

晕痣患者真皮微环境的初步分析

李哲曦, 王大光

(南京医科大学第一附属医院皮肤科 江苏 南京 210029)

[摘要]目的: 讨论晕痣 (Halo nevus) 与正常皮肤真皮微环境的差异, 分析胶原重塑、CD8⁺T细胞浸润与晕痣白斑发生的关系。**方法:** 采用苏木精-伊红染色法 (Hematoxylin-eosin staining, HE)、Masson三色染色法、免疫组织化学染色, 比较晕痣中心痣区、白斑区、健康人皮肤的组织学特征, 半定量检测晕痣白斑区与健康皮肤中的胶原蛋白和CD8⁺T细胞含量。**结果:** 中心痣区可见痣细胞巢以及围绕痣细胞的致密CD8⁺T细胞, 胶原蛋白结构相对致密, 纤维短小、宽且呈波浪状, 部分区域交叉重叠; 周围白斑区黑素细胞显著减少, CD8⁺T细胞散在分布, 胶原蛋白减少、排列松散紊乱, 纤维细长、松散、部分平行分布。**结论:** 晕痣中真皮微环境存在胶原重塑现象, 该变化可能由免疫反应造成, 进而促进免疫细胞的效能和扩散。

[关键词] 晕痣; 胶原蛋白; 免疫; 真皮微环境

[中图分类号] R751 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455 (2025) 12-0115-04

Preliminary Analysis of Dermal Microenvironment in Halo Nevus

LI Zhexi, WANG Daguang

(Department of Dermatology, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To investigate the differences in the dermal microenvironment between halo nevus and normal skin, and to analyze the relationship between collagen remodeling, CD8⁺T cell infiltration and the occurrence of halo nevus leukoplakia. **Methods** Hematoxylin-eosin staining (HE), Masson trichrome staining, and immunohistochemical staining were adopted to compare the histological characteristics of the central nevus, leukoplakia area, and the skin of healthy individuals. A Semi-quantitative was performed to assess the content of collagen and CD8⁺T cells in the leukoplakia area of halo nevus and healthy skin. **Results** The central nevus area showed nests of nevus cells surrounded by dense CD8⁺T cell infiltrates. The collagen structure in this area was relatively dense, with short, broad, and wavy fibers that were interlaced and overlapping in some regions. In contrast, the surrounding leukoplakia area exhibited a significant reduction in melanocytes, a scattered distribution of CD8⁺T cells, decreased collagen content, and a loose, disordered collagen arrangement characterized by thin, elongated, and loosely arranged fibers, some of which were parallelly distributed. **Conclusion** Collagen remodeling occurs in the dermal microenvironment of halo nevi. This phenomenon is likely induced by the local immune response, which may subsequently enhance the efficacy and diffusion of immune cells.

Key words: halo nevus; collagen; immunity; dermal microenvironment.

晕痣又称离心性后天性白斑、Sutton痣, 以中央色素痣周围环绕一圈均匀的色素脱失环为特征^[1]。许多晕痣患者都合并有自身免疫性疾病^[2], 部分学者认为晕痣为白癜风的一种特殊亚型。研究发现白癜风患者相对于普通群体更易出现晕痣病变, 且发病年龄降低^[3], 同时晕痣也可被视为白癜风进展的潜在危险因素^[4], 但两者发生的先后顺序尚不明确。相似的是, 晕痣的核心病理机制也是产生了针对黑素细胞的免疫反应, 但晕痣中检测到的人类白细胞抗原 (HLA) 与白癜风不同, 推测可能在病变早期先产生

针对痣细胞的免疫反应^[5], 进而出现黑素细胞共享抗原, 激发杀伤毒性T细胞功能, 一方面起到抑制痣细胞扩散功能, 但另一方面也波及周围的正常黑素细胞^[6]。因而部分患者会出现自发性晕痣消退现象, 经历从中心痣消退到周围白斑复色的四个阶段。免疫细胞都来自真皮, 真皮中的细胞、胞外基质及信号分子等构成了晕痣的真皮微环境。胶原蛋白是真皮中的主要成分, 目前很多研究已经揭示胶原蛋白调控免疫浸润的重要地位^[7], 但是在白癜风和晕痣中, 胶原蛋白和免疫细胞形成的微环境参与发病的机制并

基金项目: 江苏省自然科学基金 (编号: BK20231368)

通信作者: 王大光, 主任医师、教授; 研究方向为皮肤外科、皮肤激光美容及色素性皮肤病。E-mail: wangirwin@163.com

第一作者: 李哲曦, 在读研究生; 研究方向为色素性皮肤病。E-mail: lizhexi0813@163.com

不清楚, 本文拟在此领域做一初步研究。

1 资料和方法

1.1 组织来源: 组织标本来源于2020年1月-2024年12月在江苏省人民医院皮肤科经手术切除并经病理确诊的晕痣患者石蜡包埋组织, 共纳入6例。以同期采集的5例健康皮肤组织石蜡标本作为正常对照组。所有标本的使用均经笔者医院伦理委员会批准(批准号: 2025-SR-289), 并获得患者知情同意。两组在年龄、性别及取材部位等非实验因素上均相匹配。

1.2 主要试剂: 苏木素染液(BA4041)购于珠海贝索生物技术有限公司; 丽春红染液(W29D9D78699)购自源叶生物有限公司; 冰醋酸(10000218)、磷钼酸(51429-74-4)、苯胺蓝(28631-66-5)购自国药集团化学试剂有限公司; 兔单克隆抗CD8- α 抗体(ab217344)购于Abcam; 羊抗兔IgG-HRP(KGC6202)购自江苏凯基生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 Masson三色染色: 石蜡包埋样本常规切片、脱蜡、水化; 苏木素染15 min, 氨水返蓝10 s, 冲洗至切片变蓝; 丽春红染5 min, 洗去浮色; 磷钼酸孵育1 min; 苯胺蓝染3 min, 冰醋酸分色20 s; 常规脱水、透明、封片。光镜下观察结果, 胶原蓝色, 肌纤维红色。

1.3.2 免疫组织化学染色: 石蜡包埋样本常规切片、脱蜡、水化; 抗原修复液中煮沸95 $^{\circ}$ C, 15~20 min, 自然冷却至室温; 血清封闭, 室温孵育20 min; 滴加一抗(兔单克隆抗CD8- α 抗体), 4 $^{\circ}$ C过夜; 滴加二抗, 室温孵育1 h; 滴加DAB工作液, 自来水冲洗10 min终止反应; 苏木精复染2 min, 盐酸酒精分化, 水洗; 常规脱水、透明、封片, 光镜下观察结果。

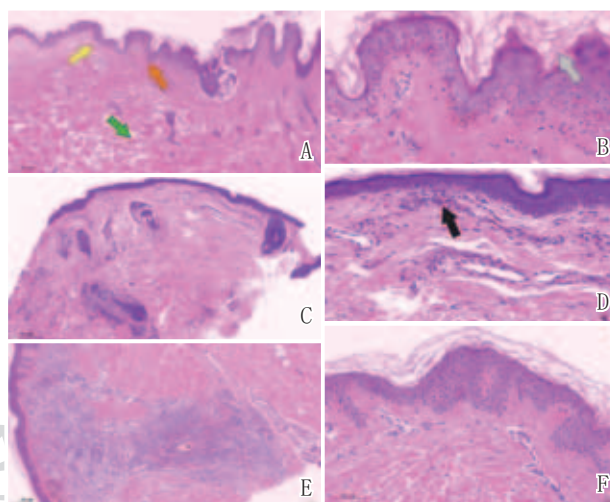
1.4 观察指标: Masson染色结果运用Image Pro Plus图像分析软件, 每张切片选择3个视野(200 μ m), 设置SHI参数。H: 139~173; S: 0~154; I: 78~157。此时基本能识别所有胶原, 定量检测图像的积分光密度(Integrated optical density, IOD)、测量区域总面积, 积分光密度除以测量区域总面积计算平均光密度(Mean optical density, MOD)。免疫组化结果运用Image J图像分析软件, 每张切片选择3个视野, 以细胞核出现棕黄色着色为阳性结果, 计算阳性染色区域面积与总区域面积的百分比, 反映阳性细胞丰度, 以平均光密度(MOD)表示。

1.5 统计学分析: 采用GraphPad Prism 10软件进行数据分析。计量资料符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)的形式表示, 组间采用独立样本 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 晕痣患者中心痣区、白斑区与对照皮肤HE染色比较: 晕痣皮损与健康皮肤组织HE染色见图1。健康皮肤: 真皮结构完整, 乳头层胶原纤细、排列疏松, 富含毛细血管, 网

状层胶原束粗大, 呈波浪状平行排列, 真皮浅层未见明显炎症浸润, 无痣细胞巢或异常细胞聚集(图1A~B)。晕痣皮损处, 中心痣区: 多为复合痣、皮内痣, 痣细胞呈巢状、团块状、条索状分布; 痣细胞周围及间质内可见较多炎性细胞浸润, 以淋巴细胞为主, 真皮浅层胶原纤维排列不整齐, 局灶性纤维化, 轻度水肿(图1C~E)。白斑区: 无痣细胞或痣巢结构, 真皮内少许淋巴细胞浸润, 多位于浅层血管周围, 由真皮深层向浅层及表皮辐射, 胶原纤维排列较紊乱, 纤维化水平低(图1C、E~F)。

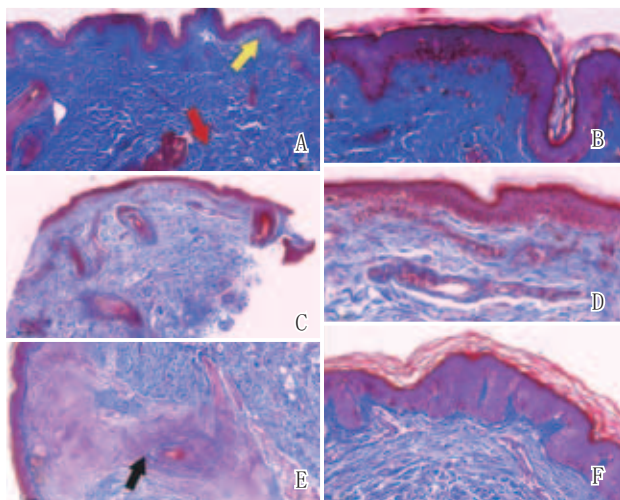


注: A~B. 健康皮肤; C~F. 晕痣; 灰色箭头: 表皮角质层; 橙色箭头: 黑素细胞; 黄色箭头: 乳头层胶原; 绿色箭头: 网状层胶原; 黑色箭头: 痣细胞

图1 健康皮肤与晕痣皮损HE染色结果

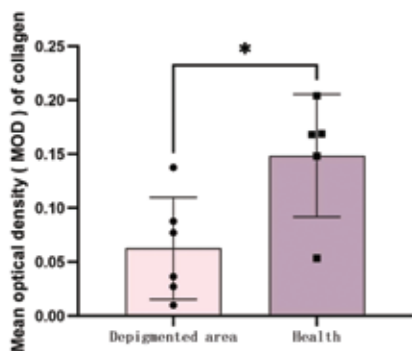
2.2 晕痣患者中心痣区、白斑区与对照皮肤Masson染色比较: 晕痣皮损与健康人皮肤Masson三色染色见图2。健康皮肤: 乳头层纤细的III型胶原纤维(浅蓝色), 呈网状排列, 网状层可见粗大的I型胶原束(深蓝色), 交错排列(图2A~B)。晕痣皮损处, 中心痣区: 胶原含量较正常, 排列紊乱, 纤维短小、宽且呈波浪状, 部分区域交叉重叠(图2C~E)。白斑区: 胶原含量较正常皮肤减少, 纤维化水平低, 排列较不规则, 纤维细长、松散、部分平行分布, 存在胶原断裂(图2C、E~F)。晕痣周围白斑区与健康人皮肤中胶原蛋白定量分析如图3, 晕痣白斑处胶原蛋白含量比健康人皮肤含量少, 胶原蛋白纤维化水平低, 差异具有统计学意义($t=2.743, P=0.0227$)。

2.3 晕痣患者中心痣区、白斑区与正常人皮肤CD8 $^{+}$ T细胞比较: 晕痣皮损与正常皮肤免疫组织化学染色见图4。健康皮肤: CD8 $^{+}$ T细胞主要位于真皮乳头层毛细血管周围, 不形成簇状聚集, 不与表皮黑素细胞直接接触(图4A~B)。晕痣皮损处, 中心痣区: 密集的CD8 $^{+}$ T细胞浸润, 呈簇状分布, 围绕并侵入痣细胞巢(图4C~E)。白斑区: CD8 $^{+}$ T细胞中等数量, 散在或小灶性聚集(图4C、E~F)。晕痣周围白斑



注：A~B. 健康皮肤；C~F. 晕痣；黄色箭头：乳头层纤细的III型胶原纤维；红色箭头：网状层粗大的I型胶原束；黑色箭头：中心痣区排列紊乱的胶原纤维

图2 健康人皮肤组织与晕痣皮损Masson三色染色结果



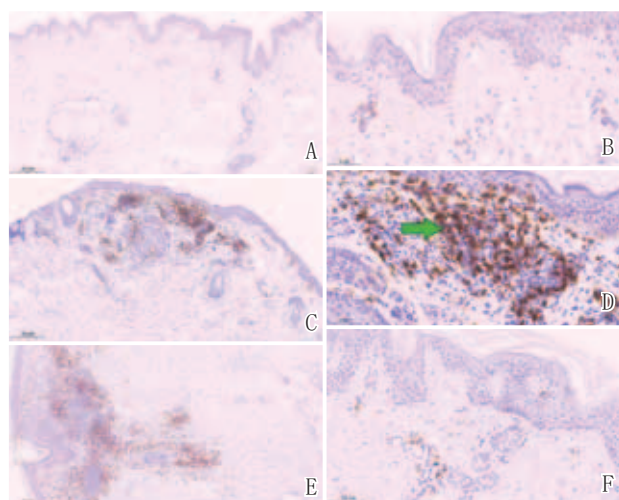
注：Depigmented area为晕痣周围白斑区（ $n=18$ ），Health为健康皮肤（ $n=15$ ），*表示 $P < 0.05$

图3 晕痣周围白斑区与健康人皮肤中胶原蛋白半定量分析

区与健康人皮肤中CD8⁺T细胞半定量分析如图5，晕痣白斑处CD8⁺T细胞含量比健康人皮肤含量多，差异具有统计学意义（ $t=6.117, P=0.0002$ ）。

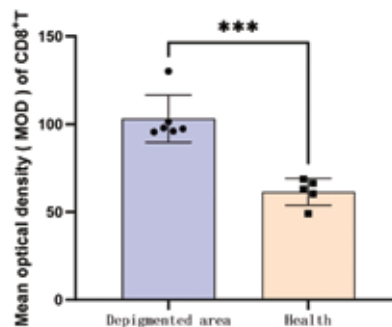
3 讨论

晕痣的发生发展与免疫反应息息相关，既往研究多聚焦于痣与痣周广泛组织间通过配体-受体相互作用调控T细胞增殖、黏附和活化^[8-9]，其中T细胞激活相关基因在痣周显著高表达。值得注意的是，即使切除中心痣后，部分患者免疫反应仍持续存在，白斑甚至进一步扩大^[10]，推测局部免疫微环境在疾病进展中具有重要作用。此外，相较于恶性黑色素瘤，晕痣病灶中炎症细胞浸润更密集，细胞毒性反应更强^[11]，其出现还被认为是黑色素瘤接受免疫检查点抑制剂（Immune checkpoint inhibitors, ICIs）治疗后预后良好的标志之一^[12-13]。局部免疫微环境在晕痣发生中扮



注：A~B. 健康皮肤；C~F. 晕痣；绿色箭头：CD8⁺T细胞

图4 健康人皮肤组织与晕痣皮损免疫组化染色结果



注：Depigmented area为晕痣周围白斑区（ $n=18$ ），Health为健康皮肤（ $n=15$ ），***表示 $P < 0.001$

图5 晕痣周围白斑区与健康人皮肤中CD8⁺T细胞半定量分析

演关键角色，然而现有研究多集中于免疫细胞本身，对其所处的局部微环境变化还未有系统观察。基于此，我们推测真皮作为T细胞的主要来源和浸润部位，在晕痣中可能发生胞外基质重塑，进而影响免疫细胞的扩散和长期维持。

本研究显示，晕痣中心区域存在密集的CD8⁺T细胞围绕并侵入痣细胞巢，提示细胞毒性T细胞在痣细胞清除中发挥关键作用，与既往研究提出的“针对痣细胞的免疫反应触发后续黑色素细胞损伤”一致^[5-6]。白斑区CD8⁺T细胞数量多于健康皮肤，且呈深部向表皮辐射的趋势，提示免疫反应存在由中心向外扩散的动态过程，但密度显著低于中心痣区，并呈散在分布，可能参与持续性的免疫监视以及周围残余黑色素细胞的清除。尤其值得注意的是，中心区CD8⁺T细胞与痣细胞直接接触，而白斑区CD8⁺T主要位于真皮，与黑色素细胞无直接接触，非接触性的杀伤方式可能在白斑形成中发挥主导作用。

Masson染色结果显示，中心痣区胶原蛋白排列相对致密，但形态相较于正常发生改变，表现为短而宽的波浪状结构；白斑区胶原总量显著减少，纤维化程度降低，形态

细长、排列松散混乱，偶有大面积断裂现象。胶原作为细胞外基质的主要成分，其结构和含量直接影响着免疫细胞的浸润与迁移：致密、平行排列的短波浪状胶原可能限制细胞浸润，而结构疏松、纤维细长、交错排列的胶原则更利于免疫细胞侵入^[14]。此外，胶原还具有免疫调节功能，发挥抑制细胞毒性反应的作用^[15]。本研究推测，中心区紧密的胶原结构形成物理屏障，一定程度上阻碍了免疫细胞对痣细胞的完全清除。而白斑区出现的胶原降解和重塑，可能是由针对痣细胞的免疫反应所引起的继发性改变。该过程促进了淋巴细胞向外扩散，加速了对邻近黑素细胞的免疫攻击。局部炎症因子还可能影响成纤维细胞功能，导致胶原合成减少与纤维化程度降低。上述变化可能形成一个正反馈循环：即“胶原破坏-免疫细胞扩散浸润-组织损伤加重-引发更广泛的胶原降解与重塑”，最终推动周围白斑不断扩大。

与国内外同类研究相比，本研究首次从组织病理学层面描述了晕痣中心与白斑区在免疫细胞分布与胶原结构方面的差异，并初步提出细胞外基质重塑与免疫细胞浸润之间可能存在相互作用，为理解晕痣的免疫病理机制提供了新视角。然而，本研究仍有若干局限性：首先，样本量有限，未能进行多次验证；其次，仅从形态方面观察胶原变化，缺乏对胶原亚型及调控分子的检测；第三，尚未通过体内外实验验证胶原结构变化对T细胞迁移与活化的直接影响。因此，当前提出的“胶原-免疫”假说还需要在今后的研究中进一步验证。

综上，本研究初步揭示了晕痣真皮微环境的结构特征，提出了细胞外基质重塑可能参与免疫细胞的扩散与功能调控，为后续机制研究与治疗策略提供新方向。

[参考文献]

- [1] Bergqvist C, Ezzedine K. Vitiligo: A review [J]. *Dermatology*, 2020,236(6):571-592.
- [2] 林士伟, 魏茗蕾, 孔静. 晕痣患者中白癜风发生状况及其危险因素分析[J]. *中国美容医学*, 2020,29(12):40-43.
- [3] Ramachandran V, Kim K M, Zhang L. Disseminated nonsegmental vitiligo associated with halo nevi and premature gray hair[J]. *Cureus*, 2021,13(3):e13868.
- [4] Ezzedine K, Diallo A, Léauté-Labrèze C, et al. Halo naevi and leukotrichia are strong predictors of the passage to mixed vitiligo in a subgroup of segmental vitiligo [J]. *Br J Dermatol*, 2012,166(3):539-544.

- [5] De Vijlder H C, Westerhof W, Schreuder G M, et al. Difference in pathogenesis between vitiligo vulgaris and halo nevi associated with vitiligo is supported by an HLA association study[J]. *Pigment Cell Res*, 2004,17(3):270-274.
- [6] Pan C, Shang J, Jiang H, et al. Transcriptome analysis reveals the molecular immunological characteristics of lesions in patients with halo nevi when compared to stable vitiligo, normal nevocytic nevi and cutaneous melanoma[J]. *J Inflamm Res*, 2021,14:4111-4124.
- [7] Mei J, Cai Y, Xu R, et al. Conserved immuno-collagenic subtypes predict response to immune checkpoint blockade [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2024,44(5):554-575.
- [8] Jiang L, Hu Y, Zhang Y, et al. Abnormal metabolism in melanocytes participates in the activation of dendritic cell in halo nevus [J]. *Clin Immunol*, 2024,265:110300.
- [9] 胡文婷, 许爱娥. 晕痣的研究进展 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2017,31(7):800-802.
- [10] Kano S, Nakamura M, Nojiri Y, et al. Differences in the immune microenvironment between improved and non-improved cases of vitiligo after halo nevus excision [J]. *J Dermatol Sci*, 2023,109(3):136-142.
- [11] Brugués A, Rocuzzo G, Garcia-Herrera A, et al. Inflammatory cell immunophenotypes in regressing melanomas and halo nevi: possible keys to distinguish intensely inflamed tumors [J]. *Actas Dermosifiliogr*, 2025,22:S0001-7310(25)00359-X.
- [12] Farinazzo E, Zelin E, Agozzino M, et al. Regression of nevi, vitiligo-like depigmentation and halo phenomenon may indicate response to immunotherapy and targeted therapy in melanoma [J]. *Melanoma Res*, 2021,31(6):582-585.
- [13] Burzi L, Alessandrini A M, Quagliano P, et al. Cutaneous events associated with immunotherapy of melanoma: a review[J]. *J Clin Med*, 2021,10(14):3047.
- [14] Ashworth J C, Cox T R. The importance of 3D fibre architecture in cancer and implications for biomaterial model design [J]. *Nat Rev Cancer*, 2024,24(7):461-479.
- [15] Hu Q, Zhu Y, Mei J, et al. Extracellular matrix dynamics in tumor immunoregulation: from tumor microenvironment to immunotherapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2025, 18(1):65.

[收稿日期] 2025-07-30

本文引用格式：李哲曦, 王大光. 晕痣患者真皮微环境的初步分析 [J]. *中国美容医学*, 2025,34(12):115-118.

· 告作者和读者 ·

文稿中涉及有创新的设计、操作技巧最好附示意图，附于相应正文段落之后；说明疗效最好附典型病例治疗前后彩色对比照片，照片应对比良好，层次分明；图表应有自明性，正文与图表内容避免重复，电子图片要求 300 万像素，以 JPG 或 TIF 格式保存发送。