

文章编号: 1001-6325(2022)07-1067-04

活动期白癜风患者血清 γ 干扰素含量升高

赵肖灵¹, 何润之², 孙玉姣³, 张小冲⁴, 杨林芳³, 王 瑞³, 程 芳^{3*}

(河北医科大学附属医院 邢台市人民医院 1. 肿瘤实验室; 2. 神经外三科; 3. 皮肤科;
4. 科研与教学科, 河北 邢台 054001)

摘要:目的 探讨 C-反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、肿瘤坏死因子 β (TNF- β)、E-钙黏附素(E-cad)、 γ 干扰素(IFN- γ)等细胞因子和 CD8 在白癜风患者血清中的含量变化。方法 收集 2017 年 5 月至 2018 年 12 月在邢台市人民医院皮肤科就诊的 60 例白癜风患者(活动期 30 例,稳定期 30 例)及体检中心健康人群对照组 30 例;采用 ELISA 检测血清中 CRP、TNF- α 、TNF- β 、E-cad、IFN- γ 和 CD8 因子含量。结果 活动期组和稳定期组血清 CRP、TNF- α 、TNF- β 、IFN- γ 含量均显著升高($P < 0.05$);活动期组血清 IFN- γ 含量显著高于稳定期组($P < 0.05$);活动期组用药 6 个月后,血清 IFN- γ 含量较用药前显著降低($P < 0.05$)。结论 血清 IFN- γ 含量或可作为辅助评价白癜风活动性的实验室指标。

关键词: 白癜风;细胞因子;活动期;发病机制

中图分类号:R446.11 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2022.07.1067

Serum IFN- γ is increased in patients with active vitiligo

ZHAO Xiao-ling¹, HE Run-zhi², SUN Yu-jiao³, ZHANG Xiao-chong⁴, YANG Lin-fang³,
WANG Rui³, CHENG Fang^{3*}

(1. Cancer Laboratory; 2. Department 3 of Neurosurgery; 3. Department of Dermatology; 4. Department of Scientific Research and Teaching, Xingtai People's Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Xingtai 054001, China)

Abstract: Objective To examine serum C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), tumor necrosis factor- β (TNF- β), E-cadherin (E-cad), human interferon- γ (IFN- γ) and cluster of differentiation 8 (CD8) in patients with vitiligo. **Methods** From May 2017 to December 2018, 60 patients with vitiligo (30 cases in active phase group and 30 cases in stable stage group) and 30 cases as control group collected from physical examination center joined the research program. The content of serum CRP, TNF- α , TNF- β , E-cad, IFN- γ and CD8 were compared among the three groups by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The content of serum CRP, TNF- α , TNF- β and IFN- γ in patients with active and stable vitiligo were significantly higher($P < 0.05$). The content of serum IFN- γ in patients with active vitiligo was significantly higher than that in patients with stable vitiligo($P < 0.05$) and significantly decreased after 6 months of treatment($P < 0.05$). **Conclusions** The content of serum IFN- γ might be used as a biomarker in laboratory to evaluate the activity of vitiligo.

收稿日期:2021-01-04 修回日期:2021-10-15

基金项目:河北省青年拔尖人才培养专项基金;2019年度河北省人才工程培养资助项目(A201902027);河北省“三三三人才”项目(A202002032)

* 通信作者(corresponding author):1299233987@qq.com

Key words: vitiligo; cytokines; active stage; pathogenesis

白癜风(vitiligo)是一种后天获得的自身免疫性疾病,由于黑素细胞被破坏而引起的慢性皮肤色素脱失^[1]。目前,全球白癜风患病率为0.5%~2%,印度患病率最高,达到8.8%^[2]。白癜风发病年龄多在10~30岁,研究表明50%的病例发生在20岁之前,25%的病例发生在10岁之前^[3]。白癜风的发病机制复杂且尚未明确,其中部分患者治疗困难且易反复,严重影响生活质量^[4-5]。白癜风作为一种难治性和复杂性的疾病,许多细胞因子及炎性介质在血清中的表达与白癜风的发生发展可能具有相关性。根据疾病发展状态,白癜风可以分为活动期和稳定期,活动期白癜风具有独特的同形反应,不同时期的白癜风治疗方法和药物用量有一定区别,因而探讨有明确意义的白癜风血清标志物有利于病情监测及临床诊疗方案的制定和调整。本研究通过对C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、肿瘤坏死因子 β (tumor necrosis factor- β , TNF- β)、E-钙黏附素(E-cadherin, E-cad)、 γ 干扰素(human interferon- γ , IFN- γ)等细胞因子和CD8(cluster of differentiation 8, CD8)在白癜风患者及健康人血清的含量分析,扩充白癜风血清标志物队列,为白癜风临床诊疗提供新的依据和潜在治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象:选取2017年5月至2018年12月在邢台市人民医院皮肤科就诊的60例白癜风患者(分为活动期组和稳定期组各30例)。纳入标准:1)年龄18~65岁;2)病程 ≥ 3 个月;3)无任何并发症;4)非节段型白癜风患者。排除标准:1)采血前3个月内接受过系统治疗;2)有合并其他系统性疾病病史。同时纳入30例体检中心筛选的无既往病史的健康人群作为对照组。本研究经邢台市人民医院伦理委员会批准(批件编号:2016026),受试者均签署知情同意书。

稳定期白癜风患者的定义为1年内病变没有新发展,病变大小稳定,无同形反应发生,或者有新皮损或原皮损面积扩大,但有自发色素生成^[6];活动

期白癜风患者的定义为1年内病情有进展,有新皮损,有同形反应发生,或者原皮损在大小和形状上延伸,但无自发色素生成^[5]。

1.1.2 治疗方法:所有患者均采用相同的治疗方法,口服白芍总苷和复方甘草酸苷(均每次2片,3次/d),外用浓度0.1%的他克莫司(2次/d)。

1.1.3 试剂:CRP、TNF- α 、TNF- β 、E-cad、IFN- γ 和CD8试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分离血清:取6 mL外周静脉血,室温静置20 min后4℃静置40 min,3 000 r/min离心10 min,取上清,-80℃冰箱保存。

1.2.2 ELISA检测细胞因子:血清CRP、TNF- α 、TNF- β 、E-cad、IFN- γ 和CD8的检测均严格按照ELISA试剂盒说明书进行。将96孔板置于波长450 nm酶标仪读取各孔吸光度(A)值,根据标准品浓度和相应吸光度值建立标准曲线,按标准曲线的方程计算各检测样本细胞因子浓度。

1.3 统计学分析

应用SPSS20.0统计软件。计数资料用频数(百分比,%)表示,间比较采用 χ^2 检验。计量资料,符合正态分布的计量资料使用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用方差分析;不符合正态分布的计量资料用中位数(四分位间距, IQR), $M(Q1, Q3)$ 表示,采用Kruskal-Wallis检验。

2 结果

2.1 两组人群一般人口学资料的比较

白癜风患者共60例,其中稳定期组和活动期组各30例,健康对照组30例,3组人群在年龄、性别和病史等方面差异无统计学意义(表1)。

2.2 白癜风组和健康对照组血清CRP、TNF- α 、TNF- β 、E-cad、CD8、IFN- γ 的含量比较

稳定期血清CRP、TNF- α 、TNF- β 、IFN- γ 的含量显著高于对照组($P<0.05$),活动期血清CRP、TNF- α 、TNF- β 、E-cad、CD8、IFN- γ 的含量均显著高于对照组($P<0.05$),活动期血清IFN- γ 的含量显著高于稳定期($P<0.05$)(表2)。

表 1 患者的基本信息和临床特征

Table 1 Basic information and clinical features of patients ($n=30$)

basic information	controls	stable vitiligo	active vitiligo
gender(male/female)	15/15	16/14	15/15
age/year, median(IQR)	29(7,53)	28(7,52)	29(8,55)
disease duration/years($\bar{x}\pm s$)(range)	-	4.0 \pm 4.73	3.78 \pm 5.11
family history of vitiligo/%	-	2(6.67)	3(10.00)
Koebner phenomenon/%	-	0(0.00)	4(13.33)

表 2 白癜风活动期和稳定期患者与健康对照者血清 CRP、TNF- α 、TNF- β 、E-cad、IFN- γ 、CD8 的含量Table 2 Serum levels of CRP, TNF- α , TNF- β , E-cad, IFN- γ , CD8 between patients with vitiligo and normal controls($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g}/\text{mL}$, $n=30$)

cytokine	control	stable vitiligo	active vitiligo
CRP	1 390 \pm 110	1 788 \pm 248 *	1 677 \pm 261 *
TNF- α	235 \pm 12	286 \pm 30 *	290 \pm 19 *
TNF- β	156 \pm 11	184 \pm 34 *	187 \pm 24 *
E-cad	189 \pm 19	218 \pm 40 *	245 \pm 33 *
CD8	179 \pm 11	178 \pm 24	157 \pm 27 *
IFN- γ	655 \pm 30	759 \pm 92 *	841 \pm 88 *#

* $P<0.05$ compared with control; # $P<0.05$ compared with stable vitiligo.

2.3 活动期组药物治疗 3 个月和 6 个月后,与治疗前血清 IFN- γ 含量的比较

活动期白癜风患者用药 3 个月后,血清 IFN- γ 含量为(822 \pm 78) $\mu\text{g}/\text{L}$,与用药前相比含量差异无统计学意义;活动期白癜风患者用药 6 个月后,血清 IFN- γ 含量为(772 \pm 60) $\mu\text{g}/\text{L}$,与用药前相比含量显著降低($P<0.05$)。

3 讨论

CRP 是一种急性反应蛋白,在炎症反应、细胞损伤或感染的情况下,由白细胞介素-6 诱导后迅速从肝脏释放出来。E-cad 是一种细胞间连接蛋白,与 EGFR/ERK 和 c-Src 介导的信号传导途径存在协同作用^[7]。白癜风的发生过程伴随黑素细胞的破坏,可能存在细胞间黏附性的减少,而且有研

究表明 E-cad 在黑素细胞中的表达低于成纤维细胞^[8]。CD8 分子是一种白细胞分化抗原,在特异 T 细胞(CD8⁺T 细胞)表面表达^[9],研究表明,白癜风患者的皮肤病变区域 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞高表达^[10]。白癜风的发生过程中伴随着自身免疫反应和黑素细胞的损伤、凋亡,这些因子可能参与其中,但本研究表明白癜风患者血清中 CRP、E-cad 和 CD8 的含量与健康对照组中差异无统计学意义。

在肿瘤坏死因子家族中,TNF- α 和 TNF- β 是两个具有代表性的成员。最初 TNF- α 是作为一种抗肿瘤分子被发现的;而 TNF- β ,又称淋巴毒素- α ,主要由活化的 T、B 淋巴细胞产生。白癜风是一种自身免疫性疾病,TNF- α 和 TNF- β 可能是参与激活了免疫反应。

γ 干扰素(IFN- γ)具有多种生物活性包括抗菌和免疫调节作用^[11]。IFN- γ 在肿瘤微环境中,能够阻断程序性死亡受体,提高免疫应答反应^[12]。IFN- γ -JAK/STAT 是 CTL-CXCL9/CXCL10 的上游调节通路,趋化因子 CXCL9 和 CXCL10 能趋化血管中的 CD8⁺T 细胞向表皮真皮交界处迁移,对黑素细胞产生特异性杀伤作用,导致白癜风的发生^[13]。血清中 IFN- γ 含量升高可能促使趋化因子 CXCL9 和 CXCL10 的产生。血清 IFN- γ 含量降低,可能是药物治疗后免疫反应减弱 CD8⁺T 细胞迁移相应减少。提示白癜风血清 IFN- γ 含量或可作为辅助评价白癜风活动性的实验室指标。

参考文献:

- [1] Ezzedine K, Eleftheriadou V, Whitton M, *et al.* Vitiligo [J]. *Lancet*, 2015,386:74-84.
- [2] Krüger C, Schallreuter KU. A review of the worldwide prevalence of vitiligo in children/adolescents and adults [J]. *Int J Dermatol*, 2012,51:1206-1212.
- [3] Halder RM, Chappell JL. Vitiligo update [J]. *Semin Cutan Med Surg*, 2009,28:86-92.
- [4] Chen D, Tuan H, Zhou EY, *et al.* Quality of life of adult vitiligo patients using camouflage: a survey in a Chinese vitiligo community [J]. *PLoS One*, 2019, 14: e0210581. doi: 10.1371/journal.pone.0210581
- [5] 杨红, 王克玉, 王奕. 过氧化氢对白癜风患者黑素细胞的氧化损伤 [J]. *基础医学与临床*, 2006, 26: 1363-1366.
- [6] 许爱娥. 白癜风病期评估及干预 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2017,50:765-767.
- [7] Wang D, Su L, Huang D, *et al.* Downregulation of E-cadherin enhances proliferation of head and neck cancer through transcriptional regulation of EGFR [J]. *Mol Cancer*, 2011,10:116. doi: 10.1186/1476-4598-10-116
- [8] Levy C, Khaled M. Ecad vitiliGONE [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2015,28:376-377.
- [9] 于建秀, 钱雷, 徐昌辉, 等. 2 型糖尿病患者外周血 CD8⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 细胞检测及意义 [J]. *基础医学与临床*, 2019,39:989-994.
- [10] Abdallah M, Lotfi R, Othman W, *et al.* Assessment of tissue FoxP3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-cells in active and stable nonsegmental vitiligo [J]. *Int J Dermatol*, 2014, 53:940-946.
- [11] Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, *et al.* Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions [J]. *J Leukoc Biol*, 2004,75:163-189.
- [12] Dillinger B, Ahmadi-Erber S, Lau M, *et al.* IFN- γ and tumor gangliosides: implications for the tumor microenvironment [J]. *Cell Immunol*, 2018,325:33-40.
- [13] 黄新绿, 杜娟, 王芳, 等. 白癜风细胞免疫学发病机制及靶向免疫治疗新进展 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2020,34:1197-1200.