

ASOB、ApoD、Ang II 2R 在腋(臭)区顶泌汗腺中的水平及相关性

陈文换¹, 马朝辉², 杨峰燕¹, 李子国², 李扬²

1. 涿州市医院病理科, 河北 保定 072750;

2. 涿州市医院普外科, 河北 保定 072750

摘要: **目的** 研究大汗腺分泌物气味结合蛋白(ASOB)、载脂蛋白 D(ApoD)、血管紧张素 II 受体 2(Ang II 2R)在腋(臭)区顶泌汗腺中的水平及相关性。**方法** 选取 2018 年 1 月至 2020 年 1 月进行手术治疗的腋臭患者 92 例(腋臭组),其中男 40 例,女 52 例;轻度 31 例,中度 43 例,重度 18 例。选同期经腋窝入路进行隆乳术的患者 50 例为正常对照组,均为女性。采用荧光定量 PCR 检测 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量;免疫组化染色检测三者蛋白的表达;采用 Pearson 线性相关分析其相关性。**结果** 免疫组化结果可见,ApoD 和 Ang II 2R 蛋白在腋臭患者顶泌汗腺细胞细胞质中呈棕黄色或棕褐色的阳性表达,ASOB 蛋白在细胞浆中呈棕黄色阳性表达。与正常对照组相比,腋臭组 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量升高(P 均 < 0.01)。与静息期患者相比,活跃期腋臭患者顶泌汗腺中 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量升高(P 均 < 0.01)。ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量均呈重度 $>$ 中度 $>$ 轻度腋臭患者(P 均 < 0.01)。相关性分析显示,ASOB 与 ApoD 呈正相关($r = 0.341, P = 0.001$);ApoD 与 Ang II 2R 呈正相关($r = 0.525, P = 0.001$);ASOB 与 Ang II 2R 呈正相关($r = 0.474, P = 0.001$)。**结论** ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 在腋(臭)区顶泌汗腺中高表达,与腋臭不同分泌时期及不同程度相关,ASOB 与 ApoD、Ang II 2R 两两间分别呈正相关,在腋(臭)区顶泌汗腺中起重要的参与作用。

关键词: 大汗腺分泌物气味结合蛋白; 载脂蛋白 D; 血管紧张素 II 受体 2; 腋(臭)区顶泌汗腺

中图分类号: R758.74⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)04-0466-04

Levels of and correlations of ASOB, ApoD and Ang II 2R in apocrine sweat gland of axillary region

CHEN Wen-huan^{*}, MA Zhao-hui, YANG Feng-yan, LI Zi-guo, LI Yang

^{*} Department of Pathology, Zhuozhou Hospital, Baoding, Hebei 072750, China

Corresponding author: MA Zhao-hui, E-mail: muk5217@163.com

Abstract: Objective To study the levels and their correlations of apocrine secretion odor-binding protein (ASOB), apolipoprotein D (ApoD) and angiotensin II receptor 2 (Ang II 2R) in axillary apocrine sweat gland. **Methods** A total of 92 patients (40 males and 52 females) with axillary osmidrosis (AO) receiving surgical treatment from January 2018 to January 2020 were selected as AO group, in which osmidrosis was mild in 31, moderate in 43 and severe in 18 patients. During the same period, 50 female patients undergoing breast augmentation through the axillary approach were served as control group. The mRNA and protein expressions of ASOB, ApoD and Ang II 2R were respectively detected by fluorescent quantitative PCR and immunohistochemistry (IHC). Pearson linear correlation was used to analyze the correlations among them. **Results** IHC results showed that ApoD and Ang II 2R protein expressions were positive with brownish yellow or brown in the cytoplasm of apocrine sweat gland cells of AO patients, and ASOB protein expression was positive with brownish yellow. Compared with control group, the mRNA expression levels of ASOB, ApoD and Ang II 2R significantly increased in AO group (all $P < 0.01$). Compared with the patients with AO at rest period, the mRNA expression levels of ASOB, ApoD, and Ang II 2R increased statistically in the patients with AO at active period (all $P < 0.01$). The mRNA

expression levels of ASOB, ApoD, and Ang II 2R significantly increased with the increase of degree of axillary osmidrosis (all $P < 0.01$). Correlation analysis showed that there were positive correlations between ASOB and ApoD ($r = 0.341, P = 0.001$), between ApoD and Ang II 2R ($r = 0.525, P = 0.001$) and between ASOB and Ang II 2R ($r = 0.474, P = 0.001$).

Conclusions ASOB, ApoD and Ang II 2R are highly expressed in the apocrine sweat glands of AO and are associated with different secretion periods and degrees. The positive correlations among ASOB, ApoD, and Ang II 2R (by pairwise comparison) suggest that they play an important participation in the apocrine sweat glands of AO.

Keywords: Apocrine secretion odor-binding protein; Apolipoprotein D; Angiotensin II receptor 2; Apocrine sweat glands in axillary region

Fund program: Key Scientific and Technological Research Projects of Health Commission of Hebei Province (20181511)

腋臭通常被称为“狐臭”,其主要的发病机制目前尚不明确,腋臭患者的异味在夏季多汗期与青春期较为严重,难闻的气味给患者带来了巨大的心理创伤,也对患者的社会交往与日常生活产生严重的影响^[1-2]。腋臭的发生与遗传因素相关,一般认为,臭味是经汗腺导管排出体外的腋窝大汗腺中的分泌物,在细菌的作用下分解形成^[3]。大汗腺分泌物气味结合蛋白(ASOB)在腋臭的发生与分泌中起到重要的作用,人类大汗腺中的ASOB是一种特异性的ASOB。载脂蛋白(Apo)D与其他Apo相比具有较多的特异性,是一种高密度脂蛋白,与腋臭的发病具有一定的关系^[4]。血管紧张素II(Ang II)功能由特异性受体血管紧张素II受体2(Ang II 2R)介导,是肾素-血管紧张素系统的重要成分,Ang II作用于Ang II 2R,可降低血压,舒张血管^[5]。本研究探讨ASOB、ApoD、Ang II 2R在腋(臭)区顶泌汗腺中的水平及相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2018年1月至2020年1月在涿州市医院进行手术治疗的腋臭患者92例(腋臭组),其中男40例,女52例;年龄20~39(29.5 ± 5.6)岁;轻度31例,中度43例,重度18例。选同期经腋窝入路进行隆乳术的患者50例为正常对照组,均为女性,年龄21~38(29.1 ± 5.5)岁,排除腋臭患者。腋臭诊断标准为:均经两位医生诊断,术前,在室温下休息30 min后,患者着短袖上衣,在距离医生30 cm处被闻及异味;正常组采用相同诊断标准,距离15 cm及30 cm处,均未闻及异味。患者此前未作任何非手术治疗。两组对象对研究均知情同意,且研究经院伦理委员会审核通过。两组对象性别构成及年龄对比无统计学差异($P > 0.05$)。

1.2 标本采集 腋臭患者行腔镜腋下大汗腺精准切除手术时,对患者右侧切下的组织标本进行多点取材,只切下患者腋窝毛发分布区的皮肤及皮下组织。正常对照组手术时,进行多点取材,切取一部分右侧

腋窝处皮肤组织。两组标本均进行常规固定及蜡块的制作,将蜡块行5 μm 连续切片各4片备用。

1.3 ASOB、ApoD及Ang II 2R mRNA表达量检测 采用荧光定量PCR检测ASOB。按照Trizol试剂盒说明书提取腋窝切除组织标本的总RNA,以逆转录得到的cDNA为模板,进行PCR反应,用ASOB、ApoD及Ang II 2R的引物扩增。用2%琼脂糖凝胶电泳将PCR产物鉴定并拍照。在Gelwork ID Advanced V4.01软件上进行目的条带的像素分析,内参为GAPDH。结果以目的基因与GAPDH积分光密度值表示其mRNA相对表达量。

1.4 HE染色 切片固定20 min使用95%乙醇,PBS洗涤2次,1 min/次;苏木素染色液2~3 min,之后只用自来水洗涤;使用显微镜观察,如细胞核染色过深,使用1%盐酸酒精溶液分色数秒,自来水洗涤;伊红染液染色浸入1 min,自来水洗涤;吹干,使用中性和树胶封片。显微镜镜检,图像采集分析。

1.5 免疫组化染色处理 将石蜡切片标本放入二甲苯中进行脱蜡处理10 min,采用蒸馏水冲洗,PBS浸泡,弃用抗原修复液;切片移入湿盒中加入3%的 H_2O_2 ,恒温冰箱孵育5~10 min,消除内源性过氧化物酶的活性,采用PBS冲洗;加入适量山羊血清封闭,室温环境下孵育10 min;用滤纸将封闭液吸取,加入适当比例稀释的一抗,室温环境下孵育2 h,采用PBC冲洗,再加入二抗,室温孵育30 min,采用PBS冲洗;经过AEC显色处理10 min,在显微镜下观察阳性反应,之后再脱水并封片处理。显微镜下观察,ApoD蛋白以顶泌汗腺细胞质中出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性;ASOB蛋白在顶泌汗腺细胞浆中出现棕黄色为阳性;Ang II 2R蛋白在顶泌汗腺细胞质中呈棕黄色。

1.6 统计学处理 用SPSS 20.0软件进行分析。符合正态性和方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同时期比较采用配对 t 检验,两组间比较采用成组 t 检验,多组间比较采用 F 检验;以Pearson线性相关进

行相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理学观察 图1示,正常对照组真皮层完整,未见顶泌汗腺,并可见真皮下血管。腋臭组顶泌汗腺单体类球形,体积较大,直径1.0~3.0 mm,由大量迂曲的导管构成。汗腺组织主要分布于皮下浅层与真皮层下脂肪之间,与真皮层界限较明显,形成一汗腺组织层;完整的顶泌汗腺单体均位于真皮层下,真皮层内未见顶泌汗腺单体,仅见少量的小汗腺。

2.2 两组 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量

表1示,与正常对照组相比,腋臭组 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R mRNA 表达量升高(P 均 <0.01)。图2免疫组化结果示,腋臭组分别见顶泌汗腺细胞质、细胞浆中出现棕黄色或棕褐色颗粒为 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 蛋白阳性表达;正常对照组则未见。

2.3 不同分泌时期腋臭顶泌汗腺中 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量

表2示,与静息期腋臭患者相比,活跃期患者顶泌汗腺中 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量升高(P 均 <0.01)。

2.4 不同程度腋臭顶泌汗腺中 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量

表3示,ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量均呈重度>中度>轻度腋臭患者(P 均 <0.01)。

2.5 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 之间的相关性分析

Pearson 线性相关分析显示,ASOB 与 ApoD 呈正相关($r=0.341, P=0.001$);ApoD 与 Ang II 2R 呈正相关($r=0.525, P=0.001$);ASOB 与 Ang II 2R 呈正相关($r=0.474, P=0.001$)。见图3。

表1 两组 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

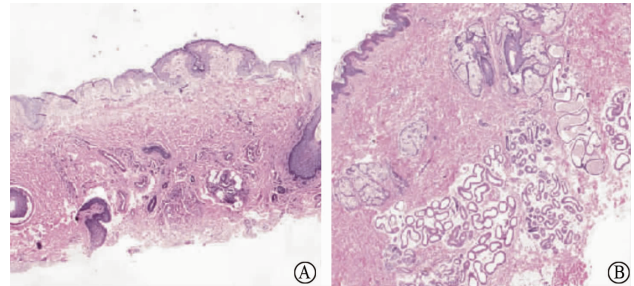
组别	例数	ASOB	ApoD	Ang II 2R
正常对照组	50	0.13 ± 0.04	0.43 ± 0.12	0.39 ± 0.10
腋臭组	92	0.76 ± 0.14	7.58 ± 1.15	4.84 ± 0.83
t 值		31.091	43.760	37.701
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 不同分泌时期腋臭顶泌汗腺中 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ASOB	ApoD	Ang II 2R
静息期	92	0.46 ± 0.11	3.16 ± 1.05	2.58 ± 0.76
活跃期	92	0.82 ± 0.29	8.54 ± 2.71	5.82 ± 2.15
t 值		11.131	17.760	13.631
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

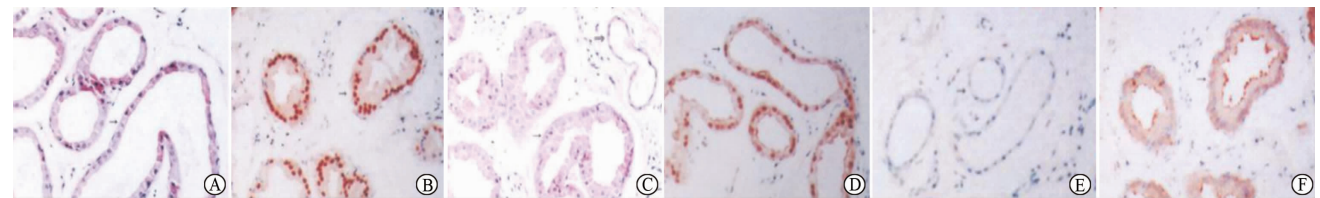
表3 不同程度腋臭顶泌汗腺中 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 的 mRNA 表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ASOB	ApoD	Ang II 2R
轻度	31	0.53 ± 0.11	3.51 ± 1.12	2.97 ± 0.84
中度	43	0.82 ± 0.27	7.88 ± 2.37	4.52 ± 1.28
重度	18	1.21 ± 0.39	10.42 ± 3.11	6.95 ± 2.14
F 值		13.742	16.870	13.880
P 值		<0.001	<0.001	<0.001



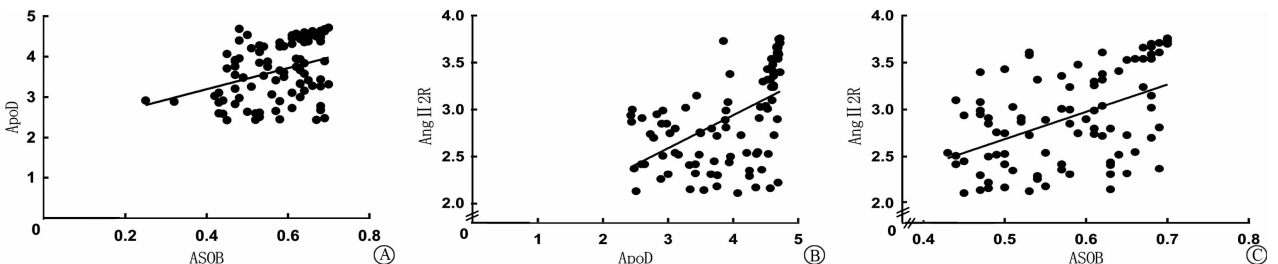
注:A为正常对照组;B为腋臭组。

图1 两组腋窝切除组织病理学观察(HE染色,×200)



注:A为正常对照组 ASOB 未见表达;B为腋臭组 ASOB 阳性表达;C为正常对照组 ApoD 未见表达;D为腋臭组 ApoD 阳性表达;E为正常对照组 Ang II 2R 未见表达;F为腋臭组 Ang II 2R 阳性表达。

图2 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 蛋白在两组腋窝切除组织中的表达(免疫组化染色,×200)



注:A为 ASOB 与 ApoD;B为 ApoD 与 Ang II 2R;C为 ASOB 与 Ang II 2R。

图3 ASOB、ApoD 及 Ang II 2R 之间的相关性分析

3 讨论

腋臭是一种遗传性疾病,多数患者有家族史^[6]。人体的小汗腺与大汗腺容易引起气味,特别是耻骨与腋窝顶泌汗腺腺体^[7]。汗液在腋窝细菌的作用下散发出难闻的刺激性气味,其本身是乳白色、无味的^[8-9]。腋臭的治疗方法主要包括手术与局部外用药物治疗。手术治疗是目前治疗腋臭比较可靠的方法,可从根本上破坏大汗腺。局部外用药物不能根治腋臭,只能短时间缓解^[10]。随着生活水平的提高,腋臭患者对腋臭术后的安全性问题与疗效等要求越来越高^[11]。因此,为能更好的治疗腋臭,需更全面的了解腋臭的发病机制。相关研究已证实,腋臭气味是由多种物质共同形成,其中最主要的是反式3-乙基-2-己烯酸(E-3M2H),挥发性硫化物也占一定比例,而调控其分泌重要的分子是ApoD^[12]。

ASOB主要有ASOB1与ASOB2两种形式,是臭味分子E-3M2H转运的重要载体。腋臭患者体内ApoD表达量较高^[4]。本研究显示,与正常对照组相比,腋臭组ASOB、ApoD及Ang II 2R mRNA表达量升高。ApoD可能通过雌激素、雄激素与激活蛋白-1等重要激素与因子启动,影响生物活性效应^[13-14]。ASOB有可能在雄激素受体(AR)传递生物学信号后,提高E-3M2H的结合率,启动基因调控使ASOB在细胞浆内表达增多。本研究显示,与静息期患者相比,活跃期腋臭患者顶泌汗腺中ASOB、ApoD及Ang II 2R的mRNA表达量升高。大汗腺的分泌功能与性激素的变化密不可分。性激素是一个重要的内环境因素,可促进大汗腺细胞由静息期到分泌期转化^[15-16]。腋区大汗腺是AR的靶器官,大汗腺内雄激素水平显著高于腋部皮肤组织^[17],ASOB在静息期与活跃期的分泌具有差异,本研究结果与其一致。

本研究结果示,随腋臭患者程度加重,ASOB、ApoD及Ang II 2R的表达量逐渐升高。Ang II是血管细胞增殖、心脏肥大、炎症与组织重塑的主要刺激物,是血压与血管稳态的重要生理调节因子^[18]。有研究表明,Ang II 2R在腋臭患者中的表达高于正常人的7.8倍,顶泌汗腺中Ang II 2R的表达量可随异味程度的加重而增加^[5],本研究结果与其一致。

综上所述,ASOB与ApoD、Ang II 2R在腋(臭)区顶泌汗腺中高表达,与腋臭不同分泌时期及不同程度相关,ASOB、ApoD及Ang II 2R两两间分别呈正相关,在腋(臭)区顶泌汗腺中起重要的参与作用。

参考文献

- [1] 温立霞,吴为民,吴磊,等. 自体脂肪基质血管成分移植辅助小切口皮瓣手术汗腺切除治疗腋臭临床观察[J]. 山东医药, 2019,59(24):31-34.
- [2] Ubel S, Wabnegger A, Arendasy M, et al. Affective evaluation of one's own and others' body odor; the role of disgust proneness[J]. Perception, 2017,46(12):1427-1433.
- [3] Yagerman S, Brauer JA, Geronemus RG. Retrospective multistudy analysis of axillary odor reduction after microwave treatment[J]. Dermatol Surg, 2018,44(10):1362-1363.
- [4] 陈辉,栗颖利,杜洁,等. 腋臭患者ApoD表达变化及其分子机制的研究[J]. 中国美容医学杂志, 2012,21(15):1956-1960.
- [5] 张建军,周同葵,李睿,等. 血管紧张素II受体2在腋(臭)区顶泌汗腺中的表达及与载脂蛋白D相关性研究[J]. 医学分子生物学杂志, 2015,12(6):329-332.
- [6] 毛笑非,方凯,贾倩楠,等. 高频微针电灼仪治疗24例中重度腋臭患者临床研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2017,50(9):645-649.
- [7] 帅秀蓉,袁文周,罗东. A型肉毒毒素注射联合高频电离子治疗腋臭合并局部多汗症的疗效分析[J]. 中国美容医学, 2019,28(12):33-36.
- [8] Okamoto H, Koizumi S, Shimizu H, et al. Characterization of the axillary microbiota of Japanese male subjects with spicy and milky odor types by pyrosequencing[J]. Biocontrol Sci, 2018,23(1):1-5.
- [9] 裴会乐,刘益民,代涛,等. BodyTite黄金微针射频治疗腋臭的临床观察[J]. 中国中西医结合皮肤性病学期刊, 2019,18(4):338.
- [10] Lam TH, Verzotto D, Brahma P, et al. Understanding the microbial basis of body odor in pre-pubescent children and teenagers[J]. Microbiome, 2018,6(1):213.
- [11] 王治强,胡雁,王际杰,等. 内窥镜辅助吸引切割器切除腋臭顶泌汗腺的临床疗效[J]. 中华医学美容美容杂志, 2019,25(1):61-63.
- [12] Frei J, Kröber T, Troccaz M, et al. Behavioral response of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to human sweat inoculated with axilla bacteria and to volatiles composing human axillary odor[J]. Chem Senses, 2017,42(2):121-131.
- [13] Chen H, Yang GD, Li YL, et al. Expression of apolipoprotein D and androgen receptor in axillary osmidrosis and its molecular mechanism[J]. Int J Clin Exp Med, 2013,6(7):497-503.
- [14] 张悦,白妍双,龚轶一,等. 腋臭发病的相关影响因素研究进展[J]. 中国美容医学杂志, 2018,27(10):167-169.
- [15] 杨芝香,汪守亚. CO₂激光联合优利特外用抗菌离子膜治疗腋臭疗效观察[J]. 中国医师杂志, 2019,21(7):1087-1089.
- [16] 刘秀峰,俞满昌,查锦东,等. miraDry治疗腋下多汗症及腋臭的临床观察[J]. 中国美容医学, 2019,28(4):59-61.
- [17] 齐贺斌,徐桐,张雅丽,等. 腋下搔刮联合负压抽吸治疗腋臭及临床组织学依据[J]. 河北医药, 2019,41(5):724-727.
- [18] Sallander J, Wallinder C, Hallberg A, et al. Structural determinants of subtype selectivity and functional activity of angiotensin II receptors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2016,26(4):1355-1359.