

糖皮质激素对鼻息肉中细胞角蛋白 13 表达的影响

饶 立,张 田,刘昊天
(贵阳医学院附属医院耳鼻喉科 550004)

摘 要:目的 探讨细胞角蛋白 13(CK13)在鼻息肉上皮细胞增生分化过程中的作用。方法 选取慢性鼻-鼻窦炎(伴鼻息肉)患者 60 例。其中 A 组 30 例患者,术前未应用糖皮质激素直接进行手术治疗,术中取下鼻息肉组织;B 组 30 例患者应用糖皮质激素类药物 3~5 d 后手术治疗,术中取下鼻息肉组织。C 组 10 例为正常中鼻甲组织对照组。采用免疫组化(二步法)检测标本中 CK13 的表达。结果 A 组 CK13 的阳性表达率高于 B 组,差异有统计学意义($\chi^2=11.482, P=0.009$),C 组正常中鼻甲组织上皮细胞未见 CK13 的阳性表达。结论 (1)CK13 在鼻息肉组织中不同上皮表达程度的差异,反映了 CK13 在鼻息肉在发生发展过程中的动态变化;使用糖皮质激素治疗后鼻息肉组织中 CK13 蛋白表达有所下降,说明糖皮质激素对鼻息肉的增生、分化有抑制作用。

关键词:鼻息肉;细胞角蛋白 13;糖皮质激素;免疫组化
doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.16.014 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)16-2009-03

Influence of glucocorticoid on expression of cytokeratin13 in nasal polyps
Rao Li, Zhang Tian, Liu Haotian

(Department of Otolaryngology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China)

Abstract: Objective To research the role of cytokeratin13(CK13) during hyperplasia and differentiation process of epithelial cells in nasal polyps. **Methods** 60 cases of chronic rhinosinusitis (complicating nasal polyps) were selected. Among them, the group A(30 cases) was directly performed the operation without using preoperative glucocorticoid and the nasal polyp tissue was taken during operation; the C group(30 cases) was performed the operation after using glucocorticoid for 3—5 d and the nasal polyp tissue was intraoperatively taken. Other 10 cases of normal concha nasalis media tissue were taken as the control group. The immunohistochemical method(two step method) was adopted to detect the expression of CK13. The obtained data were statistically analyzed by SPSS 11.5. **Results** The positive expression of CK13 in the group A was higher than that in the group B with statistical difference between them($\chi^2=11.482, P=0.009$). The epithelial cells of normal concha nasalis media tissue in the group C had no positive expression of CK13. **Conclusion** (1)The difference of CK13 expression in different epithelias of nasal polyps reflects the dynamic change of nasal polyps during the development and progress process;(2)the expression of CK13 is decreased after using glucocorticoid, which indicating that glucocorticoid has the inhibiting effect on the hyperplasia and differentiation of nasal polyps.

Key words: nasal polyps; cytokeratin13; glucocorticoid; immunohistochemistry

鼻息肉是耳鼻咽喉科多发病,发病率为 1%~4%,在鼻科疾病中占有重要地位。目前糖皮质激素是治疗鼻息肉的有效药物,通过与糖皮质激素受体结合可对鼻息肉形成的多个环节产生影响,一方面直接作用,抑制其产生和分化、促进其凋亡;另一方面,通过对炎性细胞及由它们活化产生的细胞因子、黏附分子和炎症介质的抑制,减少炎性细胞浸润、减轻细胞毒性作用,从多个方面综合作用,最终抑制鼻息肉的产生^[1]。关于鼻息肉上皮细胞的功能分化,国内外报道不多。细胞角蛋白(cytokeratin,CK)是上皮细胞功能分化标记物,CK 抗体的定位有助于探讨上皮细胞的功能分化状态。

CK 是上皮细胞角质中的一种骨架结构蛋白,具有高度的组织特异性。不同功能的上皮细胞“角质配偶”不同,角蛋白表型也不同。目前国内外诸多学者研究表明,CK13、CK14、CK18 等多种 CK 在鼻息肉上皮中均有表达,但不同上皮所表达的程度各不相同^[2-3]。鼻息肉假复层纤毛柱状上皮和复层鳞状上皮 CK14 均高表达;本课题选取具有代表性的分化角蛋白——CK13,通过免疫组织化学的方法来检测 CK13 在鼻息肉、正常鼻黏膜组织标本中的表达情况及经过糖皮质激素干预后,观察其表达的变化,由此进一步了解鼻息肉形成、发展过

程,并拓宽对糖皮质激素治疗鼻息肉的药理作用机制的认识,以期对鼻息肉的治疗和预防提供一定的理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照慢性鼻-鼻窦炎诊断和治疗指南(南昌标准),选择贵阳医学院附属医院 2009 年 8 月至 2010 年 10 月住院治疗的慢性鼻-鼻窦炎(伴鼻息肉)患者 60 例,男 43 例,女 17 例;年龄 22~64 岁,平均 42 岁,分为 A 组和 B 组,每组 30 例。其中 A 组男 22 例,女 8 例,年龄 25~64 岁,平均 39 岁,术前无类固醇类及抗组胺类药物使用史,未应用激素治疗,直接进行手术;B 组(无激素禁忌证)男 21 例,女 9 例,年龄 22~61 岁,平均年龄 44 岁,均应用泼尼松 0.5 mg/(d·kg)晨起顿服,同时局部正规应用丙酸氟替卡松鼻喷雾剂治疗,每个鼻孔各 2 喷,每日 1 次(每日 200 μ g),早晨用药,3~5 d 后行手术。对照组 10 例(C 组),男 8 例,女 2 例,年龄 19~45 岁,平均 33 岁,来自鼻创伤清创缝合术中所取得少许中鼻甲组织(志愿者),选取患者均无过敏性鼻炎、鼻窦炎、哮喘等呼吸系统疾病史,无类固醇类及抗组胺类药物使用史。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及检测方法 每例患者均于术中取小块鼻息

肉组织,经 4%甲醛固定、石蜡包埋、切片。HE 染色后,采用免疫组化法测定 3 组 CK13 阳性表达率。

1.2.2 结果判定标准 在光学显微镜下细胞质内出现棕黄色或棕褐色染色为阳性,蓝色为阴性,每个样本做一张切片,每组取 30 张切片观察,每张切片随机选择 5 个高倍镜视野($\times 400$)计算阳性细胞表达率,取平均值。以百分率表示:0%~10%(-),>10%~30%(+),>30%~50%(++),>50%(+++)

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件进行统计分析,分别计算各组 CK13 阳性表达率,采用 χ^2 检验分析各组间 CK13 阳性表达率的差异性,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

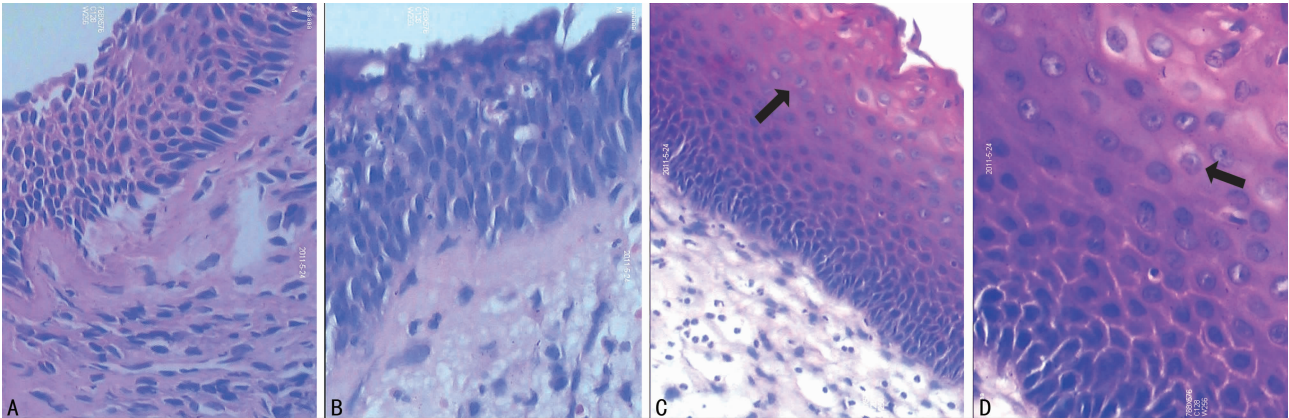
2 结 果

2.1 HE 染色结果 可见鼻息肉组织黏膜表面被覆假复层纤毛柱状上皮,部分上皮增生变厚,可见鳞状上皮化生。黏膜下层见疏松的黏液性间质伴不同程度浆液腺体,腺体的数量比正常黏膜腺体多。其间可见少量扩张的微血管和腺体,可见有囊性扩张的腺体。间质内见多少不等的炎性细胞浸润,其中可见

淋巴细胞等,见图 1。
2.2 免疫组化染色结果 正常鼻黏膜中细胞质染色呈蓝色或是淡蓝色,未见 CK13 的表达(图 2A)。A 组鼻息肉组织上皮细胞 CK13 区域性高表达;非角化鳞状上皮细胞 CK13 高表达;假复层纤毛柱状上皮细胞 CK13 无表达;而 B 组鼻息肉组织上皮细胞仍可见 CK13 区域性的阳性表达,但阳性细胞数较 A 组明显下降。免疫组化染色显示,A 组 CK13 蛋白表达数量及程度均高于 B 组,为细胞质内表达(图 2B、2C)所示。A 组和 B 组 CK13 阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

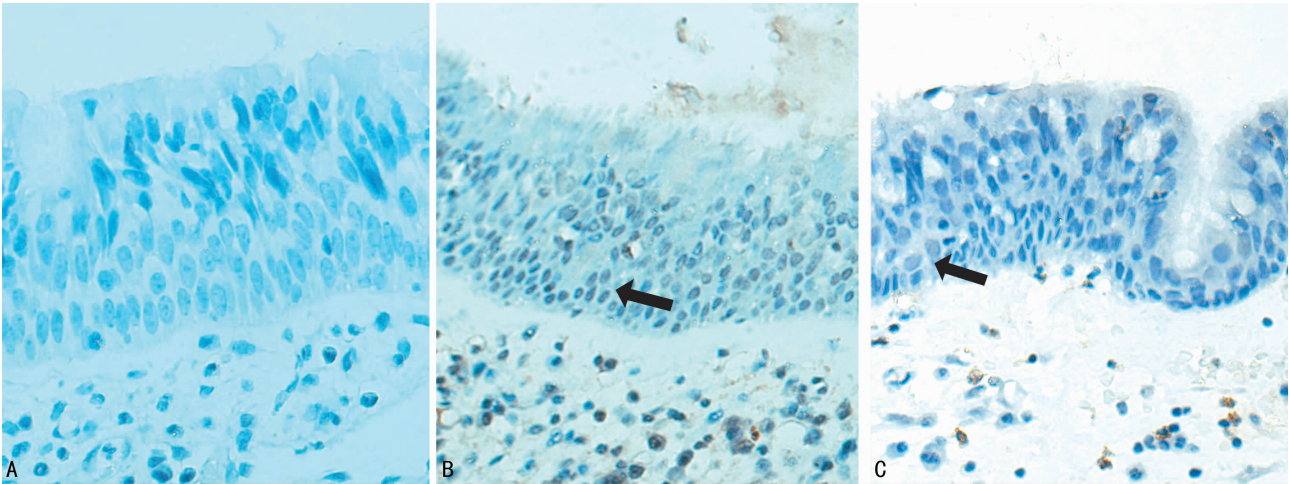
表 1 A 组与 B 组 CK13 在组织中的表达(n)

组别	n	CK13 的表达				χ^2	P
		-	+	++	+++		
A 组	30	4	5	9	12	11.482	0.009
B 组	30	11	10	6	3		



A:B 组鼻息肉组织(HE $\times 400$);B:A 组鼻息肉组织(HE $\times 400$);C:鼻息肉鳞状上皮化生(HE $\times 200$);D:鼻息肉鳞状上皮化生(HE $\times 400$)

图 1 鼻息肉组织 HE 染色病理切片



A:对照组中鼻甲组织;B:A 组鼻息肉组织;C:B 组鼻息肉组织。

图 2 鼻息肉组织 CK13 阳性表达及正常鼻甲组织病理切片(HE $\times 400$)

3 讨 论

CK 与鼻息肉的形成和发展密切相关,目前国内外对 CK 的一些研究,多针对其作为肿瘤标志物^[4-5],而对 CK 与鼻息肉的增生、分化的关系,相关研究则较少。本课题采用免疫组化的方法,观察鼻息肉中 CK13 的表达情况,并通过观察糖皮质

激素治疗后鼻息肉组织中 CK13 表达的变化,以期加深对糖皮质激素治疗鼻息肉作用机制的探讨。

CK 由 30 种不同的基因编码,这些基因可以转录成 20 种不同的多肽。I 型 CK(CK9~CK20)相对分子质量小,呈酸性,其基因被定位在染色体 17q;而 II 型 CK(CK1~CK8)相对

分子质量较大,呈碱性,其基因被定位在染色体 12q。主要的人类 CK 基因在单倍体基因组中只有 1 个拷贝^[6]。CK13 是 CK 的 1 种,属于 I 型 CK,是鳞状上皮转化和分化的标志,相对分子质量 54×10^3 ,CK13 基因全长 4 601 bp,有 8 个外显子,定位于 17q12~17q21.2^[7]。

林心强等^[2]学者通过免疫组化染色法检测鼻息肉组(29 例)和下鼻甲组(11 例)上皮细胞 CK14、CK18 和 CK13 蛋白的表达证明,鼻息肉上皮 CK13 区域性高表达,非角化鳞状上皮 CK13 高表达,过渡性上皮 CK13 弱表达,假复层纤毛柱状上皮 CK13 无表达,显示鼻息肉多种上皮成分的动态变化^[8]。另有学者研究表明,通过对 38 例鼻息肉石蜡及冰冻切片进行免疫组化染色,观察其上皮细胞角蛋白的表达发现,CK13 特异性表达在假复层柱状上皮基底细胞以及非角化复层鳞状上皮的棘状细胞,在过渡性上皮 CK13 的表达出现变化^[9]。

糖皮质激素是目前治疗鼻息肉较有效的药物之一。大量研究表明,炎症反应是上皮增生的主要原因,而糖皮质激素受体可影响鼻息肉产生的多个环节,一方面直接作用于炎性细胞(如嗜酸性粒细胞等),抑制其产生和分化、促进其凋亡;另一方面,通过对炎性细胞及由它们活化产生的细胞因子、黏附分子和炎症介质的抑制,减少炎性细胞浸润、减轻细胞毒性作用,从多个方面综合作用,最终抑制鼻息肉的产生^[1,10]。本实验选取 10 例正常中鼻甲黏膜原因在于,鼻腔的后 2/3 为假复层纤毛柱状上皮,而鼻息肉大都发生于中鼻道附近、钩突或筛泡表面及隐窝裂隙。中鼻甲正好处于此区域,并与钩突、筛泡等基本位于同一冠状面。所以选取本身上皮为假复层纤毛柱状上皮,且属于鼻息肉好发部位的中鼻甲作为阴性对照组。这一结果也与研究表明的 CK13 在纤毛柱状上皮上无表达相一致^[11]。

通过免疫组化对 60 例鼻息肉组织中 CK13 的表达研究发现,CK13 在鼻息肉组织中具有阳性表达,且在不同上皮的表达程度有所差异。

CK13 与鼻息肉的发生、发展有着密切关系,CK13 将可能成为疾病治疗的一个新靶点,CK13 的中和性抗体已在许多动物或临床实验中取得良好的疗效。但是,尚存在许多需进一步明确的问题:(1)进一步研究 TGF 与 CK13 之间的关系,是对鼻息肉的形成过程的进一步认识;(2)通过运用 CK13 中和性抗体是否对鼻息肉手术患者术后鼻腔的功能恢复有所帮助;(3)CK13 中和性抗体的运用是否能增加糖皮质激素在治疗鼻

息肉中的敏感性仍需进一步研究。

本实验通过免疫组织化学法,对鼻息肉组织上皮细胞中 CK13 表达的研究表明:(1)CK13 在鼻息肉组织中不同上皮表达程度的差异,反映了鼻息肉在发生发展过程中的动态变化;(2)使用糖皮质激素后鼻息肉组织中 CK13 蛋白表达有所下降,说明糖皮质激素对鼻息肉的增生、分化有抑制作用。

参考文献:

[1] 朱秉婧,陈玮伦.糖皮质激素治疗鼻息肉作用机制研究进展[J]. 同济大学学报,2006,27(9):75-78.

[2] 林心强,王挥戈,杨丹娜.鼻息肉上皮细胞的分化[J]. 中国耳鼻喉咽喉底外科杂志,2008,14(3):177-180.

[3] 王世飞,蒋正举,安伟,等. VEGF、COX-2 在复发性鼻息肉中的表达及意义[J]. 贵州医药,2009,33(6):493-495.

[4] 邱元正,文忠,林功标,等. CK13 基因与 EB 病毒 DNA 在鼻咽癌中的表达及临床意义[J]. 中国耳鼻喉咽喉底外科杂志,2001,7(1):18-20.

[5] 贺光,富伟能,邱广斌,等. 细胞角蛋白基因 13 在喉鳞状细胞癌中缺失和表达的研究[J]. 遗传学报,2002,29(5):390-395.

[6] 初培国. 细胞角蛋白染色在肿瘤诊断中的应用[J]. 中华病理学杂志,2004,33(3):273-276.

[7] Waseem A, Alam Y, Dogan B, et al. Isolation, sequence and expression the gene encoding human keratin 13[J]. Gene,1998,215(2):269-279.

[8] 卓明英,易自翔,王德钦,等. 鼻息肉上皮的多种改变及其诊断问题[J]. 临床耳鼻喉科杂志,1995,9(2):79-82.

[9] 卓明英,杨军. 鼻息肉上皮细胞角蛋白的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志,1995,11(3):213-214.

[10] 左成昌,张志钢. 上皮细胞增殖在鼻息肉发病机理中的意义[J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志,2001,9(3):116-118.

[11] 郑世信,姚利. 糖皮质激素对鼻息肉组织中嗜酸粒细胞的调控作用[J]. 中国基层医药,2006,13(2):195-196.

(收稿日期:2013-11-02 修回日期:2014-01-19)

(上接第 2008 页)

to mesenchymal transition in intestinal epithelial cells and to promote tumor invasion and metastasis[J]. Int Cancer, 2009,125(7):1575-1586.

[6] Moore CS, Crocker SJ. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology [J]. Am J Pathol,2012,180(1):12-16.

[7] Kim MH, Bodenshteyn TM, Sumerel LA, et al. Tissue inhibition of metalloproteinases-2 improves antitumor efficacy of a replicating adenovirus in vivo[J]. Cancer Biol Ther, 2006,5(12):1647-1653.

[8] Moran A, Iniesta P, Garcia-Aranda C, et al. Clinical relevance of MMP-9, MMP-2, TIMP-1 and TIMP-2 in color-

ectal cancer[J]. Oncol Rep,2005,13(1):115-120.

[9] Hilska M, Roberts PJ, Collan YU, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1,-2,-7 and -13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1,-2,-3 and -4 in colorectal cancer[J]. Int J Cancer,2007,121(4):714-723.

[10] Davidson B, Givant-Horwitz V, Lazarovici P, et al. Matrix metalloproteinases(MMP), EMMPRIN(extracellular matrix metalloproteinase inducer) and mitogen-activated protein kinases(MAPK): co-expression in metastatic serous ovarian carcinoma[J]. Clin Exp Metastasis,2003,20(7):621-631.

(收稿日期:2013-11-28 修回日期:2014-02-25)