

# 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 和基质蛋白酶-9 在鼻息肉嗜酸性粒细胞浸润过程中的作用

余腊枝, 鲁海涛 $\Delta$ , 谢 琼(湖北省荆州市中心医院耳鼻喉科 434020)

**【摘要】 目的** 探讨缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在鼻息肉组织中的表达及其与嗜酸性粒细胞(EOS)浸润的关系。**方法** 于2010年10月至2012年12月,以31例经鼻内窥镜手术治疗的鼻息肉患者作为实验组,以11例行下鼻甲部分切除术治疗的慢性肥厚性鼻炎患者作为对照组,分别采集鼻息肉组织和下鼻甲黏膜组织,检测并分析组织中 HIF-1 $\alpha$ 、MMP-9 mRNA 表达水平,以及 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞数、阳性血管数和 EOS 浸润数。**结果** 观察组 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 mRNA 表达水平明显高于对照组( $P < 0.05$ )。观察组 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞数、阳性血管数和 EOS 浸润数均高于对照组( $P < 0.05$ )。观察组 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞数与 EOS 浸润数均呈正相关(相关系数分别为 0.56、0.88,  $P < 0.05$ )。**结论** HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 在鼻息肉组织中呈高水平表达,二者可能在鼻息肉在发病机制中具有重要作用。

**【关键词】** 鼻息肉; 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; 基质金属蛋白酶-9; 嗜酸性粒细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.18.023 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)18-2553-02

Effect of HIF-1 $\alpha$  and MMP-9 in the infiltration of eosinophile granulocyte in nasal polyps SHE La-zhi, LU Hai-tao $\Delta$ , XIE Qiong (Department of ENT, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou, Hubei 434020, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the expressions of hypoxia induced factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in nasal polyps tissues and their relationships with the infiltration of eosinophilic granulocyte (EOS) in nasal polyps tissues. **Methods** During Oct, 2010 and Dec, 2012, nasal polyp tissues were collected from 31 patients with nasal polyps treated with nasal endoscopy (observation group), and inferior turbinate mucosa were collected from 11 patients with chronic hypertrophic rhinitis treated with partial inferior turbinectomy (control group). mRNA expression levels of HIF-1 $\alpha$  and MMP-9 in tissue samples of the two groups were assayed. Amounts of cells and blood vessels positive with HIF-1 $\alpha$  and MMP-9, and infiltration amounts of EOS were also detected. **Results** mRNA expression levels of HIF-1 $\alpha$  and MMP-9 in observation group were higher than control group ( $P < 0.05$ ). The amounts of cells and blood vessels positive with HIF-1 $\alpha$  and MMP-9 and the infiltration amounts of EOS in observation group were also higher than control group ( $P < 0.05$ ). In observation group, the amounts of cells positive with HIF-1 $\alpha$  and MMP-9 were positively correlated with the infiltration amounts of EOS (with correlation coefficients of 0.56 and 0.88 respectively,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Expression levels of HIF-1 $\alpha$  and MMP-9 could be high in nasal polyps tissues, which might be closely related with the pathogenesis of nasal polyps.

**【Key words】** nasal polyps; hypoxia induced factor-1 $\alpha$ ; matrix metalloproteinase-9; eosinophilic granulocyte

鼻息肉的发生与局部微环境控制下的中鼻道和鼻窦黏膜反复、长期慢性炎症有关<sup>[1]</sup>。嗜酸性粒细胞(EOS)局部浸润及其所导致的继发性炎症是目前公认的与鼻息肉发生、发展密切相关的致病因素。因此,以 EOS 为代表的炎性细胞的聚集和活化成为鼻息肉发病机制研究的重要内容。缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )作为一种重要的转录调节因子,在机体适应低氧环境的过程中具有重要作用,而且与鼻息肉的发生也密切相关<sup>[2]</sup>。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)能降解基膜中的 IV 型胶原,可能通过降解血管基膜细胞参与鼻息肉组织中的 EOS 浸润过程<sup>[3]</sup>。本研究分析了鼻息肉组织中 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 的表达及与 EOS 浸润的关系,旨在探讨鼻息肉的发病机制。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2010 年 10 月至 2012 年 12 月于本院耳鼻喉科住院的行鼻内窥镜手术治疗的鼻息肉患者 31 例(观察组),男 18 例、女 13 例,年龄 36~60 岁,平均(43.7 $\pm$ 6.5)岁;根据中华医学会耳鼻咽喉科学分会制订的慢性鼻窦炎鼻息肉临床分型、分期标准,31 例患者中,2 型 I 期患者 4 例、2 型 II 期患者 16 例、2 型 III 期患者 8 例、3 型患者 3 例<sup>[4]</sup>。同期于本

院因下鼻甲肥大而需手术部分切除下鼻甲黏膜组织的慢性肥厚性鼻炎患者 11 例(对照组),男 7 例、女 4 例,年龄 33~59 岁,平均(42.5 $\pm$ 6.2)岁。所有患者术前 1 个月内均未使用糖皮质激素、类固醇药物以及抗组胺类药物。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 组织标本采集** 鼻息肉患者及慢性肥厚性鼻炎患者均于术中采集鼻息肉组织标本或下鼻甲黏膜组织。组织标本于 4% 甲醛溶液中固定,常规脱水,制成石蜡块后保存。

**1.2.2 反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 的表达** 通过引物设计、总 RNA 提取、反转录及 PCR 扩增获得 PCR 产物,将其置入凝胶成像分析仪中,在 254 nm 紫外线下照相,分析电泳条带光密度值及光密度比值,以半定量的方式分析 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 mRNA 的表达。

**1.2.3 免疫组织化学染色** 取石蜡块连续切片,参照试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司)说明书进行 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 免疫组织化学染色。采用盲法阅片,由 2 位病理科医生在不知晓患者临床及病理资料的情况下进行阅片和结果判断。细胞质内出现紫红色颗粒或鲜红色颗粒时判为阳性。在高倍光

镜下(×400)随机选择 5 个视野,分别计数 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞的数量;在中倍光镜下(×200)随机选择 5 个视野,分别计数存在 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞血管的数量。

**1.2.4 苏木素-伊红染色法测定 EOS** 取石蜡块连续切片,进行苏木素-伊红常规染色。细胞质中存在大量鲜红色颗粒的细胞判为 EOS。在高倍光镜下(×400)随机选择 5 个视野,计数 EOS 的数量。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,相关性分析采用 Pearson 分析。 $P < 0.05$  为比较差异或统计参数有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 mRNA 表达水平比较** 两组患者 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 mRNA 表达水平见表 1。与对照组相比,观察组 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 mRNA 水平明显升高( $P < 0.05$ )。

**表 1 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	<i>n</i>	HIF-1 $\alpha$	MMP-9
对照组	11	7.61 $\pm$ 1.47	5.72 $\pm$ 1.13
观察组	31	16.32 $\pm$ 3.61	14.25 $\pm$ 2.89
<i>t</i>	—	20.23	14.33
<i>P</i>	—	<0.05	<0.05

注:—表示无数据。

**2.2 免疫组织化学染色结果分析** 鼻息肉组织镜下可见 HIF-1 $\alpha$  多分布于上皮细胞、血管内皮细胞、腺体细胞和多种炎症细胞中;MMP-9 主要分布于上皮细胞、腺体细胞及多种炎症细胞中。下鼻甲黏膜组织中仅可见极少量棕色细胞。观察组 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞数、阳性血管数及 EOS 浸润数均高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 2。

**表 2 细胞及血管计数结果比较( $\bar{x} \pm s$ , 个/高倍镜)**

组别	<i>n</i>	阳性细胞数		阳性血管数		EOS 浸润数
		HIF-1 $\alpha$	MMP-9	HIF-1 $\alpha$	MMP-9	
对照组	11	1.61 $\pm$ 0.63	6.61 $\pm$ 2.17	1.22 $\pm$ 0.36	1.33 $\pm$ 0.37	2.12 $\pm$ 0.78
观察组	31	10.67 $\pm$ 3.18	29.47 $\pm$ 8.62	3.89 $\pm$ 1.28	2.46 $\pm$ 0.75	8.75 $\pm$ 2.11
<i>t</i>	—	15.25	13.88	10.77	6.84	15.44
<i>P</i>	—	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:—表示无数据。

**2.3 Pearson 相关性分析结果** Pearson 相关性分析结果显示,观察组 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 阳性细胞数与 EOS 浸润数呈正相关,相关系数分别为 0.56、0.88( $P < 0.05$ )。

**3 讨 论**

鼻息肉是多种因素作用下形成的鼻黏膜炎性病变,是耳鼻咽喉头颈外科常见病,病因尚未完全阐明。近年来,鼻腔内鼻道血流供应不足所引起的鼻息肉缺血、缺氧状态,以及该状态促进血管生成在鼻息肉发病过程中的作用逐渐引起了学者的关注<sup>[5]</sup>。

HIF-1 $\alpha$  是缺氧状态下广泛存在于人体内的一种异源二聚体逆转录因子,是调控细胞供氧平衡和诱导缺氧基因表达的重要蛋白之一<sup>[6]</sup>。缺氧条件下,细胞上调 HIF-1 $\alpha$  的表达,进而促进下游靶基因的转录以适应微环境的改变,减少细胞凋亡。有研究表明,下调 HIF-1 $\alpha$  基因的表达,可抑制巨噬细胞和嗜中性粒细胞在低氧环境下参与炎症的能力,从而防止炎症的发生。康健等<sup>[7]</sup>采用免疫组织化学染色法和原位杂交等方法,检测了人鼻黏膜上皮细胞 HIF-1 $\alpha$  表达情况,发现在鼻息肉组织中存在大量的 HIF-1 $\alpha$  阳性细胞。本研究结果显示,与慢性肥厚性鼻炎患者下鼻甲黏膜组织相比,鼻息肉组织 HIF-1 $\alpha$  mRNA 水平明显升高, HIF-1 $\alpha$  阳性细胞数、阳性血管数和 EOS 浸润数也更高( $P < 0.05$ ),表明 HIF-1 $\alpha$  在鼻息肉组织中的表达水平明显增高,与上述文献报道相符。

MMP-9 是目前已知的活性最强的 MMP 家族成员,能有效降解基膜和明胶中的 II、III、IV 型胶原,过表达可导致细胞外基质和血管基膜加速降解<sup>[8]</sup>。MMP-9 参与了细胞浸润、肾小球硬化、间质纤维化等多种病理、生理过程,可能在多种炎症性疾病和恶性肿瘤发病过程中起到重要作用。Wang 等<sup>[9]</sup>研究发现,与正常组大鼠比较,变应性鼻炎大鼠模型鼻黏膜组织 MMP-9 及 1 型组织基质金属蛋白酶抑制剂(TIMP-1)表达水平明显增高,黏膜下腺体增生明显( $P < 0.05$ )。Lalaker 等<sup>[10]</sup>研究发现,鼻息肉组织 MMP-9 表达水平和活化程度与正常鼻

黏膜组织的比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明 MMP-9 在鼻息肉组织生长过程中起到重要作用。本研究结果显示,鼻息肉组织 MMP-9 mRNA 水平明显高于下鼻甲黏膜组织,且鼻息肉组织 MMP-9 阳性细胞数与 EOS 浸润数呈正相关( $P < 0.05$ ),与上述研究报道一致,说明 MMP-9 在鼻息肉发病机制中起着重要作用。

综上所述, HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 均在鼻息肉发病机制中具有非常关键的作用,但二者的具体作用部位及机制尚需进一步研究以证实。可以预见,以 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 作为治疗靶点,通过抑制 HIF-1 $\alpha$  和 MMP-9 的表达以减缓鼻息肉细胞的生长,可能成为鼻息肉治疗和预防的重要手段。

**参考文献**

- [1] 林海,林董,陈贤明,等. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  与碳酸酐酶 IX 在鼻息肉组织中的表达及相关性分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2010, 24(17): 776-778.
- [2] 汪际云,渡边庄,松仓聪,等. 双链 RNA 对人鼻息肉上皮细胞中基质金属蛋白酶 mRNA 表达的影响[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2010, 45(3): 229-232.
- [3] 崔珂,康健,柴丽,等. HIF-1 $\alpha$  及 IL-5 在鼻息肉组织中的表达及意义[J]. 山东医药, 2010, 50(36): 58-59.
- [4] 郭斌. 鼻息肉中 MMP-2、MMP-9 的表达及意义[D]. 西宁:青海大学, 2012.
- [5] 王佳. HIF-1 $\alpha$ 、STAT3 及 Survivin 在鼻息肉中的表达及意义[D]. 河南:郑州大学, 2012.
- [6] 贾晓琳,康健,陈冬,等. 基质蛋白酶-9 和白细胞介素-8 在鼻息肉中的表达及其意义[J]. 广东医学, 2011, 32(12): 1579-1581.
- [7] 康健,曲亚荣,陈冬,等. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  及嗜酸粒细胞趋化因子在鼻息肉组织中的表达及意义[J]. 中国全科医学, 2010, 13(9): 3043-3045.

学分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$  为比较差异有统计学意义。

## 2 结 果

液基细胞学检测诊断为 ASCUS 及其以上者 96 例,阳性检出率为 17.1%。传统细胞学涂片诊断为巴氏 II B 级及其以上者 43 例,阳性检出率 7.7%。两种方法阳性检出率比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。液基细胞学检测阳性患者中,72 例与组织病理学及阴道镜检查结果相符,符合率为 75.0%。传统细胞学涂片检测阳性患者中,15 例与组织病理学及阴道镜检查结果相符,符合率为 34.9%。两种方法符合率比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1~2。

表 1 液基细胞学与组织病理学检测结果比较[n(%)]

液基细胞学检测结果	n	组织病理学检测结果			
		CIN I	CIN II	CIN III	SCC
ASCUS	45	19(19.8)	11(11.5)	0(0.0)	0(0.0)
LSIL	34	13(13.5)	4(4.2)	4(4.2)	2(2.1)
HSIL	11	5(5.2)	3(3.1)	1(1.0)	1(1.0)
SCC	6	0(0.0)	0(0.0)	8(8.3)	1(1.0)
合计	96	37(38.5)	18(18.8)	13(13.5)	4(4.2)

注:括号内为组织病理学检测诊断例数在液基细胞学检测阳性患者中所占比例。

表 2 传统细胞学涂片与组织病理学检测结果比较[n(%)]

传统细胞学涂片检测结果	n	组织病理学检测结果			
		CIN I	CIN II	CIN III	SCC
巴氏 II B 级	21	4(9.3)	2(4.7)	0(0.0)	0(0.0)
巴氏 III 级	12	2(4.7)	1(2.3)	1(2.3)	0(0.0)
巴氏 IV 级	8	1(2.3)	1(2.3)	1(2.3)	0(0.0)
巴氏 V 级	2	0(0.0)	0(0.0)	1(2.3)	1(2.3)
合计	43	7(16.3)	4(9.3)	3(7.0)	1(2.3)

注:括号内为组织病理学检测诊断例数在传统细胞学涂片检测阳性患者中所占比例。

## 3 讨 论

在 20 世纪 90 年代以前,宫颈癌及癌前病变筛查主要采用传统细胞学涂片检测技术。在当时,该筛查技术的应用大约使宫颈癌发病率和病死率降低了 45%<sup>[5]</sup>。随着临床应用的逐渐广泛,其弊端也逐渐浮现,例如标本取材不当导致受检细胞数量不足、涂片质量缺陷等因素导致漏检率和假阴性率较高。目前,液基细胞学检测、组织学病理检测等技术已取代传统细胞学涂片检测技术,广泛应用于宫颈癌及癌前病变筛查。液基细胞学检测具有独特的取样方式和制片方法,可最大限度地保证标本中待检细胞的数量和涂片质量<sup>[6]</sup>。比传统细胞学涂片检测相比,液基细胞学检测结果更为准确、可靠,且灵敏度更高,

极大地提高了宫颈癌及癌前病变的检出率<sup>[7]</sup>。但也有学者研究认为,与组织病理学检测相比,液基细胞学检测虽然假阴性率较低,但假阳性率较高<sup>[8]</sup>。但就总体而言,液基细胞学检测结果的准确度相对较高,联合组织病理学检测则可更好地满足临床诊断的需求。本次研究结果显示,液基细胞学检测阳性检出率明显高于传统细胞学涂片检测( $P < 0.05$ )。而且,以组织病理学及阴道镜检查结果作为标准,液基细胞学检测结果的阳性符合率高于传统细胞学涂片检测( $P < 0.05$ )。

综上所述,液基细胞学检测在宫颈病变细胞学诊断中的应用效果优于传统细胞学涂片检测,是一种准确、可靠的临床实验室诊断技术。

## 参考文献

- [1] 赵宋礼,余洁,郑娜芬,等. 16698 例宫颈细胞学判读结果研究[J]. 社区医学杂志,2010,8(21):4-6.
- [2] Laiwejpithaya S, Rattanachaiyanont M, Benjapibal M, et al. Comparison between Siriraj liquid-based and conventional cytology for detection of abnormal cervicovaginal smears: a split-sample study [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2008, 9(4): 575-580.
- [3] 印用祥,赵华,黄望珍. 液基细胞学技术与传统细胞学涂片检测宫颈鳞状细胞病变的比较[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(8): 1234-1236.
- [4] Kontzoglou K, Moulakakis KG, Alexiou D, et al. The role of liquid-based cytology in the investigation of colorectal lesions: a cytohistopathological correlation and evaluation of diagnostic accuracy [J]. Langenbecks Arch Surg, 2007, 392(2): 189-195.
- [5] 陈国强,韦丽艳. 宫颈癌筛查中液基薄层细胞学检查与巴氏涂片法的对比研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(17): 1996-1997.
- [6] Deshou H, Changhua W, Qinyan L, et al. Clinical utility of Liqui-PREP cytology system for primary cervical cancer screening in a large urban hospital setting in China [J]. J Cytol, 2009, 26(1): 20-25.
- [7] Einstein MH, Baron M, Levin MJ, et al. Comparison of the immunogenicity of the human papillomavirus (HPV)-16/18 vaccine and the HPV-6/11/16/18 vaccine for oncogenic non-vaccine types HPV-31 and HPV-45 in healthy women aged 18-45 years [J]. Hum Vaccin, 2011, 7(12): 1359-1373.
- [8] 任翔云. 85 例宫颈癌普查细胞学及阴道镜检查阳性的病理分析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(12): 147-148.

(收稿日期:2014-01-22 修回日期:2014-04-13)

(上接第 2554 页)

- [8] 王丽燕,张冬梅. 鼻腔鳞状细胞癌组织中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2013, 53(3): 74-75.
- [9] Wang H, Zhang R, Wu J, et al. Knockdown of neurokinin-1 receptor expression by small interfering RNA prevents the development of allergic rhinitis in rats [J]. Inflamm

Res, 2013, 62(10): 903-910.

- [10] Lalaker A, Nkrumah L, Lee WK, et al. Chitin stimulates expression of acidic mammalian chitinase and eotaxin-3 by human sinonasal epithelial cells in vitro [J]. Am J Rhinol Allergy, 2009, 23(1): 8-14.

(收稿日期:2014-01-22 修回日期:2014-04-13)