

本文引文格式:戴剑,潘集阳,张小涛,等.炎症因子表达在不宁腿综合征中的应用研究[J].右江民族医学院学报,2021,43(5):592-595.

【论著与临床报道】

## 炎症因子表达在不宁腿综合征中的应用研究

戴剑<sup>1</sup>,潘集阳<sup>2</sup>,张小涛<sup>2</sup>,李红瑶<sup>2</sup>

(1. 广西壮族自治区江滨医院,广西 南宁 530021;

2. 暨南大学附属第一医院,广东 广州 510632)

**摘要:**目的 探讨对不宁腿综合征(RLS)患者检测炎症因子水平的临床意义。方法 通过对46例不宁腿综合征患者(RLS组)、46例健康者(HC组)进行多导睡眠监测,国际不宁腿综合征严重程度量表(IRLS)、匹茨堡睡眠质量指数量表(PSQI)、7项广泛性焦虑障碍量表(GAD-7)评估及检测C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平,并进行组间比较。结果 RLS组睡眠效率(62.25±9.28)%较HC组(81.94±6.27)%低、入睡潜伏期(46.84±9.32)min较HC组(21.93±5.51)min长、觉醒次数(32.63±7.62)次较HC组(20.66±4.41)次多,且差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。RLS组周期性睡眠腿动指数(PLMI)、IRLS、PSQI、GAD-7明显高于HC组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。RLS组血清CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平都高于HC组,且差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。RLS患者PSQI与PLMI存在正相关关系, $r$ 值为0.426, $P < 0.05$ 。结论 推测患者血清CRP、IL-6和TNF- $\alpha$ 的水平可成为一种新的、简单的临床判断RLS参考指标之一。

**关键词:**不宁腿综合征;C-反应蛋白;白细胞介素-6;肿瘤坏死因子- $\alpha$

中图分类号:R742.89 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2021)05-0592-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.05.004

### Application of inflammatory factor expression in restless legs syndrome

Dai Jian<sup>1</sup>, Pan Jiyang<sup>2</sup>, Zhang Xiaotao<sup>2</sup>, Li Hongyao<sup>2</sup>

(1. Jiangbin Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi, China;

2. The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical significance of detecting the level of inflammatory factors in patients with restless legs syndrome (RLS). **Methods** 46 patients with restless legs syndrome (RLS group) and 46 healthy controls (HC group) were monitored by polysomnography. Their levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were measured by International Restless Legs Syndrome Severity Scale (IRLS), Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI), and Generalized Anxiety Disorder Scale-7 (GAD-7), respectively. The results were compared between two groups. **Results** The sleep efficiency (62.25±9.28)% of the RLS group was lower than that (81.94±6.27)% of the HC group. The sleep latency (46.84±9.32) min of the RLS group was longer than that (21.93±5.51) min of the HC group. And the awakening times (32.63±7.62) of the RLS group were more than those (20.66±4.41) of the HC group. All the above differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The RLS group had significantly higher periodic legs movement index (PLMI) during sleep as well as significantly higher scores of IRLS, PSQI

基金项目:国家自然科学基金项目(81871036);广西卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z20190204)

第一作者简介:戴剑(1981-),男,博士,副主任医师,研究方向:睡眠障碍,E-mail:fjptdj@163.com

通讯作者简介:潘集阳(1962-),男,硕士,教授,博士研究生导师,研究方向:睡眠障碍、情绪障碍,E-mail:jiypan@vip.163.com

and GAD-7 than the HC group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The levels of serum CRP, IL-6 and TNF- $\alpha$  in the RLS group were higher than those of the HC group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). There was a positive correlation between PSQI and PLMI in patients with RLS, with  $r$  value being 0.426,  $P < 0.05$ . **Conclusion** The prediction of serum CRP, IL-6 and TNF- $\alpha$  level in patients can be a new and simple kind of reference index for clinical judgment of RLS.

**Key words:** restless legs syndrome; C-reactive protein; interleukin-6; tumor necrosis factor alpha

不宁腿综合征(restless legs syndrome, RLS), 又称不安腿综合征, 是一种以强烈活动肢体冲动为特征的神经系统感觉运动障碍性疾病。RLS 第一个已知医学描述是 Thomas Willis 于 1672 年开始记载, Willis 强调了 RLS 患者的睡眠中断和肢体运动。1945 年, Karl-Axel Ekbom 指出: “RLS 是以双侧小腿深部、难以表达的不适感为表现的一种疾病, 是临床研究迄今为止被忽视的疾病”, 故本病也称 Willis-Ekbom 病。

RLS 常伴失眠、睡眠片段化、白天困倦以及焦虑、抑郁症状, 严重影响生活质量<sup>[1]</sup>, 所引起的夜间睡眠中断、白天疲倦是患者就医的最常见因素<sup>[2]</sup>, 但也由于其睡眠问题, 容易被误诊为其他疾病<sup>[3]</sup>。临床中 RLS 的误诊率偏高, 若能提高确诊率, 降低误诊率, 对患者来说, 无疑具有重大的现实意义。近年来, 关于 RLS 与炎症因子的关系越来越受到国外研究人员的关注, 国内暂未见炎症因子水平在 RLS 中的研究报告, 为探讨其临床意义, 本文选取 RLS 患者与健康对照者各 46 例进行研究, 详述如下。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究对象来源于 2018 年 11 月—2019 年 11 月暨南大学附属第一医院睡眠医学中心收治的 46 例 RLS 患者。RLS 组纳入标准: ①性别: 男女均可; ②年龄 18~70 岁; ③受教育程度: 小学及以上文化水平; ④根据 2014 年最新的 RLS 诊断标准<sup>[4]</sup>及 DSM-5 诊断中的要求<sup>[5]</sup>; ⑤入组前 2 周内未服用影响睡眠的药物(如三环类抗抑郁药、安眠药, 多巴胺类药物等); ⑥神经系统检查正常。排除标准: ①正处于怀孕期或哺乳期的妇女; ②近 3 个月内曾用过免疫调节剂、激素类制剂、抗炎药物等影响机体免疫功能的药物, 或输过血浆、全血; ③半年内有重大生活事件, 既往有精神病史及精神疾病阳性家族史。其中男性 17 例, 女性 29 例, 年龄 45~68 岁, 平均年龄(55.67 $\pm$ 7.72) 岁。另选取同时期招募的 46 例本院健康职工志愿者为健康对照(HC)组, HC 组纳入标准: ①性别: 男女均可; ②年龄 18~70 岁; ③受教育程度: 小学及以上文化水平; ④确定非 RLS 诊断且身体健康。其中男性 16 例, 女性 30 例, 年龄 41~66 岁, 平均年龄(54.46 $\pm$ 5.68) 岁。两组研究对象在性别、年龄、受教育程度等一般资

料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

1.2 多导睡眠监测(polysomnography, PSG)检查 本研究所使用的睡眠多导监测仪是澳大利亚倍德公司的 Compumedics Grae176 通道监测仪, 由经过专业培训的睡眠技师完成, 监测时间 $>7$  h。所有记录数据均根据 2007 版美国睡眠医学会(AASM)标准进行人工评判, 主要的分析指标为周期性睡眠腿动指数(periodic limb movements index, PLMI), 即在睡眠时间内每小时睡眠周期性肢体运动的次数。

1.3 相关量表评定 所有量表均在睡眠医学中心完成, 两组均在医生使用统一指导语下独立自行填写, 完成后当场回收, 核对是否遗漏, 如有, 及时补充。

1.3.1 国际不宁腿综合征严重程度量表(international restless legs syndrome severity scale, IRLS) IRLS 是根据最近两周来不宁腿综合征症状的平均程度进行评分, 每项分为 0~4 级, 总分为 40 分。0 分为无症状; 1~10 分为轻度; 11~20 分为中度; 21~30 分为重度; 31~40 分为极重度。

1.3.2 匹茨堡睡眠质量指数量表(pittsburgh sleep quality index, PSQI) PSQI 用于评定被试者最近 1 个月的睡眠质量。由 9 个自评和 5 个他评条目组成, 而其中 19 个条目组成 7 个因子, 每个因子按 0~3 分等级计分, 0 分指没有困难, 3 分指非常困难, 累积各因子成分得分为 PSQI 的总分, 总分范围为 0~21 分, 得分越高, 表示睡眠质量越差。

1.3.3 7 项广泛性焦虑障碍量表(generalized anxiety disorder-7, GAD-7) GAD-7 用于评估研究对象健康问卷的焦虑模块, 共 7 个项目, 分别评定: 紧张焦虑、不能控制的担忧、过度担忧、不能放松、静坐不能、易激惹、不详预感。本量表为 0~3 分, 4 级评判。以最近 2 周内出现靶症状的天数评定: 0 分表示无症状, 1 分表示为有过几天, 2 分表示半数以上日子出现, 3 分表示几乎每天都有。0~4 分为无具临床意义的焦虑; 5~9 分为轻度焦虑; 10~14 分为中度焦虑;  $\geq 15$  分为重度焦虑。

1.4 血液样本的采集和检测 两组研究对象均于入组后第二天清晨 7:30, 空腹、安静状态下抽取肘静脉血, 室温下静置 1 h 后低温(4 $^{\circ}$ C)离心 15 min(3000 r/min), 然后取上清液, 冻于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱, 待统一用

ELISA法检测血清CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 浓度。检测时按照试剂盒说明严格进行。

1.5 统计学方法 采用SPSS 22.0对所收集到的数据进行统计学分析,计数资料采用百分比进行描述,正态分布计量资料则用( $\bar{x} \pm s$ )进行描述,组间比较用 $t$ 检验,非正态分布计量资料采用中位数(四分位数间距) $M(P_{25} \sim P_{75})$ 来表示,采用秩和检验。两变量间的关联性分析采用偏相关分析。 $P < 0.05$ 表示两者差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组睡眠效率、入睡潜伏期、觉醒次数的比较 RLS组睡眠效率较HC组低、入睡潜伏期长、觉醒次数多,且差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组睡眠质量比较

组别	$n$	睡眠效率/%	入睡潜伏期/min	觉醒次数
HC组	46	81.94 $\pm$ 6.27	21.93 $\pm$ 5.51	20.66 $\pm$ 4.41
RLS组	46	62.25 $\pm$ 9.28	46.84 $\pm$ 9.32	32.63 $\pm$ 7.62
$t$		-10.402	13.611	8.053
$P$		0.001	0.003	0.001

注:表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示。

2.2 两组在PLMI、IRLS、PSQI、GAD-7方面比较 RLS组的PLMI、IRLS、PSQI、GAD-7明显高于HC组,两组间的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 两组主客观睡眠及焦虑的比较

组别	秩平均值	$Z$	$P$
PLMI		-7.196	$< 0.001$
HC组	11.00~22.00		
RLS组	36.50~61.70		
IRLS		-6.970	$< 0.001$
HC组	10.86~27.53		
RLS组	35.24~63.72		
PSQI		-6.165	$< 0.001$
HC组	9.27~30.45		
RLS组	38.23~66.39		
GAD-7		-4.876	$< 0.001$
HC组	16.67~27.31		
RLS组	36.84~58.62		

2.3 两组血清CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平的比较 RLS组血清CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平都高于HC组,且差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

2.4 RLS患者PLMI与PSQI的关系 通过相关分析发现,PSQI与PLMI存在正相关关系, $r$ 值为0.426, $P$ 值为0.011 $< 0.05$ 。

表3 两组炎症因子比较

组别	$n$	CRP/(mg $\cdot$ L $^{-1}$ )	IL-6/(pg $\cdot$ ml $^{-1}$ )	TNF- $\alpha$ /(pg $\cdot$ ml $^{-1}$ )
HC组	46	7.46 $\pm$ 2.99	4.70 $\pm$ 2.35	54.78 $\pm$ 14.26
RLS组	46	20.79 $\pm$ 18.03	15.11 $\pm$ 12.42	97.52 $\pm$ 51.11
$t$		-4.310	-4.869	-4.765
$P$		$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$

注:表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示。

## 3 讨论

RLS是一种常见的神经系统感觉运动障碍性疾病,症状常于患者休息、入睡前或夜间出现,严重影响患者睡眠及次日的工作、生活质量。目前,RLS的诊断主要依据患者病史及临床症状,随着PSG检查在精神科,特别是在睡眠研究领域的广泛应用,人们逐渐对RLS有了客观认识。PSG检查结果包含睡眠结构、睡眠连续性和稳定性、睡眠相关事件等,对RLS的诊断起着极为重要的作用。

本研究通过主、客观睡眠评定相结合,对RLS患者及对照组人群的睡眠特征进行探讨。在客观睡眠评定方面,PSG结果显示,RLS患者与对照组相比,表现出患者夜间睡眠时腿动次数多、睡眠效率低、入睡潜伏期长、觉醒次数多;主观睡眠量表评定显示,RLS组的IRLS、PSQI、GAD-7明显高于对照组,提示RLS患者不宁腿症状重、主观睡眠质量差、焦虑程度高。患者的日间功能下降,焦虑等可能是因为RLS的夜间睡眠中断所致。RLS是一种慢性疾病,因睡眠-觉醒障碍,白天困倦,严重影响患者的工作、生活,常导致患者焦虑情绪,患者担心第二天晚上是否能睡好以及入睡前因肢体的不适感带来的焦虑性反应,而这种焦虑和对不确定性的不耐受又可能反过来影响患者的睡眠质量。RLS所引起的睡眠结构紊乱及白天乏力是焦虑症的促进因素,RLS可看成是导致焦虑症状的一种非特殊压力来源<sup>[6]</sup>。RLS患者对睡眠质量不满意,但患者的日间嗜睡情况并不严重,提示RLS患者的觉醒程度可能较健康对照组高。睡眠中断、日间功能减退也是RLS患者就诊的常见原因。

RLS患者PLMI与PSQI的相关分析发现,两者呈正相关,表明RLS的PLMI与患者的主观睡眠存在密切相关,患者的夜间腿动指数越高,其主观睡眠质量越差且随RLS严重程度的加重而变差。

一系列对照研究表明<sup>[7-9]</sup>,RLS中可能存在炎症和/或免疫紊乱,然而,评估RLS患者炎症的研究项目并不多。Kaya T等<sup>[10]</sup>通过临床研究发现,RLS的严重程度与白细胞计数、CRP等炎症指标呈正相关。Higuchi T等<sup>[11]</sup>对159例血透患者进行研究,发现RLS组在hs-CRP、IL-6的血清水平明显高于非RLS

组,且 hs-CRP 较 IL-6 更能反映 RLS 的严重程度。Varlm C 等<sup>[12]</sup>通过使用中性粒细胞与淋巴细胞比率(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)对 75 例新诊断的 RLS 患者和 56 例健康对照者进行研究,结果在 RLS 患者中,NLR 在统计学上更高,可以用来预测 RLS,表明全身炎症可能在 RLS 中起作用。国外这些研究支持炎症因子可能与 RLS 相关的假说。

血象、生化测试提供了与多种血细胞特征相关的重要数据,包括 CRP 和炎症因子水平,而且容易获得,价格便宜,操作简单。本研究通过检测 RLS 患者 CRP、IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子水平,进一步探讨 RLS 与炎症因子的相关性,结果显示,RLS 组 CRP、IL-6、TNF- $\alpha$  水平均明显高于 HC 组。目前中枢神经系统多巴胺能神经元功能异常被认为是 RLS 发病的机制之一,而铁是酪氨酸羟化酶(多巴胺合成限速酶)的重要辅助因子,若铁缺乏或代谢异常将导致多巴胺的合成减少,影响了脑多巴胺递质系统的功能,从而导致 RLS 的发生。在组织培养细胞中发现肝杀菌肽(Hepcidin)与膜铁转运蛋白(ferroportin, FPN)结合,结合后 FPN 被内化和降解,导致细胞铁的转运减少。而炎症是诱导局部脑 hepcidin 表达的重要因素,它可以显著增加脑的表达,在细胞水平上受肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症因子的调控。我们推测:炎症可能诱导了脑 hepcidin 表达增加,使脑内铁含量下降,从而影响多巴胺合成,导致 RLS 的产生。但本研究纳入的病例数仍稍少,且只是一个中心的数据,后续若能进行多中心的数据收集分析可能会更有临床意义。

RLS 的诊断需要依靠经验丰富的精神科或睡眠医学科医师,目前临床上仍然缺乏相应的实验室指标,这也是导致基层医院医护人员无法判断或患者本人无法清楚表达,引起误诊的部分原因。血象、生化测试提供了与多种血细胞特征相关的重要数据,包括 CRP 和炎症因子水平,而且容易获得,价格便宜,操作简单。因此,我们推测患者血清 CRP、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的水平可成为一种新的、简单的临床判断 RLS 参考指标之一。

#### 参考文献:

[1] 刘春燕,丁岩,侯月,等. 中国不宁腿综合征研究进展:中

国学者海外报道[J]. 中国现代神经疾病杂志,2017,17(9):639-643.

- [2] Grandner MA, Sands-Lincoln MR, Pak VM, et al. Sleep duration, cardiovascular disease, and proinflammatory biomarkers[J]. *Nat Sci Sleep*, 2013, 5: 93-107.
- [3] Garcia-Borreguero D, Ferini-Strambi L, Kohnen Ralf, et al. European guidelines on management of restless legs syndrome: Report of a joint task force by the european federation of neurological societies, the european neurological society and the european sleep research society [J]. *Eur J Neurol*, 2012, 19(11): 1385-1396.
- [4] Allen RP, Picchietti DL, Garcia-Borreguero D, et al. Restless legs syndrome/willis - ekbom disease diagnostic criteria: Updated international restless legs syndrome study group (irls) consensus criteria - history, rationale, description, and significance[J]. *Sleep Med*, 2014, 15(8): 860-873.
- [5] Association AP. The diagnostic and statistical manual of mental disorders dsm-5[M]. Washington, D. C: American Psychiatric Pub, 2013: 191.
- [6] 刘红,唐向东. 不宁腿综合征的研究进展[J]. *临床神经病学杂志*, 2013, 26(1): 76-78.
- [7] Weinstock LB, Walters AS. Restless legs syndrome is associated with irritable bowel syndrome and small intestinal bacterial overgrowth[J]. *Sleep Med*, 2011, 12(6): 610-613.
- [8] Hassan N, Pineau CA, Clarke AE, et al. Systemic lupus and risk of restless legs syndrome [J]. *J Rheumatol*, 2011, 38(5): 874-876.
- [9] Happe S, Kundmüller L, Reichelt D, et al. Comorbidity of restless legs syndrome and HIV infection[J]. *J Neurol*, 2007, 254(10): 1401-1406.
- [10] Kaya T, Acar BA, Sipahi S, et al. Relationships between malnutrition, inflammation, sleep quality, and restless legs syndrome in hemodialysis patients[J]. *Ther Apher Dial*, 2015, 19(5): 497-502.
- [11] Higuchi T, Abe M, Mizuno M, et al. Association of restless legs syndrome with oxidative stress and inflammation in patients undergoing hemodialysis[J]. *Sleep Med*, 2015, 16(8): 941-948.
- [12] Varlm C, Acar BA, Uyanlk MS, et al. Association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio, a new marker of systemic inflammation, and restless legs syndrome [J]. *Singapore Med J*, 2016, 57(9): 514-516.

收稿日期:2021-07-13;修回日期:2021-08-13