

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.22.035

黏蛋白在分泌性中耳炎发病机制中的研究进展*

罗 岚 综述,荆午阳,骆文龙[△]审校

(重庆医科大学附属第二医院耳鼻咽喉头颈外科 400010)

[摘要] 分泌性中耳炎(OME)是耳鼻咽喉科常见疾病,长期中耳积液可能导致传导性听力损失、儿童语言发育障碍等后遗症。研究表明,黏蛋白(MUC)与 OME 的发病机制密切相关。该文主要就 MUC 在 OME 中的作用机制及导致 MUC 过度表达的影响因素进行综述,旨在为临床诊疗思路提供一定的启示。

[关键词] 黏蛋白;分泌性中耳炎;生物膜;水通道蛋白 5;咽喉反流

[中图分类号] R764.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)22-3937-05

Research advances in mucins on pathogenesis of secretory otitis media*

LUO Lan, JING Wuyan, LUO Wenlong[△]

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] Secretory otitis media (OME) is a common disease in otorhinolaryngology. Long-term middle ear effusion may lead to conductive hearing loss, language development disorder and other sequelae in children. The studies have shown that mucins(MUC) is closely related to the pathogenesis of secretory OME. This paper reviews the action mechanism of MUC on OME and the influencing factors leading to the MUC over expression so as to provide some enlightenment for clinical diagnosis and treatment thinking.

[Key words] mucins; secretory otitis media; biological membrane; aquaporin 5; throat regurgitation

分泌性中耳炎(otitis media with effusion, OME)是以中耳积液和传导性听力下降为主要特征的中耳非化脓性炎症性疾病。常好发于儿童,大约 20% 的儿童患有 OME,平均每年患 4 次^[1]。在美国,因中耳炎就诊的儿科患者每年造成约 60 亿美元的美国医疗保健支出^[2]。黏膜高分泌引起中耳腔出现不易清除的黏液是 OME 主要特征,而黏蛋白(mucins, MUC)被证实是黏液的主要成分。鉴于此,现以 MUC 为切入点,对 OME 的作用机制,以及导致 MUC 过度表达的影响因素作一综述。

1 MUC 概述

MUC 是由杯状细胞分泌的高度糖基化的大分子糖蛋白。目前,至少有 20 个独特的 MUC 基因已被鉴定在人体组织中表达,如耳、肺、鼻、唾液腺、胃肠道和泌尿生殖道。其中 MUC1、MUC2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5B、MUC7、MUC8、MUC9、MUC11、MUC13、MUC15、MUC16、MUC18、MUC19 和 MUC20 在人中耳上皮细胞中被发现^[3]。

MUC 由大量串联重复序列组成的核心蛋白质主链上的重碳水化合物组成,所有 MUC 的一级氨基酸序列对均是独特的^[4];这些串联重复区含有脯氨酸,并且富含丝氨酸和(或)苏氨酸残基,即 O-糖基化位点,糖基化占分子质量的 80%,可使其变得坚硬和体积庞大,从而产生特有的空间填充或凝胶形成特性。

每种 MUC 基因产物均有一些不同的特征,故任何一种 MUC 产量的增加或减少均会导致覆盖在上皮上的黏液层的组成和功能发生变化。在中耳中 MUC 是中耳积液的唯一成分,负责其流变特性,并负责产生高黏度液体,阻碍液体清除^[5],所以,MUC 大小、种类、浓度和化学性质是决定积液性质及其清除倾向的重要因素^[6]。MUC 可通过参与黏膜纤毛清除,保护和屏蔽下层上皮,并与病原体相互作用以影响黏附和宿主入侵^[7]。

2 MUC 与 OME

中耳炎的发展特点是炎性细胞浸润,黏膜增厚,黏膜下腺体增生,杯状细胞增生,导致增加 MUC 的生

* 基金项目:重庆市科技局基金项目(cstc2018-jscx-mszdX0040, cstc2018jscx-msybX0361)。 作者简介:罗岚(1996—),在读硕士,主要从事耳部疾病的基础及临床研究。 [△] 通信作者, E-mail: Louwenlong163@163.com。

产^[8]。经证实至少有 5 种 MUC 在中耳炎的发病机制中具有重要作用,其中鼓室内主要表达 MUC5B,而咽鼓管表达 MUC5AC、MUC5B、MUC2 和 MUC1^[9]。与中耳黏液最相关的 MUC 是 MUC5AC 和 MUC5B 蛋白^[10]。

2.1 MUC5AC

MUC5AC 是杯状细胞的主要分泌物之一,而杯状细胞肥大是呼吸道上皮慢性疾病的特征,包括 OME 患者。UBELL 等^[11]对 20 例复发性中耳炎患者、20 例 OME 患者和 40 例对照患者外周血样本中提取的基因组 DNA,通过蛋白质印迹分析结果显示 OME 患者更容易出现一个更长的 MUC5AC 等位基因,可能表明炎症和杯状细胞刺激这些患者易产生黏液更高的黏度,导致黏膜纤毛间隙异常发生率更高,中耳液体停滞,并最终导致慢性疾病。虽然 MUC5AC 被认为是参与慢性 OME 发病的主要 MUC,但近期也有研究表明,MUC5AC 在 OME 的急性感染阶段也发挥了作用。KRUEGER 等^[12]从接受鼓膜切开术的 55 例患儿中回收样本,通过蛋白质印迹分析半定量测定 MUC,结果显示 94.5% 的中耳炎患者存在 MUC5B,65.5% 的中耳炎患者存在 MUC5AC,当 MUC5AC 存在时,与单独 MUC5B 比较,嗜血杆菌的相对丰度更大,而流感嗜血杆菌感染通常与急性 OME 有关;而这种细菌可能在 MUC 过量产生中起作用,特别是 MUC5AC,可能有助于中耳炎从急性进展到慢性。MUC5AC 不仅是中耳上皮的主要先天防御机制,而且在 OME 的急、慢性期均具有一定作用,但具体的分子机制仍需进一步探索。

2.2 MUC5B

在已知的 MUC 中 MUC5B 被认为是与 OME 最相关的 MUC^[13]。早有研究表明,中耳黏膜分泌细胞表达 MUC5B 基因及其产物 MUC5B^[14]。而 PRECIADO 等^[13]收集了鼓膜切开术儿童的积液,使用密度测定显示 MUC5B 的信号比 MUC5AC 平均增加了 6.4 倍,与 SAMUELS 等^[15]研究结果相似,均表明 MUC5B 是慢性中耳炎分泌液中主要的 MUC,只有 MUC5B 表达与渗出液黏度、中性粒细胞浸润、中耳黏膜炎症和增生及听力损失显著相关,而且 MUC5B 更有可能在最初感染后的较后时间以相对突变的形式做出反应,故与慢性 OME 关系更为密切。目前认为,MUC5B 导致 OME 的致病机制主要有两方面:(1) MUC5B 基因过度表达。BLOCK 等^[16]发现,随着 pH 值降低,中耳上皮细胞存活率减低,同时诱导了 MUC5B 基因转录及体外激活;MUC5B 基因增加了中耳黏液的产生,这可能解释了 MUC5B 是引发 OME 的原因之一。(2) MUC5B 可能与导致中耳炎

的免疫机制有关。中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)已被证实是中耳炎患者的主要先天免疫机制^[17-18],而 MUC5B 糖基化模式在个体或疾病状态中的变化可能会改变或诱导中耳 NETs 的活性^[19],这也可能是 MUC5B 导致 OME 的致病机制之一。通过众多实验说明 MUC5B 很可能是一种极其黏稠的人类 MUC,且致病机制多种多样,故难以从“根”治疗。

3 MUC 与 OME 后遗症

在中耳急性感染后 MUC 产量的增加会持续存在,对黏膜纤毛清除有害,并最终导致持续的实质性听力损失^[20]。KRUEGER 等^[12]研究表明,与对照组比较,仅中耳 MUC5B 基因表达与听力损失具有很强的相关性,如 MUC5B 表达加倍,气骨间隙平均增加 7.45 分贝,声场阈值平均增加 6.66 分贝,表明中耳 MUC5B 基因过度表达可能会引起不可逆听力损失。故在中耳炎早期应尽快使用抗生素治疗,以免造成不可逆的后果。

4 影响 MUC 及基因的因素

4.1 细菌和促炎性细胞因子

MUC 在中耳炎的表达主要是由细菌感染和促炎细胞因子触发的^[21-22]。已有研究表明,与中耳炎有关的最常见病原体包括肺炎链球菌、不可分型流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌^[23-24]。炎性细胞因子可通过启动 MUC 产生的变化导致上皮异常^[7]。微生物激活细胞信号级联,进一步激活炎症反应^[25];然后,人中耳上皮细胞分泌宿主防御分子进一步刺激促炎性细胞因子,并作为中性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞和树突状细胞的化学引诱剂,帮助根除病原体;也可启动 MUC 的产生,诱导人上皮细胞转化,增强黏液生成细胞的增殖^[26-27]。细菌和炎性细胞因子如肿瘤坏死因子^[28]、白细胞介素-1 β ^[15]、白细胞介素-6^[29]和白细胞介素-8^[30-31]均可在体外和体内上调 MUC 的表达。

4.2 生物膜

OME 也被描述为“生物膜疾病”^[32]。细菌生物膜是指非活性物质表面为适应环境生存的膜样多细菌复合体,是一种单一细菌,也有可能是多种细菌^[33]。生物膜内存在多种氧张力、酸碱度和养分可用性方面有很大差异的微环境^[34],丰富的生态环境提供了复杂的生物膜,而其中不同生态环境中的适应细菌显示出广泛变化的代谢和复制速率^[35]。在中耳炎中,黏膜生物膜的维持为细菌提供了以快速生长为代价的生存和繁殖的选择性优势^[36]。生物膜的形成是慢性中耳炎的重要标志之一,也是疾病期间细菌持续生存的重要机制^[37-38]。HONG 等^[39]使用不可分型的流感嗜血杆菌或肺炎链球菌菌株 TIGR4 通过经肺大疱注射接

种混合性别的龙猫,接种后第 3~5 天使用抗生素,通过定量聚合酶链反应检测 MUC 表达并确定生物膜的产生。结果显示,MUC 上调程度与生物膜形成的增加直接相关,可能导致 MUC 产生时间延长,使患中耳炎的风险增大。

4.3 水通道蛋白(aquaporin, AQP)

AQP 由一系列具有同源性内在膜蛋白家族成员形成,是存在于哺乳动物和植物细胞上转运水的特异通道,其介导着细胞膜不同类型的跨膜水转运。AQP 亚型(AQP1、AQP4、AQP5)在中耳区域特异性定位表达,可能负责维持中耳腔无液体或积液^[40-41]。SAMUELS 等^[15]用定量聚合酶链反应检测了中耳活检标本中 MUC2、MUC5AC、MUC5B 和 AQP5 基因的表达,结果表明 AQP5 通过表皮生长因子受体信号调高气道细胞中 MUC 的表达。近期有文献报道 AQP1 与中耳炎患者的病情严重程度相关^[42];AQP4 基因的敲除会引发听力受损^[43];AQP5 可促进气道 MUC5AC^[44]和 MUC5B^[15]的表达,增加 OME 的易感性。此外,有研究表明,AQP5 还可通过以下机制作用于中耳炎:(1)通过先天免疫和维持上皮屏障完整性发挥其他关键作用;(2)促进中性粒细胞募集必需的黏附分子(细胞间黏附分子)和趋化因子分泌的气道上皮表达^[45];(3)直接与上皮细胞中的微管相互作用,独立于水转运,影响细胞旁通透性^[46]。但具体机制尚有待于进一步探索。

4.4 咽喉反流

咽喉反流是指胃内容物由于各种原因反流至食管上括约肌以上部位(包括气管、咽喉、鼻腔等位置),因反流造成部分器官黏膜损伤^[47]。动物模型及人体实验均证实,胃内容物除在咽喉部^[48]、鼻腔^[49-50]引起炎症外,可经咽鼓管到达中耳腔^[51],引起咽鼓管及中耳腔黏膜纤毛损伤,纤毛清除能力下降,黏膜充血、水肿,毛细血管扩张,杯状细胞增生等,从而引起 OME^[52]。BLOCK 等^[16]通过实验证实咽喉反流中的胃酸可驱动中耳上皮的 MUC5b 基因转录及体外激活,增加中耳黏液的产生,也是咽喉反流引发 OME 的原因之一。

MUC 在 OME 的发病机制中具有重要作用,特别是 MUC5;MUC 的调节并不是由单一因素控制的,而是可能由广泛的调节网络控制的,可能也是为什么 OME 难以根治、容易复发的原因;相关研究仍然存在技术方面的局限,如不能直接测量特定 MUC,在区分 MUC5B 和 MUC5AC 时经常是错误的,导致与结果具有一定误差^[51]。

虽然大量研究表明,OME 和 MUC 关系密切,但对潜在的分子机制的研究仍知之甚少,还需进一步更

基础的研究验证,为中耳炎的临床治疗提供新的诊疗思路。

参考文献

- [1] MANDEL E M, DOYLE W J, WINTHER B, et al. The incidence, prevalence and burden of OM in unselected children aged 1-8 years followed by weekly otoscopy through the "common cold" season[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2008, 72(4): 491-419.
- [2] ROSENFELD R M, CASSELBRANT M L, HANNLEY M T. Implications of the AHRQ evidence report on acute otitis media[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2001, 125(5): 440-439.
- [3] KERSCHNER J E. Mucin gene expression in human middle ear epithelium [J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(9): 1666-1676.
- [4] ALI M S, PEARSON J P. Upper airway mucin gene expression: a review [J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(5): 932-928.
- [5] DODSON K M, COHEN R S, RUBIN B K. Middle ear fluid characteristics in pediatric otitis media with effusion[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2012, 76(12): 1806-1809.
- [6] KERSCHNER J E, MEYER T K, BURROWS A. Chinchilla middle ear epithelial mucin gene expression in response to inflammatory cytokines[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004, 130(10): 1163-1167.
- [7] DIAMOND G, LEGARDA D, RYAN L K. The innate immune response of the respiratory epithelium[J]. *Immunol Rev*, 2000, 173(1): 27-38.
- [8] AR A, HERMAN P, LECAIN E, et al. Middle ear gas loss in inflammatory conditions; the role of mucosa thickness and blood flow[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2007, 155(2): 167-176.
- [9] LIN J, TSUPRUN V, KAWANO H, et al. Characterization of mucins in human middle ear and Eustachian tube[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 280(6): L1157-L1167.
- [10] DUAH V, HUANG Z, VAL S, et al. Younger patients with COME are more likely to have mucoid middle ear fluid containing mucin MUC5B [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2016, 90: 133-137.

- [11] UBELL M L, KHAMPANG P, KERSCHNER J E. Mucin gene polymorphisms in otitis media patients[J]. *Laryngoscope*, 2010, 120(1): 132-138.
- [12] KRUEGER A, VAL S, PÉREZ-LOSADA M, et al. The relationship of the middle ear effusion microbiome to secretory mucin production in pediatric patients with chronic otitis media[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2016, 36(7): 635-640.
- [13] PRECIADO D, GOYAL S, RAHIMI M, et al. MUC5B is the predominant mucin glycoprotein in chronic otitis media fluid[J]. *Pediatr Res*, 2010, 68(3): 231-236.
- [14] KAWANO H, PAPARELLA M M, HO S B, et al. Identification of MUC5B mucin gene in human middle ear with chronic otitis media[J]. *Laryngoscope*, 2010, 110(4): 668-673.
- [15] SAMUELS T L, YAN J C, KHAMPANG P, et al. Association of gel-forming mucins and aquaporin gene expression with hearing loss, effusion viscosity, and inflammation in otitis media with effusion [J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 143(8): 810-817.
- [16] BLOCK B B, KUO E, ZALZAL H G, et al. In vitro effects of acid and pepsin on mouse middle ear epithelial cell viability and MUC5B gene expression[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010, 136(1): 37-42.
- [17] VAL S, POLEY M, BROWN K, et al. Proteomic characterization of middle ear fluid confirms neutrophil extracellular traps as a predominant innate immune response in chronic otitis media [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0152865.
- [18] PAPAYANNOPOULOS V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(2): 134-147.
- [19] VAL S, KRUEGER A, HUSSAIN A, et al. MUC5B induces in vitro neutrophil extracellular trap formation; implication in otitis media [J]. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, 2020, 5(3): 536-545.
- [20] KERSCHNER J E, MEYER T K, YANG C, et al. Middle ear epithelial mucin production in response to interleukin 1beta exposure in vitro [J]. *Cytokine*, 2004, 26(1): 30-36.
- [21] KERSCHNER J E, HONG W, KHAMPANG P, et al. Differential response of gel-forming mucins to pathogenic middle ear bacteria[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2014, 78(8): 1368-1373.
- [22] VAL S, KWON H J, ROSE M C, et al. Middle ear response of Muc5ac and Muc5b mucins to nontypeable haemophilus influenzae[J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 141(11): 997-1005.
- [23] BAKALETZ L O, NOVOTNY L A. Nontypeable haemophilus influenzae (NTHi) [J]. *Trends Microbiol*, 2018, 26(8): 727-728.
- [24] LACROSS N C, MARRS C F, GILSDORF J R. Population structure in nontypeable Haemophilus influenzae[J]. *Infect Genet Evol*, 2013, 14: 125-136.
- [25] LIN J, CAYE-THOMASEN P, TONO T, et al. Mucin production and mucous cell metaplasia in otitis media [J]. *Int J Otolaryngol*, 2012, 2012: 745325.
- [26] YANG D, LIU Z H, TEWARY P, et al. Defensin participation in innate and adaptive immunity[J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(30): 3131-3139.
- [27] SAYEED S, NISTICO L, STCROIX C, et al. Multifunctional role of human SPLUNC1 in Pseudomonas aeruginosa infection [J]. *Infect Immun*, 2013, 81(1): 285-291.
- [28] KAWANO H, HARUTA A, TSUBOI Y, et al. Induction of mucous cell metaplasia by tumor necrosis factor alpha in rat middle ear: the pathological basis for mucin hyperproduction in mucoid otitis media[J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2002, 111(5 Pt 1): 415-422.
- [29] KERSCHNER J E, MEYER T K, YANG C, et al. Middle ear epithelial mucin production in response to interleukin-6 exposure in vitro[J]. *Cytokine*, 2004, 26(1): 30-36.
- [30] ESPAHBODI M, SAMUELS T L, MCCORMICK C, et al. Analysis of inflammatory signaling in human middle ear cell culture models of pediatric otitis media[J]. *Laryngoscope*, 2021, 131(2): 410-416.
- [31] SMIRNOVA M G, BIRCHALL J P, PEARSON J P. In vitro study of IL-8 and goblet cells; possible role of IL-8 in the aetiology of o-

- titis media with effusion[J]. *Acta Otolaryngol*, 2002, 122(2): 146-152.
- [32] EHRlich G D, VEEH R, WANG X, et al. Mucosal biofilm formation on middle-ear mucosa in the chinchilla model of otitis media[J]. *JAMA*, 2002, 287(13): 1710-1715.
- [33] 顾兴智, 尤乐都斯·克尤木, 程秀琴, 等. 新疆慢性中耳炎细菌学分析及动态变化研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2014, 20(3): 223-237.
- [34] VROOM J M, DE GRAUW K J, GERRITSEN H C, et al. Depth penetration and detection of pH gradients in biofilms by two-photon excitation microscopy[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(8): 3502-3511.
- [35] KREFT J U, PICIOREANU C, WIMPENNY J W, et al. Individual-based modelling of biofilms[J]. *Microbiology (Read)*, 2001, 147(Pt 11): 2897-2912.
- [36] 苏莉莎, 彭涛, 冯俊. 慢性中耳炎细菌学动态研究及在细菌生物膜形成中的作用[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(4): 1747-1753.
- [37] HALL-STOODLEY L, HU F Z, GIESEKE A, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media[J]. *JAMA*, 2006, 296(2): 202-211.
- [38] BAKALETZ L O. Bacterial biofilms in otitis media; evidence and relevance[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2007, 26(10 Suppl): S17-S9.
- [39] HONG W, KHAMPANG P, KERSCHNER A R, et al. Antibiotic modulation of mucins in otitis media; should this change our approach to watchful waiting[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2019, 125: 134-140.
- [40] MORRIS L M, DEGAGNE J M, KEMPTON J B, et al. Mouse middle ear ion homeostasis channels and intercellular junctions[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39004.
- [41] 江坚. 健脾温阳化饮结合水通道蛋白治疗分泌性中耳炎浅析[J]. *光明中医*, 2019, 34(10): 1586-1587.
- [42] 席婕, 刘晖, 许珉. 水通道蛋白 1 表达检测在分泌性中耳炎诊断中的意义[J]. *陕西医学杂志*, 2015, 44(6): 731-732.
- [43] 霍炳杰, 常靓, 刘羽, 等. 耳聋左慈丸合通气散治疗慢性分泌性中耳炎的疗效及对血清水通道蛋白 1 及 4 水平的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(12): 191-194.
- [44] CHEN Z, WANG X, GAO L, et al. Regulation of MUC5AC mucin secretion by depletion of AQP5 in SPC-A1 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(3): 775-781.
- [45] AGGARWAL N R, CHAU E, GARIBALDI B T, et al. Aquaporin 5 regulates cigarette smoke induced emphysema by modulating barrier and immune properties of the epithelium[J]. *Tissue Barriers*, 2013, 1(4): e25248.
- [46] SIDHAYE V K, CHAU E, SRIVASTAVA V, et al. A novel role for aquaporin-5 in enhancing microtubule organization and stability[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38717.
- [47] 李进让, 肖水芳, 李湘平, 等. 咽喉反流性疾病诊断与治疗专家共识(2015 年)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 51(5): 324-326.
- [48] HARTL T T, CHADHA N K. A systematic review of laryngomalacia and acid reflux[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2012, 147(4): 619-626.
- [49] WELDON D. Laryngopharyngeal reflux and chronic sinusitis[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2007, 7(3): 197-201.
- [50] 张志娟. 咽喉反流性疾病与复发慢性鼻-鼻窦炎相关性研究[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2020.
- [51] FORMÁNEK M, KOMÍNEK P, MATOUŠEK P, et al. Comparison of three methods used in the diagnosis of extraesophageal reflux in children with chronic otitis media with effusion[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2015, 2015: 547959.
- [52] CRAPKO M, KERSCHNER J E, SYRING M, et al. Role of extra-esophageal reflux in chronic otitis media with effusion[J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(8): 1419-1423.