

接受免疫治疗的变应性鼻炎儿童患者外周血中 IL-25、IL-33 的表达和 EOS 计数及意义*

樊华¹ 覃泰杰¹ 叶林松² 李凤提² 林敢生² 梁有琼² 瞿申红²

[摘要] 目的:探讨儿童变应性鼻炎(AR)患者外周血中 IL-25 与 IL-33 水平和 EOS 计数及其临床意义。方法:选取 94 例接受免疫治疗的儿童 AR 患者,23 例健康人。采用酶联免疫(ELISA)检测入选者外周血 IL-25 和 IL-33 水平,检测 EOS 计数。结果:轻度组 IL-25、IL-33 水平高于对照组($P < 0.05$);轻度组 EOS 计数与对照组 EOS 计数差异无统计学意义($P > 0.05$);重度组 IL-25、IL-33 水平高于轻度组和对照组(均 $P < 0.05$);重度组 EOS 计数高于轻度组和对照组(均 $P < 0.05$)。Spearman 检测 AR 患者 IL-25 水平与 IL-33 水平呈正相关($R = 0.238, P < 0.05$)。结论:IL-25、IL-33 及 EOS 计数在 AR 患者中表达均增强,提示它们可能参与 AR 的发病过程。了解它们之间的作用机制,可能有助于治疗 AR。

[关键词] 鼻炎,变应性;白介素-25;白介素-33;嗜酸粒细胞

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.06.011

[中图分类号] R765.21 **[文献标志码]** A

Expression of IL-25 and IL-33 and the count of EOS in peripheral blood of children with allergic rhinitis receiving immunotherapy

FAN Hua¹ QIN Taijie¹ YE Linsong² LI Fengti²
LIN Gansheng² LIANG Youqiong² QU Shenhong²

(¹Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, 530001, China; ²Department of Otorhinolaryngology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region)

Corresponding author: QU Shenhong, E-mail: qshdoctor@163.com

Abstract Objective: To investigate the expression of IL-25, IL-33 and EOS in children with allergic rhinitis (AR). **Method:** Ninety-four AR children receiving immunotherapy and 23 healthy people were concluded in the study. The serum levels of IL-25 and IL-33 were detected by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), and a count of EOS were measured. **Result:** The serum levels of IL-25 and IL-33 in the mild group were higher than control group ($P < 0.05$). The count of EOS showed no difference between the mild group and the control group ($P > 0.05$). The serum levels of IL-25 and IL-33 in the severe group were higher than those in mild group ($P < 0.05$). The serum levels of IL-25 and IL-33 in the severe group were higher than control group ($P < 0.05$). The count of EOS in the severe group were higher than those in mild group ($P < 0.05$). The count of EOS in the severe group were higher than those in control group ($P < 0.05$). Spearman test showed the serum levels of IL-25 in the children with AR patients have positive correlation with the serum levels of IL-33 ($P < 0.05, R = 0.238$). **Conclusion:** Expression of IL-25 levels, IL-33 levels and the count of EOS in patients with AR are enhanced, which shows that IL-25, IL-33 and the count of EOS are involved in the AR. If we can understand the mechanism of them, it will profound implications for treatment.

Key words rhinitis, allergic; IL-25; IL-33; eosinophils

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是个体接触变应原后,由 IgE 介导释放炎性因子和炎性细胞的 I 型变态反应疾病,主要发病机制是 Th1/Th2 失

衡。有基础研究报道 IL-25、IL-33 参与 AR 的发病过程^[1]。本研究主要针对重度 AR、轻度 AR、对照组,对比三者 IL-25、IL-33 水平的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2016-03—2017-10 期间广西壮族自治区人民医院耳鼻咽喉科正在接受舌下免疫治疗(sublingual immunotherapy, SLIT)和皮下免疫治疗(subcutaneous immunotherapy, SCIT)的 94 例儿童 AR 患者,年龄在 18 周岁以下,男 61 例,女 33

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No:81460097); 广西自然科学基金(No:2017GXNSFAA198013); 广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题(No:Z2016643); 中华国际医学交流基金会——敏识博览基金(No: cimf-2017-N-01)

¹ 广西中医药大学研究生学院(南宁,530001)

² 广西壮族自治区人民医院耳鼻咽喉科

通信作者:瞿申红, E-mail: qshdoctor@163.com

例;年龄 3~17 岁,平均年龄(15.43±1.06)岁。按照 VAS 评分,0~5 分划定为轻度组,6~10 分划定为重度组。轻度组男 31 例,女 15 例;年龄 6~17 岁,平均(16.33±1.74)岁。重度组男 30 例,女 18 例,年龄 3~17 岁,平均(14.56±1.25)岁。在我院体检人员中选出 23 名健康青少年作为对照组。入组标准:①患者有鼻塞、鼻痒、流清涕、打喷嚏等 AR 症状。②患者均行皮肤点刺实验或抽血检测变应原确诊 AR,至少有一项变应原(++++)。③患者年龄在 18 周岁以下,男女不限。④遵循伦理委员会的相关规定,所有患者监护人均签署知情同意书。排除标准:①伴有急慢性鼻窦炎、鼻息肉、鼻中隔偏曲、萎缩性鼻炎及其他鼻部疾病。②患有其他重大疾病或不同意参与试验患者。③年龄>18 周岁患者。

1.2 治疗方案

SLIT:药瓶倾斜,药物滴于舌下,含服 1~3 min 后吞咽,1 次/d,固定时间用药,分初始阶段(递增期)和维持阶段(维持期),3~5 年一个疗程。SCIT:螨变应原注射液在患者上臂远端进行皮下注射,分初始阶段(递增期)和维持阶段(维持期),初始治疗和维持治疗每次用药间隔均为 14 d/次,至少 3 年一周期。

1.3 实验方法

1.3.1 标本采集 所有患者在空腹状态下抽取外周静脉血 4 ml,静置 20~30 min,在 3 000 r/min,10 min 状态下分离血清,吸取上层血清,注入 2 ml 冻存管内,为防止反复冻融,一式两份,分别用来检测 IL-25 和 IL-33,放置于-80℃冰箱待检。

1.3.2 检测方法 采用人 IL-25、IL-33 ELISA 试剂盒严格按照说明书逐步进行操作,每个待测样本均设置副孔,计算平均值,以便减少误差。

1.3.3 症状评估 VAS 评分:患者根据自己鼻炎症状,在医师或家属的帮助下完成鼻炎症状评估,0~10 cm 的标尺,0 为无症状,数字越大代表 AR 症状越严重,10 为症状最严重。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件,正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。采用 GraphPad. Prism 5.0 制图,Spearman 检测 AR 患者 IL-25 与 IL-33 水平相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

轻度组 IL-25、IL-33 水平高于对照组 ($P < 0.05$);轻度组 EOS 计数与对照组 EOS 计数差异无统计学意义 ($P > 0.05$);重度组 IL-25、IL-33 水平高于轻度组和对照组(均 $P < 0.05$);重度组 EOS 计数高于轻度组和对照组(均 $P < 0.05$);见表 1、图 1、图 2。Spearman 检测 AR 患者 IL-25 水平与 IL-33 水平呈正相关 ($R = 0.238, P < 0.05$),见图 3。

3 讨论

AR 是一种发病机制十分复杂的免疫性疾病,是国内学者研究的热点,目前仍未发现某种学说可完全解释其发病机制,但许多学者发现炎性因子和炎性细胞对 AR 的发生、发展过程影响较大。在诸多 AR 发病机制中,很多文献支持 Th2 细胞紊乱学说。

表 1 IL-25、IL-33 水平、EOS 计数比较

组别	例数	IL-25/(ng · L ⁻¹)	IL-33/(ng · L ⁻¹)	EOS/(10 ⁹ · L ⁻¹)
轻度组	46	510.29±46.30	312.71±53.75	0.29±0.03
重度组	48	735.08±85.41	520.98±87.28	0.39±0.04
对照组	23	317.47±52.29	164.55±30.10	0.26±0.04

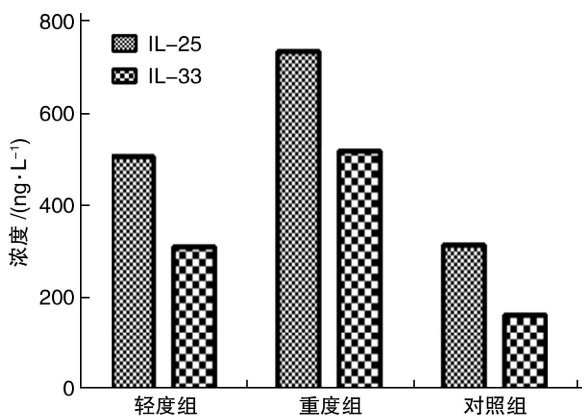


图 1 AR 患者组与对照组 IL-25、IL-33 水平比较

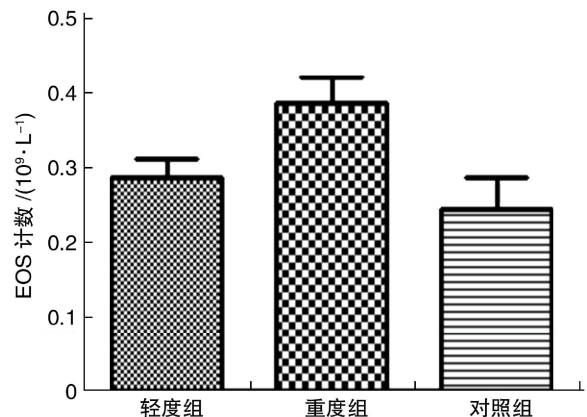


图 2 AR 患者组与对照组 EOS 计数比较

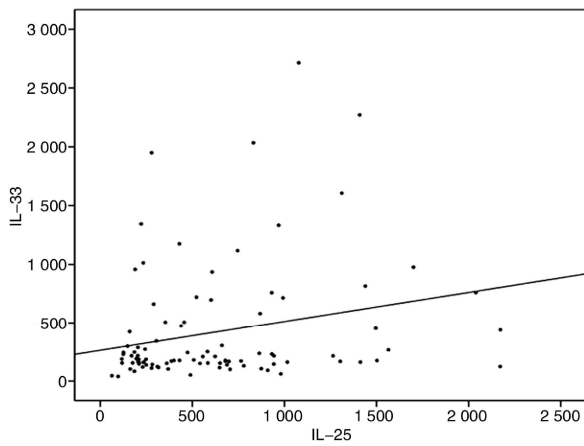


图 3 AR 患者 IL-25 水平与 IL-33 水平的关系

在临床上许多患者在儿童时期已患有 AR,若未及时治疗可能迁延至青中年,出现过敏性哮喘、分泌性中耳炎、OSAHS 及鼻息肉等并发症,影响儿童生长发育,导致注意力不集中、记忆力下降、烦躁及自卑等心理情感障碍,为家庭和社会带来不少负担,故而从儿童时期开始治疗 AR 特别重要。

IL-25 属于 IL-17 家族的分支,又称为 IL-17E,是重要的炎性因子,与 AR 有着密切联系。IL-17 家族包括 IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E 等^[2]。IL-17A 就是通常指的 IL-17,已有不少研究发现其在机体内能产生强大的致炎效应,参与 AR 疾病反应过程^[3-4]。IL-17B、IL-17C、IL-17D 主要是由非造血细胞产生,具体功能尚不明确。IL-17E 即 IL-25,IL-25 是 Th2 型免疫应答的趋化因子,可调节黏膜免疫,促进 Th2 细胞分化及免疫应答反应,加剧变态反应,同时还能影响 Th17 细胞的分化并调节免疫疾病,这提示 IL-25 在 IL-17 的诸多分支中有着独特的功能^[5]。IL-25 还是由活化的记忆 T 细胞产生的一种前炎细胞因子,可诱导多种趋化因子和细胞因子的表达,在 AR 中发挥重要作用。国外也有学者研究发现 IL-25 能够激发、增强 Th2 型过敏反应^[6]。

IL-33 是 IL-1 家族成员,又叫 NF-HEV 或 DVS 27,人类的 IL-33 基因位于 9 号染色体(9p24.1)^[7]。增殖产生机制与 IL-25 类似,IL-33 也是机体在接受变应原刺激后而大量产生的。IL-33 作用于 Th2 细胞、肥大细胞、巨噬细胞及 EOS。ST2 是 IL-33R 的一个亚基,它是 IL-33 的受体,也是 IL-1R 家族中重要的成员,其包括 2 种类型:可溶性 ST2 和跨膜型 ST2^[8]。IL-33 通过 ST2 和相关信号传导受体复合物,可以激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK),使 IL-4、IL-5 表达,促进 Th2 细胞因子或趋化因子产生,导致炎症反应,加重鼻黏膜组织损伤^[7]。

不同的细胞因子和炎性递质对免疫性疾病的

作用机制各有不同,但不少也有相似重合之处。IL-25、IL-33 作为多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子,对 AR 的作用也有相似之处。IL-25、IL-33 都是属于 Th2 细胞产生的炎性因子,患者在接触变应原的刺激后,导致 Th2 细胞紊乱,造成 Th1/Th2 失衡,而 IL-25、IL-33 与 Th2 的关系密切,故 IL-25、IL-33 间接与 AR 有联系。IL-25 主要参与 Th2 细胞介导的免疫疾病,通过活化 Th 细胞,诱导释放 Th2 细胞趋化因子,参与呼吸道的炎症调控。近年来有研究发现,IL-25 能通过激活核转录因子(NF- κ B),MAPK 及应激活化蛋白激酶(SAPK)等细胞因子信号转导通路,激活炎性递质及炎性因子释放,从而加重 AR 患者气道炎症反应。IL-25 有引起并调控多种炎症反应的功能,这提示它有可能在慢性炎症和自身免疫性疾病中都可以发挥作用。IL-33 通过结合 IL-1 受体家族成员 ST2,激活 NF- κ B 和 MAPK,促进、加速幼稚 T 细胞向 Th2 细胞因子转化,同时诱导 Th2 细胞、EOS 聚集在鼻黏膜,释放炎性因子参与 AR 反应,Th2 细胞还可以反向分泌 IL-33^[9]。本研究结果发现 AR 患者外周血 IL-25、IL-33 水平高于对照组,也提示二者与 AR 可能存在着某种关系,可影响到 AR 的发病过程。研究结果还发现 VAS 评分较高的 AR 患者 IL-25、IL-33 水平也高,同时 AR 鼻部症状更为严重,支持 AR 发病机制中的 Th2 细胞紊乱学说将 IL-25、IL-33 联系在一起。

EOS 计数增多是 AR 的特征性变化,IL-25、IL-33 对 EOS 的作用基本相同。IL-25 是通过 IL-5 聚集 EOS,延缓 EOS 的凋亡,导致 EOS 浸润,IL-25 还能通过 IL-13 等细胞因子作用于上皮细胞,诱发呼吸道重构,鼻黏膜损伤、水肿,鼻甲肥大,从而使鼻腔狭窄,AR 临床症状加重。IL-33 诱导 Th2 细胞分泌增多,使 Th2 细胞分泌 IL-5 诱导 EOS 的活化、增殖及抑制 EOS 凋亡。IL-33 还可刺激 EOS 表面的 ST2 受体增多,EOS 的 ST2 受体与 IL-33 结合后经过信号传递,促进 EOS 在鼻黏膜的集聚,诱发 EOS 产生大量的趋化因子和细胞因子。本实验研究也发现轻度组 EOS 计数与对照组相差不大,但重度组 EOS 计数高于对照组,这说明在 AR 患者中随着 IL-25 与 IL-33 水平的升高一定程度上 EOS 计数也会升高。

本研究发现 AR 症状严重的患儿外周血 IL-25 高于 AR 症状较轻的患儿,但 IL-25 在免疫治疗中起何种作用的相关文献较少,仍需进一步研究。IL-33 可诱导 Th2 细胞聚集,释放炎性细胞,造成 Th1/Th2 细胞失衡,而免疫治疗恰好可抑制 Th2 细胞聚集,纠正 Th1/Th2 细胞失衡。有研究发现经免疫治疗的 AR 患者,外周血 IL-33 水平明显降低^[10]。免疫治疗可抑制 EOS 的活化和聚集,减缓

其生长,加速 EOS 的凋亡,从而减轻炎症反应。段传新等^[11]研究发现 SLIT 和 SCIT 对于 AR 患者,随治疗时间的增加,EOS 计数较治疗前都有减少,与本研究发现类似。虽然目前 AR 仍无法得到完全根治,但免疫治疗可控制 AR 的症状,临床上得到广泛应用,尤其是对于药物控制不佳的 AR。总之 IL-25、IL-33、EOS 及免疫治疗都可能在 AR 的发展过程中起到作用,由于 AR 自身的发病机制复杂,深入了解这些指标在 AR 中的作用仍是我们目前研究的热点。

参考文献

- [1] SAENZ S A, TAYLOR B C, ARTIS D. Welcome to the neighborhood: epithelial cell-derived cytokines license innate and adaptive immune responses at mucosal sites[J]. *Immunol Rev*, 2008, 226: 172-190.
- [2] KOLLS J K, LINDÉN A. Interleukin-17 family members and inflammation[J]. *Immunity*, 2004, 21: 467-476.
- [3] HUANG X K, YANG Q T, CHEN Y L, et al. Correlation of gammadelta-T-cells, Th17 cells and IL-17 in peripheral blood of patients with allergic rhinitis [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2014, 32: 235-239.
- [4] MOON I J, HONG S L, KIM D Y, et al. Blocking interleukin-17 attenuates enhanced inflammation by staphylococcal enterotoxin B in murine allergic rhinitis model[J]. *Acta Otolaryngol*, 2012, 132 Suppl 1: S6-S12.
- [5] SAENZ S A, SIRACUSA M C, PERRIGOU J G, et al. IL25 elicits a multipotent progenitor cell population that promotes T(H)2 cytokine responses[J]. *Nature*, 2010, 464: 1362-1366.
- [6] GREGORY L G, JONES C P, WALKER S A, et al. IL-25 drives remodelling in allergic airways disease induced by house dust mite[J]. *Thorax*, 2013, 68: 82-90.
- [7] SCHMITZ J, OWYANG A, OLDHAM E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines[J]. *Immunity*, 2005, 23: 479-490.
- [8] SALUJA R, KETELAAR M E, HAWRO T, et al. The role of the IL-33/IL-1RL1 axis in mast cell and basophil activation in allergic disorders[J]. *Mol Immunol*, 2015, 63: 80-85.
- [9] ZHAO Q, CHEN G. Role of IL-33 and its receptor in T cell-mediated autoimmune diseases[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 587376.
- [10] 杜云艳, 罗英, 杨春平, 等. IL-33 及其受体 ST2 与变应性鼻炎发病机制的相关性探讨[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29(9): 811-814.
- [11] 段传新, 田滢, 张飞, 等. 舌下含服免疫治疗与皮下注射免疫治疗对儿童变应性鼻炎的疗效分析[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30(17): 1354-1358.
- (收稿日期: 2017-11-08)
-
- (上接第 442 页)
- [4] HABESOGLU T E, HABESOGLU M, SURMELI M, et al. Unilateral sinonasal symptoms[J]. *J Craniofac Surg*, 2010, 21: 2019-2022.
- [5] 房高丽, 王成硕, 张罗. 鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤起源部位的影像学研究进展[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(23): 1902-1906.
- [6] FU C H, TSENG H J, HUANG C C, et al. Nasal nitric oxide in unilateral sinus disease[J]. *PLoS One*, 2017, 12: e0171965.
- [7] WOOD J W, CASIANO R R. Inverted papillomas and benign nonneoplastic lesions of the nasal cavity[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2012, 26: 157-163.
- [8] PATRA S K, PANDA N K, SAIKIA U N. Epithelial-myoeptithelial carcinoma of the maxillary sinus: a rare case[J]. *Laryngoscope*, 2012, 122: 1579-1581.
- [9] ASCIERTO P A, ACCORONA R, BOTTI G, et al. Mucosal melanoma of the head and neck[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 112: 136-152.
- [10] HARVEY R J, DALGORF D M. Chapter 10: Sinonasal malignancies[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2013, 27 Suppl 1: S35-38.
- [11] CHOPRA S, KAMDAR D P, COHEN D S, et al. Outcomes of nonsurgical management of locally advanced carcinomas of the sinonasal cavity[J]. *Laryngoscope*, 2017, 127: 855-861.
- [12] National Comprehensive Cancer Network, FORASTIERE A A, ANG K K, et al. Head and neck cancers [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2008, 6: 646-695.
- [13] MAJHI U, MURHEKAR K, SUNDERSINGH S, et al. Malignant ectomesenchymoma of paranasal sinuses with proptosis and nodal involvement[J]. *J Cancer Res Ther*, 2012, 8: 465-467.
- [14] DRÉNO M, GEORGES M, ESPITALIER F, et al. Sinonasal mucosal melanoma: A 44-case study and literature analysis[J]. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*, 2017, 134: 237-242.
- (收稿日期: 2017-12-20)