

CXCL8 和 IL-10 在 OSAHS 患者血清及组织中的测定与意义

葛丽琴¹ 侯瑾¹ 闫静¹ 康全清¹

[摘要] **目的:**探讨阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者血清及组织中的白细胞介素-8(CXCL8)、白细胞介素-10(IL-10)水平的变化及其在 OSAHS 咽喉部病理生理改变中的作用。**方法:**筛选经 PSG 监测确诊为 OSAHS 并行 UPPP 联合经口舌根梭形切除术患者 28 例为病例组,选择因慢性扁桃体炎行扁桃体摘除术患者 9 例为对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定人血清中的 CXCL8、IL-10 水平;用免疫组织化学法对软腭组织标本 CXCL8、IL-10 水平进行测定,并利用统计学软件进行分析。**结果:**①OSAHS 中、重度组血清及组织中的 CXCL8 含量均高于对照组($P < 0.05$);②血清中的 IL-10 含量均低于对照组($P < 0.05$),软腭组织中的 IL-10 含量均高于对照组($P < 0.05$);③患者血清中的 CXCL8 含量与软腭组织中的 CXCL8 含量呈正相关,相关系数为 0.474($P < 0.05$);④血清中的低 IL-10 含量与软腭组织中的高 IL-10 含量无相关性;⑤软腭组织中的 CXCL8 含量与 IL-10 含量呈正相关,相关系数为 0.482($P < 0.01$)。**结论:**OSAHS 患者体内 CXCL8、IL-10 与 OSAHS 患者软腭的病理生理改变密切相关。

[关键词] 睡眠呼吸暂停低通气综合征,阻塞性;白细胞介素-8;白细胞介素-10;血清;组织

[中图分类号] R563.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-1781(2013)15-0818-04

Detection and significance of CXCL8 and IL-10 in serum and tissue of the patients' with OSAHS

GE Liqiao HOU Jin YAN Jing KANG Quanqing

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Second Affiliated Hospital of Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, 710004, China)

Corresponding author: KANG Quanqing, E-mail: kangquanqingl@126.com

Abstract Objective: Detection and significance of CXCL8, IL-10 in serum and tissue of the patients' with OSAHS. **Method:** All subjects take serum CXCL8 and IL-10 levels were determined by ELISA. All subjects take the same position of the soft palate tissues in the operation. CXCL8 and IL-10 in the tissue expression was measured by immune histochemistry. **Result:** ① Serum CXCL8 levels in OSAHS is higher than that in the control group ($P < 0.05$). ② Serum IL-10 levels in OSAHS is lower than that in the control group ($P < 0.05$). ③ Tissues CXCL8 expression was correlated with serum CXCL8 ($r = 0.474, P < 0.05$). ④ Tissues IL-10 expression wasn't any correlated with serum IL-10. ⑤ Tissues IL-10 expression was correlated with tissues CXCL8 ($r = 0.482, P < 0.05$). **Conclusion:** OSAHS may be a disease associated with inflammation, and closely relate with CXCL8 and IL-10.

Key words sleep apnea hypopnea syndrome, obstructive; CXCL8; IL-10; serum; tissue

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS) 是最常见的具有潜在危险性的慢性睡眠呼吸障碍疾病。已有研究表明 OSAHS 患者咽喉部黏膜主要病理改变以水肿^[1]、腺管扩张^[2]与炎细胞浸润为主,并伴有血管充血^[2]和组织纤维化等。OSAHS 患者体内细胞因子分泌紊乱, Ryan 等^[3]研究发现 OSAHS 患者体内白细胞介素-8(CXCL8)含量升高;夏秋萍等^[4]发现在 OSAHS 患者的血浆中白细胞介素-10(IL-10)基线水平显著降低。本研究目的在于观察 OSAHS 患者血清及软腭组织中 CX-

CL8、IL-10 含量的变化,并探讨它们在 OSAHS 患者咽喉部病理生理改变中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取我科 2008-11-2009-04 就诊的 28 例均符合 OSAHS 标准^[5]的 OSAHS 患者,男 23 例,女 5 例;其中轻度 OSAHS 4 例,中度 OSAHS 7 例,重度 OSAHS 17 例。均择期行 UPPP 联合经口舌根梭形切除术^[6]。选取同期来源于我科因慢性扁桃体炎而择期行扁桃体摘除术患者 9 例(系年龄相匹配的非肥胖者)作为对照组,其中男 6 例,女 3 例;通过询问近亲属,排除睡眠时打鼾者。

主要试剂:人血清 IL-10 定量酶联检测试剂盒、人血清 IL-8 定量酶联检测试剂盒(均购自上海

¹西安交通大学医学院第二附属医院耳鼻咽喉头颈外科(西安, 710004)

通信作者:康全清, E-mail: kangquanqingl@126.com

森雄科技实业有限公司)、兔抗人 IL-10 抗体(购自武汉博士德公司)、第 2 抗体兔 SP 检测试剂盒(购自北京中杉金桥公司)、鼠抗人 CXCL8 抗体(购自第四军医大学免疫教研室)、第 2 抗体小鼠 SP 检测试剂盒(购自北京中杉金桥公司)均严格按试剂说明书操作步骤。

1.2 方法

1.2.1 PSG 监测 研究对象均行 PSG 监测(澳大利亚 Copumedicsp 公司生产的 Plus 型多导睡眠监测系统)。主要的监测指标有: AHI、LSaO₂、平均血氧饱和度(Mean oxyhemoglobin saturation, MSO), SaO₂<85%的时间。

1.2.2 血清中的 CXCL8、IL-10 的水平测定 于晨起空腹取静脉血 4 ml, 室温凝固 30 min, 3000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 置于 -70℃ 冰箱中保存备用。血清 CXCL8、IL-10 含量测定采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法测定。操作按试剂盒说明进行。

1.2.3 组织中 IL-10、CXCL8 的水平测定 所有研究对象于手术中取相同部位软腭组织经甲醛浸泡, 石蜡包埋, 免疫组织化学法检测。OSAHS 患者行 UPPP 联合经口舌根梭形切除术; 慢性扁桃体炎患者行扁桃体摘除术。所有石蜡切片由西安交通大学第二附属医院病理科提供。

结果判断: ①阳性细胞计数: CXCL8、IL-10 阳性染色均呈棕褐色, 以在软腭组织细胞质出现棕褐色为细胞阳性染色。②组织中的 CXCL8、IL-10 计数参照 Molini 法, 高倍镜下观察 5 个视野内 CXCL8、IL-10 数量, 求其平均值为该病例计数。③CXCL8、IL-10 表达评分标准: 按细胞胞质染色强度评分(无染色为 0 分, 弱染色为 1 分, 中度染色为 2 分, 强度染色为 3 分)和阳性细胞率评分(<5% 为 0 分, 5%≤阳性细胞率<10% 为 1 分, 10%≤阳性细胞率<20% 为 2 分, 20%≤阳性细胞率<50% 为 3 分, ≥50% 为 4 分)之和为该病例评分值, 将评分值≤2 分定为阴性病例, >2 分定为阳性病例。

1.3 统计学分析

所有数据均用 SPSS12.0 软件包进行相关数据的统计学分析, 资料采用以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 分别采用

单因素方差分析(One-way ANOVA)及独立 *t* 检验($P < 0.05$ 表示差异有统计学意义), 相关分析采用 Spearman 等级相关分析法。软腭组织中 CXCL8、IL-10 的相关性采用 Spearman 等级相关分析法。

2 结果

2.1 OSAHS 患者 PSG 监测结果

OSAHS 患者 PSG 监测结果见表 1。

2.2 血清中的 CXCL8 含量、IL-10 含量水平的比较

OSAHS 各组与对照组比较, 血清中的 CXCL8 含量均高于对照组, 其中中度组、重度组与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$); 血清中的 IL-10 含量均低于对照组, 其中中度组、重度组与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表 2)。

通过 Spearman 相关分析: OSAHS 患者血清 CXCL8 含量与 AHI 呈正相关($r = 0.623, P < 0.01$); 血清 CXCL8 含量与 LSaO₂ 呈负相关($r = -0.632, P < 0.01$); OSAHS 患者血清 IL-10 含量与 AHI 呈负相关($r = -0.755, P < 0.01$); 血清 IL-10 含量与 LSaO₂ 呈正相关($r = 0.621, P < 0.01$); 血清 CXCL8 含量与 IL-10 含量呈负相关($r = -0.649, P < 0.01$)。

2.3 组织中 CXCL8 和 IL-10 含量水平的比较

苏木精-伊红染色光学显微镜下观察见软腭表面为鳞状上皮组织, 上皮下基质重度水肿, 间质为疏松结缔组织, 其间散在分布有毛细血管和不规则囊性扩张的腺体, 并可见中性粒细胞、淋巴细胞、浆细胞和肥大细胞等炎性细胞浸润(图 1~2)。组织中 CXCL8 主要在软腭间质中的炎性细胞、黏膜上皮细胞和腺管上皮细胞胞浆呈棕褐色染色, 腺体细胞上未见表达(图 3~4)。而在对照组炎性细胞、上皮细胞上有少量表达, 腺体细胞上未见表达(图 5)。组织中 IL-10 主要在软腭间质中的炎性细胞(淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸粒细胞等)、上皮细胞、腺体细胞、腺管上皮细胞胞浆呈棕褐色染色(图 6~7)。而在对照组炎性细胞、上皮细胞上有少量表达(图 8)。组织中的 CXCL8 和 IL-10 含量水平的比较见表 3。

表 1 各组 OSAHS 患者的 PSG 监测结果

组别	例数	年龄/岁	BMI	AHI	LSaO ₂ /%	$\bar{x} \pm s$
对照组	9	42.56±16.93	22.90±2.58	3.67±0.53	98.00±0.33	
OSAHS 组						
轻度	4	45.25±11.53	26.52±2.59	15.93±6.42	89.00±0.02	
中度	7	42.50±10.33	26.38±4.12	38.56±6.47	70.00±0.07	
重度	17	38.61±10.54	29.02±3.29	74.64±10.04	63.01±0.05	

表 2 血清中的 CXCL8、IL-10 含量水平的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	CXCL8/ (ng · L ⁻¹)	IL-10/ (nmol · L ⁻¹)
对照组	9	26.11 ± 7.74	47.80 ± 25.71
OSAHS 组			
轻度	4	35.50 ± 14.66	38.84 ± 3.19
中度	7	118.32 ± 159.68 ¹⁾	25.51 ± 6.85 ¹⁾
重度	17	115.72 ± 116.78 ¹⁾	20.18 ± 6.43 ¹⁾

与对照组比较, ¹⁾ P < 0.05。

通过 Spearman 相关分析:软腭组织中的 CXCL8、IL-10 含量与 AHI 均呈正相关,相关系数分别为 0.560 和 0.500 (P < 0.01);软腭组织中的 CXCL8、IL-10 含量与夜间 L SaO₂ 呈负相关,相关系数分别为 -0.639 (P < 0.01) 和 -0.408 (P < 0.05);血清中的 CXCL8 含量与软腭组织中的 CX-

CL8 含量呈正相关,相关系数为 0.474 (P < 0.05);血清 IL-10 含量与软腭组织中 IL-10 含量无相关性;软腭组织中的 CXCL8 含量与软腭组织中 IL-10 含量呈正相关,相关系数为 0.482 (P < 0.01)。

3 讨论

CXCL8 是由中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞产生的一种强大的趋化因子,使局部炎症细胞聚集,加重炎症反应。IL-10 是人体多种细胞产生的重要免疫调节细胞因子,具有免疫抑制、抗炎及免疫调节等特性^[7]。本次实验中,血清中的 CXCL8、IL-10 含量的变化与已证实的缺氧可诱导血清中的 CXCL8 的产生,抑制血清中的 IL-10 的产生^[8-9] 的结论相一致。

本研究发现:①OSAHS 患者随着睡眠结构紊乱的增加及 SaO₂ 的降低,血清中的 CXCL8 的含量

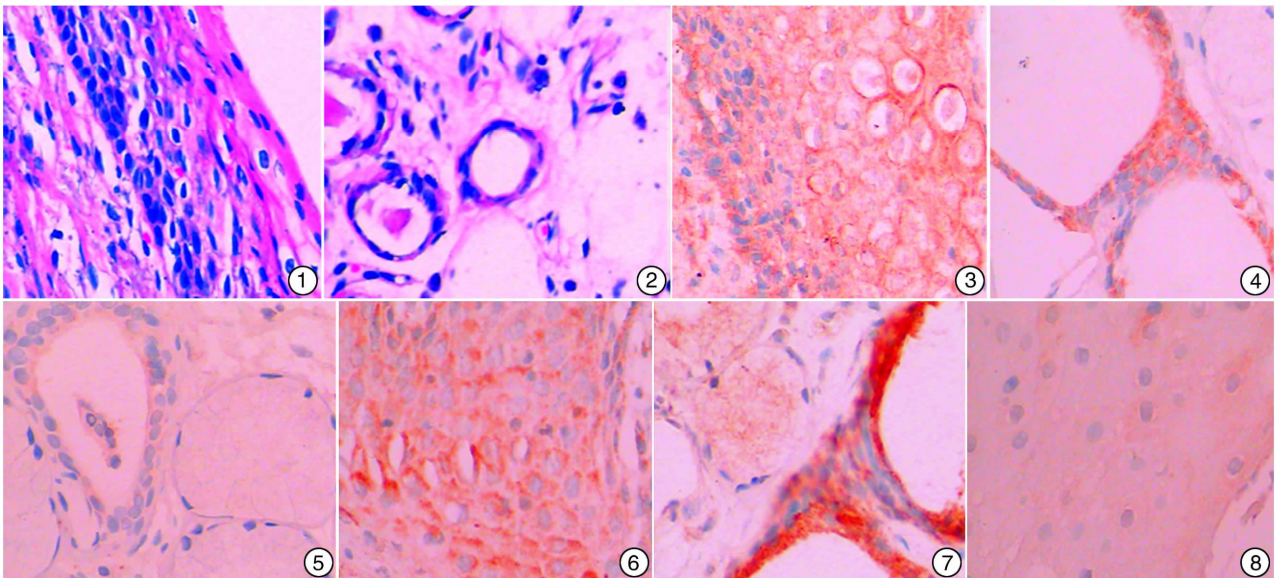


图 1 软腭组织黏膜炎症细胞的表达 苏木精-伊红染色 ×400; 图 2 软腭组织腺管、腺泡扩张 苏木精-伊红染色 ×400; 图 3 CXCL8 在软腭组织中上皮细胞、炎性细胞浆呈现棕褐染色 免疫组织化学染色 ×400; 图 4 CXCL8 在软腭组织中腺管上皮细胞浆呈现棕褐染色 免疫组织化学染色 ×400; 图 5 CXCL8 在对照组软腭组织中腺管上皮细胞浆呈现少量棕褐染色 免疫组织化学染色 ×400; 图 6 IL-10 在软腭组织中上皮细胞、炎性细胞浆呈现棕褐染色免疫组织化学染色 ×400; 图 7 IL-10 在软腭组织中腺管上皮、腺泡细胞浆呈现棕褐染色 免疫组织化学染色 ×400; 图 8 IL-10 在对照组软腭组织中上皮细胞浆呈现少量棕褐染色 免疫组织化学染色 ×400。

表 3 组织中的 CXCL8 和 IL-10 含量水平的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	CXCL8		IL-10	
		阳性/%	评分	阳性/%	评分
对照组	9	1(11.1)	0.78 ± 0.67	1(11.1)	0.67 ± 0.71
OSAHS 组					
轻度	4	1(25.0)	1.25 ± 0.50	1(25.0)	1.50 ± 1.00
中度	7	4(57.1)	2.71 ± 1.89 ¹⁾	5(71.4)	3.86 ± 2.04 ¹⁾
重度	17	13(76.5)	3.12 ± 1.50 ¹⁾	15(88.2)	4.59 ± 1.73 ¹⁾

与对照组比较, ¹⁾ P < 0.05。

及软腭组织中 CXCL8 阳性表达逐步增高,其中中度组、重度组与对照组差异有统计学意义;②血清及软腭组织中的 CXCL8 含量与 AHI 呈正相关,与夜间 L_{SaO}₂ 呈负相关,说明缺氧不仅能诱导血清中 CXCL8 含量增加,同时导致局部组织中 CXCL8 含量增加;③血清中的 CXCL8 含量与软腭组织中的 CXCL8 含量呈正相关,说明血清中的 CXCL8 含量增加与软腭局部组织中的 CXCL8 分泌增多密切相关。分析机体内 CXCL8 含量的改变:①CXCL8 与间歇性低氧过程密切相关,OSAHS 的低氧是一种典型的低氧/再氧合频繁交替的模式,且 CXCL8 的分泌水平具有间歇性低氧程度依赖性^[10];缺氧状态下多种细胞分泌 CXCL8,导致血清及软腭组织中的 CXCL8 的含量明显升高;②在 CXCL8 存在的情况下,软腭组织黏膜上皮细胞、腺管上皮细胞、炎症细胞胞质中中性粒细胞趋化、聚集,聚集到该部位的中性粒细胞又进一步分泌 CXCL8,增加局部浓度,导致局部损伤;③随着 CXCL8 在软腭组织上皮细胞上的高浓度表达,必将发挥其生物学作用:趋化和刺激中性粒细胞、趋化嗜碱粒细胞、趋化 T 细胞,这与 Paulsen 等^[11]研究表明 OSAHS 患者咽喉部黏膜内的上皮组织中有白细胞,也有 T 细胞浸润相符合。血循环中的中性粒细胞、T 细胞渗出、浸润到组织中,可导致上呼吸道充血、水肿,这些改变在咽喉部黏膜的病理切片上已得到证实^[2-3];咽喉部的结缔组织易因松弛而塌陷,从而进一步加重打鼾和阻塞性呼吸暂停等临床症状。

同时,本组资料显示:①OSAHS 患者血清中的 IL-10 含量与 AHI 呈负相关,与 L_{SaO}₂ 呈正相关,血液中抗炎机制的削弱可以部分解释 OSAHS 患者罹患心血管疾病的危险性远高于一般人群的原因^[12]。②软腭组织中 IL-10 含量与 AHI 呈正相关,与夜间 L_{SaO}₂ 呈负相关,这说明软腭组织中的 IL-10 含量与 OSAHS 的严重程度密切相关。③血清中的低 IL-10 含量与软腭组织中的高 IL-10 含量无相关性,说明血清中的 IL-10 分泌抑制与软腭局部组织中的 IL-10 分泌上调无关。④软腭组织中的 CXCL8 含量与软腭组织中 IL-10 含量呈正相关,说明局部软腭组织中的 CXCL8 的高浓度与软腭组织中 IL-10 分泌上调密切相关,这与 IL-10 是重要的抗炎细胞因子有关,多种炎症细胞均可产生 IL-10,通过对促炎因子转录和转录后调控而发挥下调炎症活性作用。

本研究初步揭示 CXCL8 和 IL-10 在 OSAHS 发病机制中所起的病理生理作用,但是软腭组织中 CXCL8 和 IL-10 的高浓度聚集,又是通过什么细胞

内信号传递途径引发的? 阻断 CXCL8、IL-10 对软腭组织的作用是否可以控制 OSAHS 患者咽腔的病理生理改变,这些亟待进一步的研究来证实。

参考文献

- [1] 吕春雷,韩东一,翟所强,等. 重度阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者悬雍垂的病理变化[J]. 军医进修学院学报,2005,26(5):370-371.
- [2] 孟祥贵,李红,邓安春,等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征咽部组织病理形态学改变[J]. 第三军医大学学报,2003,25(20):1847-1849.
- [3] RYAN S,TAYLOR C T,MCNICHOLAS W T. Predictors of elevated nuclear factor-kappaB-dependent genes in obstructive sleep apnea syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med,2006,174:824-830.
- [4] 夏秋萍,陈建荣,蔡映云,等. OSAHS 患者血清 8-isoPG、LTB₄、TNF- α 、IL-10 和 Hs-CRP 检测的临床意义[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2009,8(3):262-266.
- [5] 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.
- [6] 康全清,周晓红,许珉,等. 经口舌根梭形切除治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的临床疗效[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,21(6):241-242.
- [7] CONTI P,KEMPURAJ D,KANDERE K, et al. IL-10, an inflammatory inhibitory cytokine, but not always[J]. Immunol Lett,2003,86:123-129.
- [8] RYAN S,TAYLOR C T,MCNICHOLAS W T. Predictors of elevated nuclear factor-kappaB-dependent genes in obstructive sleep apnea syndrome[J]. Am J Respir Crit Care Med,2006,174:824-830.
- [9] 包海荣,余勤,刘晓菊,等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者血清白细胞介素 8 和单核细胞趋化蛋白 1 水平变化[J]. 中国临床康复杂志,2005,31(9):71-73.
- [10] 李业梅,陈宝元,冯靖,等. 间歇低氧程度与频率对人脐静脉内皮细胞白介素 6 及白介素 8 影响的体外实验[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2010,45(2):139-142.
- [11] PAULSEN F P, STEVEN P, TSOKOS M, et al. Upper airway epithelial structural changes in obstructive sleep-disordered breathing[J]. Am J Respir Crit Care Med,2002,166:501-509.
- [12] ALBERTI A, SARCHIELLI P, GALLINELLA E, et al. Plasma cytokine levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome: a preliminary study [J]. J Sleep Res,2003,12:305-311.

(收稿日期:2012-11-08)