

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.30.001

持续气道正压通气对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者外周血 IL-7 的影响*

胥正艳, 曾 泉, 王晓强, 胡国华[△]

(重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科 400016)

摘要:目的 通过研究阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者经持续气道正压通气(CPAP)治疗前后外周血中 IL-7 和调节性 T(Treg)细胞的水平变化,探讨 IL-7 和 Treg 细胞在 OSAHS 患者中病理生理机制。方法 采集 OSAHS 患者(OSAHS 组,51 例)治疗前以及健康体检者(对照组,35 例)人群外周静脉血标本,分别采用 ELISA 及流式细胞术(FCM)检测受试者外周血中 IL-7 和 Treg 细胞水平,并分析 OSAHS 患者外周血 IL-7 和 Treg 细胞水平与睡眠呼吸暂停低通气指数(AHI)和最低血氧饱和度(SaO₂)的相关性;OSAHS 组患者经 CPAP 治疗后再次检测上述各项指标,比较其治疗前后的水平变化。结果 OSAHS 组患者治疗后外周血 IL-7 表达[(186.41±18.10)pg/mL]较治疗前明显增高[(87.39±5.16)pg/mL],Treg 细胞数量在治疗后为(1.28±0.19)%,较治疗前[(0.95±0.11)%]明显升高。相关性分析显示,OSAHS 患者外周血 IL-7 及 Treg 细胞水平与最低 SaO₂ 呈正相关($r=0.679, r=0.681, P<0.01$);OSAHS 患者外周血 IL-7 及 Treg 细胞水平与 AHI 呈负相关($r=-0.653, r=-0.632, P<0.01$)。结论 OSAHS 患者外周血中 IL-7 和 Treg 细胞水平较对照组降低可能是 OSAHS 患者高水平系统炎症的原因之一,CPAP 治疗能有效提高 OSAHS 患者的 IL-7 与 Treg 细胞水平,改善患者机体免疫失衡状态。

关键词:睡眠呼吸暂停,阻塞性;持续气道正压通气;白细胞介素 7;T 淋巴细胞,调节性

中图分类号:R767

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)30-3985-03

Effect of continuous positive airway pressure treatment on peripheral blood levels of IL-7 in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome*

Xu Zhengyan, Zeng Quan, Wang Xiaoqiang, Hu Guohua

(Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery,

the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To explore the changes of IL-7 and Treg cells levels in peripheral blood, and the effect of continuous positive airway pressure(CPAP)therapy in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome(OSAHS). **Methods** Peripheral blood levels of IL-7 and Treg cells were detected in 51 OSAHS patients before and after CPAP therapy as well as in 35 normal controls by using ELISA and flow cytometry(FCM) respectively. The relationship between IL-7, Treg cells and apnea hypopnea index(AHI), Oxygen Saturation(SaO₂) were analysed. **Results** The levels of IL-7 and Treg cells in OSAHS disorders were(87.39±5.16)pg/mL and(0.95±0.11)%($P<0.01$). Notably, the expression of IL-7 and Treg cells in those patients greatly increased after treatment with CPAP for 3 months [(186.41±18.10)pg/mL, (1.28±0.19)%, $P<0.01$]. Moreover, the levels of IL-7 and Treg cells were significantly positively correlated with SaO₂ ($r=0.679, r=0.681, P<0.01$) but were meaningfully negatively correlated with the AHI ($r=-0.653, r=-0.632, P<0.01$). **Conclusion** The expression of IL-7 and Treg cells declined in OSAHS patients, which may produce heightened levels of inflammation in those disorders. Moreover, the CPAP therapy could effectively increase the expression of IL-7 and Treg cells in patients with OSAHS.

Key words: sleep apnea, obstructive; CPAP; IL-7; lymphocytes, regulatory

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS)是一种常见的睡眠呼吸障碍。OSAHS 患者反复发生低氧血症和睡眠结构紊乱导致高水平的系统炎症在该病的发生发展中扮演了重要角色^[1]。近年研究表明,IL-7 是有着广泛生物活性的细胞因子,通过直接调控初始 CD4⁺T 细胞分化成熟为调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)参与机体免疫负调节,对于维持机体免疫平衡具有重要的作用^[2-3]。本研究通过观察 OSAHS 患者经持续气道正压通气(continuous positive airway pressure, CPAP)治疗前后对比正常人群外周血中 IL-7 和 Treg 细胞水平的变化,探讨

OSAHS 和相关因子之间的关系,旨在进一步揭示 OSAHS 可能的病理生理机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 3 月至 2013 年 2 月,在本院睡眠中心经多导睡眠(polysomnography, PSG)监测,诊断为 OSAHS 中、重度的患者 51 例(OSAHS 组),其中男 42 例,女 9 例;中度 OSAHS 12 例,重度 OSAHS 39 例;有饮酒史者 15 例,吸烟史者 36 例,年龄 33~68 岁,平均(41.53±9.31)岁, BMI 为(25.78±5.41)kg/m²。诊断符合《阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊断和外科治疗指南 2009 年版》标准^[4]。另

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81271061);国家临床重点专科建设项目经费资助(卫办医政函[2012]649 号)。作者简介:胥正艳(1980-),主治医师,本科,主要从事鼻科学、咽喉科学方向研究。△ 通讯作者, E-mail:15223495212@163.com。

选健康体检者 35 例作为对照组,其中男 20 例,女 15 例,有饮酒史者 9 例,吸烟史者 12 例,年龄 29~67 岁,平均(40.79±8.36)岁,BMI 为(25.51±4.98)kg/m²。排除肿瘤、自身免疫性疾病、感染性疾病、肝肾和肺部疾病、合并糖尿病等患者。各组间一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 PSG 监测 OSAHS 患者均接受多导睡眠监测仪监测(Embla,USA)至少 7 h,记录患者心电图、脑电图、眼动图、下颌肌电图、口/鼻气流、胸腹运动、鼾声指数、指端 SaO₂、腿动和体位,检测结果为计算机自动分析与人工校正相结合,得出诊断报告。

1.2.2 CPAP 治疗 采用 PSG 监测下 AutoSet Spirit 呼吸机(Res Med,AUS)进行压力测定,得出最适压力,并按照此压力对患者进行家庭 CPAP 治疗,患者每天平均使用时间不少于 4 h,连续治疗 3 个月。

1.2.3 外周静脉血的收集与处理 采集受试者外周静脉血 5 mL,4℃ 下以 2 000×g 离心力离心 10 min,收集血清及外周单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMCs),用于后续 ELISA 和流式细胞术(FCM)检测。OSAHS 患者于 CPAP 治疗后再次进行上述标本的采集。

1.2.4 Treg 细胞检测 将 PBMCs 的终浓度调整为 1×10⁶/mL,接种于 24 孔细胞培养板中,每孔加入佛波醇、离子霉素及高尔基体阻断剂,37℃、5% CO₂ 培养 5 h,收集细胞后分别加入 10 μL 的单抗,包括:FITC-antiCD4 抗体与 PE-Cy-antiCD25 抗体,室温避光孵育 30 min,滴加 PE-antiFoxp3 抗体(eBioscience,USA),室温避光再孵育 30 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后 PBMCs 重悬并上机检测,Cell Quest 进行数据分析。

1.2.5 IL-7 的检测 采用 ELISA 法检测血清中 IL-7 的水平,检测步骤及含量计算按试剂盒说明书进行操作。酶标仪 492 nm 处读取 OD 值,并绘制出标准曲线,根据血清样品的 OD 值,于标准曲线上测定 IL-7 的浓度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x}±s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验,OSAHS 患者治疗前后比较采用配对 t 检验,睡眠呼吸暂停低通气指数(apnea hypopnea index,AHI)、最低 SaO₂ 与外周血 IL-7 和 Treg 细胞水平的关系采用直线相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 IL-7 水平检测结果 运用 ELISA 法检测外周血 IL-7 水平在 OSAHS 组和对照组中的表达情况,结果显示 OSAHS 组治疗后 IL-7 表达[(186.41±18.10)pg/mL]较治疗前[(87.39±5.16)pg/mL]明显增高,差异有统计学意义($P<0.01$)。对照组中 IL-7 的水平为(235.79±19.46)pg/mL,与 OSAHS 组治疗前及治疗后比较差异均有统计学意义($P<0.01$),见图 1。

2.2 FCM 检测 运用 FCM 技术检测 OSAHS 患者和对照组外周血中 Treg 细胞的表达情况。Treg 细胞水平在对照组[(2.17±0.44)%]中的表达最高,其次为治疗后的 OSAHS 组[(1.28±0.19)%],表达最少的为治疗前的 OSAHS 组患者[(0.95±0.11)%],三者间比较组差异均有统计学意义($P<$

0.01),见图 2。

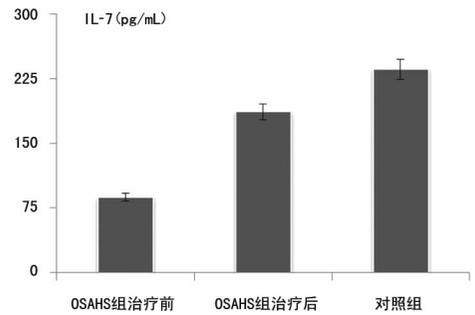


图 1 3 组患者外周血中 IL-7 蛋白水平

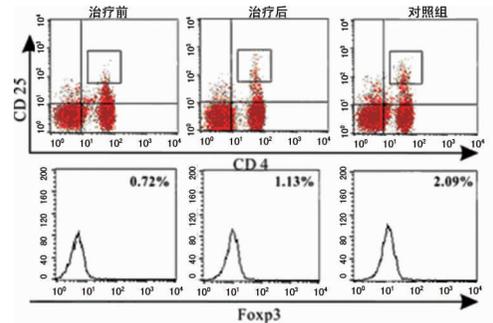


图 2 3 组患者外周血中 Treg 细胞含量

2.3 CPAP 治疗后 OSAHS 组患者 AHI、最低 SaO₂、IL-7 与 Treg 细胞水平变化 见表 1。

表 1 CPAP 治疗前后 OSAHS 组患者 AHI、最低 SaO₂、外周血 IL-7 与 Treg 细胞水平变化($\bar{x}±s$)

OSAHS 组	AHI	最低 SaO ₂ (%)	IL-7(pg/mL)	Treg 细胞 (%)
治疗前	56±18	71.53±14.06	235.79±19.46	0.95±0.11
治疗后	6±3	6.40±1.89	186.41±18.10	1.28±0.19
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.4 相关性分析 相关性分析显示,OSAHS 患者外周血 IL-7 及 Treg 细胞水平与最低 SaO₂ 呈正相关($r=0.679,r=0.681$,均 $P<0.01$),OSAHS 患者外周血 IL-7 及 Treg 细胞水平与 AHI 呈负相关($r=-0.653,r=-0.632$,均 $P<0.01$)。

3 讨论

OSAHS 患者的临床表现主要为睡眠时打鼾并伴有呼吸暂停和呼吸表浅,夜间反复发生低氧血症、高碳酸血症和睡眠结构紊乱,导致白天嗜睡、心脑血管并发症乃至多脏器损害,严重影响患者的生活质量和寿命。OSAHS 在成年人中的患病率高达 2%~4%^[5],是多种全身疾病的独立危险因素,但其发病机制尚不完全清楚。近年研究表明,OSAHS 患者机体处于缺氧状态时可诱导诸如 IL-6、CRP、TNF- α 等多种炎症介质

或促炎因子大量表达,引起免疫系统活性改变,导致机体处于免疫失衡状态,增加心血管疾病的风险并加重睡眠呼吸暂停^[6-7]。显然,对 OSAHS 患者机体免疫紊乱的探究有助于进一步了解其病理生理机制。

Sakaguchi 等^[8]发现了一类新的 T 细胞亚群 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞,Treg 细胞介导的免疫调节作用是维持自身免疫耐受的关键,此发现也引起了免疫学界的广泛关注。Treg 细胞主要分布于人体的胸腺、外周血、淋巴器官及脐静脉血中。大量研究表明,Treg 细胞不仅在自身耐受的获得和维持及自身免疫的防御中起重要作用,在肿瘤、移植耐受甚至是病原体感染等免疫反应调节中也扮演重要角色^[9-10]。

IL-7 是一种由骨髓和胸腺基质细胞分泌的糖蛋白,主要具有刺激前 B 细胞生长发育,促进骨髓中淋巴干细胞的分化、胸腺 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞亚群的增殖和 T 细胞的增殖、分化,并诱导细胞毒性 T 细胞和淋巴因子激活的杀伤细胞活性,促进细胞免疫反应^[3]。随着研究的深入,研究人员发现 IL-7 能直接参与刺激 Treg 细胞增殖分化^[11-12]。Kim 等^[13]报道 IL-7 在维持 Treg 细胞尤其是 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 细胞的增殖与免疫平衡中具有重要的作用。显然,IL-7 与 Treg 细胞具有维持免疫平衡的功能,然而 IL-7 对 Treg 细胞表达的调节在 OSAHS 疾病中发挥了什么作用,两者对于 OSAHS 患者机体免疫失衡扮演了何种角色还不得而知。

本文研究结果显示,OSAHS 组患者外周血 IL-7 水平较正常对照组明显降低,与此同时,Treg 细胞的表达也明显低于对照组人群,表明 OSAHS 患者机体中存在着 Treg 细胞功能缺陷,IL-7 表达的降低可能是造成这种现象的原因之一。IL-7 作为炎性反应的抑制性因素,在 OSAHS 中表达明显下降,可能造成患者炎症程度加重。同时,也可能致使上气道狭窄,使其在睡眠过程中塌陷,加重睡眠中呼吸暂停的次数和持续时间,从而使患者缺氧加重。

CPAP 治疗是指用面罩将持续的正压气流送入气道。因其具有防止气道萎陷,增加功能残气量,改善肺顺应性,提高氧合作用,纠正睡眠紊乱及改善日间症状,已在临床中广泛应用于 OSAHS 的治疗。本研究中,OSAHS 患者在接受 CPAP 治疗 3 个月后,外周血 IL-7 与 Treg 细胞水平均较治疗前明显升高,显示患者的炎性反应得到了有效抑制。进一步的相关性分析也表明,OSAHS 患者外周血 IL-7 及 Treg 细胞水平与最低 SaO₂ 呈正相关,而与 AHI 呈负相关,其机制可能为 OSAHS 患者在睡眠时,CPAP 通过外加的持续正压消除了睡眠呼吸暂停和低通气,从而使低氧血症和高碳酸血症得以纠正,增加了 IL-7 与 Treg 细胞的表达,患者炎性反应及睡眠结构紊乱得以改善。

综上所述,外周血 IL-7 水平在 OSAHS 患者中降低,可能是导致 Treg 细胞表达下降的原因之一,并且 IL-7 与 Treg 细胞与疾病的严重程度密切相关,表明两者可用于 OSAHS 患者病情的评估和预后判断。经过 CPAP 治疗后 IL-7 与 Treg 细胞水平上升,提示 CPAP 治疗可以降低 OSAHS 所导致的机体免疫失衡及改善患者睡眠结构紊乱状况。

参考文献:

[1] Baguet JP, Barone-Rochette G, Tamisier R, et al. Mecha-

nisms of cardiac dysfunction in obstructive sleep apnea [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2012, 9(12): 679-688.

- [2] El-Kassar N, Flomerfelt FA, Choudhury B, et al. High levels of IL-7 cause dysregulation of thymocyte development [J]. *Int Immunol*, 2012, 24(10): 661-671.
- [3] Patel ES, Okada S, Hachey K, et al. Regulation of in vitro human T cell development through interleukin-7 deprivation and anti-CD3 stimulation [J]. *BMC Immunol*, 2012, 13: 46.
- [4] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会咽喉学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊断和外科治疗指南 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 44(2): 95-96.
- [5] Mirrakhimov AE, Sooronbaev T, Mirrakhimov EM. Prevalence of obstructive sleep apnea in Asian adults: a systematic review of the literature [J]. *BMC Pulm Med*, 2013, 13: 10.
- [6] 刘辉国, 刘瑾, 熊盛道, 等. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征与白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子关系的研究 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2000, 23(3): 49.
- [7] Hatipoglu U, Rubinstein I. Inflammation and obstructive sleep apnea syndrome pathogenesis: a working hypothesis [J]. *Respiration*, 2004, 70(6): 665-671.
- [8] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance [J]. *Immunol Rev*, 2001, 182: 18-32.
- [9] Schmidt A, Oberle N, Krammer PH. Molecular mechanisms of treg-mediated T cell suppression [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 51.
- [10] Sehrawat S, Rouse BT. Tregs and infections: on the potential value of modifying their function [J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 90(6): 1079-1087.
- [11] Patel ES, Okada S, Hachey K, et al. Regulation of in vitro human T cell development through interleukin-7 deprivation and anti-CD3 stimulation [J]. *BMC Immunol*, 2012, 13: 46.
- [12] Simonetta F, Gestermann N, Martinet KZ, et al. Interleukin-7 influences FOXP3⁺ CD4⁺ regulatory T cells peripheral homeostasis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36596.
- [13] Kim GY, Ligons DL, Hong C, et al. An in vivo IL-7 requirement for peripheral Foxp3⁺ regulatory T cell homeostasis [J]. *J Immunol*, 2012, 188(12): 5859-5866.

(收稿日期: 2013-06-02 修回日期: 2014-07-17)