

## · 综述 ·

## 特应性斑贴试验的临床应用

尹志强 张美华 毕志刚

**摘要** 对特应性斑贴试验的临床研究发现,特应性斑贴试验在特应性皮炎变应原的诊断、发病机理的探讨以及治疗和预防效果的评估方面均表现出较高的临床价值。目前临床应用特应性斑贴试验时亟待解决的问题是其方法学的标准化。

**关键词** 斑片试验

特应性皮炎的病因比较复杂,一般认为除了遗传因素,变应原常是主要的致病因素,患者可以因吸入、食入或接触各种变应原而诱发皮肤的过敏反应,故斑贴试验也被应用于特应性皮炎的诊断及研究。近年来,国外特应性斑贴试验(atopy patch test, APT)在临床应用比较广泛,现综述如下。

## 一、特应性皮炎变应原与 APT

早在 1982 年, Mitchell 等就报道了特应性皮炎患者的吸入性抗原斑贴试验结果,发现一定比例的患者在其斑贴部位出现湿疹样皮损<sup>[1]</sup>,提示 APT 对特应性皮炎变应原的诊断可能有一定帮助。Darsow 等在对吸入性变应原 APT 的临床研究中,在 243 例成人特应性皮炎患者背部正常皮肤上用屋尘螨、猫皮屑、草花粉和在 88 例患者背部用桦树花粉和艾蒿花粉作斑贴试验,每种变应原均有 3 000、5 000、7 000 和 10 000 蛋白氮单位/克(PNU/g) 4 种浓度,在斑贴后 48 h 和 72 h 观察反应;同时对所有受试者进行同样变应原的皮肤点刺试验(SPT)和放射变应原吸附试验(RAST),后者用于检测血清特异性 IgE;斑贴后 48 h 屋尘螨、猫皮屑、草花粉、桦树花粉和艾蒿花粉的阳性率分别为 44%、15%、23.8%、16.7% 和 5%;斑贴后 48 h 和 72 h 的观察结果有 87%~100% 的一致性;结合患者既往接触上述吸入性变应原病情加重的病史,统计分析显示屋尘螨、猫皮屑和草花粉变应原各自的 APT、SPT 和 RAST 结果均与临床病史有显著相关性( $P < 0.001$ );

同时 APT 与 SPT 和 RAST 比较有更高的特异性,斑贴后 48 h APT 特异性为 69%~92%, SPT 为 44%~53%, RAST 为 42%~64%;桦树花粉和艾蒿花粉变应原 APT 结果与患者病史无显著相关性,可能与样本量较小有关<sup>[2]</sup>。可见,与传统的 SPT 和 RAST 方法相比, APT 在特应性皮炎吸入性变应原诊断方面具有更高的临床价值。

Turjanmaa<sup>[3]</sup>对特应性皮炎食人性变应原的研究指出,大约有 18% 的 2 岁以内的婴幼儿患有特应性皮炎,其主要原因就是对各种食物的过敏;虽然有证据表明特应性皮炎的发病与 IgE 介导的对牛奶、鸡蛋或花生的过敏有紧密的联系,但超过三分之二的患者无法找到与过敏食物蛋白相关特异性 IgE 的证据;在 SPT 和特异性 IgE 检测结果都为阴性时, APT 体现出较高的诊断价值;多过敏原的患儿可通过 APT 获得可疑食人性变应原的信息,然后设法减少过敏食物的摄入以减轻皮肤和胃肠道症状。Roehrer 等<sup>[4]</sup>对 98 例儿童特应性皮炎患者(平均年龄 13 个月)的临床试验结果显示,牛奶、鸡蛋和小麦抗原的 APT 结果与相应变应原的 SPT 及特异性 IgE 检测结果相比较,特异性均最高,分别为 96%、93% 和 94%;3 种变应原 APT 的阳性预测值也最高,分别为 95%、94% 和 94%;联合阳性 APT 结果和特异性 IgE 水平测定(牛奶 $\geq 0.35$  kU/L;鸡蛋 $\geq 17.5$  kU/L)可减少食物激发试验的应用。Niggemann<sup>[5]</sup>的研究也得出类似结论。一些感染性变应原如糠秕马拉色菌对特应性皮炎发病的影响也可以通过 APT 来检测。Tengvall-Linder 等在 15 例特应性皮炎患者、8 例脂溢性皮炎患者和 8 例健康者的背部用糠秕马拉色菌抗原作斑贴试验,生理盐水为阴性对照组,分别在斑贴后 24、48 和 72 h 观察结果;斑贴后 24 h 和 72 h

作者单位:210029 南京医科大学第一附属医院皮肤科

本文主要缩写: APT: 特应性斑贴试验, SPT: 皮肤点刺试验, RAST: 放射变应原吸附试验, FcεR I: IgE 高亲和力 Fc 受体, LC: 朗格汉斯细胞, LLDC: 朗格汉斯细胞样树枝状细胞, PBMC: 周围血单个核细胞

在糠秕马拉色菌斑贴部位活检取材,生理盐水斑贴部位活检取材是在斑贴后 72 h,特应性皮炎患者的皮损部位也作活检,然后进行免疫组化分析;同时用 RAST 检测所有受试者的血清特异性 IgE;结果显示 13/15 的特应性皮炎患者血清糠秕马拉色菌特异性 IgE 阳性,其中 8 例观察到糠秕马拉色菌抗原 APT 阳性反应;在斑贴后 48 h APT 阳性率最高;脂溢性皮炎患者组和健康组与糠秕马拉色菌相关的 RAST 和斑贴试验结果都为阴性,同时在 APT 阳性的特应性皮炎患者的糠秕马拉色菌斑贴部位活检观察到 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞和嗜酸粒细胞的浸润以及细胞间黏附分子 1 和 HLA-DR 表达的增加;研究提示糠秕马拉色菌可能是特应性皮炎的一个重要致病因素,其抗原的 APT 具有一定的临床诊断价值<sup>[6,7]</sup>。

## 二、特应性皮炎发病机理与 APT

特应性皮炎的皮损表现为湿疹样病变,有作者用屋尘螨、花粉、真菌及食物等的抗原进行斑贴试验,有一定比例的阳性反应,同时这些变应原的吸入、接触或食入可使皮疹恶化,因此考虑特应性皮炎的发病机理可能与针对这些变应原的免疫反应有关。

Okada 等应用抗 IgE 高亲和力 Fc 受体 (FcεR I) 的单克隆抗体进行免疫荧光染色,在特应性皮炎皮损表皮观察到较多 IgE (+) 朗格汉斯细胞 (LC),且特应性皮炎患者无皮损部位亦观察到 IgE (+) LC,两者差异无显著性,而健康对照组正常皮肤未观察到 IgE (+) LC<sup>[8]</sup>。Ring 等报道指出特应性皮炎皮损表皮 LC 表面 FcεR I 的表达,与其他炎症性皮肤病包括变态反应性接触性皮炎相比较明显增多,IgE 介导的变态反应同特应性皮炎发病的关系可通过 APT 来评估<sup>[9]</sup>。Langeveld-Wildschut 等分别在 10 个 APT 反应阳性和 10 个 APT 反应阴性的特应性皮炎患者的屋尘螨抗原斑贴部位及无皮损部位活组织检查,并在 10 例过敏性鼻炎或哮喘患者和 10 例健康志愿者的正常皮肤活检取材,进行免疫组化分析发现,特应性皮炎患者的 APT 阴性斑贴部位与无皮损部位的免疫组化相似,APT 反应阳性和 APT 反应阴性的特应性皮炎患者的无皮损部位的临床特征、浸润细胞组成及变应原特异性 T 细胞差异均无显著性,但在 APT 阳性患者的无皮损部位观察到较多 IgE (+) LC 的存在<sup>[10]</sup>。研究表明 IgE 介导的变态反应是特应性皮炎的重要发病机制,同时提

示 APT 可用来建立特应性皮炎发病的模型,有助于深入研究特应性皮炎的发病机制。

Junghans 等用屋尘螨抗原斑贴试验建立模型来观察特应性皮炎患者表皮细胞因子 IL-1β、TNF-α 和 IL-12 的变化,研究发现 IL-1β mRNA 的表达可能是屋尘螨抗原斑贴试验反应阳性的前兆性标志<sup>[11]</sup>。提示表皮细胞因子 IL-1β 可能是特应性皮炎发病机理中的一个重要环节。

Reich 等<sup>[12]</sup>在报道中指出,表皮 LC 通过结合在 FcεR I 上的变应原特异性 IgE 摄取相关变应原是诱导特应性皮炎皮肤炎症的一个重要机制;在体外试验中,用兔抗人 IgE 多克隆抗体交叉结合朗格汉斯细胞样树枝状细胞 (LLDC) 表面 IgE,刺激 LLDC 活化,发现特应性皮炎患者的 LLDC 分泌 IL-16 增加,IL-16 是树枝状细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞和嗜酸粒细胞的诱导因子;用 APT 建立一个 IgE 依赖性 LC 活化的体内模型,发现 APT 阳性特应性皮炎患者表皮树枝状细胞分泌 IL-16 增加;提示特应性皮炎发病时,变应原与表皮 LC 表面 FcεR I 上的特异性 IgE 相结合,从而使 LC 活化分泌 IL-16,诱导细胞炎症反应的发生。

Johansson 等对 40 例特应性皮炎患者和 16 例健康受试者进行糠秕马拉色菌抗原的 SPT 和斑贴试验,同时检测血清特异性 IgE、周围血单个核细胞 (PBMC) 增殖反应、循环特异性 T 细胞及各类细胞因子,结果显示 24 例特应性皮炎患者 SPT 阳性,在这些患者中又有 12 例 APT 阳性,18 例特异性 IgE 阳性,APT 和特异性 IgE 同时阳性的有 10 例,健康对照组无任何阳性发现;研究发现 SPT 阳性患者的 PBMC 增殖反应显著强于健康对照组,而 APT 阳性患者 PBMC 增殖反应显著强于 APT 阴性/SPT 阳性患者;进一步研究发现,周围血 Th2 细胞相关性细胞因子如 IL-4、IL-5 和 IL-13 的水平与 PBMC 增殖反应有相关性,而 Th1 细胞相关的 IFN-γ 与 PBMC 增殖反应无相关性;研究表明循环特异性 T 细胞及 Th2 细胞相关细胞因子与阳性 APT 反应有关联<sup>[13]</sup>。提示 Th2 细胞及其分泌的细胞因子在特应性皮炎的发病机理中起重要作用。

Sutas 等报道,对有食物过敏史的特应性皮炎患者进行牛奶、鸡蛋、大豆和谷子的 SPT 和 APT,然后进行双盲、安慰剂对照的食物激发试验,在试验前和试验后分别测定血清各类细胞因子浓度,发现食物激发试验表现为迟发型湿疹样反应的患者,其相对

应的过敏食物的 APT 阳性率和 SPT 阴性率显著高于速发型发疹反应患者,而迟发型患者的血清 IL-10 浓度比速发型患者低,研究者认为 IL-10 是迟发型超敏反应的抑制性细胞因子,血清 IL-10 浓度较低的特应性皮炎患者发生 APT 阳性反应的可能性更大<sup>[14]</sup>。

### 三、特应性皮炎治疗及预防与 APT

一般认为,特应性皮炎患者的表皮完整性存在一定程度的缺陷,因此可以通过增强皮肤屏障功能来有效地防止特应性皮炎的复发或恶化。近年来有研究用 APT 建立特应性皮炎起始发病阶段的模型,来评估一些预处理的效果。Billmann-Eberwein 等<sup>[15]</sup>将一种富含脂肪酸的软化剂预处理 38 例特应性皮炎患者的 APT 部位,发现斑贴部位经该软化剂预处理后,与同一患者未经预处理的对照斑贴部位比较,能防止或减弱皮损的发展。Langeveld-Wildschut 等<sup>[16]</sup>分别用 0.1% 丙酮曲安奈德、10% 焦油和鲸聚乙二醇软膏(前两者的基质)对 6 个特应性皮炎患者背部不同部位外搽 3 周,然后在预处理部位进行吸入性变应原的 APT,在斑贴前以及斑贴后 24 h 对所有部位活检取材作免疫组化分析,结果发现与基质对照作比较,皮质类固醇和焦油预处理能减轻肉眼可见的 APT 反应,免疫组化显示变态反应性炎症细胞显著减少,研究表明 APT 可以用来评价特应性皮炎患者局部抗炎治疗的效果。

### 四、APT 临床应用时亟待解决的问题

与应用于接触性皮炎的标准化斑贴试验相比,APT 的方法学在国际上尚未标准化,包括变应原试剂的浓度、最适宜的斑贴部位以及结果观察时间的选择等,常产生不同的试验结果。Heinemann 等<sup>[17]</sup>分别用来自两个供给商的猫上皮屑、屋尘螨和草花粉变应原,对 52 例特应性皮炎患者行 APT,第 1 次斑贴在受试者背部无皮损处,4~12 周后将同样的变应原斑贴到受试者的前臂;结果显示两个供给商所提供抗原的 2 次试验阳性结果重复率均较低,最高仅为 56.3%;两个不同供给商提供的同种抗原,其 APT 结果的一致性不满意。国外较多学者选择斑贴后 48 h 观察 APT 结果,但也有人选择不同的观察时间,在一定程度上造成了试验结果的差异性。Nedorost 等<sup>[18]</sup>认为斑贴后需持续观察 7 d 以区别变态反应和刺激性反应,这对特应性皮炎患者来讲非常重要。

### 参 考 文 献

- Mitchell EB, Crow J, Chapman MD, et al. Basophils in allergen-induced patch test sites in atopic dermatitis. *Lancet*, 1982, 1(8264): 127-130.
- Darsow U, Vieluf D, Ring J. Evaluating the relevance of aeroallergen sensitization in atopic eczema with the atopy patch test: a randomized, double-blind multicenter study. *Atopy Patch Test Study Group. J Am Acad Dermatol*, 1999, 40(2 Pt 1):187-193.
- Turjanmaa K. "Atopy patch tests" in the diagnosis of delayed food hypersensitivity. *Allerg Immunol (Paris)*, 2002, 34(3):95-97.
- Roehr CC, Reibel S, Ziegert M, et al. Atopy patch tests, together with determination of specific IgE levels, reduce the need for oral food challenges in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(3):548-553.
- Niggemann B. Atopy patch test (APT)-its role in diagnosis of food allergy in atopic dermatitis. *Indian J Pediatr*, 2002, 69(1):57-59.
- Tengvall Linder M, Johansson C, Scheynius A, et al. Positive atopy patch test reactions to *Pityrosporum orbiculare* in atopic dermatitis patients. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30(1):122-131.
- Fischer B, Yawalkar N, Brander KA, et al. *Coprinus comatus* (shaggy cap) is a potential source of aeroallergen that may provoke atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 1999, 104(4 Pt 1):836-841.
- Okada S, Maeda K, Tanaka Y, et al. Immunoglobulins and their receptors on epidermal Langerhans cells in atopic dermatitis. *J Dermatol*, 1996, 23(4):247-253.
- Ring J, Darsow U, Behrendt H. Atopic eczema and allergy. *Curr Allergy Rep*, 2001, 1(1):39-43.
- Langeveld-Wildschut EG, Bruijnzeel PL, Mudde GC, et al. Clinical and immunologic variables in skin of patients with atopic eczema and either positive or negative atopy patch test reactions. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 105(5):1008-1016.
- Junghans V, Gutgesell C, Jung T, et al. Epidermal cytokines IL-1beta, TNF-alpha, and IL-12 in patients with atopic dermatitis: response to application of house dust mite antigens. *J Invest Dermatol*, 1998, 111(6):1184-1188.
- Reich K, Heine A, Hugo S, et al. Engagement of the Fc epsilon RI stimulates the production of IL-16 in Langerhans cell-like dendritic cells. *J Immunol*, 2001, 167(11):6321-6329.
- Johansson C, Eshaghi H, Linder MT, et al. Positive atopy patch test reaction to *Malassezia furfur* in atopic dermatitis correlates with a T helper 2-like peripheral blood mononuclear cells response. *J Invest Dermatol*, 2002, 118(6):1044-1051.
- Sutas Y, Kekki OM, Isolauri E. Late onset reactions to oral food challenge are linked to low serum interleukin-10 concentrations in patients with atopic dermatitis and food allergy. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30(8):1121-1128.
- Billmann-Eberwein C, Rippke F, Ruzicka T, et al. Modulation of atopy patch test reactions by topical treatment of human skin with a fatty acid-rich emollient. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 2002, 15(2):100-104.
- Langeveld-Wildschut EG, Riedl H, Thepen T, et al. Modulation of the atopy patch test reaction by topical corticosteroids and tar. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 106(4):737-743.
- Heinemann C, Schliemann-Willers S, Kelterer D, et al. The atopy patch test -reproducibility and comparison of different evaluation methods. *Allergy*, 2002, 57(7):641-645.
- Nedorost ST, Cooper KD. The role of patch testing for chemical and protein allergens in atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2001, 1(4):323-328.

(收稿日期:2002-11-12)