

Eotaxin 在鼻腔分泌物中的表达及意义

兰 宁,徐 红[△]

(南昌大学第二附属医院耳鼻咽喉-头颈外科,南昌 330000)

摘要:目的 探讨嗜酸性粒细胞趋化因子 eotaxin 在鼻息肉患者鼻腔分泌物中的表达及意义。方法 共选取 40 例患者鼻腔分泌物,其中 15 例为鼻息肉患者,15 例为慢性鼻窦炎患者,10 例为单纯鼻中隔偏曲患者。使用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 eotaxin 的浓度。结果 鼻息肉患者鼻腔分泌物 eotaxin 的平均浓度为(468.82±440.64)pg/mL,慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 的平均浓度为(443.85±334.68)pg/mL,单纯鼻中隔偏曲患者 eotaxin 的平均浓度为(149.23±49.01)pg/mL。鼻息肉、慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度均高于鼻中隔偏曲患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 eotaxin 浓度在鼻息肉患者鼻腔分泌物中明显升高,可以认为 eotaxin 在鼻息肉疾病发病、发展中起了重要的作用。

关键词:嗜酸性粒细胞趋化因子;鼻息肉;鼻腔分泌物;酶联免疫吸附测定

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.03.012

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)03-0288-02

Expression and significance of eotaxin in nasal secretions

Lan Ning, Xu Hong[△]

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330000, China)

Abstract: Objective To discuss the expression and significance of eotaxin in the nasal secretions of the patients with nasal polyps. Methods The nasal secretion samples were collected from 40 patients including 15 cases of nasal polyps, 15 cases of chronic sinusitis and 10 cases of nasal septum deviation. The enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was adopted to detect the concentration of eotaxin. Results The average concentration of eotaxin was (468.82±440.64)pg/mL in nasal polyps, (443.85±334.68)pg/mL in chronic sinusitis and (149.23±49.01)pg/mL in nasal septum deviation. The eotaxin concentrations in the nasal polyps group and the chronic sinusitis group were higher than those in the nasal septum deviation group, the difference was statistically significant($P<0.05$). Conclusion The eotaxin concentration in the nasal secretions of the patients with nasal polyps is significantly increased, which might be concluded that eotaxin may play an important role in the occurrence and development process of nasal polyps.

Key words: eotaxin; nasal polyps; nasal secretions; enzyme-linked immunosorbent assay

鼻息肉是耳鼻咽喉科常见的鼻部慢性病之一,可发生在任何的社会阶层及种族之间,发病率为1%~2%,男女之比为2~4:1,多见于20岁以后的成年人^[1]。虽然目前对鼻息肉的发病机制还不是很明确,但嗜酸性粒细胞作为鼻息肉最主要的组织学特点,其相关因子都是近几年研究的热点。本文就鼻息肉、慢性鼻窦炎、鼻中隔偏曲患者鼻腔分泌物中嗜酸性粒细胞趋化因子 eotaxin 浓度比较来探讨 eotaxin 在鼻息肉疾病发生、发展中所起的作用及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 共选取 40 例患者鼻腔分泌物,其中 15 例为鼻息肉患者,15 例为慢性鼻窦炎患者,10 例为单纯鼻中隔偏曲患者。女 17 例,男 23 例,年龄 18~50 岁。所有患者均来源于本院住院部 2012 年 7~9 月的患者,所选患者入院时均经过鼻内窥镜及副鼻窦 CT 检查确诊为鼻息肉、慢性鼻窦炎或单纯鼻中隔偏曲。鼻息肉、慢性鼻窦炎患者术后病理也得到证实。所选患者 1 个月前全身或局部均未使用抗生素、抗组胺药、皮质类固醇激素,术前均通过血清学检测 IgG、IgE,皮肤点刺试验以排除过敏性鼻炎。所选患者均哮喘、寄生虫病等过敏性疾病病史。

1.2 标本采集 所选患者入院后在鼻内窥镜下通过负压吸引

法收集鼻腔分泌物 1 mL,所有标本用 PBS 缓冲液稀释 10 倍,混匀,4 000 r/min 离心 10 min,细胞等有形成分沉入管底,取 1 mL 上清液置于离心塑料管,放于-20℃冰箱保存待用。

1.3 实验方法 用人 eotaxin 定量酶联免疫测定试剂盒,购于武汉优尔生科技公司。严格按照试剂说明书操作,实验结束后在波长为 450 nm 的酶标仪中检测得出标准品及每个标本的 OD 值,使用 CurveExpert 1.4 系统绘出七点图并算出每份标本的 eotaxin 浓度。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

鼻息肉患者鼻腔分泌物 eotaxin 的平均浓度为(468.82±440.64)pg/mL,慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 的平均浓度为(443.85±334.68)pg/mL,单纯鼻中隔偏曲患者 eotaxin 的平均浓度为(149.23±49.01)pg/mL。鼻息肉、慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度均高于鼻中隔偏曲患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度,差异均有统计学意义($t=2.26, 2.74, P<0.05$),但鼻息肉、慢性鼻窦炎鼻腔分泌物 eotaxin 浓度之间比较差异无统计学意义($t=0.17, P>0.05$),见表 1。

表 1 40 例患者鼻腔分泌物中 eotaxin 浓度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	eotaxin(pg/mL)
鼻息肉组	15	468.82 ± 440.64 ^a
鼻中隔偏曲组	10	149.23 ± 49.01
慢性鼻窦炎组	15	443.85 ± 334.68 ^a

^a: $P < 0.05$, 与鼻中隔偏曲组比较。

3 讨 论

Eotaxin 最早于致敏豚鼠的支气管肺泡灌洗液中分离获得^[2], 属于 C-C 类化学趋化因子, 目前发现 eotaxin 家族有 eotaxin-1、eotaxin-2、eotaxin-3, 虽然它们之间的结构不同, 但它们的结构相似, 都对嗜酸性粒细胞具有趋化作用。Eotaxin 主要来源为上皮细胞、内皮细胞和活化的白细胞、成纤维细胞, 然而, 在鼻息肉组织的炎症反应中渗出性巨噬细胞和 EOS 在某种程度上都是 eotaxin 的主要来源, 使 eotaxin 生成增加^[3]。eotaxin 主要作用于 CCR3 受体上, 与 CCR3 受体特异性的结合促进嗜酸性粒细胞经内皮迁移至鼻息肉黏膜的固有层, 对嗜酸性粒细胞产生特异性的趋化作用。eotaxin 不仅与嗜酸性粒细胞炎症关系密切, 还与其他炎症细胞(T 淋巴细胞, 碱性粒细胞, 单核细胞等)的趋化或活化有关, 但由于 CCR3 受体在嗜酸性粒细胞上大量存在, 因此 eotaxin 与嗜酸性粒细胞有高度的亲和性。虽然对嗜酸性粒细胞具有趋化作用的细胞因子不止 eotaxin, 还有 IL-5、白三烯 B4、血小板衍生生长因子等, 其中 IL-5 是 EOS 家族最具特异性及对 EOS 选择性终端分化负责的细胞因子, 同时 IL-5 也能刺激 EOS 从骨髓释放到外周循环中^[4]。但与其他作用于嗜酸性粒细胞的细胞因子相比, eotaxin 是一种表现出对嗜酸性粒细胞迁移更高选择性的趋化因子。Toru Yao 等发现在嗜酸性粒细胞鼻息肉中 eotaxin 浓度比非嗜酸性粒细胞鼻息肉中 eotaxin 浓度明显增加, 进一步指出在鼻息肉组织中嗜酸性粒细胞的募集是一个自我放大的过程^[5]。

CCR3 最早从单核细胞、嗜酸性粒细胞克隆而来, 属于 G 蛋白耦联受体家族。它主要表达在嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和 TH2 细胞, 介导迁移及脱颗粒反应。CCR3 是一种非特异性趋化因子受体, 可与多种趋化因子结合发生作用, 包括 eotaxin、eotaxin-1、eotaxin-2、eotaxin-3、RANTES 等。趋化因子与 CCR3 结合后可产生一系列生化反应, 选择性促进嗜酸性粒细胞募集浸润到炎症部位。Bryan 等^[6]研究发现, eotaxin 可通过与 CCR3 的结合可诱导部分 CCR3 内陷和嗜酸性粒细胞变形, 有助于嗜酸性粒细胞的活化和迁移。

Eotaxin 最早于致敏豚鼠的支气管肺泡灌洗液中分离获得, 指出 eotaxin 在气道疾病中起了一定的作用。既然 eotaxin 能在支气管肺泡灌洗液中发现, 作者也能假设在鼻息肉患者的鼻腔分泌物中分离获得。鉴于这个假设及获取鼻腔分泌物法与血清及鼻息肉匀浆组织法相比具有无创性、简便性、费用低、随访性高等特点, 根据先前学者文献资料提供提取鼻腔分泌物的办法及自己的临床实验寻找到一种方便、简单的负压吸引法(将婴儿吸痰管一端接负压装置, 一端接吸引器, 通过鼻内窥镜将鼻腔分泌物吸入储留瓶中保存)此法时间短, 有效减轻患者的痛苦, 费用低, 提取量充足。避免了明胶海绵填塞法的时间长, 提取量少等缺点, 也避免了鼻腔灌洗法的患者配合不佳、稀释倍数计算不精确等缺点。实验结果显示鼻息肉、慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度比鼻中隔患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度显著增加($P < 0.05$), 表明通过提取鼻息肉、慢性鼻窦

炎、鼻中隔偏曲患者的鼻腔分泌物经 ELISA 实验来检测鼻腔分泌物中 eotaxin 浓度的方法是具有可行性的。避免了免疫组织化学法及 RT-PCR 法时间长、费用高、操作复杂等特点, 是个值得在临床上推广的方法。

Shin 等^[7]用原位杂交方法检测显示鼻息肉组织与正常下鼻甲组织中 eotaxin 基因的表达差异有统计学意义。Hiroyuki Seto 等^[8]通过免疫组织化学法可发现在正常上颌窦黏膜组织中少量的 eotaxin 蛋白阳性细胞, 但在鼻息肉组织固有层中可见大量的 eotaxin 蛋白阳性细胞。Olze 等^[9]通过免疫组化方法研究显示, eotaxin 家族的 eotaxin、eotaxin-2、eotaxin-3 蛋白在鼻息肉组织中的表达明显高于正常下鼻甲组织, 且 3 者蛋白水平与组织中 EOS 数量呈正相关。国内学者用免疫组化和 RT-PCR 从蛋白和基因两个水平检测鼻息肉组织和正常下鼻甲中的 eotaxin 的表达, 结果显示两者间蛋白表达量为(18.56 ± 3.59)和(0.97 ± 0.11); 两组 mRNA 表达水平为(1.02 ± 0.193)与(0.19 ± 0.126), 差异均有统计学意义($P < 0.05$)^[10]。Chao 等^[11]使用 ELISA 试验检测亚洲人慢性鼻窦炎、鼻息肉患者的血清中 eotaxin 比健康对照组的血清 eotaxin 明显的提高($P < 0.01$), 表明趋化因子与疾病的炎症程度具有密切的相关性。而本次实验结果得出鼻息肉患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度为(468.82 ± 440.64) pg/mL, 慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度为(443.85 ± 334.68) pg/mL, 鼻中隔偏曲患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度为(149.23 ± 49.01) pg/mL。鼻息肉、慢性鼻窦炎患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度比鼻中隔偏曲患者鼻腔分泌物 eotaxin 浓度显著升高($P < 0.05$), 这与先前文献得出的鼻息肉患者比健康对照组 eotaxin 量显著增加的结论是一致的。

虽然目前对 eotaxin 研究的文献不少, 但通过使用 ELISA 方法检测鼻腔分泌物中 eotaxin 浓度的方法还是很少的, 本研究结果得出鼻息肉组、慢性鼻窦炎组鼻腔分泌物 eotaxin 浓度均高于鼻中隔偏曲组鼻腔分泌物 eotaxin 浓度, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一步说明 eotaxin 在鼻息肉疾病发生、发展中所起重要作用, 本实验不足之处在于并没有对 eotaxin 家族 eotaxin-1、eotaxin-2、eotaxin-3 在鼻息肉发病的不同时期所起的作用进行研究, 鉴于 eotaxin 家族 eotaxin-1、eotaxin-2、eotaxin-3 在哮喘不同时期所起的作用不同, 今后也可在这方面进行研究。之前有研究也发现 CCR3 在以嗜酸性粒细胞聚集为主的变态反应性疾病中同样也起了重要作用, 如: 哮喘, 变应性鼻炎等。Joubert 等^[12]发现, eotaxin 作用于气道平滑肌细胞 CCR3 可诱导平滑肌细胞迁移和增殖, 使细胞内 Ca^{2+} 增高, 哮喘患者支气管黏膜中 CCR3 mRNA 表达增加。而目前临床上广泛使用 CCR3 拮抗剂治疗哮喘及变应性鼻炎, 如抗 CCR3 单克隆抗体已是目前最具有研究价值的药物, 它通过有效的抑制嗜酸性粒细胞在局部组织的募集从而在变应性鼻炎中发挥重要作用。这为今后进一步研究 CCR3 拮抗剂治疗鼻息肉提供了一定的理论依据。

参考文献:

- [1] Settupane GA. Epidemiology of nasal polyps[J]. Allergy Asthma Proc, 1996, 17(5): 231-236.
- [2] 周锦川, 朱瑾. Eotaxin 原核表达载体的构建及初步表达[J]. 医学研究生学报, 2006, 19(8): 678-681. (下转第 292 页)

MRA 和灌注成像研究有望了解血管痉挛和高血压之间的关系,这也有助于进一步揭示 PRES 的发病机制。

PRES 的典型 MRI 表现为双侧枕顶叶皮层及皮层下白质内异常信号,大多不完全对称。T1WI 上病灶主要呈等或略低信号,T2WI 及 FLAIR 上呈高信号,以 FLAIR 像显示为佳。本组病例中有 1 例 T1WI 及 T2WI 上病灶不明显,可能与病灶位于脑表面而受周围脑脊液信号干扰有关,T2 FLAIR 可以抑制脑脊液信号,对脑表面附近病灶的显示更为清晰。随着近年来报道病例的增多,发现 PRES 病灶部位不仅仅局限于大脑后部,还包括脑干、丘脑、小脑等^[7-9]。本组 10 例患儿除了双侧顶枕叶均有明显的影像学改变外,6 例颞叶、额叶、基底节区或小脑半球也有累及,与文献报道基本一致。

儿童 PRES 影像学表现虽然有一定特点,但仍需与其他疾病相鉴别,包括各种原因引起的急性脑梗死、肿瘤浸润和脱髓鞘脑病等^[10]。诊断 PRES 的关键是结合临床有突发血压急剧升高或相关诱发因素等病史,在做出初步诊断后,经过短期治疗后随访,临床和影像学表现均有明显改善,即可确诊。因此及时的 MRI 复查对 PRES 的鉴别诊断具有重要意义。

总之,由于儿童在表述病情方面较成人差,对于有严重基础性疾病的患儿在长期使用免疫抑制剂或细胞毒性药物的情况下,应该密切监测血压变化,部分患儿脑部影像学改变可能在临床表现出现之前就已经存在,对于此类患者,早期进行 MRI 检查显得尤为重要。

参考文献:

- [1] Provenzale JM, Petrella JR, Cruz LC Jr, et al. Quantitative assessment of diffusion abnormalities in posterior reversible encephalopathy syndrome [J]. *Am J Neuroradiol*, 2001, 22(8):1450-1451.
- [2] Siddiqui TS, Irfan-ul-Haq, Rehman, et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2012, 22(3):168-170.
- [3] Fan GK, Wang H, Takenaka H. Eosinophil infiltration and activation in nasal polyposis [J]. *Acta Otolaryngol*, 2007, 127(5):521-526.
- [4] 张罗,韩德明,周兵.鼻息肉中嗜酸性粒细胞浸润和活化与 IL-5 的关系 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2005, 12(3):171-174.
- [5] Yao T, Kojima Y, Koyanagi A, et al. Eotaxin-1, -2, and -3 Immunoreactivity and Protein Concentration in the Nasal Polyps of Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis Patients [J]. *Laryngoscope*, 2009, 119:1053-1059.
- [6] Bryan SA, Jose PJ, Topping JR, et al. Responses of leukocytes to chemokines in whole blood and their antagonism by novel CC-chemokine receptor 3 antagonists [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(12):1602-1609.
- [7] Shin SH, Park JY, Jeon CH, et al. Quantitative analysis of eotaxin and RANTES messenger RNA in nasal polyps: association of tissue and nasal eosinophils [J]. *Laryngoscope*, 2000, 110(8):1353-1357.

- [3] Casey SO, Sampaio RC, Michel E, et al. Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome: utility of fluid-attenuated inversion recovery MR imaging in the detection of cortical and subcortical lesions [J]. *Am J Neuroradiol*, 2000, 21(7):1199-1206.
- [4] Ozkan A, Hakyemez B, Ozkalemkas F, et al. Tumor lysis syndrome as a contributory factor to the development of reversible posterior leukoencephalopathy [J]. *Neuroradiology*, 2006, 48(12):887-892.
- [5] Truman N, Nethercott D. Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome (PRES) After Treatment With Oxaliplatin and 5-Fluorouracil [J]. *Clin Colorectal Canc*, 2012, 12(1):70-72.
- [6] Bo G, Hui L, Feng-Li L, et al. Relationships between edema degree and clinical and biochemical parameters in posterior reversible encephalopathy syndrome: a preliminary study [J]. *Acta Neurol Belg*, 2012, 112(3):281-285.
- [7] Siddiqui TS, Irfan-ul-Haq, Rehman B, et al. Posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2012, 22(3):168-170.
- [8] Stott VL, Hurrell MA, Anderson TJ. Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome: a misnomer reviewed [J]. *Intern Med J*, 2005, 35(2):83-90.
- [9] Hugonnet E, Da Ines D, Boby H, et al. Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome (PRES): Aspects of CT and MRI imaging [J]. *Diagn Interv Imaging*, 2013, 94(1):44-51.
- [10] 仪晓立,袁新宇,肖江喜,等.儿童和青少年后部可逆性脑病综合征 MRI 特征和病因分析 [J]. *中国介入影像和治疗学*, 2012, 9(1):15-18.

(收稿日期:2013-09-08 修回日期:2013-11-14)

(上接第 289 页)

- [3] Fan GK, Wang H, Takenaka H. Eosinophil infiltration and activation in nasal polyposis [J]. *Acta Otolaryngol*, 2007, 127(5):521-526.
- [4] 张罗,韩德明,周兵.鼻息肉中嗜酸性粒细胞浸润和活化与 IL-5 的关系 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2005, 12(3):171-174.
- [5] Yao T, Kojima Y, Koyanagi A, et al. Eotaxin-1, -2, and -3 Immunoreactivity and Protein Concentration in the Nasal Polyps of Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis Patients [J]. *Laryngoscope*, 2009, 119:1053-1059.
- [6] Bryan SA, Jose PJ, Topping JR, et al. Responses of leukocytes to chemokines in whole blood and their antagonism by novel CC-chemokine receptor 3 antagonists [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(12):1602-1609.
- [7] Shin SH, Park JY, Jeon CH, et al. Quantitative analysis of eotaxin and RANTES messenger RNA in nasal polyps: association of tissue and nasal eosinophils [J]. *Laryngoscope*, 2000, 110(8):1353-1357.
- [8] Seto H, Suzuki H, Shioda S. Immunohistochemical localization of eotaxin immunoreactivity in Nasal Polyps [J]. *Acta Otolaryngol*, 2004, 553:99-104.
- [9] Olze H, Forster U, Zuberbier T, et al. Eosinophilic nasal polyps are a rich source of eotaxin, eotaxin-2 and eotaxin-3 [J]. *Rhinology*, 2006, 44(2):145-150.
- [10] 王晓强,康健.白介素 5 和趋化因子 eotaxin 在鼻息肉中的表达及其意义 [J]. *陕西医学杂志*, 2010, 39(6):649-651.
- [11] Chao PZ, Chou CM, Chen CH. Plasma RANTES and eotaxin levels are correlated with the severity of chronic rhinosinusitis [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2012, 269(11):2343-2348.
- [12] Joubert P, Lajoie-Kadoch S, Labonté I, et al. CCR3 expression and function in asthmatic airway smooth muscle cells [J]. *J Immunol*, 2005, 175(4):2702-2708.

(收稿日期:2013-10-08 修回日期:2013-11-25)