

梅尼埃病患者外周血 Th17/Treg 相关细胞因子表达水平及临床意义

王蕊¹, 檀俊龙², 崔庆佳¹, 闫瑾¹

(1. 首都医科大学附属北京康复医院耳鼻喉科, 北京 100144; 2. 首都医科大学附属复兴医院耳鼻喉科, 北京 100038)

【摘要】目的: 探讨梅尼埃病(MD)患者外周血辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)相关细胞因子表达水平及临床意义。**方法:** 选取 MD120 例患者设为 MD 组,另选取 60 名同期健康体检者作为对照组。采用酶联免疫吸附法检测受试者外周血白细胞介素 17(IL-17)、IL-10 表达,计算 IL-17/IL-10;对比不同组别 IL-17、IL-10 和 IL-17/IL-10 差异。**结果:** 相比对照组,MD 组外周血 IL-10 降低($P < 0.05$),IL-17 水平及 IL-17/IL-10 增高($P < 0.05$)。MD 患者单侧组与双侧组外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较,无统计学差异($P > 0.05$)。III + IV 期患者与 I + II 期患者外周血 IL-17、IL-10 水平比较,无统计学差异($P > 0.05$),但 III + IV 期患者 IL-17/IL-10 高于 I + II 期患者($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,IL-17/IL-10 诊断 MD 患者听力分期为 III 期以上的曲线下面积(AUC)为 0.829(95% CI:0.749 ~ 0.891),敏感度为 70.69%,特异度为 85.48%。**结论:** MD 患者外周血 Th17/Treg 失衡,且与听力分期相关,IL-17/IL-10 对于听力异常严重程度有较高诊断价值。

【关键词】 梅尼埃病;Th17/Treg;白细胞介素 17;白细胞介素 10

【中图分类号】 R764.33 **【文献标志码】** A

The expression level and clinical significance of Th17/Treg related cytokines in peripheral blood of patients with Meniere's disease

WANG Rui¹, TAN Jun-long², CUI Qing-jia¹, YAN Jin¹

(Department of Otolaryngology, 1. Beijing Rehabilitation Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100144; 2. Fuxing Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China)

【Abstract】Objective: To investigate the expression and clinical significance of Th17/Treg related cytokines in peripheral blood of patients with Meniere's disease (MD). **Methods:** 120 patients with MD were selected as the MD group, and 60 healthy subjects were selected as the control group. The expression of interleukin-17 (IL-17) and IL-10 in peripheral blood was detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and IL-17/IL-10 was calculated. The differences of IL-17, IL-10 and IL-17/IL-10 in different groups were compared. **Results:** Compared with the control group, IL-10 in peripheral blood of MD group decreased ($P < 0.05$), IL-17 level and IL-17/IL-10 increased ($P < 0.05$). There was no significant difference in peripheral blood IL-17, IL-10 and IL-17/IL-10 between unilateral and bilateral MD patients ($P > 0.05$). There was no significant difference in peripheral blood IL-17 and IL-10 between patients with stage III + IV and patients with stage I + II ($P > 0.05$), but the IL-17/IL-10 in patients with stage III + IV was higher than that in patients with stage I + II ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of IL-17/IL-10 in the diagnosis of MD patients with hearing stage III or above was 0.829 (95% CI: 0.749 ~ 0.891), the sensitivity was 70.69%, and the specificity was 85.48%. **Conclusion:** Th17/Treg imbalance in peripheral blood of MD patients is related to hearing stage, and IL-17/IL-10 has a high diagnostic value for the severity of hearing impairment.

【Key words】 Meniere's disease; Th17/Treg; Interleukin 17; Interleukin-10

梅尼埃病(meniere's disease, MD)是耳科常见疾病之一,典型症状为发作性眩晕、感音神经性听力损失,并可伴随耳鸣、耳胀满感等,严重影响患者正常生活。目前,MD的发病机制尚不明确,认为与内淋巴吸收障碍、免疫反应和内耳缺血等有关^[1]。研

究^[2]发现,内耳具有免疫应答能力,接受抗原刺激后能够介导免疫炎症反应。在MD的发病过程中,变态反应及自身免疫性疾病相关的多种炎性介质及细胞因子发挥着重要作用^[3]。Takeda等^[4]对豚鼠内耳膜迷路积水模型的研究发现,在激发过敏反应

后,予以 H1 受体拮抗剂处理的组织切片中未出现嗜碱性粒细胞浸润,且无明显膜迷路积水表现。Azuma 等^[5]在大鼠耳蜗中检测到 H1、H2 组胺受体的表达。由以上研究推测 I 型变态反应可能参与了 MD 的发病机制。近年来,研究^[6]发现,辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)细胞间的平衡状态参与了 I 型变态反应性疾病的病理过程。白细胞介素 17(IL-17)多由 Th17 细胞产生,是一种促炎因子,参与炎症反应过程^[7]。IL-10 主要由 Treg 细胞分泌,是重要的抗炎因子,能够对 Th 细胞所介导的免疫炎症病理反应产生抑制作用,维持免疫稳态^[8]。基于 MD 的免疫炎症机制及 Th17/Treg 能够介导炎症与免疫耐受,推测 Th17/Treg 细胞失衡在 MD 的发病中可能有一定作用。因此本研究通过检测 MD 患者外周血 IL-17、IL-10 水平,反映 Th17/Treg 平衡,探讨其在 MD 发病中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月首都医科大学附属北京康复医院收治的 120 例 MD 患者设为 MD 组,其中男性 46 例,女性 74 例;年龄(48.23 ± 10.41)岁;单侧 92 例,双侧 28 例;听力分期为 I 期(平均听阈 ≤ 25 dB HL)10 例,II 期(平均听阈 26 ~ 40 dB HL)52 例,III 期(平均听阈 41 ~ 70 dB HL)43 例,IV 期(平均听阈 > 70 dB HL)15 例。纳入标准:(1)符合 MD 诊断标准^[9];(2)无其他耳蜗、前庭相关性疾病;(3)年龄 ≥ 18 岁。排除标准:(1)有其他原因(如前庭性偏头痛、突发性聋等)所致的眩晕者;(2)合并其他重大疾病者;(3)近两周有发生过急性慢性感染者;(4)青光眼者;(5)近 1 个月内有使用过激素类药物或抗组胺药物者;(6)合并严重精神疾病者。另选取 60 名同期健康体检者作为对照组,均无耳鼻疾病,排除眩晕疾病和过敏性疾病史。其中,男性 22 例,女性 38 例;年龄(47.45 ± 9.78)岁。MD 组与对照组的性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究符合伦理规定并获得审批,入组对象对研究充分知情并签署知情同意书。见表 1。

表 1 两组研究对象性别与年龄比较($\bar{x} \pm s, n$)

组别	男/女(例)	年龄(岁)
MD 组($n = 120$)	46/74	48.23 ± 10.41
对照组($n = 60$)	22/38	47.45 ± 9.78
t/χ^2 值	0.047	0.483
P 值	0.828	0.629

1.2 外周血 IL-17、IL-10 测定

MD 患者于眩晕发作 48 h 内完成外周静脉血采集,对照组于常规体检时采集外周静脉血。抽取受试者晨起空腹外周静脉血 5 mL,促凝真空采血管采集,置于室温下 2 h,待血液自然凝固后,采用 C0060-230V 型血液离心机(美国 labnet 公司),离心($3\ 000$ r/min,离心半径为 13.5 cm)10 min,将获得血清置于 EP 管中。编号后,放置在 -80 °C 环境下保存,用于 IL-17、IL-10 的测定,检测方法为酶联免疫吸附法,严格按试剂盒说明书进行测定,试剂盒为上海酶联生物科技有限公司产品,根据 IL-17、IL-10 水平计算 IL-17/IL-10。

1.3 统计学分析

数据处理应用 SPSS 28.0。计量资料(IL-17、IL-10、IL-17/IL-10 比值等均满足正态分布)采取($\bar{x} \pm s$)形式表示,两组之间对比用成组 t 检验;计数资料采用[$n(\%)$]进行表示,组间比较用 χ^2 检验;IL-17/IL-10 诊断 MD 患者听力异常严重程度的效能应用受试者工作特征曲线(ROC)进行分析,根据最大约登指数确定截断点。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MD 组与对照组外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较

相比如对照组,MD 组外周血 IL-10 降低($P < 0.05$),IL-17 水平及 IL-17/IL-10 增高($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 MD 组与对照组外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-17(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	IL-17/IL-10
MD 组($n = 120$)	19.63 ± 4.51	25.74 ± 7.18	0.72 ± 0.15
对照组($n = 60$)	12.45 ± 3.12	58.64 ± 10.23	0.21 ± 0.06
t 值	10.076	25.022	25.314
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.2 单侧与双侧发病 MD 患者外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较

MD 患者单侧组与双侧组外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较,无统计学差异($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 单侧与双侧发病 MD 患者外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-17(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	IL-17/IL-10
单侧($n = 92$)	19.46 ± 3.87	25.39 ± 6.98	0.71 ± 0.12
双侧($n = 28$)	20.19 ± 4.22	26.89 ± 6.57	0.75 ± 0.13
t 值	0.856	1.009	1.515
P 值	0.394	0.315	0.133

2.3 不同听力分期 MD 患者外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较

III + IV 期患者与 I + II 期患者外周血 IL-17、IL-10 水平比较,无统计学差异 ($P > 0.05$),但 III + IV 期患者 IL-17/IL-10 高于 I + II 期患者 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 不同听力分期 MD 患者外周血 IL-17、IL-10 及 IL-17/IL-10 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-17(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	IL-17/IL-10
I + II 期 (n = 62)	18.86 ± 4.39	27.84 ± 5.71	0.64 ± 0.10
III + IV 期 (n = 58)	20.45 ± 4.42	23.49 ± 6.78	0.81 ± 0.13
t 值	1.976	1.210	8.059
P 值	0.051	0.229	<0.001

2.4 IL-17/IL-10 对 MD 患者听力异常严重程度的诊断价值

ROC 曲线分析显示,IL-17/IL-10 比值诊断 MD 患者听力分期为 III 期以上的曲线下面积 (AUC) 为 0.829 (95% CI: 0.749 ~ 0.891);当截断值为 > 0.73 时,对应的敏感度为 70.69%,特异度为 85.48%。见图 1。

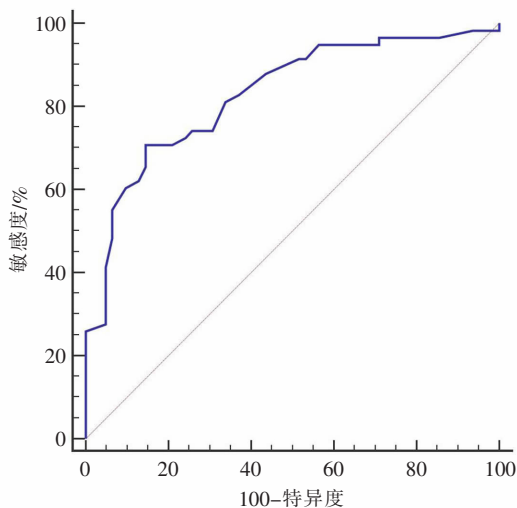


图 1 IL-17/IL-10 比值诊断 MD 患者听力异常严重程度的 ROC 曲线

3 讨论

有研究^[10]认为,Th17/Treg 细胞的平衡失调与 I 型变态反应性疾病的发生密切相关。IL-17 是由 Th17 细胞分泌的致炎因子,可参与炎症反应过程,在自身免疫性疾病的炎症病理过程中发挥着关键作用^[11]。IL-10 可由 Treg 细胞分泌产生,作为一种抗炎细胞因子,对 Th 细胞诱导的免疫炎症反应有抑制作用,能够维持组织稳态^[12]。研究^[13-14]认

为,Treg 细胞及其分泌的 IL-10 在 Th2 细胞介导的 I 型变态反应中有着调节作用,对维持免疫耐受至关重要。然而,Dehnavi 等^[15]报道,变应性鼻炎患者在经过免疫治疗后,临床症状得到明显改善,但外周血 IL-10 表达水平下降。Salmani 等^[16]研究发现,变应性鼻炎患者在经过免疫治疗、获得病情缓解后,IL-17 基因表达水平出现增高。当前,IL-17、IL-10 与 I 型变态反应的关系仍处于探索阶段,其中机制尚未完全明确。先前有研究^[8]报道,Treg 细胞介导的细胞免疫失衡可能是 MD 的发病机制,MD 患者存在外周血 Treg 细胞和 IL-10 的表达异常。本研究结果显示,相比对照组,MD 组外周血 IL-10 降低,IL-17 水平及 IL-17/IL-10 增高,提示 MD 患者存在 Th17/Treg 细胞因子的表达异常,推测 Th17/Treg 失衡可能参与了 MD 的发病,其机制可能在于 Th17/Treg 表达异常,内淋巴囊组织产生的活性介质组胺增加,引起局部炎症反应,使得内淋巴囊吸收功能障碍,导致膜迷路积水,从而引发 MD 相关症状。因此,Th17/Treg 表达检测可为临床诊治提供指导。

潘滔等^[17]研究报道,伴发变态反应的 MD 患者存在 Th17/Treg 细胞增高,但未分析不同分期患者 Th17/Treg 的差异。本研究显示,III + IV 期患者与 I + II 期患者外周血 IL-17、IL-10 水平比较,无统计学差异;但 III + IV 期患者 IL-17/IL-10 高于 I + II 期患者,说明 Th17/Treg 失衡与 MD 听力分期有关,有望成为病情评估指标。推测 Th17/Treg 表达失衡,可促进炎症反应,加重淋巴囊吸收功能损伤,进而导致病情进展。ROC 曲线分析显示,IL-17/IL-10 比值诊断 MD 患者听力分期为 III 期以上的 AUC 为 0.829,可见 IL-17/IL-10 对 MD 患者听力异常严重程度有较高诊断价值。另外,本研究发现单侧组与双侧组外周血 IL-17、IL-10 及其比值均无统计学差异,与先前报道^[17]相符。

综上,MD 患者存在 Th17/Treg 失衡,IL-17/IL-10 对患者听力异常严重程度有较高诊断价值,可作为病情评估指标。

参考文献

- [1] 戴硕,何晓,唐旭霞.梅尼埃病的发病机制及临床诊治研究进展[J].听力学及言语疾病杂志,2022,30(5):476-480.
- [2] Frejo L, Gallego-Martinez A, Requena T, et al. Proinflammatory cytokines and response to molds in mononuclear cells of patients with Meniere disease[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1):5974.
- [3] 王汝嫵,郭明丽,屈永涛.梅尼埃病与 I 型变态反应关系的研究进展[J].听力学及言语疾病杂志,2020,28(2):221-226.
- [4] Takeda T, Takeda S, Egami N, et al. Type 1 allergy-induced endolymphatic hydrops and the suppressive effect of leukotriene receptor antagonist [J]. Otology & Neurotology, 2012, 33(5):

886 - 890.

- [5] Azuma H, Sawada S, Takeuchi S, *et al.* Immunohistochemical localization of histamine receptors in rat cochlea [J]. *Laryngoscope*, 2004, 114 (12) :2249 - 2251.
- [6] 贾沛茹, 黄韵颖, 汪鹰, 等. 口腔扁平苔藓外周血中辅助性 T 细胞/调节性 T 细胞平衡与临床特征相关性分析 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2018, 36 (4) :384 - 388.
- [7] Wu C, Chen Z, Xiao S, *et al.* SGK1 Governs the Reciprocal Development of Th17 and Regulatory T Cells [J]. *Cell Reports*, 2018, 22 (3) :653 - 665.
- [8] Fang D, Zhu J. Molecular switches for regulating the differentiation of inflammatory and IL-10-producing anti-inflammatory T-helper cells [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2020, 77 (2) :289 - 303.
- [9] 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头颈外科学分会. 梅尼埃病诊断和治疗指南 (2017) [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 52 (3) :167 - 172.
- [10] Keles E, Gödekmerdan A, Kalıdağ T, *et al.* Meniere's disease and allergy: allergens and cytokines [J]. *Journal of Laryngology & Otolology*, 2004, 118 (9) :688 - 693.
- [11] Stephens GL, Swerdlow B, Benjamin E, *et al.* IL-9 is a Th17-derived cytokine that limits pathogenic activity in organ-specific autoimmune disease [J]. *European Journal of Immunology*, 2011, 41 (4) :952 - 962.
- [12] Hou H, Sun Y, Miao J, *et al.* Ponesimod modulates the Th1/Th17/Treg cell balance and ameliorates disease in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Journal of Neuroimmunology*, 2021, 356 :577583.
- [13] Mai J, Liang B, Xiong Z, *et al.* Oral administration of recombinant *Bacillus subtilis* spores expressing *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein suppresses peanut allergy via up-regulation of Tregs [J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2019, 49 (12) :1605 - 1614.
- [14] Xu F, Yu S, Qin M, *et al.* Hydrogen-Rich Saline Ameliorates Allergic Rhinitis by Reversing the Imbalance of Th1/Th2 and Up-Regulation of CD4 + CD25 + Foxp3 + Regulatory T Cells, Interleukin-10, and Membrane-Bound Transforming Growth Factor- β in Guinea Pigs [J]. *Inflammation*, 2018, 41 (1) :81 - 92.
- [15] Dehnavi S, Azad FJ, Hoseini RF, *et al.* A significant decrease in the gene expression of interleukin-17 following the administration of synbiotic in patients with allergic rhinitis who underwent immunotherapy: A placebo-controlled clinical trial [J]. *Journal of Research in Medical Sciences*, 2019, 24 (1) :51.
- [16] Salmani A, Mohammadi M, Hosseini RF, *et al.* A significant increase in expression of FOXP3 and IL-17 genes in patients with allergic rhinitis underwent accelerated rush immunotherapy [J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2019, 22 (9) :989 - 996.
- [17] 潘滔, 赵宇, 丁玉静, 等. 梅尼埃病患者中 I 型变态反应检测的初步研究 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 52 (2) :89 - 92.

(收稿日期:2023 - 01 - 06

修回日期:2023 - 02 - 19)