

腺样体肥大患儿腺样体组织中半胱氨酰白三烯受体 1 的表达及其影响因素

张冰¹ 管仁政¹ 金蓉¹ 林荣军¹ 王学海²

(1 青岛大学附属医院儿科, 山东 青岛 266003; 2 威海市立医院耳鼻喉科)

[摘要] 目的 分析半胱氨酰白三烯受体 1(CysLTR1)在腺样体肥大(adenoid hypertrophy, AH)患儿腺样体组织中的表达特点,探究 CysLTR1 在 AH 形成中的作用机制及 CysLTR1 表达的影响因素。方法 选取 2020 年 10 月 1 日—2021 年 10 月 1 日在威海市立医院耳鼻喉科行腺样体切除术患儿 71 例,对其切除标本行 CysLTR1 免疫组化染色,根据染色结果分为 CysLTR1 高表达组及低表达组。收集两组患儿性别、年龄、腺样体肥大程度、有无变应性鼻炎、有无其他合并症(分泌性中耳炎、慢性鼻窦炎、呼吸睡眠暂停综合征)等资料并进行比较,通过多因素 logistic 回归分析影响 AH 患儿 CysLTR1 表达的危险因素。结果 免疫组化染色结果显示,CysLTR1 在 71 例 AH 患儿腺样体组织中均有表达,高表达组患儿的腺样体肥大程度、有无变应性鼻炎及有无其他合并症与低表达组相比差异有显著性($\chi^2=9.003\sim 49.196, P<0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示,重度腺样体肥大、变应性鼻炎以及有其他合并症均为影响 AH 患儿 CysLTR1 表达的独立危险因素($P<0.05$)。结论 CysLTR1 在 AH 患儿腺样体组织中表达与腺样体肥大程度、有无变应性鼻炎及其他合并症相关,且上述 3 指标为 CysLTR1 高表达的独立危险因素。

[关键词] 鼻炎,变应性,季节性;增殖腺;肥大;受体,白三烯;免疫组织化学;因素分析,统计学

[中图分类号] R766.3

[文献标志码] A

Expression of cysteinyl leukotriene receptor 1 in adenoid tissue of children with adenoid hypertrophy and its influencing factors

ZHANG Bing, GUAN Renzheng, JIN Rong, LIN Rongjun, WANG Xuehai (Department of Pediatrics, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression characteristics of cysteamine leukotriene receptor 1 (CysLTR1) in the adenoid tissue of children with adenoid hypertrophy (AH), as well as the mechanism of action of CysLTR1 in the formation of AH and the influencing factors for CysLTR1 expression. **Methods** A total of 71 children who underwent adenoidectomy in Department of Otolaryngology, Weihai Municipal Hospital, from October 1, 2020 to October 1, 2021 were enrolled. Immunohistochemical staining was performed for CysLTR1 in the resected specimens, and according to the results of staining, the children were divided into high CysLTR1 expression group and low CysLTR1 expression group. The two groups were compared in terms of the data including sex, age, degree of adenoid hypertrophy, presence or absence of allergic rhinitis, and presence or absence of other comorbidities (secretory otitis media, chronic sinusitis, and sleep apnea syndrome), and a multivariate logistic regression analysis was used to identify the influencing factors for the expression of CysLTR1 in children with AH. **Results** Immunohistochemistry showed that CysLTR1 was expressed in the adenoid tissue of all 71 children with AH, and there were significant differences between the high and low expression groups in the degree of adenoid hypertrophy, the presence or absence of allergic rhinitis, and the presence or absence of other comorbidities ($\chi^2=9.003-49.196, P<0.05$). The logistic regression analysis showed that the severe of adenoid hypertrophy, the presence of allergic rhinitis, and the presence of other comorbidities were independent risk factors for the expression of CysLTR1 in children with AH ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of CysLTR1 in adenoid tissue of children with AH is associated with the degree of adenoid hypertrophy, the presence or absence of allergic rhinitis, and the presence or absence of other comorbidities, and these three indices are independent risk factors for the high expression of CysLTR1.

[KEY WORDS] Rhinitis, allergic, seasonal; Adenoids; Hypertrophy; Receptors, leukotriene; Immunohistochemistry; Factor analysis, statistical

腺样体是感染性疾病的“警示灯”^[1],在人体液和细胞免疫中发挥重要的作用^[2]。当腺样体过度增生时,可引起呼吸睡眠暂停综合征、分泌性中耳炎、阻塞性鼻窦炎等并发症^[3]。引起腺样体肥大(ade-

noid hypertrophy, AH)的重要原因是反复的慢性炎症刺激,且 AH 的发生与变态反应性疾病密切相关^[4]。因此早期诊断和治疗变态反应性疾病,有助于减少腺样体肥大的发生^[5-6]。白三烯(LT)是参与变应性鼻炎、哮喘等气道炎症反应重要介质。在哮喘发病过程中,半胱氨酸白三烯受体 1(CysLTR1) mRNA 表达水平也明显升高^[7]。研究发现 AH 所

[收稿日期] 2024-01-14; **[修订日期]** 2024-03-24

[基金项目] 山东省中医药科技项目(M2022227)

[通讯作者] 林荣军, Email:linrongjun0312@126.com

致打鼾儿童的外周血 B、T 细胞 CysLTR 呈较高表达^[8]。陈荣等^[9]研究也发现,特应性体质感染后咳嗽患儿的血清 LT 水平显著高于非特应性体质的患儿。手术是 AH 患儿首选治疗方式^[10],有中耳炎、鼻-鼻窦炎病史以及合并过敏性疾病的 AH 患儿手术以后复发率比较高^[11-12],因此积极治疗腺样体合并疾病及控制过敏性疾病发生也可减少腺样体肥大的术后复发率^[13]。本研究探究 AH 患儿腺样体组织中 CysLTR1 表达特点,旨在为患儿的高效治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 10 月 1 日—2021 年 10 月 1 日于威海市立医院耳鼻咽喉科行腺样体切除术的患儿 71 例。患儿纳入标准:①通过鼻内镜检查确诊为 AH,并符合手术指征,手术切除组织病理检查结果亦符合 AH;②术前 1 个月内未行抗过敏药物治疗。排除标准:①支气管哮喘患儿;②患有特应性皮炎等其他严重系统性疾病患儿。

1.2 研究方法

1.2.1 患儿资料的收集 收集所有患儿的性别、年龄、AH 程度、有无变应性鼻炎、有无其他合并症(包括呼吸睡眠暂停综合征、鼻窦炎、分泌性中耳炎)等一般资料及术后腺样体组织的病理切片。

1.2.2 试剂与器材 CysLTR1 兔抗人多克隆抗体、生物素标记的羊抗兔 IgG、辣根酶标记的链霉亲和素均购买于北京博奥森生物技术公司,SP 免疫组化检测试剂盒(兔)购买于上海鼎杰生物科技有限公司,二氨基联苯胺/DAB 染色试剂盒购买于上海雅吉生物科技有限公司,BMIX 生物组织包埋机、冷冻台机购买于日本樱花公司,罗氏 HE600HE 染色机以及 BenchMark ULTRA 免疫组化仪均购买于美国罗氏公司。

1.2.3 免疫组化染色检测 AH 患儿腺样体组织中 CysLTR1 表达情况 将腺样体组织切片通过脱蜡、复水处理,以 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液冲洗后,以 30 g/L 过氧化氢溶液阻断内源性过氧化氢酶,用含体积分数 0.10 的山羊血清室温湿盒封闭 20 min,并滴加浓度 1:200 的 CysLTR1 兔抗人多克隆抗体 4℃下孵育过夜。然后使用生物素标记的羊抗兔 IgG、辣根酶标记的链霉亲和素按序各孵育 20 min。滴加 DAB 显色,然后行苏木素复染、封片,于光学显微镜下观察。阴性对照采用 PBS 代替一抗,其他

步骤相同。在高倍镜下于腺样体组织的免疫组化切片上随机选取上皮及生发中心以外的 5 个视野,采用 Image ProPlus 6.0 软件计算阳性细胞数以及高倍镜下视野总面积,CysLTR1 表达情况以细胞阳性率表示,细胞阳性率=阳性细胞数/mm²,阳性率<50%为低表达,以阳性率>50%为高表达^[14]。根据染色结果分为 CysLTR1 高表达组与低表达组。

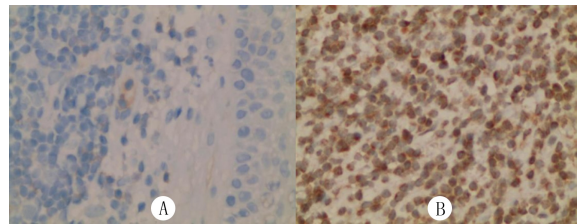
1.3 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。计数资料以例(率)表示,组间比较采用卡方检验,卡方检验有统计学意义的指标采用多因素 logistic 回归进行危险因素分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿腺样体组织中 CysLTR1 表达情况

71 例 AH 患儿中,男 54 例,女 17 例;年龄 1~14 岁,平均(5.45±3.25)岁;其中 CysLTR1 高表达组 35 例,低表达组 36 例。对所有患儿的腺样体组织切片及阴性对照切片进行免疫组化染色,其中阴性对照切片未见染色(图 1A),CysLTR1 阳性表达切片的细胞膜和细胞浆均呈现棕黄色染色(图 1B)。



A: 阴性对照未染色, B: CysLTR1 阳性染色, 400 倍

图 1 AH 患儿腺样体组织免疫组化染色结果

2.2 两组患儿腺样体组织 CysLTR1 表达情况比较 高表达组患儿的 AH 程度、有无变应性鼻炎及有无其他合并症与低表达组相比有显著差异($\chi^2 = 9.003 \sim 49.196, P < 0.05$),而性别、年龄与低表达组比较无显著差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 影响 AH 患儿腺样体组织 CysLTR1 高表达的多因素 logistic 回归分析

对两组中差异显著指标进行多因素 logistic 回归分析,以 CysLTR1 在腺样体组织的阳性率表达作为因变量,将高阳性率表达赋值为 1,而将低阳性率表达赋值为 0,以 AH 程度、有无变应性鼻炎、有无其他合并症三因素作为自变量,其结果显示重度 AH、有变应性鼻炎、有其他合并症均为 AH 患儿腺样体组织中 CysLTR1 高表达的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 AH 患儿腺样体组织中 CysLTR1 阳性表达程度比较[例(χ/%)]

| 指标 | 高表达组 (n=35) | 低表达组 (n=36) | χ ² | P |
|--------|----------------|----------------|----------------|--------|
| 性别 | | | 0.590 | 0.443 |
| 男 | 28(80.0) | 26(72.2) | | |
| 女 | 7(20.0) | 10(27.8) | | |
| 年龄 | | | 0.849 | 0.654 |
| 1~3 岁 | 10(28.6) | 7(19.4) | | |
| 4~6 岁 | 17(48.6) | 19(52.8) | | |
| 7~14 岁 | 8(22.8) | 10(27.8) | | |
| AH 程度 | | | 22.671 | <0.010 |
| 中度 | 4(11.4) | 24(66.7) | | |
| 重度 | 31(88.6) | 12(33.3) | | |
| 变应性鼻炎 | | | 49.196 | <0.010 |
| 是 | 33(94.3) | 4(11.1) | | |
| 否 | 2(5.7) | 32(88.9) | | |
| 其他合并症 | | | 9.003 | 0.003 |
| 是 | 30(85.7) | 19(52.8) | | |
| 否 | 5(14.3) | 17(47.2) | | |

表 2 影响 AH 患儿 CysLTR1 高表达的多因素 logistic 回归分析

| 变量 | β | SE | Wald χ ² | OR 值(95%CI) | P 值 |
|--------|-------|-------|---------------------|-----------------------|--------|
| 重度 AH | 2.225 | 0.797 | 7.790 | 9.257(1.940~ 44.171) | 0.005 |
| 变应性鼻炎 | 3.265 | 0.879 | 13.799 | 26.190(4.676~146.680) | <0.010 |
| 有其他合并症 | 1.976 | 0.913 | 4.686 | 7.216(1.206~ 43.190) | 0.030 |

3 讨 论

组胺、LT 等炎性分子是参与气道炎症反应的重要介质^[15]。研究发现重度变应性鼻炎患者鼻气道阻力在 LTD4 鼻激发试验后显著升高^[16]。半胱氨酸白三烯(CysLTs)被认为是病毒感染激发哮喘发作的关键介质,LT 受体拮抗剂孟鲁司特能明显减轻哮喘所致的嗜酸性粒细胞浸润,并降低血清白细胞介素-13(IL-13)、IL-9 和趋化因子 3 水平,从而减轻气道高反应性^[17]。云靖婷等^[18]研究显示,通过下调 CysLTR1 mRNA 的表达及干预 CysLTR1 介导的哮喘炎症通路,可达到防治哮喘的目的。本研究中 CysLTR1 高表达组患儿的性别、年龄与低表达组无显著差异,而随着 AH 程度增高,CysLTR1 表达水平显著提高。这与既往研究中腺样体组织及外周血清中 LT(LTB4、LTC4)水平的高低与 AH 程度呈正相关的结论一致^[3],表明 CysLTs 参与了 AH 的形成。而 CysLTs 可能是嗜酸性粒细胞-嗜碱性粒细胞克隆单位形成的促进因子,还能引起鼻黏膜上皮内嗜酸性粒细胞浸润及腺体分泌亢进^[19],故推测使用 CysLTR1 阻滞剂可能减少嗜酸性粒细胞浸润,缓解炎症反应的发生,进而减轻 AH

程度。

变应性鼻炎发生时,其鼻黏膜炎症反应产生的分泌物及变应性鼻炎后期鼻后滴漏综合征产生的分泌物反复刺激腺样体,导致 AH^[20]。研究结果显示 CysLTR1 在人鼻黏膜多种细胞(包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞等)中呈高表达^[21]。CysLTs 合成蛋白及 CysLTR 在季节性变应性鼻炎患者的鼻腔灌洗液中也呈现出高表达^[22]。上述结果与本研究合并变应性鼻炎的 AH 患儿腺样体组织中 CysLTR1 高表达的结果相一致,印证了变应性鼻炎促进 AH 发生的理论,因此在治疗合并变应性鼻炎的 AH 患儿时,可首选 CysLTR1 阻滞剂。

本研究 71 例患儿中 49 例伴随其他合并症,其中包括呼吸睡眠暂停综合征^[23]、慢性鼻窦炎、分泌性中耳炎等。研究显示上述疾病的发生发展与 AH 以及 CysLTs 水平相关^[24-27]。本研究亦证实伴有其他合并症的 AH 患儿 CysLTR1 的表达水平更高。有研究显示,孟鲁司特治疗可使 76% 的呼吸睡眠暂停综合征患儿腺样体缩小,改善睡眠不适、打鼾以及张口呼吸等症状^[28]。同时孟鲁司特还可以抑制 CysLTs 信号转导,降低细胞因子以及黏蛋白的表达,进而促进伴有鼻息肉的慢性鼻炎患者的恢复^[29-30]。当 AH 合并分泌性中耳炎时,往往采取综合治疗的方式。

CysLTR1 在 AH 患儿腺样体组织中的表达与重度 AH、变应性鼻炎及有其他合并症相关,这与既往研究结果基本一致^[31-32],说明 CysLTR1 是参与 AH 形成的重要因素,研究 CysLTR1 的表达情况,对研究 AH 的形成机制有重要意义。本研究对上述因素进行了多因素 logistic 回归分析,发现这 3 个因素是 CysLTR1 在 AH 患儿腺样体组织中高表达的独立危险因素。因此,临床上对 AH 程度高、有变应性鼻炎及有其他合并症的 AH 患儿,或可首选 CysLTR1 阻滞剂作为非手术治疗的一线药物。本研究也存在一定局限性,比如样本量不足,病例对照研究的证据等级较低等,因此还需后续进行更深入研究以进一步探究和验证以上结论。

伦理批准和知情同意:本研究涉及的所有试验均已通过威海市立医院伦理委员会的审核批准(文件号 2023019)。所有试验过程均遵照《临床试验质量管理规范》的条例进行。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

作者声明:张冰、林荣军、金蓉、管仁政参与了研究设计;张冰、林荣军、金蓉、管仁政、王学海参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 朱凤娟. 儿童腺样体肥大与过敏性鼻炎的相关性研究[D]. 济南:山东大学, 2021.
- [2] 宜若男. 125 例 OSAHS 患儿扁桃体和(或)腺样体术后免疫功能变化的相关研究[D]. 延安:延安大学, 2020.
- [3] 王玉振. 白三烯 B4 及白三烯 C4 在腺样体肥大患儿中的表达及作用研究[D]. 青岛:青岛大学, 2020.
- [4] YÜCEL EKICI N, KÜLAHCI Ö. Relationship between tissue and serum eosinophilia in children undergoing adenotonsillectomy with allergic rhinitis[J]. Turk J Med Sci, 2019, 49(6): 1754-1759.
- [5] CHO K S, KIM S H, HONG S L, et al. Local atopy in childhood adenotonsillar hypertrophy[J]. Am J Rhinol Allergy, 2018, 32(3):160-166.
- [6] LAM M E, KITIPORNCHAI L, BALL N, et al. Incidence of allergen-specific and total immunoglobulin E positivity in children undergoing adenotonsillectomy [J]. J Paediatr Child Health, 2021, 57(8):1228-1233.
- [7] 杨一民, 洪菲萍, 石慧莉, 等. 白三烯受体拮抗剂治疗支气管哮喘的药物基因组学研究进展[J]. 广西医学, 2022, 44(5):548-552.
- [8] TRINH H K T, SUH D H, NGUYEN T V T, et al. Characterization of cysteinyl leukotriene-related receptors and their interactions in a mouse model of asthma[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2019, 141:17-23.
- [9] 陈荣, 黄燕, 崔振泽. 特应性体质与儿童感染后咳嗽的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(23):5427-5430.
- [10] 田滢, 崔玮昕, 何小丹. 以家庭为中心的护理模式在儿童腺样体肥大手术患儿中的应用[J]. 齐鲁护理杂志, 2019, 25(2): 38-40.
- [11] 孟洋. 腺样体肥大再手术的危险因素分析[J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 2019, 27(3):216-218.
- [12] PARAMAESVARAN S, AHMADZADA S, ESLICK G D. Incidence and potential risk factors for adenoid regrowth and revision adenoidectomy: A meta-analysis[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2020, 137:110220.
- [13] 朱源, 魏萍, 寇巍, 等. 预防腺样体肥大术后复发的策略探讨[J]. 临床耳鼻喉头颈外科杂志, 2022, 36(10):807-812.
- [14] GOLDBART A D, TAL A. Inflammation and sleep disordered breathing in children: A state-of-the-art review[J]. Pediatr Pulmonol, 2008, 43(12):1151-1160.
- [15] 王永杰, 苏东方. 过敏性鼻炎患者应用组胺受体拮抗剂联合白三烯受体拮抗剂治疗的临床疗效[J]. 医学理论与实践, 2021, 34(7):1170-1171.
- [16] ZHU Z, XIE Y Q, GUAN W J, et al. Effects of leukotriene D4 and histamine nasal challenge on airway responsiveness and inflammation in persistent allergic rhinitis patients[J]. Clin Respir J, 2018, 12(2):587-594.
- [17] AL-AZZAM N, ELSALEM L. Leukotriene D4 role in allergic asthma pathogenesis from cellular and therapeutic perspectives [J]. Life Sci, 2020, 260:118452.
- [18] 云靖婷, 胡晓阳, 李志军, 等. 基于气道炎症及 Th1/Th2 免疫通路探究抗支糖浆对雾化烟草提取物环境哮喘模型小鼠的影响[J]. 中医学报, 2022, 50(10):26-32.
- [19] 张开玲, 滕尧树, 李勇. 鼻部炎症性疾病治疗靶点: 半胱氨酰白三烯及其受体[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2019, 13(3):242-247.
- [20] 李明华. 过敏性鼻炎与腺样体肥大[J]. 中国临床医生杂志, 2014, 42(12):9-10.
- [21] JO-WATANABE A, OKUNO T, YOKOMIZO T. The role of leukotrienes as potential therapeutic targets in allergic disorders[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(14):3580.
- [22] FUJISAWA S, NAGATA Y, SUZUKI R. Leukotriene D4 accelerates antigen-mediated mast cell responses via the cysteinyl leukotriene 1 receptor[J]. Cell Immunol, 2022, 382:104632.
- [23] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会, 中华医学会耳鼻咽喉科学分会. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊疗指南草案(乌鲁木齐)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 42(2): 83-84.
- [24] 包鸿, 谢志毅, 吴国琴. 新疆克州阿合奇县儿童鼻窦炎与支气管哮喘的相关性研究[J]. 中国社区医师, 2022, 38(28):124-126.
- [25] VASCO C T C, MORAIS H C, AVELINO M A G. Systematic review of the literature on surgical treatment of chronic rhinosinusitis in children; What is the best approach? [J]. Rev Paul Pediatr, 2020, 38:e2018068.
- [26] 钟燕梅. 分泌性中耳炎的研究进展[J]. 基层医学论坛, 2017, 21(7):870-873.
- [27] VINTILESCU Ş B, IONIŢĂ E, STEPAN A E, et al. Comparative clinicopathological aspects of chronic tonsillitis and adenoiditis in children[J]. Revue Roumaine De Morphol Embryol, 2020, 61(3):895-904.
- [28] LEE S Y, KIM J W. Nasopharyngeal width and its association with sleep-disordered breathing symptoms in children[J]. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2019, 12(4):399-404.
- [29] 杨洁, 吴春青, 王薛平. 孟鲁司特钠联合卡络磺钠治疗儿童过敏性紫癜疗效及对血清细胞因子、信号转导抑制蛋白 3 和低糖基化 IgA1 水平的影响[J]. 儿科药理学杂志, 2020, 26(2):14-17.
- [30] 赵传亮, 余少卿. 难治性慢性鼻窦炎的临床研究进展[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(1):19-22, 27.
- [31] 梁敏, 王志坚, 温红艳, 等. 白三烯受体 mRNA 在儿童腺样体肥大中的表达[J]. 广州医科大学学报, 2015, 43(2):15-18, 28.
- [32] JOHNSTON J, HOGGARD M, BISWAS K, et al. The bacterial community and local lymphocyte response are markedly different in patients with recurrent tonsillitis compared to obstructive sleep apnoea [J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2018, 113:281-288.

(本文编辑 范睿心 厉建强)