

窄谱中波紫外线对特应性皮炎患者外周血 CC 亚家族趋化因子表达的影响

王忠永 韩兆东 马蕾 张建明 张玉杰 高昱

【摘要】目的 研究窄谱中波紫外线(NB-UVB)对特应性皮炎患者外周血 CC 亚家族趋化因子表达的影响,并观察其治疗特应性皮炎的临床疗效。**方法** 55 例患者使用 NB-UVB 照射治疗,采用双抗体夹心 ELISA 法检测治疗前、后血清胸腺和活化调节的趋化因子(TARC)、皮肤 T 细胞趋化因子(CTACK)、巨噬细胞来源的趋化因子(MDC)及嗜酸粒细胞趋化因子的含量,并对其临床疗效进行评价。采用欧洲特应性皮炎评分标准(SCORAD)计分系统^[2],对特应性皮炎患者的皮损及其临床严重程度进行评估,包括皮损范围、皮损严重程度、瘙痒和影响睡眠程度;采用视觉模拟尺度(VAS)评分法对瘙痒程度进行评价。另选取 30 例健康体检者进行对照研究。**结果** 特应性皮炎患者的血清 TARC、CTACK 和 MDC 水平均显著高于健康对照组($P < 0.01$),嗜酸粒细胞趋化因子的含量略高于健康对照组($P > 0.05$);NB-UVB 治疗后患者血清 TARC、CTACK 和 MDC 水平明显降低,与治疗前相比差异有统计学意义($P < 0.01$),而嗜酸粒细胞趋化因子的含量略降低,与治疗前相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。本组 SCORAD 评分和 VAS 积分较治疗前明显下降($P < 0.01$)。有效率为 76.36%。**结论** NB-UVB 照射可明显降低外周血 TARC、CTACK 及 MDC 的水平,降低对 Th2 细胞的趋化作用,从而调节 Th1/Th2 亚群的失衡,这可能是 NB-UVB 治疗特应性皮炎的机制之一;NB-UVB 治疗特应性皮炎疗效好,安全性高。

【关键词】 皮炎,特应性; 紫外线疗法; 趋化因子类

The effects of narrow-band ultraviolet B on the expression of the CC subfamily of chemokines and its efficacy in treating patients with atopic dermatitis WANG Zhong-yong, HAN Zhao-dong, MA Lei, ZHANG Jian-ming, ZHANG Yu-jie, GAO Yu. Department of Dermatology, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, China

Corresponding author: WANG Zhong-yong, Email: byzhongyong@sohu.com

【Abstract】Objective To observe the clinical efficacy of narrow-band ultraviolet B (NB-UVB) in the treatment of the patients with atopic dermatitis (AD) and the effects of NB-UVB on the expression of the CC subfamily of chemokines in AD patients. **Methods** Fifty-five AD patients were treated with NB-UVB with a starting dose of 50% of the minimal erythma dose. ELISA was used to measure the serum levels of thymus and activation-regulated chemokine (TARC), cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK), macrophage-derived chemokine (MDC) and eotaxin in all of the patients before and after treatment, and the clinical efficacy was evaluated. The scores on an atopic dermatitis index (SCORAD) and a visual analogue scale were used for the clinical evaluation. Thirty healthy persons were recruited and served as normal controls. **Results** The serum levels of TARC, CTACK and MDC were significantly higher in patients with AD than in the normal controls. There was no significant difference between the patients and controls with regard to the average serum level of eotaxin. After treatment with NB-UVB, the serum levels of TARC, CTACK and MDC, but not eotaxin, significantly decreased in the patients. The total clinical effectiveness rate was 76.36%, and the accumulated SCORAD points and VAS scores decreased significantly. **Conclusions** NB-UVB is able to down-regulate significantly the serum levels of TARC, CTACK and MDC. It can affect immune function and regulate any imbalance of Th1/Th2 cells. This might be one of the mechanisms of NB-UVB treatment for AD. The clinical data demonstrate that NB-UVB is a safe and effective treatment for AD.

【Key words】 Dermatitis, atopic; Ultraviolet therapy; Chemotactic factors

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)是一种慢性、

复发性、炎症性皮肤病,其病因及发病机制复杂。其中 Th1/Th2 亚群的失衡是 AD 发病的基础和中心环节。研究表明,趋化因子特别是 CC 亚家族表达异常,在特应性皮炎的发生发展中起着重要作用。而趋化因子是调节 Th1/Th2 活化和极化状态的重要因

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2012.03.008

基金项目:山东省滨州医学院科技计划(BY2009KJ34)

作者单位:256603 滨州,山东省滨州医学院附属医院皮肤科

通信作者:王忠永,Email:byzhongyong@sohu.com

素。近年来,国内外有报道使用窄谱中波紫外线(narrow band ultraviolet B, NB-UVB)治疗 AD 取得较好的疗效,但其治疗机制尚不清楚,本研究通过检测 AD 患者经 NB-UVB 照射治疗前、后血清胸腺和活化调节的趋化因子(thymus and activation-regulated chemokine, TARC)、皮肤 T 细胞趋化因子(cutaneous T cell-attracting chemokine, CTACK)、巨噬细胞来源的趋化因子(macrophage-derived chemokine, MDC)和嗜酸粒细胞趋化因子(eotaxin)的变化情况,旨在探讨其治疗 AD 的机制。

资料与方法

一、临床资料

入选条件:患者 4 周内未系统使用糖皮质激素、免疫抑制剂,未进行过任何光疗或光化学疗法;2 周内未外用糖皮质激素或免疫调节剂;无严重心、肺、肝、肾及眼部疾病,无光敏史。患者均签署知情同意书。

选取我院皮肤科门诊确诊的 AD 患者 55 例,其中男 29 例,女 26 例;年龄 13~35 岁,平均 21.6 岁;病程 12~27 年,平均 16.5 年。所有患者均符合 Hanifin 和 Rajka 诊断标准^[1]。

另外选取 30 例健康体检者作为正常对照组,其中男 17 例,女 13 例;年龄 15~36 岁,平均 23.1 岁。2 组在年龄、性别等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

二、治疗方法

NB-UVB 为德国 Waldmann 公司生产的 UV100L 系统光疗仪,波长 310~313 nm,峰值为 311 nm。照射器强度经 Waldmann UV 紫外光强度测试仪测定为 9.06 mW/cm^2 。照射时充分暴露治疗部位,照射面积 21%~57%,平均 36%,戴专用护目镜及遮盖保护外生殖器,尽量遮盖非皮损区,照射距离为 20 cm。SUV-1000 日光紫外线模拟器(上海 Sigma 公司)测定患者皮肤(脐两侧)NB-UVB 的最小红斑量(minimal erythema dose, MED)为参考初始剂量。患者 MED 平均值为 0.72 J/cm^2 ,NB-UVB 照射的初始剂量为 MED 的 50%,即 $0.3 \sim 0.4 \text{ J/cm}^2$,年龄小于 18 岁者初始剂量为 0.3 J/cm^2 ,18 岁以上者初始剂量为 0.4 J/cm^2 ,每周照射 3 次(即每周 1、3、5 或 2、4、6)。如照射皮肤无红斑反应,每次增加剂量 0.1 J/cm^2 ,至出现淡红斑则维持该剂量,疗程为 12 周,共照射 36 次,最大照射剂量 2.5 J/cm^2 。若出现疼痛性红斑则停止照射,在红斑消退后恢复照射,剂量较前减少 50%,但照射总次数不变。照射中每次治疗后给予维生素 E 乳膏外擦以防皮肤干燥。记录不良反应并于治疗前后进行血、尿常规及肝、肾功能检查。

三、血清趋化因子检测

所有患者均于治疗前后抽取肘静脉血 5 ml,转速 1000 r/min (离心半径 125 mm)离心 15 min,吸取上层血清,置 -20°C 冰箱保存待测。正常对照组查体时采血,处理方法同前。采用双抗体夹心 ELISA 法检测治疗前、后血清 TARC、CTACK、MDC 和 eotaxin 的含量,所有免疫检测试剂盒均为美国 R&D 公司分装。操作步骤严格按试剂盒说明书进行。用酶标仪在 450 nm 处测 A 值。建立标准曲线求出样品中含量。

四、疗效评定标准

采用欧洲 AD 评分标准(scoring of atopic dermatitis, SCORAD)计分系统^[2],对 AD 皮损及临床严重程度进行评估,包括皮损范围、皮损严重程度、瘙痒和影响睡眠程度。皮损范围(A):成人头颈部、臂各 9%,躯干前、躯干后各 13.5%,下肢各 22.5%;14 岁以下儿童头颈部、臂各 9%,躯干前、躯干后及下肢各 18% 计算,以 1% 的面积为 1 分,最大评分 100 分;皮损严重程度(B):采用 0~3 四级评分法,包括红斑、丘疹或水肿、渗出或结痂、表皮剥脱、苔藓化、皮肤干燥(评价未受累皮肤)共 6 项体征,根据皮损轻重程度分级,最大分值 18 分;瘙痒和影响睡眠程度(C):按最近的 3 个昼夜平均计分,每项评分各为 0~10 分。计算公式为:总分 = $A/5 + 7B/2 + C$ 。

采用视觉模拟尺度(visual analogue scale, VAS)评分法对瘙痒程度进行评价,0 为无瘙痒、10 为剧烈瘙痒。记录治疗前、后 SCORAD 积分和 VAS 积分,按下列公式计算积分下降指数:

$$\text{积分下降指数}(\%) = \frac{\text{治疗前 SCORAD 积分} - \text{治疗后 SCORAD 积分}}{\text{治疗前 SCORAD 积分}} \times 100\%$$

痊愈:积分下降指数 $> 90\%$;显效:积分下降指数 $70\% \sim 90\%$;好转:积分下降指数 $30\% \sim 69\%$;无效:积分下降指数 $< 30\%$ 。痊愈加显效计算有效率。

五、统计学方法

采用 SPSS 11.5 版统计软件进行处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用配对 t 检验并进行相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、细胞因子检测情况

AD 患者治疗前血清 TARC、CTACK 和 MDC 水平高于正常对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$);NB-UVB 照射治疗 12 周后患者血清 TARC、CTACK 和 MDC 含量明显降低,与治疗前比较差异具有统计学意义($P < 0.01$),而 eotaxin 含量与治疗前比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 AD 患者治疗前、后血清 CC 亚家族趋化因子
与对照组的比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TARC	CTACK	MDC	eotaxin
对照组	30	209.7 ± 80.1	246.8 ± 67.3	615.5 ± 121.9	63.9 ± 20.8
治疗组					
治疗前	55	568.2 ± 123.6 ^a	885.3 ± 263.6 ^a	1169.2 ± 312.5 ^a	75.17 ± 38.5 ^b
治疗后	55	235.9 ± 72.2 ^c	299.3 ± 81.5 ^c	673.1 ± 116.7 ^c	67.93 ± 27.0 ^d

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$,^b $P > 0.05$;与治疗前比较,^c $P < 0.01$,^d $P > 0.05$

二、趋化因子与 SCORAD 的相关性

AD 患者血清 TARC、CTACK 和 MDC 水平与疾病严重程度之间呈显著正相关, r 分别为 0.556、0.593、0.471, $P < 0.01$;eotaxin 水平与疾病严重程度之间无相关性, r 为 0.142, $P > 0.05$ 。

三、临床疗效

55 例患者均完成治疗,其中痊愈 17 例,显效 25 例,好转 10 例,无效 3 例,有效率为 76.36%。治疗前后 SCORAD 和 VAS 积分比较见表 2。患者治疗后 SCORAD 和 VAS 积分较治疗前明显下降($P < 0.01$)。

表 2 AD 患者治疗前、后 SCORAD 和 VAS 评分的比较

评分时间	例数	SCORAD 积分	VAS 积分
治疗前	55	62.36 ± 12.33	8.25 ± 1.57
治疗后	55	23.53 ± 6.28 ^a	3.09 ± 1.32 ^a

注:与治疗前比较,^a $P < 0.01$

四、不良反应

55 例患者治疗前后血、尿常规和肝、肾功能检查均无异常。6 例患者出现轻度瘙痒等刺激症状,未见明显疼痛性红斑及水疱,不影响继续治疗。

讨 论

趋化因子是能够趋化细胞定向移动的小分子细胞因子,为趋化性细胞因子的简称,由 70 ~ 125 个氨基酸组成,至今为止至少发现 50 余种趋化因子^[3]。根据其 N 端半胱氨酸残基(Cys)的数目和排列位置可将趋化因子分为 4 个亚族^[4]:C、CC、CXC、CX3C。CC 亚族趋化因子也称 β 亚家族趋化因子,是趋化因子中最大的家族,有 28 个成员组成,其结构特点为氨基酸端的 Cys 连续排列,主要趋化单核细胞和淋巴细胞。

AD 的发病机制尚不清楚,Reefer 等^[5]认为 AD 是以 Th2 细胞占主导地位的疾病。也有学者认为 AD 是一种双相性 T 细胞介导的疾病^[6]。近年来有关趋化因子在 AD 发病中的作用有所研究^[7-8]。AD 的皮损组织病理以淋巴细胞、单核细胞浸润为主,其中 T 淋巴细胞占较大比例。细胞向炎症区的迁移是 AD 变应性炎症形成过程的重要步骤,而趋化因子在该过程中起着重要作用。研究表明,Th1 和 Th2 分别表达不同的

趋化因子受体,可与不同的趋化因子结合发挥趋化作用,活化的 Th1 或 Th2 细胞再分泌趋化因子,诱导更多的 Th1 或 Th2 细胞聚集,从而产生级联放大作用。TARC、CTACK、MDC 和 eotaxin 均为 CC 型趋化因子。TARC 主要来源于单核细胞、树突状细胞,其特异性受体为 CCR4,对 Th2 细胞具有高度选择性趋化作用,从而增强 Th2 型免疫反应和促进嗜酸粒细胞外渗;CTACK 对表达 CCR10 的 Th1 和 Th2 细胞均有趋化作用,可能在皮肤炎症时使记忆 T 细胞再循环至皮肤中起作用;MDC 主要由巨噬细胞产生,对 Th2 细胞具有较强的趋化作用,其作用可被 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 上调,而被 Th1 细胞因子 IFN- γ 下调;eotaxin 来源于成纤维细胞、内皮细胞及巨噬细胞等细胞,其特异性受体为 CCR3,对嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞及 Th2 型淋巴细胞均有趋化作用,有报道在炎症中 eotaxin 受 Th2 细胞调控,而 Th2 调控 eotaxin 主要通过其产生的 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 等诱导。

有研究发现,AD 患者血清中 TARC 和 CTACK 水平明显高于正常对照组,并与疾病的 SCORAD 评分呈显著正相关,表明 TARC 和 CTACK 水平是 AD 严重程度的特异性客观指标^[9]。Shimada 等^[10]报道,AD 患者血清中 TARC 和 MDC 水平明显高于正常对照组,并与 AD 严重程度、总 IgE 水平和外周嗜酸粒细胞相关。本研究结果表明,AD 患者血清中 TARC、CTACK 和 MDC 水平明显高于正常人,并与 SCORAD 均呈正相关性,与国外报道的研究结果基本一致^[11],说明 CC 亚家族趋化因子在 AD 的发病及慢性病程中可能其重要作用。同时发现,不论是趋化 Th2 细胞为主的 TARC、MDC,还是对 Th1 和 Th2 细胞均有趋化作用的 CTACK,在 AD 患者血清中均升高,提示可能 Th1 和 Th2 细胞均与 AD 的病情有关,但以 Th2 细胞占优势。有研究显示,AD 皮损中嗜酸粒细胞的沉积与 eotaxin 和 CCR3 的 mRNA 和蛋白表达水平显著相关,且血中嗜酸粒细胞的增加和皮损中 eotaxin 的表达相关^[12]。本研究显示 AD 患者血清中 eotaxin 水平与正常人无显著性差异,可能 eotaxin 仅在皮损局部表达增强,同时发现血清中 eotaxin 含量与疾病严重程度之间无明显相关性。

AD 的光疗法主要有 PUVA、UVA1 和 NB-UVB。中国特应性皮炎诊断和治疗指南中指出紫外线是治疗 AD 的有效方法且以 NB-UVB 的疗效最佳^[13]。由于 NB-UVB 治疗过程简单,不需要提前应用光敏剂,治疗后无须避光保护,因此患者更愿意选择 NB-UVB 治疗;同时 NB-UVB 穿透皮肤能力弱,在产生最佳治疗效果的同时不会导致皮肤灼伤^[14]。Majoie 等^[15]应用 NB-UVB 治疗中、重度 AD 取得了显著的疗效。但目前

对 NB-UVB 治疗 AD 的机制尚不清楚, 研究证明, NB-UVB 能诱导 T 淋巴细胞凋亡, 抑制朗格汉斯细胞呈递抗原, 减轻皮肤炎症反应^[16]。Sigmundsdottir 等^[17]报道 NB-UVB 可能通过诱导 T 淋巴细胞凋亡及抑制前炎症因子的释放和转运而治疗 AD。本实验研究发现, AD 患者经 NB-UVB 治疗后血清 TARC、CTACK 和 MDC 的含量明显降低, 与治疗前有显著性差异, 且治疗后与正常对照组比较无统计学意义, 提示 TARC、CTACK 和 MDC 可作为评价 AD 病情预后的重要指标; 而 eotaxin 水平治疗前后无显著性差异, 说明 NB-UVB 可能通过抑制 TARC、CTACK 和 MDC 的表达, 降低对 Th2 细胞的趋化作用, 纠正 Th1/Th2 的免疫失衡状态, 从而达到治疗目的。随着上述趋化因子水平的降低并趋于正常, 患者的临床症状明显改善, 但未完全消退, 说明 AD 的发病是由多种因素造成的, 趋化因子可能起着重要的作用。本研究应用 NB-UVB 治疗 AD 取得了较好的疗效, 总有效率达 76.36%, 治疗后 SCORAD 及 VAS 积分明显下降, 未见明显不良反应, 提示 NB-UVB 治疗 AD 安全、有效, 值得临床推广应用。

参 考 文 献

- [1] Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol*, 1980, 92:44-47.
- [2] Anon. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology*, 1993, 186:23-31.
- [3] Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nature Rev Cancer*, 2004, 4:540-550.
- [4] Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 2000, 12:121-127.
- [5] Reefer AJ, Satinover SM, Solga MD, et al. Analysis of T-cell subtypes in atopic dermatitis reveals a novel Th2-like population. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121:415-422.
- [6] Werfel T. The role of leukocytes, keratinocytes, and allergen-specific IgE in the development of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, 2009, 129:1878-1891.
- [7] Kaburagi Y, Shimada Y, Nagaoka T, et al. Enhanced expression of CC-chemokines (RANTES, MCP-1, MIP-1alpha, MIP-1beta, and eotaxin) in patients with atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res*, 2001, 56:996-1002.
- [8] 魏明辉, 项蕾红, 郑志忠, 等. 特异性皮炎患者血清 CXC、CC 及 C 亚家族趋化因子的检测. *中华皮肤科杂志*, 2008, 41:729-731.
- [9] Hijnen D, De Bruin-Weller M, Oosting B, et al. Serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) and cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) levels in allergic diseases: TARC and CTACK are disease-specific markers for atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113:334-340.
- [10] Shimada Y, Takehara K, Sato S. Both Th2 and Th1 chemokines (TARC/CCL17, MDC/CCL22, and Mig/CXCL9) are elevated in sera from patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*, 2004, 34:201-208.
- [11] Kakinuma T, Nakamura K, Wakugawa M, et al. Thymus and activation-regulated chemokine in atopic dermatitis; serum thymus and activation-regulated chemokine level is closely related with disease activity. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107:535-541.
- [12] Yawalkar N, Ugucioni M, Schärer J, et al. Enhanced expression of eotaxin and CCR3 in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, 1999, 113:43-48.
- [13] 中华医学会皮肤性病学分会免疫学组. 中国特异性皮炎诊断和治疗指南. *中华皮肤科杂志*, 2008, 41:771-773.
- [14] Tjioe M, Smits T, Kerkhof PC, et al. The differential effect of broad band vs narrow band UVB with respect to photodamage and cutaneous inflammation. *Exp Dermatol*, 2003, 12:729-733.
- [15] Majoie IML, Oldhoff JM, van Weelden H, et al. Narrowband ultraviolet B and medium-dose ultraviolet A1 are equally effective in the treatment of moderate to severe atopic dermatitis. *JAAD*, 2009, 60:77-84.
- [16] Aufiero BM, Talwar H, Young C, et al. Narrowband UVB induces apoptosis in human keratinocytes. *J Photochem Photobiol B*, 2006, 82:132-139.
- [17] Sigmundsdottir H, Johnston A, Gudjonsson JE, et al. Narrowband UVB irradiation decreases the production of pro-inflammatory cytokines by stimulated T cells. *Arch Dermatol Res*, 2005, 297:39-42.

(修回日期:2012-01-06)

(本文编辑:汪 玲)

· 消息 ·

《肌肉链与扳机点》出版

由 Philipp Richter[比]和 Eric Hebben[德]主编、山东省立医院疼痛科赵学军、傅志俭、宋文阁主译的《肌肉链与扳机点》(ISBN: 978-7-5331-5764-7)一书已由山东科学技术出版社出版。该书已经被成功地翻译成 13 种语言出版, 获得了专业人士的一致好评。该书以独特的视角, 将机体的运动系统作为一个整体进行研究, 把深奥的理论和实用的治疗技术有机地结合起来, 深入介绍了扳机点疗法这一新技术。内容详实, 语言简明扼要, 插图精美, 是康复科、疼痛科、推拿科、针灸理疗科以及从事运动医学等专业医生不可或缺的参考书籍。该书全国各大新华书店及医学专业书店有售。当当网、卓越网、京东商城皆有销售, 也可直接到社邮购, 电话 0531-82098071。