

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170721.007

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170721.1628.014.html>

# T-bet、GATA-3、Foxm1 在慢性鼻窦炎黏膜组织中的表达及与炎症分子表达的相关性

王欣荣<sup>1</sup>, 李 捷<sup>2</sup>

(1. 山东省中国石油大学(华东)医院耳鼻咽喉科, 山东 青岛 266580; 2. 山东省胜利石油管理局胜利医院耳鼻咽喉科, 山东东营 257055)

**[摘要]** **目的:** 研究 T-bet、GATA-3、Foxm1 在慢性鼻窦炎(CRS)黏膜组织中的表达及其与炎症分子表达的相关性。**方法:** 选择 2015 年 6 月~2017 年 2 月期间在胜利医院接受鼻内镜下手术的鼻窦炎患者和鼻中隔偏曲患者, 分别作为 CRS 组和对照组。术中采集鼻黏膜组织, 检测 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量及炎症反应分子的蛋白表达量。**结果:** CRS 组患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量以及白介素(IL)-1 $\beta$ 、 $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、IL-4、IL-5、IL-19、IL-20R1、IL-20R2、基质金属蛋白酶(MMP)2、MMP9、PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK 的蛋白表达量均显著高于对照组; CRS 患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量与 IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5、IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9、PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK 的蛋白表达量呈正相关关系。**结论:** 慢性鼻窦炎黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的高表达能够激活 Th1、Th2 免疫反应并引起黏膜炎症反应。

**[关键词]** 慢性鼻窦炎; 转录因子; Th1 细胞; Th2 细胞; 炎症反应

**[中图分类号]** R765.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)15-2161-04

## T-bet, GATA-3 and Foxm1 expression in chronic sinusitis mucosa and their correlation with inflammatory molecule expression

WANG Xin-rong<sup>1</sup>, LI Jie<sup>2</sup>

(1. Otorhinolaryngology Department, China University of Petroleum (East China) Hospital, Qingdao 266580, China; 2. Otorhinolaryngology Department, Shengli Hospital of Shengli Petroleum Administrative Bureau of Shandong Province, Dongying 257055, China)

**[Foundation Project]:** This study was supported by Science and Technology Fund Project of Shengli Petroleum Administrative Bureau (Grant No. GKY0504)

**[Author]:** WANG Xin-rong (1965-), Female, Pingyuan Shangdong, Associate Chief Physician, M.B., Tel: 0532-86981760, 13698680530, E-mail: wxrdoctor@sina.com.

Received: 2017-07-03 Revised: 2017-07-10

JHMC, 2017; 23(15); 2161-2164

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study T-bet, GATA-3 and Foxm1 expression in chronic sinusitis mucosa and their correlation with inflammatory molecule expression. **Methods:** Patients with sinusitis and deflection of nasal septum who received nasal endoscopic surgery in Shengli Hospital between June 2015 and February 2017 were selected and enrolled in CRS group and control group respectively. Nasal mucosa tissue was collected during operation to determine mRNA expression of T-bet, GATA-3 and Foxm1 as well as protein expression of inflammatory molecules. **Results:** T-bet, GATA-3 and Foxm1 mRNA expression as

**[基金项目]** 胜利石油管理局科技基金资助项目(GKY0504)

**[作者简介]** 王欣荣(1965-), 女, 山东省平原人, 副主任医师, 学士, 电话: 0532-86981760, 13698680530, Email: wxrdoctor@sina.com.

**[收稿日期]** 2017-07-03 **[修回日期]** 2017-07-10 **网络出版时间:** 2017-07-21 16:28:19

well as IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-19, IL-20R1, IL-20R2, MMP2, MMP9, PI3K, Akt, GSK-3 $\beta$  and p38MAPK protein expression in nasal mucosa tissue of CRS group were significantly higher than those of control group ( $P < 0.05$ ); T-bet, GATA-3 and Foxm1 mRNA expression in nasal mucosa tissue of patients with CRS were positively correlated with IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-19, IL-20R1, IL-20R2, MMP2, MMP9, PI3K, Akt, GSK-3 $\beta$  and p38MAPK protein expression. **Conclusions:** High expression of T-bet, GATA-3 and Foxm1 in chronic sinusitis mucosa tissue can activate Th1 and Th2 immune response and cause mucosal inflammatory response.

[KEY WORDS] Chronic sinusitis; Transcription factor; Th1 cell; Th2 cell; Inflammatory response

慢性鼻窦炎(CRS)是耳鼻咽喉科的常见疾病,以鼻窦黏膜的慢性炎症反应为基本病理特征,持续存在的炎症反应会造成黏膜内杯状细胞增殖并导致黏液过度分泌,进而引起鼻腔分泌物增多、窦口引流障碍<sup>[1,2]</sup>。目前,关于慢性鼻窦炎患者鼻黏膜内慢性炎症反应的调控机制尚未明确,免疫应答紊乱及免疫细胞分化异常被认为与炎症反应进程存在密切关系<sup>[3]</sup>。T-bet(T-box expressed in T cells)是T淋巴细胞亚群 Th1 的特异性转录因子,GATA-3(GATA binding protein 3)是T淋巴细胞亚群 Th2 的特异性转录因子,T-bet 和 GATA-3 表达异常会影响 Th1 和 Th2 的分化并造成免疫应答紊乱、炎症反应异常。除了 T-bet 和 GATA-3 外,Foxm1(Fork head box m1)同样能够影响 Th2 的分化及杯状细胞的激活。本研究分析了转录因子 T-bet、GATA-3、Foxm1 在慢性鼻窦炎黏膜组织中的表达及其与炎症分子表达的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2015年6月~2017年2月期间在胜利医院接受鼻内镜下手术的鼻窦炎患者作为研究的CRS组,均通过术后病理证实为鼻窦炎,留取病灶部位的鼻黏膜组织。选择同期因鼻中隔偏曲而接受鼻内镜下手术的患者作为对照组,既往无鼻窦炎病史且术前MRI提示无鼻窦炎症,留取下鼻甲的鼻黏膜组织。CRS组共46例,包括男性28例、女性18例,年龄42~58岁;对照组共40例,包括男性24例、女性16例,年龄40~53岁。两组患者一般资料的比较无显著性差异( $P > 0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 鼻黏膜组织的采集及保存方法** 两组患者均在鼻内镜手术中采集鼻黏膜组织适量,CRS组采集鼻窦炎病灶部位的鼻黏膜适量,对照组采集下鼻甲的鼻黏膜适量,生理盐水清洗数次后放置在-70℃超低温冰箱保存。

**1.2.2 转录因子表达量的检测方法** 取鼻黏膜组织,加入Trizol裂解液后抽提组织中的总RNA,将RNA反转录合成为cDNA后设计T-bet、GATA-3、Foxm1的引物并进行荧光定量PCR扩增,根据扩增所得曲线计算T-bet、GATA-3、Foxm1的mRNA表达量。

**1.2.3 细胞因子及信号通路分子含量的检测方法** 取鼻黏膜组织,加入RIPA裂解液后抽提组织中的总蛋白,采用酶

联免疫吸附试剂盒检测白介素(IL)-1 $\beta$ 、 $\gamma$ 干扰素(IFN)- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、IL-4、IL-5、IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9、PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK的蛋白表达量。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS20.0软件录入数据并进行分析,两组间资料的分析采用*t*检验,相关性分析采用Pearson检验,按照 $P < 0.05$ 判断差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的表达量

两组患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 表达量的分析如下:CRS组患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量显著高于对照组。两组患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 mRNA 表达量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的表达量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	T-bet	GATA-3	Foxm1
CRS组	46	2.89 $\pm$ 0.36	2.21 $\pm$ 0.34	3.29 $\pm$ 0.47
对照组	40	1.05 $\pm$ 0.16	1.03 $\pm$ 0.13	0.98 $\pm$ 0.12
<i>t</i>		17.854	12.387	23.468
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

### 2.2 鼻黏膜组织中 Th1/Th2 细胞因子的表达量

两组患者鼻黏膜组织中 Th1 细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  以及 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 的表达量分析如下:CRS组患者鼻黏膜组织中 IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5 的蛋白表达量显著高于对照组。两组患者鼻黏膜组织中 IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5 蛋白表达量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson相关性分析显示:CRS患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量与 IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5 的蛋白表达量呈正相关关系。见表2。

表2 两组患者鼻黏膜组织中 Th1/Th2 细胞因子的表达量比较( $\text{ng/mL}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	Th1 细胞因子			Th2 细胞因子	
		IL-1 $\beta$	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$	IL-4	IL-5
CRS组	46	3.78 $\pm$ 0.52	8.59 $\pm$ 1.03	5.48 $\pm$ 0.78	2.05 $\pm$ 0.35	2.78 $\pm$ 0.42
对照组	40	1.48 $\pm$ 0.22	3.51 $\pm$ 0.45	2.05 $\pm$ 0.32	0.83 $\pm$ 0.11	1.26 $\pm$ 0.17
<i>t</i>		15.397	12.485	13.048	13.558	11.983
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 2.3 鼻黏膜组织中炎症细胞因子的表达量

两组患者鼻黏膜组织中炎症细胞因子 IL-19( $\text{ng/mL}$ )、

IL-20R1 (ng/mL)、IL-20R2 (ng/mL)、MMP2 (pg/mL)、MMP9(pg/mL)的表达量分析如下:CRS组患者鼻黏膜组织中IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9的蛋白表达量显著高于对照组。两组患者鼻黏膜组织中IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9蛋白表达量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson相关性分析显示:CRS患者鼻黏膜组织中T-bet、GATA-3、Foxm1的mRNA表达量与IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9的蛋白表达量呈正相关关系。见表3。

表3 两组患者鼻黏膜组织中炎症细胞因子的表达量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-19	IL-20R1	IL-20R2	MMP2	MMP9
CRS组	46	1.88±0.25	1.16±0.16	0.93±0.11	278.59±33.25	353.32±44.68
对照组	40	0.72±0.08	0.45±0.07	0.34±0.08	106.63±13.26	125.63±16.58
t		13.489	12.093	11.768	17.968	16.548
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

#### 2.4 鼻黏膜组织中炎症信号通路分子的表达量

两组患者鼻黏膜组织中炎症信号通路分子PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK的表达量分析如下:CRS组患者鼻黏膜组织中PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK的蛋白表达量显著高于对照组。两组患者鼻黏膜组织中PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK蛋白表达量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson相关性分析显示:CRS患者鼻黏膜组织中T-bet、GATA-3、Foxm1的mRNA表达量与PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK的蛋白表达量呈正相关关系。见表4。

表4 两组患者鼻黏膜组织中炎症信号通路分子的表达量比较(ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	PI3K	Akt	GSK-3 $\beta$	p38MAPK
CRS组	46	3.46±0.52	2.38±0.42	2.87±0.45	1.92±0.25
对照组	40	1.77±0.25	1.03±0.15	1.48±0.19	0.89±0.11
t		10.774	12.775	10.023	10.398
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 3 讨论

在慢性鼻窦炎的病程进展过程中,免疫应答紊乱与鼻黏膜炎症激活存在密切关系<sup>[4,5]</sup>。Th1和Th2是重要的T细胞亚群,局部组织中的Th1和Th2参与免疫应答平衡的维持。在Th0向Th1和Th2分化的过程中,转录因子T-bet决定了Th1细胞的分化成熟、转录因子GATA-3则决定了Th2细胞的分化成熟<sup>[6,7]</sup>。Foxm1是参与体内细胞分化、炎症反应、免疫应答等多个生物学过程调控的转录因子,鼻黏膜组织中杯状细胞的分化以及Th2细胞的成熟均受到Foxm1的影响<sup>[8]</sup>。Foxm1一方面能够促进树突状细胞的抗原递呈并诱导Th2细胞和杯状细胞的分化,另一方面能够诱导趋化因子CCL11、CCL24以及主要组织相容性复合物II等的表达并诱导Th2的活化<sup>[9]</sup>。为了明确Th1和Th2

免疫应答紊乱在慢性鼻窦炎病程中所发挥的作用,本文对慢性鼻窦炎黏膜组织中上述转录因子T-bet、GATA-3、Foxm1的表达量进行了分析,结果显示:CRS组患者鼻黏膜组织中T-bet、GATA-3、Foxm1的mRNA表达量显著高于对照组。这就说明转录因子T-bet、GATA-3、Foxm1所介导的Th1和Th2免疫应答过度活化与慢性鼻窦炎的发生密切相关。

鼻黏膜组织中转录因子T-bet、GATA-3、Foxm1表达的改变会影响Th1、Th2细胞的分化并引起相应细胞因子合成和分泌的改变<sup>[10]</sup>。Th1细胞主要合成IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ,主要介导细胞免疫应答并且能够引起局部黏膜组织中炎症反应的级联放大<sup>[11]</sup>。Th2细胞主要合成IL-4、IL-5,能够诱导嗜酸性粒细胞的激活和浸润、引起变态反应性炎症<sup>[12]</sup>。本文通过分析鼻黏膜中上述Th1细胞因子和Th2细胞因子的表达量可知:CRS组患者鼻黏膜组织中IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5的蛋白表达量显著高于对照组。这就说明鼻黏膜中Th1和Th2细胞因子表达和分泌增多与慢性鼻窦炎的发生和发展密切相关。进一步分析Th1和Th2转录因子表达量与相应细胞因子分泌的相关性可知:CRS患者鼻黏膜组织中T-bet、GATA-3、Foxm1的mRNA表达量与IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5的蛋白表达量呈正相关。由此证实Th1和Th2转录因子表达量的高表达能够引起细胞分化成熟,进而合成和分泌相应的细胞因子。

局部黏膜组织持续存在的慢性炎症反应是慢性鼻窦炎的基本病理特征,Th1和Th2细胞过度分化及相应细胞因子的过度分泌能够造成炎症反应的激活。IL-19是在鼻黏膜慢性炎症反应调控中发挥重要作用的分子,属于IL-20亚家族,与其受体IL-20R1/IL-20R2结合后一方面能够引起局部组织中多种炎症细胞的浸润,另一方面能够增加MMP2、MMP9的表达并促进细胞外基质降解、加重组织水肿<sup>[13,14]</sup>。本文通过分析鼻黏膜中上述炎症反应细胞因子的表达量可知:CRS组患者鼻黏膜组织中IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9的蛋白表达量显著高于对照组。这就说明IL-19及其受体IL-20R1/IL-20R2所介导的炎症反应激活、MMPs分泌与慢性鼻窦炎的发生密切相关。进一步分析Th1和Th2转录因子表达量与炎症反应细胞因子

分泌的相关性可知:CRS 患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量与 IL-19、IL-20R1、IL-20R2、MMP2、MMP9 的蛋白表达量呈正相关关系。这就说明转录因子 T-bet、GATA-3、Foxm1 所介导的 Th1 和 Th2 免疫应答过度活化会造成鼻黏膜组织中炎症反应的过度激活。

慢性鼻窦炎黏膜组织中 Th1 和 Th2 免疫应答紊乱、炎症反应细胞因子分泌异常能够通过下游多条信号通路来影响炎症反应的改变。PI3K/AKT 是在炎症反应过程中发挥重要作用的信号通路,受到上游促炎病理因素的影响发生活化后能够引起 GSK-3 $\beta$  激活,进而通过调节巨噬细胞的活性来参与炎症反应;p38MAPK 信号通路能够以磷酸化的形式激活后能够转位进入细胞核,进而调节促炎因子表达、激活炎症反应<sup>[15,16]</sup>。本文通过分析鼻黏膜组织中上述信号通路分子的表达量可知:CRS 组患者鼻黏膜组织中 PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK 的蛋白表达量显著高于对照组。这就说明 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK 所介导炎症通路的激活与慢性鼻窦炎的发生密切相关。进一步分析 Th1 和 Th2 转录因子表达量与炎症信号通路分子表达量的相关性可知:CRS 患者鼻黏膜组织中 T-bet、GATA-3、Foxm1 的 mRNA 表达量与 PI3K、Akt、GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK 的蛋白表达量呈正相关关系。这就说明转录因子 T-bet、GATA-3、Foxm1 所介导的 Th1 和 Th2 免疫应答过度活化能够通过 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ 、p38MAPK 信号通路来介导鼻黏膜组织中炎症反应的激活。

慢性鼻窦炎黏膜组织中转录因子 T-bet、GATA-3、Foxm1 呈高表达的趋势;T-bet、GATA-3、Foxm1 的高表达能够增加 Th1 和 Th2 细胞因子的分泌、促进 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  和 p38MAPK 信号通路所介导的炎症反应。

## 参考文献

- 1 Sohal M, Tessema B, Brown SM. Medical management of frontal sinusitis [J]. *Otolaryngol Clin North Am*, 2016, 49(4): 927-934.
- 2 Fang A, England J, Gausche-Hill M. Pediatric acute bacterial sinusitis: diagnostic and treatment dilemmas [J]. *Pediatr Emerg Care*, 2015, 31(11): 789-794

- 3 Shin SH, Kim YH, Ye MK, et al. Immunopathologic characteristics of nasal polyps in adult Koreans; A single-center study [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2017, 31(3):168-173.
- 4 Perez-Novo C, Pezato R. Dendritic cell subset expression in severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2017, 17(1): 1-4.
- 5 Rae W, Doffinger R, Shelton F, et al. A novel insight into the immunologic basis of chronic granulomatous invasive fungal rhinosinusitis [J]. *Allergy Rhinol (Providence)*, 2016, 7(2):102-106.
- 6 Guo ZQ, Dong WY, Xu J, et al. T-helper type 1-T-helper type 2 shift and nasal remodeling after fine particulate matter exposure in a rat model of allergic rhinitis[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2017, 31(3): 148-155.
- 7 Baba S, Kagoya R, Kondo K, et al. T-cell phenotypes in chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Japanese patients [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2015, 19(11): 33.
- 8 Xia H, Ren X, Bolte CS, et al. Foxm1 regulates resolution of hyperoxic lung injury in newborns [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 52(5): 611-621.
- 9 Lim R, Barker G, Lappas M. FOXM1 is lower in human fetal membranes after spontaneous preterm labour and delivery [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2014, 26(7): 1052-1060.
- 10 König K, Klemens C, Eder K, et al. Cytokine profiles in nasal fluid of patients with seasonal or persistent allergic rhinitis[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2015,11(1):26.
- 11 Park IH, Park JH, Shin JM, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  regulates interleukin-33 expression through extracellular signal-regulated kinase, p38, and nuclear factor- $\kappa$ B pathways in airway epithelial cells [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2016, 6(9): 973-980.
- 12 Bal SM, Bernink JH, Nagasawa M, et al. IL-1 $\beta$ , IL-4 and IL-12 control the fate of group 2 innate lymphoid cells in human airway inflammation in the lungs [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(6):636-45.
- 13 李霞,常利红,黄子真,等. IL-19 及其受体与慢性鼻-鼻窦炎组织重塑的相关性研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(5): 919-924.
- 14 Li X, Tao Y, Li X. Expression of MMP-9/TIMP-2 in nasal polyps and its functional implications [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11):14556-14561.
- 15 Wang Z, Li P, Zhang Q, et al. Interleukin-1 $\beta$  regulates the expression of glucocorticoid receptor isoforms in nasal polyps in vitro via p38 MAPK and JNK signal transduction pathways[J]. *J Inflamm*, 2015, 12(1):3.
- 16 Endo Y, Hirahara K, Inuma T, et al. The interleukin-33-p38 kinase axis confers memory T helper 2 cell pathogenicity in the airway[J]. *Immunity*, 2015, 42(2): 294-308.