

反射式共聚焦显微镜指导白癜风临床治疗范围

侯永庆

湖北中医药大学第一临床学院, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年7月29日; 录用日期: 2023年8月21日; 发布日期: 2023年8月29日

摘要

目的: 研究反射式共聚焦显微镜在白癜风诊疗中的应用。方法: 利用反射式共聚焦显微镜观察171位我院白癜风患者皮损图像特征, 图像中噬黑素细胞及淋巴细胞浸润情况。结果: 进展期白癜风皮损边界及皮损内外多可见炎症浸润, 稳定期白癜风皮损边界及边界外炎症浸润较少, 皮损内未见炎症浸润者较多。对有炎症浸润的皮损区域进行治疗, 稳定期皮损内未见炎症浸润者采用围白斑治疗。结论: 反射式共聚焦激光扫描显微镜在白癜风的治疗方面应用广泛, 能观察白癜风炎症浸润情况并指导白癜风的治疗范围。

关键词

白癜风, 反射式共聚焦显微镜, 治疗

Reflectance Confocal Microscopy Guides the Scope of Clinical Treatment of Vitiligo

Yongqing Hou

The First Clinical College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan Hubei

Received: Jul. 29th, 2023; accepted: Aug. 21st, 2023; published: Aug. 29th, 2023

Abstract

Objective: To study the application of reflectance confocal microscopy in the diagnosis and treatment of vitiligo. **Methods:** Reflectance confocal microscopy was used to observe the features of skin lesions and the infiltration of melanophages and lymphocytes in 171 patients with vitiligo in our hospital. **Results:** Inflammatory infiltration was more common in progressive vitiligo than in stable vitiligo. Inflammatory infiltration was more common in stable vitiligo than in progressive vitiligo. The lesions with inflammatory infiltration were treated, and those without inflammatory infiltration in the stable lesions were treated with perileukoplakia. **Conclusion:** Reflectance confocal laser scanning microscopy is widely used in the treatment of vitiligo, which can observe the

inflammatory infiltration of vitiligo and guide the treatment range of vitiligo.

Keywords

Vitiligo, Reflectance Confocal Microscopy, Therapy

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

白癜风是黑素细胞选择性损失引起的色素减退性疾病，与遗传性、氧化应激、自身免疫等有关[1]，表现为躯干、四肢、头面部的白斑，对患者造成极大的心理负担。在白癜风全球共识会议上将其分为节段型与非节段型，两者在病程、治疗方案及预后方面存在差异。根据白癜风诊疗共识，将其分为快速进展期、缓慢进展期及稳定期，病情处于不同分期情况下，治疗方案亦会有差异。目前的治疗主要包括：糖皮质激素、免疫抑制剂、钙调磷酸酶抑制剂、维生素 D、手术移植[2]、激光治疗、中医治疗及新兴靶向治疗[3]等，在进行药物外涂及激光治疗时，众多学者对其治疗范围的认定不一，治疗效果也各有不同[4]。近年来，在体反射式共聚焦激光显微镜(*in vivo* Reflectance Confocal Microscopy, RCM)作为无创、实时、在体、动态的三维成像技术，成为目前最具前景的无创皮肤影像学方法之一。已经广泛应用于白癜风诊疗过程中，并且其图像特点已在组织病理学上得以证实。本研究通过利用 RCM 图像判断白癜风分期及炎性浸润情况，避免不必要的皮肤活检，指导医师临床治疗，为患者带来便利。

2. 白癜风的诊断方法

目前国内公认的白癜风分期是参考白癜风疾病活动度评分(VIDA)、临床特征、Wood's 灯图像特征及同形反应共同评定的。虽然绝大部分学者均认可该种评定方法，但是其不足之处也较为明显。VIDA 评分受患者主观因素影响，对病程进展情况了解不够以及记忆的偏差，导致 VIDA 评分不够准确；Wood's 灯及皮肤镜等这些方法均由于缺乏客观性和一致性以及在常规临床环境中应用的复杂性而受到限制。近年来人工智能[5]的迅速发展也为白癜风的诊断带来了新气象，但由于其在白癜风方面的应用还处于发展阶段，不同肤色、不同民族的图像差异较大，对 AI 模型的建立带来很大的挑战。怎样将不同肤色对白癜风皮损颜色的影响降至最低，统一的、规范的进行颜色分类及录入，仍需研究者们进一步探索。目前组织病理学检查仍是白癜风诊断的金标准，能对白癜风活动性进行准确的判断。随着反射式共聚焦激光扫描显微镜的广泛应用，已成为白癜风的有效诊断方法。

3. 发病机制

通过组织病理学检查发现：易感基因遗传变异后，受到氧化应激的刺激(Nrf2-HO1、AHR、SIRT3、TRPM2、RIP1 等)，抗原暴露，黑素细胞逐渐凋亡坏死，抗原肽形成；CRT 抗原识别，树突状细胞活化、抗原提呈、分泌细胞因子；CXCL16-CXCR6、TRPM2-NLRP3、IL-15 等介导 CD8+细胞毒性 T 淋巴细胞增殖活化，向皮损部位迁移；自身免疫(CD8+ T 细胞、特异抗原肽、Treg 细胞等)杀伤黑素细胞，导致局部皮肤黑素细胞缺失或减少，皮肤色素脱失，最后发展为白癜风[6]-[14]。防治淋巴细胞浸润杀伤黑素细胞与白癜风的诊疗密切相关。

对白癜风患者来说,对白斑处皮肤进行组织病理学检查仍较难以接受,部分患者难以配合医师完成检查。本研究采用在体、实时、无创的三维成像显微镜,展现白斑的微观情况。众多学者研究发现[15][16][17],进展期白癜风基底细胞环大致存在,黑色素含量较正常皮肤明显减少,真皮乳头及浅层可见炎性细胞浸润。炎症细胞对应组织病理学中的淋巴细胞。稳定期白癜风基底层细胞环大致存在,黑色素含量较正常皮肤明显减少,白斑内无炎性细胞浸润。与组织病理学结果一致。由于黑色素是皮肤中天然和最强的对比物,这表明 RCM 在色素性皮肤病的成像中起着重要作用。RCM 可以在研究不同程度色素沉着障碍中发挥作用[18],用于区分稳定或活动性白癜风和评估治疗效果[19]。Chuah S. Y 利用 RCM 在手术移植前评估白斑区域的活性,并且可以观测寻常型白癜风稳定期移植后的恢复情况[20]。

4. 主要仪器及使用步骤

Wood 灯使用前预热 1 分钟,在暗室内检查,Wood 灯平行于皮损,在显示屏中出现清晰地亮蓝白色皮损图片,并进行拍照留存,在灯下勾勒出皮损边界。在 Wood 灯下皮损边界上随机取一点,及其内外 0.75 cm 处取点,即皮损内、皮损边界及正常皮肤三处检测点。

RCM 图像采集步骤:患者取平卧位,在选取部位用粘贴窗固定组织环,以蒸馏水(粘合环与皮肤间)和医用超声耦合剂(镜头与粘合环间)为介质,使探头紧贴皮肤并垂直于皮肤表面,固定位置后开始扫描。扫描时首先确定零点(调零时取内切圆),然后逐层向下切取横断面,基底层(真表皮交界处)选取最佳图像并将图像保存于计算机中。连续采集 16 张图像,扫描观察区域为 $500\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$,扫描范围为 $3\ \text{mm} \times 3\ \text{mm}$ (XY 水平方向)。纵向扫描:从角质层到真表皮交界处的纵向扫描,每层厚度 $5\ \mu\text{m}$;水平扫描:基底层、真表皮交界处存在病理改变的水平扫描图像。分别扫描采集 Wood 灯下三处检测点,以下研究分析采用皮损边界处的数据。

5. 研究结果

本研究收集了 2020 年~2022 年武汉市第一医院 171 例白癜风患者,根据白癜风专家诊疗共识(2021 版),分为快速进展期 57 例,缓慢进展期 93 例,稳定期 21 例,RCM 图像特征见表 1。

Table 1. Characteristics of RCM images in different stages

表 1. 不同分期下 RCM 图像特征

分期	总计(例)	可见噬黑素细胞浸润(例)			可见淋巴细胞浸润(例)		
		白斑外	白斑边界	白斑内	白斑外	白斑边界	白斑内
快速进展期	57	40	35	18	55	51	51
缓慢进展期	93	34	45	2	83	81	66
稳定期	21	4	7	0	10	10	3

快速进展期白癜风:基底细胞环大致存在,黑色素含量较正常皮肤明显减少。真皮乳头及浅层:白斑内 0.75 cm 处:89.5%可见淋巴细胞浸润,31.6%可见噬黑素细胞浸润;白斑边界处:89.5%可见淋巴细胞浸润,64.9%可见噬黑素细胞浸润;白斑外 0.75 cm 处:96.5%可见淋巴细胞浸润,70.2%可见噬黑素细胞浸润;缓慢进展期白癜风:基底细胞环大致存在,黑色素含量较正常皮肤明显减少。真皮乳头及浅层:白斑内 0.75 cm 处:71.0%可见淋巴细胞浸润,2.2%可见噬黑素细胞浸润;白斑边界处:87.1%可见淋巴细胞浸润,48.4%可见噬黑素细胞浸润;白斑外 0.75 cm 处:89.2%可见淋巴细胞浸润,36.6%可见噬黑素细胞浸润;稳定期白癜风:基底层细胞环大致存在,黑色素含量较正常皮肤明显减少。真皮乳头及浅层:

白斑内 0.75 cm 处: 14.3%可见淋巴细胞浸润, 未见噬黑素细胞浸润; 白斑边界处: 47.6%可见淋巴细胞浸润, 33.3%可见噬黑素细胞浸润; 白斑外 0.75 cm 处: 47.6%可见淋巴细胞浸润, 19.0%可见噬黑素细胞浸润; RCM 图像特征与组织病理学结果一致。边界处炎症浸润较为明显。

6. 治疗

白癜风在临床上具有“易诊难治”的特点。因其疾病损容性的特点, 及治疗及复色过程往往较长, 常给患者带来较重的心理压力及负担。目前临床研究表明, 黏膜部位, 肢端型, 毛发变白等部位及类型的白癜风, 往往治疗及复色较困难, 给我们在临床治疗上提出了一定程度挑战。

外用药物有糖皮质激素、该调铃酸酶抑制剂、外用维生素 D3 衍生物; 系统性应用药物有免疫抑制剂、中医中药灯; 光疗如 PUVA、NB-UVB、308 nm 准分子激光/光; 外科疗法有手术治疗、遮盖疗法、脱色疗法及心理干预等治疗手段。CO₂ 点阵激光在难治性肢端白癜风中表现出独特的优势, 同时外科手术、移植治疗是难治性白癜风的主要治疗手段。采用围白斑照射治疗的方法进行治疗。促进正常皮肤的黑素细胞迁移从而复色, 同时减轻皮损处光疗产生的不良反应, 以及快速遏制其皮损及周围皮肤炎症反应, 减缓或阻止白斑扩大速度。对于 3~6 个月持续光疗但效果不佳的患者, 应及时应用 RCM 观察监测皮损及其周围皮肤炎症细胞浸润情况。如发现该类患者炎症浸润仍较多, 应适时考虑, 暂停光疗, 首先借助抗炎治疗, 例如应用糖皮质激素或 JAK 抑制剂等方法。待表皮炎症微环境控制后再行光疗。

7. 讨论

既往研究多是采用肉眼观察与患者回忆进行白癜风的诊断, 对一些临床特征不典型、不明显的皮损, 很容易造成误判。诊疗共识采用 VIDA 评分、临床特征(包括炎性皮损、三色皮损、纸屑样皮损及皮损边界情况等特点)、Wood 灯图像特征和同形反应共同判断。但是 VIDA 评分较为依靠患者的主观感受, 病程不确定性对 VIDA 评分的准确性影响较大。临床特征及 Wood 灯也较为依靠医师的经验, 宏观特征往往具有欺骗性。目前尚未有学者证实临床特征及 Wood 灯特征与组织病理学是一致的。本研究采用微观的 RCM 图像与宏观的 Wood 灯图像结合, 观察白癜风皮损的特征, 以提供诊断依据。且不少学者已经研究证实, 使用 RCM 进行白癜风的诊断是具有可靠性的, 与组织病理学方面的诊断具有一致性。

通过治疗后, 白癜风毛囊及表皮中未受累的、皮损内外残存的正常黑素细胞或黑素细胞前体细胞(precursor), 经过增殖、分化和移行以补充白癜风皮损中失去的功能性黑素细胞。通过调控表皮微环境以唤醒休眠的黑素细胞, 促进白癜风复色[21]。淋巴细胞攻击黑素干细胞, 从而影响正常的黑素细胞生成、迁移等[22]。所以在进行白癜风治疗时, 除了促进黑素细胞增殖、分化和移行以补充白斑内色素恢复外, 还应抑制白斑边缘及白斑外正常皮肤的免疫反应, 防止黑素细胞再次被杀伤及正常皮肤内黑素细胞受累。有研究者[23]认为遮住皮损中间绝大部分白斑区域, 只对皮损边缘及周围皮肤进行治疗, 其有效率可达 89.5%, 高于皮损全部区域治疗的有效率 67.6%。在进行皮损处药物外治及激光治疗等手段时, 根据 RCM 图像, 可将快速进展期及缓慢进展期皮损的治疗范围向外扩大 0.75 cm, 如果皮损内观测到炎性浸润也可进行治疗; 稳定期皮损内未见炎症细胞浸润时, 可进行围白斑治疗。治疗范围的确定与白斑处炎性浸润情况密切相关, 应尽可能覆盖有炎症浸润的皮肤。

近年来, 在体反射式共聚焦激光显微镜(*in vivo* Reflectance Confocal Microscopy, RCM)作为无创、实时、在体、动态的三维成像技术, 成为目前最具前景的无创皮肤影像学方法之一[17][24][25]。目前已经广泛应用于白癜风诊疗过程中, 并且其图像特点已在组织病理学上得以证实, 但是利用 RCM 评估白癜风治疗范围的研究较少。我们挖掘 RCM 在作为一种新兴的皮肤诊断工具外, 还有可能作为指导白癜风治疗范围工具的特点。白癜风的发病机制复杂, 但其治疗途径很有前景。通过 RCM 观察色素缺失及炎

症浸润情况, 缩小并精准治疗范围。限制白癜风病情进展并促进白斑区域具有良好安全性的色素再生。

参考文献

- [1] Bergqvist, C. and Ezzedine, K. (2021) Vitiligo: A Focus on Pathogenesis and Its Therapeutic Implications. *The Journal of Dermatology*, **48**, 252-270. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.15743>
- [2] Frączek, A., Kasprówicz-Furmańczyk, M., Placek, W., et al. (2022) Surgical Treatment of Vitiligo. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **19**, Article No. 4812. <https://doi.org/10.3390/ijerph19084812>
- [3] Feng, Y.F. and Lu, Y. (2022) Advances in Vitiligo: Update on Therapeutic Targets. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 986918. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.986918>
- [4] 张爱华, 任雁威, 陆星宇, 等. 窄谱中波紫外线围白斑照射治疗难治性白癜风的临床观察[J]. 贵州医药, 2022, 46(12): 1924-1925.
- [5] Guo, L.F., Yang, Y., Ding, H., et al. (2022) A Deep Learning-Based Hybrid Artificial Intelligence Model for the Detection and Severity Assessment of Vitiligo Lesions. *Annals of Translational Medicine*, **10**, 590. <https://doi.org/10.21037/atm-22-1738>
- [6] Wang, Y.H., Li, S.L. and Li, C.Y. (2021) Clinical Features, Immunopathogenesis, and Therapeutic Strategies in Vitiligo. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, **61**, 299-323. <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08868-z>
- [7] Wang, Y.H., Li, S.L. and Li, C.Y. (2021) Correction to: Clinical Features, Immunopathogenesis, and Therapeutic Strategies in Vitiligo. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, **61**, 449. <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08884-z>
- [8] He, Y.M., Li, S.L., Zhang, W.G., et al. (2017) Dysregulated Autophagy Increased Melanocyte Sensitivity to H₂O₂-Induced Oxidative Stress in Vitiligo. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 42394. <https://doi.org/10.1038/srep42394>
- [9] Jian, Z., Li, K., Liu, L., et al. (2011) Heme Oxygenase-1 Protects Human Melanocytes from H₂O₂-Induced Oxidative Stress via the Nrf2-ARE Pathway. *Journal of Investigative Dermatology*, **131**, 1420-1427. <https://doi.org/10.1038/jid.2011.56>
- [10] Chen, J.R., Li, S.L. and Li, C.Y. (2021) Mechanisms of Melanocyte Death in Vitiligo. *Medicinal Research Reviews*, **41**, 1138-1166. <https://doi.org/10.1002/med.21754>
- [11] Kang, P., Chen, J.R., Zhang, W.G., et al. (2022) Oxeiptosis: A Novel Pathway of Melanocytes Death in Response to Oxidative Stress in Vitiligo. *Cell Death Discovery*, **8**, Article No. 70. <https://doi.org/10.1038/s41420-022-00863-3>
- [12] Li, S.L., Zhu, G.N., Yang, Y.Q., et al. (2017) Oxidative Stress Drives CD8(+) T-Cell Skin Trafficking in Patients with Vitiligo through CXCL16 Upregulation by Activating the Unfolded Protein Response in Keratinocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **140**, 177-189.e9. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.10.013>
- [13] Cui, T.T., Zhang, W.G., Li, S.L., et al. (2019) Oxidative Stress-Induced HMGB1 Release from Melanocytes: A Paracrine Mechanism Underlying the Cutaneous Inflammation in Vitiligo. *Journal of Investigative Dermatology*, **139**, 2174-2184.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.10.013>
- [14] Chen, X.G., Guo, W.N., Chang, Y.Q., et al. (2019) Oxidative Stress-Induced IL-15 Trans-Presentation in Keratinocytes Contributes to CD8(+) T Cells Activation via JAK-STAT Pathway in Vitiligo. *Free Radical Biology and Medicine*, **139**, 80-91. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.011>
- [15] 李伟. 反射式共聚焦扫描显微镜在白癜风分期中的应用: 初步研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽医科大学, 2013.
- [16] 刘涛, 许爱娥. 临床特征和皮肤 CT 特征判定白癜风分期[J]. 中华皮肤科杂志, 2015, 48(6): 404-407.
- [17] 王瑞, 王菲菲, 杨俊亚, 等. 皮肤 CT 在白癜风分期中的应用[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2018, 16(11): 147-149.
- [18] Liu, H.X., Wang, L.L., Lin, Y., et al. (2020) The Differential Diagnosis of Hypopigmented Mycosis Fungoides and Vitiligo with Reflectance Confocal Microscopy: A Preliminary Study. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **7**, Article ID: 609404. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.609404>
- [19] Cortelazzi, C., Pellacani, G., Raposio, E., et al. (2020) Vitiligo Management: Combination of Surgical Treatment and Phototherapy under Reflectance Confocal Microscopy Monitoring. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **24**, 7366-7371.
- [20] Chuah, S.Y. and Thng, S.T.G. (2019) The Role of *in Vivo* Reflectance Confocal Microscopy in Assessing the Stability of Vitiligo Vulgaris Prior to Cellular Grafting. *Skin Research and Technology*, **25**, 245-247. <https://doi.org/10.1111/srt.12638>
- [21] 史赢, 雷铁池. 白癜风皮损复色的细胞与分子机制研究进展[J]. 皮肤科学通报, 2022, 39(4): 271-275.
- [22] 陈淑君. 毛发移植对头皮白癜风复色的临床疗效评估及作用机制的研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学, 2014.

- [23] 雷娜, 鲁严. 白癜风光疗研究进展[J]. 皮肤科学通报, 2022, 39(4): 287-293+3.
- [24] 张立银. 采用临床特征和皮肤 CT 特征来判定白癜风分期效果[J]. 影像研究与医学应用, 2020, 4(1): 162-163.
- [25] 王改红. 皮肤 CT 特征对白癜风分期的诊断分析[J]. 皮肤病与性病, 2019, 41(4): 562-563.