

Tespa1 在慢性鼻窦炎伴鼻息肉中的表达及作用研究

张广玲, 陈兴雪, 武天义, 孙占伟, 王卫卫, 李世超, 王广科

郑州大学人民医院/河南省人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 河南 郑州 450003

摘要: **目的** 检测胸腺细胞表达的阳性选择相关蛋白 1 (thymocyte expressed, positive selection associated 1, Tespa1) 在鼻息肉及鼻腔黏膜中的表达及表达差异, 并探讨 Tespa1 在 CRSwNP 中的作用及其与肥大细胞的关系。 **方法** 研究纳入慢性鼻窦炎伴鼻息肉 (chronic rhinosinusitis with Nasal Polyps, CRSwNP) 患者 29 例、慢性鼻窦炎不伴鼻息肉 (chronic rhinosinusitis without nasal polyps, CRSsNP) 患者 20 例、对照组患者 18 例。应用实时定量聚合酶链反应 (quantitative real-time PCR, qPCR)、免疫组织化学法 (immunohistochemistry, IHC)、酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 和苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin staining, H&E) 染色, 检测鼻腔黏膜及鼻息肉中 Tespa1 表达及分布, 并分析了其与肥大细胞、IgE、IL-4 及 IL-13 之间的相关性。 **结果** qPCR 结果显示, CRSwNP 中 Tespa1 mRNA 表达水平较对照组及 CRSsNP 组均显著降低 ($Z = 2.42, P = 0.046; Z = -3.38, P = 0.002$)。IHC 结果显示, 与对照组相比, Tespa1 在鼻息肉的上皮和间质低表达, 胰蛋白酶阳性的肥大细胞在鼻息肉中表达加 ($t = 10.14, P < 0.001$)。鼻息肉中 Tespa1 阳性细胞数与胰蛋白酶阳性肥大细胞数呈负相关 ($r = -0.710, P = 0.006$)。ELISA 结果显示, 组织中 Tespa1 水平远高于其在血清中的水平, 组织 Tespa1 水平与 IgE、IL-4、IL-13 水平呈负相关 ($r = -0.682, P = 0.002; r = -0.691, P = 0.002; r = -0.539, P = 0.021$)。 **结论** Tespa1 在 CRSwNP 患者鼻息肉组织中低表达, 与 IgE、IL-4 及 IL-13 表达水平负相关, 并可能通过肥大细胞发挥作用。本研究为理解 CRSwNP 的病理机制提供了新的视角, 并可能为未来的诊断和治疗提供新的分子靶标。

关键词: 慢性鼻窦炎伴鼻息肉; 胸腺细胞表达的阳性选择相关蛋白 1; 肥大细胞

中图分类号: R765.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3770(2025)02-0035-08

引用格式: 张广玲, 陈兴雪, 武天义, 等. Tespa1 在慢性鼻窦炎伴鼻息肉中的表达及作用研究[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2025, 39(2):35-42. ZHANG Guangling, CHEN Xingxue, WU Tianyi, et al. The expression and function of Tespa1 in chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2025, 39(2):35-42.

The expression and function of Tespa1 in chronic rhinosinusitis with nasal polyps

ZHANG Guangling, CHEN Xingxue, WU Tianyi, SUN Zhanwei, WANG Weiwei, LI Shichao, WANG Guangke

Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Zhengzhou University People's Hospital/Henan Province People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan, China

Abstract: Objective To determine the expression and expression differences of thymocyte-expressed, positive selection associated 1 (Tespa1) in nasal polyps and nasal mucosa and to investigate the role of Tespa1 in CRSwNP and its relationship with mast cells.

Methods Twenty-nine patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) and 20 patients with chronic rhinosinusitis without nasal polyps (CRSsNP) were included in the study, 18 cases of controls. Quantitative real-time PCR (qPCR), immunohistochemistry (IHC), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and hematoxylin-eosin (H&E) staining were used to detect the expression and distribution of Tespa1 in nasal mucosa and nasal polyps, and its correlation with mast cells, IgE, IL-4, and IL-13 was analyzed. **Results** The qPCR results showed that the expression level of Tespa1 mRNA in CRSwNP was significantly lower than that in both control and CRSsNP groups ($Z = 2.42, P = 0.046; Z = -3.38, P = 0.002$). The IHC results showed that Tespa1 was lowly expressed in the epithelium and mesenchyme of nasal polyps compared with the control group, and the expression of tryptase-positive mast cells was upregulated in nasal polyps ($t = 10.14, P < 0.001$). The number of Tespa1-positive cells in nasal polyps was negatively correlated with the number of trypsin-positive mast cells ($r = -0.710, P = 0.006$). The ELISA results showed that the tissue Tespa1 level was much higher than its level in serum, and the tissue Tespa1 level was negatively correlated with the levels of IgE, IL-4, and IL-13 ($r = -0.682, P = 0.002; r = -0.682, P = 0.002; r = -0.691, P = 0.002; r = -0.539, P = 0.021$).

Conclusions Tespa1 is low expressed in nasal polyp tissues of CRSwNP patients, negatively correlated with the expression levels

收稿日期: 2024-03-01

基金课题: 河南省 2022 科技发展计划 (222102310203)

通信作者: 王广科. E-mail: 13598895398@zzu.edu.cn

of IgE, IL-4 and IL-13, and may act through mast cells. This study provides a new perspective for understanding the pathomechanism of CRSwNP and may provide new molecular targets for future diagnosis and treatment.

Key words: Chronic rhinosinusitis with nasal polyps; Thymocyte expressed, positive selection associated 1; Mast cell

慢性鼻窦炎伴鼻息肉 (chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNP) 术后复发率高^[1-3], 其免疫病理以 Th2 型炎症为主, 表现为嗜酸性粒细胞、肥大细胞及 2 型炎症因子的显著增加^[4-5]。

胸腺细胞表达的阳性选择相关蛋白 1 (thymocyte expressed, positive selection associated 1, Tespa1) 编码一个包含 458 个氨基酸的蛋白质, 其在 T 细胞受体诱导的钙信号通路和 T 细胞的发育扮演重要角色^[6-7]。除了在 T 细胞中, Tespa1 在肥大细胞中也高表达, Wang 等^[8]研究发现 Tespa1 通过调节 L 型氨基酸转运体 1 和 L 型氨基酸转运体 2 信号体组装来负调控高亲和力 IgE 受体 (high-affinity immunoglobulin E receptor, FcεRI) 介导的肥大细胞活化, 进而调节免疫应答。而肥大细胞在鼻息肉、哮喘及过敏性鼻炎中等疾病中发挥至关重要的作用^[2]。Yang 等^[9]证实 Tespa1 在哮喘中可负向调节肥大细胞活化并且与 IL-4/STAT6 信号通路相关。

目前关于 Tespa1 在 CRSwNP 中的表达以及其与肥大细胞的相关性未见文献报道。本研究旨在检测 Tespa1 在鼻黏膜组织及鼻息肉中的表达差异, 并探讨 Tespa1 在 CRSwNP 中的作用及其与肥大细胞的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2023 年 4 月至 9 月于河南省人民医院耳鼻咽喉头颈外科就诊的患者 67 例, 其中 CRSwNP 患者 29 例、CRSsNP 20 例和对照组患者 18 例, 18~75 岁; 实验组包括 CRSwNP 及 CRSsNP。所有患者都签署书面知情同意书, 研究流程经河南省人民医院伦理委员会批准审核 (批件号: 2022-146-02)。

纳入标准为符合中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南 (2018)^[10] 及欧洲鼻窦炎及鼻息肉诊疗指南 (european position paper on rhinosinusitis and nasal polyps, EPOS) 2020 版^[11] 诊疗指南, 即根据病史、临床检查、鼻内窥镜检查及鼻窦 CT 扫描, 诊断为 CRSwNP 及 CRSsNP。将 CRSwNP 患者按照病理类型分为嗜酸性 (eosinophilic CRSwNP, ECRSwNP) 和非嗜酸性 (non-eosinophilic CRSwNP, non-ECRSwNP), 标准为每高倍镜下组织嗜酸性粒细胞占总炎性细胞的百分比 >10% 为嗜酸性^[12]。

对照组纳入标准: 因解剖变异而接受鼻中隔成形术且没有鼻窦疾病患者、鼻腔泪囊吻合术以及接受颅底手术的患者 (如脑脊液鼻漏等)。

对照组排除标准: ①后鼻孔息肉、单侧鼻息肉、囊性纤维化、原发性纤毛运动障碍、鼻腔鼻窦肿瘤患者, 免疫缺陷、变应性真菌性鼻窦炎患者; ②纳入研究前 4 周患者使用口服糖皮质激素、抗组胺药物及抗白三烯类药物。

1.2 方法

1.2.1 样本来源及临床数据采集

对照组选取中鼻甲黏膜。CRSsNP 组收集钩突组织、CRSwNP 收集鼻息肉组织 (因对照组不进行鼻窦开放术, 为减轻鼻腔黏膜损伤, 遂选取中鼻甲黏膜)。收集所有受试者的静脉血样本。每个组织样本分别进行 qPCR 检测、ELISA 检测及组织病理学分析 (IHC 和 HE 染色)。静脉血样本经离心机离心后留取血清 -80 °C 保存进行 ELISA 检测。由于组织样本数量有限, 并非所有样本都包含在每个研究方案中。

收集 3 组患者性别、年龄、吸烟史等基线资料。

1.2.2 qPCR 检测

鼻黏膜组织充分研磨后, 使用 Molpure[®] Cell/Tissue Total RNA Kit 试剂从鼻窦炎和对照组患者样本中提取总 RNA。将提取的 RNA 用 Prime Script RT reagent Kit 转化为 cDNA。使用 TB Green[™] PremixExTaq[™] II (Tli RNaseH Plus) 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 阵列试剂盒 (宝日生物技术有限公司, 中国) 在实时 PCR 系统中检测基因表达。以人类 GAPDH 管家基因作为参考。用正向引物和反向引物分别扩增 cDNA, 引物序列 Tespa1 上游: 5'-AGAAGCAGTTCCTCCAGCAAGAC-3'; 下游: 5'-TCACAGCAGAAGACACATGGATAGG-3'; GAPDH 上游: 5'-TGA CTTCAACAGCGACAC-CCA-3', 下游: 5'-CACCTGTGCTGTAGCCAAA-3'。使用 QuantStudio[™] Design&Analysis SE Software 分析 PCR 过程各检测样本的循环阈值 (cycle threshold, CT) 值, 通过 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算 X 相对 mRNA 表达水平。

1.2.3 ELISA 检测

组织 Tespa1、IL-4、IL-13、IgE 的检测分别使用 Human Tespa1 ELISA KIT、Human IL-4 ELISA

KIT、Human IL-13 ELISA KIT 及 Human IgE ELISA KIT。取待测上清液,采用 ELISA 检测 Tespa1、IL-4、IL-13 及 IgE 表达水平。各标准品及样本光密度(optical density, OD)值减去空白孔 OD 值得到 ΔOD 值,用标准物的浓度与 ΔOD 值计算出标准曲线的线性回归方程式,将样品的 ΔOD 值代入方程式,计算出样品浓度,再乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度。血清 Tespa1 使用 Human Tespa1 ELISA KIT(上海茁彩生物科技有限公司,中国)进行检测,检测方法同上。血清总免疫球蛋白 E(immunoglobulin, IgE)及特异性 IgE 检测由我院检验科检测,当血清总 IgE 水平 >100 IU/L 时,认为患者有特异性。

1.2.4 IHC 检测

石蜡包埋鼻组织,经制片、脱蜡。将切片浸泡在柠檬酸缓冲液中(pH6.0),并在高温加热 20 min 进行抗原修复。3%过氧化氢处理内源性过氧化物酶活性。接下来,滴加含 3%牛血清封闭液,室温 20 min。轻轻甩掉封闭液,与兔抗人 Tespa1 单抗按 1:50 比例 4 °C 孵化过夜。37 °C 孵育辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔二抗 30 min。二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色、苏木精复染,脱水、裱好。如前所述进行肥大细胞胰蛋白酶免疫组化检测,以评估各组之间肥大细胞活性变化。将组织切片与小鼠抗人胰蛋白酶单抗在 4 °C 条件下孵育过夜,然后用 HRP 标记山羊抗小鼠二抗按 1:100 比例在室温下孵育 1 h。DAB 显色、苏木素复染。苏木精染细胞核为蓝色, Tespa1 及胰蛋白酶显出的阳性表达棕黄色。显微摄像系统

对切片进行图像采集。每个样本中随机选择 3 个区域高倍镜下定量阳性细胞,测定所采集 40×图像的阳性细胞数及其占比。

1.2.5 HE 染色

石蜡切片脱蜡至水后入苏木素染液染 3 ~ 5 min,梯度酒精脱水各 5 min,入伊红染液中染色。脱水封片。细胞核呈蓝色,细胞质呈红色。随机选择 3 个高倍镜进行检测,结果以每高倍镜视野(high power field, HPF)表达的嗜酸性粒细胞(eosinophil, EOS)计数表示,并计算每高倍镜下嗜酸性粒细胞数在总炎症细胞中的比例。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 26.0 软件。连续变量用 $\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。两组组间比较服从正态分布的数据采用 t 检验,不服从正态分布的数据应用 Mann-Whitney U 检验。对多组比较组间差异符合正态分布的数据采用单因素方差分析,不符合正态分布的应用 Kruskal-Wallis 检验。并采用 Bonferroni 行组间两两比较。变量之间的相关性采用 Pearson 相关分析,如果不服从正态分布,则选择 Spearman 进行假设检验。分类变量使用 χ^2 检验、Fisher 精确检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 一般资料

人口统计学及基线资料显示,3 组在过敏、吸烟、性别、年龄、血清总 IgE 基线数据上均无统计学意义。见表 1。

表 1 人口统计学及基线资料
 Table 1 Demographic and baseline data

项目	对照组	CRSwNP 组	CRSsNP 组	$\chi^2/F/H$	P
性别				2.64	0.27
男	7	16	13		
女	11	13	7		
年龄/岁	35.72±13.15	44.97±14.77	44.1±14.92	2.53	0.09
过敏				2.87	0.24
是	8	20	11		
否	10	9	9		
血清总 IgE/(IU/mL)	73.72(53.77,149.29)	152.66(87.08,194.90)	155.61(28.02,239.48)	3.41	0.18
哮喘				—	0.039
是	0	5	0		
否	18	24	20		
吸烟				0.80	0.67
是	4	10	6		
否	14	19	14		
血 EOS/×10 ⁹ /L	0.09(0.05,0.12)	0.28(0.10,0.42)	0.10(0.05,0.20)	10.18	0.006
组织 EOS/(cells/HPF)	1.00(0.67,2.25)	40,00(7.00,122.83)	14.00(8.00,16.5)	35.086	<0.001

2.2 Tespa1 在鼻组织和血清中的表达水平

比较 Tespa1 在鼻组织和血清中的表达水平,结果显示与对照组及 CRSsNP 组相比,CRSwNP 组 Tespa1 mRNA 表达显著下调 ($Z = 2.42, P = 0.046$; $Z = -3.38, P = 0.002$)。ECRSwNP 组和 non-ECRSwNP 组 Tespa1 mRNA 差异无统计学意义 ($Z = 0.96, P > 0.05$)。见图 1。

IHC 结果示 3 组样本均可见到 Tespa1 阳性细胞。见图 2。

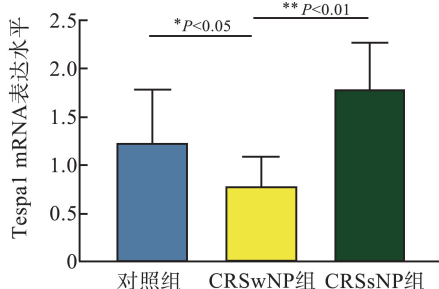


图 1 Tespa1 mRNA 的表达
Figure 1 The expression of Tespa1 mRNA

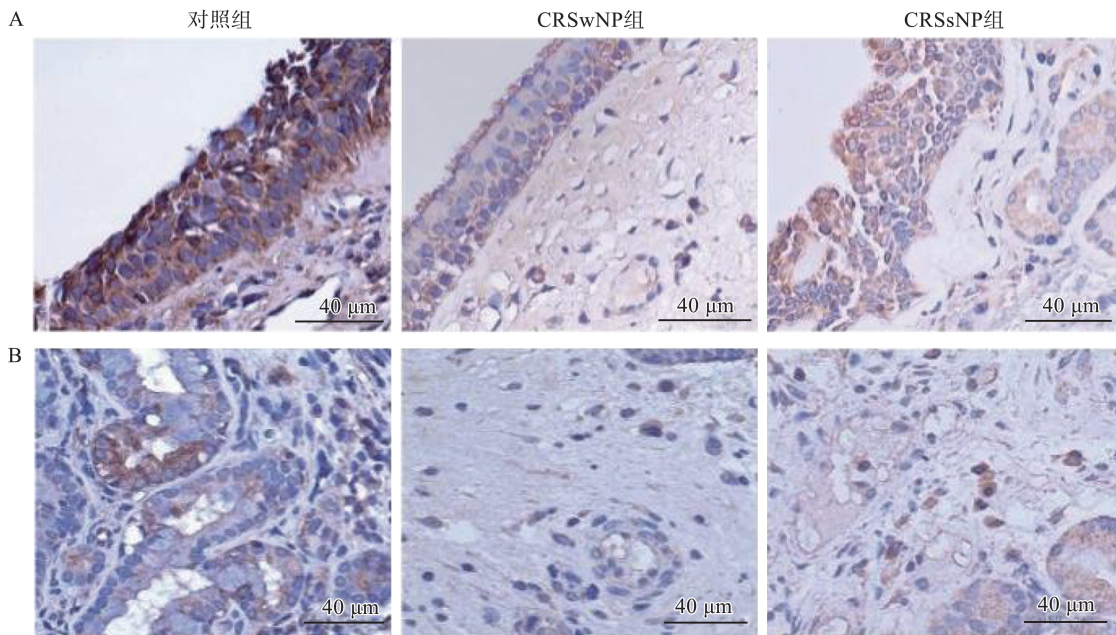


图 2 3 组样本 IHC 结果
A: 3 组样本上皮细胞内的 Tespa1 阳性细胞; B: 3 组样本间质及腺体的 Tespa1 阳性细胞

Figure 2 IHC results of three sample groups

A: Tespa1 positive cells in epithelial cells of 3 sample groups; B: Tespa1 positive cells in the interstitium and glands of three sample groups

对 3 组样本进行了 Tespa1 免疫组化染色, 各组均可见到 Tespa1 阳性细胞, 对照组 (18 例)、CRSwNP (29 例) 及 CRSsNP (14 例) 阳性细胞数占比分别为 5.29% (2.08%, 8.12%)、1.72% (0.73%, 4.43%)、2.25% (0.91%, 3.55%)。对照组 Tespa1 表达明显高于 CRSwNP ($Z = 2.88, P = 0.012$), 对照组表达高于 CRSsNP, 但差异无统计学意义 ($Z = 2.28, P = 0.068$)。Tespa1 阳性细胞在间质、上皮 (如纤毛细胞) 及腺体中均有表达。见图 3。

ELISA 结果回报, 3 组血清 Tespa1 表达水平差异无统计学意义, 组织中 Tespa1 在对照组、CRSwNP 及 CRSsNP 中, 分别为 (197.93 ± 48.65) pg/mL、(125.82 ± 69.17) pg/mL 及 (165.66 ± 81.83) pg/mL, CRSwNP 组与对照组相比差异有统计学意义

($t = 3.59, P = 0.016$), 其余组间对比差异无统计学意义。各组间组织 Tespa1 的表达水平明显高于血清表达水平。见图 4、表 2。

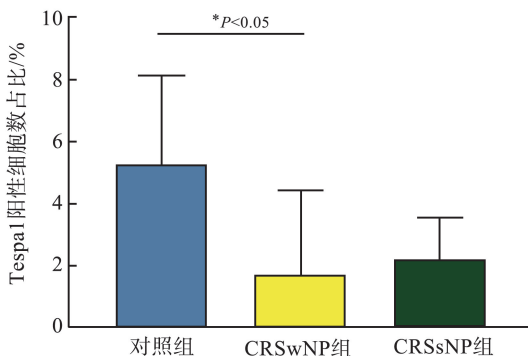


图 3 Tespa1 免疫组化结果
Figure 3 Tespa1 IHC results

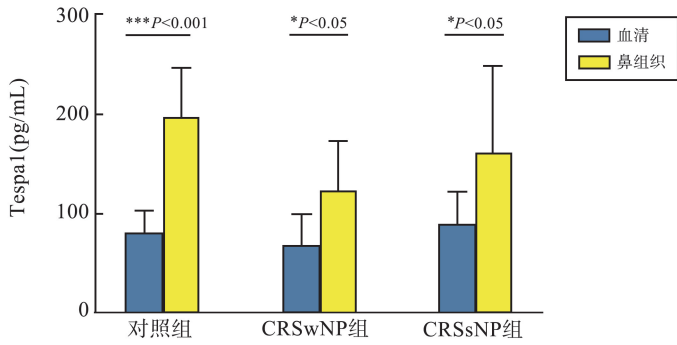


图 4 Tespal 在血清及鼻组织中的表达差异
 Figure 4 Differences in the expression of Tespal in serum and nasal tissue

表 2 血清及鼻组织中 Tespal 表达

Table 2 Tespal expression in serum and nasal tissue

项目	对照组	CRSwNP 组	CRSsNP 组	H/F	P
血清 (pg/mL)	89.22 (73.58, 115.63)	83.58 (49.72, 119.55)	84.96 (45.02, 106.17)	1.761	0.415
鼻组织 (pg/mL)	197.93±48.65	125.82±69.17	165.66±81.83	3.529	0.04

2.3 肥大细胞 IHC 结果

对照组、CRSwNP 及 CRSsNP 胰蛋白酶阳性肥大细胞分别是 (3.09±1.20) 个/HPF、(13.06±4.81) 个/HPF、(6.11±2.81) 个/HPF。CRSwNP 与对照组、CRSsNP 组相比,胰蛋白酶阳性肥大细胞数显著升高($t=10.14, P<0.001$; $t=6.64, P<0.001$),但 CRSs-

NP 组与对照组相比差异不显著($t=2.68, P=0.157$)。同时 ECRSwNP 与 non-ECRSwNP 组之间表达亦无明显差异。对照组、CRSsNP 组及 non-ECRSwNP 组中胰蛋白酶阳性肥大细胞主要在间质和上皮中表达。而在 ECRSwNP 组中,上皮区域的胰蛋白酶阳性细胞表达丰富。见图 5。

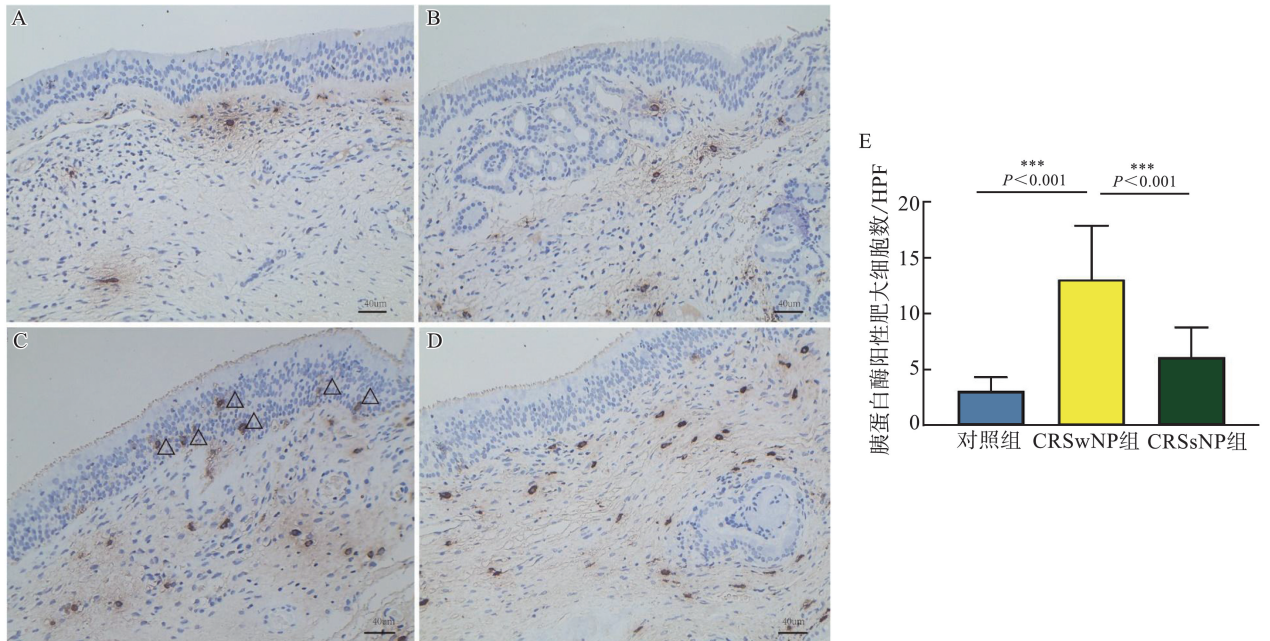


图 5 胰蛋白酶 IHC 结果 (△:胰蛋白酶阳性肥大细胞在 ECRSwNP 上皮层表达显著增加)

A:对照组; B:CRSsNP 组; C:ECRSwNP 组; D:non-ECRSwNP 组; E:高倍镜视野下胰蛋白酶阳性肥大细胞数的表达差异

Figure 5 Tryptase IHC results (△: Significant increase in expression of tryptase-positive mast cells in the epithelial layer of ECRSwNP)

A: Control group; B: CRSsNP group; C: ECRSwNP group; D: Non-ECRSwNP group; E: Expression differences in the number of tryptase-positive mast cells under high-power field

2.4 IgE、IL-4、IL-13 在鼻组织中检测的 ELISA 结果

IgE、IL-4、IL-13 在鼻组织中检测的 ELISA 结果显示,与对照组相比,CRSwNP 组 IgE 水平高于对照组 ($Z = -2.536, P = 0.034$),两组 IgE 水平分别为 25.922 (23.202, 29.862) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 32.921 (26.448, 48.296) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。余各组组间差异无统计学意义。CRSwNP 组内比较,ECRSwNP 与 non-ECRSwNP 之间有统计学意义差异 ($Z = -2.78, P = 0.004$),分别为

45.479 (32.552, 90.453) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、27.164 (24.808, 33.006) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。由于组织样本有限,我们仅对 CRSwNP 组进行了 IL-4、IL-13 的检测。IL-4 在 ECRSwNP 组及 non-ECRSwNP 组分别为 (18.314 \pm 2.866) pg/mL 、(13.719 \pm 5.193) pg/mL , $t = 2.32, P = 0.034$ 。IL-13 在两组内分别为 (14.432 \pm 2.599) pg/mL 、(11.042 \pm 2.883) pg/mL , $t = 2.61, P = 0.019$ 。见图 6、表 3。

表 3 CRSwNP 患者鼻息肉组织炎症介质表达

Table 3 Expression of inflammatory mediators in the tissue of nasal polyps from patients with CRSwNP

项目	ECRSwNP 组	Non-ECRSwNP 组	Z/t	P
IgE ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	45.479 (32.552, 90.453)	27.164 (24.808, 33.006)	-2.78	0.004
IL-4 (pg/mL)	18.314 \pm 2.866	13.719 \pm 5.193	2.32	0.034
IL-13 (pg/mL)	14.432 \pm 2.599	11.042 \pm 2.883	2.61	0.019

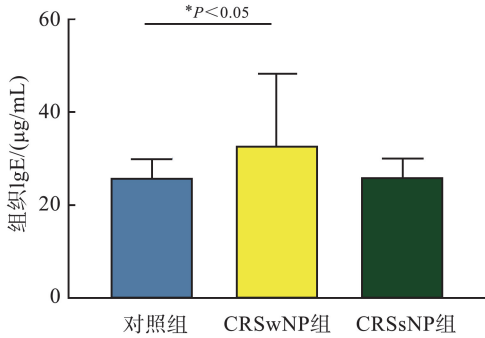


图 6 鼻组织 IgE 表达差异
Figure 6 Differences in IgE expression in nasal tissue

2.5 Tespa1 的表达水平与炎症细胞及炎症介质的相关性分析

Tespa1 的表达水平与炎症细胞及炎症介质的相关性分析如图 7。鼻息肉中 Tespa1 阳性细胞数与胰蛋白酶阳性肥大细胞数/HPF 呈中度相关 ($r = -0.710, P = 0.006$),与嗜酸性粒细胞数/HPF 相关性较弱。鼻息肉中 Tespa1 的表达水平与 IgE ($r = -0.682, P = 0.002$)、IL-4 ($r = -0.691, P = 0.002$) 及 IL-13 ($r = -0.539, P = 0.021$) 的表达水平呈负相关。

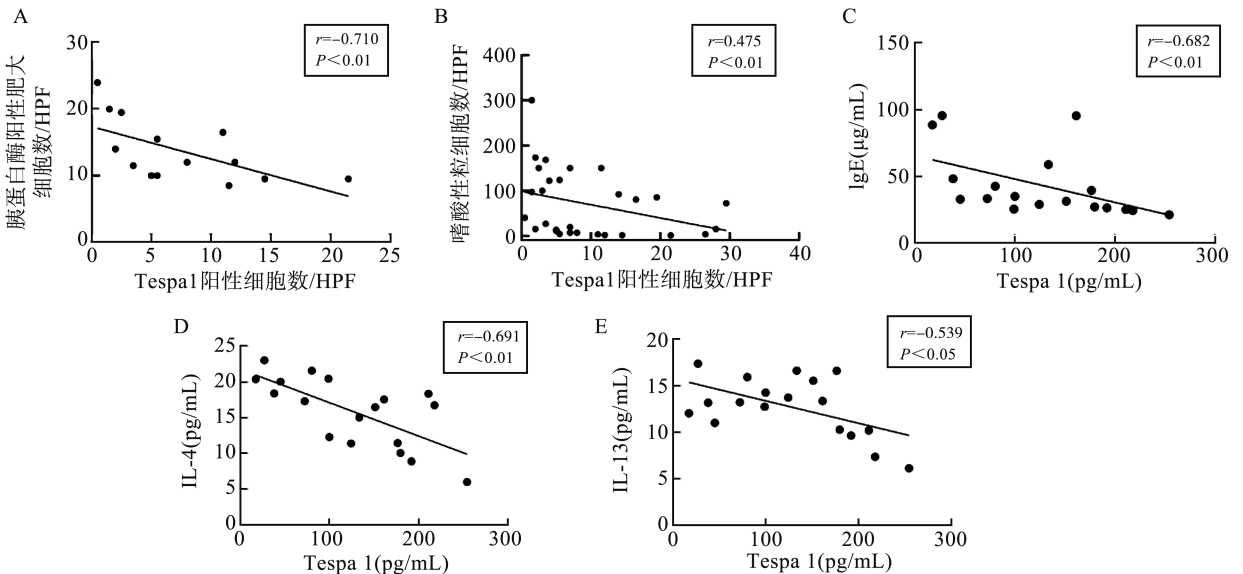


图 7 鼻息肉中 Tespa1 与炎症细胞及炎症介质相关性分析
A: Tespa1 阳性细胞数与胰蛋白酶阳性肥大细胞数呈负相关; B: Tespa1 阳性细胞数与嗜酸性粒细胞计数呈负相关(相关性弱); C: Tespa1 与 IgE 表达水平呈负相关; D: Tespa1 与 IL-4 表达水平呈负相关; E: Tespa1 与 IL-13 表达水平呈负相关
Figure 7 Analysis of the correlation between Tespa1 and inflammatory cells and inflammatory mediators in nasal polyps
A: Negative correlation between the number of Tespa1-positive cells and the number of trypsin-positive mast cells; B: Weak negative correlation between the number of Tespa1-positive cells and eosinophil count; C: Negative correlation between Tespa1 and IgE expression levels; D: Negative correlation between Tespa1 and IL-4 expression levels; E: Negative correlation between Tespa1 and IL-13 expression levels

3 讨论

大量的研究证据表明,肥大细胞在 CRSwNP 的发病机制中发挥至关重要的作用,尤其是在 ECRSwNP 中,可观察到 IgE 和 FcεRI 阳性的肥大细胞显著增多^[13-17],但目前对 CRSwNP 相关的肥大细胞免疫调节机制尚不明晰。Tesp1 表达于肥大细胞中,通过负调节 FcεRI 介导的肥大细胞活化,以调节免疫应答^[8],但目前尚无文献报道 Tesp1 在 CRSwNP 中的表达水平。在本研究中,我们试图评估 Tesp1 和 CRSwNP 的表达可能的关系,并着重于探讨 Tesp1 对于 CRSwNP 的功能影响是否是通过肥大细胞免疫反应的调节所实现的。

既往研究发现,CRSwNP 与 CRSsNP 在细胞因子谱、细胞外基质重塑和炎症反应类型方面均存在明显差异^[18]。本研究中 Tesp1 mRNA 在 CRSwNP 组中表达低于 CRSsNP 组,而 CRSsNP 组与对照组比较表达没有明显差异。这可能提示鼻息肉的形成与 Tesp1 的表达水平密切相关。为了明确 Tesp1 与嗜酸性粒细胞的关系,我们将 CRSwNP 组分为嗜酸性及非嗜酸性,然而在两组之间 Tesp1 的表达无显著差异。这种现象可能与不同严重程度的 ECRSwNP 患者之间 Tesp1 表达存在差异有关。由于我们并未对不同嗜酸性粒细胞浸润程度进行分层采样,所以未来需要进一步深入研究以探究这一问题。为了明确 Tesp1 在鼻腔黏膜及鼻息肉中的分布,我们结合 HPA 数据库,初步进行了免疫组化分析,结果表明 Tesp1 阳性免疫反应在各组织层中均有表达。由于 Tesp1 不仅参与了肥大细胞的活化,还在 T 细胞的发育成熟以及 B 细胞的增殖和功能调节中发挥重要作用^[19],因此,为明确 Tesp1+肥大细胞在鼻息肉组织中的分布,需行双免疫光染色或流式细胞术等进一步检测。此外,通过分析 BioGPS 数据库发现 Tesp1 也在血液中表达,虽然血清中 Tesp1 ELISA 结果显示 3 组 Tesp1 表达无显著差异,但我们观察到 3 组组织中 Tesp1 的水平高于血清的,这可能与局部炎症或组织损伤有关,导致 Tesp1 从局部组织进入循环系统。

曾经嗜酸性炎症一直被认为是 CRSwNP 的主要疾病特征,最近肥大细胞也被证明在 CRSwNP 中发挥作用^[15,20]。呼吸道中的肥大细胞分为上皮肥大细胞和上皮下肥大细胞,这些亚型有助于激活嗜酸性粒细胞^[2,21]。鉴于肥大细胞在 CRSwNP 的形成中所起的作用,我们探讨了肥大细胞在鼻息肉中的表达以及其与 Tesp1 的相关性。胰蛋白酶是肥

大细胞激活的标志^[22],IHC 结果表明胰蛋白酶阳性肥大细胞在 CRSwNP 中表达显著增加,且胰蛋白酶阳性肥大细胞在 ECRSwNP 的息肉上皮中有表达。这与 Baba^[15]和 Takabayashi 等^[23]的研究相似,其研究发现在嗜酸性鼻息肉中肥大细胞的浸润主要集中在上皮和腺体,而在非 ECRS 息肉中肥大细胞的浸润主要集中在黏膜下层。研究表明嗜酸性粒细胞与 MC 联系紧密,二者都起源于骨髓中的 CD34+造血干细胞^[24],本研究鼻息肉中 Tesp1 与嗜酸性粒细胞的弱相关关系提示了两者之间可能以间接的方式相互影响,如肥大细胞。而 Tesp1 阳性细胞数与胰蛋白酶阳性细胞数/HPF 负相关关系,也提示了 Tesp1 和肥大细胞之间的相互作用可能是控制 CRSwNP 免疫调节中的关键因素之一,这可能为未来开发相关治疗药物提供新的思路和方法,最终促进 CRSwNP 患者的诊断和治疗发展。

为了探究 Tesp1 与炎症介质的关系,我们检测了血清及组织中的 IgE、IL-4 及 IL-13 的变化。我们发现血清中 IgE 没有显著差异,与此前的研究结果相似,即鼻息肉组织中 IgE 水平可能与血清中无关^[25-26]。与系统性特应性疾病相比,鼻息肉局部的 IgE 是多克隆的具有功能性^[27-28],其由低水平的不同 IgE 抗体组成,这些抗体加在一起无法充分激活肥大细胞引发过敏反应,但是其可通过持续低水平肥大细胞激活来触发 2 型炎症介质的释放^[29]。通过检测 3 组患者组织 IgE 表达差异,也证实了该点。此前的研究表明 IL-4 及 IL-13 在肥大细胞的增殖和功能维持中发挥重要作用^[18,30],本试验发现鼻息肉组中 ECRSwNP 组 IL-4 及 IL-13 表达水平均显著增加。相关性分析显示组织中 Tesp1 水平与组织 IgE、IL-4、IL-13 呈负相关,并且其与 Ig-E、IL-4 的相关性更强。我们的结果在先前报道中得到了证实, Tesp1-/-小鼠模型 IL-4 和 IL-13 的表达增加,且 p-STAT6 与 Tesp1 呈负相关^[9]。我们推测可是 Tesp1 负调控 FcεRI 介导的肥大细胞活化,当鼻息肉组织中 Tesp1 表达下调时,可能增加了炎症介质 IL-4、IL-13 的产生,但具体的机制还需要进一步研究。

综上所述, Tesp1 在 CRSwNP 患者鼻息肉组织中低表达,与 IgE、IL-4 及 IL-13 表达水平负相关,并可能通过肥大细胞发挥作用。本研究为理解 CRSwNP 的病理机制提供了新的视角,并可能为未来的诊断和治疗提供新的分子靶标。但在鼻息肉中 Tesp1 对肥大细胞免疫调节的具体机制仍待探究,①需要通过来自鼻息肉纯化的肥大细胞进行体外培养、对胰蛋白酶及 Tesp1 双免疫荧光染色等实验

技术,深入研究 *Tespa1* 通过肥大细胞来影响 CRSwNP 的发生发展具体机制;②需要通过基因敲除、体内试验等来验证 *Tespa1* 的缺失或减少可能会导致 CRSwNP 加重。

参考文献:

- [1] Kim DH, Han JS, Kim GJ, et al. Clinical predictors of polyps recurring in patients with chronic rhinosinusitis and nasal polyps: a systematic review and meta-analysis[J]. *Rhinology*, 2023, 61(6): 482-497. doi:10.4193/Rhin23.136
- [2] Wahid NW, Smith R, Clark A, et al. The socioeconomic cost of chronic rhinosinusitis study[J]. *Rhinology*, 2020, 58(2): 112-125. doi:10.4193/Rhin19.424
- [3] Hwee J, Lee L, Small M, et al. The chronic rhinosinusitis with nasal polyp patient journey in the United States and Europe[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2024, 20(1): 17. doi:10.1186/s13223-024-00879-7
- [4] 姚爽, 娄鸿飞. 慢性鼻窦炎的内在型研究进展及精准医疗[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2022, 36(3): 20-29, 49. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.561
YAO Shuang, LOU Hongfei. Advances in endotypes and precision medicine in chronic rhinosinusitis[J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2022, 36(3): 20-29, 49. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.561
- [5] Dwyer DF, Ordovas-Montanes J, Allon SJ, et al. Human airway mast cells proliferate and acquire distinct inflammation-driven phenotypes during type 2 inflammation[J]. *Sci Immunol*, 2021, 6(56): eabb7221. doi:10.1126/sciimmunol.abb7221
- [6] Wang D, Zheng MZ, Lei L, et al. *Tespa1* is involved in late thymocyte development through the regulation of TCR-mediated signaling [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(6): 560-568. doi:10.1038/ni.2301
- [7] Liang JJ, Lyu J, Zhao M, et al. *Tespa1* regulates T cell receptor-induced calcium signals by recruiting inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15732. doi:10.1038/ncomms15732
- [8] Wang D, Zheng MZ, Qiu YJ, et al. *Tespa1* negatively regulates FcεRI-mediated signaling and the mast cell-mediated allergic response[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(13): 2635-2649. doi:10.1084/jem.20140470
- [9] Yang RH, Wang GL, Li LY, et al. *Tespa1* plays a role in the modulation of airway hyperreactivity through the IL-4/STAT6 pathway[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 444. doi:10.1186/s12967-020-02621-4
- [10] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 54(2): 81-100. doi:10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2019.02.001
Subspecialty Group of Rhinology, Editorial Board of Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery; Subspecialty Group of Rhinology, Society of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Chinese-Medical Association. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of chronic rhinosinusitis (2018) [J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2019, 54(2): 81-100. doi:10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2019.02.001
- [11] Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2020[J]. *Rhinology*, 2020, 58(Suppl S29): 1-464. doi:10.4193/Rhin20.600
- [12] Cao PP, Li HB, Wang BF, et al. Distinct immunopathologic characteristics of various types of chronic rhinosinusitis in adult Chinese [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124(3): 478-484, 484.1, 484.2. doi:10.1016/j.jaci.2009.05.017
- [13] Dar SA, Rai G, Ansari MA, et al. FcεR1α gene polymorphism shows association with high IgE and anti-FcεR1α in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(5): 4142-4149. doi:10.1002/jcb.26619
- [14] Scheerens H, Smith A, Li O, et al. Elevated IgE M1 prime transcripts in nasal tissues in patients with nasal polyps and asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(2): 805-807. doi:10.1016/j.jaci.2018.10.011
- [15] Baba S, Kondo K, Suzukawa M, et al. Distribution, subtype population, and IgE positivity of mast cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2017, 119(2): 120-128. doi:10.1016/j.anai.2017.05.019
- [16] Zhai GT, Li JX, Zhang XH, et al. Increased accumulation of CD30 ligand-positive mast cells associates with eosinophilic inflammation in nasal polyps [J]. *Laryngoscope*, 2019, 129(3): 110-117. doi:10.1002/lary.27658
- [17] Gion Y, Okano M, Koyama T, et al. Clinical significance of cytoplasmic IgE-positive mast cells in eosinophilic chronic rhinosinusitis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1843. doi:10.3390/ijms21051843
- [18] Ordovas-Montanes J, Dwyer DF, Nyquist SK, et al. Allergic inflammatory memory in human respiratory epithelial progenitor cells [J]. *Nature*, 2018, 560(7720): 649-654. doi:10.1038/s41586-018-0449-8
- [19] Yao YL, Huang W, Li XY, et al. *Tespa1* deficiency dampens Thymus-dependent B-cell activation and attenuates collagen-induced arthritis in mice[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 965. doi:10.3389/fimmu.2018.00965
- [20] Gelardi M, Giancaspro R, Duda L, et al. Eosinophil-mast cell pattern of intraepithelial infiltration as a marker of severity in CRSwNP [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12101. doi:10.1038/s41598-023-39149-8