

CYBB 和 CSF1R 在慢性鼻窦炎伴鼻息肉中的表达及诊断价值

马宇龙¹, 李庚¹, 吴靖芳¹, 薛刚^{2*}, 林旭^{1*}¹河北北方学院基础医学院, 河北张家口 075000; ²河北北方学院附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科, 河北张家口 075000

[中图分类号] R765 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0054.2024.0913

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 马宇龙, 李庚, 吴靖芳, 等. CYBB 和 CSF1R 在慢性鼻窦炎伴鼻息肉中的表达及诊断价值[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(1): 35-43.

[收稿日期] 2024-01-13 [录用日期] 2024-04-28 [上线日期] 2024-09-13

[摘要] **目的** 采用生物信息学方法分析慢性鼻窦炎鼻息肉(CRSwNP)基因表达的特点, 探寻 CRSwNP 潜在的生物标志物及其诊断价值。**方法** (1)从美国 GEO 基因表达数据库下载 CRSwNP 基因表达数据集, 通过数据分析筛选 CRSwNP 与健康对照的差异表达基因(DEGs); 对获取的 DEGs 进行基因本体论(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析, 利用 STRING 数据库构建蛋白-蛋白互作(PPI)网络, 利用 cytoHubba 插件筛选关键基因。利用 Cibersort 包分析关键基因对常见免疫细胞的影响。(2)选取 2022 年 6 月—2023 年 6 月在河北北方学院附属第一医院确诊的 32 例 CRSwNP 患者为 CRSwNP 组, 另选取同期无鼻窦炎病史的单纯鼻中隔偏曲患者 21 例作为对照组。HE 染色观察两组标本的病理学特点, 免疫组化和 Western blotting 检测 CRSwNP 关键基因的表达水平, ELISA 法检测血浆关键蛋白的水平, 并绘制 ROC 曲线分析关键蛋白诊断 CRSwNP 的效能。**结果** (1)对获取的 3 个基因表达数据库集(GSE36830、GSE23552 和 GSE194282)进行分析显示, CRSwNP 有 156 个 DEGs; GO 功能和 KEGG 通路分析显示, 上述 DEGs 的作用多与免疫功能有关; 筛选出细胞色素 b-245 β 链(CYBB)和集落刺激因子 1 受体(CSF1R)等关键基因。(2)HE 染色结果显示, CRSwNP 组织上皮化生为复层鳞状上皮, 间质水肿; 免疫组化和 Western blotting 检测结果显示, 与对照组比较, CRSwNP 组 CYBB、CSF1R 表达水平均明显升高($P<0.05$)。ELISA 检测结果显示, 与对照组比较, CRSwNP 组血浆 CYBB[(21.20 \pm 3.00) μ g/ml vs. (17.66 \pm 1.66) μ g/ml, $P<0.001$]和 CSF1[(477.37 \pm 86.63) pg/ml vs. (370.71 \pm 66.24) pg/ml, $P<0.001$]水平均明显升高。ROC 曲线分析显示, 血浆 CYBB 和 CSF1 水平诊断 CRSwNP 的曲线下面积(AUC)分别为 0.888(95%CI 0.802~0.974)、0.821(95%CI 0.711~0.931), 二者联合诊断 CRSwNP 的 AUC 为 0.927(95%CI 0.851~1.000)。**结论** CYBB、CSF1R 可能参与了 CRSwNP 的发生发展, 血浆 CYBB、CSF1 水平可能成为 CRSwNP 的诊断标志物。

[关键词] 慢性鼻窦炎伴鼻息肉; 关键基因; 生物信息学; 筛查诊断

Expression and diagnostic value of CYBB and CSF1R in chronic rhinosinusitis with nasal polyps

Ma Yu-Long¹, Li Geng¹, Wu Jing-Fang¹, Xue Gang^{2*}, Lin Xu^{1*}¹School of Basic Medical Sciences, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China²Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China

*Corresponding author. Xue Gang, E-mail: xgwj@163.com; Lin Xu, E-mail: 305461101@qq.com

This work was supported by the National College Students' Innovative Entrepreneurial Training Plan (202310092007)

[Abstract] **Objective** To analyze the gene expression characteristics of chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) using bioinformatics methods, aim to investigate the potential biomarkers and their diagnostic value of CRSwNP. **Methods** (1) The CRSwNP Gene expression data set was downloaded from the American Gene Expression Omnibus (GEO) database. The differentially expressed genes (DEGs) between CRSwNP patients and healthy controls were screened through data analysis. Gene

[基金项目] 国家级大学生创新创业训练计划项目(202310092007)

[作者简介] 马宇龙, 主要从事耳鼻咽喉疾病生物信息学方面的研究

[通信作者] 薛刚, E-mail: xgwj@163.com; 林旭, E-mail: 305461101@qq.com

Ontology (GO) functional enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis were performed on the identified DEGs. Protein-protein interaction (PPI) networks were constructed utilizing the STRING database, and the key genes were identified by using the cytoHubba plugin. The "Cibersort" package was used to analyze the influence of key genes on common immune cells. (2) Thirty-two patients diagnosed with CRSwNP in the First Affiliated Hospital of Hebei North University from June 2022 to June 2023 were selected as the CRSwNP group, and 21 patients with simple deviation of nasal septum without a history of sinusitis during the same period were selected as control group. The pathological characteristics of specimens in the two groups were examined using hematoxylin-eosin (HE) staining. Immunohistochemistry and Western blotting were used to detect the expression levels of key genes in CRSwNP. The levels of key proteins in plasma were detected using ELISA, and ROC curve was used to analyze its efficacy in diagnosing CRSwNP. **Results** (1) Analysis of three gene expression database sets (GSE36830, GSE23552, and GSE194282) showed that there were 156 DEGs in CRSwNP. GO functional enrichment and KEGG pathway analysis indicated that the functions of the above DEGs were mostly related to immune functions. Key genes such as cytochrome b-245 β chain (CYBB) and colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) were identified. (2) The results of HE staining revealed that the epithelial of CRSwNP tissue was metaplastic into stratified squamous epithelium with interstitial edema. Both immunohistochemistry and Western blotting analyses indicated that the expression levels of CYBB and CSF1R in the CRSwNP group were significantly increased compared to control group ($P < 0.05$). ELISA results demonstrated that CYBB [(21.20 \pm 3.00) μ g/ml vs. (17.66 \pm 1.66) μ g/ml, $P < 0.05$] and CSF1 [(477.37 \pm 86.63) pg/ml vs. (370.71 \pm 66.24) pg/ml, $P < 0.05$] in CRSwNP group were significantly increased compared to control group. ROC curve analysis showed that plasma concentrations of CYBB and CSF1 had AUCs of 0.888 (95%CI 0.802-0.974) and 0.821 (95%CI 0.711-0.931) for diagnosing of CRSwNP, respectively; their combined AUC was 0.927 (95%CI 0.851-1.000). **Conclusions** CYBB and CSF1R may be involved in the occurrence and development of CRSwNP. Plasma CYBB and CSF1 have high diagnostic value for CRSwNP.

[Key words] CRSwNP; hub genes; bioinformatics; screening and diagnosis

慢性鼻窦炎 (chronic rhinosinusitis, CRS) 是一种与黏膜炎症相关的临床综合征, 其患病率在全球范围持续居高位, 美国和欧洲患病率超过 10%, 每年医疗费用超过 80 亿美元^[1], 我国 CRS 的患病率约为 8%。CRS 的主要症状包括鼻塞、流鼻涕、面部疼痛和嗅觉减退, 一般通过鼻内窥镜检查或鼻窦 CT 进行诊断。CRS 可分为两种类型: CRS 伴鼻息肉 (CRSwNP) 和 CRS 无鼻息肉 (CRSsNP)。CRSwNP 症状较重、易复发^[2], 且致病因素复杂、无明确诊断标准, 缺乏个性化的诊疗方案。根据炎症细胞浸润水平的差异, CRSwNP 可分为嗜酸性粒细胞性慢性鼻窦炎伴鼻息肉 (eosinophilic CRS with nasal polyps, Eos-CRSwNP) 与非嗜酸粒细胞性慢性鼻窦炎伴鼻息肉 (non-eosinophilic CRS with nasal polyps, nonEos-CRSwNP)。研究显示, 鼻息肉的发病与上皮屏障功能障碍、过敏原致敏、机体免疫功能紊乱有关^[3-4], 但 CRSwNP 的促炎分子机制及免疫调控机制尚不清楚。因此, 深入挖掘 CRSwNP 潜在的致病分子机制, 探究核心基因的作用, 对于 CRSwNP 的诊治至关重要。本研究通过整合现有公共数据集, 利用综合生物信息学方法深入挖掘 CRSwNP 中潜在的关键基因及其作用, 并采用 HE 染色、免疫组化染色、Western blotting 验证获得的关键基因, 探索其可能的分子机制, 最后利用 ELISA 实验探究关键基因是否可作为 CRSwNP 的血液筛查标志物, 旨在为 CRSwNP 的诊断与治疗提供新的生物标志物和药物

靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器 抗细胞色素 b-245 β 链 (cytochrome b-245 beta chain, CYBB; #DF6520)、集落刺激因子 1 受体 (colony-stimulating factor 1 receptor, CSF1R; #AF0080)、 β -actin (#AF7018) 抗体, HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (#S0001) 购自江苏亲科生物研究中心有限公司; DAB 显色液 (PV-8000) 购自北京中杉金桥公司; 蛋白抽提试剂盒 (R0018S) 购自上海碧云天生物技术有限公司; ELISA 法 CYBB (CB14284-Hu)、CSF1 (CB17500-Hu) 检测试剂盒购自上海科艾博生物技术有限公司。

1.2 数据与样本收集

1.2.1 CRSwNP 基因表达数据集的收集 从 Gene Expression Omnibus (GEO) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中下载基因表达数据集 GSE36830、GSE23552、GSE194282, 剔除与 CRSwNP 无关及临床信息不全的样本后, 3 个数据集中分别包括 CRSwNP 样本 6 例、11 例、6 例, 健康对照样本 6 例、17 例、6 例。

1.2.2 CRSwNP 样本收集 收集 2022 年 6 月—2023 年 6 月在河北北方学院附属第一医院就诊、参照 2018 年慢性鼻窦炎诊疗指南^[5] 确诊的 CRSwNP 患者 32 例作为 CRSwNP 组; 另选取同期因单纯鼻中隔偏曲就诊的患者 21 例作为对照组。对照组既往无鼻窦

炎病史。术中组织标本经处理分为二份，一份置于液氮保存，一份经固定液固定。收集两组患者的外周血样本。CRSwNP组纳入标准：首次以鼻息肉为主要症状就诊的CRSwNP患者。排除标准：术前1个月内全身使用过类固醇激素；术前发现合并后鼻孔息肉、真菌性鼻窦炎等疾病；术后病理检查结果显示并非鼻息肉。本研究获河北北方学院附属第一医院医学伦理委员会审核批准(K2023041)。

1.3 生物信息学分析 采用Limma软件包对GEO数据集进行校正及标准化处理，去除批次效应后合并为单一表达矩阵^[6]。主坐标分析后，使用Array_DEG软件包对合并后的数据集进行分析，设置阈值为 $|\log_2 \text{fold change}| > 1$ 和 $\text{adjust } P\text{-value} < 0.05$ 筛选差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)，ggplot2包绘制DEGs的热图和火山图。采用clusterProfiler包进行基因集富集分析(Gene Set Enrichment Analysis, GSEA)，选择带注释的基因集(c2.cp.kegg.v7.2.symbols.gmt)作为参考基因集，每个分析随机运行排列基因组1000次，ggplot2包绘制山峦图；对DEGs进行基因本体论(Gene Ontology, GO)功能分析和KEGG通路分析，设置 $P < 0.05$ 和 $\text{adjust } P\text{-value} < 0.05$ 为筛选条件，通过ggplot2软件包、igraph软件包和ggraph软件包对相似性结果进行EMAP图可视化。应用STRING数据库对DEGs进行蛋白-蛋白互作网络(PPI)构建，选择“Homo sapiens”，置信度设置为默认值(0.4)，使用Cytoscape软件重新可视化PPI网络，运用cytoHubba插件通过Degree算法筛选出关键基因(hub genes)^[7]。使用Cibersort包计算CRSwNP关键基因与常见免疫细胞丰度的关系。使用pROC包绘制ELISA结果的相关接受者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线。

1.4 HE染色 鼻息肉组织及单纯鼻中隔偏曲患者部分下鼻甲组织经固定、脱水、包埋、切片后，切片依次进行脱蜡、水化、苏木精染色、盐酸乙醇分化、伊红染色、脱水、透明封片后光镜下观察并拍照。

1.5 免疫组织化学染色检测CYBB、CSF1R表达水平 将切片依次进行脱蜡至水、抗原修复、3%过氧化氢孵育、山羊血清封闭后，加入CYBB(1:250)与CSF1R(1:200)一抗孵育，二抗(1:5000)孵育，DAB显色、苏木精染核，脱水、透明、封片后拍照。每张切片随机选取5个高倍镜下阳性视野，用Image-Pro Plus 6.0软件进行图像分析。比较CRSwNP组与对照组CYBB、CSF1R表达水平的差异。

1.6 Western blotting检测CYBB、CSF1R蛋白表达水平 采用RIPA裂解液提取总蛋白，BCA定量分析蛋白浓度。变性后的蛋白经电泳、转膜、封闭，CYBB

(1:650)与CSF1R(1:500)一抗孵育，二抗(1:5000)孵育后，ECL显色，采用凝胶成像系统扫描，ImageJ软件分析条带的灰度值。

1.7 ELISA法检测血浆CYBB、CSF1水平 收集两组患者的外周血，分离血浆，按照ELISA试剂盒操作说明分别检测CYBB、CSF1的水平，采用酶标仪在450 nm波长下测定吸光度值，通过标准曲线计算血浆中CYBB、CSF1的水平。

1.8 统计学处理 采用SPSS 22软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用独立样本 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用Dunnnett- t 检验；非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示，组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料以例(%)表示，组间比较采用 χ^2 检验。采用ROC曲线分析血浆CYBB、CSF1水平对CRSwNP的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

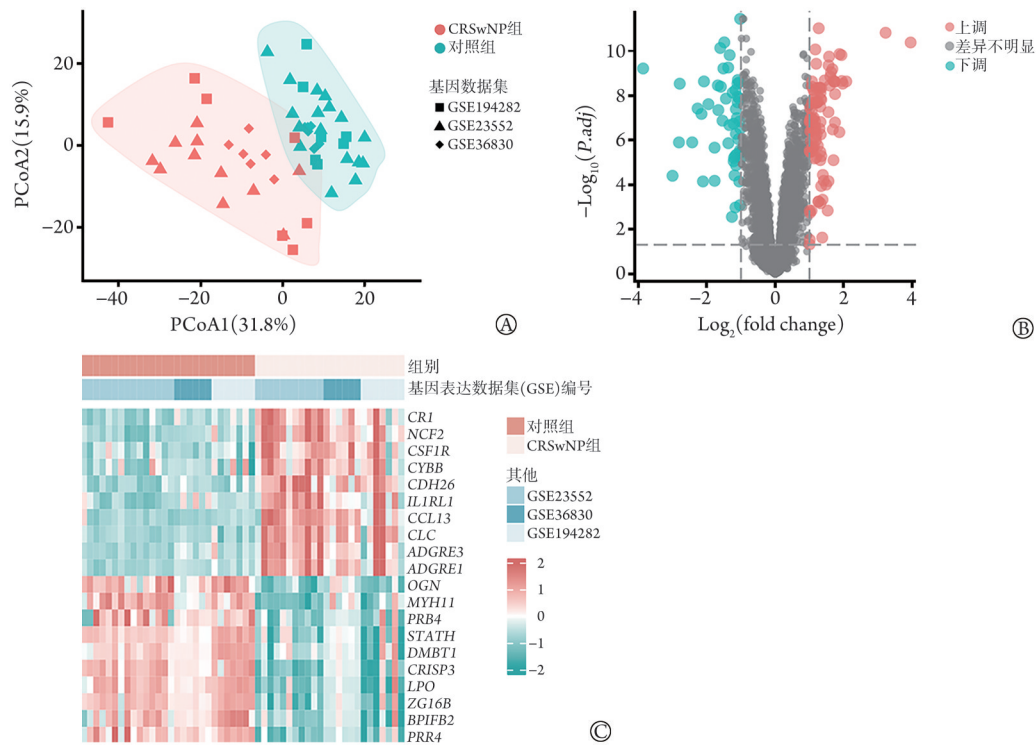
2 结果

2.1 CRSwNP相关DEGs的筛选 主坐标分析结果显示，合并后的基因表达数据集中CRSwNP组与对照组之间共筛选出156个DEGs，其中表达上调101个，表达下调55个(图1)。

2.2 CRSwNP相关基因功能富集分析 GO功能富集和KEGG通路分析结果显示，156个DEGs的主要功能富集在白细胞趋化、与趋化因子受体CCR结合、免疫效应过程的调节、调节炎症反应、趋化因子活性、细胞因子-细胞因子受体相互作用等。KEGG通路分析结果显示这些DEGs主要通过趋化因子信号通路等发挥调节细胞因子或其他炎性因子而发挥作用(图2A)。对差异表达不显著但有重要生物学意义的基因进行GSEA分析，结果显示，这部分基因功能主要富集于细胞因子-细胞因子受体相互作用、免疫系统细胞因子信号转导、中性粒细胞脱颗粒、白细胞介素信号转导、淋巴细胞与非淋巴细胞的免疫调节相互作用等(图2B)。

2.3 CRSwNP中DEGs的PPI构建及模块化分析 将DEGs导入STRING数据库构建PPI，并通过Cytoscape软件重新可视化处理。结果显示，PPI由340个节点及1380条边构成(图3A)。cytoHubba插件最后成功筛选出PPI网络中的关键基因CYBB、CSF1R、ITGAM、CD86、TYROBP(图3B)。以下对相关性居前两位的基因CYBB、CSF1R进行进一步观察。

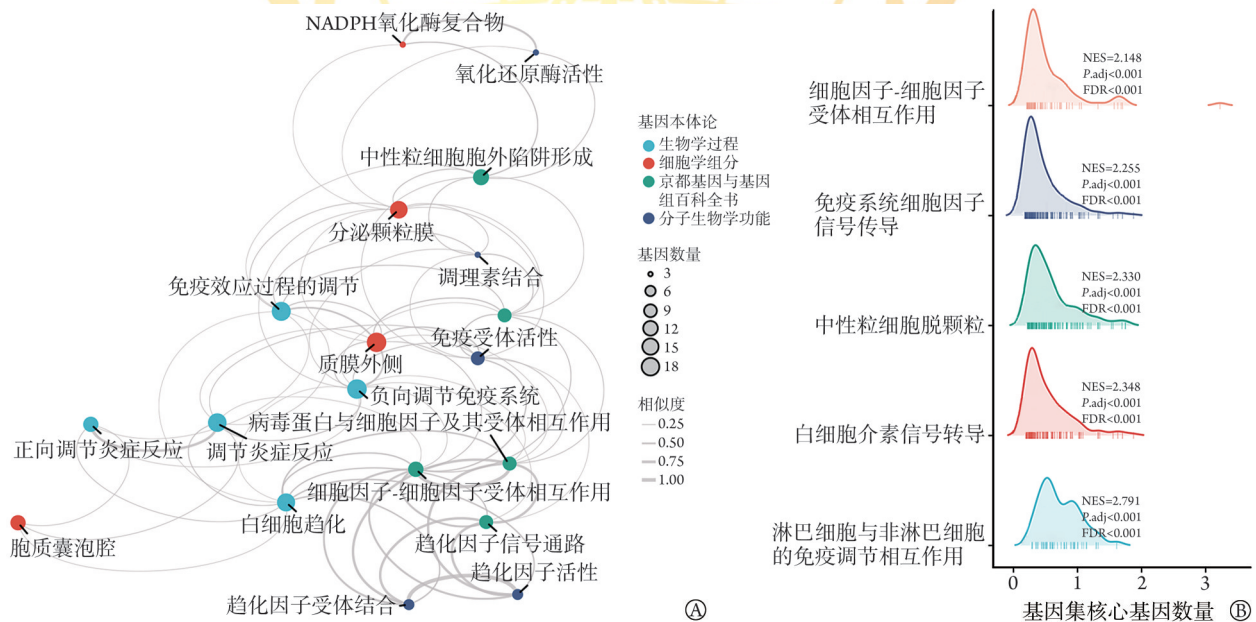
2.4 基于GEO数据库的CRSwNP中CYBB、CSF1R免疫浸润分析 采用GEO数据库对CYBB、CSF1R是否在CRSwNP中参与调节免疫微环境进行分析，结果显示，CYBB与10种免疫细胞相关，其中与M0



CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; DEGs. 差异表达基因; A. 主坐标分析(PCoA)图; B. DEGs的火山图; C. DEGs的热图(Top20)

图1 CRSwNP 差异表达基因分析

Fig.1 Analysis of differentially expressed genes in CRSwNP



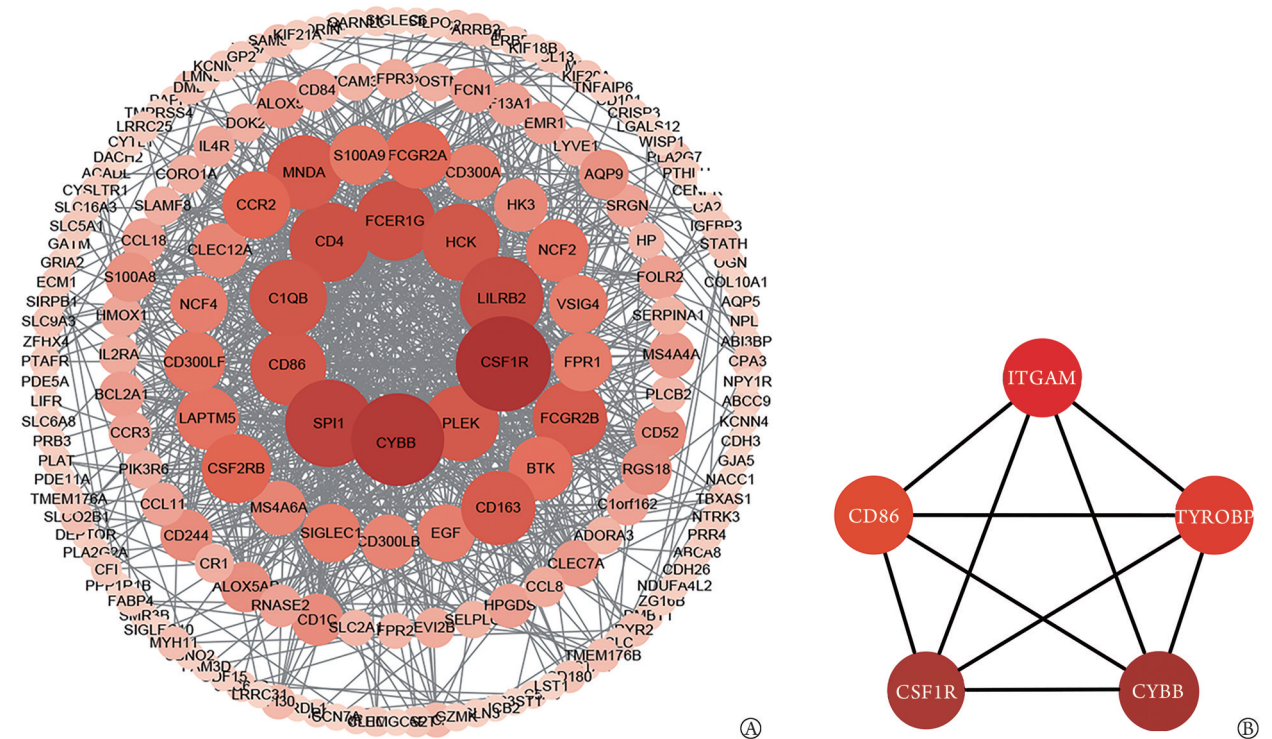
CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; NES. 归一化后的富集分数; FDR. 伪发现率; GO. 基因本体论; KEGG. 京都基因与基因组百科全书; GSEA. 基因集富集分析; A. CRSwNP 中差异表达基因的 GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析结果; B. CRSwNP 中相关基因的 GSEA 分析结果

图2 CRSwNP 中相关基因的功能富集分析

Fig.2 Enrichment analysis of related functions in CRSwNP

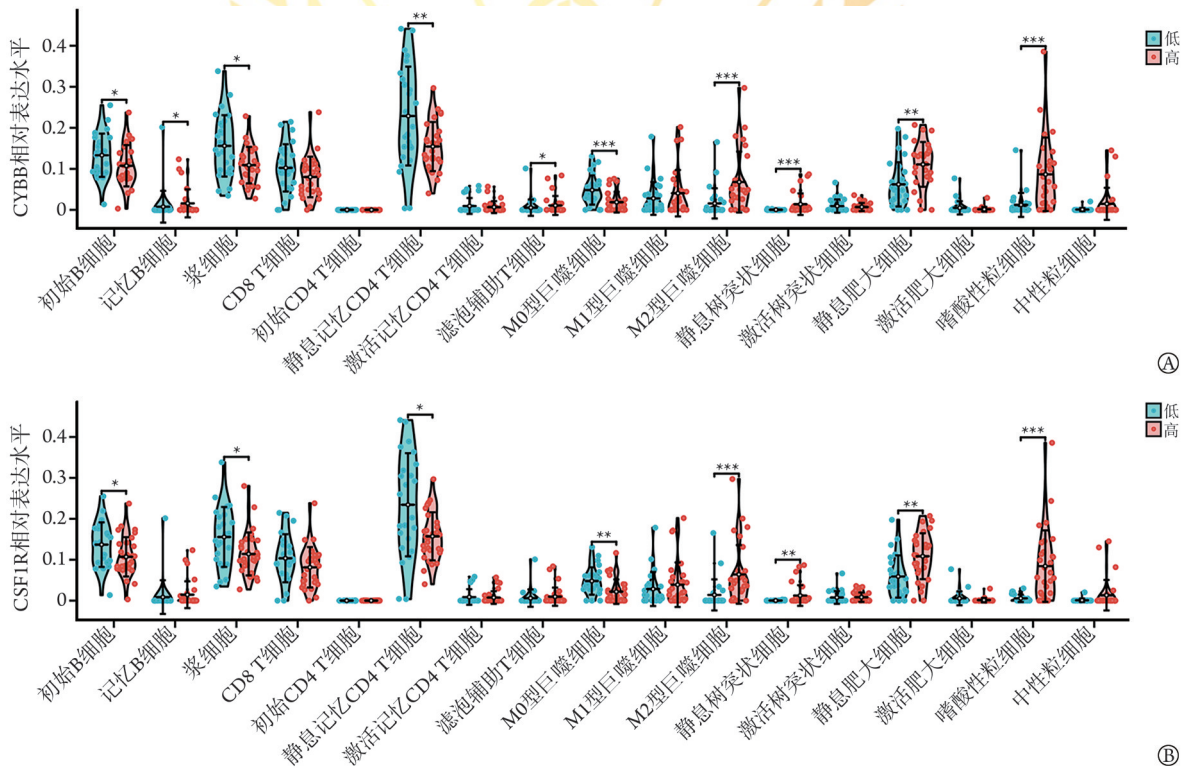
型巨噬细胞在内的免疫细胞呈负相关, 与M2型巨噬细胞在内的免疫细胞呈正相关(图4A); CSF1R在CRSwNP中的免疫细胞浸润结果与CYBB相近(图4B)。

2.5 CRSwNP病理分型鉴定 HE染色结果显示, 对照组上皮为假复层纤毛柱状上皮, 纤毛完整, 固有层中未见大量免疫细胞及水肿情况(图5A)。根据嗜酸性粒细胞浸润水平不同, 将本研究纳入的CRSwNP



CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; DEGs. 差异表达基因; PPI. 蛋白质-蛋白质相互作用; CYBB. 细胞色素 b-245 β 链; CSF1R. 集落刺激因子 1 受体; A. PPI 网络; B. 采用 cytoHubba 筛选的核心基因

图 3 CRSwNP 中 DEGs 的 PPI 网络图
Fig.3 PPI network diagram of DEGs in CRSwNP



CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; CYBB. 细胞色素 b-245 β 链; CSF1R. 集落刺激因子 1 受体; A. CYBB 的免疫浸润结果; B. CSF1R 的免疫浸润结果; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

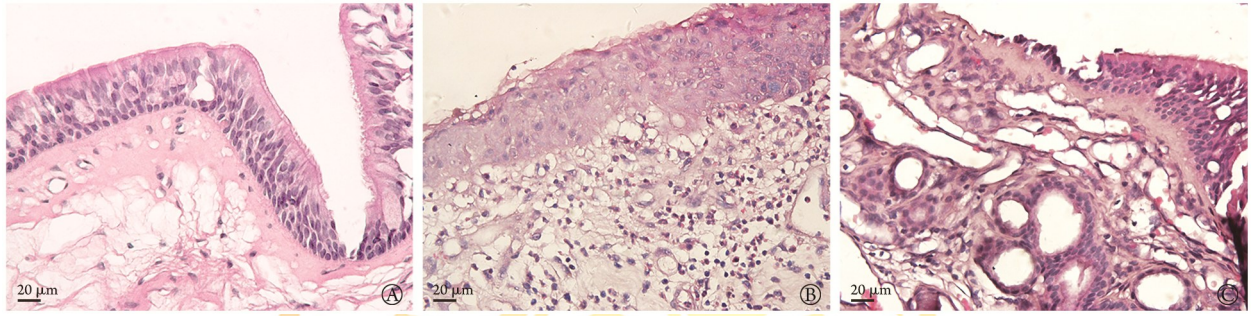
图 4 基于 GEO 数据库的 CRSwNP 中 CYBB、CSF1R 免疫浸润分析结果

Fig.4 Immune infiltration results of CYBB and CSF1R in CRSwNP in GEO database

组织分为 Eos-CRSwNP 型 15 例 [嗜酸性粒细胞: (183.6 ± 23.8) 个/高倍视野] 和 nonEos-CRSwNP 型 17 例 [嗜酸性粒细胞: (8.1 ± 1.7) 个/高倍视野] (图 5B、C)。与对照组比较, Eos-CRSwNP 型的上皮化生为复层鳞状上皮, 间质部分轻度水肿; nonEos-CRSwNP 型的上皮变厚, 间质水肿, 血管扩张充血, 腺体高度增生, 炎性细胞浸润明显。

2.6 CRSwNP 组织标本中 CYBB 和 CSF1R 的表达情

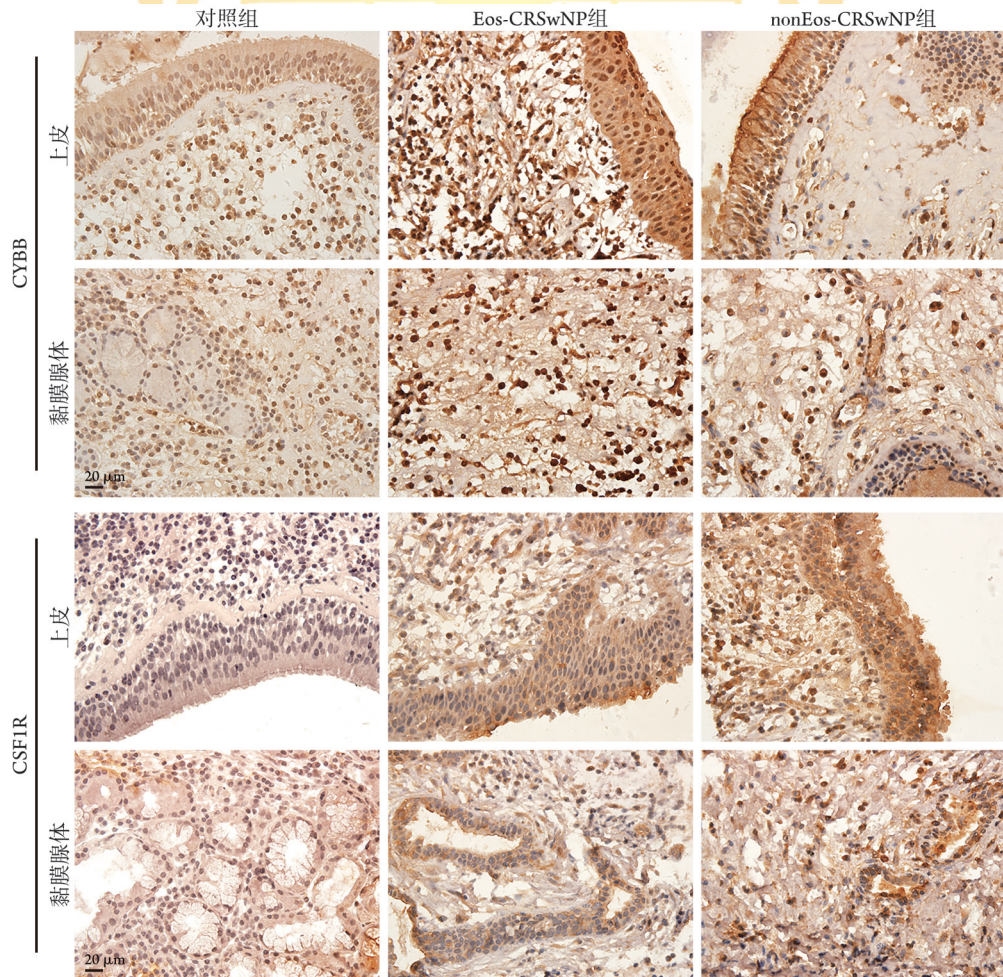
况 免疫组化染色结果示, CYBB 主要表达于上皮细胞质及胞膜, 在胞核中弱表达, 呈棕黄色; CSF1R 主要定位于上皮细胞的细胞质, 呈棕褐色。与对照组比较, Eos-CRSwNP 组和 nonEos-CRSwNP 组 CYBB、CSF1R 表达水平均明显升高 ($P < 0.05$), 而 Eos-CRSwNP 组与 nonEos-CRSwNP 组 CYBB、CSF1R 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 6)。Western blotting 检测结果与免疫组化检测结果一致 (图 7)。



CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; A. 对照组; B. Eos-CRSwNP 组; C. nonEos-CRSwNP 组

图 5 CRSwNP 组织的 HE 染色结果

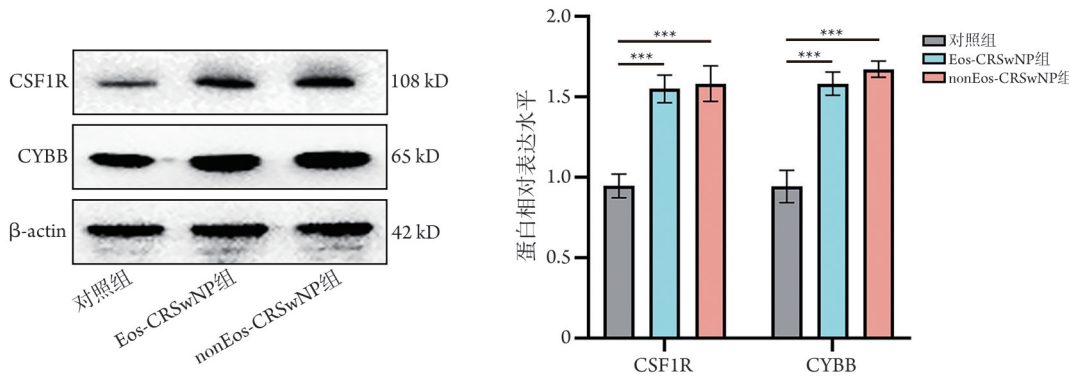
Fig.5 HE staining results of human CRSwNP tissues



CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; CYBB. 细胞色素 b-245 β 链; CSF1R. 集落刺激因子 1 受体

图 6 CRSwNP 组织中 CYBB 和 CSF1R 的表达情况 (免疫组织化学染色)

Fig.6 The expression of CYBB and CSF1R in CRSwNP (Immunohistochemical staining)



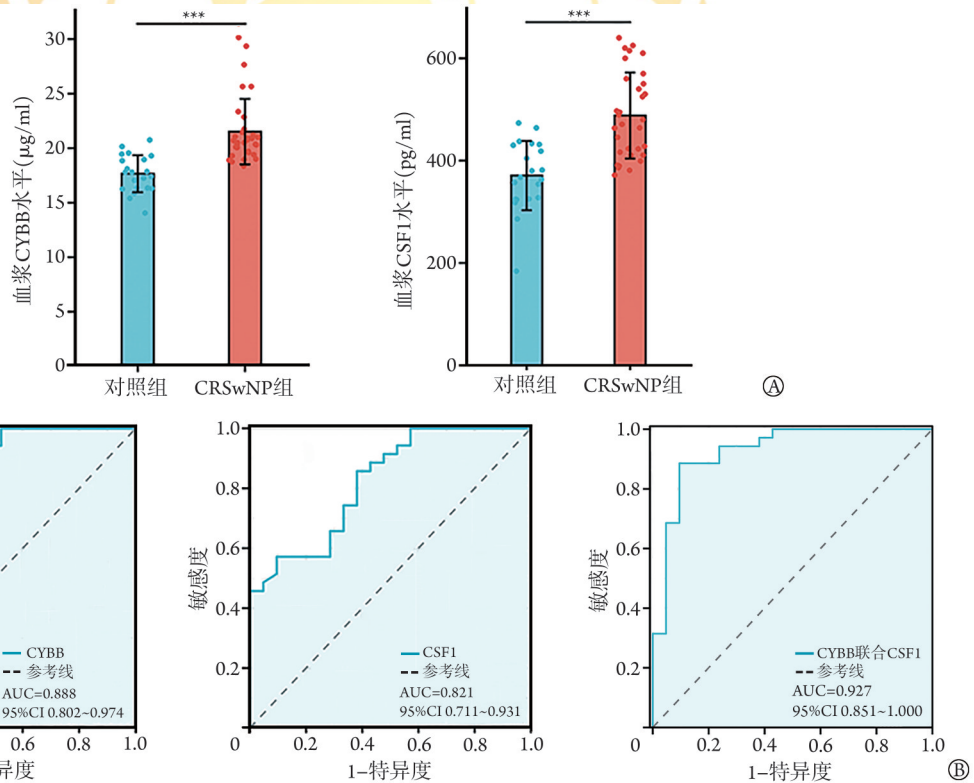
CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; CYBB. 细胞色素 b-245 β 链; CSF1R. 集落刺激因子 1 受体; *** $P<0.001$

图 7 CRSwNP 组织中 CYBB、CSF1R 的表达情况 (Western blotting)

Fig.7 The expressions of CYBB and CSF1R in CRSwNP (Western blotting)

2.7 ROC 曲线分析血浆 CYBB 及 CSF1 水平对 CRSwNP 的诊断价值 ELISA 检测结果显示, 与对照组比较, CRSwNP 组血浆 CYBB[(21.20±3.00) μg/ml vs. (17.66±1.66) μg/ml, $P<0.001$] 和 CSF1[(477.37±86.63) pg/ml vs. (370.71±66.24) pg/ml, $P<0.001$] 水平明

显升高(图 8A)。ROC 曲线分析结果显示, CYBB 和 CSF1 水平诊断 CRSwNP 的曲线下面积分别为 0.888 (95%CI 0.802~0.974)、0.821(95%CI 0.711~0.931), 二者联合诊断 CRSwNP 的曲线下面积为 0.927(95%CI 0.851~1.000, 图 8B)。



CRSwNP. 慢性鼻窦炎鼻息肉; CYBB. 细胞色素 b-245 β 链; CSF1R. 集落刺激因子 1 受体; AUC. 曲线下面积; A. 两组血浆 CYBB、CSF1 水平比较; B. 血浆 CYBB、CSF1 水平及两者联合诊断 CRSwNP 的 ROC 曲线; *** $P<0.001$

图 8 血浆 CYBB 和 CSF1 水平诊断 CRSwNP 的 ROC 曲线分析

Fig.8 ROC curves of the diagnostic value of CYBB and CSF1 levels in prediction of CRSwNP

3 讨论

CRS 是耳鼻咽喉头颈外科的常见疾病, 在我国患病率约为 8.0%, 涉及 1.07 亿人, 造成了沉重的经济和社会负担^[8]。CRSwNP 是 CRS 的常见类型, 临床

症状较重, 相较于不伴鼻息肉的 CRS, 其术后复发率高, 严重影响患者的生活质量^[9]。组织病理学检查是 CRSwNP 分型的金标准, 通过观察息肉组织中嗜酸性粒细胞的浸润程度可明确 Eos-CRSwNP 和 nonEos-CRSwNP 两种亚型。但术前行有创活检存在

患者接受程度差、费用高等缺点^[10]。虽然糖皮质激素治疗对大多数病例有效,但由于疾病的异质性,不同CRSwNP患者对治疗的反应差异较大,可能出现抵抗^[11]。因此,探索简单易行、价格低廉的诊断指标对CRSwNP的早期诊断非常重要。对于不同分型的CRSwNP进行个体化诊疗符合精准医学的要求,必将成为该病治疗的趋势。精准医学的高速发展离不开基因测序技术的快速更新以及生物信息学技术的广泛应用。近年来,有多项研究尝试探索Eos-CRSwNP的生物标志物和诊断模型。周方伟等^[12]指出,血清25-(OH)D₃水平可作为区分Eos-CRSwNP与nonEos-CRSwNP的有效指标,但作为单一的预测指标,易受寄生虫感染、自身免疫性疾病等其他共病因素的影响,特异度较差;Yu等^[13]建立了一个基于患者病史、症状、体征和鼻息肉评分的联合预测模型,虽然受自身因素影响较小,但一致性指数(C-index)仅为0.808,在预测CRSwNP方面的价值相对有限。深入探索CRSwNP潜在的分子机制,有可能为其提供更为准确的诊断学标志物。本研究旨在利用生物信息学技术对3个CRSwNP基因表达数据集进行深入挖掘,为其无创筛查诊断提供潜在的标志物。

本研究中,CRSwNP鼻息肉组织及正常黏膜组织转录组学数据筛选得到156个DEGs,其中表达上调101个,表达下调55个。GO功能分析结果显示,上述DEGs的功能主要与白细胞趋化、免疫反应有关;KEGG通路分析结果显示,上述DEGs可能经趋化因子信号通路调节组织中细胞因子或其他炎症因子的释放而发挥作用,与文献报道一致^[14];对差异表达不显著但有重要生物学意义的基因进行GSEA分析,结果也显示,CRSwNP的相关基因与免疫调节、炎症反应存在密切联系,与GO功能和KEGG通路分析结果基本一致。构建的PPI网络提供了CRSwNP的基因调控网络,并鉴定出CYBB、CSF1R、ITGAM、CD86、TYROBP共5个关键基因,提示其可能在CRSwNP发病过程发挥重要作用。ITGAM是补体C3降解产物iC3b的受体,也是细胞黏附分子-1(ICAM-1)和纤维蛋白的受体,参与上皮细胞的黏附、趋化及屏障修复作用^[15]。CD86属于免疫球蛋白超家族成员,在鼻息肉形成过程中起着调节作用^[16]。TYROBP是TYRO蛋白酪氨酸激酶结合蛋白,通过参与免疫应答、激活效应淋巴细胞而发挥促炎作用^[17-18]。

CYBB又称NOX2,是宿主抗菌防御和调节炎症的关键酶。有研究指出CYBB突变后可调控巨噬细胞引起慢性肉芽肿病^[19]。CYBB可被与感染相关的因素迅速激活,进而通过调节中性粒细胞的积累及清除来抑制炎症和损伤^[20]。集落刺激因子(CSF1)主要通

过CSF1R激活单核细胞吞噬系统调节机体的免疫应答,特别是调节巨噬细胞表型的极化^[21]。本研究结果显示,CYBB与CSF1R在CRSwNP中呈过表达,且M2型巨噬细胞在CYBB和CSF1R过表达组中较低表达组明显增多,提示二者可能通过调节免疫微环境中的肿瘤相关巨噬细胞发生M2型极化来影响CRSwNP的发生发展。CYBB、CSF1R在Eos-CRSwNP组与nonEos-CRSwNP组的表达水平均高于对照组,提示二者在CRSwNP的形成过程中发挥了促进作用。CSF1刺激产生的巨噬细胞可持续对M2型巨噬细胞诱导产生的白细胞介素-4(IL-4)作出免疫应答,维持炎症的发生^[22]。CYBB作为NADPH氧化酶蛋白家族中的一员,亦可促进巨噬细胞的M2型极化^[23]。考虑到CRSwNP起病隐匿,通过血液检测其潜在标志物有助于疾病的早期诊断。本研究发现,CRSwNP患者血浆CYBB与CSF1水平均较健康人群升高,二者均可作为CRSwNP诊断的标志物,特别是二者联合应用的ROC曲线下面积达0.927,诊断效能较高。

综上所述,本研究结果提示CYBB和CSF1对于CRSwNP具有较好的临床诊断价值,可为CRSwNP的早期诊断及精准化治疗方案的制订提供帮助。但本研究未对CYBB和CSF1R在CRSwNP中的具体分子机制进行深入探究,未来可进一步探讨二者是否通过调节巨噬细胞M2型极化来影响CRSwNP的发生发展。

【参考文献】

- [1] Ghogomu N, Kern R. Chronic rhinosinusitis: the rationale for current treatments[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(3): 259-270.
- [2] Shi JB, Fu QL, Zhang H, et al. Epidemiology of chronic rhinosinusitis: results from a cross-sectional survey in seven Chinese cities[J]. *Allergy*, 2015, 70(5): 533-539.
- [3] Kong IG, Kim DW. Pathogenesis of recalcitrant chronic rhinosinusitis: the emerging role of innate immune cells[J]. *Immune Netw*, 2018, 18(2): e6.
- [4] Stevens WW, Schleimer RP, Kern RC. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2016, 4(4): 565-572.
- [5] 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.
- [6] Chen M, Zeng J, Yang Y, et al. Diagnostic biomarker candidates for pulpitis revealed by bioinformatics analysis of merged microarray gene expression datasets[J]. *BMC Oral Health*, 2020, 20(1): 279.
- [7] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [8] Odat H, Al-Ashqar R, Al-Ali RA, et al. The bacteriology of middle meatus and ethmoid sinuses in chronic rhinosinusitis: epidemiological analysis and surgical impact[J]. *Int Tinnitus J*,

- 2022, 26(2): 110-114.
- [9] Kim SL, Rank MA, Peters AT. The chronic rhinosinusitis practice parameter[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2023, 131(3): 307-310.
- [10] Jeong WJ, Lee CH, Cho SH, *et al.* Eosinophilic allergic polyp: a clinically oriented concept of nasal polyp[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2011, 144(2): 241-246.
- [11] Hopkins C. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(1): 55-63.
- [12] 周方伟, 张田, 金莹, 等. 25 羟基维生素 D₃ 在嗜酸粒细胞慢性鼻窦炎伴鼻息肉中的预测诊断价值[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2021, 56(10): 1051-1058.
- [13] Yu L, Jiang Y, Yan B, *et al.* Predictive value of clinical characteristics in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps: a cross-sectional study in the Chinese population[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2022, 12(5): 726-734.
- [14] Pan Y, Wu L, He S, *et al.* Identification of hub genes and immune cell infiltration characteristics in chronic rhinosinusitis with nasal polyps: bioinformatics analysis and experimental validation[J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 843580.
- [15] Rosetti F, Mayadas TN. The many faces of Mac-1 in autoimmune disease[J]. *Immunol Rev*, 2016, 269(1): 175-193.
- [16] 王丽祥, 方琦. 共刺激分子 CD80、CD86 及抗原递呈细胞 DC 在鼻咽疾病的应用研究[J]. *微创医学*, 2017, 12(2): 230-232.
- [17] Ma J, Jiang T, Tan L, *et al.* TYROBP in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(2): 820-826.
- [18] Lu J, Peng Y, Huang R, *et al.* Elevated TYROBP expression predicts poor prognosis and high tumor immune infiltration in patients with low-grade glioma[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 723.
- [19] Yu L, Li W, Lv G, *et al.* Correction to: *de novo* somatic mosaicism of CYBB caused by intronic LINE-1 element insertion resulting in chronic granulomatous disease[J]. *J Clin Immunol*, 2023, 43(1): 88-100.
- [20] Singel KL, Segal BH. NOX2-dependent regulation of inflammation[J]. *Clin Sci*, 2016, 130(7): 479-490.
- [21] Manthey CL, Moore BA, Chen Y, *et al.* The CSF-1-receptor inhibitor, JNJ-40346527 (PRV-6527), reduced inflammatory macrophage recruitment to the intestinal mucosa and suppressed murine T cell mediated colitis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0223918.
- [22] Svensson J, Jenmalm MC, Matussek A, *et al.* Macrophages at the fetal-maternal interface express markers of alternative activation and are induced by M-CSF and IL-10[J]. *J Immunol*, 2011, 187(7): 3671-3682.
- [23] Wang Z, Liu T, Wang Z, *et al.* CYBB-mediated ferroptosis associated with immunosuppression in *Mycobacterium leprae*-infected monocyte-derived macrophages[J]. *J Invest Dermatol*, 2024, 144(4): 874-887.e2.

(责任编辑: 蒋铭敏)

解放军医学杂志®