

• 临床检验研究论著 •

妊娠糖尿病患者 Th17/Treg 细胞相关因子的检测及临床意义

宋 静¹, 刘 宁², 彭素芳¹

(1. 北京市丰台区大红门社区卫生服务中心, 北京 100075; 2. 北京市大兴区人民医院, 北京 102600)

摘要:目的 检测妊娠糖尿病(GDM)患者外周血 Th17/Treg 细胞相关因子的表达水平,探讨 Th17/Treg 在 GDM 炎症机制中的作用。方法 选取 GDM 患者(GDM 组)45 例,妊娠糖耐量正常者(非 GDM 组)40 例,健康对照者(NGT 组)50 例,采用 ELISA 法分别检测 Th17 细胞相关因子 IL-17、IL-6、IL-1 β 及 Treg 细胞相关因子 TGF- β 、IL-10 的表达水平,并分析上述细胞因子与 GDM 患者空腹血糖(FBG)、餐后血糖(PBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C 反应蛋白(CRP)的相关性。结果 与 NGT 组比较,非 GDM 组、GDM 组 IL-17、IL-6、IL-1 β 水平明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 GDM 组较非 GDM 组上升更明显($P < 0.05$); GDM 组 TGF- β 、IL-10 水平明显低于 NGT 组和非 GDM 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而后两组间无明显差异($P > 0.05$);相关性分析显示,CRP 与 IL-17、IL-1 β 均呈正相关,与 TGF- β 呈负相关。结论 GDM 患者中存在 Th17 细胞相关因子的高表达和 Treg 细胞相关因子的表达下调,提示 Th17/Treg 可能以炎症与抗炎症失衡的方式参与 GDM 的炎症发病机制。

关键词:糖尿病,妊娠; Th17 细胞; T 淋巴细胞,调节性; 炎症因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)17-2069-02

Detection and significance of cytokines of Th17 and Treg cells in gestational diabetes mellitus patients

Song Jing¹, Liu Ning², Peng Sufang¹

(1. Dahongmen Community Health Service Center, Beijing 100075, China;

2. People's Hospital of Daxing District, Beijing 102600, China)

Abstract:Objective To detect the expression levels of cytokines associated with Th17 and Treg cells in patients with gestational diabetes mellitus(GDM) and to explore the function of these cells in the inflammation pathological mechanism of GDM. **Methods** 45 cases of women with GDM(GDM group), 40 healthy gestational women(no-GDM group) and 50 healthy women(NGT group) were enrolled and divided into 3 groups according to ADA diagnostic standard. Plasma levels of IL-17, IL-6 and IL-1 β associated with Th17 cells, and the levels of TGF- β and IL-10 associated with Treg cells were detected by ELISA. Correlation of all these cytokines and fasting blood glucose(FBG), postprandial plasma glucose(PBG), glycated hemoglobin A1c(HbA1c), C-reactive protein(CRP) were analyzed by Pearson linear correlation. **Results** Compared with NGT group, levels of IL-17, IL-6 and IL-1 β in no-GDM and GDM group were significantly higher($P < 0.05$), while they were higher in GDM group than in no-GDM group. Expression levels of TGF- β and IL-10 were significantly lower in GDM group than both of NGT group and no-GDM group, but with no obvious difference between the two groups after($P > 0.05$). Correlation analysis showed that CRP was positively correlated with IL-17 and IL-1 β , but negatively correlated with TGF- β . **Conclusion** The higher expression of Th17 cytokines and the lower expression of Treg cytokines could indicate that Th17/Treg might be involved in the pathogenesis of GDM by inflammation and anti-inflammatory imbalances mechanism.

Key words: diabetes, gestational; Th17 cell; T-lymphocytes, regulatory; inflammation cytokines

妊娠糖尿病(GDM)在妊娠妇女中的发病率为 0.15%~15%,并呈现上升趋势^[1]。研究已证实慢性炎症反应与 2 型糖尿病的发生密切相关,其也参与 GDM 的发病^[2]。Th17 细胞具有很强的促炎症作用,而 Treg 细胞的免疫抑制作用在对抗炎症保护机体的自身耐受性中发挥着重要作用,本研究就 Th17 细胞相关因子 IL-17、IL-6、IL-1 β 和 Treg 细胞的相关因子 TGF- β 、IL-10 的表达水平进行检测,并将其与 GDM 临床实验室指标进行相关性分析,探讨 Th17/Treg 细胞在 GDM 炎症机制中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院门诊 2009 年 1 月至 2011 年 2 月孕妇及女性健康志愿者。对研究对象行葡萄糖筛查实验(GDT),血糖超过 140 mg/L 者行口服糖耐量实验(OGTT)。最终筛选出 GDM 组孕妇 45 例,平均年龄(27 $\pm$ 5.7)岁,妊娠糖耐量正常组(非 GDM 组)40 例,平均年龄(26 $\pm$ 5.5)岁,健康对照组(NGT 组)50 例,平均年龄(25 $\pm$ 6.4)岁,所有对象均排除慢性感染、多囊卵巢综合征、近期外伤史等。各组间年龄、例数、家族史、孕周、体质指数等差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法 收集研究对象空腹静脉血,免疫比浊法检测 C 反应蛋白(CRP)。糖化血红蛋白(HbA1c)检测采用挪威 Nyco-Card Reader II 全定量金标检测仪配套试剂,严格按说明书操作。将剩余标本留取血浆保存于-70℃冰箱,采用 ELISA 法检测 IL-6、IL-17、IL-1 β 、TGF- β 、IL-10 水平。IELISA Kit 购于 eBioscience 公司(美国)。酶法检测空腹血糖(FBG),餐后血糖(PBG)均采用荷兰威图全自动生化分析仪检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS14.0 统计软件分析,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两个独立样本比较用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,相关性分析均采用 Pearson 直线相关分析,以 $P < 0.05$ 为相关性有统计学意义。

2 结果

2.1 NGT 组、非 GDM 组、GDM 组 Th17 细胞相关因子 IL-17、IL-6、IL-1 β 表达水平比较,见表 1。与 NGT 组比较,非 GDM 组、GDM 组 IL-17、IL-6、IL-1 β 水平明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 GDM 组较非 GDM 组上升更明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 NGT 组、非 GDM 组、GDM 组 Treg 细胞相关因子 TGF- β 、IL-10 表达水平比较见表 2。GDM 组 TGF- β 、IL-10 表达水

平明显低于 NGT 组和非 GDM 组,差异有统计学意义($P<0.05$),而后两组间无明显差异($P>0.05$)。

表 1 NGT 组、非 GDM 组、GDM 组 Th17 细胞相关因子表达水平比较 (pg/mL)

组别	<i>n</i>	IL-17	IL-6	IL-1β
NGT 组	50	15.13±9.13	5.64±2.11	98.46±39.78
非 GDM 组	40	43.33±21.31*	23.47±7.45*	153.43±38.02*
GDM 组	45	117.33±23.14*#	37.53±9.71*#	201.49±58.41*#

*: $P<0.05$,与 NGT 组比较;#: $P<0.05$,与非 GDM 组比较。

表 2 NGT 组、非 GDM 组、GDM 组 Treg 细胞相关因子表达水平比较 (pg/mL)

组别	TGF-β	IL-10
NGT 组	59.57±23.98	39.38±13.29
非 GDM 组	204.60±67.07	204.61±75.7
GDM 组	132.76±69.42*	159.47±47.98*

*: $P<0.05$,与 NGT 组比较。

2.3 Th17/Treg 细胞相关因子与 GDM 临床实验指标 CRP、FBG、PBG、HbA1c 相关性分析,见表 3。

表 3 Th17/Treg 细胞相关因子与 GDM 临床实验指标相关性分析

指标	CRP		FBG		PBG		HbA1c	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
IL-17	0.417	0.001	0.968	0.135	0.833	0.281	0.869	0.288
IL-1β	0.324	0.029	0.955	0.471	0.956	0.311	0.887	0.287
IL-6	0.990	1.693	0.974	0.103	0.861	0.623	0.985	0.199
TGF-β	-0.339	0.005	0.961	0.208	0.991	0.552	0.952	0.331
IL-10	0.862	0.998	0.881	0.293	0.990	0.223	0.934	0.394

3 讨 论

GDM 是围生期妇女常见的妊娠并发症之一,其发病机制有多重因素,近年来炎症机制越来越引起人们关注,Pradhan 等^[3]的研究表明急性反应期 CRP 和 IL-6 可作为 2 型糖尿病的预测因子。Megia 等^[4]的研究发现甘露糖结合凝集素(MBL)基因的多态性与 GDM 表型密切相关,而已知 MBL 缺陷可导致慢性炎症的发生。CRP 是近年来研究较多的与代谢性疾病相关的炎症因子,Oiu 等^[5]发现妊娠早期的 CRP 水平与 GDM 发生呈正相关。因此,深入研究 GDM 发病的炎症机制对 GDM 的预防和治疗有积极意义。

Th17、Treg 细胞是近年来发现的 2 种新的淋巴细胞亚群, Th17 细胞主要通过分泌细胞因子介导炎症反应,而 TGF-β 则促进 Treg 细胞的产生,抑制炎症,维持免疫自稳。在对肿瘤炎症机制的研究中均发现存在炎症与抗炎症的 Th17/Treg 失衡^[6-7]。新近的研究发现, Th17 细胞及其分泌的 IL-17 与胰岛细胞炎症性破坏有关,从而参与糖尿病发生机制^[8]。Th17 细胞的分化受许多细胞因子的调控。IL-1β 调节 Th17 细胞早期的分化,并且可协同 IL-6、IL-23 调节 Th17 分化和细胞因子的产生^[9]。Treg 细胞主要以抑制性细胞因子 TGF-β、IL-10 发挥作用, Treg 的诱导分化与 Th17 细胞存在相互排斥的关系。TGF-β 是 Treg 分化发育的重要细胞因子,在 Th17 细胞的分化中也发挥重要作用。低浓度的 TGF-β 和 IL-6 协同作用促进 Th17 细胞分化,而高浓度的 TGF-β 能够上调 Foxp3 的表达,促进 Treg 的分化。细胞因子调节的 ROR-γt/Foxp3 平衡决定了初始 T 细胞受抗原刺激后向 Th17 或 Treg 方向分化^[10],在促炎症细胞因子高表达的环境中, TGF-β 诱导的 Foxp3 水平下降明显而 ROR-γt 的表达水平升高,从而促进 Th17 细胞分

化^[11]。因此,可通过研究 Th17/Treg 平衡的调节机制,控制 Treg、Th17 分化的细胞因子微环境,进而调节体内 Th17/Treg 平衡以调节机体免疫炎症状态,最终实现控制炎症、防治疾病进展的目的。

本研究结果显示,在孕周、体质量指数等没有差异的情况下,非 GDM 组、GDM 组 IL-17、IL-6、IL-1β 水平明显上升,且 GDM 组较非 GDM 组上升更明显,提示孕妇机体处于炎症状态,且随着糖耐量的异常改变,其炎症更为明显,进一步证实了炎症机制在 GDM 发病中的作用。对 Treg 细胞相关因子表达水平的检测显示, GDM 组 TGF-β、IL-10 表达水平明显低于 NGT 组和非 GDM 组,而后两组间无明显差异,提示孕妇机体内环境中 Treg 的表达受到抑制。为进一步探讨 Th17/Treg 失衡与 GDM 的关系,本研究分析了 Th17/Treg 细胞与 GDM 患者临床实验指标的相关性,结果显示 CRP 与 IL-17、IL-1β 均呈正相关,与 TGF-β 呈负相关。进一步提示了 GDM 作为新发糖尿病, Th17 细胞发挥炎症作用,而 Treg 细胞表达受抑,其对抗炎症的作用下调,因此有可能 Th17/Treg 以炎症与抗炎症失衡的机制参与 GDM 发病。但由于妊娠糖尿病患者的机体内环境细胞因子分泌表达十分复杂,对 Th17/Treg 细胞在妊娠糖尿病发生以及发展中的作用机制,还需开展细胞水平和转录水平的精细研究。

参考文献

[1] 祝群,戈敏娟,马向华.妊娠糖尿病的发病机理和治疗研究进展[J].国外医学妇幼保健分册,2005,16(3):153-158.

[2] Wolf M,Sauk J,Shah A,et al. Inflammation and glucose intolerance;a prospective study of gestational diabetes mellitus[J]. Diabetes Care,2004,27(1):21-27.

[3] Pradhan AD,Manson JE,Rifai N,et al. C-reactive protein,interleukin6,and risk of developing type 2 diabetes mellitus[J]. JAMA,2001,286(3):327-334.

[4] Megia A,Gallart L,Fernandez RJM,et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with gestational diabetes mellitus[J]. J Clin Endocrinol Metab,2004,89(10):5081-5087.

[5] Oiu C,Sorensen TK,Luthy DA. A prospective study of maternal serum C-reactive protein (CRP) concentrations and risk of gestational diabetes mellitus[J]. Paediatr Perinat Epidemiol,2004,18(5):377-384.

[6] Kryczek I,Wei S,Zou L,et al. Cutting edge:Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment[J]. J Immunol,2007,178(11):6730-6733.

[7] Sfianos KS,Bruno TC,Maris CH,et al. Phenotypic analysis of prostate-infiltrating lymphocytes reveals Th17 and Treg skewing[J]. Clin Cancer Res,2008,14(11):3254-3261.

[8] Honkanen J,Nieminen JK,Gao R,et al. IL-17 Immunity in Human Type 1 Diabetes[J]. J Immunol,2010,185(3):1959-1967.

[9] Acosta-Rodriguez EV,Napolitani G,Lanzavecchia A,et al. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells[J]. Nat Immunol,2007,8(9):942-949.

[10] Zhou L,Lopes JE,Chong MM,et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing ROR-gamma function[J]. Nature,2008,453(7192):236-240.

[11] Bettelli E,Carrier Y,Gao W,et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory cells[J]. Nature,2006,441(7090):235-238.