

· 论 著 ·

术后鼻黏膜组织嗜酸性粒细胞阳离子蛋白及趋化因子的变化

施祝良, 张学渊, 黄洁

[摘要] **目的** 观察嗜酸性粒细胞阳离子蛋白(ECP)及嗜酸性粒细胞趋化因子(eotaxin)在鼻内镜术后鼻腔黏膜转归过程中表达的变化,并分析两者的相关性,探讨嗜酸性粒细胞聚集活化对鼻内镜术后鼻腔黏膜转归的影响。**方法** 采用酶免疫荧光分析技术检测 ECP,采用 Western-blot 技术检测 eotaxin,分析 ECP 及 eotaxin 在慢性鼻-鼻窦炎患者行鼻内镜术后鼻腔黏膜转归过程中的表达变化。**结果** ECP 及 eotaxin 蛋白在正常鼻黏膜中少量表达,术后随时间呈现如下变化规律:①术后 1~2 周较术前明显降低;②术后 4~6 周达高峰,基本恢复至术前水平;③术后 10~12 周回落,接近于术后 1~2 周水平。④ eotaxin 和 ECP 在鼻内镜术后鼻腔黏膜转归过程中呈正相关关系,相关系数为 0.719。**结论** eotaxin、ECP 在鼻内镜术后鼻腔黏膜的表达动态变化与鼻腔病变的转归过程相对应。

[关键词] 嗜酸性粒细胞阳离子蛋白;嗜酸性粒细胞趋化因子;细胞因子;鼻内镜手术;鼻窦炎

[中图分类号] R765.21 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2011)05-0419-03

Evaluation of expression of cationic protein and eotaxin of eosinophils in sinus cavity mucosa after endoscopic sinus surgery

SHI Zhu-liang, ZHANG Xue-yuan, Huang-jie. Department of Otorhinolaryngology, 113 Hospital of PLA, Ningbo, Zhejiang 315040, China

[Abstract] **Objective** To observe the expression of eotaxin and ECP during different phrases of process of mucosa in sinus cavity after endoscopic sinus surgery, and investigate the roles of eosinophils in the pathogenesis of CRS and the clinical mucosa recovery. **Methods** The expression of eotaxin and ECP during different phrase of process of mucosa in sinus cavity were determined by using Western-blot and enzyme-fluoroimmunoassay respectively. The datas were analyzed with ANOVA and linear correlation with SPSS 11.0 software.

Results From the first to second week after surgery, there was a significant decrease in secretion of eotaxin and ECP. The secretion of eotaxin and ECP rose back at the 4 to 6 week after operation, and tended to the level of the first to second at the 10 to 12 week after operation. Eotaxin was positively correlated to the secretion of ECP during the mucosa recovery in operative cavity ($r = 0.719, P < 0.01$). **Conclusion** Dynamic expressions of eotaxin and ECP in the operative cavity mucosa are correspondence to the clinical mucosa recovery. Our data demonstrate the gathering and acting of eosinophils related to the edema and polyoid hypertension closely.

[Key words] eosinophilcationic protein; eotaxin; eosinophil; functional endoscopic sinus surgery (FESS); sinusitis

嗜酸性粒细胞的聚集、活化被认为与鼻腔内黏膜水肿、息肉形成密切相关。我们选择慢性鼻-鼻窦炎不伴息肉(chronic sinusitis without nasal polyps, CRSsNP)患者术后黏膜转归过程为研究对象^[1]。通过对手术患者鼻腔黏膜组织中嗜酸性粒细胞阳离子蛋白(ECP)及嗜酸性粒细胞趋化因子(eotaxin)动态

变化的研究,探讨嗜酸性粒细胞聚集、活化与鼻内镜术前、术后鼻腔黏膜转归的关系,为鼻内镜术后的治疗提供依据,现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 病例分组及取材 选取 2005 年 3 月至 6 月我科收治的 CRSsNP 患者 10 例为研究对象,所有病例均于术前(术前组)、术后 1~2 周(术后 A 组)、术后 4~6 周(术后 B 组)及术后 10~12 周(术后 C 组)取上颌窦口周边水肿的鼻黏膜组织进行检测。对照组为 10 例同期鼻中隔偏曲或单纯上颌窦囊肿患者

作者简介: 施祝良(1970-),男,浙江宁波人,硕士研究生,副主任医师,从事耳鼻咽喉头颈外科临床工作

作者单位: 315040 浙江宁波,解放军 113 医院耳鼻咽喉科

通讯作者: 张学渊, E-mail: yingse@public.cta.cq.cn

的中鼻甲黏膜(含有少量嗜酸性粒细胞的鼻腔黏膜)。上述标本离体后迅速于液氮中保存备用。鼻内镜术前停用鼻喷激素 1 周,术中处理泡状中鼻甲、严重鼻中隔偏曲等明显的局部病变,通畅鼻窦引流,手术前后合理使用抗生素,不使用鼻喷激素。

1.2 实验试剂 Immulite 化学发光分析仪及配套试剂购自美国 DPC 公司;大鼠抗人 eotaxin 多克隆抗体为 Santa Cruz Biotechnology 公司产品;辣根过氧化物酶标记的兔抗大鼠的二抗为北京中山生物技术有限公司产品;RIPA 蛋白提取试剂盒为上海申能博彩生物科技有限公司产品。

1.3 检测方法

1.3.1 鼻黏膜组织的裂解及组织总蛋白的测定 采用文献[2]方法测定。

1.3.2 鼻黏膜组织中 ECP 的表达 采用文献[2]方法测定。

1.3.3 鼻黏膜 eotaxin 的表达 用 Western-blot 检测。取上述方法提取的组织上清液用 N-3(羟甲基)甲基甘氨酸-甘氨酸系统电泳,电转移至 0.22 μm 硝酸纤维素膜,该膜经含 1% 牛血清的三羟甲基氨基甲烷生理盐水缓冲液(50 mmol pH 7.5)振荡 2 h,于 4℃ 封闭过夜后,与大鼠抗人 eotaxin 多克隆抗体(稀释度 1:500)在 4℃ 下孵育过夜,再与辣根过氧化物酶标记的兔抗大鼠的二抗(稀释度 1:500)室温下孵育 90 min,最后经 ECL 发光试剂盒显影,X 线胶片记录结果,用 quantity one Version 4.4 软件测定蛋白条带的积分密度(IOD)。

1.4 统计学处理 应用统计软件 SPSS 11.0 对计量数据行单因素方差分析,SNK 法两两比较,两组数据分别进行正态性检验;并行直线相关性分析;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

ECP 及 eotaxin 鼻内镜术后随时间呈现如下变化规律:①术后 1~2 周较术前病变黏膜组明显降低;②术后 4~6 周达高峰,基本恢复至术前水平;③术后 10~12 周回落,接近于术后 1~2 周水平。④手术前后鼻腔黏膜 ECP 及 eotaxin 的表达呈正相关,相关系数 $\gamma = 0.719, P = 0.004$ 。见表 1。

3 讨论

鼻内镜术后黏膜上皮化是一个动态而较长之过程,约需 3~6 个月时间,期间会出现鼻腔黏膜水肿、囊泡、小息肉,有部分患者不能完成黏膜上皮化,鼻窦炎再次发作;其机制不太明晰,与此相关的细胞因

表 1 手术前后鼻黏膜组织中 ECP 及 eotaxin 含量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ECP 含量(比值)*	eotaxin(IOD)
对照组	9.127 ± 2.27	0.348 ± 0.09
术前组	136.91 ± 63.90	0.722 ± 0.181
术后 A 组	32.66 ± 10.81 [#]	0.410 ± 0.137 [#]
术后 B 组	126.78 ± 46.35	0.800 ± 0.229
术后 C 组	28.11 ± 8.48	0.464 ± 0.110

注: * 为 ECP 含量与组织总蛋白的含量之比/ 10^{-6} 。与术前组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与术后 C 组比较, $^{\Delta}P > 0.05$

子研究文献不多^[3]。本研究通过对鼻内镜手术前后不同时期鼻黏膜组织中和 ECP 和 eotaxin 表达的测定,试图从分子水平探讨嗜酸性粒细胞聚集活化对鼻内镜术后鼻腔黏膜上皮化的影响,为鼻内镜术后的治疗提供一定的理论依据。

ECP 含量代表嗜酸性粒细胞的活性^[2,4]。其生物活性主要表现在细胞毒性和非细胞活性两方面。细胞毒性表现为 ECP 对细胞膜具有破坏作用,在被攻击的细胞膜上形成小孔,使水分子等小分子物质可自由通过,细胞因渗透压下降肿胀坏死;非细胞活性在呼吸道炎症中主要表现为刺激嗜碱性粒细胞释放组胺、呼吸道黏液分泌增加。eotaxin 被认为是目前为止发现的唯一能有效选择性激活嗜酸性粒细胞的细胞因子,也被认为对嗜酸性粒细胞趋化作用最强的细胞因子之一^[5]。eotaxin 在鼻腔黏膜中增多时,表明局部嗜酸性粒细胞增多,并被激活,活化的嗜酸性粒细胞脱颗粒,ECP 分泌也随之增加;ECP 的攻膜作用使更多的嗜酸性粒细胞溶解,嗜酸性粒细胞内的 eotaxin 释放,因而 ECP 及 eotaxin 在鼻黏膜病变中具有相互促进作用^[6-7]。

本实验提示,术后初期鼻腔黏膜 ECP 及 eotaxin 的表达较术前明显降低,可能是因为刚手术后鼻腔内病变黏膜及其所包含的炎症细胞、细胞因子明显减少;另外,鼻内镜手术是一个创伤,术后患者应激性肾上腺皮质激素升高,抑制鼻腔嗜酸性粒细胞炎症的发展和细胞因子的表达。术后 4~6 周 ECP 及 eotaxin 的表达明显高于术后 10~12 周组。表明此期鼻腔黏膜中有较多的嗜酸性粒细胞浸润,且其活性较高。嗜酸性粒细胞被激活后分泌细胞因子增加,由于当时鼻腔黏膜尚未完成上皮化,纤毛功能恢复不全,不能形成“黏液毯”^[8],包括 eotaxin 在内的细胞因子不能及时带走,进而募集并激活以嗜酸性粒细胞为主的炎性细胞,这些炎性细胞又分泌各类细胞因子,形成“自我放大”,所以 eotaxin 表达较多,

手术区黏膜水肿明显,部分呈息肉样变^[9]。术后 2~3 个月,鼻腔局部炎症消退,大部分患者鼻腔黏膜逐步完成上皮化。

本实验提示,鼻内镜术后鼻腔黏膜中 ECP、eotaxin 的表达呈现动态变化,与鼻腔黏膜的修复转归过程相对应;在临床上,应该加强这段时期的治疗(换药、冲洗、局部用药),以利尽早完成术后鼻腔黏膜组织的修复^[10]。

【参考文献】

[1] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 慢性鼻-鼻窦炎诊断和治疗指南[J]. 中国临床医生,2010,38(4):73-74.

[2] 施祝良,张学渊. 嗜酸性粒细胞阳离子蛋白在鼻内镜术鼻腔黏膜转归过程中的表达[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志,2005,19(14):627-628.

[3] 王鹏举,沈莹. 慢性鼻窦炎患者手术前后血清表皮生长因子含量的变化[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2011,25(2):49-50.

[4] Behnecke A, Mayr S, Schick B. Evaluation of ECP release from in-

tact tissue biopsies from patients with nasal polyps [J]. Inflamm Res,2008,57(1):65-66.

[5] Akuthota P, Wang HB, Spencer LA. Immunoregulatory roles of eosinophils a new look at a familiar cell[J]. Clin Exp Allergy,2008,38(8):1254-1263.

[6] 袁晖,杨蓓蓓,魏红权. 鼻息肉组织中杯状细胞密度与术后疗效的相关性分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2008,22(11):518-519.

[7] Sun DI, Joo YH, Auo HJ. Clinical significance of eosinophilic cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polypsis[J]. Eur Arch Oto-rhino-laryngol,2009,266(7):981-986.

[8] 张勋,胡丽敏. 变应性鼻及鼻窦炎相关细胞及细胞因子[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,31(4):235-237.

[9] 夏忠芳,孔维佳,乐建新,等. 鼻息肉组织及上皮细胞的形态学特征与嗜酸性粒细胞阳离子蛋白的表达[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2008,22(17):787-789.

[10] 关志华,陈立萍,黄超洋,等. 鼻后滴漏综合征治疗的临床研究[J]. 东南国防医药,2011,13(3):234-235.

(收稿日期:2011-05-09;修回日期:2011-08-17)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)



· 短 篇 ·

海军飞行学员训练前后皮肤病调查

陈文辉¹, 李晓鹏², 顾晓芳³, 刘静¹, 许德华¹

【关键词】 军事训练; 飞行学员; 皮肤病

【中图分类号】 R751 【文献标志码】 B 【文章编号】 1672-271X(2011)05-0421-02

为了解海军飞行学员皮肤病与军事训练之间的关系,探讨其患病有关因素,减少患病率,提高战斗力。2005 至 2009 年对部分飞行学员训练前后皮肤病情况进行了调查。

1 临床资料

1.1 一般情况 本组 413 例,男,年龄 16~19 岁,身高 165~180 cm。

1.2 方法 对调查人员进行统一培训。采用全军皮肤病统一调查表对学员进行流行病学调查,内容包括单位、年龄、性别、训练强度、皮肤病种及影响因素等。由皮肤病专科医生进行提问、体检和登记,门诊部人员配合进行工作。

1.3 结果 训练前后皮肤病情况 见表 1。训练前、训练后 3 个月和 1 年进行皮肤病专科检查。从表 1 中可以看出

毛囊炎,浅部真菌病、疣、皮炎湿疹、日光性皮炎、荨麻疹患病率在训练 3 个月 after 明显增加,训练 1 年后与训练 3 个月 after 比较,浅部真菌病、疣、皮炎湿疹等患病率明显减少。

表 1 413 例训练前后皮肤病情况比较[(例) %]

病种	训练前	训练 3 个月后	训练 1 年后
毛囊炎	8(1.94)	29(7.02)	26(6.29)
浅部真菌病	31(7.51)	85(20.58)	69(16.71)
疣	11(2.67)	33(7.99)	24(5.81)
皮炎湿疹	13(3.15)	34(8.23)	24(5.81)
日光性皮炎	2(0.48)	11(2.67)	6(1.45)
荨麻疹	4(0.97)	13(3.15)	10(2.42)
单纯糠疹	9(2.18)	12(2.91)	10(2.42)
痤疮	31(7.51)	34(8.23)	35(8.23)
疥疮	0(0.0)	4(0.97)	0(0.0)
合计	109(26.39)	255(61.74)	204(49.39)

作者单位: 1. 100048 北京,海军总医院海空勤体检中心;
2. 100048 北京,海军总医院皮肤科;3. 264001 山东烟台,海军航空工程学院门诊部