

The Expression and Clinical Significance of CD4⁺Tim-3⁺T Cell in Peripheral Blood for Acute Henoch Schonlein Purpura Patients

Xiaolin Li^{1,2}, Shaojie Chen², Yibiao Wang², Ou Chen^{1,2*}

¹Department of Nursing, Shandong University, Jinan Shandong

²Department of Pediatrics, Second Hospital, Shandong University, Jinan Shandong

Email: *351337075@qq.com

Received: Jul. 22nd, 2018; accepted: Aug. 14th, 2018; published: Aug. 21st, 2018

Abstract

Objective: To identify the expression and clinical significance of Tim-3 in CD4⁺ T cells in HSP acute patients. **Methods:** 22 HSP acute patients and 15 health cases took part in this research. The frequencies of CD4⁺Tim-3⁺ T cells in peripheral blood were detected by Flow cytometry. It also analyzed the relationship between CD4⁺Tim-3⁺ T cells and clinical features. **Results:** The frequencies of CD4⁺Tim-3⁺ T cells were lower in acute HSP patients (3.03% ± 0.69%) than in healthy controls (3.74 ± 0.62%). The frequencies of CD4⁺Tim-3⁺ T cells were negative related with ESR in HSP acute patients ($r = -0.813, p < 0.05$), but had no correlation with rash duration in days ($r = -0.063; P > 0.05$), kidney lesions ($r = -0.208; P > 0.05$), ASO ($r = -0.057; P > 0.05$), C3 ($r = -0.029; P > 0.05$) and the numbers with lesion systems ($r = 0.166; P > 0.05$). **Conclusion:** The frequencies of CD4⁺Tim-3⁺ T cells in acute HSP acute patients reduced. The passage of Tim-3 maybe involved the onset of HSP.

Keywords

HSP, Tim-3, Erythrocyte Sedimentation Rate

CD4⁺T细胞Tim-3分子在急性期过敏性紫癜患儿外周血中的表达及其临床意义

李宵霖^{1,2}, 陈少杰², 王一彪², 陈 欧^{1,2*}

¹山东大学护理学院, 山东 济南

²山东大学第二医院儿科, 山东 济南

Email: *351337075@qq.com

*通讯作者。

文章引用: 李宵霖, 陈少杰, 王一彪, 陈欧. CD4⁺T 细胞 Tim-3 分子在急性期过敏性紫癜患儿外周血中的表达及其临床意义[J]. 临床医学进展, 2018, 8(6): 585-589. DOI: 10.12677/acm.2018.86098

摘要

目的: 探讨Tim-3在急性期过敏性紫癜(Henoch Schonlein Purpura, HSP)患儿外周血CD4⁺细胞中的表达及其相关临床意义。方法: 选取22名HSP急性期患儿及15名健康对照作为研究对象, 流式细胞分析术分子检测各组研究对象外周血CD4⁺Tim-3⁺T细胞比例。并分析该比例与相关临床表现的相关性。结果: HSP患儿急性期外周血CD4⁺Tim-3⁺T细胞比例(3.03% ± 0.69%)下降较对照组(3.74% ± 0.62%)降低, 二者比较结果有统计学意义($P < 0.05$)。外周血CD4⁺Tim-3⁺T细胞比例与血沉水平呈负相关($r = -0.813, p < 0.05$), 与皮疹持续天数($r = -0.063; P > 0.05$)、肾损害($r = -0.208; P > 0.05$)、ASO ($r = -0.057; P > 0.05$)、补体C3水平($r = -0.029; P > 0.05$)及患儿受损系统的个数($r = 0.166; P > 0.05$)无相关性。结论: HSP急性期患儿外周血CD4⁺Tim-3⁺T细胞比例降低。Tim-3通路有可能参与HSP发病, 该指标也许可以作为衡量HSP疾病诊断及病情活动的参考指标。

关键词

HSP, Tim-3, 血沉

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

过敏性紫癜(Henoch Schonlein Purpura, HSP)是儿童时期常见的自身免疫性小血管炎性疾病, 我们的前期研究结果表明, Th17 细胞功能紊乱可能参与 HSP 的发病[1] [2]。T 细胞免疫球蛋白粘蛋白分子-3 (T cell immunoglobulin-and mucin domain-containing molecules, Tim-3)又称 HAVcr-2 (hepatitis A vires cell receptor 2), 通过与其配体(Tim-3 ligant, Tim-3L)即半乳糖凝集素-9 (Galectin-9)结合, 给 T 细胞提供一种负性共刺激信号, 在免疫性疾病及免疫耐受中发挥重要作用[3] [4]。据此, 我们欲观察 CD4⁺T 细胞 Tim-3 分子是否参与 HSP 急性期的发病, 并分析其表达与相关临床表现的关系, 为有效治疗 HSP 提供新靶点。

2. 对象与方法

2.1. 对象

选取 2012 年 1 月至 2014 年 12 月来山东大学第二医院就诊的 22 例 HSP 患儿作为研究对象。其中男患儿 12 例, 女患儿 10 例, 年龄范围为 1~12 岁, 平均年龄 7.1 ± 2.2 岁。选取健康查体儿童为对照组。其中男童 8 例, 女童 7 例, 年龄范围为 1~12 岁, 平均年龄 6.9 ± 2.1 岁。两组在性别和年龄上的差异无统计学意义($P > 0.05$)。所选病例均为首发病例, 诊断标准参照 1990 年美国风湿病协会提出的 HSP 诊断及分类标准[5]。并排除 6 个月内接受其他激素及免疫抑制药物治疗的患儿以及患有其他自身免疫性疾病或者遗传代谢性疾病的患儿。本研究方案经山东大学第二医院伦理委员会批准, 并与患儿家长签署知情同意书。

2.2. 材料与方法

2.2.1. 主要试剂

抗人 Tim-3 单克隆抗体；抗人 CD3 抗体；抗人 CD4 抗体、抗人 CD8 抗体以及 PE-IgG，以上试剂购自于美国 eBioscience 公司。红细胞裂解液购自于联科生物公司。

2.2.2. 方法

采用流式细胞术检测外周血 CD4⁺T 细胞 Tim-3 的表达。取病例组与对照组的 EDTA 抗凝血各 100 ul 分别放入两个流式管中，加入抗人 CD3 单克隆抗体、抗人 CD4 单克隆抗体及抗人 Tim-3 单克隆抗体；避光放置 30 min，加入红细胞裂解液混匀，并避光放置 10 min。

每管加入 2 ml PBS 液，1200 rpm 离心 10 min (该步骤重复 2 遍)。弃上清，吸干，600 ul PBS 悬浮细胞，上流式细胞仪检测。

2.3. 统计学处理

所有数据用 SPSS for Windows 17.0 统计软件处理，数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 Shapiro-Wilk 进行数据正态性检验，数据间的两两比较采用 Mann-Whitney U 检验，变量相关分析采用 Pearson 相关以及 Spearman 相关进行。P < 0.05 差别有统计学意义。

3. 结果

3.1. 外周血 CD4⁺ Tim-3⁺T 细胞表达情况

HSP 急性期患儿外周血 CD4⁺ Tim-3⁺T 细胞比例(3.03% ± 0.69%)较健康对照组(3.74% ± 0.62%)下降，二者比较有统计学意义(P < 0.05)，见图 1。

3.2. 外周血 CD4⁺T 细胞表面 Tim-3 表达的与其他临床指标的相关性

对于 HSP 急性期患儿，外周血 CD4⁺ Tim-3⁺T 细胞比例变化与血沉水平呈负相关($r = -0.813, p < 0.05$)，见图 2。外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例变化与皮疹持续天数无相关性($r = -0.063; P > 0.05$)。外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例变化与 ASO ($r = -0.057; P > 0.05$)、补体 C3 水平($r = -0.029; P > 0.05$)无相关性。外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例变化与患儿受损系统的个数($r = 0.166; P > 0.05$)无相关性。外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例变化与患儿肾损害无相关性($r = -0.208; P > 0.05$)。

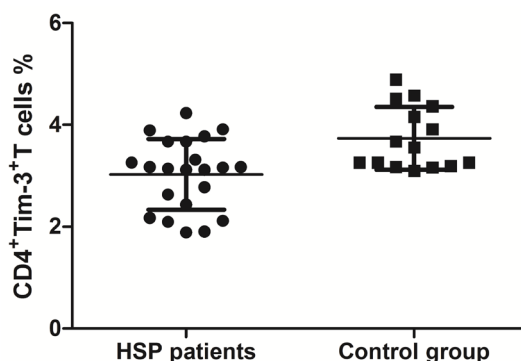


Figure 1. Circulating CD4⁺Tim-3⁺T cell frequencies in HSP patients and healthy controls

图 1. CD4⁺Tim-3⁺T 细胞在 HSP 急性期患儿与健康对照组中的表达

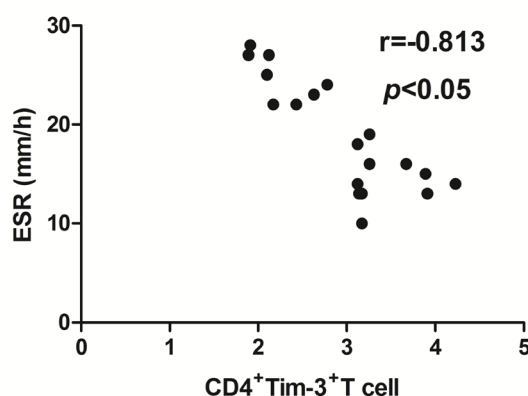


Figure 2. The correlation of CD4⁺Tim-3⁺ T cells and ESR in acute HSP patients

图 2. HSP 急性期患儿 CD4⁺Tim-3⁺ T 细胞表达与血沉水平的相关性

4. 讨论

Tim-3 与其配体 Galectin-9 结合可以负性调节 T 细胞反应, 近年来, 诸多报道表明, Tim-3 分子的异常表达, 参与了自身免疫性疾病及免疫应答[6]。如 Jones RB 等曾报道, 人类免疫缺陷病毒感染患者急性期外周血 Tim-3 在 CD4⁺T 细胞上的表达上调[7]。王培等发现类风湿性关节炎高活动度患者外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例降低[8]。Tim-3 分子的不同表达可能暗示着疾病的不同发病机制以及不同的免疫细胞优势。

HSP 是由环境因素及非特异性感染引起的免疫介导的炎症反应, 该病的发病机制与细胞免疫和体液免疫均相关。有报道表明 HSP 的发病是以 Th1 免疫反应为主, 但是也有报道表明在 HSP 的发病中 Th2 免疫反应占优势[9] [10] [11]。Li YY 等报道 HSP 患者外周血中 Th2 细胞和 Th17 细胞的比例较健康对照组增高, Th1 细胞和 Treg 细胞的比例二组比较无显著性差异[12]。课题组前期研究结果也表明, Th17 细胞的比例增高有可能参与了 HSP 急性期发病[2]。CD4⁺T 细胞主要包括 Th1 细胞、Th2 细胞、Th17 细胞以及 Treg 细胞。本研究结果显示, HSP 急性期患者外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例降低, 可能也暗示着 Tim-3 通路调节了相应 T 细胞的反应, 参与了 HSP 的急性发病。Tim-3 主要表达在 Th1 细胞和 Th17 细胞表面, Th2 细胞表面是否表达 Tim-3 分子尚不能确定[8]。Tim-3 作为机体免疫调节过程中的重要因子, 已被证明参与了多种疾病的发生和发展。相关研究表明, 多发性硬化症患者脑脊液中 Tim-3 的表达降低, 同时 INF- γ 的表达增高, 暗示 Tim-3 对 Th1 细胞的负反馈调节异常, 从而导致 INF- γ 的分泌增多[13]。Ying Liu 等发现类风湿性关节炎患者体内 Tim-3 在 CD4⁺T 细胞上的表达上调[14]。Yuan LP 等的研究发现, HSP 急性期患儿体内 Tim-1 mRNA 表达增加, 且其表达与 IgA 的分泌密切相关[15]。而目前, 关于 HSP 与 Tim-3 的关系的相关研究较少。基于此, 结合前期研究结果, 我们推测, Tim-3 的低表达, 很可能和异常的 Th17 细胞有关。在疾病发病的过程中, 异常的微环境导致了 Tim-3 在 Th17 细胞上表达降低, 其对 Th17 细胞的负性调节失控, 从而导致 Th17 细胞在外周血中比例上升。

除此之外, 本研究还关注了 Tim-3 分子的表达与疾病临床表现和实验室检查的相关性。研究发现, CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例与血沉呈负相关, 与受累系统个数、肾损伤、ASO 水平及 C3 水平无相关性。血沉是反应体内炎症的相关指标之一, Tim-3 分子的表达与之呈负相关, 在一定程度上说明 Tim-3 分子可能参与了机体的炎症反应。虽然本研究显示 Tim-3 分子的表达与关注的其他临床特点无相关性, 也不能完全说明 Tim-3 分子与疾病的相关临床表现无关, 可能与本研究所纳入的样本量过少也有关, 需扩大样

本量, 做进一步的研究。

综上所述, 本研究发现 HSP 急性期患者外周血 CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例下降, 并且该比例与血沉呈负相关。结合本课题的前期研究结果, 我们推测, CD4⁺Tim-3⁺T 细胞比例下降可能是导致 Th17 细胞比例异常的原因之一, 也在一定程度上说明了, Tim-3 分子参与了 HSP 的免疫紊乱及炎症反应, 具体机制需进一步研究证实。

基金项目

山东省自然科学基金资助项目(ZR2013HQ047)。

参考文献

- [1] Yang, Y.H., Chuang, Y.H., Wang, L.C., Huang, H.Y., Gershwin, M.E. and Chiang, B.L. (2008) The Immunobiology of Henoch-Schonlein Purpura. *Autoimmunity Reviews*, **7**, 179-184. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.11.012>
- [2] Chen, O., Zhu, X.B., Ren, H., Wang, Y.B. and Sun, R.P. (2013) The Imbalance of Th17/Treg in Chinese Children with Henoch-Schonlein Purpura. *International Immunopharmacology*, **16**, 67-71. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.03.027>
- [3] Gongalves Silva, I., Ruegg, L., Gibbs, B.F., Bardelli, M., Fruelwirth, A., Varani, L., et al. (2016) The Immune Receptor Tim-3 Acts as a Trafficker in a Tim-3/Galectin-9 Autocrine Loop in Human Myeloid Leukemia Cells. *Oncoimmunology*, **5**, e1195535. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1195535>
- [4] Horlad, H., Ohnishi, K., Ma, C., Fujwara, Y., Niino, D., Ohshima, K., et al. (2016) Tim-3 Expression in Lymphoma Cells Predicts Chemoresistance in Patients with Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *Oncology Letters*, **12**, 1519-1524. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4774>
- [5] Mills, J.A., Michel, B.A., Bloch, D.A., Calabrese, L.H., Hunder, G.G., Arend, W.P., et al. (1990) The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Henoch Schonlein Purpura. *Arthritis & Rheumatology*, **33**, 1114-1121. <https://doi.org/10.1002/art.1780330809>
- [6] Shi, F., Guo, X., Jiang, X., Zhou, P., Xiao, Y., Zhou, T., et al. (2012) Dysregulated Tim-3 Expression and Its Correlation with Imbalanced CD4 Helper T Cell Function in Ulcerative Colitis. *Clinical Immunology*, **145**, 230-240. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.09.001>
- [7] Jones, R.B., Ndhlovu, L.C., Barbour, J.D., Sheth, P.M., Jha, A.R., et al. (2008) Tim-3 Expression Defines a Novel Population of Dysfunctional T Cells with Highly Elevated Frequencies in Progressive HIV-1 Infection. *The Journal of Experimental Medicine*, **205**, 2763-2779. <https://doi.org/10.1084/jem.20081398>
- [8] 王培. Tim-3 在外周血单个核细胞上的表达及其在类风湿关节炎高活动度患者中的病理意义[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [9] Namgoong, M.K., Lim, B.K. and Kim, J.S. (1997) Eosinophil Cationic Protein in Henoch-Schonlein Purpura and in IgA Nephropathy. *Pediatric Nephrology*, **11**, 703-706. <https://doi.org/10.1007/s004670050370>
- [10] Del Vecchio, G.C., Penza, R., Altomare, M., Piacente, L., Aceto, G., Lassandro, G., et al. (2008) Cytokine Pattern and Endothelium Damage Markers in Henoch-Schonlein Purpura. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **30**, 623-629. <https://doi.org/10.1080/08923970801973646>
- [11] Davin, J.C., Pierard, G., Dechenne, C., Grossman, D., Nagy, J., Quacoe, M., et al. (1994) Possible Pathogenic Role of IgE in Henoch-Schonlein Purpura. *Pediatric Nephrology*, **8**, 169-171.
- [12] Li, Y.Y., Li, C.R., Wang, G.B., Yang, J. and Zu, Y. (2012) Investigation of the Change in CD4⁺ T Cell Subset in Children with Henoch-Schonlein Purpura. *Rheumatology International*, **32**, 3785-3792. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2266-3>
- [13] Koguchi, K., Anderson, D.E., Yang, L., O'Connor, K.C., Kuchroo, V.K. and Hafler, D.A. (2006) Dysregulated T Cell Expression of TIM3 in Multiple Sclerosis. *The Journal of Experimental Medicine*, **203**, 1413-1418. <https://doi.org/10.1084/jem.20060210>
- [14] Liu, Y., Shu, Q., Gao, L., Hou, N., Zhao, D., Liu, X., et al. (2010) Increased Tim-3 Expression on Peripheral Lymphocytes from Patients with Rheumatoid Arthritis Negatively Correlates with Disease Activity. *Clinical Immunology*, **137**, 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2010.07.012>
- [15] Yuan, L.P., Ling, L. and Bo, H. (2012) T-Cell Immunoglobulin and Mucin-Domain-Containing Molecule-1 in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Henoch-Schonlein Purpura. *Indian Pediatrics*, **49**, 225-227. <https://doi.org/10.1007/s13312-012-0055-z>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8712，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：acm@hanspub.org