

过敏性紫癜患儿肠道菌群 B/E 值变化与血清 Gd-IgA1、TGF-β1 及 IGF-1 的相关性分析

闫京京¹, 张京荣¹, 于乔¹, 陆陆², 蒋亚洲^{1*}

(1. 南京鼓楼医院集团宿迁医院, 徐州医科大学附属宿迁医院儿科, 江苏 宿迁 223800;
2. 宿迁市妇幼保健院儿科, 江苏 宿迁 223800)

摘要: **目的** 分析过敏性紫癜(HSP)患儿肠道菌群双歧杆菌与大肠埃希菌数值之比(B/E 值)变化与血清低糖基化 IgA1(Gd-IgA1)、转化生长因子-β1(TGF-β1)及胰岛素样生长因子-1(IGF-1)的相关性。**方法** 选择 2018 年 1 月至 2020 年 5 月在南京鼓楼医院集团宿迁医院儿科住院的 128 例 HSP 患儿作为研究对象, 根据是否累及肾脏分为普通 HSP 组 73 例和紫癜性肾炎(HSPN)组 55 例。另选取同期健康体检儿童 50 例作为对照组。采用细菌 16S rDNA 荧光定量 PCR 技术检测粪便中双歧杆菌和大肠杆菌数量, 并计算 B/E 值。采用酶联免疫吸附法检测血清低 Gd-IgA1、TGF-β1 及 IGF-1 水平。探讨 B/E 值与血清 Gd-IgA1、TGF-β1 及 IGF-1 之间的相关性。**结果** HSP 组患儿总体肠道双歧杆菌和 B/E 值均低于对照组, 大肠杆菌数量和血清 Gd-IgA1、TGF-β1、IGF-1 水平均高于对照组($P<0.05$); HSPN 组患儿肠道双歧杆菌和 B/E 值低于普通 HSP 组, 大肠杆菌数量和血清 Gd-IgA1、TGF-β1、IGF-1 水平高于普通 HSP 组($P<0.05$); Pearson 相关分析显示, HSP 患儿肠道菌群 B/E 值与血清 Gd-IgA1、TGF-β1 及 IGF-1 均负相关($r=-0.686, -0.652, -0.598, P<0.05$)。**结论** HSP 患儿肠道菌群存在肠道菌群失调表现, 且 HSPN 患儿 B/E 值降低更明显; Gd-IgA1、TGF-β1 及 IGF-1 均参与 HSPN 的发生发展过程, 与肠道菌群失调或具有一定相关性。

关键词: 过敏性紫癜; 肠道菌群; B/E 值; 低糖基化 IgA1; 转化生长因子-β1; 胰岛素样生长因子-1

中图分类号: R725.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-3882(2021)11-0823-04

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3882.2021.11.008

Correlation between B/E value in the intestinal flora and serum Gd-IgA1, TGF-β1 and IGF-1 in children with Henoch-Schonlein purpura

YAN Jingjing¹, ZHANG Jingrong¹, YU Qiao¹, LU Lu², JIANG Yazhou¹

(1. Department of Pediatrics, Suqian Hospital of Nanjing Gulou Hospital Group, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University Suqian Hospital, Suqian, Jiangsu 223800, China;
2. Department of Pediatrics, Suqian Maternal and Child Health Hospital, Suqian, Jiangsu 223800)

Abstract: Objective To analyze the correlation between the ratio of bifidobacterium to Escherichia coli (B/E value) and serum galactose-deficient IgA1 (Gd-IGA1), transforming growth factor-β1 (TGF-β1) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in children with Henoch-Schonlein purpura (HSP). **Methods** A total of 128 HAP children who were admitted into Department of Pediatrics, Suqian Hospital of Nanjing Gulou Hospital Group from January 2018 to May 2020 were enrolled into the current study. According to the impact on the kidneys, they were divided into two groups: a normal HSP group ($n=73$) and a Henoch-Schonlein purpura nephritis (HSPN) group ($n=55$). Meanwhile, another 50 healthy children were selected as a control group. The number of bifidobacterium and Escherichia coli in feces was detected by 16S rDNA fluorescence quantitative PCR, and the B/E value was calculated. The enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the levels of serum galactose-deficient IgA1 (Gd-IGA1), transforming growth factor-β1 (TGF-β1) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1). The correlation between B/E value and serum Gd-IGA1, TGF-β1 and IGF-1 was explored. **Results** Compared with the control group, the HSP group presented remarkable decreases in the number of total intestinal bifidobacterium and

基金项目:江苏省妇幼健康科研项目(F201941);江苏省妇幼保健协会科研立项课题(FYX202027)

* 通信作者, E-mail: gaosaneer@126.com

B/E value, and increases in the number of *Escherichia coli* and the levels of serum Gd-IgA1, TGF- β 1 and IGF-1 ($P < 0.05$). Compared with the normal HSP group, the HSPN group showed significant decreases in the number of intestinal bifidobacterium and B/E, and the number of *Escherichia coli* and the levels of serum Gd-IgA1, TGF- β 1 and IGF-1 ($P < 0.05$). According to Pearson correlation analysis, intestinal flora B/E value was significantly negatively correlated with serum Gd-IgA1, TGF- β 1 and IGF-1 ($r = -0.686, -0.652, -0.598$, respectively, $P < 0.05$). **Conclusions** The intestinal flora of children with HSP was dysregulated, and the decrease of B/E value is more obvious in children with HSPN. Gd-IgA1, TGF- β 1 and IGF-1 are all involved in the pathogenesis of HSPN, which may have a certain correlation to intestinal flora dysregulation.

Key words: Henoch-Schonlein purpura; intestinal flora; B/E value; galactose-deficient IgA1; transforming growth factor- β 1; insulin-like growth factor-1

过敏性紫癜(HSP)是儿科常见的微血管变态反应性出血性疾病,侵犯皮肤和其他器官细小动脉和毛细血管,可引起皮肤、关节、肠道和肾脏小血管炎症和出血,其中30%~60%病例有肾脏受损的表现,可发展为紫癜性肾炎(HSPN),导致治疗时间延长,预后不佳,并加重家庭经济负担^[1]。目前关于HSP发病机制的研究较多,但观点仍未统一。近年来有研究发现,肠道菌群失调在过敏性疾病的发生、发展过程中起重要作用,肠道益生菌数量减少可能影响患儿的预后和转归^[2-3]。关于HSP患儿相关细胞因子水平与肾损害的研究有所报道,但关于肠道菌群与细胞因子水平的研究报道还不多见。本研究针对可能参与HSP发生、发展的细胞因子低糖基化IgA1(Gd-IgA1)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)及胰岛素样生长因子-1(IGF-1)进行研究,分析其与患儿肠道菌群双歧杆菌与大肠埃希菌数值之比(B/E值)的相关性,探讨其发病机制,为HSP患儿的临床治疗和预后判断提供指导。

1 资料和方法

1.1 一般资料 研究获得南京鼓楼医院集团宿迁医院伦理委员会批准(审批号:LW20200006)。选择2018年1月至2020年5月在南京鼓楼医院集团宿迁医院儿科住院的128例HSP患儿作为研究对象,其中男78例,女50例;年龄3~5岁,平均(4.02 $\pm$ 0.56)岁。根据是否累及肾脏分为普通HSP组73例和紫癜性肾炎(HSPN)组55例。普通HSP组中男44例,女29例,年龄3~5岁,平均(4.06 $\pm$ 0.50)岁;HSPN组中男34例,女21例,年龄3~5岁,平均(3.98 $\pm$ 0.52)岁。另选取同期健康体检儿童50例作为对照组,其中男30例,女20例,年龄3~5岁,平均(4.06 $\pm$ 0.62)岁。3组患儿一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 诊断标准与纳入、排除标准

1.2.1 诊断标准 均符合《诸福棠实用儿科学》^[4]中过敏性紫癜诊断标准(满足①和②~⑤中任一项):①皮肤紫癜;②关节炎或关节痛;③腹痛;④组织学检查提示IgA沉积;⑤危及肾脏。HSPN参照中华医学会儿科学分会肾脏病学组制定的诊断标准^[5]:肉眼或镜下出现血尿或蛋白尿。

1.2.2 纳入标准 ①初次发病,未经激素、抗组胺药及其他免疫抑制剂治疗;②患儿家属知情,自愿签署知情同意书。

1.2.3 排除标准 ①心、脑、肺、肾等重要脏器功能障碍;②原发性免疫缺陷病;③肾病综合征;④精神疾病;⑤患儿家属拒绝参与研究。

1.3 研究指标

1.3.1 标本采集 入院后次日(对照组于体检当日)采集空腹静脉血2 ml,肝素抗凝,1 500 r/min离心分离10 min,提取上清液至EP管中,−80℃保存备用;同时采集4 h内的新鲜粪便(2 g以上)于粪便盒内,低温−80℃保存。

1.3.2 血清学指标检测 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血清Gd-IgA1、TGF- β 1及IGF-1水平,试剂盒由西门子医学诊断产品有限公司提供。

1.3.3 肠道菌群定量分析 采用粪便基因组DNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取粪便细菌DNA,采用荧光定量PCR检测,以标准菌株DNA提取液为阳性对照,无菌双蒸水(ddH₂O)为阴性对照,采用Light Cycler480数据分析软件自动生成标准曲线,根据曲线结果对PCR产物进行特异性分析,用克隆数/g表示粪便中双歧杆菌与大肠埃希菌的数量,并计算双歧杆菌(B)与大肠杆菌(E)的比值(B/E值)。B/E值 ≥ 1 提示肠道定植抗力正常;B/E值 < 1 提示肠道定植抗力降低,肠道菌群紊乱。

1.4 统计学处理 应用SPSS 22.0软件处理数据,双歧杆菌和大肠埃希菌的数量、B/E值及血清Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1水平以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行独立样

本 t 检验;采用 Pearson 相关分析 B/E 值与血清 Gd-IgA1、TGF- β 1 及 IGF-1 之间的相关性,并绘制散点图。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP 患儿和对照组双歧杆菌、大肠埃希菌的数量及 B/E 值比较 HSP 组患儿肠道双歧杆菌和 B/E 值均低于对照组,大肠杆菌数量高于对照组(P

<0.05)。见表 1。HSPN 组患儿肠道双歧杆菌和 B/E 值低于普通 HSP 组,大肠杆菌数量高于普通 HSP 组($P<0.05$)。见表 1。

2.2 HSP 患儿和对照组的血清 Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1 水平比较 HSP 患儿血清 Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1 水平均高于对照组($P<0.05$)。见表 2。HSPN 组患儿血清 Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1 水平高于普通 HSP 组($P<0.05$)。见表 2。

表 1 HSP 患儿和对照组双歧杆菌、大肠埃希菌的数量和 B/E 值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	双歧杆菌(克隆数/g)	大肠埃希菌(克隆数/g)	B/E 值
HSP 组	128	6.45 $\pm$ 0.84 [*]	6.72 $\pm$ 0.70 [*]	0.96 $\pm$ 0.20 [*]
普通 HSP 组	73	6.63 $\pm$ 0.82 [#]	6.45 $\pm$ 0.62 [#]	1.03 $\pm$ 0.12 [#]
HSPN 组	55	6.14 $\pm$ 0.40	6.84 $\pm$ 0.33	0.90 $\pm$ 0.10
对照组	50	7.47 $\pm$ 0.52	5.90 $\pm$ 0.38	1.27 $\pm$ 0.64

与对照组比较:^{*} $P<0.05$;与 HSPN 组比较:[#] $P<0.05$

表 2 HSP 患儿和对照组的血清 Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Gd-IgA1($\times 10^6$ U/L)	TGF- β 1(ng/L)	IGF-1(ng/L)
HSP 组	128	2.526 $\pm$ 0.27 [*]	6.47 $\pm$ 1.85 [*]	156.94 $\pm$ 22.20 [*]
普通 HSP 组	73	2.445 $\pm$ 0.22 [#]	5.96 $\pm$ 0.88 [#]	143.75 $\pm$ 20.15 [#]
HSPN 组	55	2.620 $\pm$ 0.18	6.78 $\pm$ 0.82	170.07 $\pm$ 18.48
对照组	50	2.198 $\pm$ 0.24	4.28 $\pm$ 1.40	128.20 $\pm$ 18.64

与对照组比较:^{*} $P<0.05$;与 HSPN 组比较:[#] $P<0.05$

2.3 B/E 值与血清 Gd-IgA1、TGF- β 1 及 IGF-1 的相关性 Pearson 相关分析显示,HSP 患儿肠道菌群 B/E 值与血清 Gd-IgA1、TGF- β 1 及 IGF-1 呈负

相关($r=-0.686$ 、 -0.652 、 -0.598 , $P<0.05$)。见图 1。

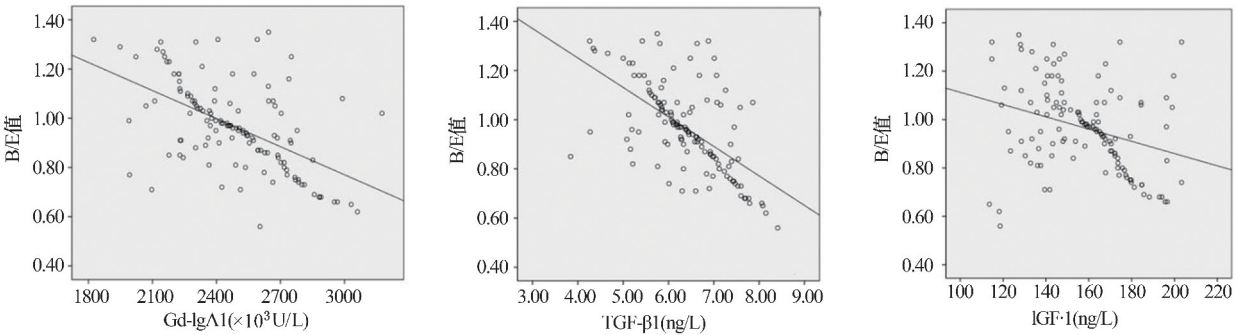


图 1 HSP 患儿 B/E 值与血清 Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1 水平相关性的散点图

3 讨论

双歧杆菌是目前公认的肠道益生菌,对宿主有利无害,可将纤维素和非淀粉多糖等复杂碳水化合物转化为乳酸和丙酸,在肠道内形成酸性环境,抑制

致病菌的生长。大肠埃希菌属于机会性细菌,与宿主共栖,在肠道菌群处于平衡状态时数量较少,是维持微生物群落生态平衡的必要组成部分,但在病理状态下数量会出现异常增多,引发疾病^[6-7]。Mani-
kpuri 等^[2]研究发现,HSP 患儿肠上皮细胞损伤后,

肠道菌群赖以生存的环境受到影响,肠道保护机制被破坏,会导致双歧杆菌数量减少,大肠埃希菌数量增多,B/E值明显降低,肠道菌群失调,且这种变化可能在HSP的发病中发挥重要作用。

本研究结果同样显示,HSP组患儿肠道双歧杆菌和B/E值均低于对照组,大肠杆菌数量高于对照组;同时本研究还发现,HSPN组患儿肠道双歧杆菌和B/E值低于普通HSP组,大肠杆菌数量高于普通HSP组,提示肠道菌群失调还与肾功能损害相关,笔者认为这一作用与肠道菌群失调引起的免疫功能下降有关,但具体的作用机制还需后续研究深入探讨。

Gd-IgA1水平升高是IgA肾病(IgAN)的重要标志,其水平与疾病的进展和预后密切相关^[8]。而IgAN与HSPN具有高度一致性,均由IgA免疫异常所致,因此有学者认为Gd-IgA1水平也与HSPN的进展和预后相关,Gd-IgA1水平异常升高可增加抗多聚糖的IgG或IgA1抗体,形成IgA1-IgG免疫复合物,在肾小球沉积,激活系膜细胞,引起肾小球炎症病变,加重肾脏损害^[9]。TGF- β 1是一种可作用于胚胎发育、细胞生长、炎症及免疫反应等多方面的活性多肽,近年来有研究发现其水平升高可促进肾脏系膜细胞增生,诱导细胞外基质沉积,导致肾小球硬化和肾组织纤维化^[10]。IGF-1是具有多种生理功能的细胞因子,有研究指出其参与多种血管炎性疾病的发生和进展,可诱导内皮细胞黏度因子表达,促进免疫细胞增殖,加重炎症反应损伤,导致系膜增生^[11]。本研究中,HSP患儿血清Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1水平均高于对照组,HSPN组患儿血清Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1水平高于普通HSP组,提示Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1之间相互作用,共同参与HSPN的发病。此外,本研究Pearson相关分析显示,HSP患儿肠道菌群B/E值与血清Gd-IgA1、TGF- β 1及IGF-1水平表现出一定负相关关系,提示Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1可能参与了HSPN的发病过程,并与肠道菌群失衡存在一定关系。因此,笔者猜测血清Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1水平升高可能会加重HSP患儿的肠道菌群失衡现象,甚至增加肾脏损害风险,需要引起临床重视。但目前临床相关报道较为少见,且本研究结论中B/E值与血清Gd-IgA1、TGF- β 1、IGF-1的相关性一般,笔者分析可能是由于本研究收集样本量较小所致,未来还需开展更多大样本研究进一步验证其相关性,深入探讨

HSPN的发病机制,为临床治疗提供更多科学依据。

综上所述,HSP患儿出现肠道菌群紊乱,表现为肠道双歧杆菌数量和B/E值降低,大肠杆菌数量升高,若未能及时纠正肠道菌群紊乱状态可能导致肾功能损害;血清Gd-IgA1、TGF- β 1及IGF-1参与HSPN的发病、发展,与肠道菌群B/E值变化或具有一定相关性,有望成为HSP早期肾损害的评价指标,指导临床治疗的开展。

参考文献:

- [1] Shi D, Chan H, Yang X, et al. Risk factors associated with IgA vasculitis with nephritis (Henoch-Schönlein Purpura nephritis) progressing to unfavorable outcomes: a meta-analysis[J/OL]. PLoS One, 2019, 14(10): e0223218.
- [2] Manikpuri M, Tiwari KL, Tiwary BN. Effect of seasonal variation on aeromycoflora of Bilaspur, Chhattisgarh, involved in allergic reactions[J]. Aerobiologia, 2018, 34(1): 119-126.
- [3] 陈鹏德, 林燕, 杨洁, 等. 过敏性紫癜患儿肠道菌群结构及多样性研究[J]. 中国妇幼健康研究, 2017, 28(7): 747-752, 757.
- [4] 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: 124-125.
- [5] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 儿童常见肾脏疾病诊治循证指南(二): 紫癜性肾炎的诊治循证指南(试行)[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(12): 911-913.
- [6] Bała M, Sahebkar A, Ursoniu S, et al. Effects of tibolone on fibrinogen and antithrombin III: a systematic review and meta-analysis of controlled trials[J]. Pharmacol Res, 2017, 124: 64-73.
- [7] 张琳倩, 李小兵, 包云光. 腹型过敏性紫癜患儿急性期与恢复期肠道菌群变化的分析[J]. 中国微生物学杂志, 2020, 32(2): 146-150.
- [8] Liu Y, Zheng J, Jia J, et al. Changes E3 ubiquitin protein ligase 1 gene mRNA expression correlated with IgA glycosylation in patients with IgA nephropathy[J]. Ren Fail, 2019, 41(1): 370-376.
- [9] Sugiyama M, Wada Y, Kanazawa N, et al. A cross-sectional analysis of clinicopathologic similarities and differences between Henoch-Schönlein Purpura nephritis and IgA nephropathy[J/OL]. PLoS One, 2020, 15(4): e0232194.
- [10] Zhao S, Shen H, Gu W, et al. Evaluation of TGF- β 1 and MCP-1 expression and tubulointerstitial fibrosis in children with Henoch-Schönlein Purpura nephritis and IgA nephropathy: a clinical correlation[J]. Clinics (Sao Paulo), 2017, 72(2): 95-102.
- [11] 常欣, 代志彬, 李贵贤, 等. IGF-1, TGF- β 1水平变化与过敏性紫癜患儿肾损害的关系[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(3): 101-104.

收稿日期: 2021-02-28 修回日期: 2021-10-02

本文编辑: 程春开