

糖皮质激素受体在阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征儿童腺样体组织中的表达

田 莉,林 颖*

(南京医科大学附属南京儿童医院耳鼻咽喉科,江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:探讨糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)在阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS)儿童腺样体组织中的表达。方法:36 例睡眠监测儿童行腺样体切除术,采用 RT-PCR 方法,检测腺样体组织中 GR- α 和 GR- β mRNA 的表达。结果:RT-PCR 结果表明,腺样体组织中 GR- α mRNA 明显高于 GR- β mRNA (0.170 ± 0.049 vs 0.010 ± 0.003 , $t=3.031$, $P < 0.05$); OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR- α mRNA 较非 OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR- α mRNA 增高(0.177 ± 0.044 vs 0.027 ± 0.010 , $F=7.427$, $P < 0.05$); OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR- β mRNA 较非 OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR- β mRNA 比较无明显差异(0.010 ± 0.003 vs 0.012 ± 0.006 , $F=0.165$, $P > 0.05$)。结论:儿童腺样体组织中存在糖皮质激素受体亚型表达,GR- α mRNA 的高表达提示糖皮质激素对儿童腺样体肥大导致的 OSAHS 有治疗价值。

[关键词] 糖皮质激素受体;阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征;腺样体

[中图分类号] R725.6

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2015)10-1429-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20151021

儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(obstructive sleep apnea hypopnea syndrome, OSAHS)是指儿童睡眠过程中部分或全部上气道阻塞,扰乱正常通气和睡眠结构而引起的一系列病理生理变化^[1-2]。OSAHS 在儿童中的发生率为 0.7%~3.0%^[3],有的甚至高达 5.7%^[4],好发年龄为 2~8 岁^[3],由于引起儿童 OSAHS 最主要的原因是腺样体肥大或(和)扁桃体肥大,所以手术切除腺样体和(或)扁桃体是外科治疗的主要方法^[5-7]。近年来,鼻内激素开始用于轻、中度 OSAHS 患儿和腺样体扁桃体切除术后仍然存在 OSAHS 患儿的治疗^[8-10],但其机制尚在研究中。

糖皮质激素只有与糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)结合才能发挥调节细胞代谢的生物学效应。人类糖皮质激素受体已经证实有 GR- α 和 GR- β 两种,本研究通过设计特异引物和探针,采用实时荧光定量逆转录 PCR 方法检测 OSAHS 儿童腺样体组织中 GR- α 和 GR- β 的表达,以探讨其在儿童 OSAHS 中的作用。

1 对象和方法

1.1 对象

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金面上项目(2010NJ-MU117)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:asklindi@yahoo.com.cn

2011 年 10 月—2012 年 8 月以打鼾为主诉在本院行腺样体切除术儿童 36 例,年龄 2~10 岁,平均年龄(4.93 ± 1.71)岁;男 26 例(72.22%),女 10 例(27.78%)。均否认遗传性、哮喘病史,手术前 2 个月内未接受糖皮质激素药物治疗。手术标本迅速置于液氮中, -80℃ 保存。术前行多导睡眠监测确诊的 OSAHS 患儿 24 例,呼吸暂停低通气指数(apnea hypopnea index, AHI) 平均为(15.2 ± 10.1)次/h,非 OSAHS 患儿 12 例, AHI 平均为(3.2 ± 1.3)次/h。

1.2 方法

1.2.1 多导睡眠监测

使用便携式多导睡眠监测仪(SOMTE, 澳大利亚)对患儿进行夜间至少 8 h 的睡眠监测(晚上 8:00 至次日早晨 6:00 左右)。同步记录脑电图、眼球运动、肌电图、口鼻气流、胸腹呼吸运动、心电图、血氧饱和度、鼾声等参数。所有病例均用仪器自带软件进行计算机自动分析,然后对数据进行手动分析校正。

1.2.2 OSAHS 诊断及分组

按照我国的诊疗指南^[1]:阻塞性睡眠呼吸暂停是指睡眠时口和鼻气流停止,但胸、腹式呼吸仍存在;低通气定义为口鼻气流信号峰值降低 50%,并伴有 3%以上血氧饱和度下降和(或)觉醒;呼吸事件的时间长度定义为 ≥ 2 个呼吸周期。AHI >5 次/h 和(或)呼吸暂停指数(AI) >1 次/h 为异常,最低血氧饱和度(LSaO₂)低于 92%定义为低氧血症。满足

以上 2 项指标即可诊断为 OSAHS。5 次/h ≤ AHI < 10 次/h 为轻度, 10 次/h ≤ AHI < 20 次/h 为中度, AHI ≥ 20 次/h 为重度。

1.2.3 实时荧光定量逆转录 PCR

将纯化和分离的腺样体组织重悬于 TRIzol RNA 提取液(Invitrogen 公司, 美国), 操作按照试剂说明书要求进行 RNA 提取, 并将 RNA 沉淀溶于 DEPC(Sigma 公司, 美国)处理的水溶液中, 紫外分光光度计定量后于 -80℃ 保存备用。每样本均取等量总 RNA 用反转录试剂盒(Promega 公司, 美国)进行逆转录, 取逆转录产物作为模板, 以蒸馏水作为阴性对照, β-actin 作为内参照。实时定量 PCR 在美国 ABI PRISM 7500 SDS 上进行。用 Primer 5.0 软件设计引物(南京金斯瑞合成)。GR-α: 上游引物: 5'-TGAAAATGGGTTGGTGCTTCTA-3', 下游引物: 5'-GACAAGAATACTGGAGATTTGAGTCAA-3', GR-β: 上游引物: 5'-TGGCCACCCCAAAGGA-3', 下游引物: 5'-GAGCTCATCCCATGCTAATTATCC-3'; β-actin: 上游引物: 5'-CCTCTATGCCAACACAGTGC-3', 下游引物: 5'-GAGCTCCTGCTTGCTGATCC-3'。实时定量 PCR 采用 SYBR Green master mix(Applied Biosystems 公司, 美国)试剂盒在 96 孔板上(Applied Biosystems 公司, 美国)进行, 每管反应总体积为 25 μL, 反应条件为: 95℃ 10 min; 随后以 95℃ 15 s 和 60℃ 1 min 循环 40 次。采用参照基因的 ΔCt 法计算目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.3 统计学方法

应用 SPSS16.0 软件分析, 数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 同一样本 GR-α 和 GR-β mRNA 表达水平的比较采用 *t* 检验(符合正态分布), 组间比较采用单因素方差分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

RT-PCR 结果表明, 36 例腺样体组织中均存在 GR-α 和 GR-β 的 mRNA 表达, 并且 GR-α mRNA (0.170 ± 0.049) 较 GR-β mRNA (0.010 ± 0.003) 明显增高($t=3.031, P<0.05$, 表 1)。

OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR-α mRNA 较非 OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR-α mRNA 增高(0.177 ± 0.044 vs 0.027 ± 0.010, $F=7.427, P<0.05$); OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR-β mRNA 与非 OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR-β mRNA 比较无明显差异 (0.010 ± 0.003 vs 0.012 ± 0.006, $F=0.165, P>0.05$)。

表 1 腺样体组织中 GR-α 和 GR-β mRNA 的表达差异 ($n=36, \bar{x} \pm s$)

	OSAHS	非 OSAHS
GR-α	0.170 ± 0.049	0.027 ± 0.010*
GR-β	0.010 ± 0.003*	0.012 ± 0.006

与 GR-α 组比较, * $P < 0.05$; 与 OSAHS 组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

糖皮质激素受体和甲状腺激素受体、维 A 酸受体、性激素受体等一样, 属于核激素受体超家族的成员, 这类受体是一种配体依赖的转录活化因子。GR 主要由肾上腺分泌, 受下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA 轴)的调控。GR 包括 GR-α 和 GR-β, 两者为 GR 基因同一转录产物通过不同方式剪切的结果。GR 在腺样体中的表达国内外文献均有报道, Goldbart 等^[11]研究发现, OSAHS 患儿和非 OSAHS 患儿的扁桃体和腺样体组织中均有 GR-α 和 GR-β mRNA 片段和蛋白的表达, 并且总体 GR-α 比 GR-β 要明显增高, OSAHS 患儿 GR-α 的表达较非 OSAHS 患儿增高, GR-β 的表达在 OSAHS 患儿和非 OSAHS 患儿并没有差别。张孝文等^[12]研究也发现 OSAHS 患儿和非 OSAHS 患儿腺样体组织中有 GR-α 和 GR-β 的表达, 以 GR-α 为主要形式。本研究结果与 Goldbart 等的结果一致。

许多临床研究表明, GRα 数量及其与糖皮质激素(GC)的亲合力与 GC 的疗效密切相关, GR-β 对 GR-α 的功能有拮抗作用, 可能对 GC 的生理及药理功能起着重要的负性调节作用^[13]。GR-α 含量越高, 糖皮质激素可能越敏感; GR-β 含量越高, 疗效可能越差, GR 两种亚型 GR-α 和 GR-β 之间表达比例的失衡可能是导致糖皮质激素抵抗的重要原因^[14]。本研究中 OSAHS 患儿腺样体组织中的 GR-α mRNA 较非 OSAHS 患儿高, 因此, 本文推测糖皮质激素对 OSAHS 患儿腺样体的治疗比非 OSAHS 患儿更有效。

OSAHS 患儿由于打鼾和反复上气道阻塞造成口咽和上腭区域的长期炎症, 因此导致炎症介质例如细胞因子的释放增加。OSAHS 患儿间断缺氧使 GR-α 和 GR-β 的表达有差别, 其机制可能是缺氧相关转录因子和激素依赖的转录调控相互作用, 影响了下游靶基因的表达^[11]。这和本研究结果相一致, 即 OSAHS 患儿腺样体组织中 GR-α mRNA 和 GR-β mRNA 的表达是有差异的。

局部糖皮质激素已广泛用于儿童哮喘和变应性鼻炎的治疗, 近年来也逐步用于 OSAHS 患儿的治疗, 有研究认为, 局部应用糖皮质激素可减小腺

样体组织的体积^[15],可改善相关的 OSAHS 临床症状和 AHI 程度^[16],本文认为局部糖皮质激素可以用于轻、中度 OSAHS 患儿和腺样体扁桃体切除术后仍然存在 OSAHS 患儿的治疗,但对于病情严重的 OSAHS 患儿是否适合以及如何进行治疗,以及治疗有效的 OSAHS 患儿,其长期疗效如何,停药后是否会复发,尚需进一步开展临床相关研究。

[参考文献]

- [1] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会,中华医学会耳鼻咽喉科学分会. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊疗指南草案(乌鲁木齐)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,42(2):83-84
- [2] Hoban TF. Sleep disorders in children[J]. Ann N Y Acad Sci,2010,1184(1):1-14
- [3] Gomes Ade M,Santos OM,Pimentel K,et al. Quality of life in children with sleep-disordered breathing [J]. Braz J Otorhinolaryngol,2012,78(5):12-21
- [4] Urquhart D. Investigation and management of childhood sleep apnoea[J]. Hippokratia,2013 17(3):196-202
- [5] Marcus CL,Brooks LJ,Draper KA,et al. Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome[J]. Pediatrics,2012,130(3):e714-755
- [6] Ishman SL. Evidence-based practice:pediatric obstructive sleep apnea [J]. Otolaryngol Clin North Am,2012,45(5):1055-1069
- [7] Tagaya M,Nakata S,Yasuma F,et al. Children with severe or moderate obstructive sleep apnoea syndrome show a high incidence of persistence after adenotonsillectomy[J]. Acta Otolaryngol,2012,132(11):1208-1212
- [8] Kheirandish-Gozal L,Goldbart AD,Gozal D. Intranasal steroids and oral leukotrienemodifier therapy in residual sleep-disordered breathing after tonsillectomy and adenoidectomy in children [J]. Pediatrics,2006,117(1):e61-e66
- [9] Kheirandish-Gozal L,Gozal D. Intranasal budesonide treatment for children with mild obstructive sleep apnea syndrome[J]. Pediatrics,2008,122(1):e149-155
- [10] Esteite R,Emani J,Sharma S,et al. Effect of fluticasone furoate on interleukin 6 secretion from adenoid tissues in children with obstructive sleep apnea[J]. Arch Otolaryngol Head Surg,2011,137(6):576-582
- [11] Goldbart AD,Veling MC,Goldman JL,et al. Glucocorticoid receptor subunit expression in adenotonsillar tissue of children with obstructive sleep apnea[J]. Pediatr Res,2005,57(2):232-236
- [12] 张孝文,李 源,谢民强,等. 睡眠呼吸紊乱儿童腺样体中糖皮质激素受体的表达[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,42(2):109-112
- [13] 矫毓娟,许贤豪. 糖皮质激素受体同型及其与激素敏感性关系的研究进展[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2006,13(3):186-189
- [14] Bamberger CM,Bamberger AM,de Castro M,et al. Glucocorticoid receptor beta a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans[J]. J Clin Invest,1995,95(6):2435-2441
- [15] Strickland I,Kisich K,Hauk PJ,et al. High constitutive glucocorticoid receptor beta in human neutrophils enables them to reduce their spontaneous rate of cell death in response to corticosteroids[J]. J Exp Med,2001,193(5):585-593
- [16] Kheirandish-Gozal L,Serpero LD,Dayyat E,et al. Corticosteroids suppress *in vitro* tonsillar proliferation in children with obstructive sleep apnoea[J]. Eur Respir J,2009,33(5):1077-1084

[收稿日期] 2015-04-17