

· 论 著 · DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2023.15.023

## 过敏性紫癜患儿滤泡辅助性 T 细胞及其亚群水平变化的临床意义

白跳艳

西安医学院第一附属医院检验科, 陕西西安 710016

**摘要:**目的 探讨过敏性紫癜患儿滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)及其亚群水平变化的临床意义。方法 选择 2020 年 8 月至 2022 年 1 月西安医学院第一附属医院收治的 114 例过敏性紫癜患儿作为观察组,另选择同期于该院进行体检的 57 例健康儿童作为对照组。检测并比较两组 Tfh(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup>)细胞及其亚群 Tfh1(CCR6-CXCR3+Tfh)、Tfh2(CCR6-CXCR3-Tfh)、Tfh17(CCR6+CXCR3-Tfh)细胞水平;采用 Pearson 相关分析 Tfh 及其亚群水平与过敏性紫癜患儿紫癜症状的相关性;观察组患儿均进行随访,根据预后是否良好分为预后良好组和预后不良组,比较两组 Tfh 及其亚群水平,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 Tfh 及其亚群水平对过敏性紫癜患儿预后的评估价值。结果 观察组 Tfh、Tfh2 水平均高于对照组,Tfh1 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但两组 Tfh17 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。紫癜症状评分  $> 4$  分的患儿 Tfh、Tfh2 水平高于紫癜症状评分  $\leq 4$  分的患儿,Tfh1 水平低于紫癜症状评分  $\leq 4$  分的患儿,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但不同紫癜症状评分患儿的 Tfh17 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Pearson 相关分析结果显示,过敏性紫癜患儿 Tfh、Tfh2 水平与紫癜症状评分呈正相关( $P < 0.05$ ),Tfh1 水平与紫癜症状评分呈负相关( $P < 0.05$ ),Tfh17 水平与紫癜症状评分无明显相关性( $P > 0.05$ )。预后不良组 Tfh、Tfh2 水平均高于预后良好组,Tfh1 水平低于预后良好组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但两组 Tfh17 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ROC 曲线分析结果显示,Tfh、Tfh1、Tfh2 评估过敏性紫癜患儿预后不良的曲线下面积分别为 0.894、0.849、0.783,灵敏度分别为 88.24%、85.29%、76.47%,特异度分别为 71.25%、70.00%、70.83%。结论 过敏性紫癜患儿 Tfh、Tfh2 水平较高,Tfh1 水平较低,Tfh17 水平正常,动态监测 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平有利于评估过敏性紫癜患儿病情严重程度及预后。

**关键词:**过敏性紫癜; 滤泡辅助性 T 细胞; 紫癜症状; 预后

中图分类号:R725.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)15-2243-04

### Clinical significance of changes in follicular T helper cells and its subgroups levels in children with allergic purpura

BAI Tiaoyan

Department of Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710016, China

**Abstract: Objective** To investigate the clinical significance of the changes in follicular helper T cell (Tfh) and its subgroups levels in children with allergic purpura. **Methods** A total of 114 children with allergic purpura admitted to the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University from August 2020 to January 2022 were selected as the observation group, and 57 cases of healthy children who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as the control group. The cell levels of Tfh (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup>) cells and its subgroups Tfh1 (CCR6-CXCR3 + Tfh), Tfh2 (CCR6-CXCR3-Tfh) and Tfh17 (CCR6+CXCR3-Tfh) were detected and compared in both groups. The correlation between Tfh cells and its subgroups with purpura symptoms in children with allergic purpura was analyzed by Pearson correlation analysis. All the children in the observation group were followed up, and subdivided into the good prognosis group and the poor prognosis group according to whether the prognosis was good or not. Tfh and its subgroups levels in both groups were compared, and ROC curve was drawn to analyze the evaluation value of Tfh and its subgroups levels on the prognosis of children with allergic purpura. **Results** The Tfh and Tfh2 levels in the observation group were higher than those in the control group, and the Tfh1 level was lower than that in the control group, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in Tfh17 level between the two groups ( $P > 0.05$ ). Tfh and Tfh2 levels in children with purpura symptom score  $> 4$  points were higher than those in children with purpura symptom score  $\leq 4$  points, and Tfh1 level was low-

er than that in children with purpura symptom score  $\leq 4$  points, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in Tfh17 between children with purpura symptom score  $> 4$  points and purpura symptom score  $\leq 4$  points ( $P > 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that Tfh and Tfh2 levels were positively correlated with purpura symptom scores ( $P < 0.05$ ), Tfh1 level was negatively correlated with Purpura symptom scores ( $P < 0.05$ ), and Tfh17 level was not significantly correlated with their purpura symptom scores ( $P > 0.05$ ). Tfh and Tfh2 levels in poor prognosis group were higher than those in good prognosis group, Tfh1 levels was lower than that in good prognosis group, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in Tfh17 level between the two groups ( $P > 0.05$ ). ROC curve analysis showed that the areas under the curve of Tfh, Tfh1 and Tfh2 for the poor prognosis assessment in children with allergic purpura were 0.894, 0.849 and 0.783; the sensitivity were 88.24%, 85.29% and 76.47%, and the specificity were 71.25%, 70.00% and 70.83%, respectively. **Conclusion** The levels of Tfh and Tfh2 in children with allergic purpura are high, Tfh1 level is low, and Tfh17 level is normal. Dynamic monitoring of Tfh, Tfh1 and Tfh2 is beneficial to evaluate the severity and prognosis of children with allergic purpura.

**Key words:** allergic purpura; follicular helper T cells; purpura symptoms; prognosis

过敏性紫癜为儿童常见疾病,主要临床症状包括下肢及臀部紫癜、关节疼痛或关节炎、腹痛等,且患儿出现肾功能损害的概率达 20%,严重影响患儿健康<sup>[1]</sup>。研究发现,过敏性紫癜常见于 10 岁以下儿童,尤其是 4~6 岁年龄段,并且该病复发率高,给患儿家庭及社会带来较大负担<sup>[2-3]</sup>。目前关于过敏性紫癜的发病机制仍处于探索阶段,众多研究均表明,免疫功能紊乱是引起过敏性紫癜的重要因素<sup>[4-5]</sup>。随着对机体免疫功能紊乱研究的加深,有研究者认为过敏性紫癜可能与滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)有关<sup>[6]</sup>。Tfh 属于 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群,其可表达趋化因子受体 5 (CXCR5),辅助 B 细胞诱导抗体应答,在 B 细胞转化中具有重要调控作用。根据 Tfh 表面趋化因子表达情况,可将其分为 Tfh1 (CCR6-CXCR3+ Tfh)、Tfh2 (CCR6-CXCR3-Tfh)、Tfh17 (CCR6+CXCR3-Tfh) 3 个亚群,后二者能够辅助 B 细胞分化成浆细胞,继而产生免疫球蛋白<sup>[7-8]</sup>。以往有研究报道 Tfh 及亚群参与了儿童过敏性紫癜发病过程,但主要聚焦在作用机制及紫癜性肾炎的发生<sup>[9-10]</sup>,而关于 Tfh 及其亚群与患儿预后关系的报道却较为少见。本研究通过观察过敏性紫癜患儿 Tfh 及亚群水平,并分析其与患儿病情及预后的关系,以期为临床改善患儿预后提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2020 年 8 月至 2022 年 1 月西安医学院第一附属医院(以下简称本院)收治的 114 例过敏性紫癜患儿作为观察组,其中男 60 例,女 54 例;年龄 4~13 岁,平均(9.83±1.96)岁。纳入标准:(1)符合过敏性紫癜诊断标准<sup>[11]</sup>;(2)年龄 3~14 岁;(3)入组前未使用过糖皮质激素或其他免疫抑制剂。排除标准:(1)存在严重感染性疾病;(2)有系统性红斑狼疮、肾病综合征等免疫系统疾病史;(3)合并心、肝、肺等重要脏器功能障碍;(4)有过敏性鼻炎、支气

管哮喘等过敏性疾病史。另选择同期于本院行体检的 57 例健康儿童作为对照组,其中男 34 例,女 23 例;年龄 5~14 岁,平均(9.91±2.03)岁。两组研究对象性别、年龄比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本次研究符合《赫尔辛基宣言》,患儿家属均知情同意。

**1.2 仪器与试剂** FACSCanto II 型流式细胞仪购自 BD Biosciences 公司, CD3-BV510、CXCR3-PE、CXCR5-PECY7、CCR6-PerCP-Cy5.5 均购自 BD Biosciences 公司,红细胞裂解液购自天根生化科技北京有限公司, CD4-FITC 购自北京四正柏公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 Tfh 及亚群水平检测** 采集受检者清晨空腹静脉血 3 mL,肝素钠抗凝,分成 3 管,第 1 管加入 CD3-BV510、CD4-FITC,第 2 管加入 CD3-BV510、CD4-FITC、CXCR5-PECY7,第 3 管加入 CD3-BV510、CD4-FITC、CXCR3-PE、CXCR5-PECY7、CCR6-PerCP-Cy5.5,振荡混匀后室温下避光孵育 30 min,之后向每管加入 2 mL 红细胞裂解液,振荡混匀,静置 10 min 后以 3 000 r/min 离心 3 min,除去上清液,加入 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS),振荡混匀,再次以 3 000 r/min 离心 3 min,除去上清液,重复相关操作,向得到的液体中加入 200  $\mu$ L PBS 重悬细胞,置于流式细胞仪上检测。

**1.3.2 紫癜症状评估** 根据 FESSATOU 等<sup>[12]</sup>制订的过敏性紫癜症状评分法对观察组患儿紫癜症状(皮肤紫癜、关节、消化道、肾脏)进行评估,评分越高表示患儿过敏性紫癜症状越严重。

**1.3.3 预后评估** 观察组患儿出院后均进行随访,随访截止日期为 2022 年 9 月 30 日,记录随访期间患儿过敏性紫癜复发情况,若复发则判为预后不良,若无复发则判为预后良好。

**1.4 统计学处理** 采用 FlowJo V 10.0.7 和

SPSS17.0 统计软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,两组间比较采用  $\chi^2$  检验;符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验;过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平与其紫癜症状评分的关系采用 Pearson 相关进行分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 Tfh 及其亚群水平对过敏性紫癜患儿预后不良的评估价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 观察组和对照组 Tfh 及其亚群水平比较** 观察组 Tfh、Tfh2 水平均高于对照组, Tfh1 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但两组 Tfh17 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 观察组和对照组 Tfh 及其亚群水平比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	n	Tfh	Tfh1	Tfh2	Tfh17
观察组	114	11.37±2.14	29.82±4.53	40.79±5.48	20.56±3.28
对照组	57	8.45±1.63	33.81±4.90	36.32±5.17	20.13±3.60
t		9.065	5.283	5.122	0.782
P		<0.001	<0.001	<0.001	0.435

**2.2 不同紫癜症状评分的过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平比较** 观察组患儿紫癜症状评分为(5.27±1.14)分,其中  $\leq 4$  分 38 例,  $> 4$  分 76 例。紫癜症状评分  $> 4$  分的患儿 Tfh、Tfh2 水平高于紫癜症状评分  $\leq 4$  分的患儿, Tfh1 水平低于紫癜症状评分  $\leq 4$  分的患儿,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但不同紫癜症状评分患儿的 Tfh17 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 不同紫癜症状评分的过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

项目	n	Tfh	Tfh1	Tfh2	Tfh17
紫癜症状评分 $> 4$ 分	76	12.25±2.09	28.63±4.25	41.94±4.96	20.60±3.33
紫癜症状评分 $\leq 4$ 分	38	9.61±1.88	32.20±4.14	38.49±4.57	20.48±3.19
t		6.568	4.264	3.592	0.184
P		<0.001	<0.001	<0.001	0.854

**2.3 过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平与紫癜症状评分的相关性分析** Pearson 相关分析结果显示,过敏性紫癜患儿 Tfh、Tfh2 水平与紫癜症状评分呈正相关( $P < 0.05$ ), Tfh1 水平与紫癜症状评分呈负相关( $P < 0.05$ ), Tfh17 水平与紫癜症状评分无明显相关性( $P > 0.05$ )。见表 3。

**2.4 不同预后的过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平比较** 根据随访结果,将观察组患儿分为预后良好组(80 例)和预后不良组(34 例)。预后不良组 Tfh、Tfh2 水平均高于预后良好组, Tfh1 水平低于预后良

好组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),但两组 Tfh17 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 4。

**2.5 Tfh 及其亚群水平对过敏性紫癜患儿预后的诊断价值** ROC 曲线分析结果显示,以预后良好为对照, Tfh、Tfh1、Tfh2 评估过敏性紫癜患儿预后不良的曲线下面积(AUC)分别为 0.894、0.849、0.783,诊断过敏性紫癜儿童预后不良灵敏度分别为 88.24%、85.29%、76.47%,特异度分别为 71.25%、70.00%、70.83%。见表 5。

表 3 过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平与紫癜症状评分的相关性分析

指标	r	P
Tfh	0.573	<0.05
Tfh1	-0.542	<0.05
Tfh2	0.519	<0.05
Tfh17	0.206	>0.05

表 4 不同预后的过敏性紫癜患儿 Tfh 及其亚群水平比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	n	Tfh	Tfh1	Tfh2	Tfh17
预后不良组	34	13.35±1.96	26.49±4.20	44.12±4.89	20.38±3.02
预后良好组	80	10.53±1.83	31.23±4.37	39.37±5.06	20.64±3.43
t		7.369	5.359	4.631	0.383
P		<0.001	<0.001	<0.001	0.702

表 5 Tfh 及其亚群水平对过敏性紫癜患儿预后的诊断价值

指标	AUC	最佳截断值 (%)	95%CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)
Tfh	0.894	11.97	0.817~0.972	88.24	71.25
Tfh1	0.849	35.18	0.762~0.935	85.29	70.00
Tfh2	0.783	35.62	0.675~0.892	76.47	70.83

## 3 讨论

尽管过敏性紫癜具体发病机制还不明确,但大量研究证实,过敏性紫癜发病时机体细胞免疫处于异常状态, Th1/Th2、Th17/Treg 细胞免疫失衡,这与过敏性紫癜的发生具有密切关联<sup>[13]</sup>。近年来有研究发现,除了 Th1、Th2 等细胞外,还存在一种具有独立效应的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群,即 Tfh。Tfh 受 B 细胞淋巴瘤 6 蛋白(Bcl-6)控制,其通常迁移到淋巴滤泡,能够同时表达 CXCR5、程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)、诱导性共刺激分子(ICOS)等因子,可辅助 B 细胞产生抗体<sup>[10,14]</sup>。有研究显示, Tfh 为抗体产生的重要辅助者,其功能失调是影响多种疾病(如自身免疫性疾病、肿瘤)发生的重要因素<sup>[15]</sup>。而在对过敏性紫癜患儿的研究中发现,与无过敏性紫癜儿童比较,过敏性紫癜患儿 Tfh 细胞及其相关细胞因子呈高表达<sup>[16]</sup>。

本研究显示,观察组 Tfh 水平明显高于对照组( $P < 0.05$ ),即过敏性紫癜患儿 Tfh 处于高水平,过敏性紫癜的发生可能与患儿机体 Tfh 水平有关,与以往研究相符。分析原因,Tfh 能通过 ICOS、CD40L 等分子和分泌白细胞介素(IL)-10、IL-21 促使次级淋巴组织滤泡生发中心初始 B 细胞发育,还可以促进 B 细胞抗体类别转换<sup>[17]</sup>,Tfh 功能亢进可能会引起自身抗体非正常增殖,介导病态免疫反应,继而参与过敏性紫癜的发生。进一步分析 Tfh 亚群水平,观察组 Tfh1、Tfh2 水平与对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示过敏性紫癜患儿 Tfh1/Tfh2 处于失衡状态,其 Tfh 细胞以 Thf1 水平下降、Tfh2 水平上升为特点亚群紊乱。

本研究结果还显示,不同紫癜症状评分的过敏性紫癜患儿 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),且过敏性紫癜患儿 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平与其紫癜症状评分均存在明显相关性( $P < 0.05$ ),提示 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平与过敏性紫癜症状密切相关,Tfh、Tfh2 水平越高、Tfh1 水平越低,患儿紫癜症状越严重。Tfh 异常表达越明显,Tfh1 和 Tfh2 失衡越严重,Tfh 功能越亢进,自身抗体异常增殖介导的病态免疫反应也会越显著,反映到患儿上表现为紫癜症状愈加明显。目前临床治疗过敏性紫癜主要予以去除致病因素和对症支持治疗,大部分患儿经治疗后可以获得明显改善,预后较好,但仍有许多患儿疗效并不理想,容易反复发作<sup>[18]</sup>。本研究观察不同预后患儿 Tfh 及其亚群水平发现,预后不良组 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平与预后良好组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平可能与患儿预后存在关联性。ROC 曲线分析结果表明,Tfh、Tfh1、Tfh2 评估过敏性紫癜患儿预后不良的 AUC 分别为 0.894、0.849、0.783,灵敏度分别为 88.24%、85.29%、76.47%,特异度分别为 71.25%、70.00%、70.83%,表明检测 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平有利于评估过敏性紫癜患儿预后。

综上所述,过敏性紫癜患儿 Tfh、Tfh2 水平较高,Tfh1 水平较低,Tfh17 水平正常,Tfh、Tfh1、Tfh2 水平可反映过敏性紫癜患儿病情严重程度,对患儿 Tfh、Tfh1、Tfh2 水平进行检测,有利于评估过敏性紫癜患儿病情及预后,便于临床医师根据患儿病情调整临床治疗方案,尽可能改善患儿预后。

## 参考文献

[1] 余钦春,李双双,聂国明,等. 儿童过敏性紫癜发生肾损害的研究概况[J]. 华南国防医学杂志,2019,33(5):368-371.  
[2] 付强,石明芳,陈颖. 阿法骨化醇治疗儿童过敏性紫癜的前瞻性随机对照研究[J]. 中国当代儿科杂志,2021,23

(8):797-801.

- [3] ALOJZIJA H, MATIJA T. Comment on: gastrointestinal involvement in adult IgA vasculitis (Henoch-Schlein purpura): updated picture from a French multicentre and retrospective series of 260 cases[J]. Rheumatology, 2020, 59(10):e72.  
[4] 杨星光. 血液净化与丙种球蛋白治疗儿童重症过敏性紫癜的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2021, 48(10):693-696.  
[5] 姜盈盈,白晗,吴静静,等. 中医药治疗儿童过敏性紫癜的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(6):859-863.  
[6] 王彬,邵宽芙蓉,董晨. 滤泡辅助性 T 细胞及半乳糖缺乏的 IgA1 在儿童过敏性紫癜中的表达及意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(5):473-477.  
[7] 黄子宸,赵铨,王健,等. 滤泡辅助性 T 细胞及其功能分子在系统性红斑狼疮中的研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(1):73-78.  
[8] 梁一晨,姚洋,张芮君,等. 外周血效应型滤泡辅助性 T 细胞和滤泡辅助性 T 细胞亚型在系统性红斑狼疮发病机制中的作用[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(3):164-168.  
[9] 李婷,唐筱潇,阳海平,等. Tfh 通过 CD40/CD40L 轴在介导儿童过敏性紫癜发病中的作用与机制初探[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(1):47-54.  
[10] 唐筱潇,李婷,陈学兰,等. 滤泡辅助性 T 细胞及亚群紊乱参与儿童过敏性紫癜发病机制初探[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(2):120-127.  
[11] 吴小川. 儿童过敏性紫癜循证诊治建议解读[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(7):508-511.  
[12] FESSATOU S, NICOLAIDOU P, GOURGIOTIS D, et al. Endothelin 1 levels in relation to clinical presentation and outcome of Henoch Schonlein purpura[J]. BMC Pediatrics, 2008, 8(8):33.  
[13] 冯小倩,田秀英,罗娅瑞. 过敏性紫癜与 T 淋巴细胞亚群及效应细胞因子的关系[J]. 重庆医学, 2020, 49(22):3087-3090.  
[14] 郑静,高开波. 滤泡辅助性 T 细胞在 B 细胞淋巴瘤免疫微环境中作用的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志, 2020, 43(4):362-364.  
[15] 张洁瑜,王刚. 滤泡辅助性 T 细胞在自身免疫性疾病中的研究进展[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2018, 32(7):834-837.  
[16] 应蓓,李宇红,邵晓珊,等. 滤泡辅助性 T 细胞及半乳糖缺乏的 IgA1 在儿童过敏性紫癜发病机制中的意义[J]. 国际儿科学杂志, 2021, 48(10):715-719.  
[17] 钟康骏,于鹏龙,王蝶,等. 滤泡辅助性 T 细胞及其在免疫疾病中的应用[J]. 徐州医学院学报, 2021, 41(8):621-624.  
[18] 宋丹阳,江雅静,刘昱,等. 过敏性紫癜患儿血清免疫指标及白细胞介素-6 水平与疾病复发的相关性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(10):1026-1029.