皮肤病学 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001435

IgA Fc 受体 FcαRI 在过敏性紫癜患儿中的表达及意义

罗晓燕[1],彭子湖[1],陈静思[1],孙 晨[1],曹国秀[1],阳海平[2],王 华[1],李 秋[2]
（重庆医科大学附属儿童医院 1. 皮肤科;2. 肾内科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地,重庆 400014）

【摘 要】目的:观察急性期过敏性紫癜(Henoch-Schonlein purpura,HSP)患儿外周血及皮损组织 IgA Fc 受体 FcαRI 的表达,并探讨 FcαRI 与炎症相关细胞因子白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor,TNF-α)的关系。**方法**:纳入急性期 HSP 患儿 50 例,其中单纯型 HSP 30 例,紫癜性肾炎型(Henoch-Schonlein purpura nephritis,HSPN)20 例,健康对照 20 例。采用 Sandwich 固相 ELISA 法检测血清可溶性 IgA Fc 受体(sFcαRI-IgA)水平;免疫组化及 Western blot 分别检测 20 例 HSP 患儿皮损组织中 FcαRI 的表达和分布,直接免疫荧光检测皮损组织中 IgA、C3、纤维蛋白原(fibrinogen,Fib)的沉积;ELISA 检测患儿血清细胞因子 IL-6、TNF-α 的水平。**结果**:①急性期 HSP 和 HSPN 患儿血清 IgA[(2.32 ± 1.00) g/L,(2.42 ± 1.02) g/L]、C3[(1.17 ± 0.33) g/L,(1.11 ± 0.19) g/L]较正常对照明显升高(F=14.000,P=0.000;F=8.227,P=0.000),HSPN 组血清 sFcαRI-IgA 水平[(5.75 ± 5.07) pg/mL]较正常对照组[(3.09 ± 2.08) pg/mL]升高(F=2.891,P=0.022)。②FcαRI 在急性期 HSP 患儿皮损表皮及真皮中性粒细胞、血管内皮细胞、附属器周围沉积,组化染色强度(HSCORE=205.00 ± 41.86)及 FcαRI 蛋白表达(FcαRI/beta actin=0.23 ± 0.07)较正常对照组明显增高(t=8.276,P=0.000;t=3.274,P=0.004)。③急性期 HSP 和 HSPN 患儿 PBMC 上清中TNF-α 水平[(4.75 ± 2.59) pg/mL,(6.37 ± 2.87) pg/mL]较正常对照组[(3.12 ± 2.01) pg/mL]增高(F=8.309,P=0.028,P=0.000),HSPN 组升高较 HSP 更显著(P=0.030)。**结论**:IgA Fc 受体参与急性期 HSP 发病,FcαRI 可能作为急性期 HSP 的重要分子标记,但 FcαRI 通过何种机制参与 HSP 发病仍需深入研究。

【关键词】过敏性紫癜;紫癜性肾炎;IgA;受体;FcαRI
【中图分类号】R554.6;R593.1 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2017-01-17

Expression of IgA Fc receptor FcαRI in children with Henoch-Schonlein purpura

Luo Xiaoyan[1], Peng Zihu[1], Chen Jingsi[1], Sun Chen[1], Cao Guoxiu[1], Yang Haiping[2], Wang Hua[1], Li Qiu[2]
(1. Department of Dermatology; 2. Department of Nephrology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; Chongqing Key Laboratory of Pediatrics; China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders)

【Abstract】*Objective*: To observe the IgA Fc receptor FcαRI expression in both serum and skin lesions of children with acute Henoch-Schonlein purpura(HSP), and to find out the relationship between FcαRI expression and production of inflammatory cytokines interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor-α(TNF-α). ***Methods***: Fifty children with acute HSP were included in this study, of which 30 were HSP and 20 were Henoch-Schonlein purpura nephritis(HSPN). Twenty healthy age-matched children were admitted as control. Sandwich solid-phase ELISA was applied to detect the serum soluble IgA Fc receptor(sFcαRI). FcαRI expression and distribution in skin lesions were assayed by immunohistochemistry and Western blot in 20 patients. Direct immunofluorescence was used in locate IgA, C3, Fib deposition. Serum cytokine IL-6 and TNF-α of PBMC supernatant were also detected. ***Results***: ①Serum levels of IgA, C3 in acute phase of HSP and HSPN were significantly higher than those of normal controls(F=14.000, P=0.000; F=8.227, P=0.000); serum sFcαRI-IgA levels were elevated in HSPN group only(F=2.891, P=0.022). ②FcαRI deposited predominantly in epidermis and dermal neutrophils, vascular endothelial cells and around appendix; both FcαRI staining intensity and protein expression were significantly increased in HSP

作者介绍:罗晓燕,Email:luoxycq@hotmail.com,
研究方向:皮肤免疫与过敏。
通信作者:李 秋,Email:liqiu809@126.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81301362)。
优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20171128.1713.054.html (2017-11-28)

lesion(t=8.276, P=0.000; t=3.274, P=0.004). ③TNF-α levels of PBMC supernatant were higher in both HSP and HSPN(F=8.309, P=0.028, P=0.000), with more significant increase in HSPN than in HSP(P=0.030). ***Conclusion***: IgA Fc receptors FcαRI are involved in HSP pathogenesis and may represent an important marker for acute stage HSP. However, the underline mechanisms remain to be further elucidated.

【Key words】 Henoch-Schonlein purpura; Henoch-Schonlein purpura nephritis; IgA; receptor; FcαRI

过敏性紫癜（Henoch-Schonlein purpura, HSP）是儿童期常见的一种系统性血管炎，主要累及皮肤、胃肠道和肾脏小血管，临床表现为非血小板减少性皮肤紫癜、关节炎、腹痛、胃肠道出血，约 40%的患儿会发展成紫癜型肾炎（Henoch-Schonlein purpura nephritis, HSPN）。HSP 的发病机制至今尚未完全阐明，遗传、感染或过敏后机体免疫紊乱、补体系统活化、炎性细胞和炎症因子的作用、凝血和纤溶等机制可能参与 HSP 发病。

HSP 的本质是 IgA 免疫复合物介导的系统性血管炎，IgA 免疫复合物沉积并由此导致的血管内皮细胞损伤是 HSP 的主要病理基础[1]。因此，IgA 在 HSP 发病中起着最核心的作用。FcαRI（CD89）是新近发现的特异性 IgA Fc 受体，表达于髓系来源的细胞，如中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、树突状细胞和巨噬细胞，能特异地与 IgA1、IgA2 亚类结合[2-3]，IgA 与 FcαRI 受体结合后再吸引循环中抗 IgA 自身抗体是循环免疫复合物形成的基础。近年来有关 IgA Fc 受体的结构、功能逐渐得到认识，已有报道其在多种 IgA 相关的自身免疫性疾病，如 IgA 肾病、强直性脊柱炎、IgA 疱病、溃疡性结肠炎等发病中起重要作用。但至今尚无 FcαRI 与 HSP 发病的相关研究报道。为此，本文观察了急性期 HSP 外周血及皮损组织中 FcαRI 的表达和分布，为进一步研究 FcαRI 在 HSP 发病中的作用和机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2014 年 2 月至 2015 年 12 月皮肤科门诊诊治的急性期 HSP 患儿 50 例，其中男性 30 例，女性 20 例，年龄 2 岁 8 个月至 13 岁，平均年龄（7.66 ± 2.64）岁，20 例正常对照均为我院健康体检儿童，其中男性 11 例，女性 9 例，年龄 4~14 岁，平均年龄（7.07 ± 2.70）岁。全部 HSP 病例均符合 2006 年欧洲风湿联合会（EULAR）诊断标准[4]，HSPN 诊断符合中华医学会儿科学分会肾脏病学组 2009 年紫癜性肾炎诊断标准[5]。该研究获得重庆医科大学附属儿童医院医学伦理委员会批准，中国临床试验注册中心注册并获得研究对象监护人知情同意。

1.2 方法

1.2.1 试剂及仪器 兔抗人 IgA、C3、Fib 多克隆抗体购自丹麦 DAKO，人白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）ELISA 高敏试剂盒、人肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor, TNF-α）ELISA 试剂盒（美国 eBioscience），鼠抗人 CD89 单克隆抗体（美国 AbD Serotec），胞浆蛋白提取试剂盒和鼠抗人 β-actin 单克隆抗体（美国 Santa Cruz）。石蜡包埋机、切片机和 HE 全自动染色机（德国 MICROM 公司），Western blot 凝胶成像仪（日本 FUJIFILM）。

1.2.2 标本收集 血液标本：外周静脉非抗凝全血 3 mL，部分取血清于-80 ℃低温冰箱保存，部分分离 PBMC。皮肤标本：20 例 HSP（其中 HSPN 2 例）患儿取下肢伸侧新鲜皮损组织进行皮肤病理活检，5 例正常对照皮肤组织采用我院烧伤整形科患儿腹股沟供皮区剩余皮肤组织。

1.2.3 皮肤病理、组化及直接免疫荧光 皮肤标本常规石蜡包埋、切片、HE 染色及 FcαRI 免疫组织化学染色。冰冻切片固定后以标记 FITC 的 IgA、C3、Fib 抗体孵育，荧光显微镜下观察特异性荧光强度。皮损 FcαRI 免疫组化按 McCarty 的 HSCORE 半定量方法对染色强度和阳性细胞数进行评分：染色强度，阴性 0 分，弱阳 1 分，中阳 2 分，强阳 3 分；HSCORE= Σ（I×PC），其中 I 代表染色强度，PC 代表在每个强度被染色的细胞比例。

1.2.4 血清 IL-6、sFcαRI-IgA、PBMC 上清 TNF-α 检测 IL-6 和 TNF-α 检测采用 ELISA 法，按试剂盒说明书进行。血清可溶性 sFcαRI-IgA 以 FcαRI F(ab') 2 单抗（A3）作为捕获抗体，采用固相 Sandwich ELISA 法检测。

1.2.5 皮肤 FcαRI（CD89）蛋白 Western blot 检测 皮肤标本提取蛋白，BCA 法计算蛋白浓度，SDS-PAGE 电泳、转膜并加入抗体反应，显影、定影、条带扫描，以 β-actin 为内参计算灰度值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件进行分析，所有数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表表示。计量资料两组间比较用 t 检验，计数资料采用卡方检验，3 组及以上正态计量资料采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD-t，方差不齐时采用 Tamhane's $T2$ 检验。检验水准 α=0.05。

2　结　果

2.1　一般资料

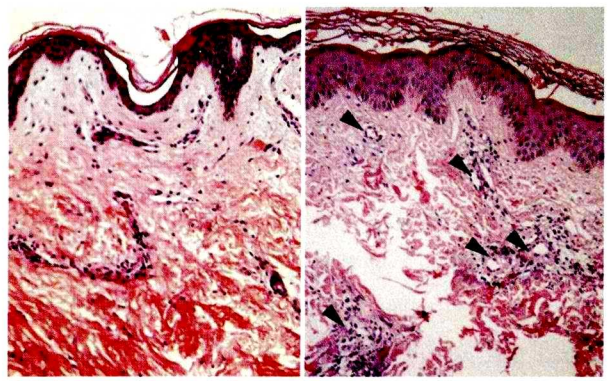
正常对照组 20 例，HSP 组 30 例，HSPN 组 20 例。3 组间年龄及性别无统计学差异（表 1）。常规免疫球蛋白及补体检测可见 HSP、HSPN 患儿血清 IgA、补体 C3 水平均明显高于正常对照（P=0.000，P=0.000），HSP 组与 HSPN 组之间无统计学差异。血清 IgE、IgG、IgM、补体 C4 水平 3 组之间比较均无统计学差异（表 2）。

表 1　患儿一般资料

Tab.1　Demographic characteristics of HSP patients

组别	例数	平均年龄（岁）	性别	
			男	女
正常组	20	7.07 ± 2.70	11	9
HSP组	30	7.65 ± 2.42	18	12
HSPN组	20	7.69 ± 3.01	12	8
F/χ^2 值		0.359	0.000	
P 值		0.699	1.000	

20 例急性期 HSP 患儿皮损处组织病理活检 HE 染色，可见真皮小血管扩张、血管壁纤维蛋白沉积，伴内皮细胞肿胀，血管周围以中性粒细胞为主的炎症细胞浸润，可见核尘和红细胞外溢（图 1）。直接免疫荧光可见真皮浅层小血管壁 IgA、C3、Fib 沉积，正常对照皮肤组织未见上述变化（图 2）。



A. 正常组　　B. HSP 组

图 1　正常皮肤和 HSP 皮损组织 HE 染色（10×）

Fig.1　Hematoxylin-eosin staining of normal and HSP skin(10×)

2.2　急性期 HSP 患儿血清可溶性 sFcαRI-IgA、IL-6、TNF-α 水平

HSPN 组患儿血清可溶性 sFcαRI-IgA 水平较正常对照组明显增高（P=0.022），血清 IL-6 各组之间无统计学差异。HSP、HSPN 患儿 PBMC 上清 TNF-α 水平较正常组明显升高（P=0.028，P=0.000），HSPN 组升高较 HSP 组更明显（P=0.030），见表 3。

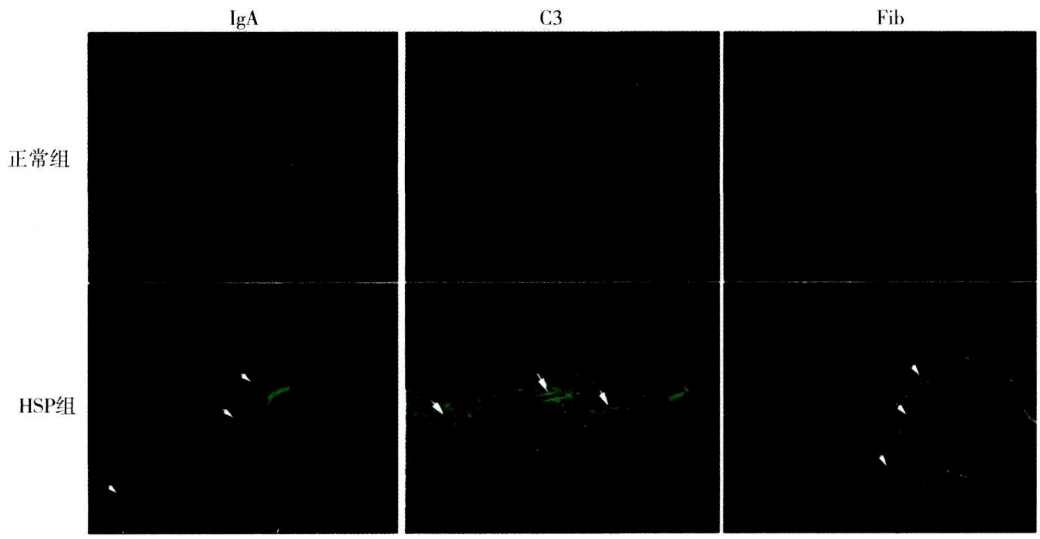


图 2　正常皮肤和 HSP 皮损组织 IgA、C3、Fib 直接免疫荧光（40×）

Fig.2　Direct immunofluorescence of IgA, C3, Fib in normal and HSP skin(40×)

表 2　血清免疫球蛋白和补体水平

Tab.2　Serum levels of immunoglobulin and complement

组别	例数	IgA（g/L）	IgE（kU/L）	IgG（g/L）	IgM（g/L）	C3（g/L）	C4（g/L）
正常对照	20	1.10 ± 0.53	60.00 ± 78.27	8.87 ± 2.37	1.24 ± 0.48	0.89 ± 0.13	0.20 ± 0.06
HSP组	30	2.32 ± 1.00	106.31 ± 128.60	10.10 ± 2.41	1.43 ± 0.67	1.17 ± 0.33	0.23 ± 0.06
HSPN组	20	2.42 ± 1.02	114.92 ± 170.47	8.86 ± 2.70	1.30 ± 0.60	1.11 ± 0.19	0.24 ± 0.09
F 值		14.000	1.058	2.131	0.630	8.227	1.675
P 值		0.000	0.353	0.127	0.536	0.000	0.195

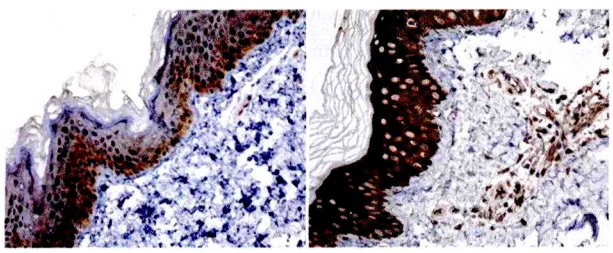
表 3 血清可溶性 sFcαRI-IgA、IL-6、TNF-α 水平(pg/mL)

Tab.3 Serum levels of sFcαRI-IgA, IL-6, TNF-α (pg/mL)

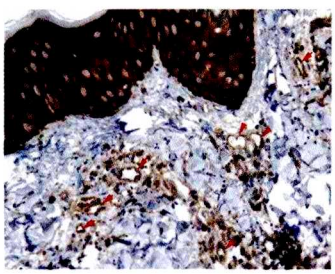
组别	sFcαRI-IgA	IL-6	TNF-α
正常对照组（n=20）	3.09 ± 2.08	1.81 ± 1.52	3.12 ± 2.01
HSP 组（n=30）	4.90 ± 3.20	3.79 ± 4.00	4.75 ± 2.59
HSPN 组（n=20）	5.75 ± 5.07	3.72 ± 3.24	6.37 ± 2.87
F 值	2.891	2.593	8.309
P 值	0.022	0.082	0.001

2.3 急性期 HSP 患儿皮损 FcαRI 蛋白表达及分布

20例 HSP 皮损组织（其中单纯型 HSP 18 例，HSPN 仅 2 例，故合并为 HSP 一组进行分析）FcαRI 的免疫组化染色显示，表皮层均有明显 FcαRI 沉积，真皮血管、附属器及中性粒细胞也可见阳性表达。而正常对照阳性染色仅见于基底层和棘层（图 3）。免疫组化染色半定量分析显示，HSP 皮损平均 HSCORE 为（205.00 ± 41.86）分，较正常对照组[（44.00 ± 19.49）分]明显增高（t=8.276，P=0.000）。皮损组织 FcαRI 蛋白 Western blot 检测可见 HSP 组 FcαRI 蛋白条带明显增强，扫描灰度值（FcαRI/beta actin）为 0.23 ± 0.07，较正常对照组（0.12 ± 0.04）增高，差异有统计学意义（t=3.274，P=0.004），如图 4 所示。



A. 正常组　　B. HSP 组



C. HSP 组（血管壁沉积）

图 3 正常皮肤和 HSP 皮损组织 FcαRI 免疫组化染色（40×）

Fig.3 Immunohistochemistry of FcαRI in normal and HSP skin (40×)

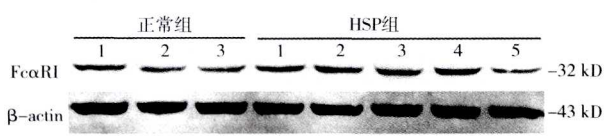


图 4 正常皮肤和 HSP 皮损 FcαRI 蛋白表达 Western blot

Fig.4 Western blot of FcαRI expression in normal and HSP skin

3 讨 论

HSP 是一种以 IgA 沉积为主的白细胞碎裂性血管炎，其发病涉及一系列炎症和免疫反应过程，B 淋巴细胞多克隆活化产生的以 IgA 为主的免疫球蛋白的合成异常，免疫复合物生成增加，各种 T 细胞亚群的免疫失衡以及多种细胞因子或炎症因子（如 IL-4、IL-6、IL-8、TNF-α）的产生增加均与 HSP 血管炎的发生密切相关[6]。IgA 是 HSP 的重要致病因素，本研究证实急性期 HSP 及 HSPN 患者血清 IgA 水平增高，皮损部位有沿表皮、基底膜带及真皮毛细血管沉积的 IgA。除数量异常增多外，目前认为 IgA 糖基化缺陷是 HSP 肾脏损害发生的独立危险因素[7]，IgA 可在抗原刺激下产生大分子的免疫复合物（IgA-IC）在皮肤、胃肠道、肾脏血管壁沉积引起补体系统激活，更为重要的是 IgA 通过与其受体相互作用而促发炎症应答。目前已发现的 IgA 受体主要有 5 类：多聚免疫球蛋白受体（polymeric Ig receptor，pIgR）、转铁蛋白受体（transferrin receptor，TfR）、去唾液酸糖蛋白受体（asialoglycoprotein receptor，ASGP-R）、IgA 和 IgM 的 Fc 受体（Fcα/μR），以及髓样 IgA Fc 受体（FcαRI/CD89）[2]。其中前 4 种均为非特异性 IgA 受体，既可与 IgA 结合，也可与 IgM 结合发挥生物效应。FcαRI 是真正意义的 IgA Fc 受体，属于免疫球蛋白受体超家族成员，能特异性结合人 IgA1 和 IgA2。FcαRI 基因定位于第 19 号染色体（19q13.4），位于白细胞受体簇（leukocyte receptor cluster，LRC）[2-3]，其组成型表达不依赖于配体 IgA，在 IgA 缺陷患者中 FcαRI 表达与 IgA 正常人水平相当[8]。FcαRI 介导的信号途径与多种炎症性疾病的发生发展密切相关，FcαRI 发挥与 IgA 的受体交联作用而参与疾病过程[9]。

本研究观察到 HSP 患儿皮损组织中，尤其在真皮层浸润的中性粒细胞及血管内皮细胞，FcαRI 呈强阳性表达。既往研究显示[10]，FcαRI 分布表达于淋巴结、肾小球、炎症性肠黏膜上皮、移植后的肝脏、皮肤等组织，FcαRI 阳性细胞主要为浸润的中性粒细胞和血管周围新迁移的单核细胞。本研究还首次报道了急性期 HSPN 患儿血清可溶性 sFcαRI-IgA 表达增高，有报道在与 HSPN 具有相似病理及免疫

学机制的 IgA 肾病患者血清中也发现 sFcαRI-IgA 增高[11]，且转入 FcαRI 基因的 C57BL/6 小鼠可成功复制 IgA 肾病模型[12]，可溶性 sFcαRI-IgA 复合物通过细胞活化，释放趋化因子引起巨噬细胞募集，巨噬细胞活化可促进促炎细胞因子 IL-6、TNF-α 的释放。本研究发现急性期 HSP 患儿 TNF-α 也同样增高。TNF-α 与内皮细胞活化相关，在免疫/炎症损伤中能使凝血因子Ⅷ、纤溶酶原激活物抑制剂-1（PAI-1）、血栓素、内皮素含量上升，最终引起凝血和微循环障碍，导致血管内皮细胞坏死[13]。TNF-α 能诱导血管内皮细胞粘附分子水平上调，同时可诱导血管内皮细胞生成 TGF-β，对血管内皮细胞发挥炎性损伤作用。而 TNF-α 除在急性期 HSP 血清中含量会上升外，有研究表明在 HSP 皮损中有核细胞层，肾系膜细胞上均有表达，且有肾损害者 TNF-α 血清水平明显高于无肾损害者[14]。本研究中 HSPN 组 TNF-α 水平较 HSP 组高，也证实 TNF-α 在肾损害中的重要地位。

综上所述，IgA 特异性受体 FcαRI 可能通过活化中性粒细胞、巨噬细胞等促进炎性因子 TNF-α 释放，从而参与急性期 HSP 发病。FcαRI 可能作为急性期过敏性紫癜的重要分子标记，对评估疾病程度及预后有重要意义，同时有望成为重要的治疗靶点，但 FcαRI 具体通过何种机制参与 HSP 发病仍需深入研究。

参 考 文 献

[1] Rieu P, Noël LH. Henoch-Schonlein nephritis in children and adults. Morphological features and clinicopathologic correlations[J]. Ann Med Interne(Paris), 1999, 50(2): 151-159.

[2] Aleyd E, Heineke MH, Van Egmond M. The era of the immunoglobulin A Fc receptor FcαRI: its function and potential as target in disease [J]. Immunol Rev, 2015, 268(1): 123-138.

[3] Bournazos S, Ravetch JV. Fcγ receptor pathways during active and passive immunization[J]. Immunol Rev, 2015, 268(1): 88-103.

[4] Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, et al. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(5): 798-806.

[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] Xie J, Liu Y, Wang L, et al. Expansion of circulating T follicular helper cells in children with acute Henoch-Schonlein purpura[J]. J Immunol Res, 2015, 2015: 742535.

[7] Menon MC, Chuang PY, He JC. Role of podocyte injury in IgA nephropathy[J]. Contrib Nephrol, 2013, 181: 41-51.

[8] Chevailler A, Monteiro RC, Kubagawa H, et al. Immunofluorescence analysis of IgA binding by human mononuclear cells in blood and lymphoid tissue[J]. J Immunol, 1989, 142(7): 2244-2249.

[9] Wehrli M, Cortinas-Elizondo F, Hlushchuk R, et al. Human IgA Fc receptor FcαRI(CD89) triggers different forms of neutrophil death depending on the inflammatory microenvironment[J]. J Immunol, 2014, 193(11): 5649-5659.

[10] Hamre R, Farstad IN, Brandtzaeg P, et al. Expression and modulation of the human immunoglobulin A Fc Receptor(CD89) and the FcR gamma chain on myeloid cells in blood and tissue[J]. Scand J Immunol, 2003, 57(6): 506-516.

[11] Moresco RN, Speeckaert MM, Zmonarski SC, et al. Urinary myeloid IgA Fc alpha receptor(CD89) and transglutaminase-2 as new biomarkers for active IgA nephropathy and henoch-Schönlein purpura nephritis [J]. BBA Clin, 2016, 5: 79-84.

[12] Boyd JK, Barratt J. Immune complex formation in IgA nephropathy: CD89 a 'saint' or a 'sinner'?[J]. Kidney Int, 2010, 78(12): 1211-1213.

[13] 金惠铭，刘清行，曹 翔，等. TNF-α 引起的微血管内皮细胞功能障碍及其细胞分子机制[J]. 微循环学杂志, 2000, 10(3): 5.

[14] Ha TS. The role of tumor necrosis factor-alpha in Henoch-Schonlein purpura[J]. Pediatr Nephrol, 2005, 20(2): 149-153.

（责任编辑：冉明会）