

TLR4/NF- κ B

刘亮亮¹, 文 华², 杨 瑾³, 卢媛媛¹, 王正辉⁴

(1.西安交通大学医院耳鼻咽喉科, 陕西 西安 710049;

2.西安交通大学医院公共卫生中心, 陕西 西安 710049;

3.西安交通大学医院妇产科, 陕西 西安 710049;

4.西安交通大学第二附属医院耳鼻咽喉头颈外科病院, 陕西 西安 710004)

摘要:目的 探讨 TLR4/NF- κ B 通路在慢性鼻-鼻窦炎(CRS)伴鼻息肉(CRSwNP)和不伴鼻息肉(CRSsNP)的黏膜上皮修复机制中的作用。方法 收集 2018 年 3 月-2021 年 9 月就诊于西安交通大学附属医院耳鼻咽喉科的 30 例 CRS 患者的鼻筛窦黏膜上皮组织。将 CRS 患者组织分为 CRSsNP 组和 CRSwNP 组, 每组 10 例。对照组组织来源于进行视觉性鼻整形术的患者。HE 染色、免疫组化法检测各组患者鼻黏膜组织病理学改变以及 TLR4、NF- κ B 的表达; 将各组鼻黏膜上皮细胞进行离体培养, 分别以 4 种因素(空白对照组; EGF 组: 添加 50 ml 5 ng/ml EGF; TLR4/NF- κ B 组: 依次添加 5 ng/ml TLR4 和 NF- κ B 培养 24 h 后, 添加 5 ng/ml EGF; PDTC 组: 添加 5 ng/ml 信号通路抑制剂 PDTC 培养 12 h 后, 添加 5 ng/ml TLR4 和 NF- κ B 培养 12 h 后, 添加 5 ng/ml EGF)刺激各组鼻黏膜上皮细胞, CCK-8 法、ELISA 检测各组鼻黏膜上皮细胞的增殖以及 IL- β 、IL-5 的表达。结果 与 CRSsNP 组相比, CRSwNP 组的鼻窦 CT 评分明显升高 ($P<0.05$); 与对照组患者相比, CRSsNP 组、CRSwNP 组 TLR4、NF- κ B 的表达量升高 ($P<0.05$); 与 CRSsNP 组相比, CRSwNP 组 TLR4、NF- κ B 的表达量升高 ($P<0.05$); CCK-8 和 ELISA 法实验结果: 与对照组相比, CRS 组鼻黏膜上皮细胞的增殖基线降低, IL- β 、IL-5 的水平升高 ($P<0.05$); 与 CRSsNP 组相比, CRSwNP 组鼻黏膜上皮细胞的增殖基线升高, IL- β 、IL-5 的水平升高 ($P<0.05$); 对照组和 CRS 组加入 EGF 后, 与空白对照相比, 鼻黏膜上皮细胞的增殖基线明显升高, IL- β 、IL-5 的水平降低 ($P<0.05$); 加入 TLR4 和 NF- κ B 后, 与空白对照相比, 鼻黏膜上皮细胞的增殖基线降低, IL- β 、IL-5 的水平升高 ($P<0.05$); 加入 PDTC 后, EGF 诱导细胞增殖的作用明显有所恢复, IL- β 、IL-5 的水平明显有所降低 ($P<0.05$)。结论 TLR4/NF- κ B 信号通路影响 CRS 中 CRSsNP 和 CRSwNP 两者鼻黏膜上皮细胞损伤后的修复, 抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路能明显增强 CRS 患者鼻黏膜上皮细胞的增殖作用。

关键词:慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉; 慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉; 黏膜上皮; TLR4/NF- κ B 信号通路; 修复

中图分类号: R765

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.15.008

文章编号: 1006-1959(2022)15-0039-07

The Role of TLR4/NF- κ B Signaling Pathway in the Repair of Mucosal Epithelium in Chronic Sinusitis with Nasal Polyps and Without Nasal Polyps

LIU Liang-liang¹, WEN Hua², YANG Jin³, LU Yuan-yuan¹, WANG Zheng-hui⁴

(1.Department of Ophthalmology, Otolaryngology, Xi'an Jiaotong University Hospital, Xi'an 710049, Shaanxi, China;

2.Public Health Center of Xi'an Jiaotong University Hospital, Xi'an 710049, Shaanxi, China;

3.Department of Obstetrics and Gynecology, Xi'an Jiaotong University Hospital, Xi'an 710049, Shaanxi, China;

4.Department of Otolaryngology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of TLR4/NF- κ B pathway in the repair of mucosal epithelium in chronic rhinosinusitis (CRS) with nasal polyps (CRSwNP) and chronic rhinosinusitis without nasal polyps (CRSsNP). **Methods** The nasal ethmoid sinus mucosal epithelial tissues of 30 patients with CRS were collected from the Department of Otolaryngology, Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from March 2018 to September 2021. The tissues of CRS patients were divided into CRSsNP group and CRSwNP group, with 10 cases in each group. The control group was derived from patients undergoing visual rhinoplasty. HE staining and immunohistochemistry were used to detect the pathological changes of nasal mucosa and the expressions of TLR4 and NF- κ B in each group. The nasal epithelial cells of each group were cultured in vitro with four factors (blank control group; eGF group: adding 50 ml 5 ng/ml EGF; TLR4/NF- κ B group: 5 ng/ml EGF was added after TLR4 and NF- κ B were cultured for 24 h; PDTC group: After PDTC with 5 ng/ml signal pathway inhibitor was added for 12 h, TLR4 with 5 ng/ml and NF- κ B were added for 12 h, and EGF with 5 ng/ml was added to stimulate nasal epithelial cells in each group. CCK-8 method and ELISA were used to detect the proliferation of nasal epithelial cells and the expression of IL- β and IL-5 in each group. **Results** Compared with CRSsNP group, the CT score of sinus in CRSwNP group was significantly increased ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression of TLR4 and NF- κ B in CRSsNP group and CRSwNP group increased ($P<0.05$). Compared with CRSsNP group, the expression of TLR4 and NF- κ B in CRSwNP group increased ($P<0.05$). CCK-8 and ELISA results showed that compared with the control group, the proliferation baseline of nasal epithelial cells in CRS group was decreased, and the levels of IL- β and IL-5 were increased ($P<0.05$). Compared with CRSsNP group, the proliferation baseline of nasal epithelial cells in CRSwNP group was increased, and the levels of IL- β and IL-5 were increased ($P<0.05$). After EGF was added to the control group and CRS group, compared with the blank control group, the proliferation baseline of nasal epithelial cells was significantly increased, and the levels of IL- β and IL-5 were decreased ($P<0.05$). After TLR4 and NF- κ B were added, compared with the blank control, the proliferation baseline of nasal epithelial cells was decreased, and the levels of IL- β and IL-5 were increased ($P<0.05$). After adding PDTC, the effect of EGF on cell proliferation was significantly restored, and the levels

作者简介: 刘亮亮 (1987.10-), 女, 山西吕梁人, 硕士, 主治医师, 主要从事鼻炎-鼻窦炎相关的上呼吸道疾病变态反应学的基础研究

通讯作者: 王正辉 (1977.6-), 男, 河南洛阳人, 博士, 主任医师, 教授, 主要从事头颈肿瘤生物学及组织工程学的研究

of IL- β and IL-5 were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** TLR4/NF- κ B signaling pathway affects the repair of nasal epithelial cells damaged by CRSsNP and CRSwNP in CRS. Inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway can significantly enhance the proliferation of nasal epithelial cells in CRS patients.

Key words: Chronic rhinosinusitis with nasal polyps; Chronic rhinosinusitis without nasal polyps; Mucosal epithelium; TLR4/NF- κ B signal pathway; Repair

慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNP)和慢性鼻-鼻窦炎不伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis without nasal polyps, CRSsNP)是临床上常见的鼻腔、鼻窦炎症性疾病慢性鼻-鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)的2个亚型。既往的研究表明 CRSwNP 和 CRSsNP 在发病机制、治疗、预后等方面存在明显差异^[1];但近来的研究证实^[2],鼻窦黏膜上皮细胞损伤、黏膜脱落是两者共同的病理学特征改变。Stevens WW 等^[3]研究证实,鼻窦黏膜损伤后,上皮细胞自行的异常修复直接导致鼻黏膜组织结构的改变,进而影响鼻窦黏膜组织功能的改变以及鼻窦病变的产生。细胞中的多种蛋白因子或者参与,或者直接调控了上皮细胞损伤后的自行修复。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)能够刺激上皮细胞的增殖,调控细胞的粘附和迁移在鼻窦黏膜损伤后修复中发挥关键性作用^[4]。Toll 样受体 4/核转录因子- κ B(TLR4/NF- κ B)通路是广泛存在细胞内的信号转导通路,在细胞的增殖与凋亡,损伤与修复、炎性与应激等生理过程中发挥了重要作用^[5]。研究表明^[6],细胞损伤后,TLR4/NF- κ B 通路被激活,驱动炎性细胞因子的大量产生,进而加重炎症反应。Zhang QI 等^[7]通过临床研究证实,TLR4 在 CRS 的 2 个亚型 CRSwNP 和 CRSsNP 存在表达差异的现象。而 TLR4/NF- κ B 在 CRS 中鼻窦黏膜上皮细胞增殖作用报道罕见。本研究旨在探讨 TLR4/NF- κ B 信号通路对 CRSwNP 和 CRSsNP 中鼻窦黏膜上皮细胞增殖的作用,以期为临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 组织标本 收集 2018 年 3 月-2021 年 9 月就诊于西安交通大学附属医院耳鼻咽喉科且在鼻内镜下接受手术治疗的 30 例患者的鼻筛窦黏膜上皮组织。将 CRS 患者标本组分为 CRSsNP 组和 CRSwNP 组,每组 10 例。CRSsNP 组男 6 例,女 4 例;年龄 19~56 岁,中位年龄 43 岁;CRSwNP 组男 7 例,女 3 例;年龄 22~58 岁,中位年龄 45 岁;对照组标本来源于进行视觉性鼻整形术的 10 例患者,男 5 例,女 5 例;年龄 22~48 岁,中位年龄 44 岁,术中所见均无鼻窦炎症性疾病。各组患者的性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$);且经鼻窦 CT 检测,无支气管哮喘、糖尿病并发症、阿司匹林耐受不良、鼻窦真菌或细菌

或病毒感染、妊娠、恶性肿瘤以及鼻绒毛不动综合症和免疫功能缺陷症等,所有患者均未首次采用鼻内镜手术,术前均未使用激素或者抗组胺类药物。本研究中患者的诊断均参照 EPOS-2012 (2012 欧洲 CRS 科研与诊断意见书)的标准进行,对照组患者均无鼻窦炎症性疾病。

1.2 细胞及主要试剂和仪器 TLR4/NF- κ B 信号通路抑制剂 PDTC(美国 Selleckchem 公司),多聚甲醛(南京卓普生物科技有限公司),DMEM 培养基(Gibco 公司);HE 染色剂(Thermo Fisher scientific 公司);胰蛋白酶(Amersco 公司);TLR4、NF- κ B 抗体(Santa Cruz, CA, USA);免疫组化试剂盒、CCK-8 试剂盒(Thermo 公司)。CO₂ 细胞培养箱(SHELLAB 公司,美国),细胞培养板(美国 Costar 公司),MK3 酶标仪(日本岛津公司),超净工作台(北京六一仪器厂),LEICA 激光共聚焦荧光显微镜(德国徕卡公司)。

1.3 HE 染色鼻黏膜组织病理学观察 从样品中取等量的后组筛窦黏膜上皮组织,10%多聚甲醛固定,HE 染色,光学显微镜下观察各组鼻黏膜组织病理学改变情况。

1.4 免疫组化法检测 TLR4 以及 NF- κ B 的蛋白表达 从样品中取等量的前组筛窦黏膜上皮组织,常规固定包埋并切片,用二甲苯和梯度乙醇脱蜡后置于柠檬酸盐缓冲液中进行修复,以充分暴露抗原决定簇。然后用 3%的双氧水室温下浸泡 10 min,封闭,分别加稀释好的一抗 4℃过夜孵育,次日冲洗干净,分别加入适量生物素标记的二抗室温孵育 30 min,清洗。加适量二氨基联苯胺(DAB)作用 2~5 min 后用去离子水终止反应,苏木素复染 1.5~2 min,清洗后于乙醇梯度脱水,二甲苯浸泡并干燥后用中性树脂胶封片,镜检观察并记录实验结果;染色评判标准以肿瘤细胞细胞膜和细胞质内出现黄色或棕黄色颗粒为阳性,每个切片随机取 10 个 400 倍视野,以 100 个细胞为计数单位,按染色面积及细胞被染色强度计分,计分原则如下:染色面积范围 $\leq 10\%$ 为 0 分, $>10\% \sim 25\%$ 为 1 分, $>25\% \sim 50\%$ 为 2 分, $>50\% \sim 75\%$ 为 3 分, $>75\%$ 为 4 分;细胞无染色 0 分,弱黄色 1 分,黄色染色 2 分,棕黄色 3 分。若两者积分之和大于或等于 3 分则为阳性,低于 3 分则为阴性。切片的结果由肿瘤病理科两位医师双盲阅片,单独评分,最后统一汇总,对有争议的评分需要经病理科两位以上

主任复核修订,得到最终结果。

1.5 鼻粘膜上皮细胞的提取以及离体培养 从样品中取等量的中组筛窦黏膜上皮组织,无菌生理盐水清洗 3 次,维持 4℃置于胰蛋白酶 (trypsin, 浓度 0.25%) 和乙二胺四乙酸 (EDTA, 浓度 0.01%) 混合液中 15~20 h, 1000 rpm 离心 3 min 去掉上清液, PBS 缓冲液冲洗沉淀物 3 次,加入 200 ml 以 3:1 比例的含 10% 胎牛血清的 DMEM 和 Ham's F 的培养液以悬浮细胞,放置于温度 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中常规培养。

1.6 CCK-8 法检测鼻黏膜上皮细胞的增殖 当细胞单层生长接近完全融合时,将细胞制成单细胞悬液,以 1×10^5 个/ml 的浓度接种在 96 孔培养板中,置于温度 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中 24 h 后,分组依次进行 CCK-8 实验。本试验分为 4 组,各组添加等体积的相同浓度的细胞培养液,分别施加以下 4 种刺激因素^[8]:空白对照组;EGF 组(添加 5 ng/ml EGF,剂量 50 ml);TLR4/NF- κ B 组(依次添加 5 ng/ml TLR4 和 NF- κ B 培养 24 h 后,添加 5 ng/ml EGF);PDTC 组(添加 5 ng/ml 信号通路抑制剂 PDTC 培养 12 h 后,添加 5 ng/ml TLR4 和 NF- κ B 培养 12 h 后,添加 5 ng/ml EGF),37℃、5%CO₂ 生化培养箱中继续培养 4 h,然后每孔加入 20 μ l CCK-8 溶液后再恒温孵育 5 h,待完全显色后,100 rpm,10 min,弃掉上清液,Multiskan MK3 酶标仪在 450 nm 处检测吸光值 A。

1.7 ELISA 检测各组鼻黏膜上皮细胞中 IL- β 、IL-5 的表达 调整细胞浓度至 1×10^4 个/ml 接种于 24 孔板中,分组处理 1.6,37℃、5%CO₂ 生化培养箱中继续培养 24 h,ELISA 试剂盒检测各组细胞中 IL- β 、

IL-5 的水平;每个样本独立重复测量 3 次。

1.8 统计学分析 本研究数据分析采用 SPSS 16.0,作图工具采用 Graphpad 5.01,免疫组化结果采用秩和检验,3 组样本间的差异比较采用 Kruskal-Wallis 分析,两两样本间的比较采用 Mann Whitney U 检验。不同刺激条件下的结果分析采用方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRS 患者 CT 检查 CRSsNP 和 CRSwNP 组典型的实体和 CT 检查见图 1,依照^[9]Lund-Mackay 方法进行评分。对两组患者鼻窦以及其复合体分别评分,正常记为 0 分,部分阴影记为 1 分,全部阴影记为 2 分。评分结果显示,与 CRSsNP 组(7.76 ± 4.66)分相比,CRSwNP 组的鼻窦 CT 评分为(16.82 ± 8.25)分。从 CT 检查来看 CRSwNP 组患者具有更为严重的鼻腔、鼻窦黏膜病变。

2.2 HE 鼻黏膜组织病理学观察 对照组患者的鼻黏膜组织结构完整,假复层柱状纤毛清晰可辨,纤毛粗细均匀,排列整齐,黏膜下层的纤维结缔组织少量分布,黏膜上皮细胞排列均匀,结构完整;CRSsNP 组患者的鼻黏膜组织纤毛紊乱,粗细不一,假复层柱状和复层鳞状结构同时存在,上皮细胞基质增厚明显,细胞间质明显水肿,大量炎性细胞浸润,以中性粒细胞浸润为主,成纤维细胞明显增多,杯状细胞数量明显增多;CRSwNP 组患者的鼻黏膜组织上皮细胞结构不完整,甚至有脱落现象,杯状细胞数量增多,黏膜基膜增厚,黏膜固有层可见嗜酸性炎性细胞大量浸润,腺体肿大明显,数量明显减少,息肉中无神经结构出现且无新生血管,见图 2。

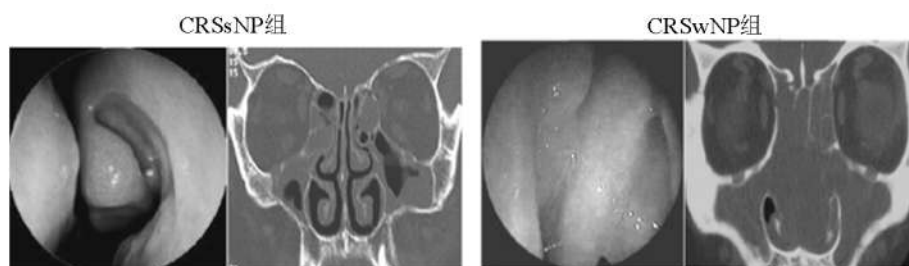


图 1 典型的 CRSsNP 和 CRSwNP 实体图(SP×200)及其对应 CT 图

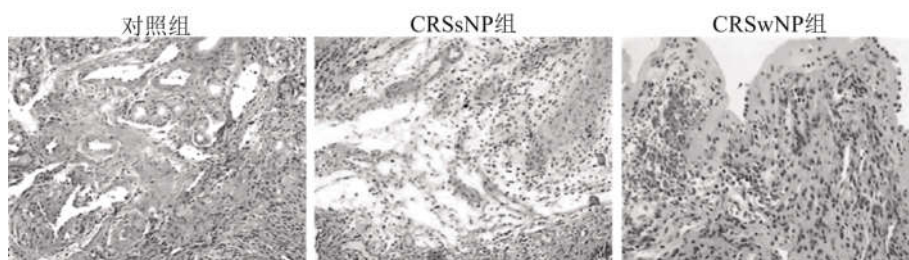


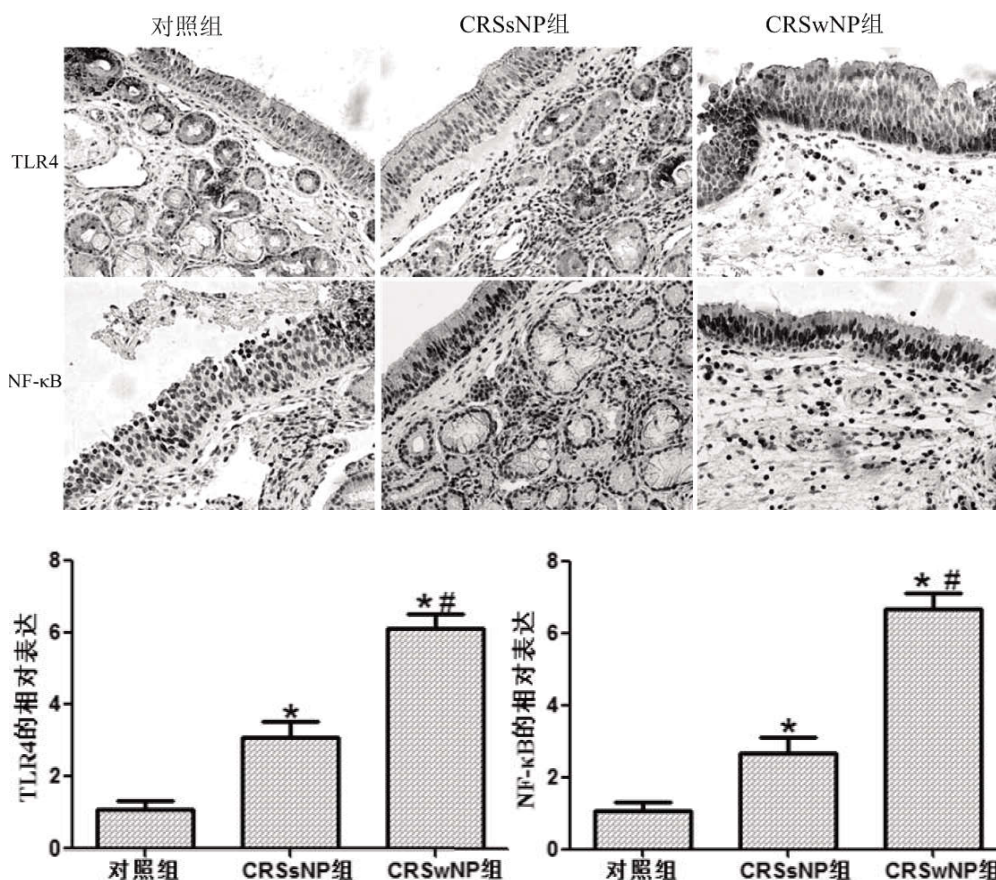
图 2 HE 染色病理图片(SP×400)

2.3 免疫组化法检测 TLR4 以及 NF- κ B 的蛋白表达
免疫组化法检测 TLR4 以及 NF- κ B 的蛋白表达结果见图 3, TLR4 主要在胞膜和胞质内大量表达, 鼻黏膜假复层柱状纤毛上皮中大量分布, 染成棕黄色; NF- κ B 主要在胞核和胞质内大量表达, 鼻黏膜假复层柱状纤毛上皮以及固有腺体细胞中大量分布。与对照组患者相比, CRSsNP 组、CRSwNP 组患者的鼻黏膜组织中 TLR4、NF- κ B 的表达量升高 ($P<0.05$); 与 CRSsNP 组患者相比, CRSwNP 组患者的鼻黏膜组织中 TLR4、NF- κ B 的表达量升高 ($P<0.05$)。

2.4 CCK-8 法检测各组黏膜上皮细胞的增殖活性
利用 CCK-8 法检测 TLR4/NF- κ B 信号通路及抑制剂对鼻黏膜上皮细胞增殖的作用, 结果见图 4, 与对照组相比, CRS 患者鼻黏膜上皮细胞的增殖基线降低 ($P<0.05$); 与 CRSsNP 组相比, CRSwNP 组患者鼻黏膜上皮细胞的增殖基线升高 ($P<0.05$); 对照组和 CRS 组加入 EGF 后, 与空白对照相比, 鼻黏膜上皮细胞的增殖基线升高 ($P<0.05$); 加入 TLR4 和 NF- κ B 后, 与空白对照相比, 鼻黏膜上皮细胞的增殖基线降低 ($P<0.05$), 说明加入 TLR4 和 NF- κ B 明显抑

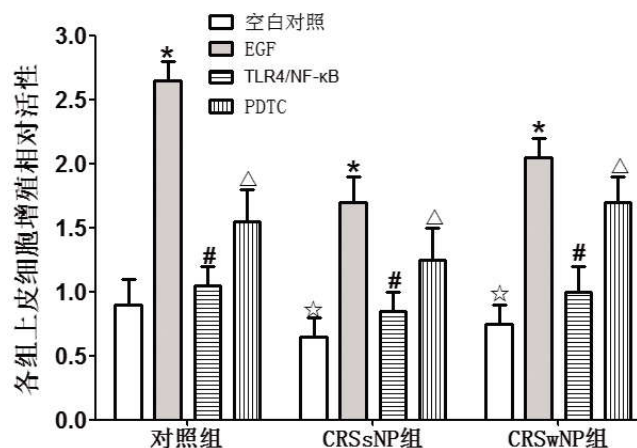
制了 EGF 对鼻黏膜上皮细胞的增殖作用; 加入 PDTTC 后, EGF 诱导细胞增殖的作用有所恢复 ($P<0.05$)。说明 TLR4 和 NF- κ B 抑制了对对照组和 CRS 组鼻黏膜上皮细胞的增殖, 但是 PDTTC 可以减弱这种抑制作用。

2.5 各组黏膜上皮细胞炎症因子 IL- β 、IL-5 的表达情况
ELISA 试剂盒检测各组细胞中 IL- β 、IL-5 的水平, 结果见图 5, 与对照组相比, CRS 组患者鼻黏膜上皮细胞中 IL- β 、IL-5 的水平升高 ($P<0.05$); 与 CRSsNP 组相比, CRSwNP 组患者鼻黏膜上皮细胞中 IL- β 、IL-5 的水平升高 ($P<0.05$); 对照组和 CRS 组加入 EGF 后, 与空白对照相比, 鼻黏膜上皮细胞中 IL- β 、IL-5 的水平降低 ($P<0.05$); 加入 TLR4 和 NF- κ B 后, 与空白对照相比, 鼻黏膜上皮细胞中 IL- β 、IL-5 的水平升高 ($P<0.05$), 说明加入 TLR4 和 NF- κ B 明显激活了鼻黏膜上皮细胞的炎症作用; 加入 PDTTC 后, 鼻黏膜上皮细胞中 IL- β 、IL-5 的水平明显有所降低 ($P<0.05$)。说明 TLR4 和 NF- κ B 明显激活了鼻黏膜上皮细胞的炎症作用, 但是 PDTTC 可以减弱这种激活作用。



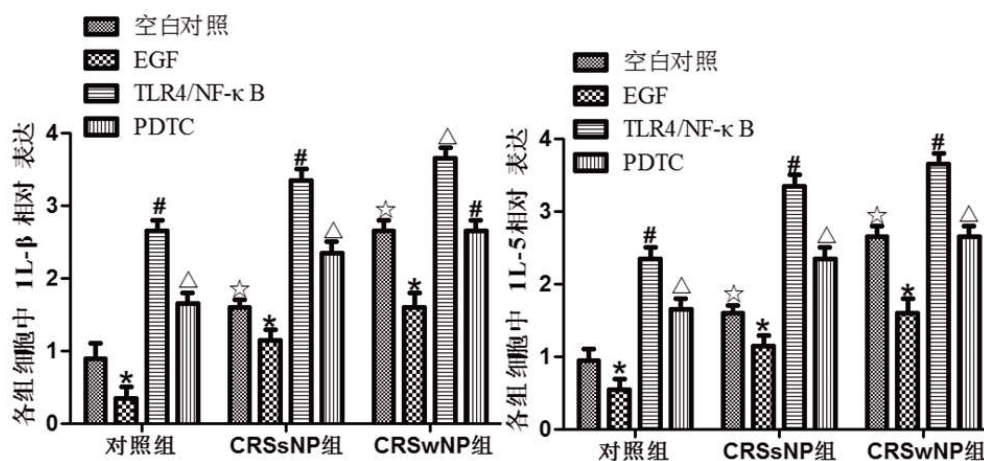
注: 与对照组比较, * $P<0.05$; 与 CRSsNP 比较, # $P<0.05$

图3 免疫组化法检测 TLR4 以及 NF- κ B 的蛋白表达 (SP \times 400)



注:与 EGF 刺激的对照组相比, * $P<0.05$;与 TLR4 和 NF- κ B 刺激的对照组相比, # $P<0.05$;与 PDTC 刺激的对照组相比, ^ $P<0.05$;与对照组相比, ☆ $P<0.05$

图 4 CCK-8 法检测各组黏膜上皮细胞的增殖活性



注:与 EGF 刺激的对照组相比, * $P<0.05$;与 TLR4 和 NF- κ B 刺激的对照组相比, # $P<0.05$;与 PDTC 刺激的对照组相比, ^ $P<0.05$;与对照组相比, ☆ $P<0.05$

图 5 ELISA 试剂盒检测各组细胞中 IL- β 、IL-5 的水平

3 讨论

CRSsNP 和 CRSwNP 都是上呼吸道系统炎症性疾病, 目前关于 CRSsNP 和 CRSwNP 的发病机制存在变态反应、免疫失衡、微生物膜感染等多种假说^[10], 具体发病机制仍未明确。由于两者在患者主观感受、临床表现、组织病理、治疗以及预后方面的诸多差异, 将两者同时同步研究的报道较少^[11]。近来研究表明^[12], 诸多信号通路在 CRSsNP 和 CRSwNP 的上皮细胞修复中发挥趋势一致的作用。本研究中亦从 CRSsNP 和 CRSwNP 两种疾病的鼻粘膜上皮细胞损伤与修复的角度出发, 寻找可以治疗 CRSsNP 和 CRSwNP 两者的靶向位点。

临床研究表明^[13], CT 检查评分以及 HE 染色观察是目前针对 CRS 患者病变程度的客观评价的重

要手段。本研究针对 CRSsNP 和 CRSwNP 的 CT 检查表明, 与 CRSsNP 组(7.76 ± 4.66)分相比, CRSwNP 组的鼻窦 CT 评分为(16.82 ± 8.25)分, 推断 CRSwNP 组患者具有更为严重的鼻腔、鼻窦黏膜病变。HE 观察结果对照组患者的鼻粘膜组织结构完整, CRSsNP 组患者鼻粘膜组织纤毛紊乱, 以中性粒细胞浸润为主, 成纤维细胞明显增多, 杯状细胞数量明显增多, CRSwNP 组患者的鼻粘膜组织杯状细胞数量增多, 黏膜基膜增厚, 黏膜固有层可见嗜酸性炎性细胞大量浸润, 腺体肿大明显, 数量明显减少, 息肉中无神经结构出现且无新生血管。因此, 推断 CRSwNP 组患者的鼻粘膜病理更为严重。

对 CRS 的信号通路的研究能更从更深层次的揭示患者的发病机制, 推断基因靶向治疗或者更准

确的探针诊断。目前炎症信号通路 TLR4/NF- κ B 和炎症因子在 CRS 中的作用引起广泛关注^[14]。Hirschberg A 等^[15]研究表明上调或者下调 TLR4 的表达能明显 CRSsNP 和 CRSwNP 患者的发病和治疗及预后。Kaczmarek M 等^[16]通过临床研究表明, Toll 样受体具有靶向治疗 CRS 的潜力。华丽等^[17]报道, 抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路能下调炎性递质的产生和释放。林甦等^[18]研究证实, 下调 TLR4/NF- κ B 信号通路的表达能明显减轻鼻粘膜的损害, 抑制鼻粘膜的炎性反应, 改善变应性鼻炎症状。但未见有 TLR4/NF- κ B 通路在鼻粘膜上皮细胞修复中的作用。

本研究中采用 CCK-8 法检测各组鼻粘膜上皮细胞的增殖活性, 结果表明对照组和 CRS 组加入 EGF 后, 与空白对照相比, 鼻粘膜上皮细胞的增殖基线升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 单独加入 TLR4 和 NF- κ B 后, 与空白对照相比, 鼻粘膜上皮细胞的增殖基线降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明加入 TLR4 和 NF- κ B 明显抑制了 EGF 对鼻粘膜上皮细胞的增殖作用; 加入 PDTC 后, EGF 诱导细胞增值的作用有所恢复, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明 TLR4 和 NF- κ B 抑制了对照组和 CRS 组鼻粘膜上皮细胞的增殖, 但是 PDTC 可以阻断这种抑制作用。

炎症性病变是 CRS 鼻粘膜上皮中最重要的病理改变。研究显示^[19], IL- β 、IL-5 属于脂肪蛋白因子, 也是黏膜上皮中重要的促炎因子, 炎症因子的大量积累能够介导氧化应激、反馈激活炎症 TLR4/NF- κ B 信号通路, 使上皮细胞的损伤加剧^[20]。胡琛等^[21]研究表明, 活化后的 TLR4 能进一步诱导更广泛的级联反应激活 NF- κ B, 使 NF- κ B 发生核移位, 转导信号进入细胞核内, 激活更多的细胞内炎症通路。研究显示^[22], NF- κ B 被激活后, 调控更多相关炎症因子基因的转录, 调节 IL- β 、IL-5 等细胞因子的释放, 更进一步放大炎症反应。本研究中采用 ELISA 法检测炎症因子的表达, 结果发现抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路后能降低 IL- β 、IL-5 的表达 ($P < 0.05$)。

总之, 本研究证明 TLR4/NF- κ B 信号通路影响 CRS 中 CRSsNP 和 CRSwNP 两者鼻粘膜上皮细胞损伤后的修复, 抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路能明显增强 CRS 患者鼻粘膜上皮细胞的增殖作用。但是如何将这其中的作用机制应用到临床治疗 CRSsNP 和 CRSwNP 两者上阿托伐他汀还待进一步的研究。

参考文献:

[1] Bachert C, Gevaert P, Hellings P. Biotherapeutics in chronic

rhinosinusitis with and without nasal polyps [J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2017, 5 (6): 1512-1516.

[2] Howard BE, Lal D. Oral steroid therapy in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis [J]. Current Allergy and Asthma Reports, 2013, 13(2): 236-243.

[3] Stevens WW, Lee RJ, Schleimer RP, et al. Chronic rhinosinusitis pathogenesis [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2015, 136(6): 1442-1453.

[4] Wang X, Zhao C, Ji W, et al. Relationship of TLR2, TLR4 and tissue remodeling in chronic rhinosinusitis [J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2015, 8(2): 1199.

[5] Lind H, Joergensen G, Lange B, et al. Efficacy of ESS in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: a Danish cohort study [J]. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology, 2016, 273(4): 911-919.

[6] Singh P, Mehta R, Agarwal S, et al. Bacterial biofilm on the sinus mucosa of healthy subjects and patients with chronic rhinosinusitis (with or without nasal polyposis) [J]. The Journal of Laryngology & Otology, 2015, 129(1): 46-49.

[7] Zhang QI, Wang CS, Han DM, et al. Differential expression of Toll-like receptor pathway genes in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps [J]. Acta Otolaryngol, 2013, 133 (2): 165-173.

[8] 王彤, 臧洪瑞, 李云川, 等. MAPK 信号通路在慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉和不伴鼻息肉的黏膜上皮修复机制中的作用 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(21): 17-21.

[9] Yang Y, Zhang N, Crombruggen KV, et al. Differential Expression and Release of Activin A and Follistatin in Chronic Rhinosinusitis with and without Nasal Polyps [J]. PLoS One, 2015, 10 (6): e0128564-e0128578.

[10] Poetker DM. Oral corticosteroids in the management of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps: Risks and benefits [J]. American Journal of Rhinology & Allergy, 2015, 29(5): 339-342.

[11] König K, Klemens C, Haack M, et al. Cytokine patterns in nasal secretion of non-atopic patients distinguish between chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps [J]. Allergy, Asthma & Clinical Immunology, 2016, 12(1): 19.

[12] Liu Q, Lu X, Bo M, et al. The microbiology of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps [J]. Acta Otolaryngol, 2014, 134(12): 1251-1258.

[13] Liu C, Zheng M, He F, et al. Role of exhaled nasal nitric oxide in distinguishing between chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps [J]. American Journal of Rhinology & Allergy, 2017, 31(6): 389-394.

[14] 黄耀光. HMGB1/PTEN/TLR4/NF- κ B 在慢性鼻-鼻窦炎的表达及作用 [D]. 广州: 暨南大学, 2016.

[15] Hirschberg A, Kiss M, Kadocs E, et al. Different activations of toll-like receptors and antimicrobial peptides in chronic rhinos-

inuitis with or without nasal polyposis [J].European Archives of Oto-Rhino-Laryngology,2016,273(7):1779-1788.

[16]Kaczmarek M,Banaszewski J,Leszczyńska M,et al.High frequency of macrophages expressing elevated level of CD80, PD-Ls and TLR1 in nasal polyps of CRS patients[J].Immunobiology,2019,224(1):154-162.

[17]华丽,覃莉,岳海英,等.EGFR 和 KRAS 基因状态对肺癌脑转移放疗敏感性的影响[J].东南大学学报(医学版),2016,35(6):947-951.

[18]林甦,黄敬之.玉屏风散对变应性鼻炎模型大鼠 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J].中国中医药信息杂志,2018,25(12):53-57.

[19]Wang M,Ye T,Liang N,et al.Differing roles for TGF- β /Smad signaling in osteitis in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps[J].American Journal of Rhinology & Aller-

gy,2015,29(5):e152-e159.

[20]Ozturan A,Eyigor H,Eyigor M,et al.The role of IL-25 and IL-33 in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps[J].European Archives of Oto-Rhino-Laryngology,2017,274 (1):283-288.

[21]胡琛,梁晨阳,周维国.炎症介导 TLR4/NF- κ B 通路在过敏性鼻炎患者中的表达和作用[J].标记免疫分析与临床,2018 (6):788-790,838.

[22]Greguric T,Trkulja V,Baudoin T,et al.Differences in the Sino-Nasal Outcome Test 22 and visual analog scale symptom scores in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps[J].American Journal of Rhinology&Allergy,2016,30(2):107-112.

收稿日期:2021-12-10;修回日期:2021-12-27

编辑/肖婷婷