

过敏性紫癜肾累及患者 HLA-B35 检测的临床意义研究

梁效功¹, 杜继宇^{2△}

(四川省绵阳市中心医院:1. 血液科;2. 儿科 621000)

[中图分类号] R552

[文献标识码] C

[文章编号] 1671-8348(2015)36-5183-02

过敏性紫癜(henoch-schönlein purpura, HSP)是儿童及青少年常见的全身性血管炎性疾病,可累及皮肤、胃肠道、肾脏、关节等器官^[1]。容易反复发作,其发病的免疫及遗传学遗传主要集中在感染后免疫、体液免疫、细胞免疫及细胞因子遗传、个体的遗传易感性等方面。临床上,多数过敏性紫癜经过治疗可以治愈。但部分患者或迟或早会发生紫癜性肾炎(过敏性紫癜肾累及),迄今为止,Sano 等^[2]报道,男性,年龄大于 4 岁,或伴有严重腹部症状,ⅩⅢ因子活性水平下降,以及是否曾接受糖皮质激素治疗与过敏性紫癜最终发生肾累及密切相关。有研究认为 HSP 与人类白细胞抗原基因多态性有关。也有研究发现 HSP 肾累及与 HLA I 类基因 HLA-B35 相关。但 Peru 等^[3]认为 HLA-B35 仅是 HSP 的易感因素,与肾累及无关。因此,关于 HLA-B35 基因与 HSP 肾累及之间的关系尚存在争议。作者通过对 2011 年 3 月至 2012 年 3 月本院门诊初发儿童 84 例过敏性紫癜行 HLA-B35 基因检测,以探讨 HLA-B35 基因阳性与 HSP 肾累及之间的关系,进而探讨 HLA-B35 基因能否作为初发 HSP 肾累及的早期预判指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 确诊 84 例初发 HSP,其中,男 26 例,女 58 例,年龄 8~12 岁,平均(10.00±1.45)岁。均为本院 2011 年 3 月至 2012 年 3 月门诊就诊患者。均符合张之南主编的《血液病诊断及疗效标准》第 3 版的过敏性紫癜诊断标准^[4],并排除继发性变应性皮肤血管炎、免疫性血小板减少性紫癜、风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、原发性肾小球肾炎、IgA 肾病等疾病。患者具体病例资料见表 1。

表 1 84 例初发 HSP 患者基本资料特征

项目	构成比[n(%)]
性别	
男	26(31.0)
女	58(69.0)
临床症状及体征	
皮肤紫癜	84(100.0)
腹痛	32(38.1)
轻微蛋白尿/血尿	9(10.7)
关节痛	33(39.3)

1.2 方法 对于同意受试的 84 例初发 HSP 患者,均抽血采样进行 HLA-B35 基因检测。本组病例均口服泼尼松治疗(1 mg·kg⁻¹·d⁻¹),总疗程 3 周。根据检测结果把 HSP 患者分为 HLA-B35 基因阳性组及阴性组。分别随访 1 年以了解各组 HSP 患者肾累及及发生率。肾累及定义:存在肉眼或镜下血

尿,伴或不伴蛋白尿,肾累及观察时间为 12 个月,观察截点为初发治疗后 12 个月。所需试剂分别购自德国 Protrans 公司及美国 Dynal 公司及 Gt 公司。

1.2.1 血液保存 用 EDTA 抗凝血 1.5 mL 存于 4 °C 冰箱存放备检。

1.2.2 DNA 提取 取 300 μL EDTA₂Na 抗凝血,先后加入适量基因组 DNA 提取试剂 A 液、B 液、C 液及 D 液,振荡至沉淀完全析出后离心,取上清液加入 210 μL 异丙醇,使 DNA 析出成丝状沉淀。离心弃上清液,加入 70%乙醇洗涤,再次离心弃上清液,适量加入 TE 溶液溶解 DNA。

1.2.3 上样和 PCR 扩增 在有 HLA 分型混合液的 PCR 反应板,在 HLA 分型混合液中按每孔 1.0 μL buffer、1.0 μL H₂O 和 0.1 μL Taq 酶加入。再于每孔加入 1.0 μL DNA,然后上机扩增,按以下循环进行 PCR 扩增:95 °C 扩增 3 min,95 °C 扩增 3 s,60 °C 扩增 20 s,72 °C 扩增 60 s,72 °C 扩增 3 min。共扩增 30 个循环。然后进行电泳:使用 0.5×TBE buffer 配成 2%琼脂糖凝胶,PCR 产物点样到凝胶的样品槽内,0.5×TBE 为电泳缓冲液,5~10 v/cm 电泳 20~30 min,电泳后在紫外线下观察并拍片记录。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析处理,观察结果用 χ^2 检验进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

HLA-B35 阳性组 HSP 患者肾累及率高于 HLA-B35 阴性组(HLA-B35 阳性肾累及率为 30/34,HLA-B35 阴性组肾累及率为 27/54, χ^2 检验, $P < 0.05$),见图 1。

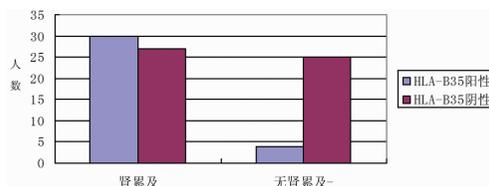


图 1 1HLA-B35 阳性 HSP 患者 1 年后肾累及情况

3 讨论

HSP 是儿童最常见的一种血管炎,它是一种涉及多系统的疾病,常累及皮肤、关节、胃肠道、肾的器官。其发病机制目前仍不十分清楚。但通常被认为是一种免疫复合物介导的疾病。通常以 IgA 聚合物沉积在真皮、消化道及肾小球毛细血管。IgA 聚合物或复合物沉积在靶器官,导致炎性介质的激活,包括血管前列腺素、白细胞介素、生长因子、肿瘤坏死因子在 HSP 血管炎发病机制中发挥重要作用。

除上述因素在 HSP 致病作用外,人们逐渐认识到 HLA 基因在本病发病过程中的致病作用。在继 1976 年研究发现

HLA-B35 与自身免疫性疾病血管炎有关后,1977 年研究发现 HLA-B 35 与 HSP 肾累及相关。Peru 等^[3]发现 HLA-B35 携带可能是 HSP 易感因素。但与肾脏损害及蛋白尿严重程度无关。Nathwani 等^[5]也发现 HSP 肾累及患者存在 HLA-B35 等位基因。Amoli 等^[6]发现,在 HSP 肾累及患者中 HLA-B35 抗原与严重的肾累及显著相关,但 HLA-B35 阳性与此病的易感性无关。基于上述研究基础及所得的矛盾的结果,作者通过对本院初发 HSP 患者 HLA-B35 基因检测,以探讨 HLA-B35 阳性在 HSP 肾累及中作用及肾累及的预测价值。根据检测结果将患者分为 HLA-B35 阳性组和 HLA-B35 阴性组,根据以往的研究及临床观察,初发 HSP 在 1 年内肾累及率尚不稳定,但在 1 年后肾累及率达到一个稳态。所以,本组研究对 HSP 患者进行长达 1 年的随访,并在发病 1 年作为观察的截点,发现 HLA-B35 阳性组肾累及率明显高于 HLA-B35 阴性组。提示 HLA-B35 可能在 HSP 肾累及中扮演重要作用。可以较好地预测初发 HSP 是否有较高的风险发生肾累及,从而为临床早期改变治疗策略进而对即将发生的肾累及提供早期的干预。HLA-B35 基因引起 HSP 肾累及的具体机制尚不清楚。但从 HSP 疾病本质上讲,其病理学基础是一种血管炎。有研究证实^[7],HLA-B35 可以显著增加内皮素-1,同时可以显著降低内皮源性 NO 合成酶, mRNA 及蛋白水平。HLA-B35 还可以显著上调伴侣蛋白,包括热休克蛋白、HLA-B35 可诱导内皮细胞网状组织张力及未折叠蛋白对内皮细胞的反应。通过上述途径 HLA-B35 可以导致内皮细胞功能紊乱,从而导致血管炎的发生。由此不难理解,富集毛细血管的肾脏作为 HSP 的靶器官,在 HLA-B35 阳性组因更易发生血管炎而导致肾累及发生。通过本研究提示,HLA-B35 基因的检测可以作为 HSP 肾累及的早期预测指标,同时注意到 HLA-B35 阳性患者仍有部分患者没有发生肾累及,可能与本组试验仅应用 PCR 定性试验有关,也可能是因为 HSP 是一种多因素协同作用的结果,单纯 HLA-B35 阳性或较弱的 HLA-B35 阳性不足以引起 HSP 肾累及。若采用定量 PCR 检测结果,可能得到更好的解释结果。在 HLA-B35 阴性的 52 例患者中,仍有 27 例最终发生了肾累及。造成这一现象的原因可能是因为 HSP 肾累及系多因素所致,如性别为男性,年龄大于 4 岁,或伴有严重腹部症状,

X III 因子活性水平下降,以及未曾接受糖皮质激素治疗与 HSP 肾累及相关。尽管如此,本研究采用 PCR 方法对 HLA-B35 单指标进行检测,仍能较好地预测 HSP 肾累及。当然,HSP 肾累及是一个复杂的进程,需结合临床多种指标、治疗干预策略综合研究。

参考文献

- [1] Kawasaki Y, Suzuki H. Comprehensive pediatric nephrology. 1st ed[M]. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2008: 341-351.
- [2] Sano H, Izumida M, Shimizu H, et al. Risk factors of renal involvement and significant proteinuria in Henoch-Schönlein purpura[J]. Eur J Pediatr, 2002, 161(4): 196-201.
- [3] Peru H, Soylemezoglu O, Gonen S, et al. HLA class 1 associations in Henoch Schonlein purpura: increased and decreased frequencies[J]. Clin Rheumatol, 2008, 27(1): 5-10.
- [4] 张之南, 沈梯. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 168-170.
- [5] Nathwani D, Laing RB, Smith CC, et al. Recurrent post-infective Henoch-Schönlein syndrome: a genetic influence related to HLA B35? [J]. J Infect, 1992, 25(2): 205-210.
- [6] Amoli MM, Thomson W, Hajeer AH, et al. HLA-DRB1 * 01 association with Henoch-Schönlein purpura in patients from northwest Spain [J]. J Rheumatol, 2001, 28(6): 1266-1270.
- [7] Lenna S, Townsend DM, Tan FK, et al. HLA-B35 upregulates endothelin-1 and downregulates endothelial nitric oxide synthase via endoplasmic reticulum stress response in endothelial cells[J]. J Immunol, 2010, 184(9): 4654-4661.

(收稿日期: 2015-06-06 修回日期: 2015-08-21)

(上接第 5182 页)

域其他学科如《人体解剖学》、《组织胚胎学》、《病理学》等的教学活动中。此外,还可以设计开放性试题的方式,探讨 SOLO 分类理论在药理学教学评价中的应用。

参考文献

- [1] 徐英俊, 曲艺. 教学设计[M]. 北京: 教育科学出版社, 2011: 16.
- [2] Biggs JB, Collis KF. Evaluating the quality of learning: the SOLO taxonomy (structure of the observed learning outcome)[M]. New York: Academic Press, 1982: 35.
- [3] 李祥兆. 数学开放题的 SOLO 评分方法初探[J]. 数学通讯, 2006, 74(1): 4-7.
- [4] 张静, 李改枝. SOLO 分类评价理论在化学开放性实验试题中的应用[J]. 化学教学, 2007, 29(7): 8-12.
- [5] 许欢. SOLO 分类法在大学英语口语学习评价中的应用

[J]. 长春教育学院学报, 2011, 27(9): 101-102.

- [6] 刘京莉. 以 SOLO 分类为基础的学生学习质量评价初探[J]. 教育学报, 2005, 1(4): 41-45.
- [7] 黄黎明, 颜穗芬. SOLO 分类评价理论及其对课程改革的启示[J]. 天中学刊, 2007, 22(6): 8-10.
- [8] 皮连生, 刘杰, 皮连生. 现代教学设计[M]. 北京: 首都师范大学出版社, 2005.
- [9] 胡清伟, 张谦. 药理学教学中激发与维持学生学习兴趣的思考[J]. 重庆医学, 2010, 39(15): 2083-2084.
- [10] 姜红, 田文园, 陈淑敏, 等. 临床药理学教学的几点体会[J]. 医学教育探索, 2010, 9(7): 900-901.
- [11] 蔡永红. SOLO 分类理论及其在教学中的应用[J]. 教师教育研究, 2006, 18(1): 34-40.

(收稿日期: 2015-06-16 修回日期: 2015-08-14)