



ARTIGO ORIGINAL

Increased expression of pendrin in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps[☆]



Taku Ito ^{a,b,*}, Satoshi Ikeda^c, Tomoaki Asamori^b, Keiji Honda^b, Yoshiyuki Kawashima^a, Ken Kitamura^a, Keiko Suzuki^c e Takeshi Tsutsumi^a

^a Tokyo Medical and Dental University, Department of Otolaryngology, Tóquio, Japão

^b Tsuchiura-Kyodo General Hospital, Department of Otolaryngology, Tsuchiura, Japão

^c Tsuchiura-Kyodo General Hospital, Pathology, Tsuchiura, Japão

Recebido em 11 de janeiro de 2018; aceito em 6 de julho de 2018

Disponível na Internet em 18 de outubro de 2019

KEYWORDS

Chronic rhinosinusitis;
Pendrin;
MUC5AC;
Eosinophil;
Nasal polyp

Abstract

Introduction: Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is a heterogeneous disease and appropriate diagnostic algorithms in individual cases are necessary for effective medical treatment.

Objective: The purpose of this study was to clarify the relationship between the pendrin expression of nasal polyps and clinical and pathological characteristic features of eosinophilic chronic rhinosinusitis.

Methods: A total of 68 patients were classified into eosinophilic chronic rhinosinusitis or non-eosinophilic chronic rhinosinusitis groups according to the degree of eosinophilic infiltration into the nasal polyps. Clinical, hematological, and immunohistochemical analyses were performed and statistically compared between both groups.

Results: Thirty-eight were classified into eosinophilic chronic rhinosinusitis and 30 into non-eosinophilic chronic rhinosinusitis groups. There were no significant differences in age distribution, sex ratio, prevalence of asthma, or any other complications between the groups. The mean Lund–Mackay score and the number of serum eosinophils was significantly higher in the eosinophilic chronic rhinosinusitis than in the non-eosinophilic chronic rhinosinusitis groups. The pendrin expression was more frequently detected in the epithelial surface layer of nasal polyps in the eosinophilic chronic rhinosinusitis than in the non-eosinophilic chronic rhinosinusitis groups. In addition, mucin 5AC was more widely expressed in the eosinophilic chronic rhinosinusitis than in the non-eosinophilic chronic rhinosinusitis.

DOI se refere ao artigo: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2018.07.005>

[☆] Como citar este artigo: Ito T, Ikeda S, Asamori T, Honda K, Kawashima Y, Kitamura K, et al. Increased expression of pendrin in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Braz J Otorhinolaryngol. 2019;85:760–5.

* Autor para correspondência.

E-mail: taku.oto@tmd.ac.jp (T. Ito).

A revisão por pares é da responsabilidade da Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial.

Conclusion: Increased expression of pendrin and mucin 5AC in the nasal polyps would be associated with development of eosinophilic chronic rhinosinusitis. This finding could allow the development of a novel therapeutic agent targeted specifically to patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis.

© 2018 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

PALAVRAS-CHAVE

Rinossinusite crônica;
Pendrina;
MUC5AC;
Eosinófilo;
Pólipo nasal

Expressão aumentada de pendrina na rinossinusite crônica eosinofílica com pólipos

Resumo

Introdução: A rinossinusite crônica com pólipos nasais é uma doença heterogênea e algoritmos diagnósticos apropriados em casos individuais são necessários para um tratamento médico eficaz.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi esclarecer a relação entre a expressão da pendrina de pólipos nasais e propriedades clínicas e patológicas características da rinossinusite crônica eosinofílica.

Método: Um total de 68 pacientes foram classificados como tendo rinossinusite crônica eosinofílica ou rinossinusite crônica não eosinofílica de acordo com o grau de infiltração eosinofílica nos pólipos nasais. Análises clínicas, hematológicas e imunohistoquímicas foram realizadas e comparadas estatisticamente entre os dois grupos.

Resultados: Entre os pacientes, 38 apresentavam rinossinusite crônica eosinofílica e constituíram o grupo 1; 30 tinham rinossinusite crônica não eosinofílica e constituíram o grupo 2. Não houve diferenças significantes na distribuição etária, razão entre os sexos, prevalência de asma ou qualquer outra complicação entre os grupos. O escore médio de Lund-Mackay e o número de eosinófilos séricos foram significativamente maiores no grupo com rinossinusite crônica eosinofílica do que no grupo com rinossinusite crônica não eosinofílica. A expressão da pendrina foi mais frequentemente detectada na camada epitelial superficial dos pólipos nasais na rinossinusite crônica eosinofílica do que no grupo com rinossinusite crônica não eosinofílica. Além disso, mucina 5AC foi mais amplamente expressa na rinossinusite crônica eosinofílica do que na rinossinusite crônica não eosinofílica.

Conclusão: O aumento da expressão da pendrina e mucina 5AC nos pólipos nasais estaria associado ao desenvolvimento de rinossinusite crônica eosinofílica. Esse achado pode permitir o desenvolvimento de um novo agente terapêutico voltado especificamente para pacientes com rinossinusite crônica eosinofílica.

© 2018 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

A rinossinusite crônica (RSC) é definida como um processo inflamatório da cavidade nasal e dos seios paranasais com duração de mais de 12 semanas, que provoca bloqueio, obstrução, congestão e secreção nasais.¹ A RSC é geralmente dividida em dois subgrupos: com (RSCcPN) e sem (RSCsPN) pólipos nasais. Embora haja uma considerável sobreposição entre essas duas formas de RSC, muitos estudos observaram diferenças nos respectivos perfis inflamatórios e no desfecho do tratamento. Além disso, a RSCcPN pode ser subdividida em rinossinusite crônica eosinofílica (RSCE) e neutrofílica (RSC não E), de acordo com o grau de infiltração eosinofílica nos pólipos nasais.² A RSCE é caracterizada por polarização de Th2 e expressão acentuada das interleucinas (IL)-4, IL-5 e IL-13.^{3,4} Por outro lado, o tipo RSC não E exibe inflamação de células T CD8+, na qual o recrutamento de neutrófilos

é mediado por IL-1 β , IFN- γ , TGF- β 1, IL-8, IL-10 e IL-17. Como ambos os subgrupos têm uma capacidade de resposta e um prognóstico muito distintos, diferentes tratamentos médicos têm sido sugeridos para os respectivos pacientes. Portanto, algoritmos diagnósticos apropriados em casos individuais devem ser desenvolvidos para um tratamento médico eficaz.⁵

A expressão e a função do trocador aniônico, pendrina (SLC26A4), têm sido analisadas principalmente na orelha interna, no rim e na tireoide. Entretanto, dados recentes indicam que a pendrina também é expressa no epitélio brônquico e nasal após exposição a IL-4 e IL-13.⁶⁻⁸ A expressão da pendrina nas células epiteliais brônquicas é up-regulada na asma brônquica e na doença pulmonar obstrutiva crônica.⁷ Ambas as doenças envolvem inflamação respiratória, levam à destruição/remodelação tecidual e diminuição da função das vias aéreas. Vários estudos indicam que o aumento da

expressão e/ou atividade da pendrina pode contribuir para sua patogênese.⁹ A pendrina expressa em células epiteliais nasais também pode estar associada à inflamação, produção de muco e diminuição da clearance mucociliar sob algumas condições patológicas.^{6,10} O nível de expressão da pendrina é maior nos pólipos nasais do que no processo uncinado retirado de pacientes com RSC.⁶ No entanto, não se sabe qual o nível ou padrão de expressão da pendrina em pacientes com RSCE e RSC não E. Neste estudo, apresentamos a associação entre o tipo de RSC e a expressão da pendrina em pólipos nasais de pacientes e propomos um novo mecanismo patológico subjacente ao desenvolvimento de RSCE.

Pacientes e método

Pacientes

Uma revisão retrospectiva foi feita para avaliar pacientes com cirurgia endoscópica do sinusal no Departamento de Otorrinolaringologia de abril de 2011 a março de 2016. Foram identificados 68 pacientes com base em seus registros médicos. A RSCcPN foi diagnosticada segundo os sintomas clínicos (rinorreia anterior e/ou posterior, obstrução nasal e diminuição do olfato) com duração de mais de 12 semanas, além de endoscopia nasal e tomografia computadorizada (TC) das cavidades paranasais.¹ Não houve casos associados a doenças de base que levassem à RSC secundária, como granulomatose de Wegener, sarcoidose, fibrose cística ou imunodeficiência sistêmica. Pelo menos um mês antes da cirurgia, nenhum paciente foi tratado com esteroides orais ou nasais. Todos os pacientes foram submetidos a tomografia computadorizada (TC), que foi avaliada de acordo com o sistema de pontuação de Lund-MacKay¹¹ por dois otorrinolaringologistas cegados para a informação clínica. Este estudo foi aprovado pelo conselho de ética institucional de nosso hospital (número de aprovação 488) e consentimento livre e informado por escrito foi obtido de todos os pacientes.

Avaliação das contagens de eosinófilos no sangue e nos tecidos

A contagem de eosinófilos no sangue no período pré-operatório foi feita em todos os pacientes. Os pólipos nasais foram fixados em formalina a 10%, embebidos em cera de parafina, processados de maneira rotineira e então preparados como cortes semifinos de rotina (3,0 µm). A coloração com hematoxilina e eosina foi feita para detectar eosinofilia tecidual. O número de eosinófilos em cada amostra de tecido foi contado em três campos que continham o maior grau de infiltração celular com o uso de microscopia óptica (aumento de 400 ×) e as amostras foram classificadas em RSCE ou RSC não E de acordo com o grau (70 células por campo) de infiltração eosinofílica.²

Análise imuno-histoquímica

Para a imunocoloração, os cortes foram reidratados com uma série de álcoois e tratamento térmico com um forno de micro-ondas foi feito em tampão de ácido cítrico em

pH 6,0 por 15 min, seguido por resfriamento pelo ar por 20 minutos. O tratamento com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi então feito por 10 min para inativar a peroxidase endógena. Anticorpo monoclonal antipendrina de camundongo (código K0143-3; MBL, Nagoya, Japão) e anticorpo policlonal anti-MUC5AC (código NCL-MUC-5AC; Leica Biosystems, Newcastle, Inglaterra) foram adicionados aos cortes e a reação ocorreu em uma câmara de umidade à temperatura ambiente durante 1,5 h. Após a lavagem em solução tampão fosfato durante 30 min, foi feito um método polimérico à temperatura ambiente com um kit Novo Link Polymer (Leica Micro-systems, Tóquio, Japão). Finalmente, a visualização foi feita com 3,3'-diaminobenzidina (incluindo o kit), com contracoloração pela hematoxilina e, em seguida, a desidratação e o uso de laminulas. A presença ou ausência de expressão da pendrina foi avaliada qualitativamente e as áreas de expressão positivas para MUC5AC foram avaliadas pela média dos três principais campos em termos da abundância de sua expressão (ampliação de ×400, 0,575 mm²) e calculada quantitativamente pelo *software* Image J.¹² Essas avaliações foram feitas sem dados clínicos ou outros dados patológicos.

Análises estatísticas

Os dados foram expressos como média ± DP, conforme apropriado. As análises estatísticas foram avaliadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson, teste do χ^2 e teste *t* de Student. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados

Características clínicas dos pacientes

O grupo de estudo incluiu 44 homens (65%) e 24 mulheres (35%). A média foi de 56,2 anos (18 a 87). Entre eles, 38 pacientes (55,9%) foram diagnosticados com RSCE e 30 (44,1%) como RSC não E, por achado histológico. Oito pacientes (21,1%) no grupo RSCE e 3 (10,0%) no grupo RSC não E apresentavam asma concomitante. Não houve diferenças significativas entre os dois grupos na distribuição de idade, razão entre os sexos, prevalência de asma ou qualquer outra complicação (tabela 1). A contagem média de eosinófilos no sangue no período pré-operatório foi de 400 ± 217 células/µL no grupo RSCE (7,07% ± 4,01%) e 116 ± 97 células/µL no grupo RSC não E (1,85% ± 1,43%), significativamente menor do que no grupo RSCE ($p < 0,01$) (tabela 1). Os escores médios de Lund-Mackay foram 11,3 ± 5,3 e 9,1 ± 5,8, respectivamente, sugeriram que os pacientes com RSCE eram mais propensos a apresentar doença sinusal extensa (tabela 1). Além disso, cada escore foi positivamente correlacionado com a contagem de eosinófilos no sangue para ambos os grupos (fig. 1).

Expressão de pendrina e MUC5AC

Fizemos a análise imuno-histoquímica para determinar a distribuição de pendrina nos pólipos nasais. A expressão de pendrina foi detectada nas células epiteliais superficiais do pólipo nasal em 20 (52,6%) amostras do grupo RSCE

Tabela 1 Dados comparativos entre RSCE e RSC não E

	RSCE	RSC não E	p-valor
Total	38	30	
Idade (anos)	57,5	54,5	0,42
Sexo (masculino/feminino)	28/10	16/14	0,14
Asma	8 (21,1%)	3 (10,0%)	0,21
Leucócitos totais (cél/ μ L)	5967 \pm 1603	6323 \pm 1855	0,40
Eosinófilos no sangue (cél/ μ L)	400 \pm 217	116 \pm 97	< 0,01
Eosinófilos no sangue (%)	7,07 \pm 4,01	1,85 \pm 1,43	< 0,005
Escore de Lund-Mackay	11,3 \pm 5,3	9,1 \pm 5,8	< 0,05
Expressão de pendrina (n)	20 (52,6%)	6 (20,0%)	< 0,05
Expressão de MUC5AC (mm ² /campo)	0,090	0,048	< 0,01

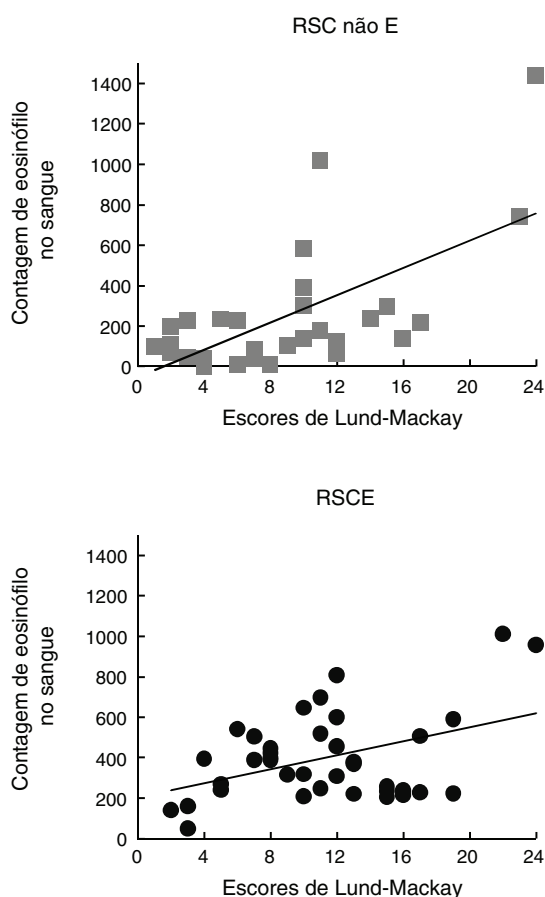


Figura 1 Contagem de eosinófilos no sangue correlacionada estatisticamente com o escore de Lund-Mackay para os grupos RSCE (A) e RSC não E (B), respectivamente.

e 6 (20,0%) do grupo RSC não E. Houve diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,05$) (tabela 1, fig. 2 B e E). A média da área de expressão de MUC5AC foi significativamente maior no grupo RSCE (0,090 mm²/campo) do que no grupo RSC não E (0,048 mm²/campo; $p < 0,01$), sugeriu que a secreção mucosa seria mais ativada nos pólipos do grupo RSCE. No entanto, os níveis de expressão de pendrina ou MUC5AC também não foram correlacionados com as contagens de eosinófilos no sangue ou escores de Lund-Mackay.

Discussão

A pendrina é expressa em uma distribuição tecidual restrita que inclui a orelha interna, a tireoide, o rim, o pulmão e vários outros órgãos.¹³ A redução da expressão da pendrina resulta em perda auditiva, bócio e aumento do aqueduto vestibular, denominada síndrome de Pendred. De modo inverso, o aumento da expressão da pendrina está relacionado a doenças do trato respiratório inferior, inclusive asma brônquica e doença pulmonar obstrutiva crônica. A patogênese da asma envolve principalmente a ativação de eosinófilos e células T CD4+, com inflamação *downstream* mediada principalmente por citocinas do tipo Th2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 e fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos). A exposição à IL-13 induz a hiperresponsividade das vias aéreas, eosinofilia aguda e produção de IgE e muco. A IL-13 aumenta a expressão do RNAm de SLC26A4 (pendrina) e MUC5AC nos tecidos pulmonares e nasais.^{6,14} No entanto, a expressão de MUC5AC não foi induzida pelo tratamento da IL-13 na ausência da condição da pendrina.¹⁵ De maneira oposta, a superexpressão da pendrina nos tecidos pulmonares resultou em aumentos na formação de exsudatos de muco, infiltração neutrofílica e expressão de MUC5AC no lavado broncoalveolar. Em um modelo animal, camundongos *knockout* para pendrina estimulados com ovalbumina exibiram menos eosinofilia e inflamação do que o tipo selvagem.¹⁶ Uma correlação semelhante também foi sugerida em humanos entre a resistência à asma e a síndrome de Pendred.¹⁷ Esses dados sugeriram que a pendrina poderia desempenhar um papel patológico importante nas doenças respiratórias superiores e inferiores crônicas.

Além das IL-4/13, várias citocinas ou estímulos ambientais são conhecidos por causar a expressão da pendrina nos tecidos pulmonares. A IL-1 β , o interferon- γ e a IL-17 foram listadas como as citocinas que podem induzir a expressão da pendrina.^{7,16,18} Especialmente a IL-17 é uma citocina pró-inflamatória sintetizada por células Th17 e comumente associada a respostas alérgicas. A expressão de IL-17 pode ser encontrada em eosinófilos, macrófagos e linfócitos de pólipos nasais.¹⁹ O número de células positivas para IL-17 foi significativamente correlacionado com o número de células positivas para MUC5AC e com o grau de infiltração de eosinófilos no tecido nasal.²⁰ Além disso, o tratamento combinado de IL-13 e IL-17 induziu sinergisticamente a expressão da

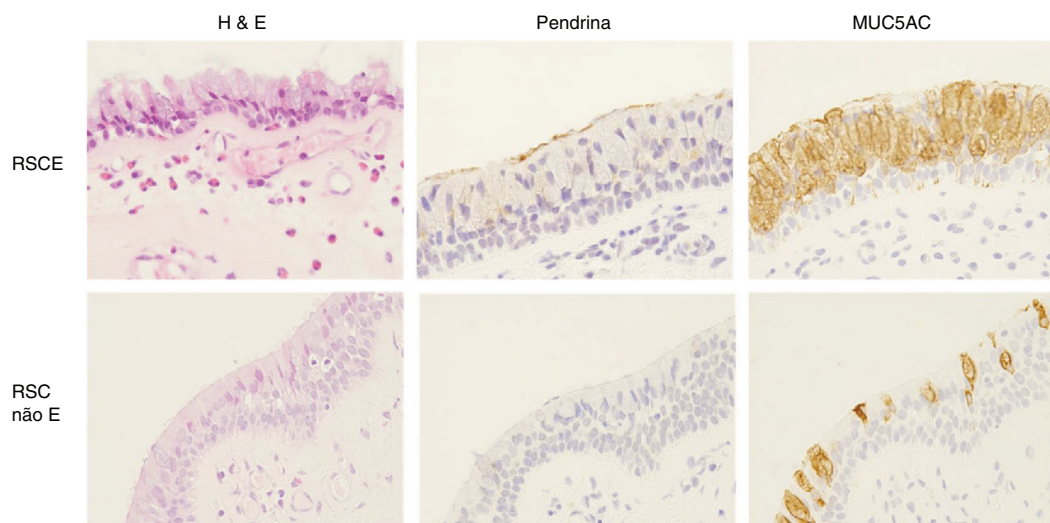


Figura 2 Coloração imuno-histoquímica de pendrina e MUC5AC na mucosa nasal nos grupos RSCE (B e C) e RSC não E (E e F; ampliação original, $\times 400$). Abundante infiltração eosinofílica foi demonstrada no grupo RSCE (A, seta). A coloração para pendrina foi intensa no grupo RSCE (B), mas ausente no grupo RSC não E (E). A expressão de MUC5AC foi amplamente observada no grupo RSCE (C) em comparação com o grupo RSC não E (F).

pendrina nas células epiteliais nasais cultivadas.⁶ Mostramos a relação entre pendrina, MUC5AC e infiltração de eosinófilos em nossos casos, mas a pendrina não foi detectável em quase metade dos pólipos do grupo RSCE. Esses resultados sugerem que a infiltração eosinofílica mediada por citocina do tipo Th2 foi importante, mas não suficiente para a expressão da pendrina nasal, e outro tipo de fatores, como a citocina Th17, pode ser necessário para a expressão da pendrina e o desenvolvimento de RSCE.

Foi demonstrado que a pendrina troca ânions e bases através da membrana plasmática. Acredita-se que ela faça a mediação da troca $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ na orelha interna.^{21,22} Por outro lado, acredita-se que a pendrina funcione como trocador de Cl^-/I^- no tecido da tireoide²³ e pode contribuir para o equilíbrio ácido-base, secretando HCO_3^- no rim.²⁴ Assim, a pendrina tem diferentes funções de acordo com os tecidos expressos, que é regulada por fatores transcricionais específicos.²⁵ Atualmente, o papel da expressão da pendrina no tecido nasal é desconhecido, mas a mudança no nível de expressão nasal pode influenciar a secreção mucosa e a homeostase local e estar associada ao desenvolvimento de RSCE via incremento, ativação e/ou infiltração tecidual de eosinófilos.

Conclusão

Foram mostradas as características clínicas e diferenças histopatológicas entre pacientes com RSCE e RSC não E no Japão. A contagem de eosinófilos no sangue e os escores de Lund-Mackay foram significativamente maiores no grupo RSCE do que no grupo RSC não E. Maior expressão de pendrina e MUC5AC foi observada no grupo RSCE em comparação com o RSC não E. No entanto, a expressão da pendrina não foi detectada em quase metade dos pólipos no grupo RSCE. A infiltração de eosinófilos seria importante, mas não suficiente para a expressão da pendrina nasal, e outros tipos de

fatores podem ser necessários para a expressão da pendrina e o desenvolvimento de RSCE.

Financiamento

Concessão para pesquisa científica (Subsídio nº 17K11316) do Ministério da Saúde, Trabalho e Bem-Estar do Japão e subvenção concedida pela Zenkyoren Research Foundation.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinol Suppl.* 2012, 3 p preceding table of contents, 1–298.
2. Tokunaga T, Sakashita M, Haruna T, Asaka D, Takeno S, Ikeda H, et al. Novel scoring system and algorithm for classifying chronic rhinosinusitis: the JESREC Study. *Allergy.* 2015;70:995–1003.
3. Baba S, Kagoya R, Kondo K, Suzukawa M, Ohta K, Yamasoba T. T-cell phenotypes in chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Japanese patients. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2015;11:33.
4. Otto BA, Wenzel SE. The role of cytokines in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;16:270–4.
5. Van Crombruggen K, Zhang N, Gevaert P, Tomassen P, Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128:728–32.
6. Seshadri S, Lu X, Purkey MR, Homma T, Choi AW, Carter R, et al. Increased expression of the epithelial anion transporter pendrin/SLC26A4 in nasal polyps of patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136:1548–58.e7.
7. Pedemonte N, Caci E, Sondo E, Caputo A, Rhoden K, Pfeffer U, et al. Thiocyanate transport in resting and IL-4-stimulated

- human bronchial epithelial cells: role of pendrin and anion channels. *J Immunol.* 2007;178:5144–53.
8. Nofziger C, Vezzoli V, Dossena S, Schonherr T, Studnicka J, Nofziger J, et al. STAT6 links IL-4/IL-13 stimulation with pendrin expression in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90:399–405.
 9. Nofziger C, Dossena S, Suzuki S, Izuhara K, Paulmichl M. Pendrin function in airway epithelia. *Cell Physiol Biochem.* 2011;28:571–8.
 10. Ishida A, Ohta N, Suzuki Y, Kakehata S, Okubo K, Ikeda H, et al. Expression of pendrin and periostin in allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis. *Allergol Int.* 2012;61:589–95.
 11. Lund VJ, Kennedy DW. Staging for rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;117:S35–40.
 12. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods.* 2012;9:671–5.
 13. Ito T, Choi BY, King KA, Zalewski CK, Muskett J, Chattaraj P, et al. SLC26A4 genotypes and phenotypes associated with enlargement of the vestibular aqueduct. *Cell Physiol Biochem.* 2011;28:545–52.
 14. Nakao I, Kanaji S, Ohta S, Matsushita H, Arima K, Yuyama N, et al. Identification of pendrin as a common mediator for mucus production in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol.* 2008;180:6262–9.
 15. Lee HJ, Yoo JE, Namkung W, Cho HJ, Kim K, Kang JW, et al. Thick airway surface liquid volume and weak mucin expression in pendrin-deficient human airway epithelia. *Physiol Rep.* 2015;3.
 16. Nakagami Y, Favoreto S Jr, Zhen G, Park SW, Nguyenvu LT, Kuperman DA, et al. The epithelial anion transporter pendrin is induced by allergy and rhinovirus infection, regulates airway surface liquid, and increases airway reactivity and inflammation in an asthma model. *J Immunol.* 2008;181:2203–10.
 17. Madeo AC, Manichaikul A, Pryor SP, Griffith AJ. Do mutations of the Pendred syndrome gene, SLC26A4, confer resistance to asthma and hypertension? *J Med Genet.* 2009;46:405–6.
 18. Scanlon KM, Gau Y, Zhu J, Skerry C, Wall SM, Soleimani M, et al. Epithelial anion transporter pendrin contributes to inflammatory lung pathology in mouse models of *Bordetella pertussis* infection. *Infect Immun.* 2014;82:4212–21.
 19. Makihara S, Okano M, Fujiwara T, Kariya S, Noda Y, Higaki T, et al. Regulation and characterization of IL-17A expression in patients with chronic rhinosinusitis and its relationship with eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126:397–400.e1–11.
 20. Ono N, Kusunoki T, Ikeda K. Relationships between IL-17A and macrophages or MUC5AC in eosinophilic chronic rhinosinusitis and proposed pathological significance. *Allergy Rhinol.* 2012;3:e50–4.
 21. Choi BY, Kim HM, Ito T, Lee KY, Li X, Monahan K, et al. Mouse model of enlarged vestibular aqueducts defines temporal requirement of SLC26a4 expression for hearing acquisition. *J Clin Invest.* 2011;121:4516–25.
 22. Ito T, Li X, Kurima K, Choi BY, Wangemann P, Griffith AJ. SLC26a4-insufficiency causes fluctuating hearing loss and stria vascularis dysfunction. *Neurobiol Dis.* 2014;66C:53–65.
 23. Bizhanova A, Kopp P. Controversies concerning the role of pendrin as an apical iodide transporter in thyroid follicular cells. *Cell Physiol Biochem.* 2011;28:485–90.
 24. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Suzuki K, Knepfer MA, et al. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:4221–6.
 25. Rozenfeld J, Efrati E, Adler L, Tal O, Carrithers SL, Alper SL, et al. Transcriptional regulation of the pendrin gene. *Cell Physiol Biochem.* 2011;28:385–96.