

IL-12、TGF- β_1 在 CRSwNP 组织中的表达水平及其临床意义

侯薇, 徐璐, 苏涛

陕西中医药大学附属医院耳鼻喉科, 陕西 咸阳 712000

【摘要】 目的 研究白介素-12 (IL-12)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 在慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)组织中的表达水平及其临床意义。方法 将 2020 年 1 月至 2020 年 12 月于陕西中医药大学附属医院就诊的 58 例 CRSwNP 患者纳入观察组, 另选择同期于本院就诊的 55 例慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉(CRSsNP)患者纳入对照组。比较观察组息肉组织及对照组鼻黏膜组织中 IL-12、TGF- β_1 表达水平的差异, 根据 Lund-Mackay 内镜评分结果将观察组患者分为轻度组和重度组, 根据炎性细胞浸润比例不同将观察组患者分为嗜酸性粒细胞组和非嗜酸性粒细胞组, 根据疾病复发情况将观察组患者分为复发组和未复发组, 比较不同组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平, 采用 Spearman 等级相关分析 IL-12、TGF- β_1 表达与嗜酸性粒细胞浸润百分比的相关性。结果 观察组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平分别为(42.93±10.52) pg/mL、(529.89±147.67) ng/mL, 明显高于对照组的(33.11±9.87) pg/mL、(455.39±134.04) ng/mL, 差异均具有统计学意义($P<0.05$); 轻度组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平分别为(40.16±9.64) pg/mL、(515.78±65.95) ng/mL, 明显低于重度组的(49.61±9.98) pg/mL、(563.92±57.84) ng/mL, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 嗜酸性粒细胞组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平分别为(47.08±10.15) pg/mL、(556.32±74.58) ng/mL, 明显高于非嗜酸性粒细胞组的(36.14±10.68) pg/mL、(486.64±81.07) ng/mL, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 复发组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平分别为(48.78±8.35) pg/mL、(571.29±74.84) ng/mL, 明显高于未复发组的(40.08±9.06) pg/mL、(509.72±88.65) ng/mL, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 经 Spearman 等级相关分析结果显示, IL-12、TGF- β_1 表达水平均与嗜酸性粒细胞浸润百分比呈正相关($P<0.05$)。结论 IL-12、TGF- β_1 在 CRSwNP 患者鼻息肉组织中呈现高表达水平, 疾病进展以及嗜酸性粒细胞浸润程度较严重的患者 IL-12、TGF- β_1 表达水平较高, 术后疾病复发风险也较高。

【关键词】 慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉; 嗜酸性粒细胞; 白介素-12; 转化生长因子 β_1 ; 表达水平; 临床意义

【中图分类号】 R765.4⁺1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2022)19-2460-04

Expression levels and clinical significance of IL-12 and TGF- β_1 in CRSwNP tissues. HOU Wei, XU Lu, SU Tao. Department of Otorhinolaryngology, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To study the expression levels and clinical significance of interleukin-12 (IL-12) and transforming growth factor β_1 (TGF- β_1) in chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) tissues. **Methods** A total of 58 patients with CRSwNP treated in Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine were enrolled as the observation group between January 2020 and December 2020, while 55 patients with chronic rhinosinusitis without nasal polyps (CRSsNP) during the same period were enrolled as the control group. The differences in the expression levels of IL-12 and TGF- β_1 in polyp tissues of observation group and nasal mucosa tissues of control group were compared. According to Lund-Mackay endoscopy scores, patients in the observation group were divided into mild group and severe group. According to different proportions of inflammatory cells infiltration, patients in the observation group were divided into eosinophil group and non-eosinophil group. According to disease recurrence, patients in the observation group were divided into recurrence group and non-recurrence group. The expression levels of IL-12 and TGF- β_1 in different groups were compared. The correlation between IL-12, TGF- β_1 levels and percentage of eosinophil infiltration was analyzed by Spearman rank correlation analysis. **Results** The expression levels of IL-12 and TGF- β_1 in nasal polyp tissues in the observation group were (42.93±10.52) pg/mL and (529.89±147.67) ng/mL, significantly higher than (33.11±9.87) pg/mL, (455.39±134.04) ng/mL in the control group ($P<0.05$). The expression levels of IL-12 and TGF- β_1 in mild group were (40.16±9.64) pg/mL and (515.78±65.95) ng/mL, significantly lower than (49.61±9.98) pg/mL, (563.92±57.84) ng/mL in severe group ($P<0.05$). The expression levels of IL-12 and TGF- β_1 in eosinophil group were (47.08±10.15) pg/mL and (556.32±74.58) ng/mL, significantly higher than (36.14±10.68) pg/mL, (486.64±81.07) ng/mL in non-eosinophil group ($P<0.05$). The expression levels of IL-12 and TGF- β_1 in recurrence group were (48.78±8.35) pg/mL and (571.29±74.84) ng/mL, significantly higher than (40.08±9.06) pg/mL, (509.72±88.65) ng/mL in non-recurrence group ($P<0.05$). Spearman rank correlation analysis showed that expression levels of IL-12 and TGF- β_1 were positively

correlated with percentage of eosinophil infiltration ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of IL-12 and TGF- β_1 in nasal polyp tissues are up-regulated in CRSwNP patients, which are relatively higher in patients with disease progression and severe eosinophil infiltration, and the risk of postoperative disease recurrence is also relatively higher.

【Key words】 Chronic rhinosinusitis with nasal polyp; Eosinophil; Interleukin-12; Transforming growth factor β_1 ; Expression level; Clinical significance

慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis with nasal polyp, CRSwNP)是一种以鼻黏膜炎症和组织重构为典型特征的慢性疾病。既往研究统计结果显示,该疾病在我国发病率为2%~8%^[1],其发病机制可能与基因遗传及外界环境因素影响相关,患者临床症状以持续性鼻塞、流涕为主要表现,同时可能伴随嗅觉减退和味觉丧失,严重时甚至引起呼吸困难或引发颅、眼部相关并发症^[2-3]。现阶段临床诊断CRSwNP主要依据症状表现结合鼻内镜检查结果综合判定鼻腔健康状况,部分学者指出CRSwNP患者鼻黏膜组织发病期间受炎症细胞浸润,对局部组织进行采样并进行免疫病理学检测,可获取炎症进展信息,有助于临床进一步了解机体免疫机制^[4]。白介素-12(interleukin-12, IL-12)参与初始T细胞向Th1细胞的分化进程,可刺激T细胞发挥免疫功能,属于多效细胞因子^[5];转化生长因子 β_1 (transforming growth factor-beta1, TGF- β_1)能够调控上皮细胞的生长增殖,鼻息肉的形成和纤维化转变可能受其影响^[6]。基于此,本研究分析CRSwNP患者鼻息肉组织中IL-12、TGF- β_1 表达水平,并探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选取2020年1月至2020年12月于陕西中医药大学附属医院就诊的58例CRSwNP患者纳入观察组。纳入标准:(1)符合《中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南》^[7]相关诊疗标准,均为首次发病,经过鼻内窥镜、鼻窦CT检查确诊;(2)CRSwNP患者均于本院接受常规手术治疗切除息肉,并留取息肉组织送至病理实验室进行检测;(3)精神及认知正常;(4)患者临床资料保留完整。另选择同期于本院就诊的55例慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis without nasal polyps, CRSsNP)患者纳入对照组。所有患者均符合以下排除标准:(1)合并哮喘或其他免疫功能异常疾病;(2)心、肺、肾、肝严重损伤;(3)处于妊娠期或哺乳期的女性患者;(4)合并内分泌代谢性疾病;(5)凝血功能障碍或先天功能不足者;(6)合并其它感染性疾病;(7)合并恶性肿瘤;(8)入组前1个月未使用糖皮质激素、免疫调节及抗炎药物治疗。观察组患者中男性35例,女性23例;年龄21~65岁,平均(43.23±5.74)岁;病程2~15年,平均(7.68±2.13)年;既往存在吸烟史32例,无吸烟史26例。对照组患者中男性34例,女性21例;年龄20~63岁,平均(42.95±5.65)岁;

病程1~14年,平均(7.17±2.05)年;既往存在吸烟史30例,无吸烟史25例。两组患者的基线资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 检测方法 观察组患者取鼻息肉组织作为检测样本,对照组则刮取少量下鼻甲黏膜上皮细胞组织作为检测样本,分别取100 mg组织样本,加入1 mL磷酸缓冲盐溶液,充分绞碎制成组织匀浆,4℃条件下,以3 000 r/min的速度离心15 min,取上清液,采用酶联免疫法测定上清液中IL-12、TGF- β_1 的表达水平,试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司,检验操作严格按照说明书指示执行。

1.3 观察指标 (1)比较观察组与对照组患者组织中IL-12、TGF- β_1 的表达水平;(2)比较观察组中不同病情严重程度患者IL-12、TGF- β_1 的表达水平。采用Lund-Mackay内镜评分标准对观察组患者病情严重程度进行分级^[8],评分1~10分纳入轻度组,评分11~24分纳入重度组;(3)比较观察组中不同炎症细胞浸润比例患者IL-12、TGF- β_1 的表达水平。取观察组鼻息肉组织进行石蜡包埋、切片、常规染色、脱水、封片处理,制得病理组织切片,于显微镜下观察并统计组织内5个不同视野区域的嗜酸性粒细胞的密度均值,将嗜酸性粒细胞浸润比例达到10%以上的患者纳入嗜酸性粒细胞组,浸润比例达到未超过10%的患者纳入非嗜酸性粒细胞组^[9];(4)比较观察组中不同预后结局患者IL-12、TGF- β_1 的表达水平。观察组患者术后均持续随访6个月,根据疾病复发情况分为复发组和未复发组,比较两组患者组织中IL-12、TGF- β_1 的表达水平。复诊期间鼻内窥镜检查发现息肉病灶,经最大化药物治疗后症状未见好转,即可认定为疾病复发^[10]。(5)分析IL-12、TGF- β_1 表达水平与组织中嗜酸性粒细胞浸润百分比的相关性。

1.4 统计学方法 应用SPSS22.0统计学软件分析数据。计量资料符合正态分布,以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;变量之间的相关性采用Spearman等级相关分析。以 $P<0.05$ 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组和对照组患者的IL-12、TGF- β_1 表达水平比较 观察组患者组织中IL-12、TGF- β_1 表达水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表 1 观察组和对照组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-12 (pg/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)
观察组	58	42.93 \pm 10.52	529.89 \pm 147.67
对照组	55	33.11 \pm 9.87	455.39 \pm 134.04
<i>t</i> 值		5.111	2.803
<i>P</i> 值		0.001	0.006

2.2 不同病情严重程度患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较 依据 Lund-Mackay 内镜评分标准将观察组患者分为轻度组 41 例和重度组 17 例,轻度组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平明显低于重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 不同病情严重程度患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-12 (pg/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)
轻度组	41	40.16 \pm 9.64	515.78 \pm 65.95
重度组	17	49.61 \pm 9.98	563.92 \pm 57.84
<i>t</i> 值		3.364	2.618
<i>P</i> 值		0.001	0.011

2.3 不同炎症细胞浸润比例患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较 依据嗜酸性粒细胞浸润比例情况观察组患者分为嗜酸性粒细胞组 36 例和非嗜酸性粒细胞组 22 例,嗜酸性粒细胞组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平明显高于非嗜酸性粒细胞组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 不同炎症细胞浸润比例患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-12 (pg/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)
嗜酸性粒细胞组	36	47.08 \pm 10.15	556.32 \pm 74.58
非嗜酸性粒细胞组	22	36.14 \pm 10.68	486.64 \pm 81.07
<i>t</i> 值		3.905	3.341
<i>P</i> 值		0.001	0.002

2.4 不同预后结局患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较 观察组患者随访期间共有 19 例复发,39 例未复发,复发组患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平明显高于未复发组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 不同预后结局患者的 IL-12、TGF- β_1 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-12 (pg/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)
复发组	19	48.78 \pm 8.35	571.29 \pm 74.84
未复发组	39	40.08 \pm 9.06	509.72 \pm 88.65
<i>t</i> 值		3.519	2.606
<i>P</i> 值		0.001	0.012

2.5 IL-12、TGF- β_1 表达水平与嗜酸性粒细胞浸润百分比的相关性 经 Spearman 等级相关性分析结果显示,IL-12、TGF- β_1 表达水平均与嗜酸性粒细胞浸润百分比呈正相关($r=0.587, 0.459, P<0.05$)。

3 讨论

CRSwNP 基础症状与其他类型呼吸道感染症状相似,缺乏特异性表现,仅凭借临床症状表现难以确诊病情,内镜检查虽能够明确病灶生长信息,但无法

体现机体内部免疫平衡状态,而鼻息肉的生长与复发受各类复杂因素影响,也给 CRSwNP 的临床分型和预后预测带来一定难度。既往研究表明,CRSwNP 患者鼻息肉上皮细胞组织生长期间除激活免疫机制外还会分泌碱性蛋白、过氧化物酶等多种调节因子,鼻息肉术后复发率较高,15%~20% 的患者需要再次接受手术治疗^[11]。因此,了解 CRSwN 发病机制对提高疾病防治效果具有积极意义。

现阶段,国内外学者普遍认为炎症持续刺激鼻黏膜是鼻息肉发生重要机制之一。IL-12 主要由单核/巨噬细胞、自然杀伤细胞以及 B 细胞分泌,可诱导 Th0 细胞向 Th1 细胞分化并抑制 Th0 细胞向 Th2 细胞分化,在维持 Th1/Th2 免疫平衡中起到重要作用^[12];TGF- β_1 既是促炎因子,也是生长因子,主要调节细胞外基质活动,嗜酸性粒细胞为鼻息肉组织中 TGF- β_1 的主要来源,随着嗜酸性粒细胞浸润活性增加,TGF- β_1 分泌量随之增加,导致基底膜不断增厚,加重基质纤维化改变^[13-14]。本研究结果显示,观察组鼻息肉组织中 IL-12、TGF- β 表达水平均高于对照组,且重度 CRSwNP 组中 IL-12、TGF- β 表达水平均高于轻度 CRSwNP 组,差异具有统计学意义($P<0.05$),说明 CRSwN 患者炎症因子呈高表达,且与参与疾病进展,原因可能为炎症刺激下组织内嗜酸性粒细胞浸润程度加深,引起并加重了鼻黏膜炎性反应,细胞比率失衡。陈雪梅等^[15]学者研究表明 CRSwNP 患者鼻息肉组织中 CD69 蛋白、受激活调节正常 T 细胞表达和分泌因子的高表达将引发一系列炎症因子失衡,导致 IL-12、TGF- β 表达水平上升,与本研究结果一致。

洪俊等^[16]研究表明,CRSwNP 患者外周血液中嗜酸性粒细胞表达水平明显高于 CRSsNP 患者和健康人群,且 CRSwNP 患者的鼻内镜及 CT 检查结果均与嗜酸性粒细胞表达显著相关;潘立等^[17]学者研究指出,目前鼻息肉临床组织细胞学分型中嗜酸性粒细胞型仍为最常见的类型。为明确嗜酸性粒细胞对 CRSwNP 进展的具体影响,本研究通过观察组织切片染色情况发现,嗜酸性粒细胞组 IL-12、TGF- β_1 的表达水平均高于非嗜酸性粒细胞组,且 IL-12、TGF- β_1 的表达水平均与嗜酸性粒细胞浸润百分比呈正相关,差异具有统计学意义($P<0.05$),原因可能为鼻息肉组织的生长可能进一步强化外周血液中嗜酸性粒细胞的表达,导致炎症反应程度放大,进而趋化嗜酸性粒细胞向鼻黏膜部位迁移浸润。局部组织中 IL-12、TGF- β_1 表达水平越高,表明炎症进展更活跃,嗜酸性粒细胞对局部黏膜造成的损伤越严重,提示临床应针对此类患者适当应用抗炎药物,避免鼻息肉持续受到不良刺激。

CRSwNP 患者的复发率较高,了解 IL-12、TGF- β_1 与疾病预后的关系在疾病防治中关系重大。本研究

发现,复发组患者组织中IL-12、TGF- β_1 的表达水平均高于未复发组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。TGF- β_1 主要通过激活下游信号蛋白分子表达参与组织重塑和黏膜损伤修复进程,但术后恢复期间TGF- β_1 的高表达也可能造成成纤维细胞过度增殖,诱发新的鼻息肉病灶生成,在局部炎症微环境未得到有效改善的情况下,嗜酸性粒细胞生存时间延长,重新聚集浸润会影响黏膜正常上皮化,导致黏膜修复进展减缓,增大术后复发风险^[18]。郑铭等^[19]研究指出,炎症细胞对RSwNP复发具有一定预测价值。

综上所述,IL-12、TGF- β_1 在CRSwNP患者鼻息肉组织中呈现高表达水平,随着患者病情加重,局部组织受嗜酸性粒细胞浸润的程度也随之加深,进而强化IL-12、TGF- β_1 的表达,IL-12、TGF- β_1 呈现高表达水平的患者术后疾病复发风险也较高。但本研究样本量较少,且主要分析IL-12、TGF- β_1 与CRSwNP发生、进展及复发的关系,具有一定的局限性;后续可以扩大样本量进一步分析嗜酸性粒细胞浸润的程度、其他细胞因子及不同生物学标记物与疾病预后的关系。此外,还有待开展细胞研究、动物研究验证相关因子对嗜酸性粒细胞浸润的调控作用,寻找CRSwNP病情及复发标志物的新靶点。

参考文献

- [1] 王成硕,张罗.慢性鼻窦炎伴鼻息肉诊疗迈入精准治疗时代[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2019,26(12):8-11.
- [2] HOPKINS C. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. N Engl J Med, 2019, 381(1): 55-63.
- [3] OGASAWARA N, POPOSKI JA, KLINGLER AI, et al. Role of RANK-L as a potential inducer of ILC2-mediated type 2 inflammation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. Mucosal Immunol, 2020, 13(1): 86-95.
- [4] 李晶,纪文君,高东升,等.炎性细胞在慢性鼻-鼻窦炎的表达及与临床病理特征的关系[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2019,26(12):20-24.
- [5] VEENBERGEN S, LI P, RAATGEER HC, et al. IL-10 signaling in dendritic cells controls IL-1 β -mediated IFN γ secretion by human CD4⁺ T cells: relevance to inflammatory bowel disease [J]. Mucosal Immunol, 2019, 12(5): 1201-1211.
- [6] WYNNE M, ATKINSON C, SCHLOSSER RJ, et al. Contribution of epithelial cell dysfunction to the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. Am J Rhinol Allergy, 2019, 33(6): 782-790.
- [7] 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.中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,54(2):81-100.
- [8] XU Q, DU K, ZHENG M, et al. Application of clinical scores in the differential diagnosis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps in a Chinese population [J]. Am J Rhinol Allergy, 2020, 34(3): 401-408.
- [9] 孔维封,郑瑞,邓慧仪,等.慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉的临床特征分析[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2019,26(12):643-646.
- [10] 吴湘明,冯勇军,曾春荣,等.老年慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉患者鼻内镜术后复发的影响因素分析[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2021,28(1):38-40,44.
- [11] 李军,陈力学,沈喆,等.IL-35在慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉组织的表达与意义[J].中国免疫学杂志,2018,34(2):247-250,255.
- [12] 吴毓聪,程亚楠,陈绍山,等.IL-12和Th亚群细胞在牙周病免疫病理及免疫调节中的作用[J].上海口腔医学,2020,29(5):77-81.
- [13] 孟晓敏,李华瑞,刘峰.miR-125b在嗜酸性粒细胞性鼻窦炎中的表达模式及生物学作用[J].河北医科大学学报,2019,40(1):111-114.
- [14] 任培中,陈秋仪,王佳美,等.升陷乌梅汤对激素干预哮喘大鼠TGF- β_1 /Smad信号通路及气道重塑的影响[J].上海中医药杂志,2020,54(3):91-96.
- [15] 陈雪梅,易述军,杨礼,等.慢性鼻-鼻窦炎患者鼻息肉组织中CD69/RANTES的表达意义研究[J].河北医学,2019,25(10):1674-1680.
- [16] 洪俊,束维龙,黄学勤,等.伴发鼻息肉的慢性鼻-鼻窦炎患者外周血中性粒细胞和嗜酸性粒细胞计数特点及其与临床指标的相关性[J].安徽医学,2020,41(5):62-64.
- [17] 潘立,刘争.基于嗜酸性粒细胞性炎症的慢性鼻窦炎伴鼻息肉的分类方法[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,54(3):222-226.
- [18] 廖敏,李双,刘江怡,等.嗜酸性粒细胞在鼻息肉复发中的作用研究进展[J].国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,44(2):96-99.
- [19] 郑铭,王敏,李颖,等.慢性鼻窦炎伴鼻息肉的免疫炎症标志物表达及其对术后复发的预测价值[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,54(3):174-180.

(收稿日期:2021-08-05)