

- [15] SINGH N K. Comparison of transoral laser and open partial laryngectomy for T1 and T2 glottic cancer: a review of literature[J]. Int J Biomed Adv Res, 2012, 3:798-805.
- [16] LANDOLFO V, GERVASIO C F, RIVA G, et al. Prognostic role of margin status in open and CO₂ laser cordectomy for T_{1a}-T_{1b} glottic cancer[J]. Brazilian J Otorhinolaryngol, 2016, [Epub ahead of print].
- [17] O'MALLEY B W JR, WEINSTEIN G S, HOCKSTEIN N G, et al. Transoral robotic surgery (TORS): glottic microsurgery in a canine model[J]. J Voice, 2006, 20:263-268.
- [18] BLANCO R G F, HA P K, CALIFANO J A, et al. Transoral robotic surgery of the vocal cord[J]. J Laparoendoscopic Adv Surg Techniques, 2011, 21: 157-159.
- [19] LALLEMANT B, CHAMBON G, GARREL R, et al. Transoral robotic surgery for the treatment of T1-T2 carcinoma of the larynx: preliminary study[J]. Laryngoscope, 2013, 123:2485-9240.
- [20] KAYHAN F T, KAYA K H, SAYIN I. Transoral robotic cordectomy for early glottic carcinoma[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2012, 121:497-502.
- [21] WANG C C, LIU S A, WU S H, et al. Transoral robotic surgery for early glottic carcinoma involving anterior commissure: preliminary reports[J]. Head Neck, 2015, 38:913-918.
- [22] SHUANG Y, LI C, ZHOU X, et al. Outcomes of radiofrequency ablation (RFA) and CO₂ laser for early glottic cancer[J]. Am J Otolaryngol, 2016, 37: 311-316.
- [23] 程良军, 刘冰, 田爱民, 等. 低温等离子射频消融术治疗早期声带癌的初步探讨[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 23 (3):153-154.
- [24] 张庆丰, 刘得龙, 张悦, 等. 等离子射频治疗早期声门型喉癌的初步研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 46(1):63-65.
- [25] 周天骄, 易红良. 等离子射频消融技术治疗早期声门型喉癌的研究进展[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 25(6):577-580.
- [26] MENDENHALL W M, TAKES R P, SHAH J P, et al. Current treatment of T₁N₀ squamous cell carcinoma of the glottic larynx[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2015, 272:1-4.
- [27] DAY A T, SINHA P, NUSSENBAUM B, et al. Management of primary T₁-T₄ glottic squamous cell carcinoma by transoral laser microsurgery[J]. Laryngoscope, 2016, [Epub ahead of print].

(收稿日期:2017-01-15)

胃蛋白酶检测在咽喉反流疾病诊断中的应用

王秀¹ 陈伟¹ 王秋萍^{1△}

[关键词] 咽喉反流疾病; 胃蛋白酶

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.09.023

[中图分类号] R276.1 [文献标志码] A

The clinical significance of pepsin in the diagnosis of laryngopharyngeal reflux disease

Summary Laryngopharyngeal reflux diseases(LPRD) refers to a kind of clinical syndrome that is caused by the [H⁺] and pepsin in the stomach entering the pharynx, larynx, nose, the middle ear, trachea and bronchi through esophagus. This disease has been gradually recognized by otolaryngologist in recent years. Upper respiratory tract infections caused by LPRD are often misdiagnosed or underdiagnosed, because its clinical symptoms and signs are usually nonspecific. Correct diagnosis of LPRD is the key to giving patients proper treatment. With the deepening of LPRD research, otolaryngologists gradually recognize that pepsin plays an important role in the cure of laryngopharynx trauma caused by reflux. Detection of upper and lower airway secretion of pepsin may be a promising diagnostic method for LPRD with high sensitivity.

Key words laryngopharyngeal reflux diseases; pepsin

咽喉反流病(laryngopharyngeal reflux disease, LPRD)是近年来被临床医生逐渐认识并引起重视的一种疾病。AAO-HNSF 将其定义为胃内 [H⁺]和胃蛋白酶原经食管到达咽、喉、鼻、中耳、气管和支气管等部位所引起的临床症候群。病理生

¹ 南京总医院耳鼻咽喉-头颈外科(南京, 210000)[△] 审校者

通信作者: 王秋萍, E-mail: qpwang1016@vip.sina.com

理表现为食管上括约肌松弛导致胃内气体反流为主的咽喉气道黏膜损伤。由于反流物损伤的范围涵盖多个器官,导致的疾病涉及耳鼻咽喉、呼吸及口腔等多个学科,因此临床症状随着损伤器官的不同而表现出多样性。患者就诊时也随着不同症状被划分到各专科。因此,对 LPRD 的认识和诊疗已经不能由单一学科来完成,需要体现多学科协作综合治疗的理念。

LPRD 导致的疾病涉及上-下气道。已经有研究表明耳鼻咽喉疾病如非变应性鼻炎、鼻窦炎、腺样体肥大、扁桃体肥大、渗出性中耳炎、慢性咽炎、OSAHS 等;口腔疾病如牙龈炎、口腔溃疡、口臭等;呼吸道炎症性疾病如慢性咳嗽、哮喘、肺纤维化、间质性肺炎、慢性阻塞性肺病(COPD)等,其发病原因均可能与该病有一定的关系^[1-4]。

LPRD 导致的上呼吸道疾病临床症状和体征几乎没有特异性。临床可表现为声音嘶哑、咽喉部疼痛、咽喉部异物感、持续性清嗓、慢性咳嗽、呼吸困难、喉痉挛、哮喘等症状^[5]。喉镜下表现为声带后连合区域水肿、红斑,声带弥漫性水肿,严重时可出现声带肉芽肿、喉室消失、接触性溃疡、声门下狭窄、喉部弥漫性水肿等喉部体征^[6]。检查仅有少数症状有很弱的特异性,如后连合水肿、接触性肉芽肿、舌根部淋巴滤泡大量增生^[7]。因此对上气道炎症性疾病由于致病原因不清楚,治疗存在一定的盲目性。例如慢性咽炎是耳鼻咽喉科非常高发的疾病,有研究表明约 40% 的慢性咽炎发病原因与 LPRD 相关^[8]。

因此正确诊断 LPRD 是患者得到有效治疗的关键。随着对 LPRD 的深入研究,胃蛋白酶在反流导致咽喉部损伤的过程中起的重要作用被逐渐认识^[9]。上-下气道分泌物中胃蛋白酶的检测成为 LPRD 的一种可能的敏感诊断方法^[10]。

1 LPRD 的发病机制

LPRD 目前有以下 3 种发病机制被广大学者所接受。①胃排空功能紊乱。胃平滑肌蠕动过快或者胃平滑肌蠕动过慢都会导致胃排空延迟^[11];②抗反流屏障功能异常。食管上括约肌结构异常、张力下降、松弛,胃内容物易反流至咽喉部;胃食管交界处的组织结构如食管下括约肌、膈肌、膈食管韧带、His 角异常时也易出现反流^[12];③迷走神经反射。咽喉、食管、支气管三者有共同的胚胎起源,同时受迷走神经的支配,反流至远端食管的胃酸刺激引起气管迷走神经反射,从而引起频繁清嗓和慢性咳嗽,进而导致咽喉部损伤^[12]。

2 LPRD 的病理机制

胃蛋白酶原是由胃主细胞分泌的主要蛋白水解酶。胃蛋白酶原只有在酸性条件下才可被激活为有活性的胃蛋白酶,胃蛋白酶在 pH 值为 2.0 时

活性最大,在 pH 值为 6.5 时失活^[9]。有研究指出,在 pH 值为 8 时胃蛋白酶失活,但仍可保持稳定性,当 pH 值降到 6.5 及以下时可再次被激活^[9]。因此 LPRD 在 pH<6.5 时即可发生。咽喉部 pH 平均值为 6.8。随气体反流致咽喉部的胃蛋白酶原与 $[H^+]$ 接触后可被激活为有活性的胃蛋白酶,胃蛋白酶和胃蛋白酶原通过受体介导的胞吞进入喉部上皮细胞^[13]。进入到上皮细胞内的胃蛋白酶通过以下 2 种途径参与 LPRD 的病理损伤:①胃蛋白酶可以直接分解黏膜上皮细胞膜蛋白以及细胞内的蛋白,如 E 黏钙蛋白、应激蛋白 Sep70 以及少量的 Sep53^[14];②高尔基体可以吞噬被激活的胃蛋白酶,后者可以分解细胞器,如高尔基体、线粒体、溶酶体等^[15]。也有学者认为碳酸酐酶在 LPRD 的发生、发展中起到了一定的作用。碳酸酐酶可以通过催化二氧化碳的水合作用来调节 pH 值,并且可以间接降低胃蛋白酶的活性。健康人喉部可以表达碳酸酐酶同工酶 III^[16],食管可以表达碳酸酐酶同工酶 I、II、III、IV^[17],当胃内的 $[H^+]$ 和胃蛋白酶原反流至咽喉部时,咽喉部无法产生足够的碳酸盐来中和 $[H^+]$,胃蛋白酶原被 $[H^+]$ 激活为胃蛋白酶,导致咽喉部黏膜受到损伤^[18-19]。

3 LPRD 的检查及诊断

目前 LPRD 的检查及诊断方法尚无统一性标准,主要包括病史、体检、纤维喉镜检查、诊断性治疗等。由于 LPRD 的临床症状和体征通常没有特异性,因此临床上医生难以根据病史以及体检结果确诊 LPRD。Johnston 等^[18]提出喉部黏膜活检诊断法,即喉室和声带黏膜活检提示胃蛋白酶升高和碳酸酐酶同工酶 III 的降低将有助于诊断 LPRD,但该法属于有创性检查,而且到目前为止也只用于实验,未在临床开展。2001—2002 年 Belafsky 等^[19-20]提出了反流症状指数量表(reflux symptom index,RSI) ≥ 13 分且反流检查计分量表(reflux finding score,RFS) ≥ 7 分即可诊断为 LPRD。2005 年 Ford 等^[21]提出可以先通过 RSI 和 RFS 对可疑咽喉反流者进行评估,根据评估结果判断是否需要至少 3 个月的经验性治疗。但由于 RSI 和 RFS 的实际评分是患者和喉镜操作者的主观判断,缺乏客观检查,因此此量表作为诊断 LPRD 方法的可信度无法被证实,有待进一步的研究^[22]。也有研究者提出用胃食管反流病的诊断方法诊断 LPRD,如 24 h 双探针(食管、咽)pH 值检测、24 h 多通道阻抗检测^[23]。上述 2 种检查仪器 pH 值均定为 4,而 LPRD 在 pH<6 时就可发生,若用 24 h 双探针(食管、咽)pH 值检测、24 h 多通道阻抗检测诊断 LPRD,将会出现严重漏诊。有实验证明,约有 20% 的 LPRD 患者可伴有胃食管反流病,因此 24 h 双探针(食管、咽)pH 值检测、24 h 多通道

阻抗检测等方法仅适用于 LPRD 伴胃食管反流病患者,而且 24 h 双探针(食管、咽)pH 值检测有耗时长、不易操作、有创性等弊端。除此之外近端电极安放的位置也有争议,较低的敏感率和较高的假阴性率^[24]等原因都使该方法不能广泛应用于临床。

4 胃蛋白酶与 LPRD

4.1 胃蛋白酶在 LPRD 发生、发展中所起的作用被学者们逐渐认识和了解

Johnston 等^[18]对 9 例 LPRD 患者和 12 例健康人进行了喉黏膜胃蛋白酶检测,其中 9 例 LPRD 患者中有 8 例检测出胃蛋白酶,12 例健康人中有 0 例检测出胃蛋白酶,该实验证明 LPRD 患者喉黏膜存在胃蛋白酶,而健康人喉黏膜不存在胃蛋白酶。随着对胃蛋白酶在 LPRD 中所起作用的认识逐渐提高,国外学者提出可以通过酶联免疫法检测胃蛋白酶的浓度来诊断反流疾病^[25]。

4.2 胃蛋白酶的检测部位

根据 LPRD 的病理机制,可以在呼吸道和呼吸道以外的部位检测胃蛋白酶。①胃蛋白酶在呼吸道的检测。鼻腔分泌物:有研究运用三联诊断(RSI、RFI、诊断性治疗)诊断 LPRD,以三联诊断 LPRD 作为标准,通过检测鼻腔分泌物中的胃蛋白酶诊断咽喉反流的敏感度为 95.45%、特异度为 66.67%、阳性预测值 90.00%、阴性预测值为 82.35%,表明鼻腔分泌物中胃蛋白酶检测可作为 LPRD 诊断的可靠指标^[26]。喉部黏膜活检:Johnston 等^[18]通过对 LPRD 患者进行喉部黏膜活检来检测胃蛋白酶和碳酸酐酶同工酶Ⅲ。黏膜活检是一项有创操作,患者接受程度低,在实际临床工作中难以广泛开展。唾液或者痰液:唾液或者痰液中胃蛋白酶的检测是诊断咽喉反流的一种趋势。Ocak 等^[27]对 20 例疑似咽喉反流者进行了唾液中胃蛋白酶检测,发现该法的敏感性和特异性是 33%和 100%。②胃蛋白酶在呼吸道外的检测。Abdelaziz 等^[1]用酶联免疫吸附法来检测伴有分泌性中耳炎的咽喉反流患者的中耳分泌物,结果表明中耳积液中胃蛋白酶/胃蛋白酶原浓度为 8.5~1 512.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$,为血浆样品的胃蛋白酶浓度的 4~540 倍,因此该作者认为胃蛋白酶是评估 LPRD 可靠的生化标志物。

4.3 咽喉部胃蛋白酶的浓度

李湘平等^[28]将从 56 例疑似 LPRD 患者和 15 例健康志愿者中收集的 71 例唾液标本中胃蛋白酶浓度做了受试者工作特征曲线(ROC 曲线),将其分界点划为 0.108 1 ng/ml,规定唾液中胃蛋白酶浓度>0.108 1 ng/ml 为阳性。到目前为止国内外几乎没有关于诊断 LPRD 时胃蛋白酶浓度界限值的报道。

4.4 胃蛋白酶检测技术评估

胃蛋白酶检测技术具有简单、创伤小、高效、客观性强^[29]、疗效评估等优点:①简单性:取材简单,唾液、痰液、中耳分泌物、鼻腔分泌物都是易取的检测样本;②创伤小:黏膜活检和中耳分泌物检测是有创操作,而对唾液、痰液、鼻腔分泌物样本进行的检测都是无创操作,安全性好、可行性高;③高效:相对于 24 h pH 值监测,该法不仅耗时短、准确性高,也减轻了患者的经济负担;④客观性强:与 RSI、RFS 相比,胃蛋白酶检测技术客观性较强^[30],检测结果与实际情况更符合,为下一步的诊断和治疗提供了可靠的证据;⑤疗效评估:胃蛋白酶不仅可以作为 LPRD 的一个诊断方法,其浓度变化也可以成为该病疗效判定的动态指标。Birtic 等^[25]对 45 例有咽喉反流症状的患者进行了前瞻性研究,发现治疗前唾液中胃蛋白酶的浓度为 91.97 ng/ml,治疗后为 34.96 ng/ml。

LPRD 是胃内气体反流导致的疾病,严重影响人类的生活质量。由于其症状和体征的多样性及非特异性,并且目前尚无明确的诊断方法,都使得耳鼻咽喉科医师极有可能对该病漏诊或者过度治疗。因此,正确诊断及治疗 LPRD 是耳鼻咽喉科医生亟需解决的一大难题。随着对 LPRD 的深入研究,学者们对胃蛋白酶在 LPRD 中起的作用越来越重视,胃蛋白酶检测对 LPRD 的诊断作用在各实验中都得到了证实。毫无疑问,对有疑似 LPRD 者进行胃蛋白酶检测会成为一种临床诊断趋势。然而,诊断 LPRD 时胃蛋白酶的浓度界值是多少?不同分泌物中胃蛋白酶浓度界值是否一样?是否在检测反流发生后收集样本,还是对样本的收集时间无要求?只有解决了上述问题,胃蛋白酶检测应用于临床诊断 LPRD 才成为可能。虽然胃蛋白酶检测技术还没有在临床中大规模开展,但是,与其他检测技术相比,该法具有安全、高效、创伤小、客观性强等优点。随着科学技术的发展和对 LPRD 的进一步研究,胃蛋白酶检测技术应用于临床实践指日可待。

参考文献

- [1] ABDEL-AZIZ M M, EL-FATTAH A M, ABDAL-LA A F, et al. Clinical evaluation of pepsin for laryngopharyngeal reflux in children with otitis media with effusion[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2013, 77: 1765-1770.
- [2] TOLIA V, VANDENPLAS Y. Systematic review: the extra-oesophageal symptoms of gastro-oesophageal reflux disease in children[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2009, 29: 258-272.
- [3] JUNG Y H, LEE D Y, KIM D W, et al. Clinical significance of laryngopharyngeal reflux in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Int J

- Chron Obstruct Pulmon Dis, 2015, 10: 1343—1351.
- [4] AVINCSAL M O, ALTUNDAG A, ULUSOY S, et al. Halitosis associated volatile sulphur compound levels in patients with laryngopharyngeal reflux[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2016, 273: 1515—1520.
- [5] ZELENIK K, MATOUSEK P, URBAN O, et al. Globus pharyngeus and extraesophageal reflux: simultaneous pH <4.0 and pH <5.0 analysis[J]. Laryngoscope, 2010, 120: 2160—2164.
- [6] MARONIAN N C, AZADEH H, WAUGH P, et al. Association of laryngopharyngeal reflux disease and subglottic stenosis[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2001, 110: 606—612.
- [7] LEE S H, SAMUELS T, BOCK J M, et al. Establishment of an immortalized laryngeal posterior commissure cell line as a tool for reflux research[J]. Laryngoscope, 2015, 125: E73—E77.
- [8] SARITAS Y E, VAEZI M F. New developments in extraesophageal reflux disease [J]. Gastroenterol Hepatol (N Y), 2012, 8: 590—599.
- [9] JOHNSTON N, DETTMAR P W, BISHWOKARMA B, et al. Activity/stability of human pepsin: implications for reflux attributed laryngeal disease[J]. Laryngoscope, 2007, 117: 1036—1039.
- [10] SAMUELS T L, JOHNSTON N. Pepsin as a causal agent of inflammation during nonacidic reflux[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2009, 141: 559—563.
- [11] HINDER R A, KELLY K A. Human gastric pacemaker potential. Site of origin, spread, and response to gastric transection and proximal gastric vagotomy [J]. Am J Surg, 1977, 133: 29—33.
- [12] FARROKHI F, VAEZI M F. Extra-esophageal manifestations of gastroesophageal reflux[J]. Oral Dis, 2007, 13: 349—359.
- [13] JOHNSTON N, WELLS C W, BLUMIN J H, et al. Receptor-mediated uptake of pepsin by laryngeal epithelial cells[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2007, 116: 934—938.
- [14] JOHNSTON N, DETTMAR P W, LIVELY M O, et al. Effect of pepsin on laryngeal stress protein (Sep70, Sep53, and Hsp70) response: role in laryngopharyngeal reflux disease[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2006, 115: 47—58.
- [15] JOHNSTON N, WELLS C W, SAMUELS T L, et al. Pepsin in nonacidic refluxate can damage hypopharyngeal epithelial cells[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2009, 118: 677—685.
- [16] JOHNSTON N, BULMER D, GILL G A, et al. Cell biology of laryngeal epithelial defenses in health and disease: further studies[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2003, 112: 481—491.
- [17] TOBEY N A, POWELL D W, SCHREINER V J, et al. Serosal bicarbonate protects against acid injury to rabbit esophagus [J]. Gastroenterology, 1989, 96: 1466—1477.
- [18] JOHNSTON N, KNIGHT J, DETTMAR P W, et al. Pepsin and carbonic anhydrase isoenzyme III as diagnostic markers for laryngopharyngeal reflux disease [J]. Laryngoscope, 2004, 114: 2129—2134.
- [19] BELAFSKY P C, POSTMA G N, KOUFMAN J A. Validity and reliability of the reflux symptom index (RSI)[J]. J Voice, 2002, 16: 274—277.
- [20] BELAFSKY P C, POSTMA G N, KOUFMAN J A. The validity and reliability of the reflux finding score (RFS) [J]. Laryngoscope, 2001, 111: 1313—1317.
- [21] FORD C N. Evaluation and management of laryngopharyngeal reflux[J]. Jama, 2005, 294: 1534—1540.
- [22] CHANG B A, MACNEIL S D, MORRISON M D, et al. The reliability of the reflux finding score among general otolaryngologists [J]. J Voice, 2015, 29: 572—577.
- [23] KOUFMAN J A. The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury[J]. Laryngoscope, 1991, 101: 1—78.
- [24] OELSCHLAGER B K, QUIROGA E, ISCH J A, et al. Gastroesophageal and pharyngeal reflux detection using impedance and 24-hour pH monitoring in asymptomatic subjects: defining the normal environment[J]. J Gastrointest Surg, 2006, 10: 54—62.
- [25] BIRTIC D, VCEVA A, KOTROMANOVIC Z, et al. Significance of the pepsin from the saliva in the diagnosis and treatment of laryngopharyngeal reflux disease[J]. Coll Antropol, 2012, 36: 83—86.
- [26] 胡全福, 谢景华. 咽喉反流患者鼻腔分泌物中胃蛋白酶的检测及意义[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(1): 64—66.
- [27] OCAK E, KUBAT G, YORULMAZ I. Immunoserologic pepsin detection in the saliva as a non-invasive rapid diagnostic test for laryngopharyngeal reflux[J]. Balkan Med J, 2015, 32: 46—50.
- [28] 李湘平, 陈顺金, 王路, 等. 唾液中胃蛋白酶检测对咽喉反流的诊断价值[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 44(2): 99—104.
- [29] KIM T H, LEE K J, YEO M, et al. Pepsin detection in the sputum/saliva for the diagnosis of gastroesophageal reflux disease in patients with clinically suspected atypical gastroesophageal reflux disease symptoms[J]. Digestion, 2008, 77: 201—206.
- [30] STRUGALA V, WOODCOCK A D, DETTMAR P W, et al. Detection of pepsin in sputum: a rapid and objective measure of airways reflux[J]. Eur Respir J, 2016, 47: 339—341.

(收稿日期: 2017-02-19)