

## 寻常型天疱疮患者血清 HSV, CMV 和 EBV 抗体 IgG 检测的临床意义\*

黄芳<sup>a</sup>, 薛丽<sup>a</sup>, 冯义国<sup>b</sup>, 宋琳岚<sup>a</sup>, 耿燕<sup>a</sup>

(西安交通大学第二附属医院 a. 检验科; b. 皮肤科, 西安 710004)

**摘要:**目的 通过评价和比较在寻常型天疱疮患者和健康人抗单纯疱疹病毒 1 型和 2 型 (HSV1 和 HSV2), 抗巨细胞病毒 (CMV) 和抗 EB 病毒 (EBV) 抗体 IgG 的水平, 研究病毒特别是疱疹病毒在寻常型天疱疮中的意义。方法 23 例寻常型天疱疮和 26 例健康人组成的实验组和对照组, 分别从两组中取血清样品, 使用 ELISA 方法检测抗 HSV1, 抗 HSV2, 抗 CMV 和抗 EBV 的抗体 IgG 水平。结果 与对照组相比, 患者组中的抗四种病毒的抗体 IgG 水平均有较高表达, 而抗 EBV, 抗 CMV 和抗 HSV2, 差异有统计学意义 ( $t=2.16, P<0.05$ ;  $t=4.76, P<0.01$ ;  $t=3.75, P<0.01$ )。而在抗 HSV1 差异无统计学意义 ( $t=0.52, P>0.05$ )。结论 在该研究中, 排除遗传学、毒素等其它因素的影响外, EBV, CMV 和 HSV2 病毒可能在天疱疮的发病机理中起作用。HSV1 和寻常型天疱疮之间没有观察到有统计学差异, 在这方面需要进行更多的研究。

**关键词:** 单纯疱疹病毒; 巨细胞病毒; EB 病毒; 免疫球蛋白 G; 寻常型天疱疮

中图分类号: R758.66; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)04-122-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.035

## Clinical Significance of the Levels of IgG Antibodies Against HSV, CMV and EBV in Patients' Serum with Pemphigus Vulgaris

HUANG Fang<sup>a</sup>, XUE Li<sup>a</sup>, FENG Yi-guo<sup>b</sup>, SONG Lin-lan<sup>a</sup>, GENG Yan<sup>a</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Dermatology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

**Abstract:** **Objective** To regard the implication of viruses particularly herpes in pemphigus vulgaris, and assess and compare the level of immunoglobulin G (IgG) antibodies against herpes simplex virus types 1 and 2 (HSV1 and HSV2), cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV) in patients with pemphigus vulgaris and healthy people. **Methods** In this study, 23 patients with pemphigus vulgaris and 26 healthy individuals comprised the experimental and control groups, respectively. Serum samples were taken from both groups; the levels of IgG antibodies against HSV1, HSV2, CMV and EBV were measured using ELISA. **Results** Immunoglobulin G titer was higher for all four viruses in the patient group in comparison to the control group. This difference was significant for anti-EBV, anti-CMV and anti-HSV2 ( $t=2.16, P<0.05$ ;  $t=4.76, P<0.01$ ;  $t=3.75, P<0.01$ ), respectively, but not significant for anti-HSV1 ( $t=0.52, P>0.05$ ). **Conclusion** Viruses including EBV, CMV, and HSV2 probably play a role in the pathogenesis of pemphigus in addition to the effects of genetics, toxins and other predisposing factors. In this study, no statistically significant relationship was observed between HSV1 and pemphigus vulgaris. More studies must be done in this regard.

**Keywords:** simplexvirus; cytomegalovirus; epstein-barr virus; immunoglobulin G; pemphigus vulgaris

天疱疮是一种慢性、复发性、严重的表皮内棘刺松解性大疱性皮肤病, 是自身免疫性疾病的一种, 其自身抗体主要是针对上皮细胞的表面糖蛋白, 最常见类型是寻常型天疱疮, 主要引起口腔黏膜损伤, 治疗极为困难<sup>[1]</sup>。通常认为自身免疫性疾病是多种因素的结果, 其中内源性(遗传)和外源性是促进性自身免疫性疾病中的主要因素<sup>[2,3]</sup>。外源因素包括病毒和先前的感染, 其可引起自身免疫性疾病的发生和加重, 尤其是疱疹病毒家族<sup>[2,3]</sup>。疱

疹病毒是最重要的人类病原体之一。其突出特征是它们在引起感染的同时, 所发感染具有在宿主中存活并且定期激活的能力<sup>[4]</sup>。各种研究的结果表明, 由这些病毒, 特别是单纯疱疹引起的感染可以增加天疱疮死亡率<sup>[5]</sup>。单纯疱疹病毒 (HSV) 以及巨细胞病毒 (CMV) 可以在天疱疮患者口腔病变发展中发挥重要作用<sup>[6~8]</sup>。人体感染病毒后, 针对病毒的特异性抗体 IgG 在初始感染后一至两周产生, 并在四至八周内增加至最大滴度, 然后降低<sup>[9]</sup>

\* 基金项目: 陕西省卫生厅科研基金 (2012D67)。

作者简介: 黄芳 (1968—), 女, 硕士, 副主任技师, 研究方向: 自身免疫性疾病的检测, Tel: 029-87679344. E-mail: huangfang135720@163.com。

通讯作者: 耿燕, E-mail: wsw87679358@163.com。

并长期存在。考虑到病毒,特别是疱疹病毒在天疱疮中的可能作用,本研究的目的是比较寻常型天疱疮和健康对照者中抗 HSV1,抗 HSV2,抗 CMV 和抗 EBV 的抗体 IgG 水平,从而有助于天疱疮的诊断和治疗。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集西安交通大学第二附属医院皮肤科 2011 年 1 月~2013 年 10 月具有完整信息的寻常型天疱疮(PV)患者 23 例血清样品,同时以 26 例健康对照血清样品进行评价。

23 例寻常型天疱疮(PV)中男性 13 例,女性 10 例,男女构成比(13:10)大致相同,23 例患者中发病年龄 17~65 岁,平均年龄 41.5 岁。病程 2 月~11 年,平均年龄 17.4 个月。同时以 26 例健康体检者作为对照,对照组年龄 17~58 岁,平均年龄 40.2 岁,男性 14 例,女性 12 例。天疱疮患者与健康对照在年龄、性别方面进行统计学检验,两组相比差异无统计学显著性意义( $P>0.05$ )。

1.2 仪器和试剂 采集患者和健康个体静脉血各 3 ml, 3 000 r/min 离心 10 min,留取血清, -20℃ 冰箱保存。采用 ELISA 定量检测血清抗 HSV1 (IgG)和抗 HSV2 (IgG),抗 CMV (IgG),抗 EBV (IgG)含量。ELISA 试剂盒为德国欧蒙公司提供(批号 2014-04-07)。

1.3 方法 本实验采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法。所有标本复溶到室温后进行抗 HSV1 (IgG)和抗 HSV2 (IgG),抗 CMV (IgG),抗 EBV (IgG)四项 ELISA 测试。具体操作严格按照试剂盒说明书进行。450 nm 处读取吸光度 A 值。每项测试以 6 个标准品含量为横坐标, A 值为纵坐标,绘出标准曲线。根据标准曲线得出各个所测标本的 IgG 含量。

1.4 统计学分析 采用 SPSS18.0 软件和独立  $t$  检验用于统计分析,数据表示为均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )。  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果 抗 HSV1 (IgG)、抗 HSV2 (IgG)、抗 CMV (IgG)和抗 EBV (IgG)的平均水平见表 1。

表 1 血清抗 HSV1、抗 HSV2、抗 CMV、抗 EBV IgG 水平( $\bar{x} \pm s$ ,  $\mu\text{g/ml}$ )

项 目	天疱疮组( $n=23$ )	对照组( $n=26$ )	$t$	$P$
抗 HSV1	102.67±43.59	95.11±58.40	0.52	$>0.05$
抗 HSV2	75.82±36.57	41.55±25.81	3.75	$<0.01$
抗 CMV	162.24±43.25	99.22±49.47	4.76	$<0.01$
抗 EBV	121.92±72.03	77.54±71.25	2.16	$<0.05$

寻常型天疱疮组中抗 EBV ( $t=2.16$ ,  $P<0.05$ ),抗 CMV ( $t=4.76$ ,  $P<0.01$ )和抗 HSV2 IgG

的平均水平( $t=3.75$ ,  $P<0.01$ )与健康对照组相比差异有统计学意义,而抗 HSV1 IgG 患者组与健康对照组相比差异无统计学意义( $t=0.52$ ,  $P>0.05$ )。

3 讨论 病毒感染是许多自身免疫性疾病如 1 型糖尿病、类风湿性关节炎、红斑狼疮、多发性硬化症、舍格伦综合征和桥本氏甲状腺炎的触发因素<sup>[10]</sup>。有研究者尝试从天疱疮患者的血液、水泡液和皮肤损伤中分离病毒,但效果并不理想<sup>[11]</sup>。本研究的目的是寻找寻常天疱疮和病毒感染,特别是疱疹类病毒之间是否存在关联。

研究结果表明:相比于健康对照组,抗 EBV IgG 水平在寻常型天疱疮患者中显著升高( $t=2.16$ ,  $P<0.05$ )。与 Tufano 等<sup>[12]</sup>人在 1999 年的研究结果一致,他们分别在 15%的天疱疮外周血涂片和 5%天疱疮皮肤活检中观察到 EBV 的 DNA。与 Barzilai 等<sup>[13]</sup>的研究结果也一致。说明 EBV 参与了寻常型天疱疮的病程。

关于抗 CMV IgG 的水平,研究结果表明:与对照组相比,寻常型天疱疮患者的抗体含量显著增加( $t=4.76$ ,  $P<0.01$ ),与 Barzilai 等<sup>[13]</sup>人的研究结果不同,Barzilai 等人的研究结果显示来自 23 种不同自身免疫疾病(包括寻常型天疱疮)的 1 565 例血清中的抗 CMV 抗体滴度。虽然在几种测试的疾病(包括天疱疮)中观察到抗 CMV 抗体滴度升高,但是仅在系统性红斑狼疮患者中有显著增加。天疱疮中抗 CMV 抗体滴度并未显著升高。与 Tufano 等<sup>[12]</sup>人的结果一致。Tufano 等发现在 10%的天疱疮患者中存在抗 CMV IgM, Kalra 等<sup>[6]</sup>认为 16.6%的寻常型天疱疮患者具有抗 CMV IgM,这均表明 CMV 在天疱疮患者的急性感染中起作用。我们的研究结果也支持他们的发现。因此,可以说在遗传易感个体中 CMV 感染与天疱疮的发作和恶化之间存在一定关联。

以往对 HSV 抗体的研究很少, Tufano 等<sup>[12]</sup>发现在寻常型天疱疮患者 50%的外周血涂片细胞和 71%的皮肤活检中存在 HSV1 和 HSV2 的 DNA。Kurata 等人<sup>[8]</sup>证实寻常型天疱疮患者发病后唾液 HSV DNA 的存在。

本研究对抗 HSV1 抗体的研究结果表明,与对照组相比,寻常型天疱疮患者的抗 HSV1 抗体水平增加,但这种差异不显著( $t=0.52$ ,  $P>0.05$ ),寻常型天疱疮患者的抗 HSV2 抗体滴度显著升高( $t=2.16$ ,  $P<0.01$ )。即 HSV2 感染可能在天疱疮的发作和恶化中起作用。此研究结果与 Tufano 和 Kurata 的研究结果一致<sup>[12,13]</sup>。

综上所述,排除遗传学、毒素等其它因素的影

响外,EBV,CMV 和 HSV2 病毒可能在天疱疮的发病机理中起作用。HSV1 和寻常型天疱疮之间没有观察到有统计学差异,在这方面需要进行更多的研究。由于疱疹病毒家族对天疱疮的皮肤病患者具有潜在风险,因此须尽早发现这些患者的感染症状,并采用最有效的抗病毒治疗来治愈他们。

#### 参考文献:

- [1] Greenberg M, Glick M, Ship J. Burket's oral medicine[M]. 11th Ed, BC, Decker Inc Hamilton Ontario, 2008:62-70.
- [2] Sagi L, Sherer Y, Trau H, et al. Pemphigus and infectious agents[J]. Autoimmun Rev, 2008, 8(1):33-35.
- [3] 王 莲, 卿 勇, 李 薇. 病毒感染与天疱疮关系的研究进展[J]. 华西医学, 2016, 31(9):1623-1626.  
Wang L, Qing Y, Li W. Advances in research on the relationship between viral infection and pemphigus [J]. West China Medical Journal, 2016, 31(9):1623-1626.
- [4] Godhardt-Cooper JA, Zoromski J, Toohey-Kurth K. Evaluation of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of bovine herpesvirus 1[J]. J Vet Diagn Invest, 2009, 21(4):523-526.
- [5] Ogilvie MM, Kessler M, Leppard BJ, et al. Herpes simplex infections in pemphigus; an indication for urgent viral studies and specific antiviral therapy[J]. Br J Dermatol, 1983, 109(5):611-613.
- [6] Kalra A, Ratho RK, Kaur I, et al. Role of herpes simplex and cytomegalo viruses in recalcitrant oral lesions of pemphigus vulgaris[J]. Int J Dermatol, 2005, 44(3):259-260.
- [7] Kalajian AH, Callen JP. Atypical herpes simplex infection masquerading as recalcitrant pemphigus vulgaris[J]. Australas J Dermatol, 2007, 48(4):242-247.
- [8] Kurata M, Mizukawa Y, Aoyama Y, et al. Herpes simplex virus reactivation as a trigger of mucous lesions in pemphigus vulgaris[J]. Br J Dermatol, 2014, 171(3):554-560.
- [9] Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology[M]. 7th Ed. USA: Philadelphia PA Elsevier Saunders, 2012:245-246.
- [10] Takahashi I, Kobayashi TK, Suzuki H, et al. Coexistence of pemphigus vulgaris and herpes simplex virus infection in oral mucosa diagnosed by cytology, immunohistochemistry, and polymerase chain reaction[J]. Diagn Cytopathol, 1998, 19(6):446-450.
- [11] Grunwald MH, Katz I, Friedman-Birnbaum R. Association of pemphigus vulgaris and herpes simplex virus infection[J]. Int J Dermatol, 1986, 25(6):392-393.
- [12] Tufano MA, Baroni A, Buommino E, et al. Detection of herpesvirus DNA in peripheral blood mononuclear cells and skin lesions of patients with pemphigus by polymerase chain reaction[J]. Br J Dermatol, 1999, 141(6):1033-1039.
- [13] Barzilai O, Sherer Y, Ram M, et al. Epstein-barr virus and cytomegalovirus in autoimmune diseases: are they truly notorious? A preliminary report[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1108:567-577.

收稿日期:2017-03-01

修回日期:2017-03-18

(上接 121 页)

- [4] Wu Y, Lin W, Hao H, et al. Nanofibrous scaffold from electrospinning biodegradable waterborne polyurethane/poly(vinyl alcohol) for tissue engineering application[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2017, 28(7):648-663.
- [5] Deng Y, Yang Y, Wei S. Peptide-decorated nanofibrous niche augments in vitro directed osteogenic conversion of human pluripotent stem cells[J]. Biomacromolecules, 2017, 18(2):587-598.
- [6] 李红霞, 国汉邦, 周伟燕, 等. 血清高、低密度脂蛋白胆固醇标准物质的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(4):10-13.  
Li HX, Guo HB, Zhou WY, et al. Preparation of serum reference materials for high- and low- density lipoprotein cholesterol[J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(4):10-13.
- [7] Chang SH, Lin HT, Wu GJ, et al. pH effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 134:74-81.
- [8] Ma J, Xin C, Tan CJ. Preparation, physicochemical and pharmaceutical characterization of chitosan from Catharsius molossus residue[J]. International Journal of Biological Macromolecule, 2015, 80:547-556.
- [9] Pradhan C, Dash S, Swain SK, et al. Barrier properties of nano silicon carbide designed chitosan nanocomposites[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 134:60-65.
- [10] Hassani S, Laouini A, Fessi H, et al. Preparation of chitosan-TPP nanoparticles using microengineered membranes-effect of parameters and encapsulation of tacrine[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2015, 482(5):34-43.
- [11] Jiang P, Li D, Xiao Y, et al. Preparation and characterization of chitosan-based core-shell microcapsules containing clove oil [J]. J Nanosci Nanotechnol, 2015, 15(1):600-605.
- [12] Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, et al. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications[J]. Progress in Polymer Science, 2011, 36(8):981-1014.

收稿日期:2017-04-19

修回日期:2017-05-29