

文章编号:1007 - 4287(2008)03 - 0361 - 03

糖尿病肾病患者内皮细胞抗体表达与炎症细胞因子水平关系研究

黄加忠¹,王小晋²,徐晓文³

(1. 江苏省淮阴卫生学校,江苏 淮安 223300;2. 增城出入境检验检疫局;3. 淮安市第二人民医院)

摘要:目的 通过检测患者血液中的内皮细胞抗体(AECA)及炎症细胞因子,观察炎症细胞因子水平与 AECA 表达之间的关系。方法 根据间接免疫荧光法检测糖尿病肾病(DN)患者 AECA 的结果,将 DN 患者分为 AECA 阳性组和阴性组,并设健康组和糖尿病初诊组为对照,分别采用酶联免疫吸附法及化学发光法测定 P-选择素(P-selectin)、白介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子(TNF)水平。结果 健康组及糖尿病初诊组中未检出 AECA, DN 组检出率为 19.1%;DN 患者三种炎症细胞因子水平均显著高于糖尿病初诊组($P < 0.01$);糖尿病初诊组高于健康组($P < 0.05$);AECA 阳性组炎症细胞因子水平也显著高于 AECA 阴性组,两组比较有显著差异($P < 0.05$)。结论 炎症造成血管损伤,同时诱发机体产生自身免疫;AECA 介导的免疫损伤又加重内皮细胞功能障碍,二者相互作用是 DN 发生的一个重要环节。

关键词:糖尿病肾病;抗内皮细胞抗体;细胞因子;炎症

中图分类号:R587.2

文献标识码:A

The study of the relationship between the expression of serum antibodies to endothelial cells and the levels of inflammatory cytokine in patients with diabetic nephropathy HUANG Jia-zhong, WANG Xiaojin, XU Xiaowen. (Huaiyin Health School huaiyan, 223300, china)

Abstract: Objective To discuss the relationship between the expression of serum antibodies to endothelial cells (AECA) and the levels of inflammatory cytokine in patients with diabetic nephropathy (DN) by measured them in blood. **Methods** According to the results of AECA, the DN patients were divided into two groups: AECA positive group and negative group; The initial onset patients with diabetes mellitus and the health peoples were as the contrast. They were all measured the levels of P-selectin, Interleukin-6 and TNF by ELISA and CIA assay. **Results** AECA were not detected at the initial stages of diabetes mellitus and the health peoples. The positive rate of AECA in DN was 19.1%; Three kinds of inflammatory cytokine levels in DN patients were significant above than the DM patients ($P < 0.01$); The cytokine level in DM also above than the health group ($P < 0.05$); There were significant differences of cytokines levels between the positive and negative groups ($P < 0.05$). **Conclusion** The inflammation conduce the injury of blood vessel and deduced the autoimmunity. The immunity damaged mediated by AECA aggravate endothelium dysfunction. The interaction of them may be the important role in the onset of DN.

Key words: diabetic nephropathy; antiendothelial cell antibody; inflammatory cytokine; inflammation

(Chin J Lab Diagn, 2008, 12:0361)

DN 是糖尿病的主要并发症,是造成终末期肾衰竭的主要病因。关于其发病机制,目前存在多种假说,涉及糖、脂代谢紊乱,以及高血压、血液性状改变、细胞因子、遗传因素和环境因素等多方面。近年来对糖尿病患者内皮功能障碍研究深入,认为是 DN 发病环节之一。研究发现内皮细胞抗体介导的免疫损伤是造成内皮功能障碍的一个因素^[1]。本文讨论糖尿病肾病患者炎症细胞因子水平变化与内皮细胞抗体表达之间的关系,现将结果报告如下。

1 材料与方

1.1 研究对象 选择市内三家医院内分泌科及肾脏科糖尿病住院患者115例,均符合 WHO 糖尿病诊

断标准。根据尿白蛋白排泄率将上述患者分为糖尿病初诊组(未伴微血管病变)、糖尿病肾病组,其中糖尿病初诊组 47 例,男 26 例,女 21 例,平均年龄 47.3 岁;DN 组 68 例(尿白蛋白 $> 0.3 \text{ g}/24 \text{ h}$),男 41 例,女 27 例,平均年龄 52.1 岁。以上患者均排除肿瘤及其他自身免疫病可能,同时均未使用抗血小板药物。健康组为我校健康体检人群,共 21 例,平均年龄 47.3 岁。

1.2 标本采集 研究对象均取清晨空腹静脉血 5 ml,分置于两管内,一管含 2% EDTA 抗凝剂,一管为普通干生化管,立即送检。3 000 rpm 离心 5 分钟,分离出血浆和血清,置于 - 20 保存,集中待检。

1.3 试剂及仪器 AECA 间接免疫荧光法试剂盒购于北京欧蒙公司,每个反应区域包被的抗原为人/猴脐静脉细胞,荧光显微镜为奥林巴斯 CX41-RFL32J(由淮安市疾病控制中心提供); IL-6 和 TNF- 采用德普 IMMUNIT 1 000 型化学发光分析仪,使用德普公司原装试剂检测; P-selectin 采用华美公司的 ELIS A 试剂盒检测,按照说明书进行操作。

1.4 结果观察 AECA 结果在荧光显微镜下观察,以 1:10 稀释度可观察到特异性荧光判定为阳性,不

显示特异性荧光为阴性。

1.5 统计分析 采用 SPSS10.0 软件进行 *t* 检验。

2 结果

糖尿病初诊组及健康组无 1 例 AECA 阳性, DN 组共检出 13 例 AECA 阳性,阳性率为 19.1%。DN 组血浆 P-选择素水平显著高于糖尿病初诊组 ($P < 0.01$),血清 IL-6 和 TNF- 也显著高于糖尿病初诊组 ($P < 0.01$);糖尿病初诊组细胞因子水平与健康组比较有显著差异 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 糖尿病肾病组与糖尿病组 AECA 表达率及 P-选择素、IL-6 和 TNF- 水平比较($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 阳性数 | P-选择素 | IL-6 | TNF- |
|--------|----|-----|-------------------|-----------------|-----------------|
| 糖尿病初诊组 | 47 | 0 | 52.9 \pm 18.4 | 3.3 \pm 2.1 | 3.9 \pm 1.6 |
| 糖尿病肾病组 | 68 | 13 | 63.2 \pm 26.1 * | 7.3 \pm 3.4 * | 6.5 \pm 2.0 * |
| 健康组 | 21 | 0 | 45.1 \pm 23.4 | 2.4 \pm 1.0 | 3.1 \pm 1.2 |

与糖尿病初诊组比较, * $P < 0.01$, $P < 0.05$

2.2 糖尿病肾病组根据 AECA 表达情况,分为 2 组:阳性组和阴性组,阳性组血浆 P-选择素水平显

著高于阴性组 ($P < 0.05$),血清 IL-6 和 TNF- 也显著高于阴性组 ($P < 0.05$),结果见表 2。

表 2 AECA 阳性组与阴性组 P-selectin、IL-6 和 TNF- 水平比较($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | P-selectin | IL-6 | TNF- |
|---------------|----|-----------------|---------------|---------------|
| TNF- AECA 阳性组 | 13 | 85.4 \pm 12.3 | 9.2 \pm 3.7 | 8.0 \pm 2.4 |
| AECA 阴性组 | 55 | 59.4 \pm 23.4 | 5.4 \pm 3.3 | 5.4 \pm 2.2 |

两组比较 $P < 0.05$

3 讨论

关于糖尿病肾病的发病机制研究,目前主要集中在内皮功能障碍与其关联方面,认为是多种致病机制联合作用导致内皮功能障碍,可能是糖尿病肾病发生发展过程中的重要环节^[2]。

AECA 所对应的抗原是位于血管内皮细胞表面的异质性抗原,在肾小管周围毛细血管、肾小球毛细血管均有表达^[3],AECA 可提高内皮细胞表达细胞间黏附因子和血管黏附因子;分泌炎症因子,对内皮细胞的活化、促进白细胞的黏附及在免疫性小血管炎的发生中有重要作用并参与炎症反应和促进血栓形成^[4]。随着糖尿病肾病病程的发展,AECA 的检出率逐渐增加^[1]。

P-选择素是黏附分子家族成员,位于血小板的颗粒和血管内皮细胞的 Weibel-palade 小体内。它的配体表达于所有中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等表面。静止状态下,血小板或内皮细胞表面不表达 P-选择素,一旦被高糖、肿瘤坏死因子等激活后,颗粒和 Weibel-palade 小体膜迅速与细胞膜融合而使 P-选择素在血小板和内皮细胞表面表达,介导活化的血小板、内皮细胞与单核、中性粒细胞的黏附,启动一系列炎症反应^[5]。

IL-6、TNF- 主要由单核-巨噬细胞分泌,在血管内皮细胞及肾脏的多种细胞也可产生,是具有多种功能的细胞因子,参与多种生理和免疫过程,影响胰岛素信号转导,参与细胞凋亡,刺激系膜细胞产生氧自由基,从而使过氧化脂质代谢产物增多,造成细胞内膜损伤^[6]。

在我们的研究中,健康组及糖尿病初诊组均未检出 AECA,而仅在 DN 组检出 13 例,阳性率为 19.1%。表明 AECA 是一种自身抗体,在糖尿病初发阶段,由于内皮细胞结构与功能尚未受损或抗原结构保持完整,未能刺激机体产生相应的自身抗体。而在糖尿病初诊组,炎性细胞因子水平升高,与健康组比较有显著性差异,表明由于糖尿病患者存在高糖、血流动力学障碍等均可损伤肾脏固有细胞,活化血小板颗粒,细胞损伤后释放前炎症介质,导致白细胞滤出到损伤部位并活化,局部增殖释放更多的炎症趋化因子。随着病程的发展,包括肾小球血流动力学改变、生化代谢紊乱、血液流变学变化、氧化应激、细胞因子与遗传易感性等多因素的相互作用,使得内皮功能障碍,表现为 AECA 表达增多,炎性细胞因子水平也显著增高, DN 组细胞因子水平显著高于糖尿病初诊组。是由于血管内皮细胞表面的异质

性抗原的暴露和激活,机体表达 AECA,通过它的介导作用,促进了内皮细胞功能障碍,出现炎症介质大量释放;在表达 AECA 的 DN 组,炎性细胞因子水平也显著高于未表达 AECA 组水平,原因可能是由于 AECA 介导的免疫损伤,加重内皮细胞的破坏。

基于上述分析,我们认为炎症及其他影响因素导致内皮细胞破坏,机体表达 AECA,在 AECA 介导的免疫损伤作用下,机体组织分泌大量的炎性因子,加重内皮细胞功能障碍,最终导致 DN 的发生。炎性细胞因子与 AECA 的相互作用是 DN 发生发展的一个因素。

作者简介:黄加忠(1965-),副教授,长期从事微生物学免疫学检验教学及科研工作。

参考文献:

- [1]王小晋,黄加忠,徐晓文. 糖尿病肾病患者不同病程中抗内皮细胞抗体的表达研究[J]. 中国实验诊断学,2007,11(1):74.
- [2]吕以培,王乃尊. 内皮功能障碍与糖尿病肾病关系[J]. 医学综述,2005,11(10):927.
- [3]董 晖,李会强. 抗内皮细胞抗体与血管炎[J]. 天津医科大学学报,2005,11(2):334.
- [4]Bordron,Anne, Dueyme et al. The Binding of Some Human Antiendothelial Cell Antibodies Induces Endothelial Cell Apoptosis [J]. Journal of Clinical Investigation,1998,5(10):2029.
- [5]范 瑛,汪年松. P-选择素在糖尿病肾病发病中作用的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(10):902.
- [6]吴小燕,查冬青. 炎症与糖尿病肾病发生发展的关系[J]. 国际泌尿系统杂志,2006,29(5):714.

(收稿日期:2007-04-23)

文章编号:1007-4287(2008)03-0363-04

以 LP(a) 为指标进行的糖尿病慢性并发症的预防

王彦君,陈 曦,迟宝荣*

(吉林大学第一医院 消化内科,吉林 长春 130021)

摘要:目的 探讨通过对 2 型糖尿病患者的干预处理,确定其对血浆中脂蛋白 [LP(a)] 浓度是否有影响,并确定监测 LP(a) 对 2 型糖尿病慢性并发症能否起到预防作用。方法 选择我院 2003 年 7 月至 2006 年 10 月间门诊及入院的 2 型糖尿病患者 130 例作为研究对象,门诊体格检查中选出 120 名健康者作为正常对照组,清晨采静脉血,测血糖、糖化血红蛋白 (HbA1C)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、C-肽水平、载脂蛋白 AI (ApoAI)、载脂蛋白 B (ApoB)、脂蛋白 (a) [LP(a)]。干预组给予降脂药及钙拮抗剂治疗,间隔 3 个月复查上述相关指标,并随访两组患者心、脑血管疾病的发生情况。结果 干预处理前,2 型糖尿病总组中 LDL-C、TG、TC、GHbA1C、空腹 C-肽、血糖、LP(a) 水平高于正常对照组,两者比较有显著差异性, ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。干预处理 9 个月后,干预组中 LP(a)、LDL-C、ApoB 下降程度与非干预组中相应指标比较有显著差异性 ($P < 0.05$)。结论 干预治疗对 2 型糖尿病患者中高 LP(a) 水平有效,干预治疗,可能降低 2 型糖尿病心、脑血管疾病发生的危险性,监测 LP(a) 对 2 型糖尿病慢性并发症能起到预防作用。

关键词:糖尿病,2 型;脂蛋白 (a);干预治疗;慢性并发症

中图分类号:R587.1

文献标识码:A

LP(a) as a Index of prevention of Chronic Complication of 2-Type Diabetes Mellitus WANG Yairjun, CHI Baorong, CHEN Xi. (The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: Objective To investigate the effect to concentration of lipoprotein (LP) (a) through intervention in patients with 2-type diabetes mellitus, and to definite if monitoring LP(a) could paly a preventative effect to 2-type diabetes mellitus 'chronic complication. Methods 1 Totally 130 out-patients and in-patients with 2-type diabetes mellitus in our hospital from July 2003 to October 2006 were selected as research object, and 120 healthy persons which came from out-patient clinic medical examination were selected as normal control group. Venous blood of all subjects were taken in the morning, and blood glucose, glycosylated hemoglobin, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, high density lipoprotein, urea nitrogen, C- peptide, apolipoprotein AI, apolipoprotein B and LP(a) were determined. Lipocaic drugs and calcium antagonist were given to intervention group. Correlated indexes which above-mentioned were rechecked interval three months, and patents of the two groups were follow-up visit in order to comprehend the devel-

* 通讯作者