

## • 综述 •

## 免疫反应与分泌性中耳炎的关系

张淑君<sup>1</sup> 陈晓红<sup>2△</sup>

[关键词] 中耳炎;免疫反应;细胞生长因子

[中图分类号] R764.21 [文献标志码] A [文章编号] 1001-1781(2013)19-1096-04

## Relationship between immune response and secretory otitis media

**Summary** Otitis media with effusion (OME) was first described by Austrian otologist POLITZERZAI in 1867. The main feature is ear effusion and conductive hearing loss. However the etiology and pathogenesis of OME has not been clear up to now. It is thought that OME can be induced by upper respiratory infection, also can arise after radiotherapy of head and neck cancer. Presently the dysfunction of eustachian tube, infection of middle ear and allergic reaction are considered to be the major causes of OME. In recent years, more and more researches have concerned in immune response and otitis media with effusion.

**Key words** otitis media; the immune response; cell growth factor

分泌性中耳炎 (otitis media with effusion, OME) 是最早由奥地利耳科医师 Politzerzai 在 1867 年命名的,其主要特点是鼓室积液和传导性聋。其病因及发病机制尚未完全清楚,OME 多为上呼吸道感染所致,亦可由头颈部肿瘤放疗后而产生。目前认为咽鼓管功能障碍、中耳局部感染和变态反应等是 OME 的主要病因,近些年有关免疫反应与 OME 的研究亦越来越多,现综述如下。

## 1 细胞因子的免疫调节

细胞因子是低分子质量的多肽或糖蛋白,其功能是调节细胞生长、分化,介导和调节免疫应答和炎性反应。中耳积液中 CK 的检出,使 CK 在 SOM 发病机制的作用逐渐被揭开。CK 可促进中性粒细胞的聚集和激活,并诱导其释放胞内酶,诱导嗜酸粒细胞释放组胺,加重中耳黏膜损伤,导致 SOM 迁延不愈。

1.1 IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$ 

研究发现,IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  在患儿中耳积液的含量均明显高于血浆含量;而患儿组血浆含量又高于其对照组,这说明它们参与了 OME 的病理生理过程,同时,在不同病程阶段,它们的含量也不同,一般认为,IL-2、IL-4 的基本功能就是激活免疫,作用是刺激 B 细胞分化为浆细胞产生免疫球蛋白;而 IL-6 是诱导 B 细胞分泌 IgE 的必需因子之一,共同参与机体的防御反应;IL-8 是一种重要的白细胞趋化因子,在疾病早期也发挥了重要作用,它趋化中性白细胞参与机体

防御反应,对早期中耳积液的分析发现,大量的中性白细胞表面有大量的 IL-8 受体,IL-8 与其受体结合可导致细胞变形、脱颗粒、释放溶酶体和过氧化物,造成咽鼓管及中耳黏膜水肿降低输送功能,使积液滞留在中耳腔内<sup>[1]</sup>,而 IL-10 则主要对免疫应答起抑制作用,TNF 在低水平具有保护作用,高水平则表现为损害效应。王智楠等<sup>[2]</sup>等通过检查 70 例 OME 患儿血浆及中耳积液中的细胞因子 (IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$ ) 并以 30 例健康患儿进行对照,结果发现在 OME 血浆及中耳积液中细胞因子表达明显增强,并推测细胞因子参与介导中耳局部炎症反应,调节局部免疫反应,在 OME 发生及转归中产生重要作用。

## 1.2 IL-1

IL-1 属于内分泌 CK,具有广泛的生物学效应,尤其在免疫应答及炎性反应中起重要作用,它可以刺激 T 细胞、B 细胞增生,分化及其他 CK 的产生,如 IL-2、IL-6、IL-8、IFN- $\gamma$  和粒细胞-巨噬细胞刺激因子;还可以激活白细胞促进其黏附并合成炎性蛋白(如急性期反应蛋白等),从而参与各种急慢性炎症反应的病理过程;通过脂氧合酶和环氧合酶 2 种途径促进氨基酸代谢促使局部氨基酸消耗,导致强烈炎症变化和积液产生。通过纯化、克隆及序列分析,已知有两类 IL-1 即  $\alpha$  和  $\beta$ ,IL-1 $\alpha$  主要存在于胞质内,IL-1 $\beta$  主要存在于细胞外间隙和血液循环中。研究证明,多种细胞可分泌 IL-1,而主要分泌成分为 IL-1 $\beta$ ,人类多种生物效应也主要是由 IL-1 $\beta$  介导的。Watanabe 等<sup>[3]</sup>研究内毒素诱导的鼠 OME 模型发现 MEE 中 IL-1 $\beta$  的表达水平升高,他首次通过原位杂交在动物 OME 模型的中耳黏膜中检测到了 IL-1 $\beta$ mRNA 的表达。进一步研

<sup>1</sup>承德医学院附属医院耳鼻咽喉科(河北承德,067000)<sup>2</sup>北京同仁医院耳鼻咽喉头颈外科

△审校者

通信作者:陈晓红,E-mail:cdcd2007@163.com

究发现,经鼓膜注入鼠重组 IL-1 $\beta$  能诱导产生 OME,该 OME 模型能部分被注入的 IL-1 $\beta$  受体抗体抑制。

### 1.3 IL-5

IL-5 通过刺激产生、活化、分化及嗜酸性细胞的移动,最后产生了分子基础上的嗜酸性炎症反应<sup>[4]</sup>。IL-5 mRNA 在黏膜中的表达是正反馈的,它与主要碱性蛋白及 CD3(活化的 T 细胞标记)的高表达有关(嗜酸性细胞标记)<sup>[5]</sup>。在对中耳标本中细胞因子的检测时发现 IL-5 的细胞表达数量增加了,其表达与嗜酸性细胞及 T 淋巴细胞的比例相关<sup>[6]</sup>。Wright 等<sup>[7]</sup>通过对顽固性 OME 患儿中耳黏膜中的炎症细胞以及与变态反应具有相关性的 Th2 细胞因子的研究中发现:IL-5 在顽固性 OME 血清中呈高表达,并导致肥大细胞、嗜酸性粒细胞有聚集的倾向性,特别是后者能释放 MBP、ECP 和 IL-5,产生不断循环的炎症过程。

### 1.4 INF- $\gamma$

Pitkaranta 等<sup>[8]</sup>指出,INF- $\gamma$  可能是在腺病毒、鼻病毒、多核病毒或甲型流感病毒的刺激下产生的。INF- $\gamma$  可能是诱导内皮细胞产生 IL-6,再协同 IL-1 $\beta$ ,抑制中耳局部抗体的产生,损害中耳黏膜和听小骨,导致中耳病变并粘连。

### 1.5 转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )

研究发现 TGF- $\beta$ 1 和 TGF- $\beta$ 2 存在于中嵴上皮中,并且前者与鼓膜置管史及积液性质有关,它在浆液性积液中的表达较高,后者与此无关而与疾病的慢性过程有关,这表明不同的 CK 在疾病的不同阶段起的作用不同。TGF- $\beta$  在 CK 调节网络中占有主导地位,可以促进细胞合成 IL-1、TNF- $\alpha$  和 IL-6 等,在发育过程中,它能通过提高细胞外基质蛋白和生长因子及其受体的产生刺激肥大细胞增生,刺激肥大细胞内颗粒形成及脱颗粒,然而多数情况下,它是细胞生长潜在的生理抑制因子,是通过它对 B 和 T 淋巴细胞增生的抑制作用实现的。

## 2 变态反应

中耳是一个独立的免疫防御系统,由于中耳积液中炎症递质、特异性抗体、免疫复合物以及补体系统的存在,提示 SOM 为一种免疫介导的病理过程。另外,中耳积液中嗜酸性粒细胞阳离子蛋白含量高于正常,也说明了免疫因素的参与。

### 2.1 I 型变态反应

I 型变态反应在 OME 形成机制的作用是长期以来人们争论的焦点,现已证实,Th1 降低或(和)Th2 增高导致的 Th1/Th2 平衡失调,是变态反应的重要原因。Th1/Th2 的平衡状态被打破,两类细胞因子失去相互的控制作用,机体处于 Th2 占优势状态,促进体液免疫功能,导致 I 型变态反应的发生。有学者通过对豚鼠病理模型的研究发

现:发生在鼻部的 I 型变态反应无论在功能还是在形态学上(仅局限在咽口部位)对咽鼓管均有影响,某些潜伏在鼻咽部的病毒,一旦被激活,能诱发 IgE 介导超敏反应,而这种介导反应发生在鼻咽部,极易影响咽鼓管功能,导致 OME 的发生。

### 2.2 III 型变态反应(免疫复合物型)

III 型变态反应通常由细菌感染引起。有研究结果显示,OME 患者中积液免疫复合物(effusion of immune complexes, IC)明显高于血清,IC 沉积中耳黏膜,通过 III 型变态反应,损伤毛细血管导致血管渗透性增加而引起渗出。其中 IC 为启动因素。免疫复合物在动物体内作为 OME 的致病因素的论点已得到证实。研究发现人体内免疫复合物的主要作用还是其对细菌的调理作用,即加强中性粒细胞和巨噬细胞对细菌的吞噬能力,激活补体。Fujioka 发现粘液性渗出液中 IgG 和 IgA 在 MEE 和血清中含量的比值(MEE/血清)高于浆液性渗出液中的比值。以上推论细菌感染及随之引起的免疫反应致使儿童 OME 病程延长,尤其当 MEE 为黏液性状时。

### 2.3 迟发性过敏反应

Hardy 等<sup>[9]</sup>通过试验证实,鼓室内注入抗原诱导致敏大鼠的过敏反应导致咽鼓管功能障碍并继发 OME,这些反应在激发试验后至少持续 32 h 以上,提示为迟发性过敏反应所致。

## 3 NO

NO 是一氧化氮合酶(NOS)催化 L 精氨酸产生的氧化物,具有抗微生物效应(细胞毒性作用),同时又是一种免疫调节剂,过量的 NO 又往往促发免疫病理过程,可介导某些细胞因子及炎症递质的产生而造成组织损伤。有实验发现细菌脂多糖首先诱导 TNF- $\alpha$  分泌,继而促进 NO 合成,NO 通过升高黏膜上皮 cGMP 浓度使黏蛋白分泌增多,同样也有学者认为 NO 对 OME 患者中耳积液中黏蛋白的分泌具有重要作用。

## 4 腺样体免疫异常

腺样体在解剖学上是咽淋巴环的一部分,出生后即发育成熟,在儿童和青少年时期腺样体体积最大,以后逐渐缩小;腺样体是人体的免疫器官,它含有各个发育阶段的淋巴细胞如 T 细胞、B 细胞、浆细胞、吞噬细胞、束状突细胞等,既具有细胞免疫又具有体液免疫。腺样体在炎症时可释放多种炎症递质,增加血管的通透性,加重咽鼓管和中耳黏膜的损伤。Ratomski 等<sup>[10]</sup>通过流式细胞学方法对 SOM 患儿腺样体组织研究发现 CD4+CD28+ 细胞百分比及 CD4+ 细胞亚群上的 CD28 荧光强度均值在 SOM 组明显高于单纯腺样体肥大组,CD8+CD28+ 和 CD19+CD28+ 细胞百分比及荧光强度均值无显著差异;Stasiak-Barmuta 等<sup>[11]</sup>通

过流式细胞学方法对 SOM 患儿外周血中表达 CD69、HLA-DR 分子的 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 及 NK 细胞亚群的百分比研究发现 T 淋巴细胞免疫缺陷可能是反复发作的 OME 的原因之一。张爱英等<sup>[12]</sup> 通过免疫组织化学方法发现腺样体组织中 IL-6 的高表达的局部免疫异常,对中耳炎的发病起到了一定的作用。房居高等<sup>[13]</sup> 通过测定体外腺样体淋巴细胞自发性 DAN 合成(sds)及可溶性白介素-2 受体(SIL-2R)的释放,了解 OME 患者腺样体淋巴组织活性较高,可能导致局部免疫异常而引起 OME 的发生。

### 5 机体免疫调节缺陷

Bernsteint 提出有 OME 发病倾向的儿童,其免疫机能低下,表现为:Th/Ts 比值下降,IL-2 产生缺陷,T、B 淋巴细胞对特异性或非特异性分裂素刺激的增殖反应能力降低。Djeric 发现 OME 患儿血清中存在一些免疫抑制因子,影响了 T 细胞的增殖,指出这些抑制因子对 OME 持续状态的形成起作用。

### 6 NF- $\kappa$ B

NF- $\kappa$ B 是一类能与多种基因启动子部位的  $\kappa$ B 点发生特异性结合促进转录的 DNA 结合蛋白总称。它广泛存在于体内多种细胞中,目前已发现它调节着 100 多种靶基因的表达,如细胞因子、化学趋化因子、生长因子、黏附分子、某些急性期反应蛋白以及参与免疫识别的受体和抗原递呈的蛋白质等,大多数均参与宿主的免疫和炎症反应<sup>[14]</sup>。Ovesen 等<sup>[15]</sup> 已通过实验检测到 OME 鼓室上皮组织中有 NF- $\kappa$ B 的表达,在静息状态时,NF- $\kappa$ B 与抑制性分子 I  $\kappa$ B 结合以无活性的三聚体形式存在于细胞质中,当细胞受到刺激时,I  $\kappa$ B 发生降解,NF- $\kappa$ B 二聚体则向胞核转移,与 DNA 链中特定序列结合启动相关基因转录<sup>[16]</sup>。体内 NF- $\kappa$ B 的活化过程调控包括两条途径:①经细胞外正反馈途径;②经细胞内、外的负反馈途径。有实验证实<sup>[17]</sup> 在 OME 动物模型的发病早期检测到了重要致炎因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ ,并发现 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的高峰时相与 NF- $\kappa$ Bp65 高峰时相一致,这进一步证实 NF- $\kappa$ B 与 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  存在着正反馈调节机制,NF- $\kappa$ B 通过调控 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  基因的表达,进而影响机体的炎症反应,易导致 OME 炎症反应的扩大和持续。

综上所述,OME 的病因及发病机制是多种多样的,而免疫反应是 OME 最主要的致病因素,随着免疫学的发展,人们对 OME 发病机制的认识将更加深入。

### 参考文献

[1] 林国武,黄维国,姜宏彦,等. 一氧化氮及两种细胞因子在分泌性中耳炎中耳积液中的表达及意义[J]. 中

华耳鼻咽喉科杂志,2000,35(1):23-25.

- [2] 王智楠,徐忠强,余其林,等. 细胞因子、IgE 及一氧化氮在小儿分泌性中耳炎中耳积液的表达[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志,2003,17(7):421-423.
- [3] WATANABE T, HIRANO T, SUZUKI M, et al. Role of inteleukin-1 $\beta$  in a murine modle of otitis media with effusion[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2001, 110:574-580.
- [4] SOBOL S E, TAHA R, SCHLOSS M D, et al. TH2 cytokine expression in atopic children with otitis media with effusion[J]. J Allergy Clin Immunol, 2002,110:125-130.
- [5] NONAKA M, FUKUMOTO O, OZU C, et al. IL-5 and eotaxin levels in middle ear effusion and blood from asthmatics with otitis media with effusion[J]. Acta Otolaryngol, 2003,123:383-387.
- [6] POLLOCK H W, EBERT C S, DUBIN M G. The role of soluble interleukin-4 receptor and interleukin-5 antibody in preventing late-phase allergy-induced Eustachian tube dysfunction[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2002,127:169-176.
- [7] WRIGHT E D, HURST D, MIOTTO D, et al. Increased expression of major basic protein (MBP) and interlerkin-5 in middle era biopsy specimens from atopic patients with persistent otitis media with effusion [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2000, 123: 533-538.
- [8] PITKARANTA A, HOVI T, KARMA P. Interferon production by leukocytes in children with otitis media with effusion [J]. Int J P ediatr Otorhinolaryngol, 1996,34:25-33.
- [9] HARDY S M, HEAVNER S B, WHITE D R, et al. Late-phase allergy and Eustachian tube dysfunction [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2001, 125: 339-345.
- [10] RATOMSKI K, ZELAZOWSKA-RUTKOWSKA B, WYSOCKA J, et al. Expression of adhesion molecule CD28 on subpopulations of lymphocytes in hypertrophied adenoids in children with otitis media with effusion[J]. Otolaryngol Pol, 2006, 60: 873-877.
- [11] STASIAK-BARMUTA A, STANKIEWICZ W, ZIELNIK-JURKIEWICZ B, et al. Aspects of biological activity of T and NK lymphocytes in children with adenoid hypertrophy and concomitant otitis media with effusion[J]. Pol Merkur Lekarski, 2005, 19: 265-268.
- [12] 张爱英,张勋,苏金柱. IL-6 表达与腺样体肥大伴分泌性中耳炎发病的关系[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2011, 19(3): 270-271.
- [13] 房居高,王宝华,王艳华. 分泌性中耳炎患儿腺样体免疫状态的探讨[J]. 耳鼻咽喉-头颈外科, 1995, 2(3): 171-173.
- [14] 林振和. 核因子- $\kappa$ B 信号转导途径的调节研究进展 [J]. 国外医学免疫学分册, 2004, 27(4): 234-234.
- [15] OVESEN T, BARRETT T Q. Nuclear factor- $\kappa$ B in

middle ear epithelial cells; a methodological study using an ELISA [J]. Acta Otolaryngol, 2003, 123: 306-309.  
[16] HISCOTT J, KWON H, GENIN P. Hostile take-overs: viral appropriation of the NF- $\kappa$ B pathway[J].

J Clin Invest, 2001, 107: 143-151.  
[17] 刘卫红, 崔永华, 刘争, 等, 核因子- $\kappa$ B 在分泌性中耳炎动物模型鼓室黏膜中的表达[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2006, 14(6): 439-441.  
(收稿日期: 2012-10-18)

## GJB2 基因突变与听力损失的关系\*

崔庆佳<sup>1</sup> 黄丽辉<sup>1</sup>

[关键词] GJB2 基因; 突变; 听力损失

[中图分类号] R764.4 [文献标志码] A [文章编号] 1001-1781(2013)19-1099-04

### Hearing loss associated with GJB2 gene mutation

**Summary** Deafness refers to different degrees of hearing loss(HI). The factors leading to HI are complex, among which heredity is a major one. Nonsyndromic hearing loss(NSHL) accounts for 80% of hereditary deafness. More than 140 genes have been regarded to be closely related to NSHL. The mutation of GJB2(gap junction protein, beta 2)gene accounts for 80% of NSHL and more than 50% of children NSHL, playing the most important role in deafness genes. This paper reviewed the studies on the association between GJB2 gene mutation and HI to provide reference for genetic diagnosis and counseling.

**Key words** GJB2 gene; mutation; hearing loss

耳聋泛指不同程度的听力损失,其病因复杂,遗传因素占重要地位。遗传性耳聋一般分为两种:一种为综合征型耳聋(syndromic hearing loss, SHL);另一种为非综合征型耳聋(nonsyndromic hearing loss, NSHL)。临床上,NSHL 约占遗传性耳聋的 80%<sup>[1]</sup>。迄今为止,已有 140 多个基因位点被认为与 NSHL 有密切关系,其中 GJB2 基因是目前已知的最主要的致聋基因,约占 NSHL 患者的 50% 以上;GJB2 突变在儿童 NSHL 中约占 40%<sup>[2]</sup>。本文将 GJB2 基因突变与听力损失的关系做一综述,以此对临床的基因诊断和咨询提供借鉴。

#### 1 GJB2 基因常见突变位点

至今已发现 GJB2 基因有 111 种突变方式,其中显性突变 9 种,隐性突变 92 种。国内外报道 GJB2 基因突变的致病率不完全一致,纪育斌等<sup>[3]</sup>报道在 NSHL 患者中 GJB2 基因突变的致病率约为 12.88%,携带率约为 19.41%。欧洲地区

NSHL 患者中,GJB2 基因突变占 17%~71.4%;中东地区占 11%~39%;美国 NSHL 患者中约占 24.3%<sup>[4]</sup>。

在 GJB2 基因所有突变中,国外有学者报道 35 delG 为目前最为常见的突变位点,尤其是地中海地区。而在犹太地区,167 delT 为最常见的突变位点。235 delC 则是亚裔最为常见的突变位点。纪育斌等<sup>[3]</sup>对中国 NSHL 患者 GJB2 基因突变流行病学文献进行分析,证实我国耳聋患者中 GJB2 基因最为常见的突变类型是 c. 235delC,其次是 c. 299\_300 delAT, c. 176\_191 del6 和 c. 35 delG,这 4 个位点在我国耳聋人群中的等位基因突变率分别约为 11.90%、2.22%、0.65% 和 0.27%。而在我国正常人群中,235 delC 突变频率为 0~1%,299\_300 delAT 为 0~0.5%,35 delG 为 0~0.2%<sup>[5-10]</sup>。

#### 2 GJB2 基因突变致病机制

GJB2 基因编码的 Cx26 属于缝隙连接蛋白基因家族,与相邻细胞的缝隙连接蛋白组成一个完整的缝隙连接通道,是完成电解质、第二信使和代谢产物在细胞间转换的重要通道<sup>[11]</sup>。Todt 等<sup>[11]</sup>研究表明,当 GJB2 基因的编码区发生突变可以产生无功能的缝隙连接蛋白,该缝隙连接蛋白与相邻细胞的缝隙连接蛋白组成一个完整的缝隙连接通道,突变后的蛋白丧失对缝隙连接通道 pH 值的调控

\* 基金项目:卫生公益性行业科研专项基金(No: 201202005);首都医学发展科研基金项目(No: 2009-1049);首都医科大学基础临床合作基金(No: 12JL07)

<sup>1</sup>首都医科大学附属北京同仁医院北京市耳鼻咽喉科研究所耳鼻咽喉头颈外科学教育部重点实验室(首都医科大学)(北京,100005)

通信作者:黄丽辉, E-mail: huangpub@126.com