

2024年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 090020
參展科別 醫學與健康科學
作品名稱 Toll-like受體3在慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸
患者之表現

就讀學校 國立鳳山高級中學
指導教師 吳家進、林右才
作者姓名 林宸伊、呂依璇、蔡宜秦

關鍵詞 Toll-like 受體、慢性鼻竇炎合併鼻息肉、吸菸

作者簡介



本研究由林宸伊、呂依璇、蔡宜秦三人組成，為高中二年級學生，有緣分在校內多元選修課程認識，一起學習動、植物組織切片技術。在機緣下，獲得研究慢性鼻竇炎成因的研究機會，了解到鼻竇炎在台灣是很常見的症狀，並在本研究發現Toll-like受體3是鼻竇炎成因的關鍵。謝謝老師指導我們完成這次研究，本次研究除了增廣見聞外，也希望研究結果能幫助在未來的治療更加順利。

中文摘要

慢性鼻竇炎是一種常見的鼻竇或鼻黏膜發炎性疾病，其特徵是經治療後症狀持續超過 12 週。香煙與多種呼吸道發炎疾病的發病機制有關，顯示吸煙可能與慢性鼻竇炎有一定關聯性。Toll-like 受體是一群會介入呼吸道發炎反應的蛋白質，會參與識別和回應體內的病原體和其他外來物質。本研究以免疫組織化學染色測定並比較三個組別：對照組、非吸煙 CRSwNP 患者 (CRSwNP) 與 CRSwNP 合併吸煙患者 (CRSwNP+Smoker) 的鼻黏膜組織中 TLR2 和 TLR3 的表現。結果顯示，TLR2 表現量在 CRSwNP 和 CRSwNP+Smoker 組的上皮細胞中皆有增加。而與不吸煙的 CRSwNP 組相比，CRSwNP+Smoker 組的 TLR3 表現量較高，且顯著比 TLR2 強。此外，高達 80% 比例 CRSwNP+Smoker 患者表現出非常強的 TLR3 IHC 強度。這項發現意味著吸菸、TLR3 表現與慢性鼻竇炎合併鼻息肉的發展或嚴重程度之間有潛在的相關性。對於理解該疾病的發病機制以及治療方法的開發可能具有重要意義。

英文摘要 (Abstract)

Chronic rhinosinusitis (CRS) is a common inflammatory nasal condition with symptoms lasting more than 12 weeks after treatment. Cigarette smoke has been associated with the pathogenesis of various airway inflammatory diseases. Toll-like receptors are a class of proteins that play a crucial role in mediating the inflammatory response in the airway. They are involved in recognizing and responding to pathogens and other foreign substances in the body. The purpose of the study was to determine by immunohistochemistry and compare the expression of Toll-like Receptor 2 (TLR2) and Toll-like Receptor 3 (TLR3) in the nasal mucosal tissue of three distinct groups: a control group, non-smoking chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) patients, and smoking CRS patients (CRSwNP+Smoker). The study found that TLR2 expression was elevated in the epithelial cells of both CRSwNP and CRSwNP+Smoker groups. In contrast, TLR3 expression was higher in the CRSwNP+Smoker group compared to the non-smoking CRSwNP group. The observation that TLR3 expression was significantly stronger than TLR2 expression in CRSwNP+ smoker is an important

finding from the study. Additionally, the percentage up to 80% of CRSwNP+Smoker patients exhibited very strong IHC intensity. The study suggests that the increased expression of TLR3 in the epithelium of the airway may play a role in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps in smokers. This finding implies a potential connection between smoking, TLR3 expression, and the development or severity of CRSwNP. It sheds light on the immune responses in the context of this condition and may have implications for future research and treatments.

壹、前言

一、研究背景與文獻探討

1. 慢性鼻竇炎(Chronic rhinosinusitis; CRS)

慢性鼻竇炎 (chronic rhinosinusitis; 縮寫 CRS) 是耳鼻喉科門診中常見的疾病，定義是在鼻竇與鼻竇黏膜出現慢性發炎且經治療後症狀仍持續至少 12 週稱之。臨床上醫師會透過內視鏡檢察或電腦斷層掃描 (computed tomography; 縮寫 CT) 來診斷病灶和發炎模式，當慢性鼻竇炎嚴重且造成鼻腔及鼻竇黏膜組織增生時，則稱為慢性鼻竇炎合併鼻息肉 (chronic rhinosinusitis with nasal polyps; 縮寫 CRSwNP) (圖 1)。慢性鼻竇炎的症狀很多，因嚴重程度區別且因人而異，像是鼻涕倒流或流黃或濃鼻涕、鼻塞、臉頰、額頭部腫脹疼痛、聞不到味道、嗅覺變差或喪失、還會伴隨發燒、疲倦、甚至單側眼睛周圍或臉頰痠脹或耳鳴...等(圖 2) (Fokkens WJ, et al, 2020)，當病患的症狀嚴重已對其身心健康與生活或工作有影響時，可能須接受手術治療。數據指出，美國每年大約要花 220 美元來治療慢性鼻竇炎 (Smith KA, et al, 2015)，但治療經常無效，尤其是發炎極為嚴重的患者。在台灣，慢性鼻竇炎盛行率約為 20~25%，對台灣的醫療保健成本和患者的生活品質同樣有重大影響 (Liao B, et al, 2018)。

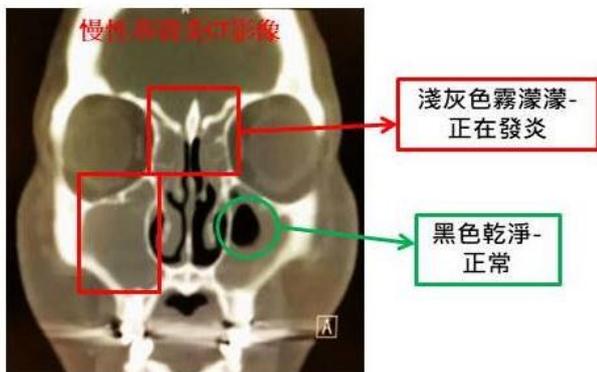


圖1: 以電腦斷層鑑別慢性鼻竇炎 (高雄長庚林右才醫師提供)



圖2: 慢性鼻竇炎的症狀(自製圖片)

2. 吸煙與慢性鼻竇炎之間的關係

香菸含有尼古丁、菸焦油、一氧化碳三種主要的有害物質，若鼻黏膜長期受有毒物質刺激，會變得更脆弱、敏感，而吸煙是引起上與下呼吸道疾病的一個危險因子，會傷害呼吸道黏膜，造成咳嗽、卡痰、喉嚨痛、打噴嚏、流鼻水；甚至會破壞免疫系統，引發發炎疾病，包括慢性鼻竇炎、慢性支氣管炎、肺氣腫或氣喘 (Thomson NC, et al, 2004)。台灣的臨床調查指出，大約 35%~50% 的男性吸菸者患有慢性鼻竇炎。且約有 35% 的慢性鼻竇炎患者有吸菸的病史，其中 75% 皆為男性 (Huang CC, et al, 2016)。由此可見，吸菸會造成罹患慢性鼻竇炎的比例增加。另外，以局部或全身皮質類固醇治療或手術後治療效果不佳的慢性鼻竇炎，稱之為頑固型慢性鼻竇炎 (refractory CRS) 或復發型慢性鼻竇炎 (recurrent CRS)，罹患慢性鼻竇炎吸菸者演變成頑固型慢性鼻竇炎或復發型慢性鼻竇炎的機會也會增加，甚至慢性鼻竇炎吸菸者合併氣喘 (asthma) 的比例也會增加 (Huang CC, et al, 2019)。

3. Toll-like 受體家族與發炎反應

Toll-like 受體 (Toll-like receptor; 縮寫 TLR) 在 1985 年由 Anderson 博士與他的研究團隊發現從果蠅 (*Drosophila*) 身上找出的 toll 基因 (Anderson, et al, 1985)，並且在之後的幾年當中許多學者陸續完成 toll 基因所對應的蛋白質功能鑑別。Toll-like 受體和細胞膜上的 toll 蛋白質相似而得名，因此稱為“Toll-like”。研究發現 TLR 有許多亞型 (subtype)，被稱之為 Toll-like 受體家族 (Toll-like receptor family) (圖 3)，哺乳動物，像小鼠體內總共發現 13 個 TLR (TLR1 至 13)，其中 TLR10 沒功能，TLR12 和 TLR13 作用仍然不清楚。而人類只擁有 10 個 TLR (TLR1

至 10)，TLR 4 是第一個被發現且被證實可調節發炎反應的 TLR 家族成員，近幾年也陸續找出 TLR1 至 9 配體 (ligands) 及其訊號傳導途徑，與 TLR10 的生物學作用。而 TLR3 的功能與 TLR7、TLR8 及 TLR9 相似，屬於親病毒型 TLR (viral-like TLR) (Akira S, 2003)，其傳導途徑需更多的研究調查。Toll 蛋白質在胚胎發育上扮演重要角色，在胚胎發展過程中對革蘭氏陽性細菌(Gram-positive bacterial) 與真菌 (fungal) 感染具有免疫力。TLR 家族不論是在昆蟲還是人類的免疫系統中皆發揮重要的作用，TLR 會調節細胞的發炎反應與激活先天性免疫反應 (Innate immunity) 或適應性免疫反應 (adaptive immunity) (Sameer, et al, 2021)。

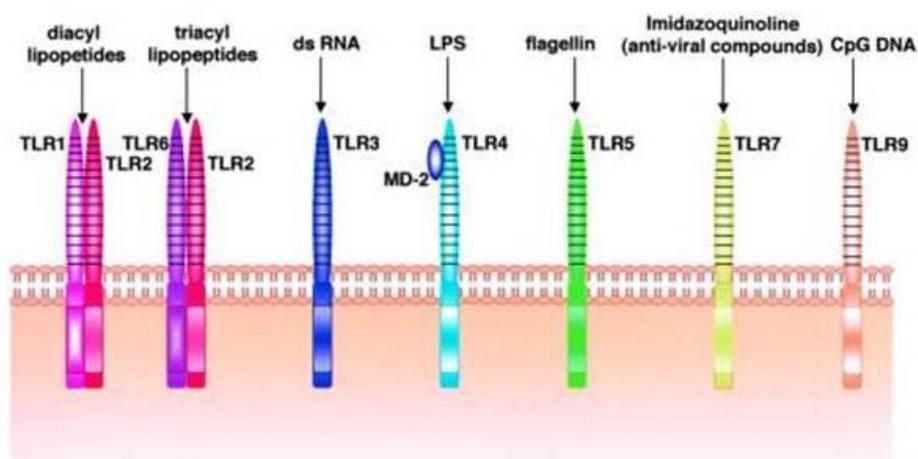


圖3：人類常見的Toll-like受體家族(Akira S, 2003)

4. Toll-like 受體家族成員與慢性鼻竇炎合併鼻息肉(CRSwNP)之間的關係

Toll-like 受體家族成員表現量與慢性鼻竇炎的發病機制有關，與鼻息肉的生成也有關連性，在慢性鼻竇炎合併鼻息肉病患的鼻竇黏膜組織上皆有測到 TLR1、TLR2、TLR4 與 TLR9 濃度大於健康的人 (Hirschberg, et al, 2016)。近年來研究發現，在慢性鼻竇炎合併鼻息肉病患的初代鼻上皮細胞 (Primary nasal epithelial cells; PNECs)，若加入香菸萃取物 (cigarette smoke

extract) 檢測 TLR3 的基因表現比未加組高 (Yamin, et al, 2015)，顯示香菸會促進 TLR3 在慢性鼻竇炎合併鼻息肉鼻上皮細胞增加。

二、 研究目的

因為 TLR3 對慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸患者的鼻息肉組織表現尚未清楚，因此本研究目的以免疫組織染色法 (immunohistochemistry；縮寫 IHC) 為檢查方法測定慢性鼻竇炎合併鼻息肉患者與其合併吸菸者鼻竇黏膜組織上的 TLR3 的表現量，並以 TLR2 當成本研究的正控制組(positive control)。

貳、 研究方法與步驟

一、 研究材料

1. 實驗藥品、儀器與軟體

藥品	名稱	廠牌
試劑	Ethanol	Sigma Aldrich
	Xylene	Sigma Aldrich
	Phosphate-buffered saline	Sigma Aldrich
	Citrate buffer	Sigma Aldrich
	Peroxidase Block	Sigma Aldrich
	Hematoxylin	Sigma Aldrich
	試劑組	Mouse/Babbit Probe HRP Labeling Kit with DAB Brown
一級抗體	anti-TLR2 Antibody	Servicebio Technology
	anti-TLR3 Antibody	Bioss Antibodies
二級抗體	Goat anti-rabbit	Abcam
	Rabbit anti-mouse	Abcam
儀器	桌上型-熱風循環烤箱	德思達科技有限公司
	耐化學腐蝕加熱板(HPR6-3030)	騰億科技有限公司
	迷你微量離心機	柏森生技有限公司
分析軟體	GraphPad Prism 5.0	GraphPad Software Inc.
	MoticEasyScan Pro	Motic in Asia
	Image-Pro Plus 6.0	Media Cybernetics

2. 實驗溶液配製與稀釋

2.1 梯度酒精配製(100%、95%、85%、75%)

以水配製酒精，溶液如下：

100%無水酒精使用量(毫升)	純水(毫升)	濃度(%)
100	0	100
95	5	95
85	15	85
75	25	75

2.2 抗體稀釋

將 anti-TLR2 Antibody 與 anti-TLR3 Antibody 以磷酸鹽緩衝生理食鹽水(Phosphate - buffered saline; PBS)50 倍稀釋，稀釋方法如下：

一級抗體 (微升)	PBS (微升)	稀釋比例
6	300	1:50
12	600	
18	900	

2.3 抗體修復溶液配製

將 20 倍的檸檬酸鹽緩衝液(Citrate buffer)以純水稀釋至 1 倍，稀釋方法如下：

20 x 檸檬酸鹽緩衝液(毫升)	純水(毫升)	稀釋比例
4	100	1:1

二、 實驗流程步驟



圖4：實驗步驟流程圖

三、 實驗方法

1. 實驗對象收集 (此部分由高雄長庚耳鼻喉部林右才醫師提供)

此研究收集自2017年9月至2022年7月之間，實驗組有35位慢性鼻竇炎病患來自高雄長庚紀念醫院耳鼻喉部，其中經由臨床醫師診斷有20名為慢性鼻竇炎合併鼻息肉患者(CRSwNP)和15名為有吸煙的慢性鼻竇炎合併鼻息肉患者(CRSwNP+Smoker)進行內視鏡鼻竇手術並對其鼻黏膜組織情況進行評估。對照組是收集12名接受鼻中隔成形手術來緩解鼻塞並伴有非過敏性鼻炎的患者之中鼻甲黏膜活檢組織，不納入患有鼻腫瘤或其他鼻竇的疾病。採用2020年歐洲鼻竇炎與鼻息肉白皮書(European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps; EPOS 2020)為標準，對慢性鼻竇炎合併鼻息肉進行診斷。此實驗排除的受試者包括：1. 患有過敏性真菌性鼻竇炎 (allergic fungal rhinosinusitis; AFRS) 或阿斯匹靈加重性呼吸道疾病 (aspirin-exacerbated respiratory disease; AERD) 的患者；2. 有鼻腔纖毛運動障礙、囊性纖維化、免疫缺陷、多發性骨髓瘤、類風濕性關節炎等免疫反應的患者；3. 術前12週內接受過免疫調節治療或全身性皮質類固醇治療的患者；4. 患有氣喘的患者；5. 復發性慢性鼻竇炎患者。此研究已取得高雄長庚醫院人體試驗委員會審查委員會批准 (同意編號 201701016B0 and 201900340B0)。

2. 免疫組織化學染色 (Immunohistochemistry ; 縮寫 IHC)

用 95 度 C 烤片，以二甲苯 (xylene) 脫蠟，再用 100%、95%、80%與 70%不同濃度的酒精由高至低覆水。H₂O₂ 覆蓋組織，以 Peroxidase Block 去除 H₂O₂，再以 Citrate Buffer 覆蓋並放入 95 度 C 烤箱 30 分鐘進行抗原修復，接著用 Blocking Buffer 覆蓋組織 30 分鐘修復蛋白質。清洗後，滴上 anti-TLR2 Antibody (1:50, Servicebio Technology, Wuhan, China)或 anti-TLR3 Antibody (1:50, Bioss Antibodies, MA, USA)覆蓋組織後，放置 37 度 C 培養箱 2 小時再以 Post Primary 處理 10 分鐘，使用 BioTnA Polymer HRP (mouse or rabbit)覆蓋組織 2 小時，加上 TnAlink DAB chromogen 與 TnAlink DAB Buffer 混合液，再用 Counterstain Hematoxylin 染色 30 至 45 秒，風乾後封片。最後以 MoticEasyScan Pro 照相系統 (Motic in Asia, Xiamen, China) 400 倍進行掃描照相。

3. 染色量化分析

染色的定量程度稱為 IHC 強度(IHC intensity)，由 Image-Pro Plus 6.0 軟體 (Media Cybernetics, LP, USA) 整合光學的平均密度來表示，如下：IHC 強度小於 0.16 為輕度染色 (mild staining)標示為“-”；0.16 至 0.25 為輕度至中度染色 (mild to moderate staining) 標示為“-/+”；IHC 強度 0.26 至 0.35 為中度至強度染色 (moderate to strong staining) 標示為“+/++”；IHC 強度高於 0.35 為強烈染色 (very strong staining) 標示為“+++”。每張載玻片的 IHC 強度由至少 3 個影像確定。

4. 統計分析

使用 GraphPad Prism 5.0 軟體 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) 進行統計分析和繪圖。各研究組平均值之間的統計差異透過單向變異數分析 (one-way analysis of variance; One-Way ANOVA) 與 Bartlett's 變異數 (Bartlett's test) 來進行檢驗，卡方檢定 (Chi-square test) 用以檢定性別資料與染色強度人數比例。數據皆以平均值±標準差 (mean±SE) 來表示。 p 值小於或等於 0.05 ($p \leq 0.05$) 被認為具有統計顯著性。

參、 研究結果

一、 研究收集組別的臨床數據分析

表 1 中顯示本研究收入了 20 名 CRSwNP、15 名 CRSwNP+Smoker 和 12 名對照受試者。所有組別之間的性別或年齡沒有差異，CRSwNP 和 CRSwNP+Smoker 患者的血漿 IgE 濃度高於對照組 ($p < 0.0001$)，與 CRSwNP 組相比，CRSwNP+Smoker 組的血漿清 IgE 含量在各組別監是最高的。另外，我們也統計了 CRSwNP+Smoker 組的吸菸史，平均吸菸年齡為 6.7 ± 1.2 年，最長為 20 年，最短 2.5 年。

表 1、控制組與各試驗組的臨床變數統計分析表

變數(Variables)	實驗組別			p 值
	Control (n=12)	CRSwNP (n=20)	CRSwNP+Smoker (n=15)	
性別(男), n (%)	7 (58.3%)	14 (70.0%)	9 (60.0%)	0.94
年齡 (年), Mean \pm SE	38.9 \pm 3.1	49.7 \pm 3.3	48.8 \pm 4.2	0.37
血漿 IgE 濃度 (KU/L), Mean \pm SE	57.2 \pm 9.3	127.6 \pm 25.4	287.6 \pm 67.8	< 0.0001
平均菸齡(年), Mean \pm SE	-	-	6.7 \pm 1.2	

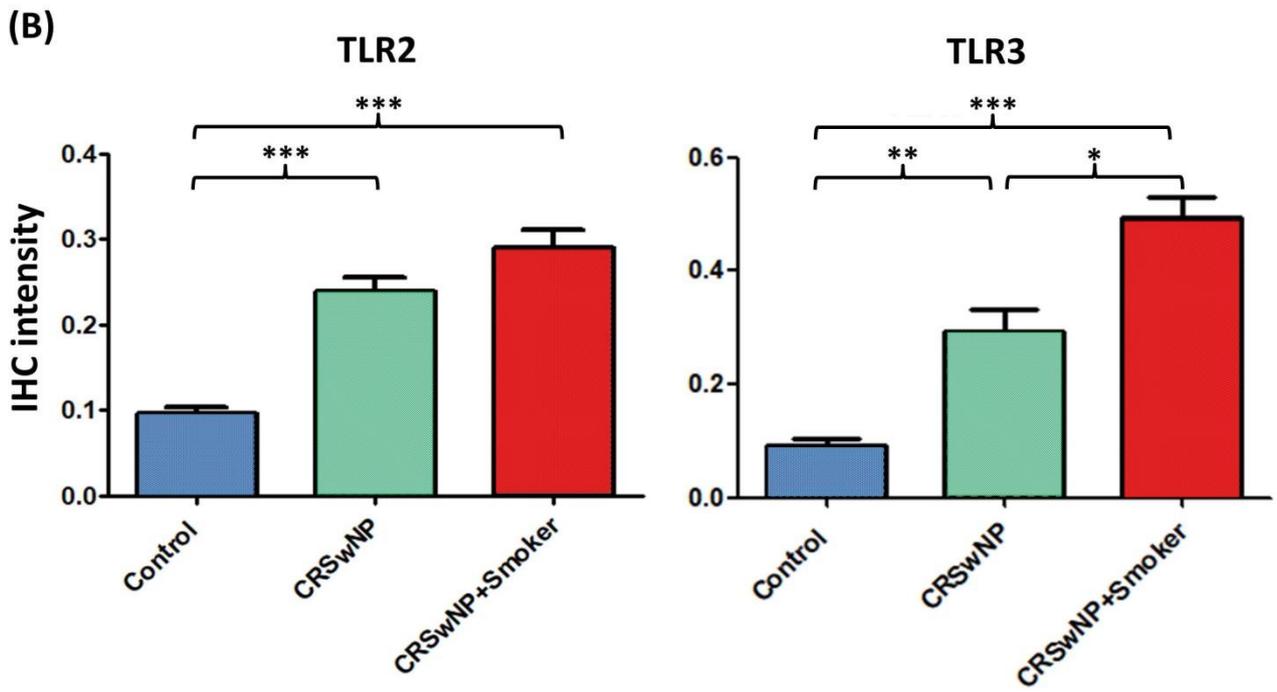
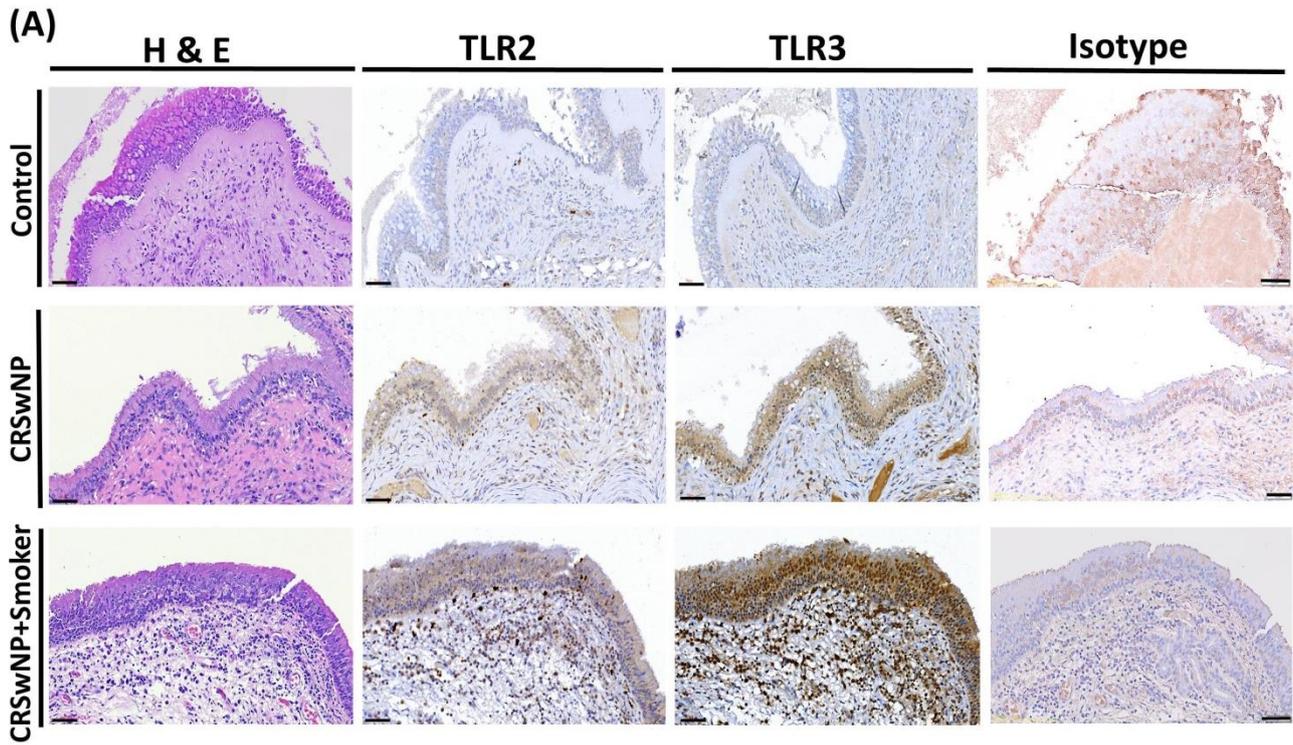
Control: 對照組；Mean \pm SE:平均值 \pm 標準差；p 值 ≤ 0.05 為具有統計顯著性。IgE: 免疫球蛋白 E (immunoglobulin E；縮寫 IgE)

二、 CRSwNP 抽菸者的鼻息肉組織中 TLR2 和 TLR3 的表現與量化

圖 5A 中，以蘇木紫和伊紅 (hematoxylin and eosin；縮寫 H & E) 染色照片顯示在 CRSwNP 組與 CRSwNP+Smoker 組中鼻黏膜組織觀察到一些變化，但在對照組中不存在，例如:基質有許多發炎細胞浸潤、上皮細胞的破壞和脫落、細胞質空泡化 (cytoplasmic vacuolization)，以及杯狀細胞 (goblet cells) 增加。CRSwNP+Smoker 組中上皮組織中的柱狀細胞 (columnar cells)排

列較 CRSwNP 組不規則。經過免疫組織化學染色法 (IHC) 對各組別進行鼻黏膜上皮組織 TLR2 與 TLR3 蛋白質染色後，TLR2 與 TLR3 在對照組上皮細胞呈現出較弱的染色。TLR2 表現在 CRSwNP 組與 CRSwNP+Smoker 組上皮細胞中較對照組呈現較強的染色，TLR3 表現在 CRSwNP 組上皮細胞較 TLR2 呈現更強的染色，而在 CRSwNP+Smoker 組上皮細胞中 TLR3 所呈現的染色最為強烈。此實驗中，我們以免疫球蛋白 G (immunoglobulin；縮寫 IgG) 當作此免疫化學染色法的同型對照 (Isotype control)，以無特異性的一級抗體但相同種屬來源，相同亞型、相同劑量以及相同的免疫球蛋白，用於消除由於抗體非特異性結合到細胞表面而產生的背景。

圖 5B 與 C 為圖 A 的量化分析柱狀圖，在 TLR2 量化圖中，CRSwNP 組和 CRSwNP+Smoker 組 TLR2 IHC 染色強度顯著高於對照組 (p 值兩者皆為 $p < 0.0001$ vs. 對照組)；在 TLR3 量化圖中，CRSwNP 組與 CRSwNP+Smoker 組中 TLR3 IHC 染色強度也顯著高於對照組 (p 值分別為 $p < 0.001$ 與 $p < 0.0001$ vs. 對照組)。且 CRSwNP+Smoker 組之 TLR3 IHC 染色強度顯著高於 CRSwNP 組(圖 5B)。另外，圖 5C 說明 CRSwNP+Smoker 組中 TLR3 IHC 染色強度顯著高於 TLR2，而在 CRSwNP 組中 TLR3 與 TLR2 無顯著差異。



(C)

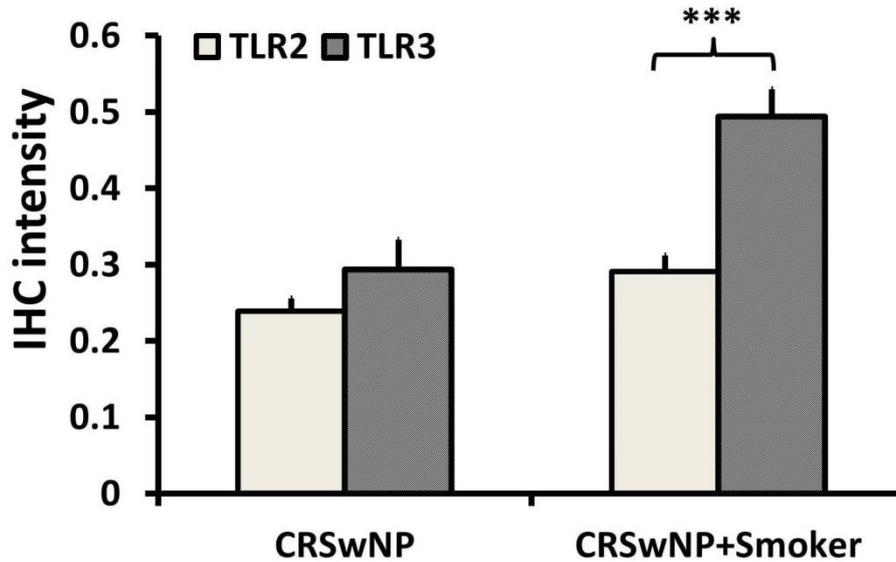


圖 5、(A) 三個不同研究組別為對照組(control) (n=12)、CRSwNP 組 (n=20)、CRSwNP+Smoker (n=15)鼻粘膜組織切片用 H&E 染色(左行)、以 IHC 染色 TLR2 蛋白質(第二行) 以及 IHC 染色 TLR3 蛋白質 (第三行)，另外以其相應的正常免疫球蛋白 G (IgG)作為同型對照組 (Isotype control)(右行)。且作為的鼻息肉進行染色。比例尺=50 μ m。(B) 比較各組別之 TLR2 或 TLR3 免疫組織化學染色強度量化分析圖。(C) 比較 CRSwNP 組與 CRSwNP+Smoker 組 TLR2 與 TLR3 免疫組織化學染色強度量化分析圖。 $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$ 為具有統計顯著性。

三、 CRSwNP 抽菸者的鼻息肉組織中 TLR3 的染色強度強烈比例分布較 TLR2 高

表 2 顯示計算每位受試者 TLR2 與 TLR3 表現的染色強度人數比例分佈；TLR2 與 TLR3 在對照組中，皆為輕度染色「-」。TLR2 表現在 CRSwNP 組中分別有 3 個 (15%) 輕度染色「-」、8 個 (40.0%) 輕度至中度染色「-/+」、7 個 (35.0%) 中度至強度染色「+/++」和 2 個 (10.0%) 強烈染色「+++」。TLR3 表現在 CRSwNP 組中分別有 1 個 (5%) 輕度染色「-」、8 個 (40.0%) 輕度至中度染色「-/+」、8 個 (40.0%) 中度至強度染色「+/++」和 2 個 (10.0%) 強烈染色「+++」。而 TLR2 表現在 CRSwNP+Smoker 組中分別有 7 個 (46.7%) 輕度至中度染色「-/+」、3 個 (20.0%) 中度至強度染色「+/++」與 5 個 (33.3%) 強烈染色「+++」。TLR3 表現在 CRSwNP+Smoker 組

中分別有 3 個 (20.0%) 中度至強度染色「+ / ++」以及 12 個 (80.0%) 強烈染色「+++」。然而，透過卡方檢定(Chi-square test)各組之間的 TLR2 與 TLR3 表現並沒有顯著差異，但確定 CRSwNP+Smoker 組的 TLR3 的陽性訊號高於 TLR2。

表 2、控制組與各試驗組的染色強度比例分布

抗體	染色強度, % (n)							
	TLR2				TLR3			
	-	-/+	+ / ++	+++	-	-/+	+ / +	+++
組別							+	
Control (n=12)	100.0 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	100.0 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
CRSwNP (n=20)	15.0 (3)	40.0 (8)	35.0 (7)	10.0 (2)	5.0 (1)	40.0 (8)	40.0 (8)	10.0 (2)
CRSwNP+Smoker (n=15)	0 (0)	46.7 (7)	20.0 (3)	33.3 (5)	0 (0)	0 (0)	20.0 (3)	80.0 (12)

Control: 對照組；“-”: 輕度染色(mild staining)；“-/+”: 輕度至中度染色(mild to moderate staining)；“+ / ++”: 中度至強度染色(moderate to strong staining)；“+++”: 強烈染色(very strong staining)

肆、 研究討論

一、 結果討論

台灣的慢性鼻竇炎成因有可能有別於亞洲其他地區或西方國家，尤其是南台灣，像是環境濕熱、空氣污染嚴重等因素，皆會造成慢性鼻竇炎合併鼻息肉疾病的內因型 (endotype) 有所不同，因此調查台灣族群慢性鼻竇炎合併鼻息肉的致病分子生理機轉至關重要。本次實驗我們以免疫化學染色技術分析 Toll-like 受體家族成員 TLR3 在慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸者的表現量，再以另一成員 TLR2 做比較，我們的實驗發現 TLR3 表現量在慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸者明顯高於未吸菸者，且也高於 TLR2 的含量，另外，我們再以卡方檢定分析染色強度人數比例，雖然各組別間的染色強度人數比例無統計上的差異（可能是由於分析人數較少的因素），但慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸者的強烈 TLR3 表現比例高達 80% (12/15)，此結果與 Yamin 等學者所做的香菸萃取物對慢性鼻竇炎合併鼻息肉病患的初代鼻上皮細胞體外實驗結果類似 (Yamin, et al, 2015)。總結，Toll-like 受體家族成員中的 TLR3 可能是慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸者致病的一個重要的分子。最後期待本實驗 TLR3 對慢性鼻竇炎合併鼻息肉吸菸者的之後的訊號傳遞路徑研究有所幫助，這可能需要分析更多檢體與實驗來證明。

二、 研究感想

因學校一年級時生物實驗課有學到如何將活體組織取樣，製作切片，再以 H&E 染色，檢查豬軟骨組織與豬腦組織，因此想更進一步學習醫院病理檢查常用的，利用抗體與抗原之間專一性結合，來偵測組織中目標蛋白的表現量及位置的免疫組織化學染色技術，所以老師請林右才醫師提供鼻黏膜組織切片檢體，真正讓我們學習到類似像醫院病理檢查的模式測定組織中

的目標蛋白質。

此研究也讓我們學習到常常聽到的疾病慢性鼻竇炎的生理機制，許多的醫學專有名詞，和學習如何找文獻、找正確的抗體、設計實驗、免疫化學染色技術、利用統計軟體分析實驗數據與作圖，以及如何寫一份完整的研究報告，在研究過程常讀到艱深的原文文獻很辛苦但卻非常充實。

伍、 參考文獻

- Anderson KV, Bokla L, Nüsslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the Toll gene product. *Cell*. 1985;42(3):791-798.
- Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern R, Reitsma S, Toppila-Salmi S, Bernal-Sprekelsen M, Mullol J, Alobid I, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020. *Rhinology*. 2020;58(Suppl S29):1-464.
- Huang CC, Lee TJ, Huang CC, Chang PH, Fu CH, Wu PW, Wang CH. Impact of cigarette smoke and IL-17A activation on asthmatic patients with chronic rhinosinusitis. *Rhinology*. 2019;57(1):57-66.
- Huang CC, Wang CH, Fu CH, Huang CC, Chang PH, Chen YW, Wu CC, Wu PW, Lee TJ. Association between cigarette smoking and interleukin-17A expression in nasal tissues of patients with chronic rhinosinusitis and asthma. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(47):e5432.
- Liao B, Liu JX, Li ZY, Zhen Z, Cao PP, Yao Y, Long XB, Wang H, Wang Y, Schleimer R, Liu Z. Multidimensional endotypes of chronic rhinosinusitis and their association with treatment outcomes. *Allergy*. 2018;73(7):1459-1469.
- Smith KA, Orlandi RR, Rudmik L. Cost of adult chronic rhinosinusitis: A systematic review. *Laryngoscope*. 2015;125(7):1547-1556.
- Thomson NC, Chaudhuri R, Livingston E. Asthma and cigarette smoking. *Eur Respir J*.

2004;24(5):822-833.

Sameer AS, Nissar S. Toll-Like Receptors (TLRs): Structure, Functions, Signaling, and Role of Their Polymorphisms in Colorectal Cancer Susceptibility. *Biomed Res Int.* 2021;2021:1157023.

Akira S. Toll-like receptor signaling. *J Biol Chem.* 2003;278(40):38105-38108.

Hirschberg A, Kiss M, Kadocsa E, et al. Different activations of toll-like receptors and antimicrobial peptides in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyposis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273(7):1779-1788.

Yamin M, Holbrook EH, Gray ST, Busaba NY, Lovett B, Hamilos DL. Profibrotic transforming growth factor beta 1 and activin A are increased in nasal polyp tissue and induced in nasal polyp epithelium by cigarette smoke and Toll-like receptor 3 ligation. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2015;5(7):573-582.

【評語】 090020

1. 研究發現吸菸、TLR3 表現與慢性鼻竇炎合併鼻息肉有潛在相關性，但這僅僅是觀察到的統計相關，不能確定吸菸直接導致 TLR3 表現增加，進而引起慢性鼻竇炎。
2. 雖然研究提到 TLR2 和 TLR3 的表現增加，但未深入討論這些分子在慢性鼻竇炎發病機制中的具體角色。應該進一步的探討分子機制。
3. 本研究分析鼻竇炎患者息肉中，TLR3 的表現是否與抽菸習慣相關，香菸萃取物增加初代鼻上皮細胞中的 TLR3 表現已有文獻報導。
4. 本作品利用病人檢體確認此項發現。
5. 本作品為臨床回溯性分析。所得結論僅為臨床相關性，缺乏因果關係驗證與分子機制研究。TLR3 在鼻竇炎中的角色未明。
6. 本作品發現抽菸習慣增加 TLR3 蛋白表現，此相關性若能配合機制探討或是提供相關治療策略，未來可能具有臨床應用價值。