

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.18.015

天疱疮患者抗桥粒芯糖蛋白与疾病相关性分析

柯丹,杜宇,邓抒琴,蔡开颜,贺淑丹,王希,李红林,闫国富
(重庆市中医院/重庆市第一人民医院皮肤科 400011)

[摘要] **目的** 探讨酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清桥粒芯糖蛋白(Dsg)1和Dsg3在天疱疮诊断及治疗中的应用价值。**方法** 选择2014年1~12月在该科确诊为天疱疮的患者47例(观察组),同期排除天疱疮的患者52例为对照组。间接免疫荧光法(IIF)检测抗表皮棘细胞桥粒抗体,ELISA检测Dsg1、Dsg3;分析其与天疱疮病情的相关性。**结果** ELISA法的敏感性为95.74%,特异性为92.31%。IIF法敏感性为93.62%,特异性为86.54%。二者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。30例寻常型天疱疮患者16例Dsg1、Dsg3均阳性,8例红斑型和5例落叶型天疱疮患者均只有Dsg1阳性,2例增殖型天疱疮Dsg1、Dsg3均为阳性。寻常型和增殖型天疱疮Dsg1、Dsg3滴度分别为 130.85 ± 86 、 112.30 ± 85.05 ,疾病活动性评分(5.10 ± 1.86)分,相关系数分别为 $r=0.476(P=0.008)$ 、 $r=0.816(P=0.001)$ 。落叶型和红斑型天疱疮Dsg1滴度 142.59 ± 78.52 ,疾病活动评分平均为(2.77 ± 0.92)分, $r=0.800$, $P=0.001$ 。**结论** ELISA检测Dsg1、Dsg3敏感性、特异性高,有助于天疱疮的诊断及病情严重程度的评价。

[关键词] 天疱疮;桥粒芯糖蛋白1;桥粒芯糖蛋白3;相关性分析**[中图分类号]** R758.66**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)18-2498-02**Analysis on relationship between serum anti-desmoglein antibodies and disease in patients with pemphigus**

Ke Dan, Du Yu, Deng Shuqing, Cai Kaiyan, He Shudan, Wang Xi, Li Honglin, Yan Guofu

(Department of Dermatology, Chongqing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine/
Chongqing Municipal First People's Hospital, Chongqing 400011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the application value of ELISA for detecting the serum anti desmoglein (Dsg) 1 and Dsg 3 in the diagnosis and treatment of pemphigus. **Methods** Forty-seven patients with pemphigus in our hospital from January to December 2014 were selected as the observation group and contemporaneous 52 patients with excluding pemphigus were selected as the control group. The Dsg antibodies were detected by using indirect immunofluorescence method and Dsg1 and Dsg3 were determined by ELISA; their correlation with pemphigus characteristics was analyzed. **Results** The sensitivity and specificity of ELISA for detecting anti-Dsg antibodies were 95.74% and 92.31% respectively, while which of IIF were 93.62% and 86.54% respectively, showing no statistically significant difference between the two test methods ($P>0.05$). In 30 cases of pemphigus vulgaris, 16 cases (16/30) were positive Dsg1 and Dsg 3, 8 cases of pemphigus erythematosus and 5 cases pemphigus foliaceus were positive Dsg1 only, and 2 cases of pemphigus vegetans were both positive Dsg1 and Dsg3. The Dsg1 and Dsg3 titers of pemphigus vulgaris and pemphigus vegetans were 130.85 ± 86 and 112.30 ± 85.05 , respectively, and the disease activity score was (5.10 ± 1.86) points, the correlation coefficient($r=0.476(P=0.008)$, $r=0.816(P=0.001)$, respectively. The Dsg1 titer of pemphigus erythematosus and pemphigus foliaceus were 142.59 ± 78.52 , and the disease activity score was (2.77 ± 0.92) points($r=0.800$, $P=0.001$). **Conclusion** ELISA for detecting Dsg1 and Dsg3 has high sensitivity and specificity, and is conducive to the diagnosis of pemphigus and evaluation of disease severity.

[Key words] pemphigus; desmoglein 1; desmoglein 3; correlation analysis

天疱疮是一组由天疱疮抗体介导的严重自身免疫性大疱性皮肤病,可累及全身皮肤及黏膜,严重者引起广泛皮肤黏膜糜烂,甚至危及生命,严重影响患者的生活质量。其发病与患者体内存在抗角质形成细胞表面结构蛋白的致病性抗体引起角质形成细胞间黏附丧失、形成水疱相关。桥粒芯糖蛋白(desmoglein, Dsg) 1和Dsg3 IgG抗体被证实是主要致病抗体^[1]。酶联免疫吸附测定(ELISA)检测天疱疮患者血清中Dsg抗Dsg1和抗Dsg3抗体水平,是近年来新兴的检测方法,具有高度敏感性和特异性,并可用于病情的监测^[2-3]。作者回顾性分析本科2014年1~12月天疱疮患者Dsg检测情况,分析其与病情的相关性,探讨其在诊断及治疗中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本科2014年1~12月确诊的天疱疮患者47例(观察组),本院同期住院排除天疱疮的患者52例(对

照组)。天疱疮诊断符合临床表现及体格检查^[4],经组织病理结果、直接免疫荧光检测确诊,对照组为已明确排除天疱疮的患者。观察组:男24例,女23例;年龄24~84岁,平均(55.22 ± 13.68)岁;病程15~120 d,平均33.20 d。对照组:男28例,女24例;年龄27~86岁,平均(56.50 ± 15.56)岁;病程23~135 d,平均35.50 d;其中健康体检者28例,类天疱疮16例,药疹3例,湿疹3例,获得性大疱性表皮松解症(EBA)1例,副肿瘤天疱疮1例。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及检测方法 留取血清标本,分别对两组患者采集5 mL静脉血,离心分离并收集上层血清液,于-20℃低温冰箱内保存。按检验程序分别对待查血清行ELISA检测Dsg1、Dsg3及间接免疫荧光法(IIF)检测抗表皮抗原抗体。ELISA试剂盒由Medical & Biological Laboratory Co. Ltd.提

供,按照试剂盒说明进行操作。IIF 测定血清抗体采用抗表皮抗原抗体检测试剂盒(金山化学试剂有限公司),以人皮肤为底物,将血清样本稀释成 1:10,常规方法测定患者血清自身抗体及其滴度,以荧光素标记羊抗人 IgG 为二抗,荧光显微镜下观察结果。每批设阳性抗血清对照和不加一抗的阴性对照。

1.2.2 评价标准 ELISA 检测标准:Dsg1<14 为阴性,>20 为阳性;Dsg3<7 为阴性,>20 为阳性。病情评价标准根据 Ikeda 天疱疮严重程度指数标准进行评分:皮损面积占体表面积百分数,是否有尼氏征,每天新发水疱个数、是否存在口腔黏膜损害 4 个方面评价。总分小于 5 分为轻度、5~7 分为中度、>7 分为重度^[5]。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料符合正态分布、方差齐的数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料用率表示,组间采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 双变量相关性分析,优势比采用 95% 可信区间(CI),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者敏感性、特异性评价 观察组患者中 ELISA 法检测阳性者 45 例,阴性 2 例,敏感度为 95.74%。对照组 4 例阳性,均为大疱性类天疱疮患者;48 例阴性,特异度为 92.31%,诊断符合率: $e = (45 + 48) / 99 = 93.94\%$ 。观察组 IIF 法阳性者 44 例,阴性 3 例,敏感性为 93.62%;对照组 7 例阳性,45 例阴性,特异度为 86.54%,诊断符合率: $e = (44 + 45) / 99 = 88.90\%$ 。两组患者两种方法检测比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.211, P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者 ELISA、IIF 法检测天疱疮抗体结果比较[n(%)]

组别	n	ELISA		IIF	
		阳性	阴性	阳性	阴性
观察组	47	45(95.74)	2(4.26)	44(93.62)	3(6.38)
对照组	52	4(7.69)	48(92.31)	7(13.46)	45(86.54)

2.2 Dsg1、Dsg3 在不同类型天疱疮中阳性率比较 45 例 ELISA 法检测阳性的天疱疮患者中,寻常型天疱疮 30 例,红斑型天疱疮 8 例,落叶型天疱疮 5 例,增殖型天疱疮 2 例。30 例寻常型天疱疮患者中 16 例 Dsg1、Dsg3 同时为阳性,均有口腔黏膜损害,8 例红斑型天疱疮和 5 例落叶型天疱疮患者均只有 Dsg1 阳性,均无黏膜损害,2 例增殖型天疱疮 Dsg1、Dsg3 均为阳性,伴有口腔黏膜损害。

表 2 30 例寻常型天疱疮患者病情评分及 Dsg1、Dsg3 抗体滴度比较($\bar{x} \pm s$)

病情程度	n	病情评分(分)	Dsg1 抗体滴度	Dsg3 抗体滴度
轻度	12	3.25±0.87	84.90±84.87	74.30±84.55
中度	14	5.86±0.86 ^a	150.99±79.07 ^a	119.08±77.36 ^a
重度	4	8.25±0.50 ^{ab}	198.18±42.52 ^{ab}	202.58±30.40 ^{ab}

^a: $P < 0.05$,与轻度比较;^b: $P < 0.05$,与中度比较。

2.3 天疱疮抗体滴度与病情活动的相关性 47 例天疱疮患者中寻常型 30 例,其 Dsg1 平均抗体滴度为 130.85±86.12, Dsg3 平均抗体滴度为 112.30±85.05,疾病活动评分平均为(5.10±1.86)分,Pearson 双变量相关性分析示天疱疮疾病活动性评分与 Dsg1、Dsg3 水平呈正相关($r = 0.476, P = 0.008$; $r = 0.816, P = 0.001$),但与 Dsg3 相关性更强。5 例落叶型和 8 例红斑型天疱疮病情评价均为轻度,Dsg1 平均抗体滴度为 142.59±78.52,疾病活动评分平均为(2.77±0.92)分,Pearson

双变量相关性分析示二者呈正相关($r = 0.800, P = 0.001$)。30 例寻常型天疱疮患者按病情评价分为轻度 12 例,中度 14 例,重度 4 例,轻、中、重度患者病情评分及 Dsg1、Dsg3 平均滴度比较,差异有统计学意义($F = 4.29, P = 0.02$),见表 2。

3 讨 论

天疱疮作为一组累及皮肤和黏膜的自身免疫性大疱性皮肤病,其病因及发病机制复杂,使其诊断和治疗非常困难,目前常用的检测手段皮肤病理检查、直接免疫荧光检查是诊断天疱疮的金标准,但操作复杂,难以监测病情变化,IIF 检测患者血清中总的抗角质形成细胞表面的 IgG 抗体,抗体水平与疾病的严重程度及病情活动性相关,常用于病情的检测^[6-7]。但该方法主观性在抗体效价确定中占较大比重,加之底物的不同也对检测结果有影响,而且受某些非特异性抗体的影响可能出现假阳性。有研究证实,Dsg1 和 Dsg3 是天疱疮的主要致病抗原^[8],ELISA 检测 Dsg1 和 Dsg3 是近年来采用的检测方法,其敏感性、特异性均较高。本研究中 ELISA 法检测 Dsg1 和 Dsg3 其敏感性为 95.74%,特异度为 92.31%,均高于 IIF 法,与既往的研究相似^[9-10]。

临床上天疱疮分为寻常型、红斑型、落叶型和增殖型,寻常型和增殖型天疱疮发生在表皮深层,皮损广泛,可伴有口腔黏膜的损害,有的仅有口腔黏膜的损害,而红斑型和落叶型天疱疮发生在表皮的浅层,一般无黏膜的损害,对于其临床表现的多样性目前有多种假说,最得到公认的是 Dsg 补偿假说^[11],该假说认为由于 Dsg1、Dsg3 在皮肤和黏膜分布的不同,二者共表达于同一细胞时,它们将相互补偿对方的功能不足,从而造成了天疱疮临床表现的多样性。IIF 检测的是患者血清中总的循环抗体,包括抗棘细胞间桥粒抗体和抗基底膜带抗体,但不能明确究竟是哪一种致病性靶抗原引起水疱,难以进行疾病的分型。而 ELISA 检测 Dsg1、Dsg3 有助于区分天疱疮的不同类型,本研究中 30 例寻常型天疱疮患者中 Dsg1、Dsg3 同时阳性的患者有 16 例,均伴有口腔黏膜的损害,落叶型和红斑型天疱疮患者只有 Dsg1 阳性,均无黏膜的损害,推测与 Dsg1、Dsg3 在黏膜均是全层表达,但以 Dsg3 为主,所以抗 Dsg3 存在时 Dsg3 低表达,Dsg1 不足以补偿 Dsg3 而出现黏膜糜烂相关。临床上寻常型和增殖型天疱疮水疱较深,而落叶型、红斑型水疱较表浅也与 Dsg1、Dsg3 的分布有关,因此对于临床上难以诊断的不典型疱病患者,这些靶抗原的检测不仅能帮助临床进行诊断和鉴别诊断,还能进行疾病的临床分型。

但是目前天疱疮治疗的最大问题是判断疾病的活动程度及预后,为确定治疗方案提供参考依据,多数的研究认为血清中抗 Dsg1、Dsg3 滴度与疾病的严重程度呈正相关性^[12-13],并随疾病的控制其滴度也随之下降,当病情活动时,其可再次升高。但也有研究者认为抗体滴度和疾病活动性及病情相关性不大,依据是有的稳定期患者血清中抗体滴度也较高^[14]。本研究中,寻常型天疱疮患者病情越严重其 Dsg1、Dsg3 越高,病情活动评分与 Dsg1、Dsg3 均明显正相关,且与 Dsg3 的相关性更大,也说明 Dsg3 是寻常型天疱疮更特异的指标;而落叶型和红斑型天疱疮患者病情严重程度与 Dsg1 呈正相关,Dsg1 是红斑型天疱疮的特异性的指标。但因为是回顾性研究,缺乏长期随访资料,对其是否能随病情波动而变化缺乏数据。冯素英等^[15]随访天疱疮患者 2 年后发现,疾病的活动度和 Dsg 指数相关,但在短期部分患者可表现不明显,在疾病刚控制时只表现为下降的趋势。在疾病复发时,Dsg 指数升高。提示在今后的诊疗工作中,应对 Dsg1 抗体和 Dsg3 指数进行多点检测,即使病情缓解也应长期随访,对于判断疾病是(下转第 2503 页)

- [3] Talke P, Chen R, Thomas P, et al. The hemodynamic and adrenergic effects of perioperative dexmedetomidine infusion after vascular surgery[J]. *Anesth Analg*, 2000, 90(4):834-839.
- [4] Aho M, Lehtinen AM, Erkola O, et al. The effect of intravenously administered dexmedetomidine on perioperative hemodynamic and isoflurane requirement in patients undergoing abdominal hysterectomy [J]. *Anesthesiology*, 1991, 74(6):997-1002.
- [5] Fragen RJ, Fitegald PC. Effect of dexmedetomidine on the minimum alveolar concentration (MAC) of sevoflurane in adults age 55 to 77 ages[J]. *J Clin Anesth*, 1999, 11(6):466-470.
- [6] Kanda H, Kunisawa T, Kurosawa A, et al. Effects of dexmedetomidine on anesthetic requirements in cardiovascular surgery[J]. *Masui*, 2009, 58(12):1496-1500.
- [7] Chu KS, Wang FY, Hsu HT, et al. The effectiveness of dexmedetomidine infusion for sedating oral cancer patients undergoing awake fiberoptic nasal intubation[J]. *Eur J Anesthesiol*, 2010, 13(1):16-21.
- [8] Mukhtar AM, Obayah EM, Hossona AM. The use of dexmedetomidine in pediatric cardiac surgery[J]. *Anesth Analg*, 2006, 103(1):52-56.
- [9] Ayoglu H, Yapakci O, Ugur MB, et al. Effectiveness of dexmedetomidine in reducing bleeding during septoplasty and tympanoplasty operations[J]. *Clin Anesth*, 2008, 20(6):437-441.
- [10] Dearden NM, McDowall DG. Comparison with etomidate and althesin in the reduction of increased intracranial pressure after head injury[J]. *Br J Anaesth*, 1985, 57(4):361-368.
- [11] Ebert TJ, Muzi M, Berens R, et al. Sympathetic response to induction of anesthesia in humans with propofol or etomidate[J]. *Anesthesiology*, 1992, 76(5):725-733.
- [12] 曾因明, 邓小明, 刘进, 等. 依托咪酯临床应用指导意见[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2008, 19(4):382-385.
- [13] Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists; their pharmacology and therapeutic role[J]. *Anesthesia*, 1999, 54(2):146-165.
- [14] Possot S, Servin S, Allary R, et al. Target-controlled versus manual-controlled infusion of propofol for direct laryngoscopy and bronchoscopy[J]. *Anesth Analg*, 2002, 94(5):1212-1216.
- [15] Möller PA, Kamenik M. Bispectral index-guided induction of general anaesthesia in patients undergoing major abdominal surgery using propofol or etomidate; a double-blind, randomized, clinical trial[J]. *Br J Anaesth*, 2013, 110(3):388-396.

(收稿日期:2015-11-18 修回日期:2016-03-06)

(上接第 2499 页)

否得到持续控制及确定维持治疗方案等有很好的指导意义。

参考文献

- [1] Abasq C, Mouquet H, Gilbert D, et al. ELISA testing of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies in the management of pemphigus[J]. *Arch Dermatol*, 2009, 145(5):529-535.
- [2] Anand V, Khandpur S, Sharma VK, et al. Utility of desmoglein ELISA in the clinical correlation and disease monitoring of pemphigus vulgaris[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012, 26(11):1377-1383.
- [3] Joanna N, Joanna B, S Katarzyna S, et al. Pathogenic activity of circulating anti-desmoglein-3 autoantibodies isolated from pemphigus vulgaris patients [J]. *Arch Med Sci*, 2012, 8(2):347-356.
- [4] 赵辨. 临床皮肤病学[M]. 3 版. 南京:江苏科学技术出版社, 2001:834-839.
- [5] Ikeda S, Imamura S, Hashimoto I, et al. History of the establishment and revision of diagnostic criteria, severity index and therapeutic guidelines for pemphigus in Japan [J]. *Arch Dermatol Res*, 2003, 295(Suppl 1):S12-16.
- [6] 李竹茜, 张豫凤, 赵东利, 等. 以正常人皮肤为底物间接免疫荧光技术检测天疱疮抗体[J]. *临床皮肤科杂志*, 2009, 38(2):76-76.
- [7] 刁庆春, 李渝, 钟白玉, 等. 天疱疮抗体致棘刺松解量化研究[J]. *临床皮肤科杂志*, 2001, 30(3):142-144.
- [8] 李志量, 冯素英. 天疱疮发病机制的研究进展[J]. *国际皮肤性病学期刊*, 2012, 38(4):241-244.
- [9] 钟珊, 邱于芳, 韩蓓蓓, 等. 应用酶联免疫吸附试验检测血清桥粒芯蛋白抗体水平监测寻常型天疱疮患者病情变化[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2011, 43(3):414-420.
- [10] 陈祯祥, 王晓东, 郑庆虎, 等. 抗表皮棘细胞桥粒抗体, 抗桥粒芯糖蛋白 1, 3 抗体(Dsg1, Dsg3)在天疱疮中的诊断价值[J]. *新疆医科大学学报*, 2014, 37(2):192-198.
- [11] Spindler V, Drenckhahn D, Zillikens D, et al. Pemphigus IgG causes skin splitting in the presence of both desmoglein 1 and desmoglein 3[J]. *Am J Pathol*, 2007, 171(3):906-916.
- [12] 闫言, 徐浩翔, 晋红中, 等. ELISA 技术检测寻常型天疱疮桥粒芯蛋白 3 抗体水平研究[J]. *临床皮肤科杂志*, 2011, 40(9):529-531.
- [13] 钟珊, 汪科, 赵俊郁, 等. 桥粒芯蛋白 1 酶联免疫吸附试验检测落叶型天疱疮血清抗体的评价[J]. *中华皮肤科杂志*, 2010, 43(11):777-779.
- [14] Kwon EJ, Yamagami J, Nishikawa T, et al. Anti-desmoglein IgG autoantibodies in patients with pemphigus in remission[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2008, 22(9):1070-1075.
- [15] 冯素英, 周武庆, 张洁尘, 等. 天疱疮患者桥粒芯糖蛋白抗体水平和疾病活动度关系及变化规律分析[J]. *中华皮肤科杂志*, 2014, 47(7):461-464.

(收稿日期:2015-11-29 修回日期:2016-03-14)