



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

慢性自发性荨麻疹患者外周血SP、NK1R和ECP的表达

曹艳云, 孙盈翡, 孔伟, 徐顺明

引用本文:

曹艳云,孙盈翡,孔伟,徐顺明. 慢性自发性荨麻疹患者外周血SP、NK1R和ECP的表达[J]. 中国临床医学, 2022, 29(5): 843-847.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20213006>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

血清ECP水平与药物洗脱支架晚期支架内再狭窄的相关性

The relationship between serum eosinophil cationic protein levels and late in-stent restenosis of drug-eluting stents

中国临床医学. 2020, 27(3): 406-409 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200847>

慢性自发性荨麻疹患者血清差异表达蛋白的筛选及C反应蛋白的测定

Screening of differential expression proteins in serum and detection of C-reactive protein in patients with chronic spontaneous urticaria

中国临床医学. 2018, 25(2): 275-277 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180140>

慢性乙型肝炎患者CD4⁺Th细胞中LSD1表达及其作用

Expression of LSD1 in CD4⁺ Th cells and its effect in the patients with chronic hepatitis B

中国临床医学. 2021, 28(5): 828-832 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210610>

维生素D对Graves病Th17/Treg细胞失衡的调节作用

Regulating effect of vitamin D on Th17/Treg cell imbalance in patients with Graves' disease

中国临床医学. 2022, 29(3): 426-430 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20212188>

可溶性生长刺激表达基因2蛋白对免疫检查点抑制剂相关心肌炎预后的预测价值

Prediction value of sST2 for the prognosis of patients with immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis

中国临床医学. 2021, 28(2): 159-163 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210393>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20213006

· 短篇论著 ·

慢性自发性荨麻疹患者外周血 SP、NK1R 和 ECP 的表达



曹艳云, 孙盈翡, 孔 伟, 徐顺明*

上海市浦东新区人民医院皮肤科, 上海 201299

引用本文 曹艳云, 孙盈翡, 孔 伟, 等. 慢性自发性荨麻疹患者外周血 SP、NK1R 与 ECP 的表达[J]. 中国临床医学, 2022, 29(5): 843-847. CAO Y Y, SUN Y F, KONG W, et al. Expressions of SP, NK1R and ECP in peripheral blood of patients with chronic spontaneous urticaria[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2022, 29(5): 843-847.

[摘要] **目的** 探讨慢性自发性荨麻疹 (chronic spontaneous urticaria, CSU) 患者外周血 P 物质 (substance P, SP)、神经激肽/速激肽受体 1 (neurokinin 1 receptor, NK1R) 及嗜酸性粒细胞阳离子蛋白 (eosinophil cationic protein, ECP) 的表达情况。**方法** 选取 2020 年 1 月至 2020 年 12 月上海市浦东新区人民医院皮肤科诊治的 CSU 患者 15 例, 另选取 15 例体检健康者为对照组。采用流式细胞仪分析 CSU 组和对照组外周血 SP、NK1R 表达水平, 采用 ELISA 检测 2 组外周血 ECP 的表达情况。**结果** 与对照组相比, CSU 组 NK1R 和 ECP 的表达显著升高, 差异均有统计学意义 [$14.52\% \pm 0.932\%$ vs $5.836\% \pm 0.882\%$, (14.54 ± 1.255) ng/mL vs (7.456 ± 0.982) ng/mL; $P < 0.05$], 而 CSU 组和对照组 SP 表达水平差异无统计学意义 ($1.907\% \pm 0.421\%$ vs $1.813\% \pm 0.269\%$)。Pearson 相关性结果显示, 血清 ECP 水平与 NK1R 正相关 ($r=0.5357$, $P < 0.05$), 与 SP 无相关性。**结论** CSU 患者中 NK1R 和 ECP 的表达升高, 且存在正相关, 而 SP 无明显升高。推测 NK1R 可能促进嗜酸性粒细胞释放 ECP, 参与 CSU 的发生发展。

[关键词] 慢性自发性荨麻疹; P 物质; 神经激肽/速激肽受体 1; 嗜酸性粒细胞阳离子蛋白

[中图分类号] R 751 **[文献标志码]** A

Expressions of SP, NK1R and ECP in peripheral blood of patients with chronic spontaneous urticaria

CAO Yan-yun, SUN Ying-fei, KONG Wei, XU Shun-ming*

Department of Dermatology, Shanghai Pudong New Area People's Hospital, Shanghai 201299, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression of substance P (SP), neurokinin/tachykinin 1 receptor (NK1R) and eosinophil cationic protein (ECP) in peripheral blood of patients with chronic spontaneous urticaria (CSU). **Methods** From January 2020 to December 2020, 15 CSU patients diagnosed and treated in the Dermatology Department of Shanghai Pudong New Area People's Hospital were selected, and 15 healthy people were selected as the control group. The levels of SP and NK1R in peripheral blood of CSU patients and controls were analyzed by flow cytometry, the expression of ECP in peripheral blood of the two groups was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the control group, the expression of NK1R and ECP in the CSU group was significantly increased, the differences were statistically significant ($14.52\% \pm 0.932\%$ vs $5.836\% \pm 0.882\%$, [14.54 ± 1.255] ng/mL vs [7.456 ± 0.982] ng/mL; $P < 0.05$), while there was no statistically significant difference in SP expression between CSU group and control group ($1.907\% \pm 0.421\%$ vs $1.813\% \pm 0.269\%$). Through Pearson correlation analysis, serum ECP level was positively correlated with NK1R ($r=0.5357$, $P < 0.05$), no correlation with SP. **Conclusion** The expression of NK1R and ECP is increased in patients with CSU, and there is a positive correlation, but SP is not significantly increased. NK1R may promote eosinophils to release ECP and participate in the occurrence and development of CSU.

[Key Words] chronic spontaneous urticaria; substance P; neurokinin/tachykinin 1 receptor; eosinophil cationic protein

[收稿日期] 2021-12-30 **[接受日期]** 2022-05-19

[基金项目] 浦东新区科技发展基金民生科研专项资金 (PKJ2019-Y55)。Supported by Special Fund for People's Livelihood Scientific Research of Pudong New Area Science and Technology Development Fund (PKJ2019-Y55).

[作者简介] 曹艳云, 硕士, 副主任医师. E-mail: cyy1980142003@sohu.com

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-20509000-2307, E-mail: 13641930667@163.com

慢性自发性荨麻疹 (chronic spontaneous urticaria, CSU) 是一种炎症性皮肤疾病, 其特征是反复发作的瘙痒性风团或血管性水肿, 通常在 24 h 内自行消失^[1-2]。其症状反复、迁移难愈, 严重影响到患者的生活质量和机体免疫环境的稳定^[3]。CSU 发病机制复杂, 除了肥大细胞脱颗粒和嗜碱性粒细胞活化以外, 嗜酸性粒细胞可能具有重要的轴向作用^[4]。肥大细胞脱颗粒释放的递质有助于嗜酸性粒细胞的募集、存活和活化, 而嗜酸性粒细胞本质上是一个次级效应细胞, 其作用主要是通过释放嗜酸性粒细胞阳离子蛋白 (eosinophil cationic protein, ECP) 引起肥大细胞分泌组胺等介质, 导致皮肤组织损伤和瘙痒, 从而表现为 CSU 的一系列临床症状。

嗜酸性粒细胞与肥大细胞都是过敏性炎症的关键效应细胞, 因此被称为“过敏效应单位”^[4], 肥大细胞/嗜碱性粒细胞与嗜酸性粒细胞之间主要是通过细胞表面受体所介导的细胞-细胞接触以及细胞介质的产生和释放发挥双向相互作用^[5]。体内的多种细胞如嗜碱性粒细胞^[6]、肥大细胞^[7]以及嗜酸性粒细胞^[8]均可分泌 P 物质 (substance P, SP), 而神经激肽/速激肽受体 1 (neurokinin 1 receptor, NK1R) 作为 SP 的高亲和力受体, 能激活促炎因子^[9], SP/NK1R 复合物广泛参与过敏性皮炎^[6]、湿疹^[7]等过敏性皮肤病, 在炎症过程中发挥重要作用。多项研究证实 SP 很可能是一种有效的促炎症介质, 通过激活肥大细胞和嗜碱性粒细胞, 在 CSU 的发病机制中发挥重要作用^[10], 但是 SP 在 CSU 患者血清中的表达尚存争议^[11]。本研究通过流式细胞仪检测 CSU 患者和对照组外周血 SP、NK1R 的水平以及用 ELISA 检测 2 组外周血 ECP 的水平, 分析三者之间的相关性, 探讨 SP、NK1R 和 ECP 在 CSU 发病机制的意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 1 月至 2020 年 12 月上海市浦东新区人民医院门诊诊治的 15 例 CSU 患者, 另选取本院体检健康者 15 例为对照组。既往体检血常规、血糖、肝肾功能、血脂结果均无异常, 均无过敏性及其他免疫相关性疾病, 无妊娠及哺乳期妇女。本研究通过上海市浦东新区人民医

院伦理委员会批准 (2019-04), 所有研究对象均知情且签署知情同意书。

纳入标准: (1) 符合《中国荨麻疹诊疗指南 (2018 版)》中 CSU 诊断标准^[2]; (2) 年龄 18~65 岁; (3) 病程≥6 周, 每周至少发作 2 次。排除标准: (1) 孕妇和哺乳期妇女; (2) 伴有严重感染或合并严重肝脏、肾脏及心脏疾病; (3) 近 2 周服用抗组胺类、糖皮质激素及免疫抑制剂等药物; (4) 既往有心血管疾病、高血压、恶性肿瘤及自身免疫性疾病等。所有患者均在风团消退前采集血清标本。

1.2 实验试剂 鼠抗人 SP-FITC 及同型对照 (eBioscience 公司, 美国), 鼠抗人 NK1R-FITC 及同型对照 (eBioscience 公司, 美国), 人 ECP 定量 ELISA 试剂盒 (Pharmacia 公司, 瑞典)。

1.3 流式细胞仪检测 CSU 组与对照组均抽取 5 mL 静脉血, EDTA 抗凝, 静置离心后留取上清。将血样分组和编号, 每个样本取 2 份新鲜抗凝全血 100 μ L 置入流式管中, 加入死细胞去除染料与人 Fc 受体阻断液, 避光 15 min 后裂解红细胞, 离心后固定细胞, 分别加入异硫氰酸荧光素 (SP-FITC 和 NK1R-FITC), 4℃避光 30 min; 加入缓冲液洗涤, 1 400 r/min 离心 5 min, 弃上清, 缓冲液重悬细胞。采用流式细胞仪分析 2 组样本外周血中 SP 和 NK1R 的表达。

1.4 ELISA 检测 血清 ECP 的检测采用双抗体夹心法, 操作步骤按 ELISA 试剂盒进行特异性检测 CSU 组与对照组 ECP 表达水平, 在 450 nm 下进行读数。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组样本比较采用 t 检验, 采用 Pearson 相关分析检验两变量之间的相关性。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 一般资料分析 15 例 CSU 患者中男性 8 例, 女性 7 例, 平均年龄 (40.73 ± 16.24) 岁, 病程平均持续时间 (7.83 ± 3.83) 个月。15 例对照者中男性 9 例, 女性 6 例, 平均年龄 (40.93 ± 15.23) 岁。2 组年龄、性别差异无统计学意义。

2.2 外周血 SP 和 NK1R 表达 结果(图1)显示: CSU 组与对照组 SP 的表达分别为 $1.907\% \pm 0.421\%$ 和 $1.813\% \pm 0.269\%$ 。NK1R 在 CSU 组与对照组

表达平均值分别为 $14.52\% \pm 0.9316\%$ 、 $5.836\% \pm 0.882\%$ 。2 组 SP 的表达水平差异无统计学意义, 而 2 组 NK1R 差异有统计学意义($t=6.77, P<0.05$)。

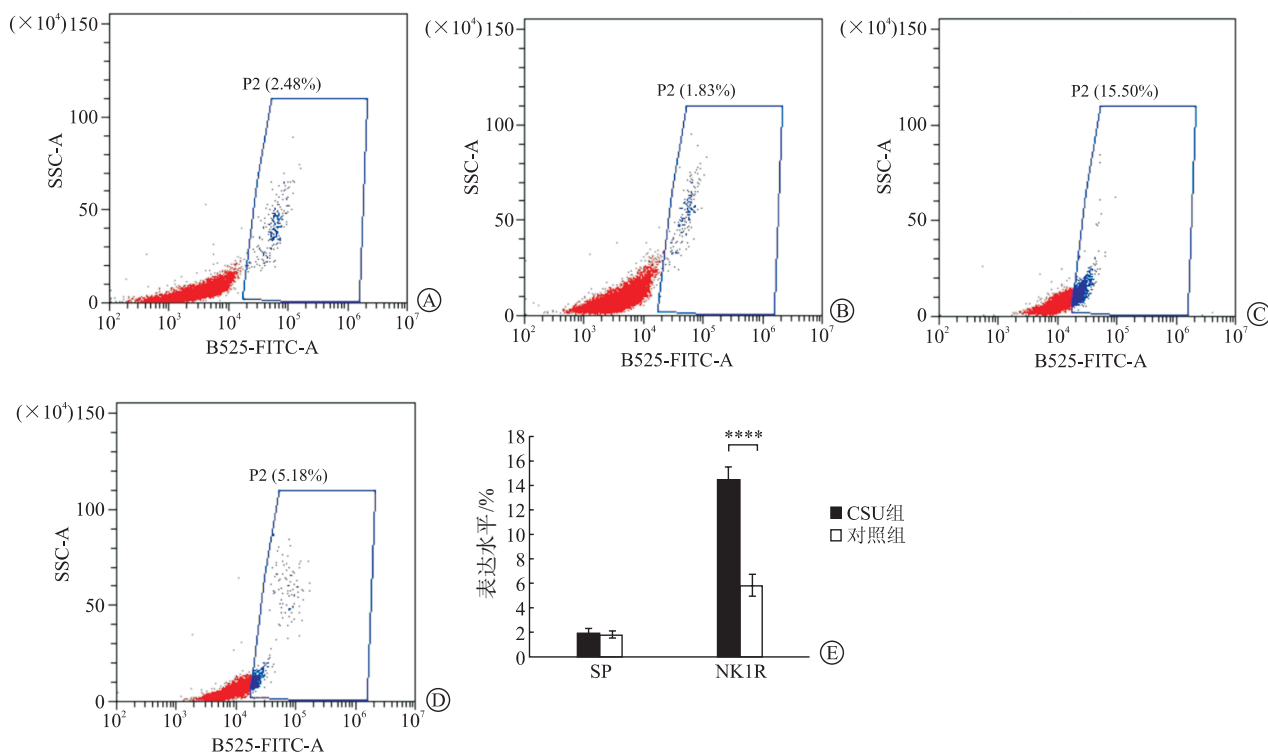


图1 外周血 SP 和 NK1R 表达

A: CSU 组的 SP 表达; B: 对照组的 SP 表达; C: CSU 组的 NK1R 表达; D: 对照组的 NK1R 表达; E: SP 和 NK1R 表达比较; **** $P<0.0001$ 。

2.3 外周血 ECP 的表达 CSU 组和对照组血清中 ECP 的表达平均值分别为 (14.54 ± 1.255) ng/mL 和 (7.456 ± 0.982) ng/mL, 2 组差异有统计学意义($t=17.21, P<0.05$)。

2.4 ECP 表达水平与 SP、NK1R 的相关性分

析 结果(图2)显示: 经 Pearson 相关性分析, CSU 组外周血的 ECP 表达水平与 SP 无相关性, $r=-0.372, P>0.05$; 与 NK1R 正相关, $r=0.5357, P<0.05$ 。

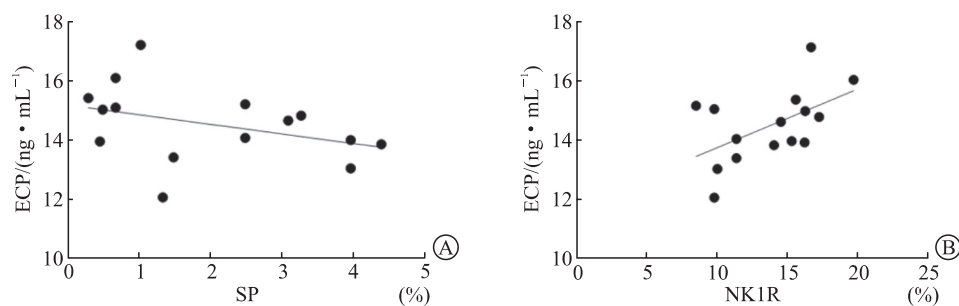


图2 CSU 组外周血 ECP 表达水平与 SP(A) 和 NK1R (B) 的相关性分析

3 讨论

CSU 占有慢性荨麻疹病例的 66% 至 93%, 人群患病率为 0.5%~1%, 约 11%~14% 的患者症

状持续 5 年以上^[12], 严重影响人们的生活质量和身心健康。肥大细胞脱颗粒是该病的中心环节, SP 是由特定感觉神经末梢分泌的速激肽, 可刺激肥大细胞分泌组胺^[13]。皮内注射 SP 可立即引起风

团、炎症和瘙痒反应,以及粒细胞渗入皮肤^[13-14]。这些结果提示,SP可能在CSU的发病机制中发挥重要作用^[15]。然而,SP在CSU患者血清中的表达数据存在差异,Basak等^[6,16]研究证实,CSU患者血清SP水平高于健康对照组,但Tedeschi等^[17]的结果相反。本研究结果表明,CSU患者外周血SP的表达水平并未升高,与Tedeschi等^[17]的研究结果一致。SP的血清水平表达高低不能排除SP在CSU发病机制中的作用,因为已证实神经纤维直接释放的SP可导致肥大细胞脱颗粒^[16],可能皮肤微环境中释放的SP不足以引起血液浓度的增加;也可能是SP与受体的快速结合或失活使SP浓度的变化无法体现在血液中。另一方面,SP在不同的大脑区域也有表达,如杏仁核、中缝背核和前额叶皮质,这些区域参与对情绪刺激的反应^[18]。最近对已发表数据的荟萃^[19]分析得出结论,几乎三分之一的CSU患者至少并发1种精神障碍性疾病。Memet等^[11]纳入患有或不患有抑郁症的CSU患者的平衡人群为研究对象发现,CSU患者的SP表达水平与健康对照组相似,但伴有抑郁症的CSU患者的SP水平明显高于无抑郁症的CSU患者($P < 0.001$)。由于既往研究均没有考虑CSU是否存在相关抑郁症,故导致SP水平升高的原因可能是共病抑郁症患者的比例过高^[11]。所以,SP在CSU患者中的表达结果存在差异与选择CSU患者标准不同及疾病严重程度相关,亦或是血液样本处理和储存的方式不同影响了SP的降解^[6,16]。

同时,人外周血嗜酸性粒细胞表达具有功能活性的NK1R^[20],与SP结合参与CSU的发病过程^[8,21]。本研究结果显示,NK1R在CSU组外周血的表达值远高于对照组,提示CSU发生发展可能与NK1R表达上调有关,既往也有学者^[8]发现CSU患者血液嗜酸性粒细胞NK1R表达增多的情况。NK1R是传递瘙痒症状的主要因素之一^[22],其既与SP结合导致肥大细胞脱颗粒,也可增强人IgE的Fc段受体I(human receptor I for the Fc region of immunoglobulinE, FcεR I)诱导肥大细胞释放促炎介质,有助于活化嗜酸性粒细胞释放ECP,而ECP直接损伤内皮细胞再次诱导肥大细胞释放组胺,这样的多重信号级联反应造成患者瘙痒剧烈,

症状反复,使CSU的诊治更加困难。ECP作为嗜酸性粒细胞被活化后所分泌的最毒碱性蛋白之一,是皮肤过敏性疾病的重要炎症标志物。本研究发现CSU患者血清中的ECP表达平均水平远高于对照组,与Giusti等^[23]的研究结果一致,证实血清ECP水平是反映CSU病情的有效指标,其在辅助CSU的诊断和疗效评估等方面具有重要指导价值^[24]。

本研究进一步分析发现,CSU患者血清ECP水平与NK1R正相关,与SP无相关性。由此推测CSU患者的NK1R表达升高,促进嗜酸性粒细胞活化释放ECP,参与CSU的发生发展。近期临床试验^[25-26]表明,NK1R拮抗剂serlopitant可显著缓解瘙痒症状,有望成为治疗慢性瘙痒患者的潜力药物。由于本研究样本量小,因此,仍然需要更大样本量、设计更好的研究方案或临床试验进一步研究SP、NK1R和ECP在CSU患者血清中的表达水平及其在CSU发病机制中的意义。

综上所述,CSU组外周血SP的表达水平与对照组差异无统计学意义,且与ECP无明显相关性。CSU组外周血ECP及NK1R的表达均明显升高,且两者正相关。由此推测CSU患者的NK1R表达升高,促进嗜酸性粒细胞释放ECP增多,参与CSU的发生发展。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] ZUBERBIER T, ABERER W, ASERO R, et al. The EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria[J]. Allergy, 2018, 73(7):1393-1414.
- [2] 中华医学会皮肤性病学分会荨麻疹研究中心. 中国荨麻疹诊疗指南(2018版)[J]. 中华皮肤科杂志, 2019, 52(1):1-5. Centre for Urticaria Research, Chinese Society of Dermatology. Guideline for diagnosis and treatment of urticaria in China (2018)[J]. Chin J Dermatol, 2019, 52(1): 1-5.
- [3] GIMENEZ-ARNAU A M, GRATTAN C, ZUBERBIER T, et al. An individualized diagnostic approach based on guidelines for chronic urticaria (CU)[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2015, 29 (Suppl 3):3-11.
- [4] ALTRICHTER S, FRISCHBUTTER S, FOK J S, et al. The role of eosinophils in chronic spontaneous urticaria [J]. J ALLERGY CLIN IMMUN, 2020, 145(6): 1510-

- 1516.
- [5] GANGWAR R S, LEVI-SCHAFFWE F. Eosinophils interaction with mast cells: the allergic effector unit[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1178:231-249.
- [6] ZHENG W, WANG J, ZHU W, et al. Upregulated expression of substance P in basophils of the patients with chronic spontaneous urticaria: induction of histamine release and basophil accumulation by substance P[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2016, 32(3):217-228.
- [7] ZHAN M, ZHENG W, JIANG Q, et al. Upregulated expression of substance P (SP) and NK1R in eczema and SP-induced mast cell accumulation[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2017, 33(4):389-405.
- [8] 王 维, 张慧云, 郑文娇, 等. 慢性自发性荨麻疹患者血液嗜酸性粒细胞NK1R水平增加[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(8):1108-1112, 1117. WANG W, ZHANG H Y, ZHENG W J, et al. Up-regulated expression of NK1R in eosinophil-enriched blood cells from patients with chronic spontaneous urticaria[J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2017, 33(8):1108-1112, 1117.
- [9] DOUQLAS S D, LEEMAN S E. Neurokinin-1 receptor: functional significance in the immune system in reference to selected infections and inflammation[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011, 1217:83-95.
- [10] 刘 莎, 许丛丛, 潘信信, 等. P物质在慢性自发性荨麻疹发病机制中的研究进展[J]. *实用医药杂志*, 2020, 37(6):554-557. LIU S, XU C C, PAN X X, et al. Reviewed the substance P research progress of pathogenesis in chronic spontaneous urticaria[J]. *Practical Journal of Medicine & Pharmacy*, 2020, 37(6):554-557.
- [11] MEMET B, VURGUN E, BARLAS F, et al. In Chronic Spontaneous Urticaria, comorbid depression linked to higher disease activity, and substance P levels[J]. *Front Psychiatry*, 2021, 12: 667978.
- [12] FOTI C, ROMITA P, AMBROGIO F, et al. Analysis of clinical factors as possible predictors of response to omalizumab and relapse after treatment discontinuation in chronic spontaneous urticaria[J]. *Dermatol Ther*, 2021, 35(2): e15248.
- [13] OKABE T, HIDE M, KORO O, et al. The release of leukotriene B4 from human skin in response to substance P: evidence for the functional heterogeneity of human skin mast cells among individuals[J]. *Clin Exp Immunol*, 2001, 124:150-156.
- [14] AMATYA B, NORDLIND K, WAHLGREN C F. Responses to intradermal injections of substance P in psoriasis patients with pruritus[J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2010, 23(3):133-138.
- [15] VENA G A, CASSANO N, DI LEO E, et al. Focus on the role of substance P in chronic urticaria[J]. *Clin Mol Allergy*, 2018, 16:24.
- [16] BASAK P Y, ERTURAN I, YUKSEL O, et al. Evaluation of serum neuropeptide levels in patients with chronic urticaria[J]. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 2014, 80(5):483.
- [17] TEDESCHI A, LORINI M, ASERO R. No evidence of increased serum substance P levels in chronic urticaria patients with and without demonstrable circulating vasoactive factors[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2005, 30(2):171-175.
- [18] MCLEAN S. Do substance P and the NK1 receptor have a role in depression and anxiety?[J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(12):1529-1547.
- [19] KONSTANTANTINOUS G N. Psychiatric comorbidity in chronic urticaria patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Transl Allergy*, 2019, 9:42.
- [20] RAAP M, RUDRICH U, STANDER S, et al. Substance P activates human eosinophils[J]. *Exp Dermatol*, 2015, 24(7): 557-559.
- [21] METZ M, KRULL C, HAWRO T, et al. Substance P is upregulated in the serum of patients with chronic spontaneous urticaria[J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(11): 2833-2836.
- [22] RUPPENSTEIN A, LIMBERG M M, LOSER K, et al. Involvement of neuro-immune interactions in pruritus with special focus on receptor expressions[J]. *Front Med*, 2021, 8:627985.
- [23] GIUSTI D, GATOULLAT G, LE JAN S, et al. Eosinophil cationic protein (ECP), a predictive marker of bullous pemphigoid severity and outcome[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4833.
- [24] 孔德华, 黄 玮, 赵桂苹, 等. 慢性荨麻疹合并Hp感染患者血清总IgE、ECP和HRF浓度的相关性分析[J]. *河北医学*, 2020, 26(10):1652-1655. KONG D H, HUANG W, ZHAO G P, et al. Correlation analysis of serum total IgE, ECP and HRF concentrations in patients with chronic urticaria complicated with Hp infection[J]. *Hebei Medicine*, 2020, 26(10):1652-1655.
- [25] STÄNDER S, SPELLMAN M C, KWON P, et al. The NK1 receptor antagonist serlopitant for treatment of chronic pruritus[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28(8):659-666.
- [26] RESZKE R, KRAJEWSKI P, SZEPIETOWSKI J C. Emerging therapeutic options for chronic pruritus[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2020, 21(5):601-618.