

• 综述 •

ECP 在气道变应性疾病中的应用进展

陈以标¹ 刘月辉^{1△}

[关键词] 嗜酸粒细胞;嗜酸粒细胞阳离子蛋白;哮喘;鼻炎,变应性

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2016.18.016

[中图分类号] R739.65 [文献标志码] A

The application of eosinophil cationic protein on inflammatory disease of airway

Summary Eosinophil cationic protein(ECP)is a heterogeneous molecule originating from activated eosinophil granulocytes. Airway allergic diseases such as allergic rhinitis and asthma are closely related eosinophils that Infiltrate local tissue. ECP can be actively used in the diagnosis of allergic disease, curative effect evaluations as a bio-marker. The origin and the biology function of ECP as well as its relations with the infection are introduced, especially, the relationship between ECP and asthma,allergic rhinitis are also addressed.

Key words eosinophil;eosinophil cationic protein;asthma;rhinitis,allergic

嗜酸粒细胞阳离子蛋白(eosinophil cationic protein,ECP)是嗜酸粒细胞(eosinophil,EOS)分泌的4种强碱性蛋白中的一种,其他还有碱性蛋白(major basic protein,MBP)、嗜酸粒细胞衍生神经毒素/嗜酸粒细胞蛋白X(eosinophil derived neurotoxin/eosinophil protein X)、嗜酸粒细胞过氧化物酶等。大量研究资料表明,ECP来源于EOS,并且是EOS活化和转归的生物标志^[1]。ECP蛋白具有细胞毒性作用以应对各种病原物的挑战。ECP水平是评价气道变态性疾病炎症严重程度的生物标志物,可被广泛用于气道变态炎性疾病如哮喘、变应性鼻炎(allergic rhinitis,AR)等疾病的诊断、治疗及疗效的评估中^[2]。本文就近年来探讨ECP在气道变态炎性疾病中的应用进行综述。

1 ECP的结构及生物学功能

ECP也称为核糖核酸酶3,是一个单一肽链133个氨基酸的单链锌蛋白,尤其以精氨酸居多,相对分子质量为15 000~22 000,等电点为10.8,具有2个亚基:ECP-1和ECP-2^[3]。包含2个外显子:非编码外显子1(67个基点)和编码外显子2(667个基点),230 bp的内显子^[4]。Noguchi等证实了ECP遗传基因定位于14号染色体14q 11.2 a^[5]。

ECP具有多种生物活性,其细胞毒性能够杀死寄生虫、肿瘤细胞,并可对心血管、呼吸道造成损伤;还有神经毒性、抗细菌和抗病毒活性。其细胞毒性效应机制是ECP自由通过细胞膜引起细胞内

渗透压改变最终导致细胞肿胀溶解坏死^[6]。非细胞毒性效应表现在抑制T细胞和免疫球蛋白增生,进而影响免疫系统^[7]。ECP刺激局部组织,可引起EOS脱颗粒、释放血小板活化因子、IL-5、免疫蛋白、白三烯B4^[8]。其他一些非毒性效应表现为促进气道分泌物增加、改变凝血时间及活化相关的蛋白聚酶等^[9]。

2 ECP与EOS、EOS与气道变应性疾病的关系

ECP的浓度能反映组织EOS增多的程度和疾病炎症的强度^[10]。有研究证明,哮喘的多种病理生理改变,如气道高反应性、上皮破坏、血浆蛋白渗出、腺体分泌亢进和气道阻塞等,可用EOS释放ECP来加以解释,ECP是炎症反应的一个标志,反映了EOS的活化程度,可以作为哮喘气道炎症的一项诊断指标^[11]。许多组织病理研究证明EOS是AR患者鼻腔黏膜炎性反应中的关键细胞,它通过脱颗粒作用将具有细胞毒性的蛋白酶或内源性的刺激介质释放,导致鼻黏膜、血管扩张破裂、大量黏液分泌以及急性气道收缩反应并且也是导致AR炎症发生、发展和迁延的重要原因之一^[12]。

3 ECP在哮喘中的作用

3.1 ECP作为诊断指标

ECP具有很强的细胞毒性,诱导肥大细胞释放组胺改变、黏膜的通透性,导致气道高反应性。活化的EOS释放活性产物ECP在哮喘和其他炎症性疾病患者血液、组织和体液中的广泛分布并积聚致组织损伤^[13]。Jung等^[14]对哮喘研究中发现,急性发作期ECP在血清和痰液中表达量明显升高。美国国家心脏、肺和血液中心把血清中ECP也列入诊断哮喘的一个重要的指标,等同于嗜酸性

¹南昌大学第二附属医院耳鼻咽喉头颈外科(南昌,330006)
[△]审校者
通信作者:刘月辉,E-mail:liuyuehuiclark@21cn.com

细菌计数、特异性的风疹面积、支气管激发试验等地位^[15]。ECP 可以用于评估区别轻度间隙性哮喘与持续性严重哮喘。目前大量研究通过对支气管哮喘患者的血清、血浆、痰、唾液和支气管肺泡灌洗液,应用酶免疫荧光分析技术测定 ECP 的浓度。Liacouras 等采用酶免疫荧光分析 ECP 浓度,证明了 ECP 在支气管上高表达,同时 ECP 刺激呼吸道黏膜过度分泌黏液^[16]。Nielsen 等^[17]通过测量鼻腔灌洗液中 ECP 的多少预测哮喘的发生,证实 ECP 高的 AR 患者发病率明显增高。在哮喘患者外周血、痰液、肺部灌洗液中发现 EOS、ECP 均显著高于正常人。ECP 是可能作为一种检测或判断哮喘的生物指标。炎症强度可以用 EOS 计数来评估,也从另一方面证明了 ECP 是 EOS 的活性标志物之一。

哮喘患者气道炎症程度与血清 ECP 水平密切相关,血清 ECP 的水平可反映哮喘气道炎症的活动情况及疾病严重程度。研究发现大部分哮喘患者经治疗后血清 ECP 值降低或近于正常值,但气道高反应性仍然存在,血清 ECP 水平仅是体内 EOS 活化的标志,其对于 ECP 能作为反映气道炎症指标的结论从其研究中未得到确切的证实。由于 ECP 浓度在其他变态性疾病中如 AR、学龄儿童的反复喘息等可能升高,缺乏相应的特异性,在排除其他变态性疾病的情况下,ECP 可能成为诊断哮喘的一个有用的诊断指标。在 AR 中,鼻腔灌洗液中 ECP 被发现受抗原刺激后及在季节性鼻炎中有增高的表现,但免疫治疗后降低^[18]。ECP 炎症标志物有助于疾病的诊断及鉴别诊断。大量研究表明,痰液中的 EOS 和 ECP 与哮喘的 EOS 炎症密切相关。诱导痰因为无创且易获取,因此成为研究支气管哮喘的重要工具^[19]。

3.2 ECP 可作为疗效评估指标

在支气管哮喘患者急性发作期 ECP 明显高于正常人,吸入糖皮质激素治疗支气管哮喘是支气管哮喘抗炎治疗的重要手段,正规抗炎治疗后患者的 ECP 水平会明显降低。测定血清 ECP 水平可监测并指导哮喘的抗炎治疗,ECP 可用于评估支气管哮喘患者治疗的疗效水平。在一个长达 10 年的纵向研究中发现,中重度持续哮喘患者 IgE 水平高,持续的咳嗽、黏液分泌过多和早期肺功能降低。血清 ECP 与 FEV₁, FEV₁/FVC 呈负相关^[20]。有研究证实当哮喘儿童病情恶化时,血清 ECP 从 (27.47±11.50)mg/L 增高到 (41.77±11.50)mg/L。予糖皮质激素控制与不服用激素控制的哮喘患者比较,痰液中 ECP 从平均 580 mg/L 降到 194 mg/L^[21]。Prehn 等^[22]使用血清 ECP 指导使用布地奈德治疗儿童哮喘决定何时变换或停止治疗。如 ECP>30 mg/L,使用高浓度的激素(布地

奈德 400 mg/bd), ECP<30 mg/L 用布地奈德 (200 mg/bd), <15 mg/L 用二色甘酸钠。3 组患儿都没有再发哮喘或入院抢救等情况的发生,治疗效果良好。大量研究资料表明,糖皮质激素治疗与 ECP 的变化存在密切联系。ECP 可以作为一个反应糖皮质激素的治疗过程是否恰当的指标。虽然 EOS 能一定程度反映哮喘患者气道炎症变化情况,但 ECP 能够更快速、更精确地反映这个变化。ECP 的含量反映哮喘患者炎症严重程度,在急性发作期 ECP 含量增高,在缓解期时 ECP 表达降低。所以说血清 ECP 在对支气管哮喘的诊断、疗效监测和预后的判断上比 EOS 更有价值、更有临床意义^[23-24]。

因此 ECP 可以提示气道炎症的严重程度,反应气道的损害程度,可做为哮喘的诊断、疗效监测和预后判断指标。由于 ECP 水平与疾病加重水平和疾病严重程度密切相关,在支气管哮喘发病阶段 ECP 可以提供疾病进程的新信息,用于疾病的监测和治疗。

4 ECP 在 AR 中的作用

4.1 ECP 可作为病因学指标

EOS 浸润是 AR 发生的病理特征。EOS 活化后释放的这些毒性阳离子蛋白如 ECP 参与免疫调节细胞和抗原递呈细胞的功能,使基膜增厚、黏液细胞增生和胞质水肿,在 AR 的发生、发展过程中发挥重要作用。EOS 毒性蛋白在 AR 的发病机制中起重要作用。大量研究表明,通过检测血清 ECP 及鼻分泌物、鼻灌洗液中 ECP 来反映 EOS 的活性,可以帮助临床进行诊断和治疗。在 AR 中, EOS 增减和疾病的严重程度能通过 ECP 浓度的多少得到显现的反应^[25]。Klimek 等研究发现 ECP 分泌可能引起嗅觉减退^[26]。这在一定程度上说明 ECP 参与了 AR 的发病过程,是其可能的病因学因素。

4.2 ECP 可作为疗效指标

空气污染等会使 AR 和哮喘患者对吸入性过敏原产生高反应性,并且使鼻分泌物中 ECP 水平显著升高。Choi 等^[27]的研究发现类固醇类激素可以降低气道 eotaxin mRNA 的表达以及外周血液中 EOS 的数量与活性,同时也发现外周血中 ECP 表达降低。ECP 常常出现在各种形式鼻炎的鼻黏膜和鼻腔灌洗中,可以评估其水平的表达^[1]。Kampe 等^[28]从建立系统性的 EOS 过敏性哮喘和 AR 项目脱颗粒的患者显示出类似的模式,血清 ECP 可以用来评估 AR 的严重程度。治疗 AR 可能运用类固醇激素或免疫疗法,目的是改变过敏性通路。AR 患者经免疫治疗后, EOS 和肥大细胞显著降低,同时发现鼻冲洗液中 ECP 和类胰蛋白水平显著降低。

通过检测鼻腔黏膜、鼻腔灌洗液及血清 ECP, 可以提示 AR 的严重程度, 为 AR 的激素治疗与免疫脱敏治疗提供可靠的检测指标。ECP 能够成为研究 AR 的重要帮手。

参考文献

- [1] BOIX E, TORRENT M. The antipathogen activities of eosinophil cationic protein[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2008, 9: 141—152.
- [2] BYSTROM J, AMIN K, DAVID B B, et al. Analysing the eosinophil cationic protein—a clue to the function of the eosinophil granulocyte [J]. *Respir Res*, 2011, 12: 10—10.
- [3] DAVID P, MARC T. Two human host defense ribonucleases against mycobacteria, the eosinophil cationic protein (RNase 3) and rNase 7 [J]. *Antimicrobial Agents Chemother*, 2013, 57: 3797—3805.
- [4] HUNG T J, TOMIYA N, CHANG T H, et al. Functional characterization of ECP-heparin interaction; a novel molecular model [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e82585.
- [5] DYER K D, ROSENBERG H F. The RNase a super family: generation of diversity and innate host defense [J]. *Mol Divers*, 2006, 10: 585—597.
- [6] ESTER B, VIVIAN A, SALAZAR M T. Structural determinants of the eosinophil cationic protein antimicrobial activity [J]. *Biol Chem*, 2012, 393: 801—815.
- [7] JONAS B, KAWA A, DAVID B B. Analysing the eosinophil cationic protein—a clue to the function of the eosinophil granulocyte [J]. *Respir Res*, 2011, 12: 1—20.
- [8] MALM-ERJEFALT M, GREIFF L. Circulating eosinophils in asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis lack morphological signs of degranulation [J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35: 1334—1340.
- [9] LEGRAND F, DRISS V. Human eosinophils exert TNF- α and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells [J]. *Immunol*, 2010, 185: 7443—7451.
- [10] SUN D I, JOO Y H, AUO H J. Clinical significance of eosinophil cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polyposis [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2009, 266: 981—986.
- [11] STEPHEN J, FOWLER G T, ROBERT N. High blood eosinophil counts predict sputum eosinophilia in patients with severe asthma [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2015, 135: 822—824.
- [12] ZADEH M H, BANTHIA V, ANAND V K, et al. Significance of eosinophilia in chronic rhinosinusitis [J]. *Am J Rhinol*, 2002, 16: 313—317.
- [13] SATO T, SOGA Y, YAMAGUCHI T, et al. Cytokine expression in human dermal fibroblasts stimulated with eosinophil cationic protein measured by protein array [J]. *Asian Pac Allergy Immunol*, 2013, 31: 271—276.
- [14] JUNG Y G, KIM K H, KIM H Y, et al. Predictive capabilities of serum eosinophil cationic protein, percentage of eosinophils and total immunoglobulin E in allergic rhinitis without bronchial asthma [J]. *J Int Med Res*, 2011, 39: 2209—2216.
- [15] BADAR A, SAEED W, HUSSAIN M M, ASLAM M. Correlation of eosinophil cationic protein with severity of asthma [J]. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 2004, 16: 66—71.
- [16] ZAGAI U, DADFAR E, LUNDANL J, et al. Eosinophil cationic protein stimulates TGF- β 1 release by human lung fibroblasts in vitro [J]. *Inflammation*, 2007, 30: 153—160.
- [17] NIELSEN L P C, PETERSON G B, DAH R. Serum eosinophil granule proteins predict asthma risk in allergic rhinitis [J]. *Allergy*, 2009, 64: 733—737.
- [18] MARCUCCI F, SENSI L, DICARA G, et al. Three-year follow-up of clinical and inflammation parameters in children monosensitized to mites undergoing sublingual immunotherapy [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2005, 16: 519—526.
- [19] CHOI S H, KIM D K, YU J, et al. Bronchial responsiveness to methacholine and adenosine 5, 2 monophosphate in young children with asthma; their relationship with blood eosinophils and serum eosinophil cationic protein [J]. *Allergy*, 2007, 62: 1119—1124.
- [20] MARCO R, MARCON A, JARVIS D, et al. European community respiratory health survey therapy group. Prognostic factors of asthma severity: a 9-year international prospective cohort study [J]. *Allergy Clin Immunol*, 2006, 117: 1249—1256.
- [21] KOH Y Y, KANG H, KIM C K. Ratio of serum eosinophil cationic protein/blood eosinophil counts in children with asthma; comparison between acute exacerbation and clinical remission [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2003, 24: 269—274.
- [22] PREHN A, SEGER R A, TORRESANI T, et al. Evaluation of a clinical algorithm involving serum eosinophil cationic protein for guiding the anti-inflammatory treatment of bronchial asthma in childhood [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2000, 11: 87—94.
- [23] WOLTERS O D, HEUCK C. Impact of age and administration regimens on the suppressive effect of inhaled glucocorticoids on eosinophil markers in children with asthma. *Pediatric Asthma* [J]. *Allergy Immunol*, 2004, 17: 45—51.
- [24] MUNTHER KAAS M C, GETSEN J, CARLSEN K H, et al. Eosinophil cationic protein (ECP) polymorphisms and association with asthma, s-ECP levels and related phenotypes [J]. *Allergy*, 2007, 62: 429—436.
- [25] CIANCHETTI S, BACCI E, RUOCCO L, et al. Are sputum eosinophil cationic protein and eosinophils dif-

ferently associated with clinical and functional findings of asthma [J]? Clin Exp Allergy, 2014, 44: 673-680.
[26] MEYER P, PERSSON C G, ANDERSSON M, et al. Alpha2-macroglobulin and eosinophil cationic protein in the allergic airway mucosa in seasonal allergic rhinitis[J]. Eur Respir J, 1999, 13: 663-667.
[27] CHOI K M, KIM J H, CHO G J, et al. Effect of ex-

ercise training on plasma visfatin and eotaxin levels [J]. Eur Endocrinol, 2007, 157: 437-442.
[28] KAMPE M, LAMPINEN M, STOLT I, et al. PI3-kinase regulates eosinophil and neutrophil degranulation in patients with allergic rhinitis and allergic asthma irrespective of allergen challenge model[J]. Inflammation, 2012, 35: 230-239.

(收稿日期: 2016-03-01)

先天性梨状窝瘘的外科治疗进展

黄舒玲^{1△} 梁璐² 陈良嗣^{1△△}

[关键词] 先天性梨状窝瘘; 手术; 内镜术
doi: 10.13201/j.issn.1001-1781.2016.18.017
[中图分类号] R739 [文献标志码] A

Progress in surgery treatment of congenital pyriform sinus fistula

Summary Congenital pyriform sinus fistula(CPSF) is a rare brancial cleft deformity in neck, characterized by acute suppurative thyroiditis, recurrent cervical abscesses and cellulitis. At present, surgical treatment of CPSF include traditional surgery and endoscopic cauterization. In the past, en block resection of the fistula by surgery is the only cure method. The late 90, relatively safe and effective endoscopic and minimally invasive aesthetic surgery is applied in treatment of CPSF, and was recommended as the preferred treatment for congenital pyriform sinus fistula. From the long-term efficacy, which method is more dominant, yet to be elegant. Through the analysis of embryo principles and anatomy of CPSF, we introduce and summarize the indications, complications and prevention in conventional surgical treatment and endoscopic cauterization, and briefly descript the factors influencing the efficacy of the treatment of CPSF.

Key words congenital pyriform sinus fistula; surgery; endoscopy

先天性梨状窝瘘(congenital pyriform sinus fistula, CPSF)是第三或第四鳃弓向内与对应的鳃囊相通,形成开口于梨状窝黏膜的窦道^[1],包括第三和第四鳃裂畸形,发病率分别为 2%~8%、1%~4%^[2-4],好发于左侧,80%以上在儿童期发病^[5]。临床典型表现为反复发作的颈部脓肿、急性化脓性甲状腺炎等,伴吞咽疼痛或困难、呼吸窘迫。临床表现可疑的病例可行下咽造影、CT 等影像学检查以确认,支撑喉镜确认梨状窝内瘘口是诊断的金标准^[5]。炎症期脓肿形成时,需行抗感染治疗及切开排脓,但这是暂时的治疗方法,初次切开引流后复发率高达 89%~94%^[3-4]。炎症静止期,颈部开放性手术切除病灶曾是根治 CPSF 的唯一手段。传统术式包括瘘管切除伴或不伴甲状腺腺叶部分

切除^[6]。但此术式完整切除瘘管难度较高、并发症较多,复发率仍高。为避免和减少开放性手术的创伤和并发症,同时追求颈部外观无瘢痕,国外学者开始探索安全、微创、美观的内镜术式。1998 年, Jordan 等^[7]首先报道了 7 例 CPSF 患者经过内镜电烧灼术治疗,未出现明显并发症,并在 18 个月的随访期内未见复发。自此,安全、微创、美观的内镜术式越来越多被应用,在单极电凝烧灼内瘘口的基础上,更衍生出多种封闭内瘘口的术式,如 CO₂ 激光烧灼^[8-9]、铥激光烧灼^[8]、三氯乙酸烧灼^[10]、硝酸银烧灼^[11-12]、纤维蛋白胶粘合等^[8]。该法经直接喉镜暴露梨状窝,利用烧灼原理致其闭锁。理论上,闭合的 CPSF 可能遗留一个密闭的腔隙,但这个腔隙是否持续存在而继发感染,抑或是自我闭合消失,目前尚无定论^[13]。下面介绍和总结传统术式及内镜烧灼 2 种方法手术的适应证、并发症及预防措施,并对影响 CPSF 疗效的因素进行简要分析与说明。

¹ 广东省人民医院(广东省医学科学院)耳鼻咽喉头颈外科(广州, 510080)

² 广州市第二人民医院南沙医院耳鼻咽喉科

△ 现为汕头大学医学院 2015 级在读研究生(广东汕头, 515041)

△△ 审校者

通信作者: 陈良嗣, E-mail: lancer_chen@21cn.com