

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.02.040

# 白癜风患儿抗核抗体、免疫球蛋白及补体检测的临床分析

王 静<sup>1</sup> 庞 娟<sup>2</sup> 王博鹤<sup>1</sup> 刘琳伶<sup>3</sup> 梁惠敏<sup>3</sup>

(1 徐州市儿童医院皮肤科 江苏 徐州 221000;

2 绵阳市中医院皮肤科 四川 绵阳 621011;3 徐州市儿童医院门诊部 江苏 徐州 221000)

**摘要 目的:**探讨白癜风患儿中抗核抗体(ANA)、免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM)以及补体(C3、C4)的表达及临床意义。**方法:**收集2014年10月至2016年5月我院收治的30例白癜风患儿为病例组,并于同期随机选取30例健康体检儿童为对照组,患儿的血清ANA、12种自身抗体谱分别采用间接免疫荧光法及免疫印迹法进行检测,IgG、IgA、IgM、C3、C4水平采用免疫透射比浊法进行检测。**结果:**病例组中ANA阳性率为13.33%(4/30),与对照组的3.33%(1/30)比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。12种自身抗体谱中,分别有1例(3.33%)患儿dsDNA、SmDNA、SS-A/Ro60KD、SS-B/La、CENP-B阳性,与对照组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。病例组患儿血清IgG、IgA、C4水平低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ANA阳性患儿血清IgG、IgA、IgM水平高于ANA阴性患儿,而补体C3、C4水平低于ANA阴性患儿,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论:**白癜风患儿ANA阳性表达与健康儿童无明显区别,体液免疫功能有明显异常,临床有重要的参考价值。

**关键词:** 白癜风;抗核抗体;免疫球蛋白;补体

中图分类号:R758.41 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)02-355-04

## Clinical Analysis of Antinuclear Antibodies, Immunoglobulin and Complement in Children Patients with Vitiligo

WANG Jing<sup>1</sup>, PANG Juan<sup>2</sup>, WANG Bo-he<sup>1</sup>, LIU Lin-ling<sup>3</sup>, LIANG Hui-min<sup>3</sup>

(1 Department of Dermatology, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu, 221000, China;

2 Department of Dermatology, Mianyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Mianyang, Sichuan, 621011, China;

3 Department of Outpatient, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu, 221000, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the expression and clinical significance of anti nuclear antibody (ANA), immunoglobulin (IgG, IgA, IgM) and complement (C3, C4) in patients with vitiligo. **Methods:** 30 children patients with vitiligo in our hospital from October to May 2016 as case group were collected, and at the same time, 30 healthy children as control group were randomly selected. The serum ANA and 12 kinds of autoantibodies were detected by indirect immunofluorescence and Western blotting respectively, IgG, IgA, IgM, C3 and C4 levels were detected by immune transmission turbidimetry method. **Results:** Compared with of 3.33%(1/30) in control group, the positive rate of ANA in case group was 13.33%(4/30), and the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). In the 12 kinds of autoantibodies spectrum, there was 1 case patient (3.33%) of positive rate about dsDNA, SmDNA, SS-A/Ro60KD, SS-B/La, CENP-B respectively, which was no obviously difference compared to those in control group ( $P>0.05$ ). The serum IgG, IgA and C4 levels were lower than that in control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The IgG, IgA, IgM levels of children patients of ANA-positive were higher than those of ANA-negative patients, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The C3, C4 levels of complement of children patients of ANA-positive were lower than those of ANA-negative patients, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** There is no obviously difference on ANA-positive expression between children patient with vitiligo and healthy children while the humoral immune function has obvious abnormal, it has an important reference value in clinic.

**Key words:** Vitiligo; Antinuclear antibody; Immunoglobulin; Complement

**Chinese Library Classification(CLC):** R758.41 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2017)02-355-04

### 前言

白癜风是由获得性黑素细胞破坏导致皮肤黏膜色素脱失,并以皮损部位黑素细胞缺失为特征的疾病<sup>[1,2]</sup>。报道显示<sup>[3]</sup>,白癜风在不同种族、不同地域间均有发病,其患病率在0.1%~8.0%

之间,我国人群的白癜风患病率在0.56%,其中20岁以前发病人数超过50%。白癜风可以出现在全身不同部位的皮肤,尤其是暴露部位更易常见,对儿童、青少年的容貌产生重要影响,尤其是在交友和学习过程中的影响更加明显。关于白癜风的发病机制,目前尚无统一论,但研究表明<sup>[4]</sup>,多种因素如黑色素细胞自毁、免疫系统、局部细胞氧化应激以及遗传因素等在白癜风的发病过程中有重要作用。其中,自身免疫学说得到学者们普遍支持,他们认为<sup>[5]</sup>,自身免疫,尤其是体液免疫功能的紊乱

作者简介:王静(1982-),女,硕士,主治医师,从事真菌性皮肤病、儿童皮肤病方面的研究,E-mail: sue12049@sina.com

(收稿日期:2016-08-31 接受日期:2016-09-18)

与白癜风的发生密切相关。抗核抗体 (Antinuclear antibody, ANA) 是自身抗体的一种, 它将自身真核细胞的不同细胞核成分当做靶抗原, 是目前检测系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病的常见指标<sup>[6]</sup>。国外有文献报道<sup>[7]</sup>, 患者发生自身免疫性疾病时, 其体液免疫功能出现障碍, 免疫球蛋白明显升高, 而补体水平则明显下降。查阅文献发现, 关于 ANA、免疫球蛋白以及补体在白癜风发病过程中作用的研究相对较少。本研究对 30 例白癜风患者 ANA、免疫球蛋白中的 IgG、IgA、IgM、补体中的 C3、C4 水平进行了检测, 并以 30 例健康体检儿童的相关指标为对照。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集 2013 年 10 月至 2016 年 5 月我院收治的 30 例白癜风患者为病例组, 纳入标准: ① 具有典型的白癜风临床症状, 包括白色糠疹、无色素痣、贫血痣、麻风白斑等, 并符合中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会色素病学组制定的白癜风诊断标准<sup>[8]</sup>; ② 患儿年龄 <14 岁; ③ 患儿家属签署知情同意书; ④ 获得医院伦理会的通过。排除标准: ① 心功能不全者; ② 肝、肾功能障碍者; ③ 近 1 个月内服用过免疫抑制剂类等可能影响本研究结果的药物; ④ 合并有自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮等。病例组患儿中男 17 例, 女 13 例; 年龄 3~14 岁, 平均 (8.52±3.17) 岁; 病程 2 个月~3 年, 平均 (1.61±0.54) 年。并于同期随机选取 30 例健康体检儿童为对照组, 男 15 例, 女 15 例; 年龄 3~13 岁, 平均 (7.90±3.42) 岁。两组的性别、年龄比较, 差异无统计学意义 (P>0.05), 具有可比性。

### 1.2 方法

于清晨空腹抽取两组的肘静脉血 5 mL, 静置 30 min 后在 3000 r/min 的转速下离心 10 min, 留取上清液置于 -70℃ 环境下保留, 留待检测。ANA 抗体采用间接免疫荧光法进行检测,

ANA 试剂购自于德国欧蒙公司。阳性结果的判定标准为: 荧光模型和滴度在显微镜下观察, 滴度 ≥ 1:100 则计为 ANA 阳性; 12 种自身抗体谱采用免疫印迹法进行检测, 检测试剂购自于德灵公司。血清 IgG、IgA、IgM 水平采用免疫透射比浊法进行检测, 检测仪器为日立 LABOSPECT008 全自动生化分析仪。所有操作均严格按照试剂盒上的说明进行。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件对数据进行录入及统计分析, 定量资料采用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 描述, 两组独立样本的比较采用成组 t 检验, 定性资料采用率 (%) 描述, 比较采用  $\chi^2$  检验或者 Fisher 确切概率法, P<0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床特征

30 例患儿的白斑, 17 例 (56.67%) 的初发部位为头面部, 5 例 (16.67%) 为四肢, 4 例 (13.33%) 为腹部, 2 例 (6.67%) 为胸部, 2 例 (6.67%) 为其它部位; 21 例 (70.00%) 呈散发型, 9 例 (30.00%) 呈局限性; 23 例 (76.67%) 处于病情进展期, 7 例 (23.33%) 病情处于稳定期; 8 例 (26.67%) 有白癜风家族史, 22 例 (73.33%) 无家族史。

### 2.2 两组的 ANA 及 12 种自身抗体谱检测阳性结果比较

病例组中 ANA 的阳性例数 4 例, 阳性率为 13.33%, 对照组阳性例数 1 例, 阳性率为 3.33%, 两组 ANA 阳性率比较, 差异无统计学意义 (P>0.05); 抗体滴度 ≥ 1:40 和抗体滴度 ≥ 1:80 的患儿中 ANA 的阳性率差异也无统计学意义 (P>0.05)。12 种自身抗体谱中, 1 例 (3.33%) 患儿 dsDNA 阳性, 1 例 (3.33%) SmDNA 阳性, 1 例 (3.33%) SS-A/Ro60KD 阳性, 1 例 (3.33%) SS-B/La 阳性, 1 例 (3.33%) CENP-B 阳性, 与对照组比较, 差异均无统计学意义 (P>0.05), 见表 1。

表 1 两组的 ANA 及 12 种自身抗体谱检测阳性结果比较 [n (%)]

Table 1 Comparison of detection results of the ANA and 12 kinds of autoantibodies between the two groups [n (%)]

| Indexes     | Case group (n=30) | Control group (n=30) | $\chi^2$ | P      |
|-------------|-------------------|----------------------|----------|--------|
| ANA         | 4(13.33)          | 1(3.33)              | -        | 0.353* |
| Nucleosomes | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -△     |
| dsDNA       | 1(3.33)           | 0(0.00)              | -        | 1.000* |
| Histones    | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -      |
| SmD1        | 1(3.33)           | 0(0.00)              | -        | 1.000* |
| U1-snRNP    | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -      |
| SS-A/Ro60KD | 1(3.33)           | 1(3.33)              | -        | 1.000* |
| SS-A/Ro52KD | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -      |
| SS-B/La     | 1(3.33)           | 0(0.00)              | -        | 1.000* |
| Scl-70      | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -      |
| CENP-B      | 1(3.33)           | 0(0.00)              | -        | 1.000* |
| Jo1         | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -      |
| P0          | 0(0.00)           | 0(0.00)              | -        | -      |

Notes: \*represent that was calculated by the Fisher's exact test. △ represent that was not be statistically analyzed.

## 2.3 两组免疫球蛋白及补体的检测结果比较

病例组患儿的血清 IgG、IgA 水平、C4 水平低于对照组,差

异有统计学意义( $P<0.05$ ),两组的 IgM、C3 水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 两组免疫球蛋白及补体的检测结果比较

Table 2 Comparison of the detection results of immunoglobulin and complement in the two groups

| Groups               | IgG(g/L)   | IgA(g/L)   | IgM(g/L)   | C3(g/L)    | C4(g/L)    |
|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Case group (n=30)    | 7.39± 3.55 | 1.20± 0.34 | 1.49± 0.63 | 1.15± 0.22 | 0.23± 0.07 |
| Control group (n=30) | 9.57± 3.18 | 1.67± 0.29 | 1.53± 0.60 | 1.23± 0.19 | 0.29± 0.09 |
| t                    | -2.516     | -5.761     | -0.257     | -1.519     | -2.887     |
| P                    | 0.015      | 0.000      | 0.802      | 0.137      | 0.006      |

## 2.4 病例组中 ANA 阳性与 ANA 阴性患儿的免疫球蛋白及补体水平比较

ANA 阳性组患儿的血清 IgG、IgA、IgM 水平高于 ANA 阴

性组患儿,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),ANA 阳性组患儿的补体 C3、C4 水平低于 ANA 阴性组患儿,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

Table 3 Comparison of immunoglobulin and complement levels in ANA positive and ANA negative children of case group

| Groups                    | IgG(g/L)   | IgA(g/L)   | IgM(g/L)   | C3(g/L)    | C4(g/L)    |
|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| ANA-positive group (n=4)  | 8.96± 2.53 | 1.46± 0.38 | 1.96± 0.49 | 1.02± 0.27 | 0.15± 0.05 |
| ANA-negative group (n=26) | 5.62± 3.05 | 1.18± 0.21 | 1.07± 0.72 | 1.29± 0.24 | 0.24± 0.06 |
| t                         | 2.072      | 2.239      | 2.371      | -2.076     | -2.845     |
| P                         | 0.047      | 0.034      | 0.025      | 0.048      | 0.008      |

## 3 讨论

白癜风作为儿童中发病率较高的一种皮肤性疾病,研究显示<sup>[9,10]</sup>,它存在一定的家族聚集性,即患儿的一级亲属和二级亲属白癜风的患病率远高于普通的人群。虽然白癜风的发病机制尚不完全清楚,但多数临床研究以及相关的动物实验均证实<sup>[11]</sup>,自身免疫学假说在其发病机制中具有重要作用。ANA 是可以与细胞核或者细胞核的组成成分反应的自身抗体,它同时包含一组自身抗体,多见于多种疾病,如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等免疫性疾病,无种属和器官的特异性,是目前诊断非器官特异性自身免疫性疾病的常见筛选抗体<sup>[12,13]</sup>。研究认为<sup>[14]</sup>,在阳性血清中,如果存在自身抗体,尤其是较高滴度的 ANA,有助于自身免疫性疾病的诊断。

本研究对 30 例白癜风患儿的 ANA 及其 12 种特异性抗体进行检测,结果显示,白癜风患儿 ANA 的阳性率只有 13.33%,虽略高于对照组,但是差异无统计学意义。提示白癜风患儿的 ANA 较低,与健康儿童无明显差异。有研究发现<sup>[9]</sup>,女性白癜风患儿的 ANA 阳性率高于男性,本研究发现不同性别组的 ANA 阳性率无明显差别,可能与本研究纳入的病例较少,尚未发现更多 ANA 阳性患儿,因而未发现其中的区别有关。其它人口学特征中也未发现 ANA 阳性表达的差异,均于样本的例数相对较少有关。建议在下一步的研究中,纳入更多的样本量进行统计分析。12 种自身抗体谱中,分别有 1 例患儿为 dsDNA、SmdNA、SS-A/Ro60KD、SS-B/La、CENP-B 阳性。有研究认为<sup>[15]</sup>,抗 -Ro-52、anti-dsDNA 抗体以及抗 -Ro-60 抗体对系统性红

斑狼疮的诊断价值较高。将本研究结果与健康儿童比较,差异虽无统计学意义,但结果仍提示,对上述几项特异性抗体阳性的患儿应引起高度重视。

研究表明<sup>[16-18]</sup>,在白癜风的发病过程中,免疫球蛋白和补体异常发挥了重要的作用。本研究中,病例组患儿的血清 IgG、IgA 水平低于对照组,而两组患者的 IgM 水平差异无统计学意义。Ali 等<sup>[19]</sup>人的研究结果显示,白癜风患儿的血清 IgG、IgA 水平下降程度高于对照组人群,本研究结果与其结果一致。研究结果还显示,病例组患儿的 C4 水平低于对照组,提示白癜风患儿的补体系统存在明显异常,与有关研究结果相似<sup>[20]</sup>。进一步分析结果显示,ANA 阳性患儿的血清 IgG、IgA、IgM 水平高于 ANA 阴性组患儿,可能是因为 ANA 阳性患儿的 B 淋巴细胞被激活,从而使免疫球蛋白水平明显的升高。结果还显示,ANA 阳性患儿的补体 C3、C4 水平低于 ANA 阴性患儿,可能是因为患儿自身的抗体增加,以及形成的抗原抗体复合物增加,同时组织损伤所致的补体消耗增加有关。

综上所述,白癜风患儿的 ANA 表达水平与健康儿童无明显差异,但是免疫球蛋白水平以及补体系统存在明显的异常。本研究结果进一步说明在白癜风的发病过程中,体液免疫功能的异常具有重要作用,即自身抗体和黑素细胞膜抗原相结合后,通过补体的溶解作用可以破坏黑素细胞。

## 参考文献(References)

- [1] Kartal D, Borlu M, Çınar SL, et al. Thyroid abnormalities in paediatric patients with vitiligo: retrospective study [J]. Postepy Dermatol Alergol, 2016, 33(3): 232-234

- [2] Avalos-Dí az E, Pé rez-Pé rez E, Rodrí guez-Rodrí guez M, et al. Autoimmune vitiligo in rheumatic disease in the mestizo Mexican population[J]. Biomed Rep, 2016, 5(2): 176-180
- [3] Phiske MM. Vitiligo in Children: A Birds Eye View [J]. Curr Pediatr Rev, 2016, 12(1): 55-66
- [4] Schild M, Meurer M. Vitiligo: Clinical presentation and pathogenesis [J]. Hautarzt, 2016, 67(2): 173-186
- [5] Iannella G, Greco A, Didona D, et al. Vitiligo: Pathogenesis, clinical variants and treatment approaches [J]. Autoimmun Rev, 2016, 15(4): 335-343
- [6] Lim HK, Bae MI, Jeong KH, et al. Positivity rates of antithyroid antibody, antinuclear antibody and thyroid peroxidase antibody in different types of vitiligo[J]. Clin Exp Dermatol, 2016, 41(3): 242-247
- [7] Byrne KT, Zhang P, Steinberg SM, et al. Autoimmune vitiligo does not require the ongoing priming of naive CD8 T cells for disease progression or associated protection against melanoma[J]. J Immunol, 2014, 192(4): 1433-1439
- [8] Habib A. Vitiligo in Children: A Distinct Subset [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2016, 26(3): 173-176
- [9] Tsuchiyama K, Watabe A, Sadayasu A, et al. Successful Treatment of Segmental Vitiligo in Children with the Combination of 1-mm Minigrafts and Phototherapy[J]. Dermatology, 2016, 232(2): 237-241
- [10] Dai W, Zhou FB, Wei C, et al. A functional single-nucleotide polymorphism in the ERCC1 gene alters the efficacy of narrowband ultraviolet B therapy in patients with active vitiligo in a Chinese population[J]. Br J Dermatol, 2015, 173(2): 457-463
- [11] Li S, Zhu G, Yang Y, et al. Oxidative Stress-Induced Chemokine Production Mediates CD8(+) T Cell Skin Trafficking in Vitiligo[J]. J Invest Dermatol Symp Proc, 2015, 17(1): 32-33
- [12] Kasumagic-Halilovic E, Ovcina-Kurtovic N, Jukic T, et al. Vitiligo and autoimmunity[J]. Med Arch, 2013, 67(2): 91-93
- [13] Grossmann K, Roggenbuck D, Schröder C, et al. Multiplex assessment of non-organ-specific autoantibodies with a novel microbead-based immunoassay[J]. Cytometry A, 2011, 79(2): 118-125
- [14] Ruiz-Villaverde R, Sá nchez-Cano D. Can Vemurafenib Induce Vitiligo in Metastatic Melanoma Patients?[J]. Balkan Med J, 2016, 33(1): 115-116
- [15] Rao A, Gupta S, Dinda AK, et al. Study of clinical, biochemical and immunological factors determining stability of disease in patients with generalized vitiligo undergoing melanocyte transplantation[J]. Br J Dermatol, 2012, 166(6): 1230-1236
- [16] Xianfeng C, Yuegen J, Zhiyu Y, et al. Pediatric Patients with Vitiligo in Eastern China: Abnormalities in 145 Cases Based on Thyroid Function Tests and Immunological Findings[J]. Med Sci Monit, 2015, 21(1): 3216-3221
- [17] Tembhre MK, Parihar AS, Sharma A, et al. Participation of T cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3) and its ligand (galectin-9) in the pathogenesis of active generalized vitiligo [J]. Immunol Res, 2015, 62(1) 23-34
- [18] Ingordo V, Cazzaniga S, Raone B, et al. Circulating autoantibodies and autoimmune comorbidities in vitiligo patients: a multicenter Italian study[J]. Dermatology, 2014, 228(3): 240-249
- [19] Ali R, Ahsan MS, Azad MA, et al. Immunoglobulin levels of vitiligo patients[J]. Pak J Pharm Sci, 2010, 23(1): 97-102
- [20] Yazdanpanah MJ, Seyedi Noghabi SA, Taghavi M, et al. Comparison of Autoimmune Thyroid Disease in Patients With Progressive and Stable Vitiligo[J]. J Cutan Med Surg, 2016, 20(2): 135-138

(上接第 300 页)

- [12] Wang D, Yang XL, Chai XQ, et al. A short-term increase of the postoperative naturally circulating dendritic cells subsets in flurbiprofen-treated patients with esophageal carcinoma undergoing thoracic surgery[J]. Oncotarget, 2016, 7(14): 18705-18712
- [13] Nonaka T, Hara M, Miyamoto C, et al. Comparison of the analgesic effect of intravenous acetaminophen with that of flurbiprofen axetil on post-breast surgery pain: a randomized controlled trial [J]. J Anesth, 2016, 30(3): 405-409
- [14] Chai XQ, Ma J, Xie YH, et al. Flurbiprofen axetil increases arterial oxygen partial pressure by decreasing intrapulmonary shunt in patients undergoing one-lung ventilation [J]. J Anesth, 2015, 29(6): 881-886
- [15] Horai R, Zá rate-Bladé s CR, Dillenburg-Pilla P, et al. Microbiota-Dependent Activation of an Autoreactive T Cell Receptor Provokes Autoimmunity in an Immunologically Privileged Site [J]. Immunity, 2015, 43(2): 343-353
- [16] Wu TT, Wang ZG, Ou WL, et al. Intravenous flurbiprofen axetil enhances analgesic effect of opioids in patients with refractory cancer pain by increasing plasma  $\beta$ -endorphin [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(24): 10855-10860
- [17] Ogata K, Takamura N, Tokunaga J, et al. A novel injection strategy of flurbiprofen axetil by inhibiting protein binding with 6-methoxy-2-naphthylacetic acid [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2016, 41(2): 179-186
- [18] Liu JL, Jin JW, Pei SJ, et al. Flurbiprofen axetil promotes neuroprotection by activation of cerebral peroxisome proliferator-activated receptor gamma after focal cerebral ischemia in rats[J]. Chin Med J(Engl), 2012, 125(20): 3719-3724
- [19] Hao J, Wang K, Shao Y, et al. Intravenous flurbiprofen axetil to relieve cancer-related multiple breakthrough pain: a clinical study[J]. J Palliat Med, 2013, 16(2): 190-192
- [20] Takada M, Taruishi C, Sudani T, et al. Intravenous flurbiprofen axetil can stabilize the hemodynamic instability due to mesenteric traction syndrome--evaluation with continuous measurement of the systemic vascular resistance index using a FloTrac sensor [J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2013, 27(4): 696-702