

· 临床研究 ·

福多司坦对重度阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者Th1、Th2细胞以及血清中IFN- γ 和IL-4的影响

周淑芳¹, 姜秀峰¹, 卞涛¹, 张希龙², 曹娟^{1*}

(¹南京医科大学附属无锡市人民医院呼吸科, 无锡 214023; ²南京医科大学第一附属医院呼吸科, 南京 210029)

【摘要】目的 探讨福多司坦对阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(OSAS)患者Th1、Th2细胞的比例以及血清中 γ 干扰素(IFN- γ)和白细胞介素-4(IL-4)浓度的影响。**方法** 选择2013年4月至2014年12月在南京医科大学附属无锡市人民医院呼吸科就诊的门诊以及住院的重度OSAS患者57例和单纯打鼾患者20例, 所有受试者均为男性, 年龄55~76(67.0 ± 6.4)岁。按照呼吸暂停低通气指数(AHI, 次/h)将患者分为3组, 即对照组(AHI ≤ 5 , $n = 20$)、OSAS组(AHI > 40 , $n = 28$)和OSAS+福多司坦组(AHI > 40 , 口服福多司坦片2周, $n = 29$)。采用流式细胞检测法测定Th1和Th2细胞所占的比例; 酶联免疫吸附法测定血清中IFN- γ 和IL-4的浓度。**结果** 研究表明, 3组患者的年龄和体质指数(BMI)差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组相比, OSAS组患者Th1细胞所占比例显著升高[$F(2, 74) = 85.06$, $P < 0.01$], 同时Th1细胞相关的细胞因子IFN- γ 的浓度也明显上升[$F(2, 74) = 131.4$, $P < 0.01$]; 与OSAS组相比, OSAS+福多司坦组患者Th1细胞所占比例显著下降[$F(2, 74) = 85.06$, $P < 0.01$], 血清中IFN- γ 的浓度也明显下调[$F(2, 74) = 131.4$, $P < 0.01$]; 而3组患者Th2细胞的比例[$F(2, 74) = 2.66$, $P = 0.08$]和血清中IL-4的水平[$F(2, 74) = 2.29$, $P = 0.11$]的差异无统计学意义。**结论** 重度OSAS患者体内Th1细胞的激活程度显著升高, 表现为相关细胞因子分泌的增多, 而Th2细胞及相关细胞因子的变化不明显。福多司坦可以抑制Th1的过度激活, 并降低Th1相关细胞因子的分泌。

【关键词】 福多司坦; 睡眠呼吸暂停, 阻塞性; T-淋巴细胞, 辅助诱导

【中图分类号】 R563.9

【文献标识码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2015.09.155

Effect of fudosteine on proportions of Th1 and Th2 lymphocytes and serum levels of IFN- γ and IL-4 in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome

ZHOU Shu-Fang¹, JIANG Xiu-Feng¹, BIAN Tao¹, ZHANG Xi-Long², CAO Juan^{1*}

(¹Department of Respiratory Diseases, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China;

²Department of Respiratory Diseases, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

【Abstract】 Objective To determine the effect of fudosteine on the percentages of Th1 and Th2 cells and the serum levels of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) in severe obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) patients. **Methods** Fifty-seven severe OSAS in- and out-patients and 20 simple snorers who were treated in the Wuxi People's Hospital from April 2013 to December 2014 were recruited in this study. All the participants were male, and aged from 55 to 76 (67.0 ± 6.4) years. According to apnea hypopnea index (AHI), the cohort was divided into 3 groups, that is, control group (simple snorers, AHI ≤ 5 , $n = 20$), OSAS group (AHI > 40 , $n = 28$) and OSAS + fudosteine group (AHI > 40 , taking fudosteine for 2 weeks, $n = 29$). The proportions of Th1 and Th2 cells were detected by flow cytometry, while the serum contents of IFN- γ and IL-4 were evaluated by ELISA. **Results** There was no significant difference in the age and body mass index (BMI) among the 3 groups ($P > 0.05$). Compared with the control group, the proportion of Th1 was increased obviously in OSAS group [$F(2, 74) = 85.06$, $P < 0.01$], meanwhile, the level of IFN- γ (Th1 related cytokine) was also significantly elevated [$F(2, 74) = 131.4$, $P < 0.01$]. Compared with OSAS group, both the proportion of Th1 [$F(2, 74) = 85.06$, $P < 0.01$] and level of IFN- γ [$F(2, 74) = 131.4$, $P < 0.01$] were decreased markedly in OSAS + fudosteine group. However, there was no statistical difference in the proportion of Th2 cells [$F(2, 74) = 2.66$, $P = 0.08$] and serum level of IL-4 [$F(2, 74) = 2.29$, $P = 0.11$] among the 3 groups. **Conclusion** Th1 cells are activated obviously in the patients with severe OSAS, and more Th1 related cytokines are secreted, while, no obvious alternations of Th2 cells and related cytokine are

收稿日期: 2015-04-15; 修回日期: 2015-05-22

基金项目: 2009 南京市科技发展计划项目 (200901093)

通信作者: 曹娟, E-mail: caojuanboshi@sina.com

found. Fudosteine inhibits the excessive activation of Th1 cells and excessive secretion of Th1 related cytokine.

【Key words】 fudosteine; sleep apnea, obstructive; T-lymphocytes, helper-inducer

This work was supported by the Project of Nanjing Science and Technology Development Plan (200901093).

Corresponding author: CAO Juan, E-mail: caojuanboshi@sina.com

随着我国社会经济的高速发展,人们的生活节奏越来越快,随之而来的是由于生活和工作的压力导致的睡眠问题,这其中以阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)最为常见。OSAS最典型的特征就是在睡眠中存在间歇性的呼吸暂停,并伴有打鼾、晨起乏力头昏、低氧、嗜睡等症状^[1]。OSAS是一种发生在睡眠期间的呼吸调节紊乱性疾病,在我国的发病率大约2%~4%^[2],中老年为OSAS的高危人群。通过多导睡眠系统的监测,OSAS最显著的临床指征就是呼吸暂停呼吸不足指数(apnea hypopnea index, AHI)的升高和最低脉搏血氧饱和度(pulse oxygen Saturation, SpO₂)的下降。

福多司坦(fudosteine)是半胱氨酸的衍生物,作为治疗呼吸道充血性炎症和支气管炎的药物,2001年首次在日本上市^[3]。动物实验研究表明,福多司坦可以通过抑制气管上皮环状细胞增生^[4]、抑制细胞因子诱导中性粒细胞趋化因子的增长^[5]而发挥抑制气管炎症的药理作用。临床试验证实福多司坦可以通过抑制含酸性糖蛋白杯状细胞的增生,而有效地抑制慢性呼吸系统疾病(包括肺炎,支气管扩张,支气管哮喘、慢性支气管炎,急性支气管炎)黏液的过度分泌^[6-7]。鉴于OSAS在临床上常常合并呼吸道的炎症反应,致使病情进一步加重,而福多司坦对上呼吸道炎症反应有抑制作用,本研究考察了福多司坦对重度男性OSAS患者辅助性T(T helper, Th)细胞Th1、Th2以及血清中Th1和Th2相关细胞因子浓度的影响,以期福多司坦在老年男性重度OSAS患者中的更广泛应用提供医学证据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择自2013年4月至2014年12月经南京医科大学附属无锡市人民医院呼吸科就诊的门诊及住院的重度OSAS患者57例,另选单纯打鼾患者20例作为对照组,所有入选患者均为男性,年龄55~76(67±6.4)岁。

1.2 纳入标准

入组的患者采用多导睡眠监测仪,对整晚睡眠进行监测(监测时间≥7h),包括脑电图、口鼻气流、心电图、胸腹式呼吸和脉搏血氧饱和度等。参照中华医学会《阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征

诊治指南》(2011版)的标准,根据AHI(次/h)指数,重度OSAS患者的AHI>30次/h,而对照组患者AHI<5次/h。所有纳入研究的患者均知情同意,本研究完全符合本院医学伦理委员会的章程,并在伦理委员会的监督下进行。

1.3 排除标准

患者有如下情况:(1)肺心病、哮喘、呼吸衰竭、心力衰竭和心肌梗死等严重的呼吸系统和心血管系统疾病;(2)肝肾功能严重不足;(3)有甲状腺疾病或者肾上腺皮质增生症等内分泌疾病史;(4)最近2周内使用过糖皮质激素;(5)近2周内严重感染或者创伤。

1.4 研究方法

询问患者的年龄以及病史。采用多导睡眠监测仪(Compumedics睡眠监测系统,澳大利亚康迪公司)监测患者的AHI以及SpO₂。本研究将纳入的患者分为3组,即对照组、OSAS组、OSAS+福多司坦组。其中对照组为AHI≤5的20例单纯打鼾患者,OSAS组为28例重度OSAS患者,OSAS+福多司坦组为29例口服福多司坦片(江苏正大天晴药业)2周后的重度OSAS患者。于清晨对已禁食12h的患者采静脉血6ml,分装在2个负压采血管中,其中一支用流式细胞仪(BD-FACSCALIBUR型,美国BD Bioscience公司)检测CD4⁺ IFN-γ和CD4⁺ L-4⁺双阳性细胞的比例(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);另一支室温静置30min,在离心机上3500转/min离心10min后,取上层血清液,运用酶联免疫法吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定IFN-γ和IL-4的水平(ELx800型酶标仪,美国Biotek公司)。

1.5 统计学处理

试验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS20.0软件对数据进行处理。对于计量资料样本,首先经方差齐性检验,方差齐性的采用方差分析(F检验),方差非齐性的采用非参数检验,进行多因素回归分析。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入患者一般临床资料的统计结果

本试验入组的57例重度OSAS患者以及20例单

纯打鼾患者均无脱落,纳入本研究患者的一般临床资料统计结果见表1。由表可见,3组患者的年龄和体质量指数(body mass index, BMI)差异无统计学意义($P > 0.05$)。而OSAS组和OSAS+福多司坦组患者的AHI明显高于对照组患者[$F(2, 74) = 702.3, P < 0.01$];而OSAS组和OSAS+福多司坦组患者的最低 SpO_2 则显著低于对照组[$F(2, 74) = 65.9, P < 0.01$]。

2.2 福多司坦对OSAS患者Th1、Th2细胞比例及IFN- γ 和IL-4浓度的影响

试验结果表明,与对照组相比,OSAS组患者Th1细胞所占比例显著升高[$F(2, 74) = 85.06, P < 0.01$],同时Th1细胞相关的细胞因子IFN- γ 的浓度也明显上升[$F(2, 74) = 131.4, P < 0.01$];与OSAS组相比,OSAS+福多司坦组患者Th1细胞所占比例显著下降[$F(2, 74) = 85.06, P < 0.01$],血清中IFN- γ 的浓度也明显下调[$F(2, 74) = 131.4, P < 0.01$];而3组患者Th2细胞的比例[$F(2, 74) = 2.66, P = 0.08$]和血清中IL-4的水平[$F(2, 74) = 2.29, P = 0.11$]差异无统计学意义(表2)。

3 讨论

OSAS患者在睡眠期间的间歇性上气道阻塞,使其出现间歇性的低氧血症,导致氧化应激和炎症反应,而这一过程中产生的炎症因子会进一步加重上气道的阻塞和低氧血症,进而形成恶性循环^[8]。OSAS的发病机制较为复杂,目前的研究认为上呼吸道狭窄及其形态改变是重要的影响因素,大多数OSAS患者都存在多个上气道解剖学部位的狭窄。这主要是由于当OSAS患者处于睡眠状态时,脑干神经递质对上呼

吸道肌肉的调节能力有所减弱,导致气道狭窄或完全阻塞,进而形成呼吸不足甚至是呼吸暂停^[1]。呼吸不足和呼吸暂停可导致低氧血症和高碳酸血症,进而发生内分泌系统紊乱和心脑血管疾病,OSAS与多器官疾病的发生密切相关。临床研究证实,OSAS患者糖尿病、高血压、冠心病、脑卒中、心肌梗死、心绞痛、高脂血症等内分泌系统和心脑血管系统疾病的发病率明显升高^[9]。

Th细胞在变应性炎症反应中发挥核心作用,它可通过释放一系列的细胞因子调节急性或慢性炎症反应。根据所分泌细胞因子的不同,Th细胞又可分为Th1细胞和Th2细胞^[10]等。Th1和Th2细胞都是由共同的前体T细胞(Th0)分化而来的^[11]。文献报道,Th1/Th2在体内存在一个动态的平衡,以维持机体正常的免疫状态,一旦Th1/Th2的动态平衡被打破,机体就会出现一系列的免疫反应^[12]。

Th1细胞分泌的主要细胞因子有干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等,主要参与介导细胞免疫反应,其中IFN- γ 是其分泌的代表因子之一,它能促进Th1细胞的分化和成熟,又能抑制Th2细胞的分化,在炎症反应和心血管疾病的发生过程中发挥着重要的作用^[13]。研究表明,IFN- γ 作为一种睡眠调节因子,参与了OSAS患者的病理性紊乱过程^[14]。

Th2与体液免疫反应密切相关,主要分泌IL-4、IL-5、IL-12等细胞因子^[15],其中IL-4为其分泌的代表因子,它能促进Th2细胞的分化和成熟,又能抑制Th1细胞的分化。研究表明IL-4与经鼻持续性气道正压通气所引起的炎症关系密切^[16]。

表1 纳入患者的一般临床资料
Table 1 General clinical data of participants

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Age (years)	BMI (kg/m ²)	AHI	Minimum SpO ₂ (%)
Control	20	67.1 ± 5.5	27.89 ± 3.5	3.5 ± 1.1	93.6 ± 8.7
OSAS	28	66.1 ± 6.3	28.08 ± 4.4	47.5 ± 4.8**	65.8 ± 8.1**
OSAS + fudosteine	29	67.9 ± 7.0	28.33 ± 5.0	48.2 ± 5.6**	66.8 ± 10.3**

OSAS: obstructive apnea syndrome; BMI: body mass index; AHI: apnea hypopnea index; SpO₂: pulse oxygen saturation; control group: simple snoring patients. Compared with control group, ** $P < 0.01$

表2 各组患者Th1、Th2细胞所占比例及IFN- γ 和IL-4的水平
Table 2 The proportion of Th1 and Th2 and the concentration of IFN- γ and IL-4 in serum

($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Th1 ratio (%)	Th2 ratio (%)	IFN- γ (ng/L)	IL-4 (ng/L)
Control	20	11.2 ± 2.1	2.5 ± 0.5	21.3 ± 4.5	12.3 ± 3.8
OSAS	28	26.6 ± 5.2**	2.2 ± 0.4	50.5 ± 7.2**	14.5 ± 5.1
OSAS + fudosteine	29	17.1 ± 4.0##	2.4 ± 0.6	34.7 ± 6.3##	11.0 ± 2.6

OSAS: obstructive apnea syndrome; IFN- γ : interferon- γ ; IL-4: interleukin-4; control group: simple snoring patients. Compared with control group, ** $P < 0.01$; compared with OSAS group, ## $P < 0.01$

基于以上思路,本研究考察了福多司坦对重度OSAS患者Th1、Th2细胞所占比例及相关细胞因子IFN- γ 和IL-4浓度的影响。试验结果表明,由于Th1细胞的单方面升高,Th1/Th2的动态平衡发生偏移,进而形成炎性反应,而福多司坦可抑制OSAS患者Th1的过度激活,并降低Th1相关细胞因子的分泌,具有恢复Th1/Th2动态平衡的作用。另外,由于年龄、肥胖都是OSAS的高危因素^[17],为了排除年龄、肥胖等对本研究结果的影响,本研究考察了各组患者的年龄和BMI,试验结果表明3组患者的年龄和BMI差异均无统计学意义。

综上,OSAS是一种慢性炎性疾病,具有潜在的危险性。本研究的结果为福多司坦在中老年男性重度OSAS患者中的应用提供了新的医学证据。但是由于本研究的样本量有限,而且患者均是来源于本院,没有对患者所处的地域以及种族的影响因素进行统计学校正,这是本研究的局限性。另外,正如前述OSAS与多种心血管系统和内分泌系统疾病的发病密切相关,因此,本课题组后续将着重考察福多司坦对OSAS患者所引发相关临床事件的影响。

【参考文献】

- [1] Jiang SJ. Research progress of obstructive sleep apnea syndrome[J]. Shandong Med J, 2009, 49(5): 103-104. [姜淑娟. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的研究进展[J]. 山东医药, 2009, 49(5): 103-104.]
- [2] Liu P. Research progress of sleep apnea syndrome[J]. China Prescr Drug, 2005, 10(43): 73-74. [刘平. 睡眠呼吸暂停综合征研究进展[J]. 中国处方药, 2005, 10(43): 73-74.]
- [3] Wang AM. Research progress of the pharmacological effect and clinical application of fudosteine[J]. Herald Med, 2006, 25(suppl): 103-104. [汪爱民. 福多司坦的药理作用与临床应用研究进展[J]. 医药导报, 2006, 25(suppl): 103-104.]
- [4] Takahashi K, Kai H, Mizuno H, *et al.* Effect of fudosteine, a new cysteine derivative, on mucociliary transport[J]. J Pharm Pharmacol, 2001, 53(6): 911-914.
- [5] Komatsu H, Yamaguchi S, Komorita N, *et al.* Inhibition of endotoxin- and antigen-induced airway inflammation by fudosteine, a mucoactive agent[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2005, 18(2): 121-127
- [6] Qiu XJ, Sun YF, Dong SW, *et al.* Effect of fudosteine in treating respiratory tract infections[J]. Chin J Clin Healthcare, 2009, 12(5): 482-483. [邱小建, 孙玉发, 董淑文, 等. 福多司坦胶囊治疗呼吸道感染性疾病的临床研究[J]. 中国临床保健杂志, 2009, 12(5): 482-483.]
- [7] Chen G. Pharmacology and clinical trial of fudosteine[J]. J Taizhou Polytech Coll, 2009, 9(6): 35-38. [陈光. 福多司坦的药理及临床试验[J]. 泰州职业技术学院学报, 2009, 9(6): 35-38.]
- [8] Xia QP, Chen JR, Cai YY, *et al.* Research advances in measurements of inflammatory factors in exhaled breath condensate of obstructive sleep apnea syndrome[J]. J Int Respir Med, 2008, 28(3): 146-149. [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(3): 146-149.]
- [9] Ci SP, Xu SX, Guo JW, *et al.* Research of relationship between sleep apnea syndrome and multiple organ disorders[J]. Pract Geriatr, 2003, 17(6): 303-305. [慈书平, 许圣宣, 郭俊武, 等. 老年睡眠呼吸暂停综合征与多器官疾病关系的研究[J]. 实用老年医学, 2003, 17(6): 303-305.]
- [10] Calderon C, Rivera L, Hutchinson P, *et al.* T-Cell cytokine profiles are altered in childhood asthma exacerbation[J]. Respiriology, 2009, 14(2): 264-269.
- [11] Zhang N, Xu YJ, Zhang ZX. The molecular mechanism of T helper lymphocyte differentiation[J]. Section Respir System For Med Sci, 2003, 23(2): 57-62. [张宁, 徐永健, 张珍祥. 辅助性T淋巴细胞功能分化的分子机制[J]. 国外医学呼吸系统分册, 2003, 23(2): 57-62.]
- [12] Zhou J, Pang J, Wang Y. Effect of acupuncture and moxibustion on changes of IFN- γ and IL-4 serum levels in obstructive sleep apnea syndrome patients[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2012, 14(11): 189-190. [周静, 庞剑, 王扬. 针灸治疗阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者血清IFN- γ 和IL-4的变化[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(11): 189-190.]
- [13] Kyzer S, Charuzi I. Obstructive sleep apnea in the obese[J]. World J Surg, 1998, 22(9): 998-1001.
- [14] Hu JM. Study of immuno-function of the T lymphocyte in the patients with obstructive sleep apnea syndrome[D]. Lanzhou University, 2006. [胡建明. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合症患者T细胞免疫功能的研究[D]. 兰州大学, 2006.]
- [15] Shi J, Wu JR, Wu H. Detection of serum Th1/Th2 cytokines and clinical significance in children with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome[J]. J Shanghai Jiaotong Univ(Med Sci), 2010, 30(10): 1243-1245. [施俊, 吕静荣, 吴皓. OSAHS患儿血清Th1/Th2细胞因子检测及临床意义[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2010, 30(10): 1243-1245.]
- [16] Shadan FF, Jalowayski A, Fahrenholz J, *et al.* Differential gene expression in the T-helper lymphocytes of obstructive sleep apnea patients treated with nasal continuous positive airway pressure (nCPAP)[J]. Med Hypotheses, 2004, 63(4): 630-632.
- [17] Sleeping Breathing Disorder Group, Chinese Thoracic Society. Guideline for diagnosis and treatment for obstructive sleep apnea syndrome[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2012, 35(1): 9-12. [中华医学会呼吸病学分会睡眠呼吸障碍学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(2011年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(1): 9-12.]

(编辑: 李菁竹)