

· 论著 ·

突发性耳聋患者 HMGB1 和 ENA-78 含量在治疗前后变化的意义

牛善利 黄友敏 周永勤 华敏

【摘要】 目的 探讨突发性耳聋患者血清高迁移率蛋白-1(HMGB1)和中性粒细胞激活肽-78(ENA-78)的含量变化,及其在突发性耳聋发生过程中的作用和意义。方法 采用酶联免疫(ELISA)法检测血清 HMGB1 和 ENA-78 含量;检测 102 例突发性耳聋患者、35 例其他疾病对照组和 30 例健康对照组的血清 HMGB1 和 ENA-78 含量,并比较治疗前后血清 HMGB1 和 ENA-78 的测定结果。结果 突发性耳聋患者治疗前血清 HMGB1 和 ENA-78 含量较两对照组显著升高($P < 0.01$);治疗后患者 HMGB1 和 ENA-78 含量明显降低。同时重度组突发性耳聋患者血清 HMGB1 和 ENA-78 浓度明显高于中、轻度组,中度组患者明显高于轻度组,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。突发性耳聋患者血清 HMGB1 和 ENA-78 含量之间呈正相关($r = 0.68, P < 0.01$)。结论 血清 HMGB1 和 ENA-78 水平的变化与突发性耳聋病情严重程度密切相关。

【关键词】 听觉丧失,突发性; 高迁移率族蛋白质类; 趋化因子 CXCL5

Determination of serum HMGB1 and ENA-78 in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss and its clinical significance NIU Shan-li, HUANG You-min, ZHOU Yong-qin, HUA Min. The Central People's Hospital of Tengzhou, Shandong 277500, China

Corresponding author: HUANG You-min, Email: hymhkk@126.com

【Abstract】 Objective To study the role and clinical significance of serum high mobility group box -1(HMGB1) and epithelial neutrophil-activating peptide-78(ENA-78) in idiopathic sudden sensorineural hearing loss by measuring the change of their levels in the patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss. **Methods** The levels HMGB1 and ENA-78 were determined by ELISA method in the 102 idiopathic sudden sensorineural hearing loss patients who were observed at two different time points :before and after treatment, and thirty-five patients with other neurologic diseases (20 with sciatica, 16 with trigeminal neuralgia) and thirty healthy people were used as control. **Results** The levels HMGB1 and ENA-78 in serum of patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss were markedly higher than those in the two control groups ($P < 0.01$); The levels of HMGB1 and ENA-78 in the idiopathic sudden sensorineural hearing loss group after treatment were significantly less than that before treatment ($P < 0.01$). There was a correlation between HMGB1 and ENA-78 in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss ($r = 0.68, P < 0.01$)

Conclusions The levels of serum HMGB1 and ENA-78 have instructive significance in idiopathic sudden sensorineural hearing loss treating and prognosis estimating.

【Key words】 Hearing loss, sudden; High mobility group proteins; Chemokine CXCL5

突发性耳聋是临床常见病,目前呈增加趋势;其病因复杂,其中炎症反应和血管内皮功能的紊乱^[1]是其发病的原因之一。高迁移率蛋白-1(HMGB1)是近年发现的一种重要的炎症介质,与组织损伤后修复,炎症反应等方面关系密切^[2]。上皮细胞来源的中性粒细胞激活肽-78(ENA-78)属于 C-X-C 亚组的趋化因子,具有趋化和激活中性粒细胞作用,是炎症反应的重要介质,同时具有调节血管生成因子的活性^[3]。为进一步探讨突发性耳聋发生发展的病理机制以及 HMGB1 和 ENA-78 在治疗突发性耳聋过程中的变化特点,我们对突发性耳聋患者治疗前后体内 HMGB1 和 ENA-78 含量的变化进行了相关研究。

资料与方法

1. 一般资料:2008年6月至2010年11月收住院患者102例(108耳),能进行完整资料分析,突发性耳聋的诊断参照中华医学会的标准(2005年,济南)^[4]。检查的项目有:纯音测听;内听道螺旋CT平扫或MRI,以排除听神经瘤及其他占位性病变;声阻抗检查评估咽鼓管的功能状况和排除中耳病变;颈部CT或X线摄片;经颅彩色多普勒超声(TCD)评估颅内供血状况等。其中左耳48例,右耳48例,双耳6例;年龄(46.8±3.2)岁,病程平均(12.2±1.3)d。伴有耳鸣68例,眩晕44例。住院后,同时对各项异常检查进行分类统计。依据患者的纯音听阈曲线(以语音频率0.5~2.0 kHz的听力分贝数进行判断),将患者分为轻度耳聋(30~50 dB)36例,中度(51~70 dB)34例,重度(>70 dB)32例,三组中患者年龄、性别等差异无统计学意义($P>0.05$)。其他疾病对照组:为同期本院门诊和住院的非心、脑血管疾病患者36例,其中坐骨神经痛20例,三叉神经痛16例。平均年龄(46.1±3.7)岁。健康对照组:为同期本院健康体检人员30例,平均年龄(46.7±3.6)岁。以上各组同时剔除严重肝、肾功能不全及各种急慢性感染性疾病,无肥胖、高血压、冠心病、糖尿病、甲状腺功能异常、肿瘤等病史。各组年龄、性别等差异无统计学意义($P>0.05$)。

2. 试验方法:所有突发性耳聋患者在治疗前和治疗后分别采集空腹静脉血5 ml,3000 r/min离心10 min分离血清,置-70℃冰箱备用。突发性耳聋患者药物治疗包括血管扩张剂、能量合剂、皮质激素、B族维生素等,具体治疗方案为:泼尼松20 mg,每晨起口服,共7 d; VitB12 500 mg 静脉滴注每日1次,共10 d;胞二磷胆碱0.5 g及能量合剂(ATP 40 mg,辅酶A 100 U, VitB6 0.3 g)静脉滴注,每日1次,共10 d;川芎嗪100 mg 静脉滴注,每日1次,共10 d;所有患者治疗方案相同。同时对照组采集相同血液备存待查。

HMGB1和ENA-78采用酶联免疫吸附(ELISA)双抗体夹心法测定,试剂均购自美国R&D公司。测定采用意大利ALISEI全自动酶标仪,操作按试剂盒说明书进行,所有样品设立复孔,均在同一批内检测。

3. 统计学处理:采用SPSS 10.0 统计分析软件分析试验数据,结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组之间比较采用 t 检验;HMGB1和ENA-78之间的相关性采用直线相关分析。

结 果

1. 突发性耳聋患者血清HMGB1和ENA-78含量变化:治疗后突发性耳聋患者血清HMGB1($t=17.25, P<0.01$)和ENA-78($t=15.16, P<0.01$)含量均较治疗前明显降低,但治疗后较其他疾病对照组(治疗前)(HMGB1: $t=10.38, P<0.01$;ENA-78: $t=10.41, P<0.01$)及健康对照组(HMGB1: $t=12.16, P<0.01$;ENA-78: $t=15.06, P<0.01$)高,见表1。直线相关分析发现,突发性耳聋患者血清中HMGB1和ENA-78呈正相关($r=0.68, P<0.01$)。治疗前突发性耳聋患者纯音听阈值与血清HMGB1和ENA-78含量呈正相关(纯音听阈值与HMGB1: $r=0.71, P<0.01$;纯音听阈值与ENA-78: $r=0.63, P<0.01$)。

2. 不同纯音听阈值突发性耳聋患者血清HMGB1和ENA-78含量比较:突发性聋患者轻、中、重三组之间HMGB1和ENA-78的含量差异有统计学意义,重度组含量高于中度组(HMGB1: $t=11.21, P<0.01$;ENA-78: $t=11.17, P<0.01$),中度组高于轻度组(HMGB1: $t=10.43, P<0.01$;ENA-78: $t=10.49, P<0.01$);突发性耳聋患者轻、中、重三组之间纯音听阈值差异有统计学意义,重度组含量高于中度组($t=10.52, P<0.01$),中度组高于轻度组($t=11.36, P<0.01$),见表2。

表1 治疗前后突发性耳聋患者血清HMGB1和ENA-78含量与对照组比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 (mg/L)	ENA-78 (ng/L)	纯音听阈值 (dB)
治疗组 治疗前	102	3.42 ± 0.17 ^{abc}	187.43 ± 16.19 ^{abc}	65.37 ± 11.24 ^a
治疗组 治疗后	102	2.26 ± 0.17 ^{bc}	96.65 ± 14.26 ^{bc}	52.82 ± 10.31
其他疾病对照组	36	1.67 ± 0.14 ^a	74.75 ± 12.14 ^a	-
健康对照组	30	0.86 ± 0.12	63.75 ± 12.14	-

注:与治疗后比较,^a $P<0.01$;与其他疾病对照组比较,^b $P<0.01$;与健康对照组比较,^c $P<0.01$

表2 突发性耳聋患者纯音听阈值与血清 HMGB1 和 ENA-78 含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HMGB1 (mg/L)	ENA-78 (ng/L)	纯音听阈值 (dB)
轻度组	36	2.31 ± 0.17	97.48 ± 13.82	43.47 ± 10.52
中度组	34	2.92 ± 0.17 ^a	145.34 ± 13.95 ^a	61.72 ± 12.41 ^a
重度组	32	3.85 ± 0.18 ^{ab}	232.17 ± 13.92 ^{ab}	78.35 ± 13.25 ^{ab}

注:与轻度比较,^a $P < 0.01$;与中度比较,^b $P < 0.01$

讨 论

HMGB1 是一种 DNA 结合蛋白,也是迄今为止所发现的惟一的能在细胞外诱导细胞因子分泌和活化炎症细胞的核内蛋白^[5]。HMGB1 的产生和发挥作用较 TNF- α 和 IL-1 等早期炎症因子晚,且持续时间较长,故又有“晚期炎症介质”之称^[6]。研究证实 HMGB1 作为一种重要的炎症介质和致炎细胞因子^[7],是启动和维持炎症瀑布式反应的中心分子,与脓毒症、关节炎、动脉硬化等发病机制关系密切、在致炎因子 TNF- α 或 IL-1 的刺激下,单核-巨噬细胞释放 HMGB1,反过来 HMGB1 也可以刺激单核-巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-8 等炎症介质,这样就形成了一个正反馈环路。HMGB1 还可以刺激中性粒细胞产生趋化现象,增加上皮细胞的通透性,从而加重局部渗出和水肿,还可能参与炎症过程中免疫和内分泌反应的调节^[8]。本研究中突发性耳聋患者 HMGB1 含量明显高于对照组也证明了这一点。

内皮细胞激活是炎症细胞聚集和迁移进入组织的前提条件。研究证实 HMGB1 可特征性的上调白细胞黏附分子(ICAM-1 和 VCAM-1),分泌中性粒细胞和内皮细胞趋化素(IL-8 和 MCP-1),表达促炎细胞因子(TNF- α)并且增加 RAGE 的表达(HMGB1 的受体)^[9];这样, HMGB1 激活了为白细胞穿过活化的内皮细胞募集、黏附和迁移并且可能进入炎症病灶的整套的底物成分。同时 HMGB1 还可导致促炎细胞因子(TNF- α)在 HMEC-1 的分泌^[10],而 TNF- α 是关键性的早期炎症介质,起着调节和放大炎症反应的作用;TNF- α 的局部表达放大了 HMGB1 对内皮细胞的促炎效应。本研究中突发性耳聋患者 HMGB1 含量均有不同程度升高也说明了患者存在炎症反应,同时血清 HMGB1 浓度变化在某种程度上体现了机体对耳部炎症刺激的反应能力。

ENA-78 由 78 个氨基酸组成^[11],结构上与 IL-8 相似,同属于 C-X-C 亚族的趋化因子,最初从人类肺 II 型肺泡上皮细胞中分离出来,并被认为是上皮细胞专有的产物,后来发现它可在各种炎性介质的诱导下表达,包括脂多糖(LPS)、IL-1、TNF- α 等。ENA-78 可由单核细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等合成和释放,主要来源为活化的巨噬细胞^[12]。ENA-78 具有趋化和激活中性粒细胞作用,是炎症反应的重要介质;还是重要的血管增生因子^[13]。ENA-78、IL-8 与细胞表面特异性受体 CXCR2 结合,上调黏附分子 E 选择蛋白和 CD11b/CD18(Mac 1)的表达,促进白细胞附壁以及从毛细血管及微静脉渗出,延迟中性粒细胞的凋亡,刺激白细胞分泌生长因子与细胞因子^[14]。

引起突发性耳聋的各种炎症因素可诱导体内组织异常的 ENA-78 表达和活化,使白细胞黏附内皮细胞,继而血管上皮遭破坏,炎性细胞侵入受伤组织。尤其是 ENA-78 活性增加,与微血管通透性、炎性细胞侵入和水肿明显相关^[15]。本研究中突发性耳聋患者 ENA-78 值均有不同程度升高,在某种程度上反映了机体对耳部缺氧刺激的反应能力。同时突发性耳聋患者治疗后 ENA-78 含量降低,提示 ENA-78 水平的变化可从一定程度上反映突发性耳聋患者的治疗效果,对指导临床医师诊治有重要意义。

同时我们还发现 HMGB1 和 ENA-78、纯音听阈值之间存在很高的相关性,一方面证实 HMGB1 和 ENA-78 一样可作为炎症标记物;另一个方面也证实 HMGB1 和 ENA-78 一样可作为突发性耳聋患者疗效观察的指标。探讨突发性耳聋的触发机制及个体的反应性将为突发性耳聋的治疗和预防开辟一条新途径,并在突发性耳聋的预测及预防治疗中具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Castro Junior NP, Almeida CI, Campos CA. Sudden sensorineural hearing loss and vertigo associated with arterial occlusive disease: three case

- reports and literature review. Sao Paulo Med J, 2007, 125 (3) :191-195.
- [2] Angus DC, Yang L, Kong L, et al. Circulating high-mobility group box 1 (HMGB1) concentrations are elevated in both uncomplicated pneumonia and pneumonia with severe sepsis. Crit Care Med, 2007, 35(4) :1061-1067.
- [3] Duchene J, Lecomte F, Ahmed S, et al. A novel inflammatory pathway involved in leukocyte recruitment: role for the kinin B1 receptor and the chemokine CXCL5. J Immunol, 2007, 179(7) :4849-4856.
- [4] 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. 突发性聋的诊断和治疗指南(2005年, 济南). 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2006, 41(8) :569.
- [5] Dumitriu IE, Bianchi ME, Bacci M, et al. The secretion of HMGB1 is required for the migration of maturing dendritic cells. J Leukoc Biol, 2007, 81(1) :84-91.
- [6] Maeda S, Hikiba Y, Shibata W, et al. Essential roles of high-mobility group box 1 in the development of murine colitis and colitis-associated cancer. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 360(2) :394-400.
- [7] Inoue K, Kawahara K, Biswas KK, et al. HMGB1 expression by activated vascular smooth muscle cells in advanced human atherosclerosis plaques. Cardiovasc Pathol, 2007, 16(3) :136-143.
- [8] Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, et al. Effects of hyperglycemia and insulin therapy on high mobility group box 1 in endotoxin-induced acute lung injury in a rat model. Crit Care Med, 2008, 36(8) :2407-2413.
- [9] Song H, Feng Y, Hoeger S, et al. High mobility group box 1 and adenosine are both released by endothelial cells during hypothermic preservation. Clin Exp Immunol, 2008, 152(2) :311-319.
- [10] Hagiwara S, Iwasaka H, Togo K, et al. A neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, reduces lung injury following endotoxin-induced shock in rats by inhibiting HMGB1. Inflammation, 2008, 31(4) :227-234.
- [11] Liu GN, Shi HZ, Xie ZH, et al. Epithelial neutrophil-activating peptide-78 recruits neutrophils into pleural effusion. Eur Respir J, 2009, 34(1) :184-190.
- [12] Vasakova M, Sterclova M, Kolesar L, et al. Cytokine gene polymorphisms and BALF cytokine levels in interstitial lung diseases. Respir Med, 2009, 103(5) :773-779.
- [13] Frick VO, Rubie C, Wagner M, et al. Enhanced ENA-78 and IL-8 expression in patients with malignant pancreatic diseases. Pancreatology, 2008, 8(4/5) :488-497.
- [14] Bersinger NA, Frischknecht F, Taylor RN, et al. Basal and cytokine-stimulated production of epithelial neutrophil activating peptide-78 (ENA-78) and interleukin-8 (IL-8) by cultured human endometrial epithelial and stromal cells. Fert Steril, 2008, 89(5 Suppl) :1530-1536.
- [15] Antoniou KM, Tzanakis N, Tzortzaki EG, et al. Different angiogenic CXC chemokine levels in bronchoalveolar lavage fluid after interferon gamma-1b therapy in idiopathic pulmonary fibrosis patients. Pulm Pharmacol Ther, 2008, 21(6) :840-844.

(收稿日期:2010-11-04)

(本文编辑: 巨娟梅)

牛善利, 黄友敏, 周永勤, 等. 突发性耳聋患者 HMGB1 和 ENA-78 含量在治疗前后变化的意义[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(4) :1059-1062.