

· 论 著 ·

OSAHS 患者外周血 Th1/Th2 细胞比例变化及临床意义

黄 建

(武警重庆市总队医院呼吸内科 400061)

摘要:目的 探讨阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者外周血 Th1/Th2 细胞比例变化及临床意义。方法 经多导睡眠图确诊 OSAHS 患者 60 例,按照呼吸暂停低通气指数(AHI)分为轻度 OSAHS 组($n=18$),中度 OSAHS 组($n=22$),重度 OSAHS 组($n=20$)。对照组为年龄、性别、BMI 匹配,经多导睡眠监测除外 OSAHS 者 20 例。用流式细胞术检测各组 Th1/Th2 细胞比例并进行各组间比较。对 OSAHS 患者睡眠期 AHI 和 Th1 细胞比例进行相关性分析。结果 OSAHS 组 Th1 比例明显高于对照组[(18.2 ± 5.4)%和(12.5 ± 3.8)%, $P < 0.05$],其中重度 OSAHS 组增高较对照组尤为明显[(21.8 ± 4.6)%和(12.5 ± 3.8)%, $P < 0.01$]。OSAHS 患者 Th1 细胞比例与 AHI 呈正相关($r=0.668$, $P < 0.01$)。Th2 比例差异在各组间均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 OSAHS 患者 Th1 细胞激活程度显著增高,且与 OSAHS 的严重程度相关。

关键词:阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征;呼吸暂停低通气指数;辅助性 T 细胞

中图分类号:R563.9;R446.11

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)13-1647-02

Changes of peripheral blood helper T cell in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome

HUANG Jian

(Department of Respiration, Chongqing General Hospital of Chinese People's Armed Polices, Chongqing 400061, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of Peripheral Blood Helper T cell in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome (OSAHS). **Methods** Based on apnea hypopnea index (AHI) measured by polysomnography, 60 patients with OSAHS were divided into mild OSAHS group (L, 18 cases), moderate OSAHS group (M, 22 cases) and severe OSAHS group (H, 20 cases). 20 healthy subjects with matched age, gender and body mass index were selected as control. The ratio of Th1 and Th2 in peripheral blood was detected by flow cytometry. **Results** The ratio of Th1 in patients with OSAHS was higher than it in control group[(18.2 ± 5.4)% vs (12.5 ± 3.8)%, $P < 0.05$], The ratio of Th1 in group H increased sharply[group H vs control (21.8 ± 4.6)% vs (12.5 ± 3.8)%, $P < 0.01$]. The ratio of Th1 positively correlated to AHI($r=0.668$, $P < 0.01$). There were no difference of the ratio of Th2 in each group. **Conclusion** The ratio of Th1 is significantly increased in OSAHS patients, which is associated with the severity of OSAHS.

Key words: obstructive sleep apnea hypopnea syndrome; apnea hypopnea index; Helper T cell

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS)是最常见的一种睡眠呼吸障碍疾病,OSAHS 患者在睡眠过程中间歇性上气道阻塞,出现间歇性低氧血症,导致氧化应激和炎症反应,产生的炎症因子进一步加重气道的阻塞和低氧血症,导致病情加重和心血管并发症的发生^[1-2]。

T 淋巴细胞在调节炎症反应中起到了重要的作用,其中特别是辅助性 T 淋巴细胞(Th)更为受到关注^[3]。目前研究认为 Th 亚群的激活以及 1 型辅助性 T 细胞/2 型辅助性 T 细胞(Th1/Th2)比例的失衡,参与了动脉粥样硬化、炎症性肠病、支气管哮喘等多种炎症反应相关疾病的病理过程,但其在 OSAHS 发病机制中的作用尚不完全清楚。为此,本研究通过检测 OSAHS 患者外周血 Th1/Th2 细胞比例变化,探讨 Th 亚群在 OSAHS 发病中的可能作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象 连续选取 2008 年 11 月至 2009 年 12 月在本院经 Compumedic S 型多导睡眠监测诊断为 OSAHS 的患者 60 例为 OSAHS 组,年龄 29~70 岁,平均(46.21 ± 12.45)岁,其中男 48 例,女 12 例,体质指数(BMI)为 28.98 ± 3.36 。据

2003 年《阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南》的诊断标准^[4],将 OSAHS 组分为轻度组[呼吸暂停低通气指数(AHI)为 5~19 次/h]18 例、中度组(AHI 为 20~39 次/h)22 例、重度组(AHI ≥ 40 次/h)20 例。对照组为 20 例年龄、性别、BMI 匹配、临床疑似 OSAHS 但多导睡眠监测 AHI < 5 次/h 者。

1.2 排除标准 (1)有高血压、冠心病、脑血管意外疾病史;(2)有糖尿病史;(3)有恶性肿瘤、甲状腺功能减低症、肾上腺皮质增生症等内分泌疾病史;(4)2 周内感染、创伤及手术史;(5)近 2 周内使用糖皮质激素;(6)长期服用非甾体类抗炎药;(7)口服抗凝药病史。本研究符合本单位临床医学试验伦理委员会标准,并得到批准。

1.3 睡眠呼吸监测 采用多导睡眠监测仪进行整夜多导睡眠图监测,包括脑电图、心电图、眼动图、下颌及双侧胫前肌动图、口鼻气流、胸腹式呼吸和脉搏血氧饱和度等。所有记录数据均根据标准进行人工评估。口鼻气流中止大于 10 s 定为呼吸暂停,气流降低超过正常气流强度的 50% 以上伴有脉搏血氧饱和度(SpO_2)下降 4% 以上为低通气。呼吸暂停或低通气事件发生时,伴矛盾胸腹呼吸运动定为 OSAHS。

表 1 各组一般临床资料比较

组别	n	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	男性[n(%)]	BMI($\bar{x} \pm s$)	AHI($\bar{x} \pm s$, 次/h)	SpO ₂ ($\bar{x} \pm s$, %)
轻度 OSAHS 组	18	46.88±12.28	15(83)	28.26±3.68	12.02±3.02 ^a	83.66±4.06 ^a
中度 OSAHS 组	22	46.20±11.36	17(77)	28.54±3.08	28.68±4.88 ^{ab}	79.82±5.27 ^{ac}
重度 OSAHS 组	20	48.12±14.21	16(80)	28.89±3.64	61.39±11.34 ^{abd}	66.34±6.53 ^{abd}
对照组	20	47.48±13.64	16(80)	26.78±4.06	2.26±1.56	86.01±5.04

与对照组比较, ^a: $P < 0.01$; 与轻度 OSAHS 组比较, ^b: $P < 0.01$, ^c: $P < 0.05$; 与中度 OSAHS 组比较, ^d: $P < 0.01$ 。

1.4 Th 亚群细胞比例测定 用流式细胞检测方法, 分别用 CD4⁺ IFN- γ 和 CD4⁺ L-4⁺ 双阳性细胞的比例代表 Th1 和 Th2 细胞的水平。所有患者行外周静脉无菌穿刺, 抽取外周血 2 mL 肝素抗凝, 加入等量淋巴细胞分离液(天津中国医科院血液所), 离心后分离外周血单个核细胞(PBMC), 经 PBS 洗涤后, 加红细胞裂解液裂解残余红细胞, 离心、去上清液并经 PBS 洗涤后, 制成细胞悬液, 调整细胞浓度为不小于 1×10^6 /L。将细胞悬液 300 μ L 等分到测定管和对照管中, 测定管中加入 PE 标记的 CD4 单抗 10 μ L, 用破膜剂进行细胞打孔后加入 FITC 标记的 IFN- γ 单抗 10 μ L 和 PE-Cy5 标记的 L-4 单抗 10 μ L; 对照管分别加入相应荧光标记的同型对照抗体, 用流式细胞仪检测 CD4⁺ IFN- γ 和 CD4⁺ L-4⁺ 双阳性细胞的比例(%). 流式单抗购自 EB 公司, 流式细胞仪为 PACS-CALBUR 型。

1.5 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。两组间均数比较采用独立样本 t 检验; 多组间均数比较采用单因素方差分析。两变量相关性采用 Pearson 直线相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料比较 各组年龄、男性比例、BMI 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。OSAHS 各亚组与对照组 AHI、SpO₂ 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 各组 Th 细胞亚群比较 OSAHS 组 Th1 比例明显高于对照组, 差异有统计学意义[(18.2±5.4)%和(12.5±3.8)%], $P < 0.05$], 且与对照组和轻度 OSAHS 组相比, 重度 OSAHS 组 Th1 比例明显增高($P < 0.01$), 中度 OSAHS 组也有增高趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。Th2 比例在各组间差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。Pearson 相关分析显示 OSAHS 患者 Th1 细胞比例与 AHI 呈正相关($r = 0.668$, $P < 0.01$)。

表 2 各组 Th 细胞亚群比较

组别	n	Th1(%)	Th2(%)	Th1/Th2
轻度 OSAHS 组	18	13.0±4.2	2.4±0.5	5.6±1.1
中度 OSAHS 组	22	16.3±3.2	2.2±0.7	7.3±1.3
重度 OSAHS 组	20	21.8±4.6 ^a	1.9±1.1	12.2±3.6 ^a
对照组	20	12.5±3.8	1.8±0.9	6.6±1.7

与对照组及轻度 OSAHS 组比较, ^a: $P < 0.01$ 。

3 讨论

OSAHS 是临床上常见并具有一定潜在危险的疾病。近年来, 随着睡眠多导记录仪的开发和临床应用, 对本病的认识逐步深入, 但是其确切发病机制尚不清楚。OSAHS 患者由于慢性缺氧导致低氧血症、高碳酸血症及睡眠质量低下引起多系统、多器官的慢性损伤, 其中 OSAHS 对细胞因子及炎症反应

的影响成为近年来研究的热点之一^[5]。

有研究表明, OSAHS 患者血清促炎因子 IL-8 水平与 AHI 呈正相关^[6], 体内促炎因子 IL-6 升高^[7], 升高的 IL-6 又能促进 T 淋巴细胞和单核细胞等免疫细胞释放 IFN- γ 、IL-1 和 TNF- α 等促炎性细胞因子。同时, 王智刚等^[8]发现 OSAHS 患者 TNF- α 水平显著升高, 且与疾病严重程度呈正相关。这些研究表明, OSAHS 患者促炎因子增加, 另一方面, 有学者报道 OSAHS 患者血清抗炎因子 IL-10 水平明显降低, 与 AHI 呈负相关^[9]。改善 OSAHS 患者缺氧的 CPAP 治疗能减少 LTB₄、TNF- α 及 Hs-CRP 的生成, 增加 IL-10 的生成, 降低 OSAHS 所致的局部气道和系统性炎症反应, 提高抗炎因子水平, 预防或治疗 OSAHS 的并发症^[10]。OSAHS 患者炎症反应增强, 抗炎因子水平降低, OSAHS 患者外周血中多种细胞因子水平均发生变化, 免疫细胞和炎症反应可能参与 OSAHS 的发病或疾病的进展。

辅助性 T 淋巴细胞通过分泌细胞因子起到调节炎症反应的作用。细胞因子根据其功能不同分为两大类: 一类为促炎性细胞因子, 主要由 Th1 细胞分泌, 包括 TNF- α 、INF- γ 、IL-2 等, 与细胞免疫有关; 另一类为抑炎因子, 主要由 Th2 细胞分泌, 如 IL-10、TGF- β 、IL-4 等, 在终止病理免疫反应中起重要作用。正常人 Th1/Th2 类细胞因子相互依存和制约, 保持动态平衡, 维持机体正常的细胞免疫和体液免疫。有研究表明 IL-6、TNF 等细胞因子可能作为睡眠内源性调节因素, 参与睡眠紊乱的发生, 其分泌也随睡眠有一定的昼夜节律性^[11], 一旦在外来因素刺激下细胞因子水平发生变化, 这一平衡就会被打破, 引起免疫功能紊乱, 导致睡眠紊乱及对机体产生损伤。

本研究发现 OSAHS 患者 Th1 细胞激活程度显著增高, 而 Th2 细胞没有显著变化, 导致 Th1/Th2 比例失衡, 且 Th1 比例与 OSAHS 的严重程度呈正相关。提示由 Th1 比例增高导致的 Th1/Th2 比例失衡可能在 OSAHS 的发生、发展中发挥一定的作用。但这种变化与 OSAHS 的因果关系及内在的联系尚不清楚, 有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 汪武, 姚红兵. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的治疗现状[J]. 重庆医学, 2009, 38(9): 1047.
- [2] 夏秋萍, 陈建荣, 蔡映云, 等. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征呼出气冷凝液中炎症因子检测的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2008, 28: 146.
- [3] Laurat E, Poirier B, Tupin E, et al. In vivo down regulation of T helper cell 1 immune responses reduces atherogenesis in apolipoprotein E-knockout mice[J]. Circulation, 2007, 110(2): 197.

VacA 基因型均以 s1a 和 m2 型为主,慢性胃炎组 s1a 型为 65.4%,m2 型为 34.6%,消化性溃疡组 s1a 型为 90.0%,m2 型为 10.0%,胃癌组 s1a 型为 93.8%,m2 型为 6.2%,消化性溃疡组和胃癌组与慢性胃炎组之间 s1a 型有显著性差异,而 m2 型差异无显著性,也就是说从消化性溃疡和胃癌患者胃黏膜标本中分离出 VacA s1a 型的可能性高于其他基因型 H. pylori 菌株,而 VacA m1、m2 型则与 H. pylori 相关疾病无明显关系,表明感染 VacA s1a 阳性 H. pylori 菌株者更易发生消化性溃疡和胃癌等较严重的胃肠疾病。

目前,临床上用于治疗幽门螺杆菌感染的抗菌药物主要有硝基咪唑类(甲硝唑、替硝唑)、大环内酯类(克拉霉素、阿奇霉素)、β-内酰胺类(阿莫西林)、四环素及呋喃唑酮等。随着抗菌药物的广泛使用,其耐药菌株也日益增多^[4-6]。H. pylori 耐药率在不同国家和地区不尽相同^[7-8],对某些抗菌药物的耐药程度与过去使用该药的情况有关。因此,地区性 H. pylori 耐药率监测和按地区耐药性选择治疗方案已受到普遍重视。本实验结果表明 H. pylori 对甲硝唑有较高的耐药性,可能与硝基咪唑类药物在人群中广泛使用有关,当然也不能排除 H. pylori 对甲硝唑存在较高的原发性耐药。很多资料表明,H. pylori 针对阿莫西林和克拉霉素的耐药率是较低的,然而本研究中阿莫西林的耐药率也比较高,可能与本地区抗菌药物的不合理使用有关,应予以重视。

关于 H. pylori 不同 VacA 基因型与耐药性的关系,在针对阿莫西林和甲硝唑所做的药敏试验中,发现从阿莫西林敏感组和耐药组中分离到 VacA s1a 阳性 H. pylori 菌株的频率是有差异的,提示 H. pylori VacA 基因与其耐药性之间存在着某种联系,是否有可能决定 H. pylori 耐药的基因与 VacA 基因在 H. pylori 染色体上存在某种关联,或者还与其他毒力基因的表达有关,还需进一步研究和探索。

参考文献:

- [1] 叶桂安,张万岱,刘利民,等. 幽门螺杆菌 vacA 基因多态性与慢性胃病[J]. 世界华人消化杂志,2001,9(5):593.
- [2] Figueiredo C, Van Doorn LJ, Nogueira C, et al. Helicobacter pylori genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients and show a high prevalence of infections with multiple strains[J]. Scand J Gastroenterol,2001,36(2):128.
- [3] Ashour AA, Magalhaes PP, Mendes EN, et al. Distribution of vacA genotypes in Helicobacter pylori strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma[J]. FEMS Immunol Med Microbiol,2002,33(3):173.
- [4] Cheng H, Hu FL. The epidemiology of helicobacter pylori resistance to antibiotics in Beijing[J]. ZhongHua YiXue ZaZhi,2005,85(39):2754.
- [5] Datta S, Chattopadhyay S, Patra R, et al. Most Helicobacter pylori strains of Kolkata in India are resistant to metronidazole but susceptible to other drugs commonly used for eradication and ulcer therapy[J]. Aliment Pharmacol Ther,2005,22(1):51.
- [6] Rimbara E, Noguchi N. Susceptibilities to clarithromycin, amoxicillin and metronidazole of Helicobacter pylori isolates from the antrum and corpus in Tokyo, Japan, 1995—2001[J]. Clin Microbiol Infect,2005,11(4):307.
- [7] 黄频,楼望林,杨更发,等. 2 357 例幽门螺杆菌感染及抗菌药物耐药分析[J]. 中国新药杂志,2007,42(6):512.
- [8] Lesbros-Pantoflickova D, Corthesy-Theulaz I, Blum AL. Helicobacter pylori and probiotics[J]. J Nutr,2007,137:812.
- (收稿日期:2009-09-28 修回日期:2009-11-20)
- [1] 叶桂安,张万岱,刘利民,等. 幽门螺杆菌 vacA 基因多态性
- (上接第 1648 页)
- [4] 中华医学会呼吸病学分会睡眠呼吸疾病学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南[J]. 中华内科杂志,2003,43(8):594.
- [5] Berger KI, Goldring RM, Rapoport DM. Obesity hypoventilation syndrome[J]. Semin Respir Crit Care Med,2009,30(3):253.
- [6] 包海荣,余勤,刘晓菊. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者血清白细胞介素 8 和单核细胞趋化蛋白 1 水平的变化及意义[J]. 临床荟萃,2004,19(20):1156.
- [7] Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H, et al. Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive air way pressure [J]. Circulation,2003,107(8):1129.
- [8] 王智刚,张希龙,李翀,等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气患者血浆 TNF-α 水平的变化[J]. 江苏医药,2009,35(9):1005.
- [9] Ohga E, Tomita T, Wada H, et al. Effects of obstructive sleep apnea on circulating ICAM-1, IL-8, and MCP-1[J]. J Appl Physiol,2003,94(1):179.
- [10] Ryan S, Taylor CT, McNicholas WT. Predictors of elevated nuclear factor kappaB dependent genes in obstructive sleep apnea syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med,2006,174:824.
- [11] Arter JL, Chi DS. Obstructive sleep apnea, inflammation, and cardiopulmonary disease [J]. Front Biosci,2004,9(9):2892.
- (收稿日期:2010-01-25 修回日期:2009-02-09)