

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.08.017

论著·临床

血清 HSP60、HSP70 水平与原发性免疫性血小板减少症患儿 Th17/Treg 细胞和预后的关系

陈信发, 万佳倩, 王春文, 常明春, 李林



基金项目: 2021 年度云南省基础研究计划青年项目(Q20210213000143)

作者单位: 678000 云南省保山市人民医院儿科

通信作者: 李林, E-mail: 308107967@qq.com

【摘要】 目的 分析血清热休克蛋白 60 (HSP60)、热休克蛋白 70 (HSP70) 与原发性免疫性血小板减少症 (ITP) 患儿辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞 (Th17/Treg) 和预后的关系。方法 选取 2020 年 6 月—2022 年 6 月保山市人民医院儿科诊治的 ITP 患儿 128 例作为病例组, 另选同期体检健康儿童 60 例作为健康对照组。检测并比较 2 组血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞水平。Pearson 法分析血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞的相关性。ITP 患儿出院后随访 1 年, 根据不同预后情况分为预后良好亚组 (107 例) 和预后不良亚组 (21 例)。收集 ITP 患儿的临床资料, 采用单因素、多因素 Logistic 回归模型分析 ITP 患儿预后的影响因素, 并构建风险预测列线图模型。建立受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞对 ITP 患儿预后的预测价值。结果 病例组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞显著高于健康对照组 ($t/Z/P = 20.445 / < 0.001, 17.467 / < 0.001, 5.823 / < 0.001$)。Pearson 相关分析显示, 血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞呈正相关 ($r/P = 0.417 / < 0.001, 0.348 / < 0.001$)。多因素 Logistic 回归分析显示, HSP60 高、HSP70 高、Th17/Treg 高为 ITP 患儿预后不良的独立危险因素 [$OR(95\% CI) = 1.177(1.041 \sim 1.331), 1.181(1.038 \sim 1.343), 9.895(2.171 \sim 68.177)$], 初诊时 PLT 计数偏高则为保护因素 [$OR(95\% CI) = 0.848(0.726 \sim 0.990)$]。ROC 曲线分析结果显示, 初诊时 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平及列线图模型的曲线 AUC 分别为 0.793、0.730、0.787、0.840、0.975; Bootstrap 法 ($B = 1000$) 对列线图模型进行内部验证显示, Bias-corrected 预测曲线与 Ideal 线基本重合, 该模型预测能力较好。决策曲线显示, 该模型的阈值概率范围为 0.01 ~ 0.98, 其净收益率 > 0 , 高于两条无效线。结论 IPT 患儿血清 HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平均明显升高, 血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 呈显著正相关。初诊时 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平是 ITP 患儿预后不良的影响因素, 且基于 HSP60、HSP70 等独立危险因素构建的列线图模型对 ITP 患儿预后不良具有较好的预测价值。

【关键词】 原发性免疫性血小板减少症; 热休克蛋白 60; 热休克蛋白 70; Th17/Treg 细胞; 预后; 列线图**【中图分类号】** R725.5**【文献标识码】** A

Study on the correlation between serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells and prognosis in children with primary immune thrombocytopenia Chen Xinfu, Wan Jiaqian, Wang Chunwen, Chang Mingchun, Li Lin. Department of Pediatrics, Baoshan People's Hospital, Yunnan Province, Baoshan 678000, China

Funding program: Youth project of Yunnan Basic Research Program in 2021 (Q20210213000143)

Corresponding author: Li Lin, E-mail: 308107967@qq.com

Corresponding author: Li Lin, E-mail: 308107967@qq.com

【Abstract】 **Objective** To analyze the relationship between serum heat shock protein 60 (HSP60), heat shock protein 70 (HSP70) and helper T cell 17/regulatory T cell (Th17/Treg) cells and prognosis in children with primary immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** One hundred and twenty-eight ITP children diagnosed and treated in the Department of Pediatrics, Baoshan People's Hospital from June 2020 to June 2022 were selected as observation group, and 60 healthy children in the same period were selected as control group. The levels of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells were detected and compared between two groups. The correlation between serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells was analyzed by Pearson method. ITP children were followed up for 1 year after discharge, and were divided into good prognosis subgroup and poor prognosis subgroup according to different prognosis. The clinical data of ITP children were collected, the influencing factors of prognosis in ITP children were analyzed by univariate and multivariate Logistic regression models, and the risk prediction nomogram model was constructed. The predictive value of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells on the

prognosis of ITP children was analyzed by established receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The levels of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg cells in observation group were significantly higher than those in control group ($t/Z/P=20.445/ < 0.001, 17.467/ < 0.001, 5.823/ < 0.001$). Pearson analysis showed that, serum HSP60 and HSP70 were positively correlated with Th17/Treg cells ($r/P=0.417/ < 0.001, 0.348/ < 0.001$). Multivariate Logistic regression analysis showed that, high HSP60, high HSP70, and high Th17/Treg levels were independent risk factors [$OR(95\% CI) = 1.177(1.041 - 1.331), 1.181(1.038 - 1.343), 9.895(2.171 - 68.177)$] for poor prognosis in ITP children, and high PLT count at initial diagnosis was a protective factor [$OR(95\% CI)=0.848(0.726 - 0.990)$]. The results of ROC curve analysis showed that, the AUC of PLT count, HSP60, HSP70, Th17/Treg level and nomogram model at the initial diagnosis were 0.793, 0.730, 0.787, 0.840 and 0.975 respectively. The Bootstrap method ($B=1000$) was used to verify the nomogram model internally, the Bias-corrected prediction curve was basically coincident with the Ideal line, and the prediction ability of the model was better. The decision curve shows that, the threshold probability range of the model was 0.01 - 0.98, and its net return rate was > 0 , which was higher than the two invalid lines. **Conclusion** The levels of serum HSP60, HSP70 and Th17/Treg in IPT children are significantly increase, and serum HSP60 and HSP70 are positively correlated with Th17/Treg. PLT count, HSP60, HSP70 and Th17/Treg levels at initial diagnosis are the influencing factors of poor prognosis in ITP children, and the nomogram model based on independent risk factors such as HSP60 and HSP70 has a good predictive value for poor prognosis in ITP children.

【Key words】 Primary immune thrombocytopenia; Heat shock protein 60; Heat shock protein 70; Th17/Treg cells; Prognosis; Nomogram

原发性免疫性血小板减少症 (primary immune thrombocytopenia, ITP) 为儿童血液系统常见病^[1]。多数预后良好, 但仍有 20% 可转为慢性 ITP^[2-3]。ITP 发病机制尚未明确, 研究表明, ITP 发病可能涉及免疫细胞、细胞因子及基因改变^[4-6]。研究表明, 辅助性 T 细胞 17 (Th17)/调节性 T 细胞 (Treg) 失衡与 ITP 的发生发展密切相关^[7-8]。热休克蛋白 60 (HSP60) 是一类进化上高度保守的蛋白质家族, 在应激状态下 HSP60 过表达或异位表达, 作为一种自身抗原被免疫系统识别, 诱发机体保护性免疫应答^[9-10]。研究表明, HSP60 可激活 Th1 分化, 参与 1 型糖尿病发生发展过程^[11]。HSP70 是一种分子量约为 70 kD 的热休克蛋白, 在免疫应答中, HSP70 通过与免疫细胞表面的受体结合, 激活细胞内的信号转导途径, 进一步调节免疫细胞的活化、增殖和分化等过程^[12]。相关研究表明, 表征良好的诱导型 HSP70 为自身免疫性疾病的治疗靶点, 且参与调节免疫反应^[13]。推测 HSP60、HSP70 可能通过调控 Th17/Treg 细胞而参与 ITP 患儿的病情进展, 因此本研究旨在探讨血清 HSP60、HSP70 水平与 ITP 患儿 Th17/Treg 细胞及预后的关系, 以期为 ITP 患儿病情及预后评估提供参考依据, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2020 年 6 月—2022 年 6 月保山市人民医院儿科诊治的 ITP 患儿 128 例作为病例组, 男 71 例, 女 57 例, 年龄 < 3 岁 84 例, ≥ 3 岁 44 例; 病程 2 ~ 19 个月, 中位病程 7 个月; 有明显诱因 82 例 (上呼吸道感染 45 例、疫苗接种 19 例、下呼吸道感染 11

例、胃肠道感染 7 例), 无明显诱因 46 例; 疾病分期: 新诊断 11 例, 持续性 73 例, 慢性 44 例; 家族遗传史 25 例。另选取同期体检健康儿童 60 例作为健康对照组, 男 37 例, 女 23 例, 年龄 < 3 岁 39 例, ≥ 3 岁 21 例。2 组性别、年龄等资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会审核批准 (BSCT-MIRB2020-051), 受试儿童家长知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ① ITP 诊断标准符合《儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗规范 (2019 年版)》^[14]; ② 首次确诊, 入组前未进行任何治疗; ③ 年龄 1 ~ 14 岁, 临床资料齐全; ④ 患儿依从性良好。(2) 排除标准: ① 既往有血栓病史或凝血功能障碍; ② 继发性血小板减少性疾病; ③ 患有内分泌疾病、其他血液系统疾病; ④ 患有其他自身免疫性疾病; ⑤ 合并恶性肿瘤; ⑥ 严重心、肝、肾功能障碍。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 细胞检测: 患儿于入院次日清晨及健康儿童体检当日采集空腹静脉血 4 ml, 离心留取上清液储存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待用。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 HSP60、HSP70 水平; 采用流式细胞术检测 Th17、Treg 水平, 并计算 Th17/Treg。HSP60 试剂盒购自上海富雨生物科技有限公司, HSP70 试剂盒购自上海科顺生物科技有限公司, Th17 试剂盒购自北京寰宇科创科技发展有限公司, Treg 试剂盒购自上海烜雅生物科技有限公司。操作步骤均按试剂盒说明书严格进行。

1.3.2 预后判定标准及分组: ITP 患儿出院后 1 年内持续进行门诊复查及电话随访,以进行预后状况判定。参照《儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议》中 ITP 疗效判断标准^[15],根据血液 PLT 检查结果可分为完全反应、有效、激素依赖、无效。其中,治疗后 PLT $\geq 100 \times 10^9/L$,且无出血表现,判为完全反应;治疗后 PLT $\geq 30 \times 10^9/L$,且较基线增加 2 倍以上,无出血表现,判为有效;持续接受皮质激素治疗,维持 PLT $\geq 30 \times 10^9/L$ 或避免出血情况,判为激素依赖;治疗后 PLT $< 30 \times 10^9/L$,或 PLT 较基线增加不足 2 倍,有出血表现,判为无效。判断疗效时至少检测 2 次 PLT,间隔 7 d 以上。1 年内完全反应或有效判定为预后良好,纳入预后良好亚组;1 年内形成激素依赖或无效判定为预后不良,纳入预后不良亚组。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 26.0 软件统计分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行 t 检验,偏态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,比较行秩和检验;采用 Pearson 法分析血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 的相关性;单因素、多因素 Logistic 回归模型分析 ITP 患儿预后的影响因素,并构建风险预测列线图模型,建立受试者工作特征(ROC)曲线分析模型预测 ITP 患儿预后不良的效能;利用 rms 包绘制风险预测列线图模型和校准曲线,利用 Rstudio 中 rmda 程序包绘制临床决策曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞比较 病例组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞均高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

表 1 健康对照组与病例组血清 HSP60、HSP70 水平及 Th17/Treg 细胞比较

Tab. 1 Comparison of serum HSP60, HSP70 levels, and Th17/Treg cells in the healthy control group and case group

组别	例数	HSP60 ($\bar{x} \pm s, \mu g/L$)	HSP70 ($\bar{x} \pm s, \mu g/L$)	Th17/Treg [$M(Q_1, Q_3)$]
健康对照组	60	26.36 \pm 5.97	28.29 \pm 5.21	0.47(0.36, 0.63)
病例组	128	47.83 \pm 7.03	50.16 \pm 9.01	0.75(0.54, 1.06)
t/Z 值		20.445	17.467	5.823
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清 HSP60、HSP70 水平与 Th17/Treg 细胞的相关性 Pearson 法分析结果显示,血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 呈正相关($r=0.417, 0.348, P$ 均 < 0.001)。

2.3 不同预后 ITP 患儿临床资料差异比较 随访 1 年,患儿预后不良 21 例(预后不良亚组),预后良好 107 例(预后良好亚组)。与预后不良亚组比较,预后良好亚组患儿年龄 < 3 岁比例、初诊 PLT 计数及初诊 ALC 均高,而 HSP60、HSP70、Th17/Treg 均低(P 均 < 0.01),2 亚组其他资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 不同预后 ITP 患儿临床资料比较

Tab. 2 Comparison of clinical data of ITP patients with different prognoses

项目	预后良好亚组 ($n=107$)	预后不良亚组 ($n=21$)	$\chi^2/Z/t$ 值	P 值
性别[例(%)]	男 59(55.14)	12(57.14)	1.275	0.259
	女 48(44.86)	9(42.86)		
年龄	< 3 岁 77(71.96)	7(33.33)	11.612	0.001
[例(%)]	≥ 3 岁 30(28.04)	14(66.67)		
初诊 PLT($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	29.56 \pm 6.50	22.52 \pm 5.34	4.655	<0.001
初诊 ALC($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	3.01 \pm 1.36	2.16 \pm 0.59	4.623	<0.001
出血分数($\bar{x} \pm s$, 分)	1.88 \pm 0.65	1.90 \pm 0.62	0.169	0.866
治疗前 Th($\bar{x} \pm s, \%$)	35.59 \pm 5.07	34.43 \pm 5.06	0.959	0.339
治疗前 Ts($\bar{x} \pm s, \%$)	28.16 \pm 5.15	29.67 \pm 4.76	1.241	0.217
治疗前 T($\bar{x} \pm s, \%$)	69.04 \pm 9.32	69.90 \pm 9.51	0.389	0.698
治疗前 B($\bar{x} \pm s, \%$)	18.37 \pm 4.90	17.24 \pm 4.68	0.977	0.330
治疗前 NK($\bar{x} \pm s, \%$)	11.27 \pm 3.35	10.86 \pm 3.21	0.521	0.603
HSP60($\bar{x} \pm s, \mu g/L$)	46.41 \pm 5.95	55.10 \pm 7.75	4.870	0.002
HSP70($\bar{x} \pm s, \mu g/L$)	48.36 \pm 7.23	59.37 \pm 11.48	4.238	<0.001
Th17/Treg[$M(Q_1, Q_3)$]	0.69(0.50, 0.92)	1.30(1.01, 1.45)	4.919	<0.001

注:PLT. 血小板计数;ALC. 淋巴细胞绝对值;Th. 辅助性 T 细胞;Ts. 抑制性 T 细胞;T. T 细胞;B. B 细胞;NK. 自然杀伤细胞。

2.4 ITP 患儿预后不良的多因素 Logistic 分析 以 ITP 患儿预后不良为因变量(赋值:是为“1”;否为“0”),以上述结果中 $P < 0.05$ 项目年龄、初诊 PLT 计数、初诊 ALC、HSP60、HSP70、Th17/Treg 为自变量,纳入二元 Logistic 回归模型中,分析结果显示:HSP60 高、HSP70 水平高、Th17/Treg 细胞高(赋值:实际值)为 ITP 患儿预后不良的独立危险因素,初诊 PLT 高则为保护因素($P < 0.05$),见表 3。

表 3 ITP 患儿预后不良的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3 Multivariate Logistic regression analysis of poor prognosis in children with ITP

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄	0.663	0.935	0.502	0.478	1.941	0.310 ~ 12.138
初诊 PLT 高	-0.165	0.079	0.378	0.036	0.848	0.726 ~ 0.990
初诊 ALC 高	0.928	0.500	3.446	0.063	2.529	0.950 ~ 6.734
HSP60 高	0.163	0.063	6.807	0.009	1.177	1.041 ~ 1.331
HSP70 高	0.166	0.066	6.430	0.011	1.181	1.038 ~ 1.343
Th17/Treg 高	2.292	1.301	6.897	0.007	9.895	2.171 ~ 68.177

2.5 ITP 患儿预后不良风险列线图模型构建 依据上述多因素 Logistic 分析结果的影响因素构建 ITP 患儿预后不良风险列线图模型,见图 1。

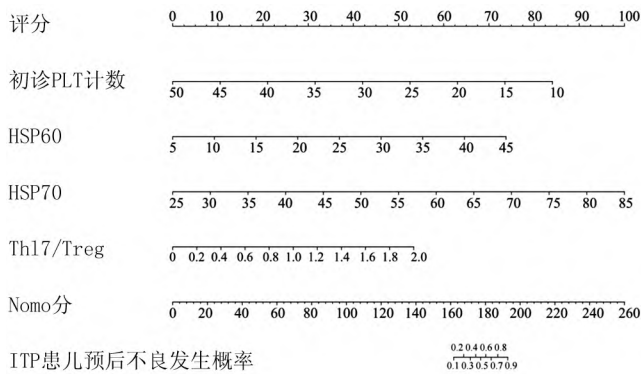


图 1 ITP 患儿预后不良发生风险的列线图

Fig. 1 Column chart of the risk of poor prognosis in children with ITP

2.6 ITP 患儿预后不良风险预测多模型分析 依据列线图风险预测模型得到列线图模型指标,分别将初诊 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平及列线图模型指标作为检验变量,并以组别作为状态变量。建立 ROC 曲线分析各项模型的区分度。结果显示,初诊 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平及列线图模型的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.793、0.730、0.787、0.840、0.975,经 DeLong 法比较发现,列线图模型 AUC 均高于初诊 PLT、HSP60、HSP70、Th17/Treg 的 AUC,差异均有统计学意义 ($Z/P = 3.687 / <0.001, 3.481 / <0.001, 3.214 / 0.001, 2.709 / 0.007$),见表 4、图 2。Bootstrap 法 ($B = 1\ 000$) 对列线图模型进行内部验证显示, Bias-corrected 预测曲线与 Ideal 线基本重合,该模型预测能力较好,见图 3。决策曲线显示,该模型的阈值概率范围为 0.01 ~ 0.98,其净收益率 > 0 ,高于两条无效线,见图 4。

表 4 ITP 患儿预后不良风险预测多模型分析

Tab. 4 Multiple model analysis for predicting the risk of poor prognosis in children with ITP

检验变量	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
初诊 PLT	$27.5 \times 10^9 / L$	0.793	0.700 ~ 0.886	0.664	0.810	0.474
HSP60	49.34 $\mu g / L$	0.730	0.593 ~ 0.866	0.916	0.524	0.444
HSP70	53.73 $\mu g / L$	0.787	0.663 ~ 0.912	0.714	0.776	0.490
Th17/Treg	0.935	0.840	0.738 ~ 0.943	0.814	0.766	0.576
列线图模型	0.133	0.975	0.950 ~ 0.999	0.952	0.897	0.849

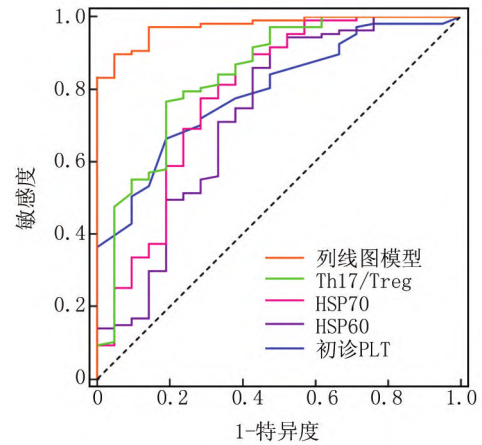


图 2 ITP 患儿预后不良风险预测多模型 ROC 曲线

Fig. 2 ROC curve of multiple models for predicting the risk of poor prognosis in children with ITP

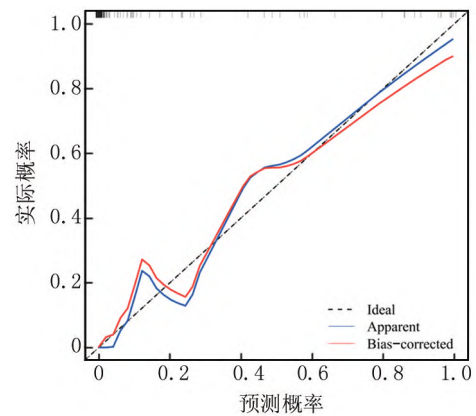


图 3 列线图风险预测模型的校准曲线

Fig. 3 Calibration curve of the column chart risk prediction model

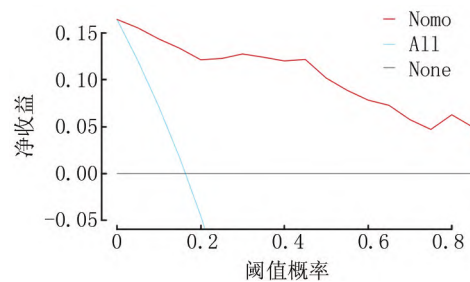


图 4 列线图风险预测模型的决策曲线

Fig. 4 Decision curve of risk prediction model using column chart

3 讨论

ITP 是一种儿童常见的出血性疾病,其中部分患儿在治疗后可能无法完全缓解,进而发展为慢性 ITP,慢性 ITP 病程迁延或反复,导致患儿生活质量明显降

低并影响其生命安全。近年来,ITP 发病机制研究取得了一定进展,但其具体机制仍尚未完全明确。目前认为,ITP 发生与免疫调节失衡有关,特别是 Th17/Treg 平衡机制;Th17 细胞能够分泌多种促炎细胞因子,参与自身免疫性疾病的发生,而 Treg 细胞则具有免疫抑制作用,能够维持免疫系统的稳态^[16]。热休克蛋白(HSPs)是一类在细胞受到应激刺激时表达增加的蛋白质,具有多种生物学功能,包括参与蛋白质折叠、转运和降解,以及调控细胞凋亡和免疫应答等。HSP60、HSP70 为其中重要成员,在多种疾病的发生发展中扮演着重要角色^[17-18]。本研究通过检测 ITP 患儿血清 HSP60、HSP70 水平以及 Th17/Treg 细胞比例变化,分析它们之间的相关性,并探讨这些指标与 ITP 患儿预后的关系。有助于深入了解 ITP 的发病机制,为寻找新的治疗靶点和方法提供理论依据。

本研究中,ITP 患儿血清 HSP60、HSP70 及 Th17/Treg 细胞水平较健康儿童更高,表明在 ITP 患儿中免疫系统的应激反应可能更加剧烈,导致 HSP60 和 HSP70 表达水平发生异常改变。同时,Th17/Treg 细胞在 ITP 患儿中的活化状态也可能更加活跃,进一步加剧了机体免疫应答。HSP60 和 HSP70 作为应激反应的产物,可能对 Th17/Treg 细胞的活化起到一定的促进作用^[19]。Hu 等^[9]研究发现,HSP60 和 HSP70 在应激反应中发挥着关键作用,当细胞受到刺激时,HSP60 和 HSP70 表达水平显著升高,以保护细胞免受损伤。在 ITP 患儿中,HSP60 和 HSP70 的高水平表达可能反映了细胞应激状态的加剧和免疫应答的异常增强。杨莹莹等^[20]研究显示,HSP60、HSP70 在 ITP 呈高表达状态,血清水平明显升高。当 ITP 患儿的细胞受到免疫系统的攻击时,会产生应激反应,导致 HSP60 和 HSP70 的表达水平升高,二者可以保护细胞免受进一步的损伤,并促进细胞的修复和再生。然而,在 ITP 患儿中,由于免疫系统的异常活化,应激反应可能过度增强,导致 HSP60 和 HSP70 的高水平表达,这种过度表达可能与预后不良相关^[21]。一方面,高水平的 HSP60 和 HSP70 可能进一步加剧免疫应答的异常增强,导致 ITP 患儿的病情恶化^[9-10]。另一方面,高水平的 HSP60 和 HSP70 可能与其他免疫分子相互作用,促进炎症反应和免疫应答的异常活化,从而对预后产生不利影响^[22-23]。Th17/Treg 细胞是免疫系统中的 2 种重要细胞类型,在免疫应答和免疫调节中起着关键作用^[24]。相关研究发现^[25],Th17 细胞主要参与抵抗真菌和细菌感染的免疫应答,而 Treg 细胞则通过分泌抑制性细胞因子如白介素-10 和转化生长因子- β 来调节

其他免疫细胞的活化。Gu 等^[26]研究表明,在 ITP 患儿中,高水平的 Th17/Treg 可能意味着免疫系统的失衡和过度活化。Th17 细胞在 ITP 患儿中可能过度活化,导致炎症反应增强,从而加剧病情。同时,Treg 细胞可能无法有效抑制其他免疫细胞的活化,导致免疫系统失衡。这种免疫系统的失衡和过度活化进一步加剧了 ITP 患儿的病情和预后不良的风险。ITP 是一种免疫介导的血小板减少综合征,其特征为外周血中血小板减少,骨髓中巨核细胞成熟障碍^[27]。ITP 初诊过程中,PLT 计数是一个重要的参考指标,PLT 计数偏高意味着患儿的止血能力较好,可降低出血风险;还可减少感染和血栓形成的概率,维持患儿免疫功能正常,使其更不易受到感染的侵袭^[28]。相关研究发现,初诊时 PLT 计数低的患儿更易发展为慢性 ITP,病程延长且容易反复,易导致预后不良^[29]。所以,初诊时 PLT 计数偏高为 ITP 患儿预后不良的独立保护因素。进一步经 ROC 曲线分析各项指标及模型的价值,提示构建的列线图模型在预测 ITP 患儿预后不良方面较初诊时 PLT 计数、HSP60、HSP70、Th17/Treg 各指标单独检测具有更好的效能。并经内部验证及决策分析提示该列线图模型稳定性良好且有较高收益率。这表明该模型在不同的阈值概率下都具有较好的预测效果和实际应用价值。

综上所述,ITP 患儿血清 HSP60、HSP70、Th17/Treg 水平均明显升高,血清 HSP60、HSP70 与 Th17/Treg 呈显著正相关。高 HSP60、高 HSP70、高 Th17/Treg 水平是 ITP 患儿预后不良的独立危险因素,初诊时 PLT 计数偏高则是 ITP 患儿预后不良的独立保护因素。基于 HSP60、HSP70 等独立危险因素构建的列线图模型对 ITP 患儿预后不良具有较好的预测价值。本研究也存在一定局限性:首先,本研究样本来源于单一医院,样本量相对较小,且随访时间较短,可能存在一定的地域性和选择性偏倚,期待多中心更大规模的样本及更长时间随访的研究,以完善模型的多中心验证与优化;其次,影响 ITP 患儿预后的因素复杂,本研究纳入的因素由于条件的限制可能存在一定局限性,未来仍需进一步完善资料收集,纳入更多的变量,以提高结论的普遍性和可靠性;再次,本研究仅初步揭示了血清 HSP60、HSP70 水平与 ITP 患儿 Th17/Treg 细胞和预后的关系,其具体作用机制尚未完全清楚,仍需要更多的体内和体外实验加以进一步研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈信发:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,论文修

改;万佳倩;实施研究过程,资料搜集整理;王春文、常明春;进行统计学分析;李林;提出研究思路,分析试验数据,论文审核
参考文献

- [1] Grace RF, Lambert MP. An update on pediatric ITP: Differentiating primary ITP, IPD, and PID [J]. *Blood*, 2022, 140 (6): 542-555. DOI:10.1182/blood.202006480.
- [2] 尹萌萌,刘爱国,张艾,等. 儿童慢性原发性免疫性血小板减少症[J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(8): 631-635. DOI:10.3969/j.issn.1000-3606.2020.08.018.
- [3] Deshayes S, Godeau B. Second-line and beyond: treatment options for primary persistent and chronic immune thrombocytopenia [J]. *Platelets*, 2020, 31(3): 291-299. DOI:10.1080/09537104.2019.1636018.
- [4] 潘旭旭,孙若文,王弘. 原发性免疫性血小板减少症的发病机制及治疗进展[J]. *实用药物与临床*, 2020, 23(2): 181-185. DOI:10.14053/j.cnki.ppcr.202002020.
- [5] 李明伟,刘玉,岳迎宾,等. 淋巴细胞及其亚群、NK 细胞与儿童原发性免疫性血小板减少症复发的相关性研究[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(16): 3054-3057, 3015. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2023.16.010.
- [6] Sun M, Wang X, Zhang N, et al. Imbalance of follicular regulatory T (Tfr) cells/follicular helper T (Tfh) cells in adult patients with primary immune thrombocytopenia [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2023, 248(11): 959-965. DOI:10.1177/15353702231168142.
- [7] 王建峰,杨楠楠. 脓毒症患者外周血 Th1/Th2 和 Th17/Treg 平衡变化及临床意义[J]. *锦州医科大学学报*, 2021, 42(2): 86-89. DOI:10.13847/j.cnki.lnmu.2021.02.019.
- [8] 黄宝山,徐佳丽,姜帅,等. ITP 患儿免疫球蛋白、淋巴细胞亚群及 Th17/Treg 的表达分析[J]. *重庆医学*, 2022, 51(17): 2961-2965. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.17.018.
- [9] Hu C, Yang J, Qi Z, et al. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities [J]. *MedComm (2020)*, 2022, 3(3): e161. DOI:10.1002/mco2.161.
- [10] 王鑫,李云霞,张伟,等. S100A1、HSP60 在透明细胞肾细胞癌高级别转化及预后预测中的作用[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2023, 39(3): 281-286. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2023.03.006.
- [11] Meziane FZ, Dali-Sahi M, Dennouni-Medjati N, et al. Molecular mimicry between varicella, measles virus and Hsp60 in type 1 diabetes associated HLA-DR3/DR4 molecules [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2020, 14(6): 1783-1789. DOI:10.1016/j.dsx.2020.08.009.
- [12] Albakova Z, Armeev GA, Kanevskiy LM, et al. HSP70 multi-functionality in cancer [J]. *Cells*, 2020, 9(3): 587. DOI:10.3390/cells9030587.
- [13] Tukaj S, Sitko K. Heat shock protein 90 (Hsp90) and Hsp70 as potential therapeutic targets in autoimmune skin diseases [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(8): 1153. DOI:10.3390/biom12081153.
- [14] 国家卫生健康委. 儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗规范(2019年版) [J]. *全科医学临床与教育*, 2019, 17(12): 1059-1062. DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.012.002.
- [15] 中华医学会儿科学分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议 [J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(5): 382-384. DOI:10.3760/ema.j.issn.0578-1310.2013.05.013.
- [16] 汪嘉佳,李哲,江继发,等. 外周血 Treg 细胞、Th17 细胞在成人原发性免疫性血小板减少症中的变化及意义 [J]. *山东医药*, 2021, 61(28): 74-77. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2021.28.018.
- [17] Zimbone S, Di Rosa MC, Chiechio S, et al. Exploring the role of Hsp60 in alzheimer's disease and type 2 diabetes: Suggestion for common drug targeting [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12456. DOI:10.3390/ijms241512456.
- [18] Mouawad N, Capasso G, Ruggeri E, et al. Is It still possible to think about HSP70 as a therapeutic target in onco-hematological diseases [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(4): 604. DOI:10.3390/biom13040604.
- [19] Cwiklinska H, Cichalewska-Studzinska M, Selmaj KW, et al. The heat shock protein HSP70 promotes Th17 genes' expression via specific regulation of microRNA [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2823. DOI:10.3390/ijms21082823.
- [20] 杨莹莹,王宏茹,王丽芳,等. 热休克蛋白 70 在肿瘤中的作用研究进展 [J]. *新乡医学院学报*, 2022, 39(9): 883-887. DOI:10.7683/xyxyxb.2022.09.018.
- [21] Caruso Bavisotto C, Cappello F, Macario AJL, et al. Exosomal HSP60: A potentially useful biomarker for diagnosis, assessing prognosis, and monitoring response to treatment [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2017, 17(9): 815-822. DOI:10.1080/14737159.2017.1356230.
- [22] Zininga T, Ramatsui L, Shonhai A. Heat shock proteins as immunomodulators [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2846. DOI:10.3390/molecules23112846.
- [23] 穆志龙,高颖,卫丽,等. 热休克蛋白 60、70 在川崎病冠状动脉病变中的表达及意义 [J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(9): 1117-1120. DOI:10.3969/j.issn.1000-7377.2020.09.016.
- [24] Kargar M, Torabizadeh M, Purrahman D, et al. Regulatory factors involved in Th17/Treg cell balance of immune thrombocytopenia [J]. *Curr Res Transl Med*, 2023, 71(2): 103389. DOI:10.1016/j.retram.2023.103389.
- [25] 周正菊,张友山,梁彩霞,等. ITP 患者外周血 Th9、Th17 和 Treg 细胞水平及 IL-9、IL-17 和 TGF- β 表达在 ITP 发病中的作用 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(1): 180-184. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2019.01.029.
- [26] Gu H, Chen Z, Shi X, et al. Increased proportion of Th17/Treg cells at the new diagnosed stage of chronic immune thrombocytopenia in pediatrics: The pilot study from a multi-center [J]. *Eur J Pediatr*, 2021, 180(11): 3411-3417. DOI:10.1007/s00431-021-04121-z.
- [27] 王峰,娜斯曼·尼加提,黎瞳,等. 影响儿童原发性免疫性血小板减少症临床预后因素的研究 [J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2021, 26(2): 93-97. DOI:10.3969/j.issn.1673-5323.2021.02.007.
- [28] 尹萌萌,刘爱国,张艾,等. 儿童原发性免疫性血小板减少症凝血功能分析 [J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(5): 104-107. DOI:10.11969/j.issn.1673-548X.2021.05.025.
- [29] 张姮,魏宇婷,方拥军. 原发性免疫性血小板减少症儿童生活质量及其影响因素研究进展 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2021, 36(2): 99-103. DOI:10.19538/j.ek2021020605.

(收稿日期:2024-03-21)