

分类号：
学 号：20172114109

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



中耳胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF- α 的表达与听力 损失的相关性研究

学 位 申 请 人	黄晓邦
指 导 教 师	顾兴智 副教授
申 请 学 位 类 别	临床医学硕士
专 业 名 称	耳鼻咽喉科学
研 究 领 域	耳鼻咽喉头颈外科基础与临床
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2020 年 06 月

分类号：
学 号：20172114109

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



中耳胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF- α 的表达与听力 损失的相关性研究

学 位 申 请 人	黄晓邦
指 导 教 师	顾兴智 副教授
申 请 学 位 类 别	临床医学硕士
专 业 名 称	耳鼻咽喉科学
研 究 领 域	耳鼻咽喉头颈外科基础与临床
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2020 年 06 月

**Correlation between IL-6, TNF- α Expression and Hearing Loss in
Middle Ear Cholesteatoma Epithelium**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

Huang Xiaobang

(Otorhinolaryngology)

Dissertation Supervisor: Prof. Gu Xingzhi

June, 2020

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：黄晓邦

时间：2020年6月5日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：黄晓邦

时间：2020年6月5日

导师签名：刘兴智

时间：2020年6月5日

摘要

目的: 探讨中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 在中耳胆脂瘤发生发展中的作用以及它们之间的关系, 研究 IL-6、TNF- α 表达水平和患者的听力损失之间的相关性。

方法: 收集 2017 年 1 月-2020 年 1 月期间于新疆维吾尔自治区人民医院耳鼻咽喉科就诊且住院行手术治疗的 89 例中耳炎患者, 其中 68 例中耳胆脂瘤患者, 21 例慢性化脓性中耳炎活动期患者。所有患者术前行纯音听阈检查评估听力, 对 18 例中耳胆脂瘤患者用酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测胆脂瘤上皮中 IL-6 和 TNF- α 的表达水平, 并分析两者的相关性。另取 6 例慢性化脓性中耳炎活动期患者的中耳病变粘膜组织用同法检测上述两种炎症因子。

结果: 189 例中耳炎患者中, 中耳胆脂瘤组中男性 30 例, 女性 38 例, 年龄为 18-60 岁, 平均年龄为 (38.35 \pm 15.15) 岁; 慢性化脓性中耳炎活动期组中男性 8 例, 女性 13 例, 年龄为 18-58 岁, 平均年龄为 (42.71 \pm 11.47) 岁。中耳胆脂瘤组和慢性化脓性中耳炎活动期组的纯音听阈 (PTA) 各指标间显著性差异结果如下: 21 例慢性化脓性中耳炎活动期患者气导平均听阈 (AC) 为: 57.80 \pm 13.72 dBHL, 68 例中耳胆脂瘤患者气导平均听阈 (AC) 为: 69.76 \pm 21.54 dBHL, $t=-3.011$, $P=0.004$; 21 例慢性化脓性中耳炎活动期患者骨导平均听阈 (BC) 为: 32.14 \pm 12.02 dBHL, 68 例中耳胆脂瘤患者骨导平均听阈 (BC) 为: 39.38 \pm 16.20 dBHL, $t=-1.889$, $P=0.062$; 21 例慢性化脓性中耳炎活动期患者骨气导差 (ABG) 为: 25.65 \pm 9.28 dBHL, 68 例中耳胆脂瘤患者骨气导差 (ABG) 为: 30.39 \pm 9.24 dBHL, $t=-2.048$, $P=0.044$ 。

2. 行 ELISA 检测 IL-6、TNF- α 的 18 例中耳胆脂瘤患者及 6 例慢性化脓性中耳炎活动期患者的 IL-6 和 TNF- α 表达水平分别为: IL-6: 0.98 \pm 0.44 ng/l, 1.52 \pm 0.61 ng/l, $t=2.220$, $P<0.05$; TNF- α : 18.64 \pm 8.55 ng/l, 28.29 \pm 5.64 ng/l, $t=2.354$, $P<0.05$ 。可见中耳胆脂瘤患者及慢性化脓性中耳炎活动期患者的 IL-6 和 TNF- α 表达水平之间都具有显著性差异。

3. 18 例中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中 TNF- α 的表达水平同纯音听阈呈正相关关系 ($r_sAC=0.654$, $P<0.05$; $r_sBC=0.526$, $P<0.05$; $r_sABG=0.678$, $P<0.05$); 而 IL-6 的表达水平同纯音听阈之间无显著相关性 ($r_sAC=0.367$, $P>0.05$; $r_sBC=0.316$, $P>0.05$; $r_sABG=0.289$, $P>0.05$)。

4. 18 例中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中 IL-6 和 TNF- α 表达水平之间存在正相关关系。

结论: 1. 中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 高表达与患者的听力损失呈正相关, 即呈现出 TNF- α 高表达, 患者的听力损失越严重的趋势。

2. 中耳胆脂瘤上皮中 IL-6 浓度与患者的听力损失之间无显著线性相关性。

3. 中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 浓度和 IL-6 浓度呈正相关。

关键词：中耳胆脂瘤；听力损失；IL-6；TNF- α ；相关性

Abstract

Objective: To investigate the role of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the cholesteatoma epithelium in the development and progression of cholesteatoma in patients with middle ear cholesteatoma, and to investigate the correlations between IL-6, TNF- α expression levels in cholesteatoma epithelium as well as hearing loss in patients with middle ear cholesteatoma.

Methods: We collected 89 patients with otitis media (including 68 patients with middle ear cholesteatoma and 21 patients with the active period of chronic suppurative otitis media) who were treated at the Department of Otolaryngology of People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region and they were surgically treated from January 2017 to January 2020. All patients underwent a pure-tone hearing threshold examination to evaluate hearing loss. The IL-6 and TNF- α expression in 18 patients with middle ear cholesteatoma were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression levels of IL-6 and TNF- α in cholesteatoma epithelium, as well as their correlation were analyzed. Another 6 patients with the active period of chronic suppurative otitis media were selected as the control group to detect the above inflammatory factors for the same method.

Results: 1. Among the 89 patients with otitis media, there were 30 males and 38 females, aged 8-80 years old, with an average age of (38.53 ± 17.76) years in cholesteatoma group; there were 8 males and 13 females, aged 13-58 years, with an average age of (42.38 ± 12.25) years in the the active period of chronic suppurative otitis media group. The significant differences in the parameters of the pure-tone hearing threshold between the middle ear cholesteatoma group and the control group were as follows: the air conduction threshold (AC) average of 21 patients with the active period of chronic suppurative otitis media was 57.80 ± 13.72 dBHL, and that in 68 patients with middle ear cholesteatoma was 69.76 ± 21.54 dBHL, $t = -3.011$, $P = 0.004$; the bone conduction hearing threshold (BC) average in 21 patients with the active period of chronic suppurative otitis media was 32.14 ± 12.02 dBHL, and that in 68 patients with middle ear cholesteatoma was 39.38 ± 16.20 dBHL, $t = -1.889$, $P = 0.062$; the bone air conduction gap (ABG) of 21 patients with the active period of chronic suppurative otitis media was 25.65 ± 9.28 dBHL, and that of 68 patients with middle ear cholesteatoma was 30.39 ± 9.24 dBHL, $t = -2.048$, $P = 0.044$.

2. The IL-6 and TNF- α expressions in 18 patients with middle ear cholesteatoma and 6 patients with the active period of chronic suppurative otitis media were detected by ELISA. The expression levels were: IL-6: 0.98 ± 0.44 ng / l, 1.52 ± 0.61 ng / l, $t = 2.220$, $P < 0.05$; TNF- α : 18.64 ± 8.55 ng / l, 28.29 ± 5.64 ng / l, $t = 2.354$, $P < 0.05$. It was obvious that there were significant differences between the expression levels of IL-6 and TNF- α in patients with middle ear cholesteatoma and the active period of chronic suppurative otitis media.

3. In the cholesteatoma epithelium of 18 patients with middle ear cholesteatoma, the expression levels of TNF- α were positively correlated with the pure-tone hearing threshold ($r_{sAC} = 0.654, P < 0.05; r_{sBC} = 0.526, P < 0.05; r_{sABG} = 0.678, P < 0.05$). But there was no significant correlation between the expression level of IL-6 and the pure tone hearing threshold ($r_{sAC} = 0.367, P > 0.05; r_{sBC} = 0.316, P > 0.05; r_{sABG} = 0.289, P > 0.05$).

4. There was a linearly positive correlation between the expression levels of IL-6 and TNF- α in the cholesteatoma epithelium of 18 patients with middle ear cholesteatoma.

Conclusion: 1. There was a positive correlation between the high expression of TNF- α in middle ear cholesteatoma epithelium and the patient's hearing loss, namely that with the TNF- α concentration increased, the patient's hearing loss got more severe.

2. There was no significant linear correlation between IL-6 concentration in middle ear cholesteatoma epithelium and hearing loss in the middle ear cholesteatoma patients.

3. There was a positive correlation between TNF- α concentration and IL-6 concentration in the middle ear cholesteatoma epithelium.

Keywords: Middle ear cholesteatoma; Hearing loss; IL-6; TNF- α ; Correlation

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	IV
中英文缩略词对照表.....	V
中耳胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF- α 的表达与听力损失的相关性研究.....	1
第一章 前言.....	1
第二章 材料与方法.....	3
1. 材料.....	3
2. 方法.....	3
第三章 结果.....	7
第四章 讨论.....	12
第五章 结论.....	17
参考文献.....	18
文献综述.....	22
参考文献.....	27
致谢.....	31
作者简介.....	32
导师评阅表.....	错误!未定义书签。

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
IL-6	Interleukin-6	白细胞介素-6
TNF- α	tumor necrosis factor-alpha	肿瘤坏死因子- α
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附测定法
PTA	pure-tone audiometry	纯音听阈测试
AC	air conduction	气导
BC	bone conduction	骨导
ABG	air-bone gap	骨气导差
RANKL	receptor activator of nuclear factor-KB ligand	破骨细胞分化因子
TNFR I	tumor necrosis factor receptor I	肿瘤坏死因子受体 I

中耳胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF- α 的表达与听力损失的相关性研究

第一章 前言

(Introduction)

中耳胆脂瘤是耳鼻咽喉头颈外科常见病、多发病之一，全球共有约 500 万中耳胆脂瘤患者^[1]。据世界卫生组织估计^[2]，全球有 65,000,000-330,000,000 人罹患慢性化脓性中耳炎，50%有听力障碍。国外学者 Curveilhaer 于 1829 年首次报道胆脂瘤，是一种以角化鳞状上皮陷入中耳腔为特点的中耳炎症性疾病。它曾经被视为慢性中耳炎中的一种特殊类型，但由于病理分型不同，2012 年中华医学会耳鼻喉分会耳科学组将其单独划分为中耳胆脂瘤^[3]。

中耳胆脂瘤的典型特点为骨质破坏^[4]，中耳胆脂瘤患者的中耳结构遭破坏后首先产生传导性耳聋，在临床中观察到部分患者同时合并感音神经性耳聋。中耳胆脂瘤患者往往因长期特殊恶臭性耳漏伴随听力下降而就诊，影像学往往显示听小骨多受侵蚀，听骨链受到破坏，进而发生不可逆转的听力损失，纯音听阈检查多提示为典型的传导性耳聋，存在骨气导差，而周围骨质遭到破坏后产生面瘫、眩晕等颅内外严重并发症，如不重视，病情进展可能会威胁患者的生命安全^[5,6]。故对于中耳胆脂瘤而言，早诊断、早治疗是关键。

胆脂瘤是一种角化上皮细胞囊，它是良性的，主要由三层构成：胆脂瘤上皮，囊内容物，胆脂瘤基质。其中胆脂瘤上皮有侵蚀骨质的作用。

目前认为中耳胆脂瘤的形成机制是一个复杂的多种因素参与的病理过程，虽已经进行了长期的探讨，但仍不清晰，可能通过多种机制作用，但共同结果是使中耳胆脂瘤具有侵袭性、破坏性、类似肿瘤的扩张性特点的生物学特性。

中耳胆脂瘤作为中耳的一种炎症性疾病，炎症反应过程中大量炎症细胞被激活产生各种细胞因子^[7,8]。1975 年 TNF- α 被首次发现，是肿瘤坏死因子家族中的一种，具有广泛的生物学活性，其不仅可作用于肿瘤细胞，也可以作用于非肿瘤细胞，是主要由单核-巨噬细胞分泌产生的多肽，分子量约 17KD，作为体内重要的促炎性细胞因子，它在免疫环境中充当免疫介质的作用介导局部和全身性炎症反应。目前的研究显示 TNF- α 与多种炎症性疾病有关，如类风湿性关节炎^[9]，牙周炎^[10]等。多项研究表明在胆脂瘤上皮及其基质中的多种炎症细胞内存在 TNF- α 高表达^[11,12]。

有国外学者 Vitale RF 等^[13]提出中耳上皮细胞受炎症刺激而激活产生 TNF- α ，促进炎症发展、细胞增殖和分化。Albino AP 等^[14]提出 TNF- α 可刺激角化细胞和鳞状上皮细胞增生致使碎屑产物不断堆积逐步形成胆脂瘤。此外这些角化碎屑还作为刺激物

使炎性细胞增多,产生更多的 TNF- α 形成恶性循环。汪志伟等^[15]曾报告用免疫组化染色显示 TNF- α 主要分布在胆脂瘤上皮的基层层。上皮基质中中性粒细胞、浆细胞等也可分泌 TNF- α 。TNF- α 可通过自分泌刺激成骨细胞产生破骨刺激因子和集落刺激因子使破骨细胞聚集从而加强破骨作用,另外还可以刺激周围的炎症细胞产生一系列胶原酶(如 MMP-2)作用于骨基质产生协同破骨作用。TNF- α 可以通过直接和间接两种方式促进骨溶解过程,而机体中的骨代谢这个动态平衡被打破,这也一定程度上解释了中耳胆脂瘤骨破坏。中耳胆脂瘤患者发生骨破坏,听骨链受到侵蚀,从而产生传导性耳聋,患者听力受到影响。

IL-6 是一种具有多功能的促炎细胞因子,由 212 个氨基酸编码,N 末端被切割,分子量大小在 23-32KD 之间,广泛作用于各种慢性炎症性和自身免疫性疾病中。炎症环境中,巨噬细胞、淋巴细胞诱导细胞因子的级联反应产生细胞因子,促进 IL-6 的释放^[7,8],多项研究表明 IL-6 可通过激活 AKT / STAT3^[16]等多种信号传导通路(如 Janus 酪氨酸家族激酶(JAK)信号转导子和转录激活剂(STAT)途径^[17],细胞外信号调节激酶 1 和 2(ERK1 / 2)-丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径,以及磷酸肌醇 3-激酶(PI3-K)途径)促进细胞增殖并在体内和体外抑制细胞凋亡^[18,19]。通过增加其与信号转导子和转录激活因子 3(STAT3)的结合,IL-6 既有促进炎症的作用又有抑制炎症反应的作用。

目前对中耳胆脂瘤机制的研究主要集中在细胞过度增殖、细胞凋亡异常及胆脂瘤骨质破坏三个方面^[20]。生物化学理论研究表明大量不同的刺激后由中耳胆脂瘤产生的酶和细胞因子导致骨溶解和骨破坏^[21,22],白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子在中耳胆脂瘤发生发展中发挥着重要的作用^[23]。中耳内反复周期性的炎症反应导致永久性的骨破坏,听骨链受到破坏后声音传播受到影响,患者出现严重的听力损害。虽然中耳胆脂瘤中炎症介质和胆脂瘤骨质破坏的报道很多,所涉及的种类及数量很多^[23],但国内外对于中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中炎症介质和其与听力损失相关性的报道尚较少。

本研究通过行纯音测听(pure-tone audiometry, PTA),ELISA 法定量测量中耳胆脂瘤上皮中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达水平,探讨其在中耳胆脂瘤中的作用及其与听力损害之间的相关性,为中耳胆脂瘤的治疗提供参考依据和启发。

第二章 材料与方法

(Materials & Methods)

1. 材料

1.1 主要实验仪器

IL-6 ELISA Kit	默沙克 武汉
TNF- α ELISA Kit	默沙克 武汉
多功能酶标仪 (Varioskan LUX)	Thermo 美国
-80 $^{\circ}$ C超低温冰箱	Thermo 美国
纯水系统	Millipore 美国
37 $^{\circ}$ C温箱	Thermo 美国
4 $^{\circ}$ C冰箱	Thermo 美国
离心机	Thermo 美国
计时器	东恒 常州

1.2 实验试剂

RIPA 裂解液 (调整 pH 至 7.5, 4 $^{\circ}$ C保存)		默沙克 武汉
组分	浓度	
Tris	50mM	
NaCl	150mM	
TritonX-100	1%	
脱氧胆酸钠	1%	
SDS	0.1%	
蛋白酶抑制剂		默沙克 武汉
浓缩洗涤液		默沙克 武汉
显色剂		默沙克 武汉
终止液		默沙克 武汉
封板胶纸		默沙克 武汉

2. 方法

2.1 研究对象

选取 2017 年 1 月-2020 年 1 月经新疆维吾尔自治区人民医院确诊在耳鼻咽喉科住院且行手术治疗、资料完整的慢性中耳炎患者 (包括 68 例中耳胆脂瘤患者和 21 例慢性化脓性中耳炎活动期患者), 术中采集中耳胆脂瘤上皮或中耳鼓窦入口病变粘膜组织标本并收集其病案资料。本课题设计经新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会审批通过, 所有受试者均签署参加本项目书面知情同意书。

2.2 纳入及排除标准

2.2.1 纳入标准

- (1) 年龄在 18-60 岁之间；
- (2) 根据《中耳炎临床分类和手术分型指南（2012）》^[3] 诊断为一侧或两侧慢性中耳炎；
- (3) 临床资料完整；
- (4) 签署书面知情同意书。

2.2.2 排除标准

- (1) 先天发育异常、耳发育畸形者；
- (2) 合并真菌感染者；
- (3) 由于外伤及外伤后继发感染者；
- (4) 由于药物、突发性耳聋、噪声性耳聋等导致的神经性耳聋；
- (5) 家族遗传性耳聋者；
- (6) 合并糖尿病、风湿病等基础代谢性疾病；
- (7) 合并血液病、免疫病等全身性疾病；
- (8) 外耳道胆脂瘤等其他胆脂瘤患者。

2.3 听力学检查

听力学检查均在新疆维吾尔自治区人民医院耳鼻咽喉科门诊部由听力检测诊断室操作熟练的技术人员完成。

2.3.1 纯音听阈测试

在标准隔声室内，用 MADSEN 科丽纳 Astera 纯音测听仪，经 ISO 标准零级每年校准一次，在隔音室内完成测试，噪声容许在 27 dB 以内。先测气导后测骨导，骨导耳机置于乳突部，用窄带噪声掩蔽对侧耳，用升 5 降 10 法测试，采取 B-71 型骨震子及 TDH-39 型头戴式耳机分别测试骨导和气导听阈，测试频率是语频段 250Hz、500Hz、1kHz、2kHz、4kHz、8kHz，受检者能够理解检测技术人员的指令并配合作出相应反应。

2.3.2 听力损失标准

纯音听阈测试按照 1997 年制定国际标准^[20]，根据 0.5kHz、1.0kHz、2.0kHz、4.0kHz 共 4 个频率计算气导(AC)平均阈值、骨导(BC)平均阈值和骨气导差(ABG)评估患者术前的听力损失。

2.4 标本收集

标本采集由一名经验丰富的耳外科主任医师在术中于鼓窦入口处取中耳胆脂瘤上皮或中耳病变粘膜组织，标本取下后迅速用无菌生理盐水冲洗表面血液，将其放入冻存管后置于手术室液氮内便于转运至-80℃超低温冰箱。

2.5 实验方法

采购预先确定的 2 个目标蛋白 (IL-6、TNF- α) 的检测指标的相应 ELISA 试剂盒, 通过酶标仪进行检测, 获得实验样本和标准品的吸光度值。

数据量和质控标准: 每个样品对 2 个指标进行检测, 单个指标设置 2 个复孔, 同时设置标准品孔 (2 个复孔) 和空白孔; 复孔批间、批内变异系数分别小于 11% 和 9%。

2.5.1 总蛋白提取

- (1) 样本液氮放置, 添加 30 μ L RIPA 裂解液, 冰上放置;
- (2) 超声处理, 使蛋白裂解充分;
- (3) 离心机 4 $^{\circ}$ C 预冷, 待裂解后, 12000rpm, 离心 10min, 收集上清即为总蛋白液。

2.5.2 蛋白浓度测定

- (1) 从 -20 $^{\circ}$ C 取出 2mg/mL BSA, 置冰上融化后, 备用;
- (2) 取若干 1.5mL 离心管, 分别标记为 0, 1, 2, 3, 5, 7, 蛋白 1, 蛋白 2, 蛋白 3.....;
- (3) 按每管 400 μ L 确定 BCA 工作液的量, 将 A 液和 B 液 50: 1 均匀混合, 避光备用;
- (4) 按下表在各管中加入各种试剂;

标签/试剂	BSA 体积 (μ L)	蛋白 体积 (μ L)	BCA 工作液 体积 (μ L)
0	0	20	400
1	1	19	400
2	2	18	400
3	3	17	400
5	5	15	400
7	7	13	400
蛋白 1	2	18	400
蛋白 2	2	18	400
蛋白 3	2	18	400

- (5) 涡旋混匀, 瞬时离心, 将管壁液体离下;
- (6) 37 $^{\circ}$ C 水浴锅避光孵育 30min;
- (7) 按每管两个复孔分装至 96 孔酶标板, 注意避免产生气泡;
- (8) 多功能酶标仪检测 OD 562 nm, 根据标准曲线, 分别计算不同蛋白的浓度。

2.5.3 ELISA 检测人中耳 IL-6、TNF- α 浓度

提前 20min 把试剂盒从冰箱里取出来, 平衡至室温。

- (1) 加样: 标准品设定 5 个浓度点, 按照各自说明书进行标准品配制, 加入 50 μ L 不同浓度的标准品, 空白孔设定 1 个孔加入 50 μ L 蒸馏水 (空白对照孔不加样品及酶标试剂, 其余各步骤操作相同)、待测样品孔加 50 μ L 测样品。加样时将样品加于酶标板孔孔底, 尽可能不碰及孔壁, 轻轻摇晃混匀。

- (2) 温育：用封板膜封板，之后置于 37°C 温育 30 分钟。
- (3) 配液：用蒸馏水将 20 倍浓缩洗涤液稀释后备用。
- (4) 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，之后每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复进行 5 次，在吸水纸上拍干。
- (5) 加酶：除了空白孔以外的每孔加入酶标试剂 50 μ L。
- (6) 温育：用封板膜封板，之后置于 37°C 温育 30 分钟。
- (7) 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，之后每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复进行 5 次，在吸水纸上拍干。
- (8) 显色：每孔先加入显色剂 A 50 μ L，然后加入显色剂 B 50 μ L，轻轻混匀，37 °C 避光条件下显色 15 分钟。
- (9) 终止：每孔加终止液 50 μ L，轻轻混匀，终止反应（此时蓝色立转黄色），在加终止液后 15 分钟以内将酶标板放置于已经预热的酶标比色仪中测定。
- (10) 测定：以空白孔调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。

每个标准品和样本的 OD 值应减去 0 PG/ml 标准品孔的 OD 值，然后根据标准品的吸光度值用程序算出标准曲线。将样品吸光度值代入标准曲线，得到各样本 OD 值对应的 IL-6 和 TNF- α 的浓度。

2.6 统计学分析

- (1) 数据录入 Microsoft Excel 2016，数据分析使用 SPSS 25.0 统计学软件；
- (2) 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述，组间对比予以两独立样本 t 检验。
- (3) 用 Pearson 线性相关检验和 Spearman 等级相关检验分析细胞因子表达水平与评估听力损失的听力学指标之间的关系。
- (4) 年龄分组后各组比较时，如正态分布方差齐则采用 F 检验分析；如不满足正态分布则采用非参数 Kruskal-Wallis H 检验，当组间有差异时采用 Bonferroni 法校正显著性水平的事后两两比较。
- (5) 采用简单线性相关回归分析 IL-6 与 TNF- α 之间的关系。
- (6) 采用双侧检验， $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。
- (7) 用 GraphPad Prism 6.0 软件作图。

第三章 结果

(Results)

1. 89 例中耳炎患者术侧耳纯音听阈测试结果比较

89 名患者中男性 38 例，年龄为 18-60 岁，平均年龄为 (38.39±14.23) 岁，女性 51 例，年龄为 18-60 岁，平均年龄为 (40.12±14.66) 岁。68 例中耳胆脂瘤患者中，男性 30 例，女性 38 例，年龄为 18-60 岁，平均年龄为 (38.35±15.15) 岁；21 例慢性化脓性中耳炎中，男性 8 例，女性 13 例，年龄为 18-58 岁，平均年龄为 (42.71±11.47) 岁。

如表 1-1 所示，89 名中耳炎患者 89 耳的气导平均听阈、骨导平均听阈及骨气导差对比显示，中耳胆脂瘤组和慢性化脓性中耳炎活动期组之间除骨导平均听阈无显著差异外，气导平均听阈及骨气导差均有显著差异。

表 1-1 89 例中耳炎患者术侧耳纯音听阈测试结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1-1 Comparison of pure-tone audiometry test results of the operative ears in 89 cases with otitis

分组/指标	例数 (n)	AC (dBHL)	BC (dBHL)	ABG(dBHL)
慢性化脓性中耳炎活动期	21	57.80±13.72	32.14±12.02	25.65±9.28
中耳胆脂瘤	68	69.76±21.54	39.38±16.20	30.39±9.24
<i>t</i>		-3.011	-1.889	-2.048
<i>P</i>		0.004	0.062	0.044

2. 中耳胆脂瘤各年龄分组患者的听力损失比较

参照刘海红等^[25]年龄分组方法将中耳胆脂瘤组患者分为四个年龄组后比较各组患者的纯音听阈结果，结果见表 1-2 和图 1-1、图 1-2、图 1-3。除 18-30 岁年龄组和 51-60 岁年龄组在骨导平均听阈方面存在统计学差异（调整后 $P=0.004$ ）外其他各组之间均不存在统计学差异，提示 51-60 岁组中耳胆脂瘤老年患者骨导听阈明显高于 18-30 岁组青年。

表 1-2 中耳胆脂瘤各年龄分组患者的听力损失比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table1- 2 Comparison of the hearing loss of patients with middle ear cholesteatoma by age groups($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (n)	AC (dBHL)	BC (dBHL)	ABG (dBHL)
18-30 岁	27	63.61 \pm 17.24	32.13 \pm 13.39	31.48 \pm 8.02
31-40 岁	5	56.00 \pm 13.47	33.50 \pm 6.75	22.50 \pm 8.05
41-50 岁	18	73.75 \pm 27.51	43.06 \pm 19.29	30.69 \pm 11.02
51-60 岁	18	78.82 \pm 18.84	48.19 \pm 13.65	30.63 \pm 9.01
<i>H/H/F</i>		7.717	12.537	1.373
<i>P</i>		0.052	0.006*	0.259

注：*表示 18-30 岁和 51-60 岁两组比较， $P < 0.05$ 。

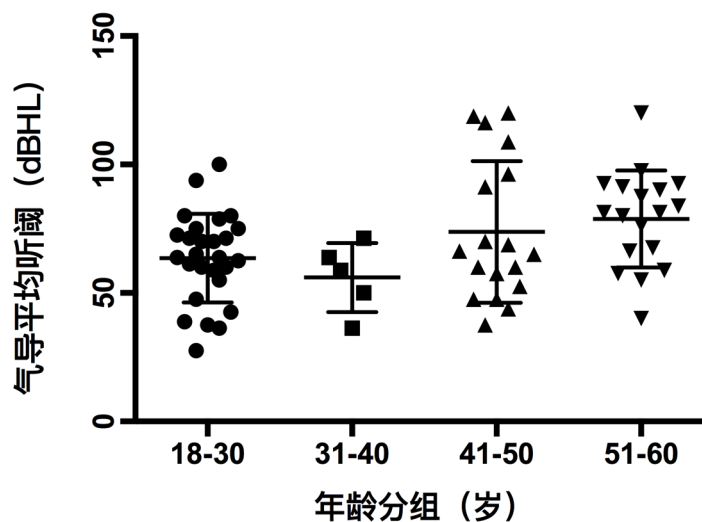


图 1-1 中耳胆脂瘤各年龄分组患者的气导平均听阈比较

Figure 1-1 Comparison of air conductive thresholds average of patients with middle ear cholesteatoma by age groups

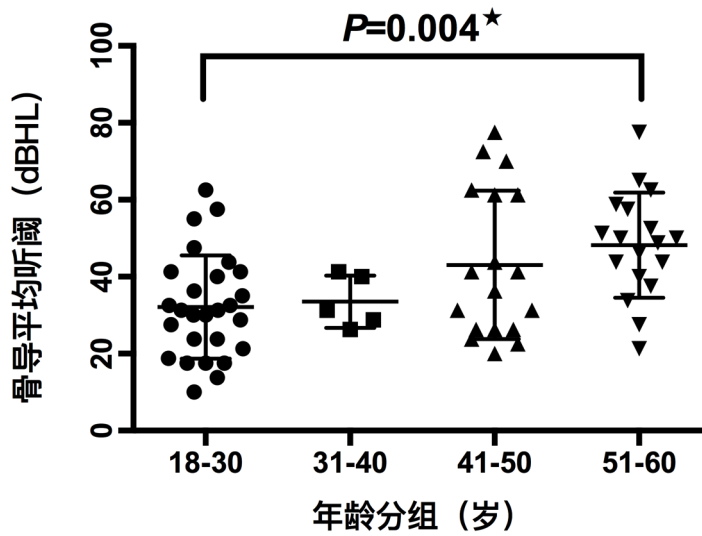


图 1-2 中耳胆脂瘤各年龄分组患者的骨导平均听阈比较

Figure1- 2 Comparison of bone conductive thresholds average of patients with middle ear cholesteatoma by age groups

注：*18-30 岁和 51-60 岁在骨导平均听阈方面存在统计学差异 ($P=0.004$)。

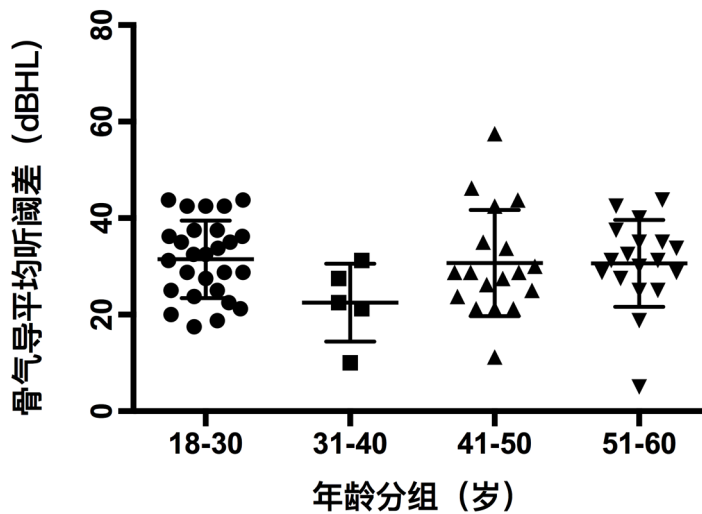


图 1-3 中耳胆脂瘤各年龄分组患者的骨气导平均听阈差比较

Figure1- 3 Comparison of air-bone conductive thresholds gap of patients with middle ear cholesteatoma by age groups

3. 中耳胆脂瘤组和慢性化脓性中耳炎活动期组病变组织中 IL-6、TNF- α 的表达比较

18 例中耳胆脂瘤患者中男性 9 例，女性 9 例，年龄为 18-60 岁，平均年龄为 (35.17 \pm 16.71) 岁。6 例慢性化脓性中耳炎活动期患者中男性 3 例，女性 3 例，年龄为 18-53 岁，平均年龄为 (40.67 \pm 12.29) 岁。IL-6、TNF- α 在中耳胆脂瘤患者胆脂瘤

上皮中的表达水平和其在慢性化脓性中耳炎活动期患者病变粘膜中的表达水平有显著差异 ($P < 0.05$)，见表 1-3。

表 1-3 中耳胆脂瘤和慢性化脓性中耳炎活动期组病变组织中 IL-6、TNF- α 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1-3 Comparison of IL-6 and TNF- α expression in the pathological tissues of middle ear cholesteatoma group and active period of chronic suppurative otitis media group ($\bar{x} \pm s$)

标本类型	例数 (n)	IL-6 ($\bar{x} \pm s$)	TNF- α ($\bar{x} \pm s$)
中耳胆脂瘤	18	0.98 \pm 0.44	18.64 \pm 8.55
慢性化脓性中耳炎活动期	6	1.52 \pm 0.61	28.29 \pm 5.64
<i>t</i>		2.220	2.354
<i>P</i>		0.038	0.029

注：IL-6、TNF- α 单位：ng/l。

4. 18 例中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF- α 的表达水平和听力损失的相关性

如表 1-4，在中耳胆脂瘤中 TNF- α 与纯音听阈 (AC、BC、ABG) 呈正相关 ($P < 0.05$)，而 IL-6 与纯音听阈无线性相关性 ($P > 0.05$)。

表 1-4 18 例中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF- α 的表达水平和听力损失的相关性

Table 1-4 Correlation between the expression levels of IL-6 and TNF- α in the cholesteatoma epithelium as well as hearing loss of 18 patients with middle ear cholesteatoma

纯音听阈	IL-6		TNF- α	
	<i>r_s</i>	<i>P</i>	<i>r_s</i>	<i>P</i>
气导平均听阈	0.367	0.134	0.654	0.003
骨导平均听阈	0.316	0.201	0.526	0.025
骨气导差	0.289	0.246	0.678	0.002

5. 18 例中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中 IL-6 和 TNF- α 的表达水平之间的关系

如图 1-4，在 18 例中耳胆脂瘤患者的胆脂瘤上皮中 TNF- α 与 IL-6 的表达水平之间存在正相关关系。

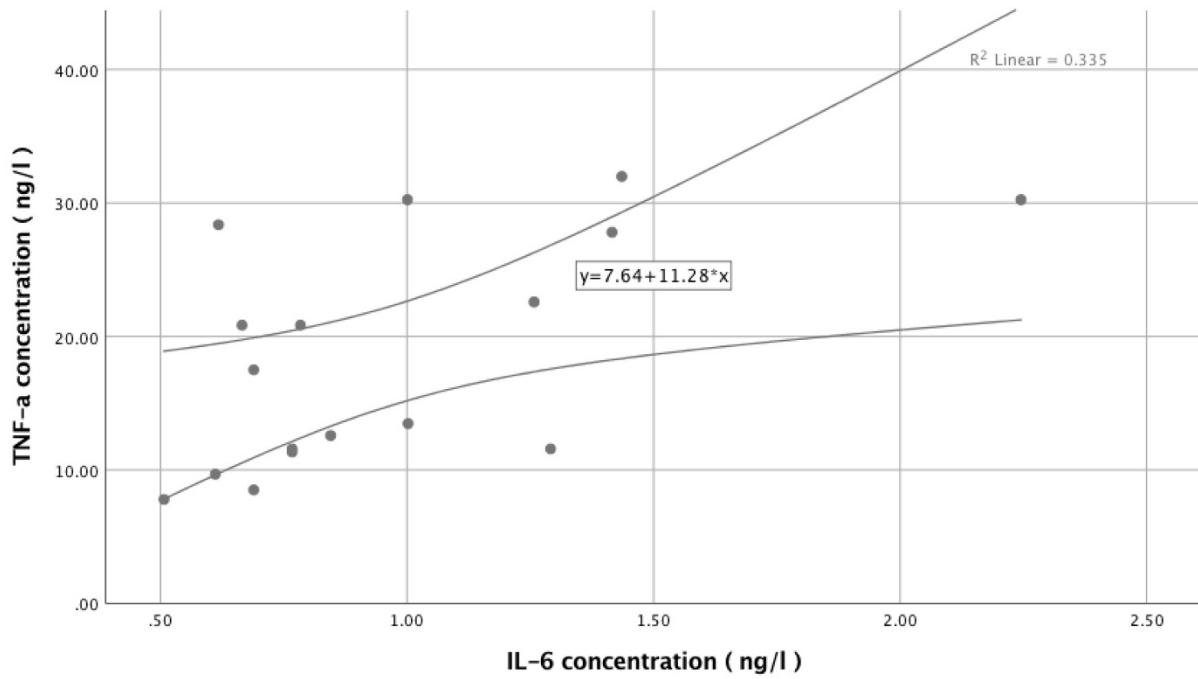


图 1-4 18 例中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中 IL-6 和 TNF- α 的表达水平之间的关系

Figure 1-4 Relationship between IL-6 and TNF- α expression levels in cholesteatoma epithelium in 18 patients with middle ear cholesteatoma

第四章 讨论

(Discussion)

中耳炎按照 2012 年中华医学会耳鼻咽喉分会标准^[3]分为分泌性中耳炎、化脓性中耳炎（急性化脓性中耳炎与慢性化脓性中耳炎静止期、活动期）、中耳胆脂瘤（特指后天性胆脂瘤）和特殊类型的中耳炎。中耳胆脂瘤在过去被称为胆脂瘤型中耳炎其中，中耳胆脂瘤的发病机制 200 多年来一直被研究但至今不明，它不是肿瘤但呈侵袭性生长的特点引起专家、学者的广泛兴趣。

作为慢性炎性疾病，中耳胆脂瘤在发病过程中也同化脓性中耳炎一样，机体的炎症系统会参与进来进行免疫防御，在这个过程中听骨链受到骨破坏作用被侵犯。有研究表明胆脂瘤的骨破坏主要在听骨链上体现^[26]。有学者^[27]报道称将术中取下的组织在扫描电镜下研究发现中耳胆脂瘤患者的听小骨破坏较其他两种慢性中耳炎严重，且多为砧骨最先受到破坏，这种骨破坏起于溶骨蛋白酶等各种小蛋白因子参与的瀑布反应。Xie^[28]等认为可能是由于破骨细胞活化，压力坏死，酸溶解，炎症介质和一些生物分子作用导致溶骨发生。中耳胆脂瘤可破坏周围骨质，这种特点致使产生各种严重并发症的危险大大增加，但目前国内外学者对于中耳胆脂瘤的机制研究尚未得到明确结果。目前主要有破骨细胞活化理论，压力坏死理论，酸裂解理论，酶介导理论以及炎症介质理论等几种解释，当然，这几种理论之间不是截然不相关，而是相辅相成的。

1. 中耳胆脂瘤和慢性化脓性中耳炎中耳传音功能的差异

从听觉生理来看，声音从外耳传入内耳主要分为空气传导和骨传导两种途径，前者经外耳、鼓膜、听骨链、卵圆窗后振动内淋巴液；后者经颅骨振动直接使外淋巴液受到振动，内淋巴液也随之振动，再使基底膜振动，刺激内耳毛细胞产生神经递质，经神经冲动传导至听觉皮层而产生听觉，前者为主要传播途径。因此在声音传播途径中任何一块出现问题都会导致传导性听力损失。中耳胆脂瘤和慢性化脓性中耳炎活动期查体都有鼓膜穿孔，纯音测听结果均表现为传导性耳聋，有时可伴神经性耳聋，二者都可存在骨气导差，影像学都可以有不同程度的骨质破坏，后者骨质破坏常引发各种颅内外并发症^[3]。

本研究显示，中耳胆脂瘤患者和慢性化脓性中耳炎活动期患者听力的骨导变化之间无显著差异（ $P > 0.05$ ），则两组具有可比性。两组患者间听力的差异主要在气导平均听阈和骨气导差两个指标体现（见表 1），中耳胆脂瘤患者气导平均听阈、骨气导差较慢性化脓性中耳炎活动期更大（ $P < 0.05$ ），这和学者 Akarcay^[29]等曾在 915 例患者的大样本研究中报告的结果一致，他们表明胆脂瘤患者的听骨链破坏比慢性化脓性中耳炎更常发生，骨破坏作用在中耳胆脂瘤中更明显，听骨侵蚀越重骨气导差越大，这也同 Martins Olga^[30]等研究结果一致。听骨链作为声音由外耳向内耳有效传递

的传导环节, 相比于慢性化脓性中耳炎活动期, 中耳胆脂瘤中听骨链受破坏更明显则导致更严重的传导性耳聋。

本研究结果显示在中耳胆脂瘤患者各年龄组进行比较中, 发现 51-60 岁组老年患者骨导听阈明显高于 18-30 岁组青年患者, 在统计学上有显著性差异($P=0.004$), 但其余两两年龄组之间比较差异并无统计学意义。可能是由于胆脂瘤的破坏性导致各年龄组听骨链破坏, 而老年组患者的听骨链破坏比青年组更为明显。通常来讲, 中耳胆脂瘤的听力损失以传导性听力下降为主, 常继发于听骨受侵蚀或者听骨链活动性障碍^[31], 在临床上也可见到传导性耳聋伴随感音神经性耳聋者。而有关中耳胆脂瘤和感音神经性耳聋的联系方面的研究尚不明确^[32], 各学者对此意见不一, 刘红兵^[33]等报道称慢性化脓性中耳炎活动期和中耳胆脂瘤患者骨导听阈提高有的是由于内耳遭到破坏也有的是因为和中耳病变导致传音系统的质量、劲度等变化相关。这和相关骨结构的破坏及听骨链的质量增加导致听骨链共振频率的变化及骨导阈值升高的观点一致。

Gulustan Filiz^[34]等在对中耳胆脂瘤患者骨导听力的研究中指出胆脂瘤会对圆窗产生机械堵塞作用, 中耳和听骨链的共振频率受影响, 从而导致骨导阈值的提高。它们还发现晚期胆脂瘤的骨导阈值较高, 可能与胆脂瘤基质释放毒素及炎症因子作用于圆窗膜有关。Rosito^[35]等报道中耳胆脂瘤患者随着 ABG 增加骨导平均听阈也升高, 感音神经性耳聋也加重。然而也有学者曾报道中耳胆脂瘤和感音神经性耳聋之间未见关联^[32]。

与中耳胆脂瘤相关的传导性听力损失相关的一部分原因可以用听骨的侵蚀破坏、听骨链的破坏或断裂、中耳胆脂瘤基质的存在来解释。胆脂瘤在中耳腔内听小骨周围, 由于它直接毗邻完整的听小骨, 当声音传来时它会限制听小骨的振动; 胆脂瘤上皮中的炎症因子可以促进听小骨的骨吸收, 使听小骨的质量和劲度下降甚至听骨链发生破坏、断裂; 胆脂瘤也可能通过减少中耳通气量、降低鼓膜振动能力等其他机制影响中耳胆脂瘤患者的传导性听力损失^[30]。

有学者 Steven K Juhn^[36]等曾报道经过实验证明在中耳炎发病机制中, TNF- α 可诱导大鼠产生感觉神经性耳聋, 但具体机制还不清楚, 可能是由于大鼠耳蜗的皮质和侧韧带中存在 TNFR I 表达从而经 TNF- α 诱导 NO 合酶和钾离子循环紊乱等机制使内耳功能发生障碍而导致感音神经性耳聋的产生。

2. TNF- α 在中耳胆脂瘤上皮中的高表达及其与听力损失的相关性

纯音听阈是临床上最常用最普遍也是对基层医院最实用的听力损失评估方法, 我们的研究显示 TNF- α 的高表达和中耳胆脂瘤患者纯音听阈的气导平均阈值、骨导平均阈值以及骨气导平均阈值差之间均呈正相关, 也即中耳胆脂瘤上皮组织中 TNF- α 的高表达与听力损失之间呈正相关关系, 说明 TNF- α 在中耳胆脂瘤中起着重要的作用。多位学者提出从分子水平看, 中耳胆脂瘤上皮细胞释放 TNF- α 后, TNF- α 可诱导 RANKL、MMP (促进胆脂瘤上皮细胞增殖)^[37, 38]、NO、PGE2 通过促进破骨细胞增多, 减少成骨细胞数量产生破骨作用而导致成骨破骨失衡而对周围骨质进行骨破坏, 它也可以直接作用于骨基质, 促进破骨细胞的破骨效应。Artono^[39]等学者通过免疫组化检测

TNF- α 发现 TNF- α 表达水平和中耳术中记录包括听骨及周围骨在内的破坏程度之间呈正相关。中耳胆脂瘤病变组织所在的炎症环境中的多种炎症细胞分泌 TNF- α ，且可以促进一系列级联反应产生对周围骨质的破坏性影响，导致包括听小骨、颞骨在内的骨质吸收与破坏。而当听骨链受到侵犯，在声音传播过程中听骨链质量、劲度下降，其振动频率受限，进而导致患者听力下降。通过抑制 TNF- α 的生物学活性来治疗风湿性疾病^[9]、克罗恩病^[40]已经比较成熟，理论来讲类似的治疗方案也可能对治疗中耳胆脂瘤有所作用，但很遗憾尚无大样本研究。仅有一例个案报道^[41]指出一个合并史提芬强生症候群的中耳胆脂瘤病人在未予以手术干预中耳仅服用英夫利昔单抗的情况下，患者中耳胆脂瘤自发痊愈。

在本研究中，我们定量检测了中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮内 TNF- α 、IL-6 的表达水平，分析它们同患者听力损失的相关性，发现：TNF- α 和气导平均听阈、骨导平均听阈及骨气导差之间存在正相关关系（ $r_{s1}=0.654$ ， $P_1=0.003$ ； $r_{s2}=0.526$ ， $P_2=0.025$ ； $r_{s3}=0.678$ ， $P_3=0.002$ ），即中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 高表达与患者的听力损失呈正相关。我们的研究结果同 Kuczkowski Jerzy^[7]等的结果基本一致，而且他们还表明中耳胆脂瘤中 TNF- α 、IL-6 表达水平与胆脂瘤的骨破坏程度及侵袭程度呈正相关。课题组目前主要考虑由于炎症环境中炎症因子对于患者局部骨质的破坏方面影响患者的听力导致患者听力损失，而又由于这种骨质破坏性是不可逆的，如不及早发现及干预治疗，患者的听力势必受到严重影响。由于病程长短不同，长时间的炎症环境中 TNF- α 可能通过不断侵袭圆窗膜而侵袭内耳环境，从而造成内耳功能障碍影响内耳感音功能加剧听力损失的程度。

3. IL-6 在中耳胆脂瘤上皮中的表达及其与听力损失的相关性

IL-6 通过激活免疫系统，募集单核细胞，刺激内皮细胞和平滑肌细胞表达，抑制调节性 T (Treg) 细胞分化和 T 细胞凋亡，起到促炎作用。IL-6 可通过与信号转导子和转录激活因子 3 (STAT3) 的结合促进上皮细胞增殖，抑制上皮细胞的凋亡。国内谌星^[42]曾报道中耳胆脂瘤上皮中存在 IL-6 高表达，且通过 JAK-STAT 通路的异常激活参与了中耳胆脂瘤上皮细胞过度增殖过程。然而我们的研究表明在中耳胆脂瘤中，IL-6 和患者的听力损失无显著线性相关性，这与 Wei Liu^[17]等报道的骨破坏程度与 IL-6 无显著相关性结论一致，而这和 Yingzhe Wu 等^[37]在血清中所得结果不一致，分析可能的原因有三：一是由于 IL-6 受到多种因素的调控，如 IL-1、TNF- α 、IL-6 相互作用和影响，共同参与介导中耳胆脂瘤骨质破坏这一过程；二是有研究表明^[35]，在培养胆脂瘤上皮细胞过程中用 ELISA 检测其分泌的细胞因子 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-8 的水平发现细胞因子的表达水平是随着培养时间而产生变化的，总体呈现为一个下降的趋势，而作为对照组的外耳道皮肤中相同因子的表达也在变化中。所以这也提示我们胆脂瘤上皮中的细胞因子并不是一定高于对照组的，而患者的病程长短不一，这也给临床基础研究带来了一定的困难，同为胆脂瘤上皮细胞分泌的细胞因子，IL-6 作为角蛋白形成细胞旁分泌环中的一份子，其表达变化可能也存在类似的情况；三是我们采取的是中

耳局部胆脂瘤上皮和中耳病变粘膜组织，局部的 IL-6 表达可能和血液中的 IL-6 分布有差异。但由于样本较少具体原因还不清楚，尚有待于扩大样本量对其进一步研究。本课题组后续将继续收集标本扩大样本量进行大样本量研究。

4. 中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 和 IL-6 浓度之间的相关性

有研究表明角质形成细胞释放促炎细胞因子，如白细胞介素-1 α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6 和白细胞介素 8，这些因子同 TNF- α 在基质角质形成细胞和周围基质成纤维细胞之间的旁分泌和自分泌环中^[43]，角质形成细胞释放 IL-6，随后诱导成纤维细胞分泌 TNF- α ，这些成纤维细胞衍生的细胞因子反过来诱导基质角质形成细胞的分化、增殖和迁移。另外有学者^[44]报道 IL-1、TNF- α 可刺激成骨细胞分泌 IL-6，而 IL-1 和 IL-6 又可以协同起来刺激破骨细胞聚集，总之三者之间相互作用，协同发挥破骨作用。这进一步证明了我们的研究，在中耳胆脂瘤上皮中，TNF- α 和 IL-6 浓度之间存在正相关关系。这可能是因为作为一种在免疫微环境中重要的促炎症因子，在炎症方面 IL-6 与 TNF- α 和 IL-1 β 相近，其和 TNF- α 有协同作用，可诱导破骨细胞形成的作用产生的结果，也就不难理解我们中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 和 IL-6 浓度之间呈正相关的研究结果。

在中耳胆脂瘤患者的传音系统中，听骨链不完整，其听力势必受到影响，导致患者听力呈不同程度下降，直接影响患者生活质量，如果无法做到早发现、早诊断，必要时不尽早手术干预，任凭病情发展，甚至产生颅内、外并发症，患者的生命将受到严重威胁。而且，即使手术很成功，由于清理病变的同时外耳道后壁等中耳传音结构的功能大大降低，其术后听力也很难恢复或较前提高，如果患者为双耳中耳胆脂瘤，那么将大大影响患者的交流、生活，甚至由于耳聋可能会发生交通事故。反之，患者听力可以得到最大程度保留，延缓病情发展，对提高患者生存质量大有裨益。

目前中耳胆脂瘤的治疗方法以手术治疗为主，通过尽早手术将中耳病变组织尽可能清除干净的同时尽可能保留听力结构。然而由于耳科手术难度大，中耳解剖结构复杂，很容易产生一些医源性损伤，而且病变有时通过显微镜也很难清除干净或由于术腔引流不畅、咽鼓管功能持续不改善等因素，常常出现中耳胆脂瘤术后复发，是一直困扰广大耳科医生的问题，同时复发后必要时需要再次手术，也给患者带来较大精神和经济负担。陈龙云提出除了胆脂瘤上皮未清理干净外，中耳胆脂瘤手术中耳内镜或显微镜下很难看到听骨周围其他骨质中浸润的残存角质蛋白，而这些角质蛋白导致鳞状上皮化生也是引起胆脂瘤复发的原因^[18]。所以对于术后的患者应嘱其严格执行随访，以尽早发现复发可能，避免中耳胆脂瘤复发。因而，研究中耳胆脂瘤发病机制和有效的治疗方法一直受到耳鼻喉科医生的关注。

对于中耳胆脂瘤初期患者，耳科医生在做耳内镜检查时，可能会看到胆脂瘤皮，部分耳科医生会采取嘱患者定期随访清理胆脂瘤皮的处理，但是如果与此同时患者可以服用炎症因子抑制类药物，或许可以辅助延缓中耳胆脂瘤病程的进展。或者通过抽血化验炎症因子便能够预测听力损害，避免严重的听力障碍，将大大缩减社会的经济

压力。当今社会，患者的精神心理和社会压力巨大，如果可以实现，那么将大大降低患者和其家庭的经济和精神负担，有利调整患者的心态，促进人类的健康。当然，能够预防发病是我们永恒追求的目标。

综上，通过 ELISA 定量检测 IL-6、TNF- α 在中耳胆脂瘤上皮中的表达水平，研究其在胆脂瘤发生、发展中的作用及其与听力损失的相关性，可能对中耳胆脂瘤的治疗有所启发，为将来采取某些炎性细胞因子拮抗剂进行保守治疗干预、预防控制胆脂瘤骨质破坏、在一定程度上延缓中耳胆脂瘤的破坏性进展提供依据。这对胆脂瘤型中耳炎的防治具有重要意义，对临床有一定的参考价值。通过构建动物模型、行药物干预实验拮抗这两种细胞因子能否对中耳胆脂瘤治疗起作用有待于进一步明确。做预后评价、诊疗疗效、为治疗中耳胆脂瘤提供可能的思路，将是课题组今后研究的方向之一。课题组将继续收集标本进行相关大样本量研究。

第五章 结论

(Conclusion)

(1) 中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 高表达与患者的听力损失呈正相关，即呈现出 TNF- α 高表达，患者的听力损失越严重的趋势。

(2) 中耳胆脂瘤上皮中 IL-6 浓度与患者的听力损失之间无显著线性相关性。

(3) 中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 浓度和 IL-6 浓度呈正相关。这与 TNF- α 刺激 IL-6 的分泌有关。

该研究得到了国家自然科学基金项目《新疆慢性化脓性中耳炎细菌生物膜形成及其在自然免疫中的作用研究》（编号：No.81560173）的支持。

参考文献

(References)

- [1] Aquino J E, Cruz Filho N A, de Aquino J N. Epidemiology of middle ear and mastoid cholesteatomas: study of 1146 cases [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2011, 77(3): 341-347.
- [2] Monasta L, Ronfani L, Marchetti F, et al. Burden of disease caused by otitis media: systematic review and global estimates [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e36226.
- [3] 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会耳科学组, 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会耳科组. 中耳炎临床分类和手术分型指南(2012) [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2013, 48(1): 5.
- [4] Tos M. Pathology of the ossicular chain in various chronic middle ear diseases [J]. *J Laryngol Otol*, 1979, 93(8): 769-780.
- [5] Suzuki H, Ikezaki S, Imazato K, et al. Partial mastoid obliteration combined with soft-wall reconstruction for middle ear cholesteatoma [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2014, 123(8): 571-575.
- [6] Blanco P, Gonzalez F, Holguin J, et al. Surgical management of middle ear cholesteatoma and reconstruction at the same time [J]. *Colomb Med (Cali)*, 2014, 45(3): 127-131.
- [7] Kuczkowski J, Sakowicz-Burkiewicz M, Izycka-Swieszewska E, et al. Expression of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1alpha, interleukin-6 and interleukin-10 in chronic otitis media with bone osteolysis [J]. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2011, 73(2): 93-99.
- [8] Kumari N, Dwarakanath B S, Das A, et al. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9): 11553-11572.
- [9] Narazaki M, Tanaka T, Kishimoto T. The role and therapeutic targeting of IL-6 in rheumatoid arthritis [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(6): 535-551.
- [10] Assuma R, Oates T, Cochran D, et al. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis [J]. *J Immunol*, 1998, 160(1): 403-409.
- [11] Cinamon U, Kronenberg J, Benayahu D. Structural changes and protein expression in the mastoid bone adjacent to cholesteatoma [J]. *Laryngoscope*, 2000, 110(7): 1198-1203.
- [12] Hamzei M, Ventriglia G, Hagnia M, et al. Osteoclast stimulating and differentiating factors in human cholesteatoma [J]. *Laryngoscope*, 2003, 113(3): 436-442.

- [13] Vitale R F, Ribeiro Fde A. The role of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in bone resorption present in middle ear cholesteatoma [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2007, 73(1): 117-121.
- [14] Albino A P, Kimmelman C P, Parisier S. C. Cholesteatoma: a molecular and cellular puzzle [J]. *Am J Otol*, 1998, 19(1): 7-19.
- [15] 汪志伟, 杨海弟, 赵晓明, 等. 肿瘤坏死因子- α 和基质金属蛋白酶-9 在儿童及成人中耳胆脂瘤中的表达及意义 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2013, 20(02): 99-101.
- [16] Zhuang Z, Pan X, Zhao K, et al. The Effect of Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-11 (IL-11), Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3), and AKT Signaling on Adipocyte Proliferation in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25, 7218-7227.
- [17] Liu W, Xie S, Chen X, et al. Activation of the IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway in human middle ear cholesteatoma epithelium [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(2): 709-715.
- [18] 陈龙云, 魏兴梅, 高志强, 等. 中耳胆脂瘤听小骨骨质侵犯研究 [J]. *中华耳科学杂志*, 2019, 17(04): 510-513.
- [19] Nguyen D P, Li J, Tewari A K. Inflammation and prostate cancer: the role of interleukin 6 (IL-6) [J]. *BJU Int*, 2014, 113(6): 986-992.
- [20] 宋少鹏, 马秀岚. 中耳胆脂瘤中 Rock 1 和 Rock 2 的表达研究 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2019, 27(01): 45-48.
- [21] Louw L. Acquired cholesteatoma: summary of the cascade of molecular events [J]. *The Journal of laryngology and otology*, 2013, 127(6): 542-549.
- [22] Likus W, Siemianowicz K, Markowski J, et al. Bacterial Infections and Osteoclastogenesis Regulators in Men and Women with Cholesteatoma [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(3): 241-247.
- [23] Imai R, Sato T, Iwamoto Y, et al. Osteoclasts Modulate Bone Erosion in Cholesteatoma via RANKL Signaling [J]. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology: JARO*, 2019, 20(5): 449-459.
- [24] 卜行宽, 刘鋋. 世界卫生组织预防聋和听力减退工作情况介绍 [J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 2000, 35(3): 237.
- [25] 刘海红, 张华, 莫玲燕, 等. 听力相关疾病成人患者的年龄因素分析 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2011, 19(04): 328-331.
- [26] Sade J, Halevy A. The aetiology of bone destruction in chronic otitis media [J]. *J Laryngol Otol*, 1974, 88(2): 139-143.

- [27] Wiatr A, Swiezy K, Skladzien J, et al. Scanning Electron Microscopy in the Evaluation of Defects to the Ossicular Chain in the Course of Chronic Otitis Media [J]. *Ear Nose Throat J*, 2019, 145561319873913: 1-8.
- [28] Xie S, Wang X, Ren J, et al. The role of bone resorption in the etiopathogenesis of acquired middle ear cholesteatoma [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2017, 274(5): 2071-2078.
- [29] Akarcay M, Kalcioglu M T, Tuysuz O, et al. Ossicular chain erosion in chronic otitis media patients with cholesteatoma or granulation tissue or without those: analysis of 915 cases [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 276(5): 1301-1305.
- [30] Martins O, Victor J, Selesnick S. The relationship between individual ossicular status and conductive hearing loss in cholesteatoma [J]. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*, 2012, 33(3): 387-392.
- [31] Eisenman DJ, Parisier SC. Is chronic otitis media with cholesteatoma associated with neurosensory hearing loss? [J]. *The American journal of otology*, 1998, 19(1): 20-25.
- [32] Redaelli de Zinis LO, Campovecchi C, Parrinello G, et al. Predisposing factors for inner ear hearing loss association with chronic otitis media [J]. *International journal of audiology*, 2005, 44(10): 593-598.
- [33] 刘红兵, 郭素英, 刘月辉. 慢性化脓性中耳炎致感音神经性聋相关因素分析 [J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2006, 20(16): 758.
- [34] Gulustan F, Yazici Z M, Sayin I, et al. Evaluation of the Presence of Sensorineural Hearing Loss and the Relationship With Intraoperative Findings in Cholesteatoma [J]. *Ear Nose Throat J*, 2019, 145561319877763: 1-4.
- [35] Rosito LS, Netto LS, Teixeira AR, et al. Sensorineural Hearing Loss in Cholesteatoma [J]. *Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*, 2016, 37(3): 214-217.
- [36] Steven K. Juhn, Min-Kyo Jung, Mark D. Hoffman, et al. The Role of Inflammatory Mediators in the Pathogenesis of Otitis Media and Sequelae [J]. *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*, 2008, 1(3): 117-138.
- [37] Wu Y, Tang X, Shao W, et al. Effect of CT manifestations of cholesteatoma on MMP-2, MMP-9 and IL-6 in the serum of patients [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(6): 4441-4446.
- [38] Schmidt M, Grunsfelder P, Hoppe F. Up-regulation of matrix metalloprotease-9 in middle ear cholesteatoma--correlations with growth factor expression in vivo? [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2001, 258(9): 472-476.

- [39] Artono, Surarto B, Purnami N, et al. The Association of IL-1 Alpha Level and TNF Alpha Expressions on Bone Destruction in Chronic Suppurative Otitis Media and Cholesteatoma [J]. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg, 2020, 72(1): 1-7.
- [40] Dretzke J, Edlin R, Round J, et al. A systematic review and economic evaluation of the use of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) inhibitors, adalimumab and infliximab, for Crohn's disease [J]. Health Technol Assess, 2011, 15(6): 1-244.
- [41] Chao J, Dewyer N, McKenna M J. Spontaneous Resolution of Cholesteatoma in a Patient on Long-Term Infliximab [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2019, 128(4): 365-368.
- [42] 谌星. 中耳胆脂瘤上皮组织中 IL-6 和 P-STAT3 的表达及意义 [硕士学位论文]; 湖南长沙: 中南大学, 2011.
- [43] Kuo CL. Etiopathogenesis of acquired cholesteatoma: prominent theories and recent advances in biomolecular research [J]. Laryngoscope, 2015, 125(1): 234-240.
- [44] 冉鹏. IL-1、TNF- α 、IL-6 在胆脂瘤型中耳炎骨质破坏机制中的作用 [J]. 河南医学研究, 2001, 10(03): 286-288.

文献综述

(Literature Review)

中耳胆脂瘤的临床特征与听力损失的相关研究

黄晓邦 撰写 顾兴智 审校

摘要: 中耳胆脂瘤在耳鼻咽喉头颈外科属于常见病,其主要特点是类似于恶性肿瘤的破坏性特点,这使得耳科医生格外重视。虽然国内外学者对于中耳胆脂瘤的机制研究已经很多,但目前仍然不清晰,中耳胆脂瘤相关研究任重而道远。本文就中耳胆脂瘤的流行病学、发病机制、临床特点、分类、分期、骨质破坏、听力损失与手术治疗等相关内容作一综述。

关键词: 中耳胆脂瘤; 发病机制; 分类分期; 骨质破坏; 听力损失

Abstract: Middle ear cholesteatoma is a common disease in otolaryngology head and neck surgery, and its main feature is the destructive characteristics similar to malignant tumors, which makes otologists pay special attention. Although there have been many studies on the mechanism of middle ear cholesteatoma by scholars at home and abroad, it is still unclear. Research on middle ear cholesteatoma has a long way to go. This article reviews the epidemiology, pathogenesis, clinical characteristics, classification stage, bone destruction, hearing loss and operation treatment of middle ear cholesteatoma.

Keywords: Middle ear cholesteatoma; Pathogenesis; Classification & stage; Bone destruction; Hearing loss

国内耳科学者在 2004 年西安中耳炎的分类和分型标准(简称“西安指南”)基础上,经过临床实践,2012 年达成了中耳炎临床分类和手术分型指南^[1]。相较于“西安指南”,2012 版指南主要有如下特点:在中耳炎分类中将分泌性中耳炎单独列出,增加了特殊类型中耳炎,用中耳胆脂瘤替换胆脂瘤型中耳炎,这充分体现了此疾病的临床特征和机制,通过单列中耳炎手术分型,更利于临床实践。

2012 版中耳炎临床分类和手术分型指南中中耳胆脂瘤特指后天性胆脂瘤,不包括先天性胆脂瘤。中耳胆脂瘤为中耳、乳突内鳞状上皮组织的增殖,一方面其生成机制、病理及转归与慢性化脓性中耳炎不同。另一方面胆脂瘤在发展过程中可伴有细菌生长而和慢性化脓性中耳炎相伴随,因其临床处置与中耳炎有相同之处,所以仍将其归属至中耳炎分类。

1. 中耳胆脂瘤的流行病学

有报道^[2]称据估计全世界有超过 2000 万人患有中耳炎,尽管获得性胆脂瘤的病例总数似乎在下降^[3,4],但有约四分之一(500 万人)患有胆脂瘤^[5]。儿童胆脂瘤的年发病率为每 10 万人中有 3 人,比成人每 10 万人中 9.2 人的发病率低。男性比例略高于

女性，比例为 1.4: 1，中耳胆脂瘤更常发生于 50 岁以下的人^[6]。高加索人群的患病率最高，但在因纽特人，美洲原住民和亚洲人群中很少发现胆脂瘤^[7]。

2. 中耳胆脂瘤的发病机制

中耳胆脂瘤的发病机理通常有以下四个理论所解释：（1）囊袋缩回理论认为上鼓室排水不良会引起鼓膜浸润和囊袋性胆脂瘤的形成。（2）上皮移行理论认为外耳道上皮通过鼓膜边缘性穿孔处迁移进入鼓室而形成继发性胆脂瘤，患者常会反复出现中耳炎。此外，鼓膜中央性穿孔也可形成继发性胆脂瘤。（3）基底细胞层的增殖理论认为，上皮可通过鼓膜内层的缺陷穿进上皮下结缔组织，并形成胆脂瘤。（4）上皮化生理论表明，中耳上皮细胞是多能的，它在炎症因子的影响下可以转化为鳞状上皮或角化的鳞状上皮^[8]。大多数胆脂瘤可通过临床或组织学研究中的前三个理论来解释，化生理论只是一个假说，尚未得到证实。

3. 中耳胆脂瘤的临床特点

中耳胆脂瘤的主要临床表现是长时间的间歇性耳流脓（脓液伴有特殊性恶臭）以及听力下降。耳内镜检查主要包括鼓膜松弛部向内凹陷和穿孔，紧张部内陷及增厚或鼓膜边缘性穿孔，鼓室腔内可观察到胆脂瘤皮或肉芽，而且通常伴有脓性分泌物。咽鼓管功能可能正常或较差。影像学表现为鼓室及乳突密度增加，可能伴有骨吸收和骨破坏。中耳胆脂瘤可导致颅内和颅外并发症，常常需要进行手术治疗^[9]。胆脂瘤的主要并发症包括：1. 颅外并发症，例如听骨链损伤、迷路瘘管、面神经管损伤、完全耳聋、自然乳突根治、岩尖病变、鼓室或乳突天盖破坏、乙状窦骨破坏、各种颞骨外脓肿等；2. 颅内并发症，如乙状窦血栓性静脉炎、脑膜炎、硬膜外脓肿、硬膜下脓肿、小脑脓肿和脑脓肿，严重者可致残或死亡^[10]。

4. 胆脂瘤的分类及分期：

（1）1993 年，Tos 根据胆脂瘤的起源将其进行了分类：

- ①上鼓室胆脂瘤，鼓膜松弛部内陷入上鼓室，并逐渐侵犯鼓窦、乳突或鼓室腔；
- ②鼓窦胆脂瘤，鼓膜紧张部向后上延伸到上鼓室，侵及鼓窦、后鼓室。
- ③紧张部胆脂瘤，鼓膜紧张部内陷或粘连（可扩展到上鼓室）。后鼓室胆脂瘤主要是由鼓窦胆脂瘤的发展而来，鼓膜的紧张部后上方内陷或穿孔，扩展到鼓窦和后鼓室，也可能发生在上鼓室或紧张部胆脂瘤中。后鼓室胆脂瘤患者的中耳病变以破坏镫骨为主，引起较重的骨导听力下降^[11]。

（2）中耳胆脂瘤的分期和各类型胆脂瘤的分期：2017 年 EAONO/JOS^[12]对中耳胆脂瘤的分类和分期达成联合共识：

①中耳空间分割（STAM 系统）将中耳和乳突腔分为四个部分：

难以进入的区域（S），鼓室腔（T），上鼓室腔（A）和乳突（M）。

S 区域由 S1（咽鼓管上隐窝，也称为上鼓室前隐窝）和 S2（鼓窦）组成。

鼓室腔上部的后边界是砧骨短脚的末端或砧骨窝，乳突包括鼓窦和乳突气室。

②将 EAONO/JOS 分期系统应用于 4 种胆脂瘤：松弛部胆脂瘤，紧张部胆脂瘤，先天性胆脂瘤以及紧张部穿孔后继发的胆脂瘤（不适用于岩尖胆脂瘤）：

I 期：胆脂瘤仅限于原发处：松弛部胆脂瘤位于上鼓室腔（A）；紧张部胆脂瘤、先天性胆脂瘤和由紧张部穿孔所继发的胆脂瘤位于鼓室腔（T）；

II 期：两个或两个以上区域受侵犯；

III 期：出现颅外并发症，包括面瘫，迷路漏（有膜迷路损伤的危险），迷路炎，耳后脓肿或渗出，脂肪性骨脓肿，颈部脓肿或耳道损伤，鼓室天盖破坏（需要手术修复），粘连性中耳炎（鼓膜紧张部）；

IV 期：胆脂瘤有颅内并发症：化脓性脑膜炎，硬膜外脓肿，硬膜下脓肿，脑脓肿，乙状窦血栓形成和突入乳突腔的脑疝。

5. 中耳胆脂瘤的骨质破坏

几乎由中耳胆脂瘤引起的所有并发症都与其骨破坏有关，具体的作用机制仍存在争议。目前，人们认为胆脂瘤的机械压迫，炎性肉芽组织，胶原酶，破骨细胞和酶水解可能导致各种骨破坏，包括 Caspase 3、8、9，核转录因子 κ B，p65，survivin，livin，角质形成细胞生长因子（KGF）、肉毒杆菌毒素、p73、基质金属蛋白酶-9 和表皮生长因子受体（EGFR）等等。

中耳胆脂瘤由几种因素刺激骨吸收，这是胆脂瘤形成的固有方面。这些因素包括炎症(胆脂瘤诱发炎症和反复感染常常导致邻近区域骨质破坏^[12])、局部压力和特定的细胞角蛋白^[13]。另外听小骨周围的肉芽组织可能产生几种酶和炎性介质，包括溶酶体酶，胶原酶和前列腺素，它们可以加速听小骨的骨质吸收^[14]。既往研究已经揭示了旁分泌和自分泌分泌物的形式，其导致胆脂瘤进展、宿主对炎症反应过度^[13-16]。此外，由基质和周围基质中的炎症细胞群释放的血管生成生长因子，如环氧合酶-2，白细胞介素-8、血小板衍生生长因子、表皮生长因子和血管内皮生长因子，可促进血管生成，从而为角质形成细胞迁移铺平了道路。通过一个充满活力的中耳血管网^[17, 18]，这些因子与肉芽组织中的炎性细胞结合可有效刺激上皮迁移。上调的细胞因子如 IL-1，IL-6，IL-17 和干扰素 β 可促进炎性骨吸收^[13, 19, 20]。骨吸收本身可以解释与获得性胆脂瘤相关的骨质溶解^[16]。有研究发现，能够降解 IV 型胶原的基质金属蛋白酶 9（MMP-9）在炎症细胞迁移中发挥关键作用，增强了胆脂瘤的破坏性^[21]。受体激活剂过表达核因子- κ B 配体（RANKL）和低表达骨保护素（OPG）是中耳胆脂瘤患者的典型特征，特别是在胆脂瘤周围^[18]。破骨细胞的发生和激活主要由 RANKL/RANK 受体信号系统驱动，并受到 RANKL 可溶性诱饵受体 OPG 的严格控制和对抗^[22, 23]。改变的 RANKL/OPG 蛋白比率表明 RANKL-OPG 途径可能在与中耳胆脂瘤相关的炎症中起主要作用^[24]。有学者研究表明 RANKL 和护骨素 OPG 参与中耳胆脂瘤的骨破坏过程，破骨细胞分化和激活的程度取决于骨微环境中 OPG 和 RANKL 之间的平衡^[25]，OPG/RANKL 的比例降低可能是中耳胆脂瘤进展的危险因素^[26]。还有研究表明，胆脂瘤的上皮和上皮下肉

芽组织中的严重炎症反应可能诱导不同的细胞因子, 包括 IL-1, TNF- α , IL-6, 表皮生长因子, 蛋白酶和一氧化氮^[20]。总体而言, 在损伤的情况下宿主炎症反应可能是有益的, 但过度的炎症反应可能促进胆脂瘤的生长和破坏作用。

虽然中耳胆脂瘤中炎症介质和胆脂瘤骨质破坏的报道很多, 所涉及的种类及数量很多, 但尚未见到国内外有中耳胆脂瘤患者胆脂瘤上皮中炎症介质和其听力学相关性的报道。

6. 中耳胆脂瘤的听力损失及手术治疗

中耳传音系统有外耳道、鼓膜、听骨、蜗窗等。因此不论什么原因导致上述部位的损害均可导致听力下降。当胆脂瘤大到足以填充中耳或听小骨被侵蚀时, 听力损失可能是明显的。听骨链是第一个受损的结构, 在发生损伤的情况下最常见的受损小骨接近 100% 的可能性是砧骨。为了确定听骨链的完整性, 还应考虑鼓膜的穿孔情况和中耳炎的类型, 松弛部穿孔、慢性化脓性中耳炎活动期或中耳胆脂瘤的听骨链多有破坏。气导听觉阈值在 40dB 以内的中耳胆脂瘤应注意听骨链的假性连续^[27]。紧张部穿孔的听骨破坏方式: 最先破坏砧骨, 然后是镫骨, 最后是锤骨, 松弛部穿孔的听骨破坏方式: 首先破坏锤骨和砧骨体, 然后破坏镫骨^[27]。陆书昌^[28]等报道, 鼓膜松弛部穿孔镫骨没有受到破坏, 病变首先破坏锤骨头、砧骨体及短脚外侧面, 只有锤骨头消失或严重破坏、砧骨消失时镫骨才破坏。

中耳胆脂瘤主要特征之一是听骨和邻近骨质的逐渐破坏, 导致听力逐渐下降。在中耳胆脂瘤和听骨链断裂的患者中, 由于卵圆窗、圆窗功能和听骨链活动性引起的中耳共振频率变化会影响骨传导, 胆脂瘤释放的有毒物质也会损害内耳毛细胞并导致听力下降^[29]。然而柯嘉等^[30]报道称, 中耳胆脂瘤患者通常不会对骨导听力产生显著影响, 并且胆脂瘤及其病变组织可能会在患耳中充当声音传输结构。

当病变使振动频率变化或使质量负荷增加时, 中耳炎可能会影响骨传导, 因中耳系统质量负荷增加(肿胀、渗出使质量增加, 阻力和惰性也上升, 高频振动受限), 主要引起高频骨导下降^[31]。有许多学者报道, 长期慢性炎症过程中的炎症介质或细菌毒素会穿透圆窗膜, 损伤圆窗附近处的耳蜗底转的毛细胞, 从而使高频骨导听力产生下降^[32-35]。

中耳胆脂瘤传导性听力损失是因为听小骨的运动受损, 并且耳蜗的进一步损伤可能导致无法弥补的感音神经性听力损失, 偶尔会因耳鸣而复杂化, 故胆脂瘤患者所经历的听力损失可以是渐进性传导性或伴传导性的感音神经性听力损失, 由听骨运动受损引起^[16]。

中耳内的细菌定植和有助于炎症持续存在的生物膜的形成促进胆脂瘤的形成和进展。已经在中耳中鉴定出与胆脂瘤组织相关的革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和各种真菌成分在内的许多病原体。由于缺乏血液流向病变, 以及局部抗生素可能无法渗透到根除病原体所必需的深度, 因此治疗这些因素时因为全身性抗生素的传递受到阻碍,

尝试时存在重大困难，这可能是导致一般炎症刺激的根本原因。胆脂瘤晚期感染可发展为严重的并发症，如海绵窦血栓形成，脑膜炎，脑脓肿和乳突炎^[16]。

与成人获得性胆脂瘤相反，先天性胆脂瘤以相对柔和的方式发展，因为单侧听力损失在儿童中不容易被注意到，在常规体检时仍未检测到从而导致更严重的病变^[36]。当胆脂瘤大到足以填充中耳或听小骨被侵蚀时，患者听力下降^[12]，胆脂瘤患者的听力损失可以是进行性传导性耳聋或感觉神经性传导，由于听小骨运动受损导致听力损失^[37]。胆脂瘤还能导致耳鸣这一常见的临床症状，这可能是由于胆脂瘤压迫乙状窦而产生^[38]，也可能是耳蜗损伤导致不可挽回的感音神经性听力损失产生的结果^[37]。

不同年龄的慢性化脓性中耳炎和中耳胆脂瘤患者听力障碍特征不同，年老患者往往比年轻患者的听力下降更为严重。因此，患有慢性化脓性中耳炎或中耳胆脂瘤的患者，尤其是老年患者，应尽早进行诊断和治疗^[39]。应根据每个患者的病情进行个性化诊疗，以试图清除病灶，减少听力损失并改善患者的生活质量。

对于两种胆脂瘤之间听力损失的差异在文献中仍有争议，因为不同的研究方法很难比较结果，理论上讲，由于发生部位的差异，继发性胆脂瘤会更大程度地影响鼓膜紧张部，砧骨和镫骨，导致更严重的听力下降，该研究证实了这一假设^[40]。有文献^[41]报道听力损失程度不是听骨链状态的良好预测指标。然而，最近的研究^[42]表明，听力损失与听骨链侵蚀有关，听力阈值中的砧骨是最重要的小骨，砧骨的破坏最多见，锤骨及镫骨的破坏往往与之相伴随。许多研究报道，听骨链连续和听骨链中断的情况下骨气导差不同^[43, 44]，如果听骨链受到不同程度的破坏，骨气导差也将不同。如果砧骨和镫骨均受到破坏，则骨气导差较仅有砧骨破坏时更大，且砧骨完全破坏较仅有部分破坏时骨气导差更大。但是如果砧骨受损，则锤骨的破坏对骨气导差没有明显影响，镫骨的破坏对骨气导差也没有明显影响。

目前中耳胆脂瘤的治疗以耳显微外科手术清除中耳病变为主，由于中耳结构复杂，部分病变无法完全清除干净，即使是手术娴熟的专家由于显微镜下无法同组织切片显微镜下观察相比，仍然存在骨质表面浸润角蛋白进而导致复发的可能^[45]。手术术式主要有经典乳突根治术、改良乳突根治术和完壁式乳突根治术，如满足适应症则可以选择完壁式乳突根治术，而病变范围广则要视情况采取开放式乳突根治术加听力重建、鼓室成形^[46]。

参考文献

(References)

- [1] 中耳炎临床分类和手术分型指南(2012) [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 48(1): 5.
- [2] Castle JT. Cholesteatoma Pearls: Practical Points and Update [J]. Head Neck Pathol, 2018, 12(3): 419-429.
- [3] Bennett M, Warren F, Jackson GC, et al. Congenital cholesteatoma: theories, facts, and 53 patients [J]. Otolaryngologic clinics of North America, 2006, 39(6): 1081-1094.
- [4] Shohet JA, De Jong AL. The management of pediatric cholesteatoma [J]. Otolaryngologic clinics of North America, 2002, 35(4): 841-851.
- [5] Aquino JE, Cruz Filho NA, de Aquino JN. Epidemiology of middle ear and mastoid cholesteatomas: study of 1146 cases [J]. Brazilian journal of otorhinolaryngology, 2011, 77(3): 341-347.
- [6] Olszewska E, Wagner M, Bernal-Sprekelsen M, et al. Etiopathogenesis of cholesteatoma [J]. European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery, 2004, 261(1): 6-24.
- [7] Baráth K, Huber AM, Stämpfli P, et al. Neuroradiology of cholesteatomas [J]. AJNR American journal of neuroradiology, 2011, 32(2): 221-229.
- [8] 杨华. 中耳胆脂瘤的起源、诊治和听力重建策略 [J]. 协和医学杂志, 2012, 3(2): 138-142.
- [9] 孙建军, 刘阳. 中耳炎临床分类和手术分型指南(2012)解读 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 48(1): 6-10.
- [10] 杨华, 陈晓巍, 高志强, 等. 耳源性颅内并发症临床特点分析 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2008, 43(11): 801-805.
- [11] 明伟, 杨仕明. 后鼓室胆脂瘤中耳炎的听力学特征与手术处理策略 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2010, 18(6): 559-561.
- [12] Yung M, Tono T, Olszewska E, et al. EAONO/JOS Joint Consensus Statements on the Definitions, Classification and Staging of Middle Ear Cholesteatoma [J]. The journal of international advanced otology, 2017, 13(1): 1-8.
- [13] Chole RA, Tinling SP. Basal lamina breaks in the histogenesis of cholesteatoma [J]. The Laryngoscope, 1985, 95(3): 270-275.

- [14] Ferlito A, Devaney KO, Rinaldo A, et al. Clinicopathological consultation. Ear cholesteatoma versus cholesterol granuloma [J]. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 1997, 106(1): 79-85.
- [15] Preciado DA. Biology of cholesteatoma: special considerations in pediatric patients [J]. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 2012, 76(3): 319-321.
- [16] Kuo CL, Shiao AS, Yung M, et al. Updates and knowledge gaps in cholesteatoma research [J]. *BioMed research international*, 2015, 125(1): 234-240.
- [17] Maniu A, Harabagiu O, Perde Schrepler M, et al. Molecular biology of cholesteatoma [J]. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*, 2014, 55(1): 7-13.
- [18] Sudhoff H, Dazert S, Gonzales AM, et al. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma [J]. *The American journal of otology*, 2000, 21(6): 793-798.
- [19] Fukudome S, Wang C, Hamajima Y, et al. Regulation of the angiogenesis of acquired middle ear cholesteatomas by inhibitor of DNA binding transcription factor [J]. *JAMA otolaryngology-- head & neck surgery*, 2013, 139(3): 273-278.
- [20] Haruyama T, Furukawa M, Kusunoki T, et al. Expression of IL-17 and its role in bone destruction in human middle ear cholesteatoma [J]. *ORL; journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties*, 2010, 72(6): 325-331.
- [21] Olszewska E, Matulka M, Mroczo B, et al. Diagnostic value of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 in cholesteatoma [J]. *Histology and histopathology*, 2016, 31(3): 307-315.
- [22] Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation [J]. *Bone*, 2007, 40(2): 251-264.
- [23] Ainola M, Mandelin J, Liljeström M, et al. Imbalanced expression of RANKL and osteoprotegerin mRNA in pannus tissue of rheumatoid arthritis [J]. *Clinical and experimental rheumatology*, 2008, 26(2): 240-246.
- [24] Chen AP, Wang B, Zhong F, et al. Expression levels of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin are associated with middle ear cholesteatoma risk [J]. *Acta oto-laryngologica*, 2015, 135(7): 655-666.
- [25] Geusens P. The role of RANK ligand/osteoprotegerin in rheumatoid arthritis [J]. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 2012, 4(4): 225-233.
- [26] 丁寿玲, 夏明, 张寒冰, 等. RANKL 和 OPG 在胆脂瘤型中耳炎中的表达及其意义 [J]. *山东大学学报(医学版)*, 2007, 45(10): 1034-1037.
- [27] 朱富高, 孙美红, 华辉. 慢性化脓性中耳炎的听骨链病变及对听力的影响 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2008, 22(7): 312-314.

- [28] 陆书昌. 慢性化脓性中耳炎的听骨破坏方式 [J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 1991, 5(3): 147-149.
- [29] 李文志, 宋昱, 马芙蓉. 122 例慢性化脓性中耳炎患者术前骨导听力分析 [J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24(3): 243-247.
- [30] 柯嘉, 姜立伟, 潘滔, 等. 儿童及青少年中耳炎听力损失相关因素分析 [J]. 中华耳科学杂志, 2016, 14(1): 62-66.
- [31] 陈文文, 邓亚新, 童军, 等. 伴有骨导下降的中耳疾病手术效果分析 [J]. 中华耳科学杂志, 2006, 4(2): 106-108.
- [32] 冯红云, 陈瑛. 慢性化脓性中耳炎与感音神经性聋的相关性分析 [J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2004, 18(10): 579-581.
- [33] 丁健慧, 陈秋坚, 陈洁珠. 慢性化脓性中耳炎对骨导听阈的影响 [J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 1997, 11(11): 516-517.
- [34] 陆冬凌, 廖天义, 彭冬梅. 慢性化脓性中耳炎骨导听阈特点分析 [J]. 广州医药, 2006, 37(3): 38-40.
- [35] Sahni RS, Paparella MM, Schachern PA, et al. Thickness of the human round window membrane in different forms of otitis media [J]. Archives of otolaryngology--head & neck surgery, 1987, 113(6): 630-634.
- [36] Harris L, Cushing SL, Hubbard B, et al. Impact of cleft palate type on the incidence of acquired cholesteatoma [J]. International journal of pediatric otorhinolaryngology, 2013, 77(5): 695-698.
- [37] Michaels L. Origin of congenital cholesteatoma from a normally occurring epidermoid rest in the developing middle ear [J]. International journal of pediatric otorhinolaryngology, 1988, 15(1): 51-65.
- [38] Falcioni M, Taibah A, Rohit. Pulsatile tinnitus as a rare presenting symptom of residual cholesteatoma [J]. The Journal of laryngology and otology, 2004, 118(2): 165-166.
- [39] 刘谦虚, 张志钢, 赵晓明, 等. 中青年与老年慢性化脓性中耳炎及中耳胆脂瘤患者听力学特点及区别 [J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2015, 29(3): 24-28.
- [40] Olsen JM, Ribeiro Fde A, Yasui MM, et al. Hearing loss assessment in primary and secondary acquired cholesteatoma [J]. Brazilian journal of otorhinolaryngology, 2015, 81(6): 653-657.
- [41] Carillo R, Yang N, Abes G. Probabilities of ossicular discontinuity in chronic suppurative otitis media using pure-tone audiometry [J]. Otol Neurotol, 2008, 28(8): 1034-1037.

- [42] Karini Yazdi A, Saedi B, Favezizadeh M, et. Association between audiometric profile and intraoperative findings in patients with chronic suppurative otitis media [J]. Iran J Otorhinolaryngol, 2011, 23(63): 37-42.
- [43] 冯红云, 陈瑛, 丁元萍. 慢性化脓性中耳炎术前检查指标和听骨链状态的相关性分析 [J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2005, 19(1): 7-8.
- [44] Jeng FC, Tsai MH, Brown CJ. Relationship of preoperative findings and ossicular discontinuity in chronic otitis media [J]. Otology & neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology, 2003, 24(1): 29-32.
- [45] 陈龙云, 魏兴梅, 高志强, 等. 中耳胆脂瘤听小骨骨质侵犯研究 [J]. 中华耳科学杂志, 2019, 17(04): 510-513.
- [46] 阿依恒·曲库尔汗, 韦桂玲, 雍军, 等. 新疆地区 66 例中耳胆脂瘤手术治疗的临床分析 [J]. 中华耳科学杂志, 2014, 12(04): 593-596.

致 谢

(Acknowledgements)

在石河子大学的三年研究生生涯中，我受益匪浅。在论文的整个创作包括查阅文献、设计实验、开题、进行实验、进行数据收集、进行统计软件的学习和论文的写作等这一系列环节的完成，都离不开母校的培养、我的导师的谆谆教导和我的同学们的帮助。回首这三年，自己的科研以及论文写作能力都得到了提高，导师和大学给了我们良好的学习与基金支持，而且临床的知识也得到了提高。在此，我向他们表示由衷的感谢，我为自己属于石河子大学的一份子感到骄傲。

该研究得到了国家自然科学基金项目《新疆慢性化脓性中耳炎细菌生物膜形成及其在自然免疫中的作用研究》（编号：No.81560173）的支持，在此表示感谢！

本论文是在我的导师顾兴智教授的精心指导下完成的，从开题的选择、实验的设计、论文的发表，我的导师都给我点了一盏明灯，照亮我这三年的路。感谢导师对我的知遇之恩，在此谨向我的导师表示崇高的敬意和由衷的感谢！

感谢母校石河子大学对我的栽培，石河子大学的环境优美，学术氛围浓厚，让我终身难忘。感谢石河子大学医学院第一附属医院以及新疆维吾尔自治区人民医院耳鼻喉科的各位老师，在开题和课题研究、论文撰写中给予的指导和帮助。特别感谢张劲教授在我的研究生生涯中给予我的无私帮助和指引，感谢徐江教授，感谢黎昌学老师、程秀琴老师、陈晓涛老师及王家顺老师对我的巨大帮助和鼓励。感谢新疆维吾尔自治区人民医院耳鼻咽喉诊疗中心唐亮主任，感谢卡衣赛尔·卡哈尔老师、杨丽老师对我临床实践上的巨大帮助，感谢陆金山老师、艾力根老师、听力室丁伟、侯小娟老师的指导。

感谢我的师哥张保、余良才，师姐武静，感谢我的研究生同学仝福临、王金鹏、乔庚、王佳，谢谢你们给予我的帮助、鼓励和陪伴。

最感谢我的父母和家人，感谢他们无声的支持和付出，感谢他们给予爱和理解，感谢他们在我成长的路上奉献的点点滴滴，感谢他们为我所做的一切，祝他们身体健康，一切顺遂！

最后，我要感谢各位百忙之中参与我答辩的评审专家们。他们对我答辩的认可或者疑问，都是为我指明方向，令我受益匪浅。我将在以后的学习中加倍努力，在工作中认认真真，在科学研究中脚踏实地，让他们的期望得到回报。再次，祝福他们身体健康，一生平平安安！

研究生：黄晓邦

2020年5月

作者简介

(Author Biography)

黄晓邦，男，汉族，生于 1992 年 3 月，籍贯河北邯郸。2017 年 7 月毕业于锦州医科大学第一临床学院临床医学专业，获医学学士学位。同年 9 月考入石河子大学医学院攻读耳鼻咽喉科学专业硕士学位，研究方向为耳鼻咽喉头颈外科学基础与临床，在新疆维吾尔自治区人民医院耳鼻咽喉诊疗中心进行住院医师规范化培训。在校三年，认真学习并完成了石河子大学所规定的所有课程学习，修满所有学分。

在学期间主要参与的研究项目

参加了国家自然科学基金资助项目《新疆慢性化脓性中耳炎细菌生物膜形成及其在自然免疫中的作用研究》(No.81560173)的部分研究工作。

在学期间发表的文章

1. 黄晓邦, 顾兴智. 中耳胆脂瘤患者听力损害的临床研究 [J]. 健康之友, 2020, 3(6):77.
2. 黄晓邦, 顾兴智等. 中耳胆脂瘤上皮中 TNF- α 的表达与听力损失的相关性 [J]. 中国临床新医学, 已录用, 待排刊.
3. Correlation between IL-6 and TNF- α Expression as well as Audiology in Middle Ear Cholesteatoma Patients (已投 Ear, Nose & Throat Journal).

获奖情况:

- (1) 2019 年全国大学生英语竞赛新疆维吾尔自治区 A 类二等奖;
- (2) 2017-2018 学年石河子大学三等奖学金;
- (3) 2019-2020 学年石河子大学二等奖学金;
- (4) 2018 年石河子大学医学专业学位研究生案例大赛三等奖。

石河子大学硕士研究生学位论文

导师评阅表

研究生姓名	黄晓邦	学制	3 年
专业	耳鼻咽喉科学	研究方向	耳鼻咽喉头颈外科 基础与临床
<p>学术评语:</p> <p>毕业论文《中耳胆脂瘤上皮中 IL-6、TNF-α 的表达与听力损失的相关性研究》选题符合耳鼻咽喉科学专业要求，理论依据充分，研究方法合理，数据真实可靠，为进一步研究提供了基础。</p> <p>该论文从课题设计、专业知识、基本研究方法上均具有较高的学术素质，该生掌握了研究该领域较全面的研究方法及技能，例如分子信息学、分子生物学、统计学，具备硕士研究生的科研水平。论文写作条理清晰，结构合理，语言通顺，具有较强的逻辑性。本论文具有较好的理论和基础研究价值，达到了硕士研究生毕业论文的要求。</p> <p style="text-align: right;">指导教师签字: 赵兴智</p> <p style="text-align: right;">2020年6月5日</p>			