DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.22.039
第25卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 22
2003年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2003

文章编号:1000-5404(2003)22-2055-03

综述

天疱疮发病机制研究进展

Advances in pathogenesis of pemphigus

王 鹰,刁庆春 (第三军医大学附属西南医院皮肤科,重庆 400038)

天疱疮是一种自身抗体介导的器官特异性自身免疫性大疱性疾病,以出现针对角质形成细胞表面桥粒成分的特异性IgG抗体引起棘层细胞松解为特征。间接免疫荧光检查(IIF)可见细胞间IgG和C3沉积。天疱疮发病过程中可见单核细胞的浸润、补体活化、角质形成细胞间粘附丧失,但其确切的发病机制和棘层松解的机制仍未明确。目前的研究重点已由体液免疫转为细胞免疫,并认为细胞免疫在天疱疮的发病中有重要作用。现就天疱疮发病机制的研究进展作一综述。

1 天疱疮抗原

已明确天疱疮抗原为桥粒中的桥粒芯糖蛋白(Desmoglein, Dsg),基因位于18q12.1上,属于粘附分子中钙粘素(Cadherin)超家族成员,寻常性天疱疮抗原为Dsg3,分子量130×10^3,主要在基底层和棘层表达;落叶性天疱疮抗原为Dsg1,分子量160×10^3,分布于颗粒层至基底层上的大部分表皮,从表皮基底层起往上Dsg1合成逐渐增多,主要在颗粒层优势表达[1,2]。

Dsg3有5个细胞外功能区(表位,EC),EC-1位于氨基端,EC-5位于羧基端,EC1-2、EC3-4与抗寻常型天疱疮(Pemphigus vulgaris, PV)抗体有高度亲和力,为"致病性表位",相应抗体则称为"致病性抗体"。被动转移试验发现与PV有关的致病表位主要在EC1-2,抗PVA抗体中与PV发病联系最密切的是抗EC1-2抗体,用抗重组EC1-2蛋白抗体阳性的患者血清转移至新生鼠可引起镜下水疱发生,呈典型的PV组织学改变,因此,抗EC1-2表位抗体的检测对寻常性天疱疮的诊断、治疗和预后最有意义[3]。PV患者血清均与Dsg3发生反应,Dsg3的分子天然立体构象对激发自身免疫性大疱性疾病很重要,重组蛋白基因突变研究表明,Dsg3细胞外结构中信号肽的存在对其构型抗原表位的形成是必需的,而信号肽的存在依赖于较高的钙离子浓度,低钙浓度时Dsg3表达降低或不表达[4]。DSG3基因敲除小鼠DSG3-/-较DSG3+/-或+/+小鼠发育迟缓,皮肤病理检查可见明显寻常性天疱疮的组织学改变如结痂、基层上松解、水疱形成,电镜可见桥粒松解,还可见无毛现象,证明DSG3在深层鳞状上皮粘附中起重要作用,而天疱疮抗体可能直接干扰这种作用而导致细胞间粘附丧失[5]。用DJM-1细胞(一种人鳞状上皮细胞癌系)与寻常性天疱疮IgG共同孵育后,分别用抗Dsg1、抗Dsg3、抗plakoglobin(盘状球蛋白,γ-Cadherin)抗体做免疫印迹和抗体荧光染色,发现Dsg3在孵育20 min后已被大量耗竭,30 h后几乎已消失,这种情况不见于其余桥粒分子,抗体荧光染色也发现桥粒中的Dsg3被耗竭,以上结果提示新的大疱形成假说:即天疱疮IgG诱导了异常桥粒的产生,这种桥粒缺乏Dsg3[6]。

2 天疱疮"临床漂移"现象

寻常性天疱疮抗原主要为Dsg3,血清中以存在致病性的抗Dsg3自身抗体(主要为IgG4)为特征,但在某些病例可同时检测出抗Dsg1的自身抗体。研究显示天疱疮的临床表型与Dsg自身抗体表型间有明显的相关性:仅限于粘膜病变的寻常性天疱疮患者血清中抗体表型为抗Dsg3+/抗Dsg1-,而抗Dsg3+/抗Dsg1+的患者除粘膜损害外,还可见皮肤损害。严重的粘膜-皮肤损害仅见于抗Dsg3+/抗Dsg1+的患者,提示抗Dsg1抗体的存在可能与天疱疮疾病的严重程度相关。

Amagai等[7]用EIISA法检测分析Dsg1和Dsg3融合蛋白,发现天疱疮的临床表型由患者血清中的抗Dsg抗体表型决定,提出天疱疮的"临床漂移(Clinic shift)"现象,证明EIISA检测针对杆状病毒融合蛋白Dsg3和Dsg1的抗体在寻常性天疱疮和落叶性天疱疮的鉴别中有重要意义,即以粘膜损害为主的寻常性天疱疮患者血清抗体表型为抗Dsg1(-)Dsg3(+),而粘膜皮肤损害均存在的患者血清抗体表型则为抗Dsg1(+)Dsg3(+),而且,若患者血清中新出现抗Dsg1(+)则皮损由粘膜发展至全身;落叶性天疱疮患者血清抗体表型为抗Dsg1(+)Dsg3(-),上述结果提示检测天疱疮血清中抗Dsg抗体表型对临床诊断、分型及预后判断均有帮助[8]。

3 蛋白酶与天疱疮

天疱疮发病中棘细胞的松解与蛋白酶(如纤溶酶原激活剂,PA)有关,患者血清及水疱疱液中蛋白酶总的分解活性明显上升,而总的抗胰蛋白酶活性明显下降,纤溶酶原激活剂是一种丝氨酸蛋白酶,可催化纤溶酶原转化为纤溶酶,引发系列蛋白水解过程,影响细胞间的粘附从而引起棘细胞松解[9]。角质形成细胞能合成两类PA:tPA(组织型)和uPA(尿激酶型),tPA蛋白主要分布于表皮基底上层细胞,研究显示tPA与角质形成细胞(Keratino cyte, KC)分化密切相关,在天疱疮未受损皮肤检测不到tPA蛋白与mRNA的表达,但在受损皮肤中其蛋白及mRNA表达异常增高,在寻常性天疱疮皮损的表皮再生中亦呈显著高表达。uPA有水解桥粒细胞外表位蛋白的作用,体外培养角质形成细胞中加入天疱疮自身抗体和重组Dsg3蛋白可引起uPA及其受体表达增高,天疱疮抗体单独可导致Dsg3中丝氨酸磷酸化以及与桥粒分离造成桥粒功能受损。uPA在寻常性天疱疮中表达增高,在皮肤器官培养模型中发现这种高表达可能是被天疱疮抗体所诱导,进一步促进天疱疮抗体引起的棘层松解,加入抗uPA的单克隆抗体可有效地抑制天疱疮抗体引

作者简介:王 鹰(1977-),女,四川省都江堰市人,硕士研究生,医师,主要从事自身性皮肤病方面的研究。电话:(023)68754491

收稿日期:2002-06-20;修回日期:2003-01-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

起的棘层松解[10,11]。Mahoney[12]和 Asano 等[13]发现将天疱疮抗体被动转移至 uPA 基因敲除的新生鼠体内,在基因敲除组和健康对照组均产生肉眼可见大疱及镜下棘层松解,两组结果无明显差异,在 tPA 基因敲除鼠中进行相同实验也显示类似结果,为排除两种 PA 互相弥补功能的可能,同时将天疱疮自身抗体导入 uPA、tPA 基因敲除鼠中,组织病理结果显示其大疱产生的部位与程度与健康对照组没有明显差异,证明 PA 在抗体诱导大疱的产生中并不是必需的,其作用可能是在天疱疮抗体与自身抗原结合后表达增高,参与并促进角质形成细胞周围的蛋白溶解过程,加重棘层松解。

4 天疱疮与细胞免疫

天疱疮自身抗体的致病性已通过直接和间接实验证实,但研究显示天疱疮患者外观正常皮肤也有表皮细胞间 IgG 沉积,皮损处有较多单一核细胞浸润,局部细胞因子水平增高,推测细胞免疫也参与了天疱疮的发病,近几年研究重点已逐渐转向研究细胞免疫在天疱疮发病中的作用,随着免疫学技术和分子生物学技术的发展,体内和体外研究均显示天疱疮发病中同时存在细胞免疫和体液免疫紊乱。免疫组化研究发现天疱疮皮损处表皮和真皮中 T 细胞、单核-巨噬细胞浸润显著多于周围皮肤,而且活化 T 细胞增多,表皮以单核-巨噬细胞浸润为主,真皮以T 细胞浸润为主,寻常性天疱疮浸润细胞集中于基底层上方,落叶性天疱疮则散布于整个表皮,与其抗原分布基本一致[14]。

用重组蛋白 Dsg1 和 Dsg3 进行体外淋巴细胞增殖实验显示,Dsg1 和 Dsg3 在体外均可刺激天疱疮患者 T 淋巴细胞发生增殖反应。进一步研究表明活动期的 PV 患者皮损中浸润 T 细胞 CD4/ CD8 为 2∶1,其外周血 $CD4^+$T 淋巴细胞对 Dsg3 发生明显增殖反应,并受人主要组织相容性抗原-II(HLA-II)的限制,即具有 HLA-DRB1 *0402 及与其高度同源的 HLA-DRB1 *11 等位基因位点的寻常性天疱疮患者 T 细胞对 Dsg3 发生明显增殖反应,而 HLA-DRB1 *0402 正是寻常性天疱疮与 HLA 最具相关性的基因位点之一[15,16]。Nishifuji[17]和 Lombardi 等[18]用酶联免疫斑点法检测天疱疮患者外周血中 Dsg3 特异的自身敏感性 B 细胞,发现严重患者外周血中自身敏感性 B 细胞能被检测到,但在病情较轻或缓解期患者中则不能检测到,体外用商陆丝裂素和重组 Dsg3 蛋白刺激外周血单个核细胞(PBMC)后再检测,则能在 64%的患者中检测到产生抗 Dsg3 自身抗体的循环性 B 细胞,B 细胞产生自身抗体需要 T 细胞(主要是 $CD4^+$T 细胞)的辅助,当 $CD4^+$T 细胞被耗竭或加入抗 HLA-DR 或抗 HLA-DQ 抗体后抗 Dsg3 抗体的产生将消失,证明 HLA-II 限制性的 $CD4^+$T 细胞在寻常性天疱疮自身抗体的产生中起重要作用。

单核—巨噬细胞及 T 细胞是细胞因子的重要来源,而单核—巨噬细胞和 T 细胞及其分泌的细胞因子是细胞免疫主要的参与者,用免疫组织化学和原位杂交检测 Th1 型细胞因子 IL-2、IFN-γ 和 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-5、IL-13 蛋白及 mRNA,结果表明在寻常性天疱疮患者活检皮肤中以混合的 Th1/ Th2 细胞因子表达为特征,提示细胞因子在天疱疮发病中起了一定作用,参与并介导了炎症细胞的浸润、补体活化、角质形成细胞间粘附的丧失[19]。天疱疮血清中 IL-6、TNF-α 水平显著高于对照组,与皮损数目、面积存在明显相关性,局部疱液中 IL-6、TNF-α 水平高于血清水平,患者经激素治疗后 IL-6、TNF-α、单核-巨噬细胞水平均显著下降,表明 IL-6、TNF-α 水平与天疱疮病情活动程度有关,参与了天疱疮临床表型的生物学转化[20]。

TNF-α 主要由单核细胞和活化的 T 淋巴细胞合成与分泌,TNF-α 能与其受体 TNFRp55 和 TNFRp75 结合而介导自身免疫反应等炎症,正常人皮肤不表达 TNF-α,而天疱疮患者皮肤角质形成细胞多可见TNF-α 表达,尤其是水疱周围角质形成细胞表达更为增高,因此,推测 TNF-α 在天疱疮角质形成细胞的凋亡、水疱形成可能起一定的作用[20]。TNF-α 和 INF-γ 等细胞因子可诱导巨噬细胞高表达诱生型一氧化氮酶(iNOS),产生一氧化氮(iNO)促进单核细胞产生 TNF-α,发挥直接胞毒作用,加剧炎症,地塞米松可抑制 TNF-α 和 INF-γ 的诱导作用而减轻炎症[21]。

INF-γ 是免疫系统细胞据以互相联系的化学信号之一,作为一种重要的生物反应调节剂,IFN-γ 具有广泛的生物学效应,近年来研究发现 IFN-γ 可诱导角质形成细胞(KC)表达主要组织相容性抗原-Ⅱ(MHC-Ⅱ)类分子及细胞间粘附分子(ICAM-1)。正常人 KC 在体外受 IFN-γ 刺激后,表面明显地表达 HLA-DR 抗原。IFN-γ 诱导 MHC-Ⅱ类分子表达是时间依赖和剂量依赖的,也是 IFN-γ 本身依赖性的。IL-2 主要由活化的 $CD4^+$T 细胞产生,通过自分泌方式促进 T 细胞生长和 B 细胞分化与增殖、诱导多种细胞因子的产生及其受体的表达,研究表明天疱疮患者疱液中 IL-2 和 sIL-2 受体(T 细胞激活标志)的浓度高于血清中浓度,提示局部有 IL-2 产生,其血清水平与皮损面积和疾病严重程度成正比[22]。

Toto 等[23]在靶基因突变鼠被动转移试验中发现:$CD28^-$鼠较野生鼠($CD28^+$)发生天疱疮有5 倍的敏感性。CD28 分子是 T 细胞活化共刺激信号之一,在诱导 Th2 型细胞因子的表达中起核心作用,CD28-/-鼠皮损中 IL-10mRNA 水平降低,IL-10-/-鼠水疱形成较对照组增加,当 rIL-10 和 PV 抗体共同给予时,病情活动度显著受抑,证明 IL-10 参与了天疱疮发病,并且提示 IL-10 可能有抑制棘层松解的作用。Caproni 等[24]用免疫组化对天疱疮患者皮损中浸润细胞的免疫表型及其分泌细胞因子进行了研究,结果显示,在浸润 T 细胞中以分泌 Th2 型细胞因子的 T 细胞占优势,证明浸润细胞参与了天疱疮的发病,而且 Th2 型细胞在病程早期即有浸润,因此认为 Th2 型细胞可能在天疱疮发病中更为重要。

5 展望

天疱疮确切的发病机制和棘层松解的机制仍未明确,其血清中自身抗体的致棘层松解作用已得到证实,但自身抗体产生的原因和启动因素有待进一步研究。蛋白酶在天疱疮发病中可能起促进和推动作用。目前的研究已初步证明了细胞免疫在辅助自身抗体的产生中有重要作用,因此,深入研究细胞免疫在天疱疮发病中的作用对明确天疱疮发病机制、预防和治疗天疱疮具有重要意义。

关键词:天疱疮;发病机制
中图法分类号:R758.66 文献标识码:A

参考文献:

[1] Cowley C M, Simrak D, Marsden M D, *et al*. A YAC contig joining the desmocollin and desmoglein loci on human chromosome 18 and ordering of the desmocollin genes[J]. Genomics, 1997, 42(2): 208—216.

[2] Hunt D M, Sahota V K, Taylor K, *et al*. Clustered cadherin genes: a sequence-ready contig for the desmosomal cadherin locus on human chromosome 18[J]. Genomics, 1999, 62(3): 445—455.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[3] Amagai M, Hashimoto T, Shimizu N, *et al*. Absorption of pathogenic autoantibodies by the extracelluar domamin of pemphigus vulgaris antigen produced by baculovirus[J]. J Invest, 1994, 94(1): 59—63.

[4] Denning M F, Guy S G, Ellerbroek S M, *et al*. The expression of desmoglein isoforms in cultured human keratinocytes is regulated by calcium, serum and protein kinase C[J]. Exp Cell Res, 1998, 239(1): 50—59.

[5] Koch P J, Mahoney M G, Ishikawa H, *et al*. Targeted disruption of the pemphigus vulgaris antigen (desmoglein 3) gene in mice causes loss of keratinocyte cell adhesion with a phenotype similar to pemphigus vulgaris[J]. J Cell Biol, 1997, 137(5): 1091—1092

[6] Aoyama Y, Kitajima Y. Pemphigus vulgaris-IgG causes a rapid depletion of Dsg3 from the Triton X-100 soluble pools, leading to the formation of Dsg3-Depleted desmosomes in human squamous carcinoma cell line, DJM-1 cells [J]. J Invest Dermatol, 1999, 112(1): 67—71.

[7] Amagai M, Tsunoda K, Zillikens D, *et al*. The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile[J]. J Am Acad Dermatol, 1999, 40(2 pt 1): 167—170.

[8] Miyagawa S, Amagai M, Iida T, *et al*. Late development of antidesmoglein 1 antibodies in pemphigus vulgaris: correlation with disease progression[J]. Br J Dermatol, 1999, 141(6): 1084—1087.

[9] Kitajima Y, Aoyama Y, Seishima M. Transmembrane signaling for adhesive regulation of desmosomes and hemidesmosomes, and for cell-cell datachment induced by pemphigus IgG in cultured keratinocytes: involvement of protein kinase C[J]. J Invest Dermatol Symp Proc, 1999, 4(2): 137—144.

[10] Ishikawa H, Li K, Tamai K, *et al*. Cloning of the mouse desmoglein 3 gene (Dsg3): interspecies conservation within the cadherin superfamily[J]. Exp Dermatol, 2000, 9(4): 229—239.

[11] Xue W, Hashimoto K, Toi Y. Functional involvement of urokinase-type plasminogen activator receptor in pemphigus acantholysis[J]. J Cutan Pathol, 1998, 25(9): 469—474.

[12] Mahoney M G, Wang Z H, Stanley J R. Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus antibodies are pathogenic in plasminogen activator knockout mice[J]. J Invest Dermatol, 1999, 113(1): 22—25.

[13] Asano S, Seishima M, Kitajima Y. Phosphatidylinositol specific phospholipase C cleaves urokinase plasminogen activator receptor from the cell surface and leads to inhibition of pemphigus-IgG-induced acantholysis in DJM-1 cells, a squamous cell carcinoma line[J]. Clin Exp Dermatol, 2001, 26(3): 289—95.

[14] Zillikens D, Rady P L, Goldblum R M, *et al*. Evidence for cell-mediated immune mechanisms in the pathology of pemphigus[J]. Br J Dermatol, 1993, 128(6): 636—643.

[15] Lin M S, Swartz S J, Lopez A, *et al*. T lymphocytes from a subset of patients with pemphigus vulgaris respond to both Dsg3 and Dsg1[J]. J Invest Dermatol, 1997, 109(6): 734—737.

[16] Rico M J, Benning C, Weingart E S, *et al*. Characterization of skin cytokines in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris[J]. Br J Dermatol, 1999, 140(6): 1079—1086.

[17] Nishifuji K, Amagai M, Kuwana M, *et al*. Detection of antigen-specific B cells in patients with pemphigus vulgaris by enzyme-linked immunospot assay: requirement of T cell collaboration for autoantibody production[J]. J Invest Dermatol, 2000, 114(1): 88—94.

[18] Lombardi M L, Mercuro O, Ruocco V, *et al*. Common human leukocyte antigen alleles in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus Italian patients[J]. J Invest Dermatol, 1999, 113(1): 107—110.

[19] Lopez-Robles E, Avalos-Diaz E, Vega-Memije E, *et al*. TNFalpha and IL-6 are mediators in the blistering process of pemphigus[J]. Int J Dermatol, 2001, 40(3): 185—188.

[20] D'Auria L, Bonifati C, Mussi A, *et al*. Cytokines in the sera of patients with pemphigus vulgaris: interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha levels are significantly increased as compared to healthy subjects and correlate with disease activity[J]. Eur Cytokine Netw, 1997, 8(4): 383—387.

[21] Barber A E, Coyle S M, Maano M A, *et al*. Glucocorticoid therapy alters hormonal and cytokine responses to endotoxin in man[J]. J Immunol, 1993, 150(3): 1999—2002.

[22] Smith D A, Germolec D R. Introduction to immunology and autoimmunity [J]. Environ Health Perspect, 1999, 107(5): 661—665.

[23] Toto P, Feliciani C, Amerio P, *et al*. Immune modulation in pemphigus vulgaris: role of CD28 and IL-10[J]. J Immunol, 2000, 164(1): 522—529.

[24] Caproni M, Giomi B, Cardinali C, *et al*. Further support for a role for Th2-like cytokines in blister formation of pemphigus[J]. Clin Immunol, 2001, 98(2): 264—271.

（编辑　王　红）

（上接 2054 页）

心、呕吐、纳差、尿黄、厌油、腹胀、肝区疼痛、皮肤黄疸、脾肿大等, 谷丙转氨酶均异常, 所有患者血清抗-HAV IgM 为阳性。

免疫接种史: 58 名患者近 5 年均未接种甲型病毒肝炎疫苗。

供水系统和饮食卫生调查: 该校共用同一供水系统的街道居民均无发病。而该校 3 个食堂卫生条件差, 有共用餐具现象。学生生活卫生习惯也较差, 有相互夹菜吃的现象。该校食堂和副食摊点从业人员肝功无异常。首发病例有外出就餐史, 患甲肝后仅住院 3 d 即回校学习, 并在校就餐。

预防控制措施: 从发现首例患者时, 本站人员即行现场督导, 隔离患者。全校师生连服中草药(板蓝根和金钱草)液 3 d, 对 525 名密切接触者注射丙种球蛋白, 每人 3 ml, 责令校方立即整改食堂卫生, 利用灭毒威对学生餐具、寝室、教室、厕所、办公室及外环境进行常规消毒。此疫点, 从接到疫情报告之日起, 经过甲肝最长潜伏期的医学观察, 未出现新病例。

3　讨论

本研究从临床表现和免疫学检测证实为甲型病毒性肝炎暴发, 从 5 月 29 日首次发现疫情至疫情控制共计 35 d, 介于甲型病毒性肝炎潜伏期内, 而从暴发曲线看, 此次暴发主要发生在 4～6 月, 高峰在 5 月, 与同源暴发相符。其暴发原因可排除经水源污染。个案调查发现未治愈的甲肝学生在校就餐, 发病者有同餐史, 非同餐者不发病, 停止供该污染食物后, 暴发得到平息。而该校师生免疫力普遍低下, 引起了此次食物传播的甲肝暴发。其原因是对首发患者未采取严格的隔离措施, 致使疫情蔓延。故各级部门应高度重视学校卫生安全工作, 加强学校卫生监督, 应加强学生预防接种工作。而采取以治愈患者为主的综合性防治措施是预防甲肝经食物传播的良策, 其中搞好学校食堂卫生是避免暴发的关键。

关键词: 甲型病毒性肝炎; 暴发; 食物传播; 消毒
中图法分类号: R512.61　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 彭文伟. 传染病学[M]. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 39—40

（编辑　陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net