

## 临床经验

## IL-32 在变应性鼻炎及慢性鼻-鼻窦炎鼻黏膜组织中的表达

钱旭东, 周锦川, 邵先安, 王 东, 沈子龙, 叶 青, 谢元璐

**【摘要】 目的** 探讨白细胞介素-32(IL-32)在驻蚌军人变应性鼻炎及慢性鼻窦炎鼻黏膜组织中的表达水平及其差异。**方法** 从住院军人患者中分别收集变应性鼻炎并发鼻中隔偏曲 24 例(变应性鼻炎并发鼻中隔偏曲组),慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉 26 例(慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉组),慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉 31 例(慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉组),同时收集单纯鼻中隔偏曲 17 例作为对照组。采用 ELISA 法检测各组鼻黏膜组织匀浆中 IL-32 的浓度。**结果** 变应性鼻炎并发鼻中隔偏曲鼻黏膜组织中 IL-32 表达量( $2.981 \pm 1.106$ ) $\mu\text{g/L}$ 、慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉组( $3.007 \pm 0.813$ ) $\mu\text{g/L}$ 、慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉组( $3.808 \pm 2.963$ ) $\mu\text{g/L}$ ,3 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3 组均明显高于对照组( $1.150 \pm 0.285$ ) $\mu\text{g/L}$ ,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** IL-32 可能参与变应性鼻炎的前期发生,并伴随慢性鼻-鼻窦炎发生、发展的全过程。

**【关键词】** 白细胞介素-32;变应性鼻炎;慢性鼻-鼻窦炎

**【中图分类号】** R765.21;R765.4

**【文献标志码】** B

**【文章编号】** 1672-271X(2018)02-0189-03

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.02.019

## 0 引言

变应性鼻炎(AR)与慢性鼻-鼻窦炎(CRS)均为鼻科常见多发疾病,前者为 IgE 介导的 I 型变态反应性疾病,后者多为慢性感染性炎。近年来两者发病率不断升高,对部队官兵健康情况已造成显著影响。有研究表明,驻徐部队官兵变应性鼻炎整体患病率 17.1%,而确诊的患者中已影响睡眠及军事训练者分别有 44.9%和 75.6%<sup>[1]</sup>。蚌埠的住院军队病员耳鼻喉科疾病谱中,鼻科疾病发病率最高,其中慢性鼻-鼻窦炎高达 22.43%,仅在鼻中隔偏曲(38.46%)之下<sup>[2]</sup>。目前变应性鼻炎与慢性鼻-鼻窦炎发病机制尚未完全阐明,对我国军人群体在两种鼻科疾病的基础方面进行有针对性的研究,有助于疾病临床诊治的进步,并改善广大官兵的健康水平和生活质量,提高部队战斗力。白细胞介素-32(Interleukin-32, IL-32)是一种新近发现的细胞因子,研究显示其参与多种炎症性疾病及肿瘤的发生、发展,起到一定的促进作用<sup>[3]</sup>。本研究拟通过

对变应性鼻炎与慢性鼻-鼻窦炎住院军队病员的鼻黏膜组织中 IL-32 的表达情况进行检测,以探讨 IL-32 与变应性鼻炎、慢性鼻-鼻窦炎发生发展的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 从 2016 年 10 月至 2017 年 8 月在我院耳鼻咽喉头颈外科住院治疗的军人患者中,收集变应性鼻炎并发鼻中隔偏曲患者、慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis without nasal polyps, CRSsNP)患者、慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉(chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNP)患者,同时收集单纯鼻中隔偏曲患者作为对照组。①变应性鼻炎并发鼻中隔偏曲组 24 例中,男 20 例,女 4 例,年龄 19~40( $28.9 \pm 6.5$ )岁,所有患者均符合《变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年,天津)》中变应性鼻炎诊断标准,且近 1 月内未接受抗组胺或激素等治疗<sup>[4]</sup>。②慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉组 26 例中,男 19 例,女 7 例,年龄 19~45( $30.4 \pm 6.1$ )岁,所有患者均符合《慢性鼻-鼻窦炎诊断和治疗指南(2012 年,昆明)》中慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉诊断标准。③慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉组 31 例中,男 26 例,女 5 例,年龄 22~53( $34.7 \pm 7.9$ )岁,所有患者均符合上述指南中慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉的诊断标准<sup>[5]</sup>。④对照组 17 例中,男 14 例,女 3 例,年龄 20~29( $24.1 \pm 2.2$ )岁,以单纯鼻中隔偏曲入院行

**基金项目:**南京军区医学科技创新重点课题(15ZD016);蚌埠医学院研究生科研创新计划项目(Byyexz1612)

**作者单位:**233000 蚌埠,蚌埠医学院附属解放军第一二三医院(非直属)耳鼻喉科(钱旭东、周锦川、王 东、沈子龙、叶 青、谢元璐),检验科(邵先安)

**通信作者:**周锦川, E-mail:zhoujc97@163.com

手术治疗,均已排除合并鼻科其他炎症性疾病者。各组一般情况差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究通过医院伦理委员会审批(批准号:123LL-16-32),所有受试者均已充分告知并签署知情同意书。

**1.2 标本采集** 各组均于术中取患侧鼻腔中鼻甲前端内侧相同位置鼻黏膜组织全层,以冰等渗盐水洗去血液并用滤纸吸干。以分析天平称取 100 mg 组织,眼科剪剪成小块后置入玻璃匀浆管中,并加入预冷的 1×PBS 溶液 1 mL。将玻璃匀浆管置入冰盒内研磨 5 min,制成组织匀浆后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜。反复冻融 2 次以使细胞裂解, $2\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下  $5\,000\times g$ 离心 5 min,取上清液进行检测,多余上清液保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

**1.3 试剂与方法** 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ABC-ELISA)测定组织匀浆及血清中 IL-32 的浓度。IL-32 ELISA 试剂盒采购于 Cusabio 公司(CSB-E12074h)。所有操作步骤均严格按照说明书指示进行,光密度值由 DNM-9602 酶标分析仪在 450 nm 处测得。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS19.0 统计学软件,检测结果以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。服从正态分布和方差齐性的数据采用单因素方差分析行组间对比;若数据显示非正态分布或方差不齐,则采用 Mann-Whitney U 检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

变应性鼻炎并发鼻中隔偏曲组鼻黏膜组织匀浆中 IL-32 的平均浓度为( $2.981\pm 1.106$ )  $\mu\text{g/L}$ ,慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉组为( $3.007\pm 0.813$ )  $\mu\text{g/L}$ ,慢性鼻-鼻窦炎伴有鼻息肉组为( $3.808\pm 2.963$ )  $\mu\text{g/L}$ ,3 组间比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。此 3 组数据均明显高于对照组的( $1.150\pm 0.285$ )  $\mu\text{g/L}$ ,差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。

## 3 讨 论

变应性鼻炎在我国的发病率呈不断升高趋势。目前在 4%~38%,各地区视生活环境及污染程度等而异<sup>[6]</sup>。主流观点认为,AR 的发病是由 2 型辅助类 T 细胞优势分化、1 型辅助类 T 细胞反应不足,导致 B 细胞分泌 sIgE 增多,促使肥大细胞等释放组胺增加所致<sup>[7]</sup>。除了 Th1/Th2 失衡,Treg、Th9、Th17、Th22 及 Nods 样模式识别受体、嗜酸性粒细胞相关因子等在 AR 发生发展中的作用也日益受到

关注<sup>[8-10]</sup>。

慢性鼻-鼻窦炎分为不伴鼻息肉和伴有鼻息肉两类,即 CRSsNP 和 CRSwNP。CRSwNP 较 CRSsNP 炎症程度更高,机制更为复杂,且复发率较高。从组织病理学研究中可以发现,CRSwNP 发病中 Th2 细胞往往占据关键地位,而 CRSsNP 更加倾向于 Th1 细胞主导的炎症反应,可见两者虽然在临床症状及体征上有一定程度的相似,但机制方面差别迥异<sup>[11]</sup>。另外,由于 CRSwNP 形成息肉的机制受到特异性体质、感染源及嗜酸性粒细胞等较多因素影响,其与变应性疾病是否有关系目前尚未明确<sup>[12-13]</sup>。

IL-32 于 1992 年被 Dahl 等<sup>[14]</sup>发现由 IL-2 刺激 NK 细胞表达,遂称为 NK4 转录本,后于 2005 年由 Kim 等<sup>[15]</sup>正式确定并命名。此后其作为一种功能多样的新型促炎细胞因子而受到广泛关注。IL-32 有至少 9 种剪接变体,其中以 IL-32 $\gamma$  生物活性最强。其既可以被 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-12、IL-18 等诱导 T 细胞、单核细胞、上皮细胞与自然杀伤细胞等释放,也可诱导 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IL-10 以及 MIP-2 等表达,可见 IL-32 同时对 Th1、Th2 两方面的因子都有诱导作用,因此在纵横交错的细胞因子调控网络中占据关键地位。另外,IL-32 还参与机体免疫反应和细胞凋亡的调节,在克罗恩病、胃癌、乙型肝炎、哮喘等多种炎症或肿瘤疾病的发病机制中起到促进作用,但其具体作用机制目前说法不一,尚无定论<sup>[16]</sup>。

本研究显示,IL-32 在 AR 伴鼻中隔偏曲组中明显比单纯鼻中隔偏曲对照组表达量高( $P<0.01$ ),可以认为其参与了 AR 的发生、发展。AR 与变应性哮喘作为发于呼吸道不同位置的同类疾病,同样受到 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 等多种细胞因子的调控。而体内 IL-32 水平升高可激活 NF- $\kappa$ B 途径、p38 MAPK 磷酸化通路、Caspase-1 和 Caspase-3 等多条通路进行信号转导,以此诱导这些因子的大量表达,进而导致炎细胞聚集和气道高反应。由此可见,IL-32 可能被作为防治 AR 的一个新的靶点,可依此进行后续研究加以论证。

实验结果还表明 IL-32 对 CRS 的发病也起到了促进作用,但 AR 组 IL-32 的平均浓度较两个 CRS 组为低。对于无息肉的 CRSsNP,考虑为 IL-32 易由 Th1 型细胞因子诱导,而 AR 的 I 型变态反应最终为 Th2 的优势分化,虽然 Th1 因子的表达量为平衡 Th2 也会有小幅增长,但终究不及 Th1 为主导的

CRSsNP 的直接诱导作用;对于 CRSwNP 而言,变应性鼻炎多季节性发作,而鼻息肉作为一种长期慢性炎症,炎细胞及炎性因子对鼻黏膜的浸润较为久远,所以促炎因子 IL-32 的数量多于 AR。长期的炎症浸润和 Th1 因子的直接诱导,导致了 AR 患者鼻黏膜中 IL-32 水平低于 CRS 患者。

另一方面,CRSwNP 组较 CRSsNP 组 IL-32 的浓度稍高,鉴于 IL-32 可明确引起 Th1 系列细胞因子升高,遂考虑为其参与 CRSsNP 的发生后并未消失,长期存在于鼻腔局部组织中,并通过招募作用聚集炎症细胞,从而参与了 Th2 主导的 CRSwNP 的鼻黏膜息肉样变过程,加重炎症程度。除可能由于组织匀浆稀释倍数不同导致的数值差异外,此结果与唐金勇等<sup>[17]</sup>研究结果一致,可见 IL-32 很可能伴随了 CRS 发病与发展的全过程,并与其严重程度相关。不过 CRSwNP 组与 CRSsNP 组差异无统计学意义,不同于 Keswani 等<sup>[18]</sup>提出的 CRSwNP 中 IL-32 表达量明显高于 CRSsNP 的观点,这是否由东西方人种的差异所致尚有赖于进一步的验证。

军人群体有其特殊性,如集中度高,主体为青年男性,训练强度大,作业环境复杂。陌生的气候环境和常于野外训练的需要为变应性疾病及慢性持续性感染提供了可乘之机。空气中的花粉、尘螨、飞絮和颗粒状漂浮物易作为变应原导致变应性鼻炎,发作时鼻痒、连续性喷嚏、鼻塞、流清水样涕等症状可较为明显<sup>[19]</sup>。慢性鼻-鼻窦炎与细菌感染、变态反应、真菌定植、代谢障碍及环境等多因素相关,可由长期鼻塞、流黄脓涕等引起慢性缺氧和咽部感染,进而造成头痛、头昏、咳嗽、嗅觉下降、记忆力减退等症状<sup>[20]</sup>。两种鼻科慢性炎症均对官兵们日常生活及训练影响较为严重。IL-32 作为一种早期即与变应性鼻炎、慢性鼻-鼻窦炎密切相关的促炎性细胞因子,可能成为预后判断新的指标,对 IL-32 因子表达的调节亦可能成为两种鼻科炎症新的治疗途径。

#### [参考文献]

- [1] 燕志强,单兵,许保健,等.驻徐部队变应性鼻炎流行病学调查及分析[J].解放军医学杂志,2012,37(3):257-259.
- [2] 王东,谢元璐,沈子龙,等.耳鼻喉科住院军队病员疾病谱分析[J].东南国防医药,2016,18(6):575-577,605.
- [3] Khawar MB, Abbasi MH, Sheikh N, et al. IL-32: A Novel Pluripotent Inflammatory Interleukin, towards Gastric Inflammation, Gastric Cancer, and Chronic Rhino Sinusitis[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016:8413768. DOI: 10.1155/2016/8413768
- [4] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组.变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015年,天津)[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2016,51(1):6-24.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,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(2012年,昆明)[J].中国医刊,2013,48(11):103-105.
- [6] Zheng M, Wang X, Bo M, et al. Prevalence of allergic rhinitis among adults in urban and rural areas of china: a population-based cross-sectional survey[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2015,7(2):148-157.
- [7] Lloyd CM, Saglani S. Development of allergic immunity in early life[J]. Immunol Rev, 2017,278(1):101-115.
- [8] 程雷,钱俊俊,田慧琴.变应性鼻炎研究的若干进展[J].山东大学耳鼻喉眼学报,2017,31(3):1-3.
- [9] 胡瑶,季红健,严道南.Nods样模式识别受体在变应性鼻炎大鼠模型中的表达及意义[J].医学研究生学报,2016,29(11):1171-1176.
- [10] 朱瑾,韩德民,周锦川,等.嗜酸粒细胞亲合素 N 端突变体重组腺病毒在小鼠变应性鼻炎中的作用[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2006,41(3):176-180.
- [11] Bachert C, Zhang L, Gevaert P. Current and future treatment options for adult chronic rhinosinusitis: Focus on nasal polyposis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2015,136(6):1431-1440.
- [12] 兰宁,徐红.趋化因子 eotaxin 在慢性鼻窦炎鼻腔分泌物中的意义[J].医学研究生学报,2014,27(5):507-509.
- [13] 陈福权.变态反应与慢性鼻-鼻窦炎[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,31(1):18-22.
- [14] Dahl CA, Schall RP, He HL, et al. Identification of a novel gene expressed in activated natural killer cells and T cells[J]. J Immunol, 1992,148(2):597-603.
- [15] Kim SH, Han SY, Azam TA, et al. Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNFalpha[J]. Immunity, 2005,22(1):131-142.
- [16] Nam SY, Kim HM, Jeong HJ. Attenuation of IL-32-induced caspase-1 and nuclear factor-κB activations by acteoside[J]. Int Immunopharmacol, 2015,29(2):574-582.
- [17] 唐金勇,曹春华,文浩杰.IL-32 在慢性鼻窦炎组织中的表达及机理研究[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2014,20(3):208-210.
- [18] Keswani A, Chustz RT, Suh L, et al. Differential expression of interleukin-32 in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps[J]. Allergy, 2012,67(1):25-32.
- [19] 李宗华,郝银丽,邬玉龙.某部军人变应性鼻炎的流行病学调查[J].西北国防医学杂志,2016,37(3):190-191.
- [20] 姜宇英,诸葛盼,尤慧华,等.慢性鼻-鼻窦炎患者的主观症状调查及护理对策[J].解放军护理杂志,2011,28(7):11-13.

(收稿日期:2017-07-15; 修回日期:2017-11-07)

(责任编辑:叶华珍)