

参考文献

- 1 Gerczuk PZ, Kloner RA. Protecting the heart from ischemia: an update on ischemic and pharmacologic conditioning[J]. Hosp Pract; Minneap, 2011,39(3):35-43
- 2 顾伟,范昕建,吴疆,等. 胡黄连苷 II 对 H₂O₂ 损伤 L-02 细胞的保护作用[J]. 世界华人消化杂志,2008,16: 3274-3278
- 3 Gao H, Zhou YW. Anti-lipid peroxidation and protection of liver mitochondria against injuries by picroside II[J]. World J Gastroenterol, 2005,11(24): 3671-3674
- 4 郭云良,沈卫,杜芳,等. 胡黄连苷 II 对大鼠脑缺血再灌注损伤后 TLR4 及 NFκB 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011,31(1):58-61
- 5 Guo Y, Xu X, Li Q, et al. Anti-inflammation effects of picroside 2 in cerebral ischemic injury rats[J]. Behav Brain Funct, 2010,6:43
- 6 Li T, Liu JW, Zhang XD, et al. The neuroprotective effect of picroside II from hu-huang-lian against oxidative stress[J]. Am J Chin Med, 2007,35(4):681-691
- 7 Li Q, Li Z, Xu XY, et al. Neuroprotective properties of picroside II in a rat model of focal cerebral ischemia[J]. Int J Mol Sci, 2010,11(11):4580-4590
- 8 Meng FJ, Hou ZW, Li Y, et al. The protective effect of picroside II against hypoxia/reoxygenation injury in neonatal rat cardiomyocytes[J]. Pharm Biol, 2012,50(10):1226-1232
- 9 de Vries D, Kortekaas K, Tsikas D, et al. Oxidative damage in clinical ischemia/reperfusion injury: a reappraisal[J]. Antioxid Redox Signal,2013,Jan in press
- 10 Su H, Ji L, Xing W, et al. Acute hyperglycaemia enhances oxidative stress and aggravates myocardial ischaemia/reperfusion injury: role of thioredoxin-interacting protein[J]. J Cell Mol Med, 2013,17(1): 181-191

(收稿日期:2013-06-21)

(修回日期:2013-07-28)

HBV S-eclCD40L 融合基因修饰对树突状细胞功能的影响

林贤凡 吴金明 林春景 金思思

摘要 **目的** 探讨 HBV S-eclCD40L 融合基因修饰对树突状细胞(DC)功能的影响。**方法** 分离健康成人外周血单个核细胞,GM-CSF、IL-4 诱导培养树突状细胞,培养第 5 天,以脂质体介导转染,分为 pcDNA3.1-S-eclCD40L 转染组、pcDNA3.1-S 转染组、pcDNA3.1 转染组及 PBS 对照组。转染 48h 收集 DC 及上清,流式细胞仪检测 DC 表面 CD80、CD86、HLA-DR 表达水平;CCK-8 法检测混合淋巴细胞反应(MLR)中 DC 刺激同种异体淋巴细胞增殖的能力;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IL-12 的分泌水平。**结果** 与对照组比较,pcDNA3.1-S-eclCD40L 转染组 DC 表达 CD80、CD86、HLA-DR 水平增加,刺激同种异体淋巴细胞增殖的能力增强,分泌 IL-12 水平增高。**结论** HBV S-eclCD40L 融合基因修饰能促进 DC 活化,增强 DC 功能,将 CD40L 胞外段基因与 HBV 抗原基因融合可能是增强乙肝疫苗免疫效果的有效方法。

关键词 乙型肝炎病毒 CD40 配体 树突状细胞

Effects of HBV S-eclCD40L Fusion Gene Modification on Function of Dendritic Cells. Lin Xianfan, Wu Jinming, Lin Chunjing, et al. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325003, China

Abstract Objective To investigate the effects of HBV S-eclCD40L fusion gene modification on function of dendritic cells(DC). **Methods** The peripheral blood mononuclear cells(PBMCs) from healthy adults were incubated and induced into DC in presence of granulocyte-macrophage colony stimulating factor(GM-CSF) and interleukin-4(IL-4). On the fifth day of incubation, DC were transfected with pcDNA3.1-S-eclCD40L, pcDNA3.1-S, pcDNA3.1, PBS respectively. DC and the culture supernatants were harvested for detection after 48 hours. The expression level of CD80, CD86 and HLA-DR on DC were detected by flow cytometry. The level of IL-12 released by DC was analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and the stimulatory capacity of DC in allogenic mixed leukocyte reaction(MLR) was tested by CCK-8. **Results** Modification of DC with HBV S-eclCD40L fusion gene resulted in activation of DC with up-regulated expression of immuneologically important cell surface molecules(CD80, CD86 and HLA-DR) and pro-in-

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY12H03003)

作者单位:325003 温州医科大学附属第一医院消化内科

通讯作者:林贤凡,电子信箱:lynnxianfan@126.com

flammatory cytokines (IL - 12), compared with control groups. DC modified with HBV S - ecdCD40L were able to stimulate enhanced allogeneic T - cell proliferation in vitro. **Conclusion** Modified with HBV S - ecdCD40L fusion gene could promote DC's activation and enhance its function. Vectors containing HBV S - ecdCD40L fusion gene may be a promising vaccine candidate for chronic hepatitis therapy.

Key words Hepatitis B virus; CD40 ligand; Dendritic cells

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是世界范围内的重要健康问题, 近几年的研究表明 HBV 感染的控制和清除有赖于机体的免疫系统, HBV 持续感染与机体特异性 CD8⁺ T 淋巴细胞产生不足相关^[1]。因此, 诱导 HBV 特异性 CTL 应答的治疗性疫苗有望取得良好的抗病毒效果。抗原递呈加工功能受损与乙肝免疫耐受相关^[2]。DC 是目前所知的功能最强的抗原递呈细胞, 慢性乙型病毒性肝炎患者特异性 T 细胞免疫受损与 DC 存在成熟及功能异常相关, 既能增强 DC 功能又能诱导特异性免疫反应的疫苗有可能更好地发挥抗病毒作用^[3,4]。

HBV S 蛋白 (HBsAg) 是乙肝病毒包膜蛋白的主要成分, 通过诱导抗包膜蛋白特异性 CTL 应答的免疫治疗方法有望控制慢性 HBV 感染, 被广泛用于乙肝疫苗的研究^[1]。有研究显示 HBsAg 可激活人单个核来源树突状细胞, 增强 DC 功能^[5]。CD40 配体 (CD40L) 是 TNF 超家族成员, 主要表达于 CD4⁺ T 淋巴细胞表面, 能与表达于 DC 表面的 CD40 分子相互作用, 从而促进 DC 分化成熟, 加强其诱导特异性 T 细胞免疫反应的能力。笔者已成功构建了 HBV S - ecdCDL 融合基因真核表达载体, 进一步通过脂质体介导 HBV S - ecdCDL 融合基因修饰 DC, 并检测 DC 功能, 探讨融合基因修饰对 DC 功能的影响, 结果表明 HBV S - ecdCDL 融合基因修饰对 DC 具有明显刺激作用。

材料与方法

1. 材料: 重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (rhGM - CSF)、重组人白介素 - 4 (rhIL - 4) 和重组人肿瘤坏死因子 (rhTNF - α) 购自 Peprotech 公司; 人淋巴细胞分离液购自 Cedarlane 公司; RPMI1640 培养液购自 Gibco 公司; 胎牛血清购自杭州四季青公司; 脂质体转染试剂 (LipofectamineTM 2000) 购自 invitrogen 公司; CCK - 8 购自日本同仁公司; PE/FITC 标记的 CD80、CD86 和 HLA - DR 购自 Ebioscience 公司; RNA 提取试剂 (RNAiso Reagent)、反转录试剂盒 (BCa BESTTM RNA PCR Kit Ver 1.1 试剂盒) 购自大连宝生物公司; ELISA 试剂盒 (IL - 12p70) 购自 RD 公司; pcDNA3.1 - S - ecdCD40L 由本室构建, pcDNA3.1 - S 受赠于北京地坛医院传染病研究所成军博士, pcDNA3.1 由本室保存。

2. DC 诱导培养: 采集健康成人外周血 20ml, PBS 稀释,

Ficoll 密度梯度离心 (2000r/min, 15min) 分离得到外周血单个核细胞 (PBMCs), PBS 洗涤 2 次, 用无血清 RPMI1640 培养基悬浮 PBMCs, 稀释成 2×10^6 /ml 的细胞悬液加入 6 孔培养板, 3 毫升/孔, 37℃, 5% CO₂ 孵箱培养 3h, 去上清, 加含 10% FCS 完全 RPMI1640 培养基过夜。预热的 PBS 冲洗 2~3 遍, 洗去未贴壁细胞, 加入含 rhGM - CSF (100ng/ml)、rhIL - 4 (50ng/ml) 的完全 RPMI1640, 37℃、5% CO₂ 孵箱培养, 隔日半量换液, 培养至第 5 天进行脂质体转染。

3. 脂质体转染: 于 DC 培养第 5 天以 LipofectamineTM 2000 介导转染, 共分为 4 组, A 组 (pcDNA3.1 - S - ecdCD40L 4 μ g + 脂质体 10 μ l), B 组 (pcDNA3.1 - S 4 μ g + 脂质体 10 μ l), C 组 [pcDNA3.1 (+) 4 μ g + 脂质体 10 μ l], D 组 (PBS 10 μ l + 脂质体 10 μ l), 操作按说明书进行。转染后去上清, 加入含 rhGM - CSF (100ng/ml)、rhIL - 4 (50ng/ml) 和 rhTNF - α (25ng/ml) 的完全 RPMI1640 2ml, 37℃、5% CO₂ 孵箱培养 48h 收获。

4. RT - PCR 鉴定: 收集转染 48h 后各组 DC, 抽提总 RNA, 反转录得到 cDNA, 以 S_F、CD40L_R 为上下游引物扩增得到 S - CD40L 融合基因, 以 S_F、S_R 为上下游引物扩增得到 S 基因, 以内参照 β - actin 上下游引物扩增得到内参。融合基因及 HBV S 基因上游引物 (S_F): 5' - GCGGGTACCATGGAGAA - CATCACATCAGGATTC - 3', HBV S 基因下游引物 (S_R): 5' - GGAGAATTCCACCGCCCGAGCCACCGCCACCAATGTATACCC - AAAGACAAAAGAAAAT - 3', 融合基因下游引物 (CD40L_R): 5' - GCGCTCGAGTCAGAGTTTGAGTAAGCCAAAGGA - 3'。内参照引物上游: 5' - CTTCAACACCCAGCCATGTAC - 3', 下游: 5' - CCTCAGGGCAGCGGA ACC - 3'。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5min, 94℃ 30s, 56.4℃ 30s, 72℃ 1min, 30 个循环后 72℃ 延伸 7min。PCR 产物琼脂糖凝胶电泳鉴定。

5. 细胞表型检测: 收集转染 48h 后的 DC, PBS 稀释成 1×10^6 /ml, 取 3 个 EP 管, 每管加 100 μ l DC 悬浮液, 分别加入 FITC - CD80 和 PE - CD86, PE - HLA - DR 以及 PE/FITC - 鼠抗人 IgG 各 5 μ l, 室温避光 20min, PBS 洗 1 次, 加 150 μ l 1% 多聚甲醛固定, 4℃ 保存, 流式细胞仪检测细胞表型。

6. 混合淋巴细胞反应: 采用 Ficoll 密度梯度离心法常规分离同一个正常人的外周血单个核细胞, 完全 RPMI1640 重悬, 贴壁培养 3h 后取悬浮细胞, 离心, 以完全 RPMI1640 重悬为 1×10^6 /ml 作为效应细胞。取转染 48h 后的 DC, RPMI1640 重悬成 2×10^5 /ml, 加入终浓度为 25 μ g/ml 的丝裂霉素 C, 37℃、5% CO₂ 孵箱孵育 30min, PBS 洗 2 次, 完全 RPMI1640 重悬成 5×10^5 /ml, 作为刺激细胞, 分别以 40、20、10 μ l 每孔孔加入 96

孔板,每组各设 3 个副孔,各孔加入 100 μ l 的淋巴细胞,加培养液至总体积 200 μ l,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱孵育 96h。另设只含淋巴细胞的孔为对照组,含 RPMI1640 的孔为本底组。培养结束前 4h,每孔各加入 CCK-8 20 μ l,继续孵育 4h,振荡混匀后,于参比波长 630nm、检测波长 450nm 处检测吸光度(A 值)。刺激指数(stimulation index,SI)=(实验组 A 值-本底 A 值)/(对照组 A 值-本底 A 值)。

7. 细胞因子的检测:IL-12p70 可作为 DC 功能检测的有效指标,收集转染 48h 后 DC 上清液,采用 ELISA 试剂盒检测细胞因子 IL-12p70,按说明进行操作,根据试剂盒中标准品的检测结果绘制标准曲线,酶标仪检测出样品的 A 值在标准曲线上换算出对应细胞因子的含量^[6]。

8. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 软件分析。所有数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组样本均数比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐时选择 LSD 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. DC 形态观察:培养至第 3 天,可见细胞聚集成簇状,形态不规则,有多个突起,第 5 天,细胞增殖明显,随着培养时间的延长,可见部分细胞悬浮,转染后 48h,大部分细胞悬浮见图 1。

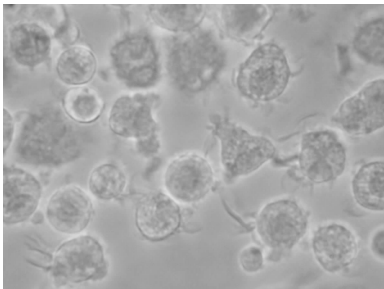


图 1 树突状细胞培养第 5 天显微镜下形态($\times 400$)

2. RT-PCR 结果:pcDNA3.1-S-ecdCD40L 转染组 DC(A 组)经 RT-PCR 检测在 1398bp 有一特异性的扩增带。pcDNA3.1-S 转染组 DC(B 组)经 RT-PCR 检测在 718bp 有一扩增带,在 1398bp 处没有扩增带。每组在 401bp 处均有内参扩增带(图 2)。

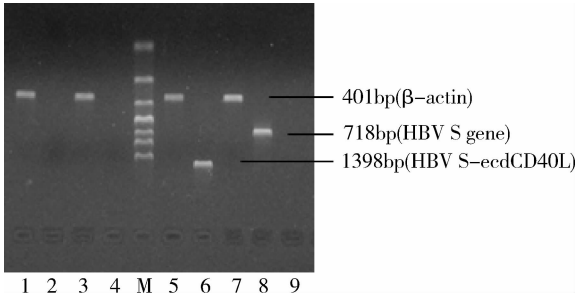


图 2 DC 脂质体转染后 RT-PCR 结果
1、2. C 组;3、4. D 组;5、6. A 组;7、8、9. B 组;M. marker

3. DC 表面分子表达水平:流式细胞术检测转染后 48h 的 DC,pcDNA3.1-S-ecdCD40L 转染组(A 组)DC 表面分子 CD80、CD86 和 HLA-DR 表达量高于其他 3 组($P<0.05$)。pcDNA3.1-S 转染组(B 组)CD80、CD86 和 HLA-DR 表达量高于 pcDNA3.1 空质粒组和 PBS 对照组,但差异没有统计学意义($P>0.05$)(表 1、图 3)。

表 1 转染后 48h 树突状细胞表面分子表达($\bar{x}\pm s, \%$)

分组	CD80	CD86	HLA-DR
A	59.88 $\pm$ 14.39	98.06 $\pm$ 2.03	75.89 $\pm$ 13.06
B	40.72 $\pm$ 11.16 $\blacktriangle$	94.68 $\pm$ 1.95 $\blacktriangle$	58.50 $\pm$ 15.02 $\blacktriangle$
C	35.58 $\pm$ 5.55 $\blacktriangle$	94.08 $\pm$ 4.00 $\blacktriangle$	54.06 $\pm$ 15.71 $\blacktriangle$
D	33.92 $\pm$ 8.85 $\blacktriangle$	93.98 $\pm$ 3.71 $\blacktriangle$	53.65 $\pm$ 19.60 $\blacktriangle$

与 A 组比较, $\blacktriangle P<0.05$

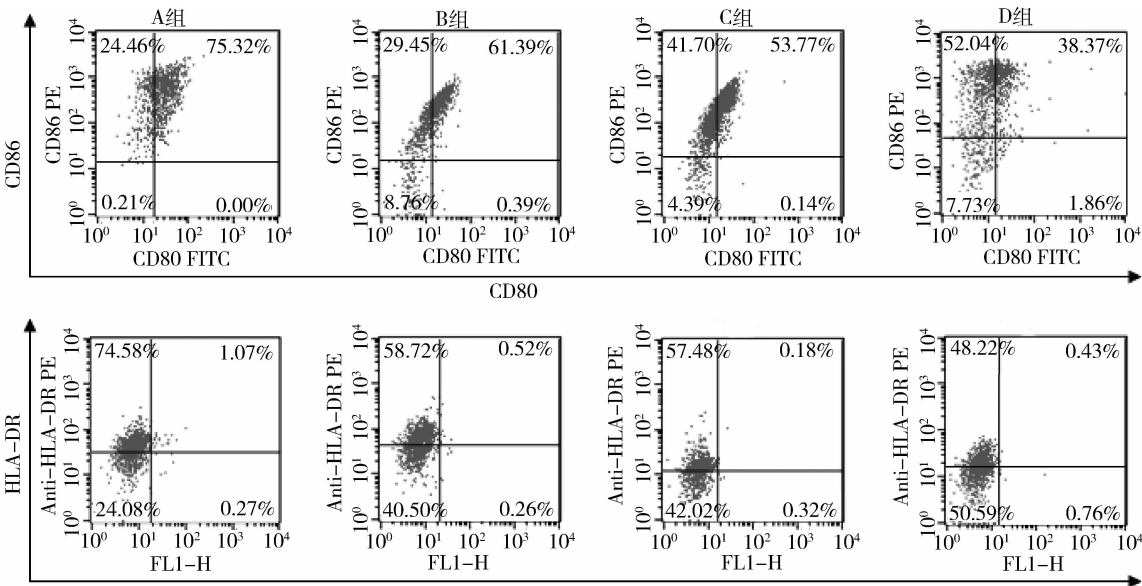


图 3 转染 48h 后树突状细胞表面分子表达

4. DC 刺激 T 淋巴细胞增殖能力:在同种异体混合淋巴细胞反应中,4 组转染 48h 后 DC 刺激淋巴细胞增殖的能力随着 DC/T 比例的增高而增强。pcDNA3.1-S-ecdCD40L 转染组 DC 刺激 T 淋巴细胞增殖的能力高于其他 3 组,尤其是当 DC/T 比值为 1:5、1:10 时,差异有统计学意义($P < 0.05$)。DC/T 比值为 1:20 时,差异无统计学意义($P > 0.05$)。pcDNA3.1-S 转染组刺激 T 淋巴细胞增殖的能力高于 pcDNA3.1 空质粒组和 PBS 对照组,但差异没有统计学意义($P > 0.05$,图 4)。

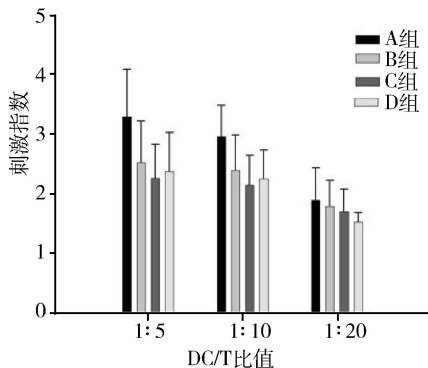


图 4 混合淋巴细胞反应中树突状细胞对 T 淋巴细胞增殖的影响

5. DC 分泌 IL-12 水平:转染 48h, A、B、C、D 4 组 DC 上清液中 IL-12 的含量分别为 195.40 ± 73.19 、 137.92 ± 56.41 、 124.35 ± 36.12 和 122.80 ± 40.07 pg/ml。统计结果显示 A 组即 pcDNA3.1-S-ecdCD40L 转染组 IL-12 的含量明显高于其他 3 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而其他 3 组间 IL-12 量无统计学差异($P > 0.05$)。

讨 论

治疗性疫苗是基于病毒慢性感染时,机体的免疫系统处于不合适的免疫耐受状态,不能有效清除感染病毒的理论基础而提出的新的治疗策略^[7]。现今已被人们广泛用于尝试治疗目前用药物不能清除的多种慢性病毒感染,如 HBV、HIV 和 HPV 等。研制有较强免疫原性的 HBV 治疗性疫苗意义重大,而利用细胞因子基因与抗原基因融合是提高抗原免疫原性的有效方法。

CD40L 能与表达于 DC 表面的 CD40 分子相互作用,诱导外周血单个核细胞来源树突状细胞成熟^[8]。CD40L 基因修饰 DC 后,可促进 DC 表达更高水平免疫辅助分子 CD80、HLA-DR 等,分泌更高水平 IL-12,刺激 CD8⁺ T 细胞增殖,诱导 Th1 免疫反应,促进

DC 成熟,增强 DC 功能^[9]。CD40L 与特异性抗原融合,可通过 CD40L 对 DC 的刺激作用,增强抗原免疫原性,诱发更强的抗原特异性 T 细胞免疫。而 CD40L 胞外段(ecdCD40L)作为 CD40L 与 CD40 的结合域,亦可发挥刺激 DC、增强抗原免疫原性的作用,将靶抗原(target-associated antigen)与 CD40L 胞外段融合(TAA/ecdCD40L)可促进 DC 对靶抗原的摄取及抗原特异性 B 细胞和 CD8⁺ T 细胞的增殖,诱导针对病毒抗原的高效价中和抗体的产生^[10]。将 HPV E7-ecdCD40L 重组腺病毒导入骨髓来源的树突状细胞,24h 及 48h 后,E7-ecdCD40L 载体转染的树突状细胞分泌 IL-12、IFN- γ 的水平明显高于转染 E7 载体、GFP-ecdCD40L 载体、磷酸盐缓冲液(PBS)对照组,说明 E7-ecdCD40L 融合基因修饰对 DC 具有明显刺激作用,ecdCD40L 能增强 E7 的免疫原性。

MHC-II 类分子 HLA-DR 和共刺激分子 CD80、CD86 在成熟 DC 表面强表达,是抗原刺激 T 细胞增殖活化的重要协同刺激信号分子,在 DC 对抗原的摄取和迁移及介导 T 细胞活化的免疫应答中起着重要的作用。因此,DC 是否成熟可以通过细胞表面分子 HLA-DR、CD80、CD86 表达水平的变化来进行鉴别,而 DC 是否成熟可以作为评价 DC 功能的重要指标^[11]。IL-12 为 Th1 激活因子,可促进 CTL 增殖、活化,是 DC 分泌的重要前炎症因子,其分泌量受 DC 的成熟状态及某些刺激信号的影响,IL-12 分泌也可作为评价 DC 功能的重要指标^[11]。研究结果表明,pcDNA3.1-S-ecdCD40L 质粒转染组 DC 表达共刺激分子 CD80、CD86 和 HLA-DR 明显增加,分泌 IL-12 水平增加,表明 HBV S-ecdCD40L 融合基因修饰可促进 DC 成熟、促进 DC 分泌 IL-12,从而增强 DC 抗原递呈和诱导 T 细胞免疫反应能力,ecdCD40L 可能发挥了促进 DC 成熟、活化,增强 DC 功能的作用。刺激 T 淋巴细胞增殖是 DC 重要功能之一,当 DC/T 比值为 1:5、1:10 时,pcDNA3.1-S-ecdCD40L 质粒转染 DC 刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖能力明显增强,说明 HBV S-ecdCD40L 融合基因修饰可能对 DC 具有明显刺激作用,可增强其刺激淋巴细胞增殖的能力。当 DC/T 比值为 1:20 时,各组间差异无统计学意义,可能是 DC 数量过少,导致淋巴细胞增殖的差异不明显。

研究表明,HBV S-ecdCD40L 融合基因修饰可诱导 DC 成熟,激活 DC,增强 DC 功能,ecdCD40L 具有免疫增强作用。与单纯 HBV 抗原基因疫苗相比,

将 ecdCD40L 与 HBV 抗原基因融合后免疫诱导更强的 HBV 特异性免疫应答,有望成为增强乙肝治疗性疫苗免疫效果的有效方法。

参考文献

- 1 Kakimi K, Isogawa M, Chung J, *et al.* Immunogenicity and tolerogenicity of hepatitis B virus structural and nonstructural proteins: implications for innotherapy of persistent viral infections[J]. J Virol, 2002, 76(17):8609 – 8620
- 2 Sukriti S, Pati NT, Bose S, *et al.* Impaired antigen processing and presentation machinery is associated with immunotolerant state in chronic hepatitis B virus infection[J]. J Clin Immunol, 2010, 30(3):419 – 425
- 3 Duan XZ, Zhuang H, Wang M, *et al.* Decreased numbers and impaired function of circulating dendritic cell subsets in patients with chronic hepatitis B infection (R2) [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2005, 20(2):234 – 242
- 4 Martinet J, Dufeu – Duchesne T, Bruder CJ, *et al.* Altered functions of plasmacytoid dendritic cells and reduced cytolytic activity of natural killer cells in patients with chronic HBV infection[J]. Gastroenterology, 2012, 143(6):1586 – 1596
- 5 Jan RH, Lin YL, Chen CJ, *et al.* Hepatitis B virus surface antigen can activate human monocyte – derived dendritic cells by nuclear fac-

tor kappa B and p38 mitogen – activated protein kinase mediated signaling[J]. Microbiol Immunol, 2012, 56(10):719 – 727

- 6 Butterfield LH, Gooding W, Whiteside TL. Development of potency assay for human dendritic cells: IL – 12p70 production[J]. J Immunother, 2008, 31(1):89 – 100
- 7 Autran B, Carcelain G, Combadiere B, *et al.* Therapeutic vaccines for chronic infections[J]. Science, 2004, 30(5):205 – 208
- 8 Li DY, Gu C, Min J, *et al.* Maturation induction of human peripheral blood mononuclear cell – derived dendritic cells[J]. Exp Ther Med, 2012, 4(1):131 – 134
- 9 Tomihara K, Kato K, Masuta Y, *et al.* Gene transfer of CD40 – ligand to dendritic cells stimulates interferon – γ production to induce growth arrest and apoptosis of tumor cells[J]. Gene Ther, 2008, 15(3):203 – 213
- 10 Deisseroth A, Tang Y, Zhang L, *et al.* TAA/ecdCD40L adenoviral prime – protein boost vaccine for cancer and infectious diseases[J]. Cancer Gene Ther, 2013, 20(2):65 – 69
- 11 Kaka AS, Foster AE, Weiss HL, *et al.* Using dendritic cell maturation and IL – 12 producing capacity as markers of function: a cautionary tale[J]. J Immunother, 2008, 31(4):359 – 369

(收稿日期:2013 – 06 – 04)

(修回日期:2013 – 07 – 15)

肥胖儿童睡眠呼吸暂停的高危因素及其性别差异分析

苏苗赏 林 剑 张海邻 蔡晓红 留佩宁 李昌崇 肖延凤

摘 要 **目的** 分析影响肥胖儿童睡眠呼吸暂停的高危因素并探讨其性别差异。**方法** 对笔者医院收治 120 例肥胖儿童可能影响睡眠呼吸暂停(OSA)的因素进行单因素分析和 Logistic 多元回归分析。**结果** 单因素分析显示男孩、严重打鼾、张口呼吸、晨起头痛、白天嗜睡、夜间多汗、夜间遗尿、睡眠不安、高脂血症、影像学显示上气道狭窄,在 OSA 和非 OSA 组间有统计学差异。Logistic 回归分析显示,男孩发生 OSA 的高危因素有严重打鼾、张口呼吸、夜间多汗和影像学显示上气道狭窄;女孩发生 OSA 的高危因素有严重打鼾、张口呼吸、夜间遗尿和影像学显示上气道狭窄。脂代谢分析显示,中重度 OSA 肥胖患儿胆固醇和低密度脂蛋白较轻度组明显增高。**结论** 不同性别肥胖儿童 OSA 的高危因素有所不同,但严重打鼾、张口呼吸、白天嗜睡和影像学显示上气道狭窄是共同的主要危险因素,中重度 OSA 患儿存在较明显脂代谢紊乱。

关键词 肥胖 阻塞性睡眠呼吸暂停 高危因素 性别差异 儿童

High Risk Factors and Gender Differences Analysis in Obese Children with Obstructive Sleep Apnea. Su Miaoshang, Lin Jian, Zhang Hailin, Cai Xiaohong, Liu Peining, Li Changchong, Xiao Yanfeng. Wenzhou Medical University Affiliated the Second Hospital, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To analyse the risk factors of obstructive sleep apnea (OSA) and the gender differences in obese children. **Methods** Totally 120 cases of obese children treated in our hospital were included to make single factor analysis and Logistic multivariate regression analysis. **Results** Single factor analysis showed that boy, severe snoring and mouth breathing, morning headaches, excessive

基金项目:浙江省医药卫生平台骨干人才计划项目(2013RCA037);温州市科技计划项目(2013S0177)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院儿科(苏苗赏、林剑、张海邻、蔡晓红、留佩宁、李昌崇);西安交通大学医学院附属第二医院儿科(肖延凤)