

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.30.010

腋臭患者大汗腺中 ApoD 和 AR 的表达水平与气味强度间的关系 *

栗颖利^{1,2} 王克华^{1△} 李江¹ 邢新^{2△} 陈辉³

(1 济南军区总医院整形外科 山东 济南 250031; 2 第二军医大学长海医院整形外科 上海 200433;

3 第四军医大学唐都医院整形外科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:明确大汗腺组织中 ApoD 和 AR 的表达水平与腋臭患者散发出气味间的关系,阐明两者在腋臭发病中的作用,为腋臭的临床治疗和干预奠定基础。**方法:**收集在我院整形外科就诊的腋臭病人腋下皮肤组织标本 41 例。手术前由 3 名医生共同判断患者腋下气味强度,按照能在 ≤ 1 m、 ≤ 3 m、 ≤ 5 m 距离闻及气味把患者分为轻、中、重三组。随机抽取各组标本组织块进行 RT-PCR 检测,测定 ApoD 和 AR 在大汗腺组织中的含量。**结果:**根据气味强度判定标准,轻、中和重 3 组患者人数分别为:7 人、11 人和 23 人。按照 AB 7500 Real-Time PCR 系统分析结果所示 ApoD 相对表达量的等级与气味强度之间有线形关系($P < 0.05$),ApoD 相对表达量的等级随着气味强度的增加而升高;AR 相对表达量的等级与气味强度之间有线形关系($P < 0.05$),随着气味强度的增加而升高。**结论:**ApoD 和 AR 的表达量与腋臭气味强度之间有着密切的联系。进一步证实 AR 可调节大汗腺组织 ApoD 的表达,为明确腋臭的发病机制提供了理论依据。

关键词:腋臭;大汗腺;气味;ApoD;AR

中图分类号:R62 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)30-5837-04

Relationship between ApoD and AR in the Apocrine Sweat Glands and Odor Intensity in Axillary Osmidrosis Patients*

LI Ying-li^{1,2}, WANG Ke-hua^{1△}, LI Jiang¹, XING Xin^{2△}, CHEN Hui³

(1 Department of plastic surgery, General Hospital of Jinan Military Command, Jinan, Shandong, 250031, China;

2 Department of plastic surgery, Chang hai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China;

3 Department of plastic surgery, Tang du Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To study the relation of ApoD/AR and odor strength in apocrine sweat gland of axillary osmidrosis and to confirm the effect in the pathogenesis of axillary osmidrosis so as to establish the theoretical basis for the pathogenesis of disease. **Methods:** We collected armpit skin tissue 41 samples of axillary osmidrosis group in our hospital. Three doctors smell armpit odor in different distances(1 m, 3 m and 5 m). The extent of the osmidrosis were classified into mild, middle and severe degree correspondent to the unpleasant odor obviously smelled at 1, 3 and 5 meters. Then we detected the content of ApoD and AR through Real-time PCR. Statistical analysis and processing were done later. **Results:** There were 7 patients in mild degree, 11 patients in middle degree and 23 patients in severe degrees. The Real-Time PCR showed that there was relationship between the degree of relative expression of ApoD/AR and odor strength($P < 0.05$). The degree of relative expression of ApoD increased with the increase of odor strength. **Conclusion:** There was a direct relationship between the degree of relative expression of ApoD/AR and odor strength. It may play a crucial role in the process of axillary osmidrosis odor that should be confirmed in the future.

Key words: Axillary osmidrosis; Apocrine sweat glands; Odor; Apolipoprotein D(ApoD); Androgen receptor(AR)

Chinese Library Classification: R62 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)30-5837-04

前言

腋臭俗称“狐臭”,是临床常见的臭汗症的一种,主要表现为腋下出汗时散发出难闻的气味^[1,2]。目前对于腋臭的发病机制尚不明确,有研究证实大汗腺细胞在其发病过程中起着重要的作用,载脂蛋白 D(Apolipoprotein D, ApoD)与腋臭臭味分子(E)-3-甲基-2-己烯酸(E-3-methyl-2-hexenoic acid, E-3M2H)的分泌紧密相关^[3-5]。ApoD 是特异性的汗腺分泌物结合蛋白,起

载体作用,在体内可将气味分子从大汗腺细胞管腔运输到细胞外。雄激素受体(Androgen receptor, AR)属于核受体超家族中的性激素受体,可以调节 ApoD 的表达^[6]。本课题组前期实验已经证实,AR 可能通过二氢睾酮的激活后上调 ApoD 的表达, ApoD 和 AR 是腋臭发病的关键分子^[7,8]。本实验目的是进一步明确腋区大汗腺中 ApoD 和 AR 的表达与腋臭症散发出气味间的关系,研究它们在腋臭症发病中的重要作用,为深入研究腋臭发病机制提供依据。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81271579)

作者简介:栗颖利(1983-),男,博士研究生,主要从事整形外科临床与基础研究工作, E-mail: doctorli90@163.com

△ 通讯作者:邢新, E-mail: xingxin57@163.com; 王克华, E-mail: wkh.kk@163.com

(收稿日期:2014-05-21 接受日期:2014-06-15)

1 材料与方

1.1 主要试剂与仪器

Trizol (美国 Invitrogen 公司), RNA 提取试剂盒 (大连宝生物工程有限公), 引物设计与合成 (大连宝生物工程有限公), AB 7500 Real-time PCR 系统 (美国 Applied Biosystems 公司)。

1.2 样本的收集

自 2010 年 8 月至 2013 年 5 月在济南军区总医院整形外科就诊的腋臭病人共 41 例, 患者之前均未接受过腋臭手术治疗。其中男性 26 人, 女性 15 人, 平均年龄 25 岁。腋臭患者行手术治疗的同时留取腋下皮肤组织标本。术中取患者双侧腋窝新鲜皮肤组织, 长约 5-6 cm, 宽约 2-3 cm, 深度需达到脂肪层。修剪组织后, 切成 $1 \times 0.5 \times 0.5$ cm 大小的组织块 (从真皮到浅层脂肪), 放入 -80°C 冰箱保存。

1.3 腋臭气味的判定标准

患者腋下气味强度的检测在腋臭手术前进行, 腋臭患者在术前需沐浴, 手术前 3 天禁食辛辣刺激性食物。手术当日首先进行气味强度的检测。患者在舒适安静的环境下充分暴露腋下皮肤, 气味强度由 3 名医生共同判断, 判断标准为: 根据在 ≤ 1 m、 ≤ 3 m、 ≤ 5 m 距离可闻及腋臭气味把患者分为轻度、中度和重度。

1.4 实验分组

实验按气味强度等级分为轻度、中度和重度 3 组。随机抽取各组患者标本组织块待提取 RNA。分别检测 ApoD 和 AR 的相对表达量。

1.5 ApoD 和 AR 在腋臭患者大汗腺组织中含量的检测

按照 RNA 提取试剂盒操作步骤提取大汗腺组织总 RNA, 逆转录合成 cDNA 后, 进行聚合酶链式反应。ApoD 和 AR mRNA 水平用看家基因 GAPDH 水平标准化。引物序列见表 1。

表 1 ApoD 和 AR 的引物序列

Table 1 Primer sequences of ApoD and AR

Primer	Sequences
ApoD	Forward: 5'-TAAACATCAGAGACCTGAAG-3'
	Reverse: 5'-AGAATCAGCCGATTTGAGAT-3'
AR	Forward: 5'-CCCCAGGCACCCAGAGGC-3'
	Reverse: 5'-GAGAACCATCCTCACCTGCT-3'
GAPDH	Forward: 5'-AGGCTGTGGGCAAGGTCATC-3'
	Reverse: 5'-ACCACTGACACGTTGGCAGT-3'

1.6 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件对本实验资料进行 Cochran-Mantel-Haensel (CMH 卡方) 分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, 表明 ApoD 和 AR 的相对表达量与气味强度有关。

2 结果

2.1 腋臭气味强度判定

3 名医生根据判断标准, 按照 ≤ 1 m、 ≤ 3 m、 ≤ 5 m 距离可

闻及腋臭气味, 把患者分为轻度 (7 例)、中度 (11 例) 和重度 (23 例)。

2.2 ApoD 的表达水平与气味强度的关系

用 AB 7500 Real-Time PCR 仪器配套系统对数据进行分析, 按照仪器分析的 ApoD 的相对表达量, 0.5~2 为低水平, 2~3.5 为中水平, >3.5 为高水平。ApoD 相对表达量的低中高水平与腋臭患者气味强度间有线性关系 ($P < 0.05$) (表 2)。ApoD 相对表达量的水平随气味强度的增加而升高 (图 1)。

表 2 腋臭患者大汗腺组织中 ApoD 表达水平与气味强度的关系

Table 2 The relationship between ApoD and odor intensity in axillary osmidrosis patient

Odor intensity	ApoD relative expression level			Total
	Low	Medium	High	
Mild	4	2	1	7
Middle	2	6	3	11
Severe	1	4	18	23
Total	7	12	22	41

Note: $P < 0.05$.

2.3 腋臭患者大汗腺组织中 AR 的表达水平与气味强度的关系

用 AB 7500 Real-Time PCR 仪器配套系统对数据进行分析, 按照仪器分析的 AR 的相对表达量, 0~1.5 为低水平, 1.5~3 为中水平, >3 为高水平。ApoD 相对表达量的低中高水平与腋臭患者气味强度间有线性关系 ($P < 0.05$) (表 3)。AR 相对表达量的水平随气味强度的增加而升高 (图 2)。

3 讨论

腋臭虽不影响身体健康, 但难闻的气味常给年轻人带来烦恼, 使他们害怕参加社交活动, 产生心理负担和自卑感。腋臭患者身上的特殊气味也会让周边人产生不愉快的感受。研究报道称, 欧美等西方人群患有腋臭的比例可达 60%, 东方人种腋臭

的发病率约 10%-15%,远低于西方人^[2]。由于文化差异,东方人更在意自己身体散发出的异味。在我国腋臭患者的分布具有地域差异,主要分布在西部及北部,例如新疆和内蒙古。腋臭的发生与这些地域人种的遗传因素、饮食文化、气候关系密切^[23]。近年来,腋臭症的发病率有逐渐升高的趋势。患者腋下特殊的气味在青春期和夏季尤为明显,给他们的日常生活带来了诸多不便,造成了巨大的心理压力。想彻底治疗腋臭症目前最好的办法就是进行手术,术中尽可能的祛除大汗腺,祛除的越彻底,残留的气味越小^[9]。但术后易引起并发症、皮肤的疤痕挛缩等问题^[10],因此探明腋臭的发病机制具有重要的意义,将为腋臭的临床治疗和干预奠定理论基础。

腋臭患者腋下散发出异味的主要成分是(反式)-3 甲基 -2-己烯酸,即 E-3M2H 分子。其分子的化学结构特点主要表现为含有一个不饱和支链脂肪酸和一个羧基末端^[11]。Natsch A 等利

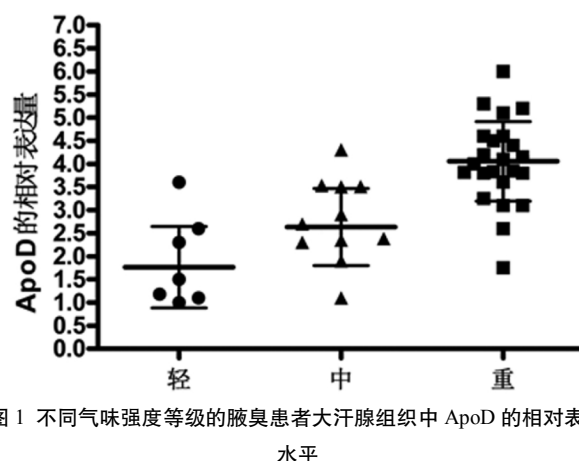


图1 不同气味强度等级的腋臭患者大汗腺组织中 ApoD 的相对表达水平

Fig.1 The ApoD relative expression level in different odor intensity in axillary osmidrosis patient

表 3 腋臭患者大汗腺组织中 AR 表达水平与气味强度的关系

Table 3 The relationship between AR and odor intensity in axillary osmidrosis patient

Odor intensity	AR relative expression level			Total
	Low	Medium	High	
Mild	3	2	1	7
Middle	1	7	3	11
Severe	2	3	18	23
Total	7	12	22	41

Note: $P < 0.05$.

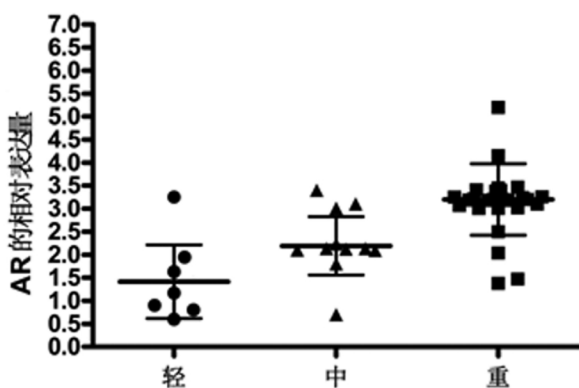


图2 不同气味强度等级的腋臭患者大汗腺组织中 AR 的相对表达水平

Fig.2 The AR relative expression level in different odor intensity in axillary osmidrosis patient

用气相层析质谱联用仪检测到汗液中存在 E-3M2H^[12]。E-3M2H 分子的合成和分泌量增加是人体内性激素水平和遗传因素多重作用的结果,大汗腺的生物活动是源于胞浆内相关的生物学分子活化后通过一定的方式向细胞核内传递信号,从而介导相关基因的启动、活化即转录,最终使臭味分子的合成量增加。ApoD 作为一种载体将 E-3M2H 分子排出体外,这就腋臭气味的最初来源。ApoD 基因的位置在染色体的 3p14.2 区域,该区域编码由长度为 169 个氨基酸残基,它们组成的特定的糖蛋白的蛋白质部分^[13]。我们的初步研究表明,ApoD 蛋白在人大汗腺细胞中表达,其表达水平在腋臭组和正常组之间存在差异,且在大汗腺的不同分泌时期表达量也不相同^[178]。

本实验研究证实,ApoD 的表达量和腋臭气味强度之间关系密切。其腋臭患者大汗腺组织明显增多,这种现象说明大汗腺分泌活跃,这种分泌活跃的状态在腋臭症中很常见。我们的研究表明:腋臭臭味越严重,其大汗腺中 ApoD 的表达含量就越高。推测这种现象由体内的内环境、环境以及遗传等多种因素相关,ApoD 的单核苷酸多态性也可能导致这一现象。另有研究显示,ApoD 在多种癌症中表达增高,性激素可能与调节作用有关^[14-18]。Kurata S 等研究证实 AR 在大汗腺中高表达,并具有生物学活性^[19]。我们的研究中男性患者尤其是青年男性的腋臭气味较为严重,这和这些人群体内的性激素水平有很大关系。这就说明腋臭病人大汗腺组织中 ApoD 的表达被 AR 调节的推断是合理的。

气味强度的判定由 3 名医生同时进行,按照能在 ≤ 1 m、 ≤ 3 m、 ≤ 5 m 距离闻及患者腋下气味的方式把病人分为轻、中、重 3 级。即使多名医生同时判断气味的大小,也仍然会有主观因素干扰,这是本实验的一个不足。未来实验中为了对气味强度等级进行更为科学合理的划分,我们将使用气相层析质谱联用仪,用它能够更为精确的检测出腋臭患者汗液中 E-3M2H 的含量。

综上所述,本实验证明了腋臭患者腋区大汗腺的气味强度与 ApoD 的表达量密切相关,呈线性关系,气味严重组大汗腺 ApoD 的表达量最高。这将为后期探讨 ApoD 的相关通路调节奠定基础,为深入研究腋臭发病机制提供依据。

参考文献(References)

- [1] Qian JG, Wang XJ. Effectiveness and complications of subdermal excision of apocrine glands in 206 cases with axillary osmidrosis [J]. J

- Plast Reconstr Aesthet Surg, 2010, 63(6): 1003-1007
- [2] 杨光荫, 彭苏格. 内蒙古伊克昭盟地区蒙古族、汉族人群腋臭发病率调查报告[J]. 人类学学报, 1993, 13: 80-82
- Yang Guang-yin, Peng Su-ge. Incidence of axillary osmidrosis in Mongolian and Chinese in Yikezhaomeng of Inner Mongolia[J]. Acta Anthropologica Sinica, 1993, 13: 80-82
- [3] Morioka D, Ohkubo F, Amikura Y. Clinical features of axillary osmidrosis: a retrospective chart review of 723 Japanese patients [J]. J Dermatol, 2013, 40(5): 384-388
- [4] 栗颖利, 陈辉. 腋臭发病机制的研究进展 [J]. 中国美容医学, 2010, 19(7): 1082-1084
- Li Ying-li, Chen Hui. Development of research on the pathogenesis of human axillary osmidrosis[J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2010, 19(7): 1082-1084
- [5] Akutsu T, Sekiguchi K, Ohmori T, et al. Individual comparisons of the levels of (E)-3-methyl-2-hexenoic acid, an axillary odor-related compound, in Japanese[J]. Chem Senses, 2006, 31: 557-563
- [6] Hall R E, Horsfall D J, Stahl J, et al. Apolipoprotein-D: a novel cellular marker for HGPIN and prostate cancer [J]. Prostate, 2004, 58(2): 103-108
- [7] 栗颖利, 陈辉, 杨国栋, 等. 大汗腺中分泌物气味结合蛋白、雄激素受体表达水平及其与腋臭相关性研究[J]. 中国美容医学, 2010, 19(12): 1822-1826
- Li Ying-li, Chen Hui, Yang Guo-dong, et al. Correlation study of apocrine secretion odor-binding protein, expression of androgen receptor and relationship with Osmidrosis [J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2010, 19(12): 1822-1826
- [8] 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, 2012, 11(21): 1956-1960
- Chen Hui, Li Ying-li, Du jie, et al. Exploration of the role of ApoD in the treatment of Axillary Osmidrosis patients [J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2012, 11(21): 1956-1960
- [9] 杜洁, 曹彦, 陈辉. 腋臭的外科治疗现状[J]. 中国美容医学, 2008, 17(10): 1555-1557
- Du Jie, Cao Yan, Chen Hui. Surgical treatment of axillary osmidrosis [J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2008, 17(10): 1555-1557
- [10] Kim D, Kim J, Yeo H, et al. Treatment of Axillary Osmidrosis Using a Subcutaneous Pulsed Nd-YAG Laser [J]. Arch Plast Surg, 2012, 39(2): 143-149
- [11] Akutsu T, Sekiguchi K, Ohmori T, et al. Individual comparisons of the levels of (E)-3-methyl-2-hexenoic acid, an axillary odor-related compound, in Japanese[J]. Chem Senses, 2006, 31(6): 557-563
- [12] Natsch A, Gfeller H, Gygax P, et al. A specific bacterial aminoacylase cleaves odorant precursors secreted in the human axilla[J]. J Biol Chem, 2003, 278(8): 5718-5727
- [13] 孙文涛, 陕声国, 张端莲, 等. 雄激素受体和载脂蛋白 D 在腋 (臭) 区顶泌汗腺中的表达及临床意义[J]. 武汉大学学报(医学版), 2008, 29(2): 253-257
- Sun Wen-tao, Shan Sheng-guo, Zhang Duan-lian, et al. Expression of Androgen Receptor and Apolipoprotein D in Apocrine Glands of Human Axillae from Osmidrosis [J]. Medical Journal of Wuhan University, 2008, 29(2): 253-257
- [14] Ham J, Eilers A, Whitfield J, et al. c-Jun and the transcriptional control of neuronal apoptosis [J]. Biochem Pharmacol, 2000, 60(8): 1015-1021
- [15] Do C S, Levros L J, Rassart E. Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773(6): 954-969
- [16] Bogoyevitch M A, Ngoei K R, Zhao T T, et al. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling: recent advances and challenges [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1804(3): 463-475
- [17] Jacoby R B, Brahms J C, Ansari S A, et al. Detection and quantification of apocrine secreted odor-binding protein on intact human axillary skin[J]. Int J Cosmet Sci, 2004, 26(1): 37-46
- [18] Appari M, Werner R, Wunsch L, et al. Apolipoprotein D (APOD) is a putative biomarker of androgen receptor function in androgen insensitivity syndrome[J]. J Mol Med, 2009, 87(6): 623-632
- [19] Kurata S, Itami S, Komada S, et al. Intranuclear androgen and cytosolic receptor concentrations in the axillary skin of osmidrosis [J]. Arch Dermatol Res, 1990, 282(1): 33-37