

• 论 著 •

外周血 CX3CL1、CCL5 与 AR 患者 NLRP3 mRNA 表达、IL-1β、IL-18 及 Treg/Th17 比值失衡的相关性及其诊断价值*

秦 雁,黄 婷,张志茂[△]

宜昌市中心人民医院/三峡大学第一临床医学院耳鼻喉科,湖北宜昌 443003

摘 要:**目的** 探讨外周血 C-X3-C 基序趋化因子配体 1(CX3CL1)、C-C 基序趋化因子配体 5(CCL5)与变应性鼻炎(AR)患者 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)mRNA 表达、白细胞介素(IL)-1β、IL-18 及调节性 T 细胞(Treg)/辅助性 T 细胞 17(Th17)比值失衡的相关性及其诊断价值。**方法** 选取 2023 年 1—10 月该院收治的 AR 患者 143 例作为 AR 组,另选取同期该院体检健康志愿者 143 例作为对照组。AR 组根据 AR 病情分为中重度 AR 组和轻度 AR 组。采用 Pearson、Spearman 相关性分析 AR 患者外周血 CX3CL1、CCL5 与 NLRP3 mRNA 表达、血清 IL-1β、IL-18 和 Treg、Th17、Treg/Th17 比值的相关性。单因素分析和多因素 Logistic 回归分析 AR 的影响因素,受试者工作特征(ROC)曲线分析外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值对 AR 的诊断价值。**结果** 与对照组比较,轻度 AR 组和中重度 AR 组外周血 CX3CL1、CCL5 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。中重度 AR 组 IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例和 NLRP3 mRNA 表达高于轻度 AR 组,Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值低于轻度 AR 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。CX3CL1、CCL5 与 IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例和 NLRP3 mRNA 表达呈正相关,与 Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值呈负相关($P<0.05$)。与对照组比较,AR 组 AR 家族史占比、总免疫球蛋白 E、居住或职业接触粉尘占比和 CX3CL1、CCL5、IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例及 NLRP3 mRNA 表达升高,Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,AR 家族史、居住或职业接触粉尘、NLRP3 mRNA、CX3CL1、CCL5 为 AR 发病的独立危险因素,Treg/Th17 比值为独立保护因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值四项联合诊断 AR 的曲线下面积为 0.945,大于外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值单独诊断的 0.808、0.790、0.800、0.797($Z=6.245、5.715、5.881、5.347,P<0.001$)。**结论** 外周血 CX3CL1、CCL5 水平升高与 AR 病情严重程度有关,二者可能通过调节 NLRP3 炎症小体和 Treg/Th17 比值失衡参与 AR 发生、发展,CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值联合检测对 AR 具有一定的诊断价值。

关键词:变应性鼻炎; C-X3-C 基序趋化因子配体 1; C-C 基序趋化因子配体 5; 白细胞介素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.13.004 **中图法分类号:**R765.21

文章编号:1673-4130(2025)13-1554-07 **文献标志码:**A

The correlation and diagnostic value of CX3CL1 and CCL5 in peripheral blood with NLRP3 mRNA expression, IL-1β, IL-18 and Treg/Th17 ratio imbalance in AR patients*

QIN Yan, HUANG Ting, ZHANG Zhimao[△]

Department of Otolaryngology, Yichang Central People's Hospital/the First Clinical School of Three Gorges University, Yichang, Hubei 443003, China

Abstract: Objective To investigate the correlation and diagnostic value of C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1) and C-C motif chemokine ligand 5 (CCL5) in peripheral blood with NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) mRNA expression, interleukin(IL)-1β, IL-18 and T regulatory cells (Treg)/T helper cells 17 (Th17) ratio imbalance in allergic rhinitis (AR) patients. **Methods** A total of 143 patients with AR admitted to the hospital from January to October 2023 were selected as the AR group, and another 143 healthy volunteers who underwent physical examinations in the hospital during the same period were selected as the control group. The AR group was divided into the moderate-to-severe AR group and the mild AR group according to the severity of AR. Pearson and Spearman correlation analyses were used to

* 基金项目:湖北省卫生健康委 2021—2022 年度卫生健康科研立项项目(WJ2021F0058)。
作者简介:秦雁,女,主治医师,主要从事鼻科及变态反应研究。 [△] 通信作者, E-mail:497062833qq.com。

analyze the correlations between the expressions of CX3CL1 and CCL5 in the peripheral blood of AR patients and NLRP3 mRNA, as well as serum IL-1 β , IL-18, Treg, Th17, and the ratio of Treg/Th17. Univariate analysis and multivariate Logistic regression were used to analyze the influencing factors of AR, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of peripheral blood CX3CL1, CCL5, NLRP3 mRNA, and the ratio of Treg/Th17 for AR. **Results** Compared with the control group, the levels of CX3CL1 and CCL5 in the peripheral blood of the mild AR group and the moderate to severe AR group increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The proportions of IL-1 β , IL-18, Th17 cells and the expression of NLRP3 mRNA in the moderate to severe AR group were higher than those in the mild AR group, while the proportion of Treg cells and the ratio of Treg/Th17 were lower than those in the mild AR group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). CX3CL1 and CCL5 were positively correlated with the proportions of IL-1 β , IL-18, Th17 cells and the expression of NLRP3 mRNA, and negatively correlated with the proportion of Treg cells and the ratio of Treg/Th17 ($P < 0.05$). Compared with the control group, the proportion of family history of AR, total immunoglobulin E, the proportion of dust exposure to residence or occupation, the proportions of CX3CL1, CCL5, IL-1 β , IL-18, Th17 cells and the expression of NLRP3 mRNA in the AR group increased, while the proportion of Treg cells and the ratio of Treg/Th17 decreased, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The results of multivariate Logistic regression analysis showed that family history of AR, exposure to dust in residence or occupation, NLRP3 mRNA, CX3CL1, and CCL5 were independent risk factors for the onset of AR, and the ratio of Treg/Th17 was an independent protective factor ($P < 0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the area under the curve of the four combined diagnoses of peripheral blood CX3CL1, CCL5, NLRP3 mRNA, and the ratio of Treg/Th17 for AR was 0.945. They were greater than 0.808, 0.790, 0.800, and 0.797 of CX3CL1, CCL5, NLRP3 mRNA, and the ratio of Treg/Th17 in peripheral blood diagnosed separately ($Z = 6.245, 5.715, 5.881, 5.347, P < 0.001$). **Conclusion** The elevated levels of CX3CL1 and CCL5 in peripheral blood are related to the severity of AR. Both may be involved in the occurrence and development of AR by regulating the NLRP3 inflammasome and the imbalance of the Treg/Th17 ratio. The combined detection of CX3CL1, CCL5, NLRP3 mRNA and the ratio of Treg/Th17 has certain diagnostic value for AR.

Key words: allergic rhinitis; C-X3-C motif chemokine ligand 1; C-C motif chemokine ligand 5; interleukin

变应性鼻炎(AR)是一种因个体暴露于过敏原后由过敏原特异性免疫球蛋白 E(IgE)介导的鼻黏膜非感染性慢性炎症性疾病,目前我国 AR 发病率呈逐年攀升趋势^[1-2]。AR 治疗包括环境控制、药物治疗、免疫治疗,环境控制难以在实际生活中避免,而一线药物也难以根治,特别是中重度 AR 患者,复发率较高;免疫治疗有适应证,部分患者无法采用免疫治疗,且治疗周期长,疗效缓慢^[3]。故探索 AR 发病机制具有积极意义。研究表明,NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体过度激活和调节性 T 细胞(Treg)/辅助性 T 细胞 17(Th17)比值失衡介导的炎症反应参与 AR 的发生、发展,白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 作为 NLRP3 炎症小体的下游因子在其中发挥重要作用^[4-5]。C-X3-C 基序趋化因子配体 1(CX3CL1)和 C-C 基序趋化因子配体 5(CCL5)是常见的趋化因子,能结合各自受体诱导免疫细胞迁移,从而影响 NLRP3 炎症小体和 Treg/Th17 比值平衡^[6-7]。ZHANG 等^[8]通过基因芯片观察发现,

CX3CL1、CCL5 的互补 DNA(cDNA)在 AR 样品芯片中高表达。本研究探讨外周血 CX3CL1、CCL5 与 AR 患者 NLRP3 mRNA 表达、IL-1 β 、IL-18 及 Treg/Th17 比值失衡的相关性及其诊断价值,旨在为 AR 的诊治提供更多科学依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2023 年 1—10 月本院收治的 AR 患者 143 例作为 AR 组,年龄 18~65 岁、平均(30.83 $\pm$ 6.09)岁,女 58 例、男 85 例。纳入标准:(1)临床资料完整;(2)年龄 18 岁以上;(3)符合《中国变应性鼻炎诊断和治疗指南(2022 年,修订版)》^[9]诊断标准。排除标准:(1)激素性鼻炎、萎缩性鼻炎、血管运动性鼻炎等其他鼻炎类型;(2)血液系统疾病;(3)妊娠期、哺乳期女性;(4)合并皮炎、炎症性肠病、红斑狼疮等其他自身免疫性疾病或炎症性疾病;(5)合并心、肝、肾等重要器官原发性损害;(6)哮喘、急性咽喉炎、急性扁桃体炎等;(7)糖尿病、高血压等慢性疾病;(8)恶性肿瘤、精神病;(9)既往鼻息肉手术等鼻部手

术史;(10)近 3 个月接受 AR 药物治疗。另选取同期本院体检健康志愿者 143 例作为对照组,年龄 20~62 岁、平均(30.86±6.54)岁,女 55 例、男 88 例。两组年龄、性别占比比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究方案经本院伦理委员会批准(批准号:2022-127-03)。

1.2 病情严重程度评价 AR 组根据 AR 病情分为中重度 AR 组和轻度 AR 组。中重度 AR:症状较重或严重,对生活质量产生明显影响;轻度 AR:症状轻微,对生活质量未产生明显影响^[9]。

1.3 方法

1.3.1 外周血 CX3CL1、CCL5、外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA 表达和血清 IL-1β、IL-18 检测 采集所有受检者外周血(AR 患者入组时采集,健康体检者于体检当日采集),均分置于 3 个干净试管内,取一份血液标本 3 000 r/min 离心(离心半径 15 cm)25 min 收集上层血清,保存至-80 ℃冰箱中。采用酶联免疫吸附试验法检测外周血 CX3CL1(上海信裕生物科技有限公司,货号:xy-E10192)、CCL5(上海吉泰依科赛生物科技有限公司,货号:EH038)和 IL-1β、IL-18(深圳海思安生物技术有限公司,货号:ab214025、ab215539)水平。

另取一份血液标本使用 Ficoll 外周血淋巴细胞分离液(北京索莱宝科技有限公司,货号:P8800)分离单个核细胞,洗涤后重悬于 RPMI-1640 培养基(武汉普诺赛生命科技有限公司,货号:PM150110P)中。加入总 RNA 提取试剂(北京简石生物技术有限公司,货号:TR205)提取总 RNA,逆转录试剂(北京兰博康斯科技有限公司,货号:k1622)逆转录为 cDNA。采用实时荧光定量聚合酶链式反应试剂(上海恒斐生物科技有限公司,货号:AB-4163/B)进行扩增, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算外周血单个核细胞中 NLRP3 mRNA 表达。反应体系:qPCR SYBR Green Master Mix 10 μL、上下游引物各 0.4 μL、cDNA 0.5 μL、超纯水 11.3 μL。反应程序:95 ℃ 30 s 1 次,95 ℃ 10 s、60 ℃ 30 s 40 次。NLRP3 正向引物 5'-CCAGGCAAGAGAGAGTT-GCTG-3',反向引物 5'-ATGGGCTTTCCACTGGT-GATG-3';内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶正向引物 5'-GTCGTATCCAGTGC GTGTCGTGG-3',反向引物 5'-AGTCGGCAATTGCACTGGATACGA-3'。

1.3.2 Treg/Th17 比值检测 剩余一管经磷酸盐缓冲盐溶液稀释后,加入异硫氰酸荧光素酯标记 CD4⁺ T 抗体(北京安诺伦生物科技有限公司,货号:100406)孵育 30 min。以异硫氰酸荧光素酯标记转化生长因子-β1(TGF-β1)、IL-17A(北京安诺伦生物科技有限公司,货号:300010、512304)避光孵育 20 min。采用流式细胞术(流式细胞仪购自美国 BD 公司,型

号:FACScanto II)检测外周血 Treg、Th17 细胞比例,并计算 Treg/Th17 比值。

1.3.3 收集临床资料 收集 AR 患者的临床资料包括年龄、性别(男性占比)、AR 家族史、总 IgE、是否饲养宠物、是否家中种植花草、是否居住或职业接触粉尘等。

1.4 统计学处理 采用 SPSS28.0 统计软件进行数据处理,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,行 t 检验,多组间比较行 F 检验;偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,行曼-惠特尼 U 检验。计数资料以例数和百分率比较,行 χ^2 检验;采用 Pearson、Spearman 相关性分析 AR 患者外周血 CX3CL1、CCL5 与 NLRP3 mRNA 表达、血清 IL-1β、IL-18 和 Treg、Th17、Treg/Th17 比值的相关性。采用多因素 Logistic 回归分析确定 AR 的影响因素,受试者工作特征(ROC)曲线分析外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值联合诊断 AR 的价值,以 De-long 检验组间曲线下面积(AUC)差异。检验水准设定为 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组外周血 CX3CL1、CCL5 比较 与对照组比较,轻度 AR 组和中重度 AR 组外周血 CX3CL1、CCL5 水平升高;中重度 AR 组外周血 CX3CL1、CCL5 水平高于轻度 AR 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 3 组外周血 CX3CL1、CCL5 比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	CX3CL1(pg/mL)	CCL5(ng/mL)
对照组	143	679.45±185.95	28.70±5.11
轻度 AR 组	59	1 073.45±299.65 ^a	38.61±6.74 ^a
中重度 AR 组	84	1 459.18±363.17 ^{ab}	45.93±6.11 ^{ab}
<i>F</i>		219.432	244.109
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与轻度 AR 组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 各组 NLRP3 mRNA 表达、IL-1β、IL-18 和 Treg、Th17、Treg/Th17 比值比较 与对照组比较,轻度 AR 组和中重度 AR 组 IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例和 NLRP3 mRNA 表达升高,Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值降低;中重度 AR 组 IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例和 NLRP3 mRNA 表达高于轻度 AR 组,Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值低于轻度 AR 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 相关性分析 Pearson 及 Spearman 相关性分析显示,CX3CL1、CCL5 与 IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例和 NLRP3 mRNA 表达呈正相关,与 Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值呈负相关($P<0.05$)。见表 3。

表 23 组各指标比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	NLRP3 mRNA	IL-1β(pg/mL)	IL-18(pg/mL)	Treg 细胞比例 (%)	Th17 细胞比例 (%)	Treg/Th17 比值
对照组	143	0.79±0.11	15.66±2.39	49.74±11.66	3.83±1.16	1.17±0.24	3.04(2.56,4.31)
轻度 AR 组	59	1.04±0.13 ^a	24.51±3.84 ^a	80.12±21.24 ^a	2.20±0.30 ^a	1.91±0.60 ^a	1.10(0.89,1.48) ^a
中重度 AR 组	84	1.17±0.11 ^{ab}	28.39±3.90 ^{ab}	100.05±19.64 ^{ab}	1.81±0.40 ^{ab}	2.57±0.60 ^{ab}	0.73(0.55,0.89) ^{ab}
<i>F/H</i>		310.261	452.787	256.344	170.013	253.785	205.403
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，^a*P*<0.05；与轻度 AR 组比较，^b*P*<0.05。

2.4 AR 的单因素分析 与对照组比较,AR 组 AR 家族史占比、总 IgE、居住或职业接触粉尘占比和 CX3CL1、CCL5、IL-1β、IL-18、Th17 细胞比例及 NLRP3 mRNA 表达升高,Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

2.5 AR 的多因素 Logistic 回归分析 以 AR(是/否=1/0)为因变量,AR 家族史(有/无=1/0)、总 IgE、居住或职业接触粉尘(有/无=1/0)、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值、CX3CL1、CCL5 为自变量(原值录入连续型变量,IL-1β、IL-18、Treg、Th17 细胞比例因与 Treg/Th17 比值和 NLRP3 mRNA 存在强共线性,故未纳入),进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示 AR 家族史、居住或职业接触粉尘、NLRP3 mRNA、CX3CL1、CCL5 为 AR 发病的独立危险因

素,Treg/Th17 比值为独立保护因素(*P*<0.05)。见表 5。

表 3AR 患者 CX3CL1、CCL5 与 NLRP3 mRNA 表达、IL-1β、IL-18 和 Treg、Th17、Treg/Th17 比值的相关性

指标	CX3CL1		CCL5	
	<i>r/r_s</i>	<i>P</i>	<i>r/r_s</i>	<i>P</i>
NLRP3 mRNA	0.708	<0.001	0.704	<0.001
IL-1β	0.636	<0.001	0.684	<0.001
IL-18	0.671	<0.001	0.677	<0.001
Treg 细胞比例	−0.672	<0.001	−0.643	<0.001
Th17 细胞比例	0.707	<0.001	0.679	<0.001
Treg/Th17 比值	−0.712 [△]	<0.001	−0.708 [△]	<0.001

注：[△]为 Spearman 相关性分析,*r_s* 为 Spearman 秩相关系数。

表 4AR 的单因素分析

项目	AR 组(<i>n</i> =143)	对照组(<i>n</i> =143)	$\chi^2/t/U$	<i>P</i>
男性[<i>n</i> (%)]	85(59.44)	76(53.15)	1.151	0.283
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	30.83±6.09	30.86±6.54	−0.034	0.973
AR 家族史[<i>n</i> (%)]				
有	85(59.44)	57(39.86)	10.966	0.001
无	58(40.56)	86(60.14)		
总 IgE[$M(P_{25},P_{75})$,IU/mL]	231.88(106.98,369.77)	74.37(36.60,118.60)	−9.542	<0.001
饲养宠物[<i>n</i> (%)]				
是	92(64.34)	80(55.94)	2.100	0.147
否	51(35.66)	63(44.06)		
家中种植花草[<i>n</i> (%)]				
是	29(20.28)	21(14.69)	1.551	0.213
否	114(79.72)	122(85.31)		
居住或职业接触粉尘[<i>n</i> (%)]				
是	94(65.73)	44(30.77)	35.008	<0.001
否	49(34.27)	99(69.23)		
CX3CL1($\bar{x}\pm s$,pg/mL)	1 300.03±387.40	679.75±185.95	17.261	<0.001
CCL5($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	42.91±7.31	28.70±5.11	19.048	<0.001
NLRP3 mRNA($\bar{x}\pm s$)	1.12±0.14	0.79±0.11	22.282	<0.001
IL-1β($\bar{x}\pm s$,pg/mL)	26.79±4.31	15.66±2.39	26.983	<0.001

续表 4 AR 的单因素分析

项目	AR 组(<i>n</i> =143)	对照组(<i>n</i> =143)	$\chi^2/t/U$	<i>P</i>
IL-18($\bar{x}\pm s$, pg/mL)	91.83±22.51	49.74±11.66	19.851	<0.001
Treg 细胞比例($\bar{x}\pm s$, %)	1.97±0.41	3.83±1.16	-18.051	<0.001
Th17 细胞比例($\bar{x}\pm s$, %)	2.30±0.68	1.17±0.24	18.626	<0.001
Treg/Th17 比值[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.88(0.67, 1.12)	3.04(2.56, 4.31)	-13.932	<0.001

2.6 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值诊断 AR 的 ROC 曲线分析 通过 Logistic 回归拟合外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值联合诊断 AR 的概率 [Logit (*P*) = -45.492+0.015×CX3CL1+0.484×CCL5+0.470×NLRP3 mRNA-0.039×Treg/Th17 比值]。

ROC 曲线分析结果显示,外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值四项联合诊断 AR 的 AUC 为 0.945,大于外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值单独诊断的 0.808、0.790、0.800、0.797(*Z*=6.245、5.715、5.881、5.347, *P*<0.001)。见表 6 和图 1。

表 5 AR 的多因素 Logistic 回归分析

变量	β	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
AR 家族史	1.451	0.624	5.401	0.020	4.268	1.255~14.512
居住或职业接触粉尘	0.913	0.389	5.507	0.019	2.493	1.162~5.346
NLRP3 mRNA	0.470	0.174	7.301	0.007	1.600	1.138~2.250
Treg/Th17 比值	-0.039	0.011	12.232	<0.001	0.962	0.941~0.983
CX3CL1	0.015	0.005	8.117	0.004	1.015	1.005~1.025
CCL5	0.484	0.171	8.006	0.005	1.623	1.161~2.271
常量	-45.492	13.699	11.029	0.001	—	—

注:—表示无数据。

表 6 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值对 AR 的诊断价值

指标	AUC	95% <i>CI</i>	截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数
CX3CL1	0.808	0.758~0.852	991.81 pg/mL	69.23	76.92	0.462
CCL5	0.790	0.738~0.835	32.64 ng/mL	82.52	74.13	0.566
NLRP3 mRNA	0.800	0.749~0.845	0.95	71.33	76.22	0.476
Treg/Th17 比值	0.797	0.746~0.842	1.75	82.52	78.32	0.608
四项联合	0.945	0.912~0.969	—	90.21	91.61	0.818

注:—表示无数据。

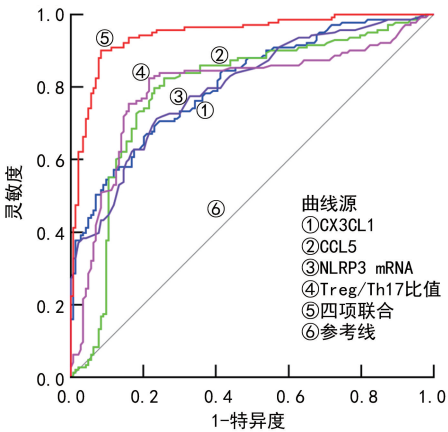


图 1 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值诊断 AR 的 ROC 曲线

3 讨论

AR 是一种由免疫系统对过敏原过度反应引起的疾病,其发病机制是 IgE 介导的 I 型变态反应,当过敏原进入呼吸道后,免疫系统通过释放 IgE 抗体引起肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒,从而释放炎症介质导致鼻腔黏膜炎症反应,引起频繁打喷嚏、鼻涕等症状,严重干扰患者正常生活工作^[10]。当 AR 患者暴露于过敏原,激活免疫系统后,可激活 NLRP3 炎症小体,其再通过释放下游因子 IL-1 β 和 IL-18 等放大大局部炎症反应,加重鼻黏膜炎症和损伤,同时 IL-18 还具有刺激肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒的作用,进一步促进 AR 的发生发展^[11]。CD4⁺ T 细胞在 AR 免疫反应中起着关键作用,其中 Treg 是由叉头框转录因

子 P3(FOXP3)诱导表达的一类 CD4⁺ T 细胞亚群,通过分泌 IL-10 和 TGF- β 1 等抗炎因子抑制过度的免疫反应;Th17 是由维甲酸相关孤核受体 γ t(ROR γ t)诱导表达的一类 CD4⁺ T 细胞亚群,通过分泌 IL-6 和 IL-17A 等促炎因子促进炎症反应;Treg/Th17 比值平衡能维持免疫平衡,当 Treg/Th17 比值失衡则会使 Th17 占据主导地位,引起炎症反应失控,加重鼻黏膜炎症和损伤^[12]。本研究结果显示,中重度 AR 患者外周血 IL-1 β 、IL-18、Th17 细胞比例和外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA 表达升高,Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值降低,说明 NLRP3 炎症小体及 Treg/Th17 比值失衡参与 AR 发生、发展过程,符合既往研究报道结果^[11-12]。

趋化因子作为引导免疫细胞迁移至炎症部位来调节免疫反应的小分子蛋白质,在 AR 的过敏原反应和鼻黏膜炎症过程中扮演重要角色^[13]。CX3CL1 是趋化因子 C-X3-C 亚家族唯一成员,又称为不规则趋化因子,可通过结合唯一受体 X3-C 基序趋化因子受体 1(CX3CR1)诱导单核细胞、T 细胞等免疫细胞向炎症部位迁移,进而促进炎症^[6]。硫酸葡聚糖钠诱导的炎症性肠病小鼠中,下调 CX3CR1 表达能抑制 NLRP3 炎症小体激活,从而减轻结肠炎症^[14]。狼疮性肾炎小鼠中,CX3CL1/CX3CR1 活化导致 Treg/Th17 比值失衡,从而促进狼疮性肾炎发展^[15]。这些研究提示 CX3CL1 可能在 NLRP3 炎症小体激活和 Treg/Th17 比值失衡中发挥重要作用。CX3CL1 已被证实参与多种过敏性疾病过程,包括过敏性哮喘、特应性皮炎等,通过结合 CX3CR1 增强炎症反应,以促进疾病的发生、发展^[16-17]。EL-SHAZLY 等^[18]研究显示,CX3CL1/CX3CR1 能诱导自然杀伤性 T 细胞向鼻黏膜迁移和浸润,从而促进 AR 发展,但关于 CX3CL1 与 AR 患者 NLRP3 炎症小体和 Treg/Th17 比值失衡的关系尚未可知。本研究结果发现,AR 患者外周血 CX3CL1 水平随着病情严重程度升高,AR 患者外周血 CX3CL1 与外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA 表达、血清 IL-1 β 、IL-18 及 Treg/Th17 比值失衡密切相关,也是 AR 发生的独立危险因素,提示 CX3CL1 水平升高可能通过调节 NLRP3 炎症小体和 Treg/Th17 比值平衡参与 AR 发生、发展,原因可能是 CX3CL1 能结合 CX3CR1 诱导多种免疫细胞迁移,释放炎性细胞因子,从而激活 NLRP3 炎症小体,诱导 IL-1 β 、IL-18 前体成熟和释放^[19]。同时 CX3CL1/CX3CR1 能通过上调炎性细胞因子释放,促进初始 CD4⁺ T 细胞向 Th17 细胞分化,下调 FOXP3 表达减少 Treg 细胞分化,导致 Treg/Th17 比值失衡,从而加剧鼻黏膜炎症损伤并促进 AR 发生、发展^[20]。

CCL5 是趋化因子 C-C 亚家族的重要成员,由多

种免疫细胞表达和分泌,并结合 C-C 基序趋化因子受体(CCR)1、CCR2 和 CCR5 诱导单核细胞、T 细胞、嗜酸性粒细胞、树突状细胞等免疫细胞向炎症部位迁移,进而促进炎症^[6]。腰椎不稳定诱导的椎间盘退化小鼠中,CCL5 高表达增强核因子- κ B(NF- κ B)信号传导,募集巨噬细胞并激活 NLRP3 炎症小体,促进椎间盘炎症反应^[21];帕金森病小鼠中,CCL5 高表达能诱导 Th17 细胞数量增多和 Treg 细胞数据减少,通过 Treg/Th17 比值失衡加剧神经炎症反应^[22],以上研究提示 CCL5 在 NLRP3 炎症小体激活和 Treg/Th17 比值失衡中发挥重要作用。近年来 CCL5 也被报道与过敏性哮喘、特应性皮炎等过敏性疾病的炎症反应增强有关^[23]。WANG 等^[24]研究结果显示,CCL5 在大鼠鼻黏膜中高表达,敲低 CCL5 能减少嗜酸性粒细胞浸润和 AR 相关症状。本研究结果显示,AR 患者外周血 CCL5 水平随着病情严重程度升高,外周血 CCL5 与外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA 表达、血清 IL-1 β 、IL-18 及 Treg/Th17 比值失衡密切相关,也是 AR 发生的独立危险因素,这提示 CCL5 水平升高可能通过调节 NLRP3 炎症小体和 Treg/Th17 比值平衡参与 AR 发生、发展,原因可能是 NF- κ B 信号通路激活可促进多种炎症因子表达,在鼻腔黏膜中聚集促进 AR 发生、发展^[25]。CCL5 能结合 CCR1、CCR2 和 CCR5 诱导免疫细胞迁移激活 NF- κ B 信号通路,释放大量炎症因子来激活 NLRP3 炎症小体^[21];CCL5/CCR1-CCR2-CCR5 信号轴能抑制 FOXP3 转录和诱导 ROR γ t 转录,促进初始 CD4⁺ T 细胞向 Th17 细胞分化和抑制 Treg 细胞分化,导致 Treg/Th17 比值失衡,从而促进 AR 发生、发展^[26]。本研究 ROC 曲线分析结果显示,四项联合诊断 AR 的 AUC 为 0.945,大于外周血 CX3CL1、CCL5、NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值单独诊断的 0.808、0.790、0.800、0.797,说明外周血 CX3CL1、CCL5 水平可能成为 AR 诊断的生物标志物,且联合 NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值能提升诊断价值,可能有助于临床更好地防治 AR。

综上所述,AR 患者外周血 CX3CL1、CCL5 水平升高与外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA 表达、血清 IL-1 β 、IL-18 及 Treg/Th17 比值失衡有关,提示其可能通过调节 NLRP3 炎症小体和 Treg/Th17 比值平衡参与 AR 发生、发展,且外周血 CX3CL1、CCL5 水平可能成为 AR 诊断的生物标志物,联合 NLRP3 mRNA、Treg/Th17 比值可提升对 AR 的诊断价值。

参考文献

- [1] 王洪田,杨钦泰,叶菁,等.变应性鼻炎防治中环境控制和健康教育的中国专家共识(2024,北京)[J].中国耳鼻喉颅颌外科杂志,2024,30(4):1-11.

[2] 孟娟,徐睿,叶菁,等. 变应性鼻炎的分类和诊断专家共识(2022,成都)[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志,2022,22(3):215-224.

[3] 叶菁,徐睿,邱前辉,等. 抗 IgE 单抗治疗变应性鼻炎专家共识(南昌,2022)[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2022,16(5):458-468.

[4] 刘一潼,周穗子. NLRP3 炎症小体在慢性鼻窦炎和变应性鼻炎中的研究进展[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报,2022,36(3):142-146.

[5] 曹婕,吴飞虎. 变应性鼻炎中 Th1/Th2 和 Th17/Treg 细胞失衡的研究进展[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2024,48(3):158-162.

[6] ZHANG C,ZHANG Y,ZHUANG R,et al. Alterations in CX3CL1 levels and its role in viral pathogenesis[J]. Int J Mol Sci,2024,25(8):4451.

[7] ZENG Z,LAN T,WEI Y,et al. CCL5/CCR5 axis in human diseases and related treatments[J]. Genes Dis,2022,9(1):12-27.

[8] ZHANG R X,YU S Q,JIANG J Z,et al. Complementary DNA microarray analysis of chemokines and their receptors in allergic rhinitis[J]. J Investig Allergol Clin Immunol,2007,17(5):329-336.

[9] 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. 中国变应性鼻炎诊断和治疗指南(2022 年,修订版)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2022,57(2):106-129.

[10] 李瀛,罗颜,卫红齐,等. 鼻内镜下低温等离子刀鼻后神经切断术与鼻内镜下鼻后神经切断术对中重度变应性鼻炎的近远期疗效及安全性分析[J]. 现代生物医学进展,2023,23(5):876-880.

[11] 芦文俊,范博雅,王刚,等. NLRP3 炎症小体在变应性鼻炎中的作用[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2022,28(4):124-128.

[12] 柳先知,翟亚莉,陈冬. AR 患者外周血中 Th17 细胞表面程序性细胞死亡受体-1 的表达变化[J]. 锦州医科大学学报,2021,42(4):5-9.

[13] LI Z,YU S,JIANG Y,et al. Chemokines and chemokine receptors in allergic rhinitis: from mediators to potential therapeutic targets[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol,2022,279(11):5089-5095.

[14] CHE N,ZHANG Y,ZHANG S,et al. Macrophagic HDAC3 inhibition ameliorates Dextran Sulfate Sodium induced inflammatory bowel disease through GBP5-NLRP3 pathway[J]. Int J Med Sci,2024,21(8):1385-1398.

[15] 陈珊珊. Fractalkine 通过 Sirtuin3 调控 S100A4 蛋白参与狼疮性肾炎巨噬细胞极化的分子机制研究[D]. 百色:右江民族医学院,2023.

[16] CHENG W H,CHANG P L,WU Y C,et al. Neutralization of CX3CL1 attenuates TGF- β -induced fibroblast differentiation through NF- κ B activation and mitochondrial dysfunction in airway fibrosis[J]. Lung,2024,202(3):343-356.

[17] STAUMONT-SALLÉ D,FLEURY S,LAZZARI A,et al. CX3CL1 (fractalkine) and its receptor CX3CR1 regulate atopic dermatitis by controlling effector T cell retention in inflamed skin[J]. J Exp Med,2014,211(6):1185-1196.

[18] EL-SHAZLY A E,DOLORIERT H C,BISIG B,et al. Novel cooperation between CX3CL1 and CCL26 inducing NK cell chemotaxis via CX3CR1: a possible mechanism for NK cell infiltration of the allergic nasal tissue[J]. Clin Exp Allergy,2013,43(3):322-331.

[19] GE Y,WANG L,WANG C,et al. CX3CL1 inhibits NLRP3 inflammasome-induced microglial pyroptosis and improves neuronal function in mice with experimentally-induced ischemic stroke[J]. Life Sci,2022,50(26):120564.

[20] FU D,MA J,GONG Q,et al. Fractalkine mediates lymphocyte inflammation and tubulointerstitial lesions by modifying the Treg/Th17 balance in lupus-prone MRL/lpr mice[J]. Am J Transl Res,2020,12(10):6170-6186.

[21] WANG Y,ZHANG W,YANG Y,et al. Osteopontin deficiency promotes cartilaginous endplate degeneration by enhancing the NF- κ B signaling to recruit macrophages and activate the NLRP3 inflammasome[J]. Bone Res,2024,12(1):53.

[22] 赵经纬,薛峥,李静怡,等. C-C 趋化因子配体 5 通过诱导帕金森病模型小鼠外周 Th17 细胞比例增加、Treg 细胞比例减少及促进 Th17 细胞表达淋巴细胞功能相关抗原 1 而加重神经炎症的研究[J]. 临床神经病学杂志,2023,36(2):134-141.

[23] GRUBA S,WU X,SPANOLIOS E,et al. Platelet response to allergens,CXCL10,and CXCL5 in the context of asthma[J]. ACS Bio Med Chem Au,2022,3(1):87-96.

[24] WANG H,WU J,ZHANG R. Effect of neurokinin-1 receptor knockdown on the expression of RANTES in allergic rhinitis[J]. Am J Rhinol Allergy,2023,37(6):730-738.

[25] 刘朋,康成林,刘江琦,等. TLR4/NF- κ B 信号通路对变应性鼻炎的调控作用及中药治疗的研究进展[J]. 医学研究杂志,2023,52(8):192-195.

[26] CHEN Z,KE X,WANG X,et al. LncRNA JPX contributes to Treg/Th17 imbalance in allergic rhinitis via targeting the miR-378g/CCL5 axis[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol,2022,44(4):519-524.