用。可以作为判断肾小球及肾小管损伤的指标之一。目前发现 EGF 是肾脏远端单位、膀胱上皮和输尿管的保护性因子,能够不同程度上维持泌尿系统上皮细胞的完整性。通过检测 EGF,判断肾脏功能,间接地判断肾小管的修复程度。尿 EGF 主要来自于肾脏,可以通过对血清和尿的 EGF 测定反映肾脏损伤情况^[6]。

本研究表明,病例组较健康对照组,HSPN 组较非 HSPN 组血 EGF mRNA 均明显升高。病例组较健康对照组血、尿 EGF 明显升高,且病例组恢复期较急性期明显降低。病例组较肺炎对照组血、尿 EGF 降低。HSP 肾脏损害的病理改变以肾小球系膜增生为主,EGF 持续高水平表达可刺激肾小球系膜细胞不断增殖,说明 HSP 早期尿 EGF 水平即可出现升高,且随着病情的进展,患儿尿 EGF 水平也随之不断增加,进而导致临床症状的出现,这与国内研究一致^[7]。检测 EGF 具有较高的临床价值,可对患者肾脏水平进行判断,为 HSP 肾脏损害的临床诊断提供了理论依据。

PAF-AH 是一种具有多种生物学活性的内源性磷脂类介质,在炎症、变态反应、血小板功能等方面具有重要作用,是血管系统及炎症系统中的细胞间调节分子。收缩平滑肌,增加血管通透性,另外还可以活化嗜酸性粒细胞,促其在炎症部位聚集。因此 PAF-AH 启动的信号调节或失调都可以导致疾病发生^[8]。研究报道^[9],我国普通人群中 PAF-AH 基因突变与 HSP 的发生无关,但 HSPN 患儿的 PAF-AH 基因突变与 HSP 肾脏损害的发生密切相关,具有 GT 和 TT 型基因患者发生 HSPN 的概率增大。

本研究表明,病例组较健康对照组、HSPN 组较非 HSPN 组血 PAF-AH mRNA 均升高。病例组较健康对照组血 PAF-AH 明显升高,且病例组恢复期较急性期明显降低。病例组较肺炎对照组血 PAF-AH 明显升高。这与研究^[10]结论相符。PAF-AH 参与了 HSP 的发病过程,并且与肾脏损害程度呈正相关。PAF-AH 在患者肾小球的损伤上发挥了重要的作用,不仅直接损伤肾小球,降低了肾小球滤过率,而且还损伤血管内皮细胞,加重了肾脏局部的炎性反应,诱发了大量蛋白尿,从而加快了肾小球的硬化^[11]。故本课题此次通过检测血 EGF、PAF-AH 和尿 EGF 分别在 HSP 中的表达明显升高,血 EGF、

PAF-AH 及尿 EGF 参与了 HSP 的发病过程。从而为 HSP 肾脏损害的临床诊断提供了相关依据,具有临床早期诊断的意义。具体实验室指标还需要扩大样本进一步深入研究。

参考文献

- [1] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 小儿肾小球疾病的临床分类、诊断及治疗[J]. 中华儿科杂志, 2001, 39(12): 746-749.
- [2] 干毅,李祥瑞,王会凤,等. 早期肾活检在尿检正常型儿童紫癜性肾炎中的临床意义[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(15):1647-1648.
- [3] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:688-690.
- [4] 卢莉敏,崔晓. 大剂量环磷酰胺联合甲基泼尼龙冲击治疗过敏性紫癜性肾炎的疗效分析[J]. 中国社区医师·医学专业, 2012, 18(14):186-189.
- [5] Qin W, Hongya W, Yongjing C, et al. Increased OX40 and soluble OX40 ligands in children with Henoch-Schonlein purpura: association with renal involvement [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2011, 22(1 Pt 1):54-59.
- [6] 张慧玉,田玲,王兰英,等. 肾积水尿 EGF、MCP-1 水平的检测及意义[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(12):1227-1229.
- [7] 马洪,李旭良,魏光辉,等. 尿微量清蛋白、 β_2 微球蛋白及尿表皮生长因子与儿童过敏性紫癜早期肾损伤的相关性研究[J]. 临床荟萃, 2013, 11(11):1259-1260.
- [8] Howard KM, Abdel-Al M, Ditmyer M, et al. Lipopolysaccharide and platelet-activating factor stimulate expression of platelet-activating factor acetylhydrolase via distinct signaling pathways [J]. *Inflam Res*, 2011, 60(8):735-744.
- [9] 逯玲. 血小板活化指标在重症感染患者监测中的意义[J]. 医学信息, 2011, 24(6):136.
- [10] 刘静,陆彪. 血小板活化因子乙酰水解酶与过敏性紫癜肾脏损害的关联性[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(5):331-333.
- [11] 欧俊,尹友生,韦家智,等. IgA 肾病患者外周血 PAF 及 PAF-AH 的变化及其意义[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 3(7):42-45.

(收稿日期:2015-07-09 修回日期:2015-08-10)

(上接第 4626 页)

- [9] Berger C, Uehlinger J, Gillefi D, et al. Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk for septicaemia [J]. *Eur J Pediatr*, 1995, 154(2):138-144.
- [10] Griffin MP, Morman JR. Toward the early diagnosis of neonatal sepsis and sepsis-like illness using novel heart rate analysis [J]. *Pediatrics*, 2001, 107(1):97-104.
- [11] Mavrommatis AC, Theodofidis T, Orfanidou A, et al. Coagulation system and platelets are fully activated in un-

complicated sepsis [J]. *Chil Care Med*, 2000, 28(6):451-457.

- [12] Aird WC. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis [J]. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78(6):869-881.
- [13] 余加林. 新生儿败血症的诊断和治疗 [J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(2):100-102.

(收稿日期:2015-08-17 修回日期:2015-09-13)