

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201801014

· 论著 ·

# 变应性鼻炎大鼠鼻黏膜组织中血管细胞黏附因子-1与 Eotaxin 的表达及临床意义

李颖,李玉杰,于敏,黄炜

(郑州大学附属郑州中心医院耳鼻咽喉头颈外科,河南郑州 450007)

**摘要:** 目的 分析血管细胞黏附因子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)与 Eotaxin 在变应性鼻炎大鼠鼻黏膜组织中的表达及临床意义。方法 SD 健康大鼠 40 只随机分为 2 组:卵清蛋白(ovalbumin, OVA)致敏组和生理盐水(sodium chloride, SC)组。以卵清蛋白致敏法建立变应性鼻炎大鼠模型,HE 染色和甲苯胺蓝染色观察鼻黏膜组织病理学变化,免疫组织化学 SP 法测定鼻黏膜组织中 VCAM-1、Eotaxin 的表达。结果 OVA 致敏组可见鼻黏膜高度肿胀,大量炎性细胞浸润,SC 组病理学未见异常表现;OVA 致敏组与 SC 组比较,VCAM-1 和 Eotaxin 表达强度差异均具有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ );OVA 致敏组大鼠鼻黏膜组织中 VCAM-1 表达强度与 Eotaxin 呈正相关( $r = 0.886, P < 0.01$ )。结论 Eotaxin 及 VCAM-1 参与了变应性鼻炎的发病过程,且二者有协同作用。

**关键词:** 变应性鼻炎;大鼠;血管细胞黏附因子-1;Eotaxin

中图分类号:R765.21

文献标识码:A

[中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2018,24(1):62-65]

## Expressions and clinical significances of vascular cell adhesion molecule-1 and Eotaxin in rat nasal mucosa of allergic rhinitis

LI Ying, LI Yu-jie, YU Min, HUANG Wei

(Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450007, China)

**Abstract:** **Objective** To study the expressions and clinical significances of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and Eotaxin in rat nasal mucosa of allergic rhinitis (AR). **Methods** 40 Healthy SD rats were randomly divided into two groups: AR group and control group. Model of AR was established in rats with ovalbumin sensitization. HE staining and toluidine blue staining (TBS) were used to observe the pathological changes of the nasal mucosa. The expressions of VCAM-1 and Eotaxin were detected by SP immunohistochemical assay. **Results** Pathological examination revealed obvious swelling of nasal mucosa with abundant inflammatory cell infiltration in AR group, and no abnormal changes in the control group. The expressions of VCAM-1 and Eotaxin in the AR group were significantly higher than those in the control group, and the differences were both statistically significant (both  $P < 0.01$ ). In the AR group, the expression of VCAM-1 was positively correlated with that of Eotaxin ( $r = 0.886, P < 0.01$ ). **Conclusion** Eotaxin and VCAM-1 may participate in the pathogenesis of AR in synergy.

**Key words:** Rhinitis, allergic; Rat; VCAM-1; Eotaxin

[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(1): 62-65]

变应性鼻炎(AR)是一种由异感个体接触变应原后引起的鼻黏膜的慢性炎症,临床上以鼻塞、鼻痒、打喷嚏、流清水涕为主要特征。AR 的最新表述

为:异感个体接触致敏变应原后导致的包含 IgE 介导的炎症介质的释放和多种免疫活性细胞、细胞因子参与的鼻黏膜慢性炎症性疾病<sup>[1-3]</sup>。这一表述更加明确阐述了炎症介质、黏附因子、细胞因子在变应性鼻炎发病过程中的作用,由于众多炎症介质及黏附分子的参与和相互作用,使 AR 的发病呈现一种

作者简介:李颖,女,在读硕士研究生。  
通信作者:李颖,Email: ikkoi@163.com

复杂多变的特性和趋势,因此研究血管细胞黏附因子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)与Eotaxin的关系,不仅加深了我们对AR发病机制本质的认识,而且对于我们治疗AR大有裨益。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

卵清蛋白(OVA)购自Sigma公司,Eotaxin试剂盒及兔抗大鼠VCAM-1多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司。显微镜购自日本Olympus,电子天平购自Sartorius公司。

### 1.2 动物分组与模型建立

健康SD大鼠40只,雌雄不限,质量200~220g,购自郑州大学实验动物中心。随机分为两组,每组20只,即OVA致敏组和正常对照(SC)组。致敏方法参照安云芳等<sup>[4-5]</sup>方法并予改良。OVA致敏组:基础致敏:OVA 20 mg、AL(OH)<sub>3</sub>粉30 mg加生理盐水至1 ml,混匀,腹腔内注射,隔天1次,共7次;激发:50 g/L OVA生理盐水20~50 μl双侧鼻腔滴入,每天1次,共7次。SC组:用生理盐水代替OVA,其他处理同OVA组。模型成功评定标准<sup>[6-7]</sup>,具体见表1。

表1 变应性鼻炎大鼠模型成功评定标准

项目	轻度	中度	重度
鼻痒	轻碰数次	两者之间	四处摩擦
鼻涕	可见鼻涕少量	涕过中线	涕流满面
喷嚏	1~3次	3~9次	9次以上
评分	1分	2分	3分

注:采用叠加计分法,超过5分为模型成功

### 1.3 标本的采集与制备

100 g/L水合氯醛2 ml/kg腹腔注射麻醉,心脏放血法处死大鼠,分离鼻骨前皮肤,咬除鼻骨,游离取出双侧鼻腔呼吸区黏膜组织。置于40 g/L多聚甲醛中固定4~6 h,常规石蜡包埋,4℃保存备用。

### 1.4 组织病理学观察

鼻黏膜组织石蜡切片常规脱蜡、至水、HE染色及甲苯胺蓝染色,显微镜下观察。

### 1.5 鼻黏膜中VCAM-1和Eotaxin的测定

采用免疫组化SP法,顺序滴加VCAM-1(1:100)或Eotaxin一抗工作液(1:100),用PBS液取代一抗作为空白对照。程序严格按照试剂盒说明书操作。每张切片随机选取5个高倍视野,采用上海山富科学仪器有限公司的Biosens Digital Imagine

System计算积分光密度值,结果取平均值。

## 1.6 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学处理采用SPSS 11.0软件行单因素方差分析及 $q$ 检验、相关性分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 动物行为观察

OVA致敏组:大鼠毛发凌乱,毛色晦暗,烦躁易惊,精神差,表现为烦躁不安,到处乱爬,用前爪频繁挠鼻,喷嚏频发,有大量鼻涕从鼻孔流出。鼻腔激发后10 min出现明显的症状,评分均 $>5$ 分。SC组:大鼠毛色有光泽,精神好。鼻腔激发过程未见上述症状。

### 2.2 各组鼻黏膜组织病理学观察

OVA致敏组:鼻黏膜肿胀增厚,腺腔及小血管扩张,杯状细胞增多,在黏膜和黏膜下层,小血管及腺体周围,有大量炎性细胞浸润。SC组:未见异常表现。

### 2.3 各组鼻黏膜组织中VCAM-1和Eotaxin的测定结果

Eotaxin的阳性信号存在于上皮、腺体、以及一些炎性细胞的胞浆中,呈棕黄色。VCAM-1在鼻黏膜组织中主要表达于与血管平滑肌细胞和血管内皮细胞胞浆中,呈棕黄色,在OVA组中强阳性表达,在SC组中不表达(图1~4)。两组大鼠鼻黏膜组织中VCAM-1和Eotaxin的光密度值见表2。OVA致敏组大鼠鼻黏膜组织中VCAM-1的表达强度与Eotaxin的表达强度关系密切( $r = 0.886, P < 0.01$ )。

表2 大鼠鼻黏膜组织中VCAM-1、Eotaxin的光密度值统计结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Eotaxin	VCAM-1
OVA致敏组	20	98.23 ± 11.23 <sup>▲</sup>	92.41 ± 12.23 <sup>▲</sup>
SC组	20	38.36 ± 5.89 <sup>■</sup>	37.54 ± 6.02 <sup>■</sup>
<i>F</i>		75.032	69.159
<i>P</i>		<0.05	<0.05

注:与OVA致敏组比较,■ $P < 0.01$ ;与SC组比较,▲ $P < 0.01$

## 3 讨论

变应性鼻炎的一个重要病理学特征是鼻黏膜组织中嗜酸性粒细胞浸润,关于嗜酸性粒细胞在变应性鼻炎的作用日益受到重视,被认为是变应性鼻炎发病机制中的一个关键的效应细胞<sup>[8-12]</sup>。1994年,在检验抗原诱导嗜酸性粒细胞的实验中,发现了一

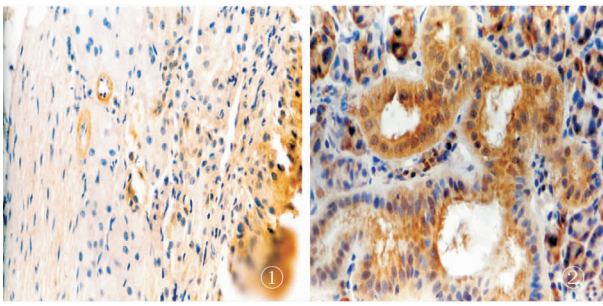


图1 OVA致敏组 VCAM-1 鼻黏膜的表达 (DAB ×400)

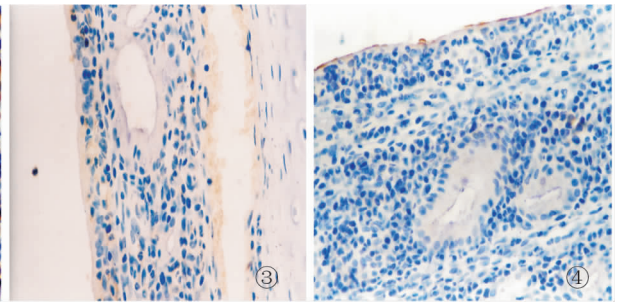


图2 OVA致敏组 Eotaxin 鼻黏膜的表达 (DAB ×400)

图3 SC处理组鼻黏膜 VCAM-1 的表达 (DAB ×400)

图4 SC处理组鼻黏膜 Eotaxin 的表达 (DAB ×400)

种趋化因子,因其对嗜酸性粒细胞具有特异的趋化作用而命名为嗜酸粒细胞趋化因子,即 Eotaxin,其主要来源于上皮细胞、巨噬细胞和嗜酸性粒细胞。到目前为止,已确定的趋化因子有 20 余种,只有 Eotaxin 对嗜酸性粒细胞具有特异性及强大的趋化作用;另外 Eotaxin 还是一种强有力的嗜酸性粒细胞激活剂,能够诱导嗜酸性粒细胞产生过氧化物,并释放蛋白质颗粒,引起组织损伤。Eotaxin 引起嗜酸性粒细胞向气道组织的迁移、活化,脱颗粒释放活性物质,导致气道的损伤,引起气道高反应性、间歇性气道阻塞和气管炎等哮喘的病理生理改变<sup>[13-16]</sup>。人体试验<sup>[17-21]</sup>发现,过敏性哮喘患者 BALF 中 Eotaxin、气道黏膜及黏膜下层 Eotaxin mRNA 表达均显著增加,在哮喘患者中表达 Eotaxin 基因的细胞数量与嗜酸性粒细胞数、支气管高反应性、患者症状直接相关。由于上下呼吸道在解剖学上是相连续的,AR 与过敏性哮喘又同属 IgE 介导的 I 型变态反应,发病机制类似,近几年 Eotaxin 在 AR 的发病中的作用受到国内外学者的关注。

VCAM-1 是一种重要的细胞黏附因子,属免疫球蛋白超家族成员,是一种糖蛋白,其配基为整合素家族中的 VLA-4。VCAM-1 只有与 VLA-4 相结合才能发挥其生物活性。VCAM-1 在变应性炎症中嗜酸性粒细胞的聚集上有重要作用,它在血管内皮的表达被认为是嗜酸性粒细胞从外周血进入炎症区所必需的,VCAM-1 能选择性的把嗜酸性粒细胞粘附至内皮细胞上进而使嗜酸性粒细胞迁徙到黏膜炎症区域,产生以嗜酸性粒细胞浸润为主的慢性炎症反应,若封闭了 VCAM-1/VLA-4 途径,则抑制了 70% 以上的嗜酸性粒细胞的粘附<sup>[22-23]</sup>。

变应性鼻炎是由多因素和多步骤作用的复杂网络体系,关于黏附分子与众多炎症介质之间的相互作用,迄今为止已做过不少研究,但是对 Eotaxin 和 VCAM-1 二者之间是否有协同作用的研究还少有报

道。本实验通过免疫组化方法观察了 Eotaxin、VCAM-1 在大鼠模型鼻黏膜中的表达,其中在 OVA 致敏组大鼠鼻黏膜的上皮、腺体及炎性细胞中可见大量的呈棕黄色的 Eotaxin 的强阳性表达,在血管平滑肌细胞和血管内皮细胞胞浆中可见棕黄色的 VCAM-1 的强阳性表达,证实了 Eotaxin 及 VCAM-1 参与了变应性鼻炎的发病过程,实验证明 VCAM-1、Eotaxin 的表达强度呈正相关( $r=0.886, P<0.01$ ),提示 Eotaxin 在变应性鼻炎的发病中除了引起嗜酸性粒细胞聚集、活化的作用外,还能促进黏附因子表达的上调,从而促进嗜酸性粒细胞与内皮细胞的粘附,使炎症永存化,进而引起血管扩张、鼻分泌物增多、黏膜水肿,这可能是变应性鼻炎的发病机制之一。

#### 参考文献:

- [1] [1] 左冬至,耿宛平,刘强和. 变应性鼻炎治疗的进展[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2010,16(2): 157-160.  
Zuo DZ, Geng WP, Liu QH. Progress in the treatment of allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2010,16(2): 157-160.
- [2] 宋庆均,杨秀海,彭维晖,等. 变应性鼻炎致病因素及治疗的研究进展[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2017,23(1):83-87.  
Song QJ, Yang XH, Peng WH, et al. Progress in the pathogenic study and treatment of allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2017,23(1):83-87.
- [3] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会,中华医学会耳鼻咽喉科分会. 变应性鼻炎的诊治原则和推荐方案(2015年,天津)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2016,51(1):6-24.  
Editorial Board of Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Otolaryngology Branch Committee of Chinese Medical Association. Principles and recommendations for the treatment and diagnosis of allergic rhinitis (Tianjin)[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2016,51(1):6-24.
- [4] 安云芳,赵长青,朱庆义,等. 变应性鼻炎 P 物质受体的研究

- [J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1998, 33(3): 139-141.
- An YF, Zhao CQ, Zhu QY, et al. Distribution of substance P receptors in rat nasal mucosa of allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology, 1998, 33(3): 139-141.
- [5] 杨旭东,孙光明,许学谷,等. 组胺 H3 受体激动剂 IMETIT 对豚鼠变应性鼻炎作用的初步探讨[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2010, 24(12): 559-563.
- Yang XD, Sun GM, Xu XG, et al. Effect of H3R agonist IMETIT on allergic rhinitis in guinea pigs[J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2010, 24(12): 559-563.
- [6] 朱志华,董震,杨占泉. 山莨菪碱对豚鼠实验性鼻超敏反应的影响[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2001, 15(5): 218-220.
- Zhu ZH, Dong Z, Yang ZQ. Influence of anisodamin on guinea pig experimental nasal hypersensitivity[J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology, 2001, 15(5): 218-220.
- [7] 赵鹤,曹志伟,顾兆伟,等. IL-9 在变应性鼻炎小鼠模型鼻黏膜中的表达研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2015, 21(1): 4-8.
- Zhao H, Cao ZW, Gu ZW, et al. Expression of IL-9 in nasal mucosa of mouse model with allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2015, 21(1): 4-8.
- [8] 凌永伟,欧阳贵平,谢洪亮,等. 变应性鼻炎患者鼻腔分泌物中嗜酸性粒细胞的检测[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2012, 18(1): 58-60.
- Ling YW, Ouyang GP, Xie HL, et al. Detection of eosinophil in nasal secretions from patients with allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2012, 18(1): 58-60.
- [9] Oyamada H, Kamada Y, Kuwasaki T, et al. CCR3 mRNA expression in bronchial epithelial cells and various cells in allergic inflammation[J]. Int Arch Allergy Immunol, 1999, 120(Suppl 1): 45-47.
- [10] Menzies-Gow A, Robinson DS. Eosinophil chemokines and chemokine receptors: Their role in eosinophil accumulation and activation in asthma and potential as therapeutic targets [J]. J Asthma, 2001, 38(8): 605-613.
- [11] Mould AW, Ramsay AJ, Matthaei KI, et al. The effect of IL-5 and eotaxin expression in the lung on eosinophil trafficking and degranulation and the induction of bronchial hyperreactivity [J]. J Immunol, 2000, 164(4): 2142-2150.
- [12] Bandeira-Melo C, Herbst A, Weller PF. Eotaxins. Contributing to the diversity of eosinophil recruitment and activation[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001, 24(6): 653-657.
- [13] 季俊峰,王秋萍,张勇,等. 不同程度非变应性鼻炎对下气道炎症指标的影响[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2016, 22(1): 14-18.
- Ji JF, Wang QP, Zhang Y, et al. Influences of non-allergic rhinitis with different levels on inflammation indices of lower airway [J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2016, 22(1): 14-18.
- [14] 刘中娟,林嘉友,宋耀虹. Eotaxin 及其受体与支气管哮喘[J]. 中华医学全科杂志, 2003, 2(12): 55-57.
- Liu ZJ, Lin JY, Song YH. Eotaxin and its receptor in bronchial asthma[J]. Chinese Journal of General Medicine, 2003, 2(12): 55-57.
- [15] 龚辉,李凡成. Eotaxin 趋化因子及其受体与变应性鼻炎研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(8): 75-77.
- Li H, Li FC. Advances in research of Eotaxin and its receptor with allergic rhinitis [J]. Journal of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 2011, 31(8): 75-77.
- [16] Yao T, Kojima Y, Koyanagi A, et al. Eotaxin-1, -2, and -3 immunoreactivity and protein concentration in the nasal polyps of eosinophilic chronic rhinosinusitis patients [J]. Laryngoscope, 2009, 119(6): 1053-1059.
- [17] 吴兴宇,余文胜. SOCS3 和 Eotaxin 蛋白及其 mRNA 在变应性鼻炎鼻黏膜组织中的表达[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2014, 20(1): 59-62.
- Wu XY, She WS. Expressions of proteins and mRNAs of SOCS3 and Eotaxin nasal mucosa of allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2014, 20(1): 59-62.
- [18] 燕志强,章如新,余少卿,等. 嗜酸细胞活化趋化因子在变应性鼻炎中的作用[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2008, 15(5): 262-266.
- Yan ZQ, Zang RX, Yu SQ, et al. Role of eotaxin in allergic rhinitis[J]. Chinese Archives of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, 2008, 15(5): 262-266.
- [19] Taha RA, Minshall EM, Miotto D, et al. Eotaxin and monocyte chemoattractant protein-4 mRNA expression in small airways of asthmatic and nonasthmatic individuals [J]. J Allergy Clin Immunol, 1999(3 Pt 1), 103: 476-483.
- [20] Smith N, Johnson FJ. Effects of inhaled Eotaxin on airway function and inflammatory cell influx in sensitised and nonsensitised guinea pigs. Pulm Pharmacol Ther, 2006, 19(6): 391-396.
- [21] 张志明,孙树岩,王寿忱,等. Eotaxin 蛋白基因在真菌诱导的变应性鼻炎鼻黏膜中的表达及其意义[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2005, 19(2): 78-81.
- Sun ZM, Sun SY, Wang SC, et al. Expression of Eotaxin gene in nasal mucosa of allergic rhinitis in the guinea pig sensitized by fungal allergen[J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2005, 19(2): 78-81.
- [22] Nakajima H, Sano H, Nishimura T, et al. Role of vascular cell adhesion molecule 1/very late activation antigen 4 and intercellular adhesion molecule 1/lymphocyte function-associated antigen 1 interactions in antigen induced eosinophil and T cell recruitment into the tissue. J Exp Med, 1994, 179: 1145-1154.
- [23] 余洪猛,臧朝平,郑春泉,等. 黏附分子在实验性变应性鼻炎鼻黏膜中的表达[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2003, 38(6): 482-483.
- Yu HM, Zang CP, Zheng QC, et al. Expressions of adhesion molecules in nasal mucosa of experimental allergic rhinitis[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology, 2003, 38(6): 482-483.

(收稿日期:2017-06-19)