

## 2 型糖尿病患者单核/巨噬细胞功能研究

邵秋园, 陈六生, 葛才保, 黄中伟  
(溧水县人民医院检验科, 江苏南京 211200)

**摘要:**目的 研究 2 型糖尿病(T2DM)患者单核/巨噬细胞分泌功能。方法 分析 T2DM 患者及健康者在葡萄糖耐量试验中白细胞介素(IL)-1、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)-α 及胰岛素(Ins)的动态变化。结果 T2DM 患者 IL-1、IL-6、TNF-α、Ins 分泌异常,空腹值偏高,服糖后分泌下降( $P < 0.05$ )。结论 单核/巨噬细胞与胰腺 β 细胞分泌功能障碍与 T2DM 发病机制密切相关。

**关键词:**糖尿病, 2 型; 葡萄糖耐量试验; 单核巨噬细胞系统; 白细胞介素; 肿瘤坏死因子 α; 胰岛素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.18.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)18-2196-02

### Analysis of monocyte/macrophage function in type 2 diabetes mellitus

Tai Qiuyuan, Chen Liusheng, Ge Caibao, Huang Zhongwei

(Clinical Laboratory, Lishui Hospital, Nanjing, Jiangsu 211200, China)

**Abstract: Objective** To study the secretion function of monocytes/macrophages in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Interleukin(IL)-1, IL-6, tumor necrosis factor(TNF)-α, insulin(Ins) levels in patients with T2DM and healthy subjects were detected during glucose tolerance test. **Results** Abnormality of secretion of IL-1, IL-6, TNF-α and Ins could be demonstrated in patients with T2DM, with high level in fasting blood sample and decreasing after taking glucose( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Secretion dysfunction of monocytes/macrophages and pancreatic β-cell might be with the pathogenesis of T2DM.

**Key words:** diabetes mellitus, type 2; glucose tolerance test; mononuclear phagocyte system; interleukin; tumor necrosis factor-alpha; insulin

2 型糖尿病(T2DM)与多种细胞结构和功能异常相关。胰岛素抵抗(IR)是 T2DM 的重要标志,也是代谢紊乱和心血管疾病危险因素之一。胰腺 β 细胞功能障碍则与 T2DM 发生、发展密切相关<sup>[1]</sup>。单核/巨噬细胞可分泌白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)等多种细胞因子,具有抗感染、抗肿瘤和免疫调节等重要功能。T2DM 患者空腹血糖增高,与低强度炎症密切相关。TNF-α 则是具有多种功能的细胞因子,与 IR 密切相关<sup>[2]</sup>。动态观察细胞因子浓度变化规律,更能了解细胞分泌功能的变化。本研究通过观察葡萄糖耐量试验过程中 IL-1、IL-6、TNF-α、胰岛素(Ins)等浓度变化,以了解单核/巨噬细胞和胰腺 β 细胞分泌功能的关联性,结果报告如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 初诊 T2DM 患者 36 例(T2DM 组),男 19 例、女 17 例,平均年龄 57.2 岁,均符合世界卫生组织 T2DM 诊断标准,均排除心、脑、血管疾病及其他内分泌疾病、肿瘤等。健康者 17 例(对照组),男 7 例、女 10 例,平均年龄 48.6 岁。

**1.2 仪器与试剂** 日本日立公司 7600 全自动生化分析仪及配套 CENTRONIC 试剂,用于葡萄糖(GLU)、总胆固醇

(TCH)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL)检测。美国雅培公司 i2000 化学发光分析仪及配套试剂,用于 Ins 检测。美国伯乐酶标仪及深圳晶美酶联免疫分析试剂,用于 IL-1、IL-6、TNF-α 检测。

**1.3 方法** 根据患者病历资料计算体质量指数(BMI)。所有受试对象口服葡萄糖(剂量为 1 g/kg),分别在空腹及服糖后 30、60、120、180 min 采集静脉血,进行 GLU、Ins、IL-1、IL-6、TNF-α 检测,空腹静脉血标本用于血脂检测。参考范围:空腹 GLU 3.90~6.10 mmol/L,空腹 Ins 2.0~11.0 mU/L。

**1.4 统计学处理** 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,组内比较采用配对  $t$  检验,组间比较采用独立样本  $t$  检验,显著性检验水准为  $\alpha = 0.05$ 。

### 2 结果

**2.1 各研究组一般资料**见表 1,组间 TCH 比较差异无统计学差异( $P > 0.05$ ),TG、HDL、LDL、BMI 比较差异有统计学差异( $P < 0.05$ )。

**2.2 各研究组葡萄糖耐量试验中各指标检测结果**见表 2,其中 T2DM 组 Ins、IL-1、IL-6、TNF-α 最高值与对照组最高值比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 各研究组一般资料比较

组别	n	性别(男/女, n/n)	年龄(岁)	TCH(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL(mmol/L)	LDL(mmol/L)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )
对照组	17	7/10	48.6±11.2	5.23±1.38	1.45±0.76	1.35±0.54	2.89±0.75	23.68±2.56
T2DM 组	36	19/17	57.2±9.1	5.42±1.46	2.16±1.15	1.01±0.41	3.48±0.96	25.62±2.95

表 2 各研究组葡萄糖耐量试验中各指标检测结果<sup>△</sup>

组别	指标	空腹	30 min	60 min	120 min	180 min
对照组(n=17)	GLU	5.51±0.54	8.40±1.32	6.60±1.57	5.43±1.02	5.11±0.89
	Ins	5.00±2.27	44.65±31.26 <sup>#</sup>	32.69±19.85 <sup>#</sup>	13.98±8.24 <sup>#</sup>	4.68±2.16
	IL-1	4.34±2.15	4.36±2.13	4.44±1.81	4.20±1.69	4.02±1.72
	IL-6	2.16±0.91	2.24±0.96	2.44±0.84	2.35±0.77	2.36±0.82
	TNF-α	18.42±11.86	22.75±12.39	23.81±12.53	24.26±12.18	22.22±11.48

续表 2 各研究组葡萄糖耐量试验中各指标检测结果<sup>△</sup>

组别	指标	空腹	30 min	60 min	120 min	180 min
T2DM 组(n=36)	GLU	7.25±1.16	13.13±2.45	16.24±4.25	15.20±5.45	11.01±4.29
	Ins	9.11±5.53*	20.34±14.52#	29.82±17.75#	30.77±19.20#	23.01±15.24#
	IL-1	5.90±2.69*	5.12±2.31	4.52±1.45#	4.42±1.62#	5.21±2.72
	IL-6	3.18±1.25*	2.48±1.12	2.79±1.20#	2.76±1.32	3.01±1.34
	TNF-α	29.28±15.85*	24.12±9.85	21.63±8.52	23.60±11.28#	27.67±16.20

△:各指标单位分别为 GLU(mmol/L)、Ins(mU/L)、IL-1(ng/L)、IL-6(ng/L)、TNF-α(ng/L);\*:与同时点对照组检测结果比较, P<0.05;#:与同组空腹检测结果比较, P<0.05。

### 3 讨 论

本研究结果显示,健康者受葡萄糖刺激后,快速分泌 Ins, 30 min 达到高峰,而后开始下降,180 min 时基本恢复空腹水平。T2DM 患者空腹 Ins 水平偏高,服糖后则分泌不足,上升缓慢,120 min 时达到高峰,180 min 时尚未恢复至空腹水平。Go 等<sup>[3]</sup>的研究结果显示,T2DM 患者空腹 Ins 水平高于健康者,120 min 时达到峰值,但健康者峰值出现在 60 min,也说明 T2DM 患者存在 β 细胞分泌功能障碍,与本研究结果基本一致。本研究显示 T2DM 患者空腹 IL-1、IL-6、TNF-α 水平高于健康者,而服糖后水平下降(P<0.05),提示 T2DM 患者也存在单核-巨噬细胞分泌功能障碍。

Tura 等<sup>[4]</sup>对胰腺 β 细胞分泌功能的研究显示,健康者在葡萄糖耐量试验中,胰岛 β 细胞反应敏感,分泌快速,短时间内血浆 Ins 水平达到高峰,1 h 后快速下降,而糖耐量异常患者,Ins 分泌、释放缓慢,达到峰值时间延长,血浆浓度下降也缓慢,且 C 肽和前胰岛素分泌也异常。本文结果与此基本一致,均说明 T2DM 患者存在胰腺 β 细胞功能缺陷,并与 T2DM 发病机制密切相关。

T2DM 患者体内存在多种细胞功能障碍,包括脂肪细胞、血管内皮细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等,造成瘦素、脂联素、抵抗素、肿瘤坏死因子、白介素等多种激素和细胞因子的分泌异常。葛才保等<sup>[5-6]</sup>认为造成细胞功能障碍的原因主要为细胞外因素。血浆细胞外三磷酸腺苷(eATP)测定表明,血浆 eATP 不足可影响细胞膜转运功能,进而导致细胞内缺氧逆境、能量代谢障碍、细胞功能障碍,并导致 IR 的发生。Ouchi 等<sup>[7]</sup>研究证实脂肪细胞分泌功能障碍可引起慢性低强度炎症,导致全身代谢紊乱及功能障碍。Jing 等<sup>[8]</sup>研究表明,T2DM 患者组织细胞普遍存在高血糖、炎性反应、缺氧、缺血等多逆境因素,导致内质网逆境,影响蛋白质的合成及空间折叠,进而影响细胞功能状态。本研究结果进一步明确 T2DM 患者也存在单核-巨噬细胞分泌功能障碍,机体多细胞功能障碍与 T2DM 密切相关。

IL-1、IL-6、TNF-α 在 T2DM 发病机制研究中,一般作为炎症指标评价全身炎症和机体免疫功能状态。研究发现 IL-1α 和 IL-1β 均与炎症、自身免疫性疾病及 T2DM 发展进程都密切相关<sup>[9]</sup>。Tuttolomondo 等<sup>[10]</sup>发现糖尿病患者血浆 IL-6 显著升高,提示 IL-6 与 T2DM 密切相关。脂肪组织也能分泌 IL-1、IL-6、TNF-α。脂肪细胞可维持脂肪储存,参与能量代谢,产生多种脂肪因子,通过 IL-6、TNF-α 引起或调节炎症<sup>[11]</sup>。本文 T2DM 患者 IL-1、IL-6、TNF-α 都高于健康者,与 T2DM 全身低强度炎症结论一致。IL-1、IL-6、TNF-α 作为细胞因子,可反映分泌细胞的功能状态。Dinarello 等<sup>[12]</sup>的体外细胞培养和临床研究均证实 IL-1β 与细胞功能变化密切相关。IL-1β 介导 β 细胞的炎症过程,减低 IL-1β 活性可以恢复 β 细胞的数量,促进 Ins 的释放。Kolb 和 Eizirik<sup>[13]</sup>分析了脂联素、IL-1 等在葡萄糖耐量试验中的响应时间,发现 T2DM 发病机制涉及胰岛细胞、肝、骨骼肌、脂肪组织、内脏、下丘脑和多种免疫细胞的功能障碍。Lorenzo 等<sup>[14]</sup>证实以葡萄糖耐量试验诊断 β 细胞功

能障碍在 T2DM 研究中具有重要作用。本文观察了葡萄糖耐量试验中 T2DM 患者 IL-1、IL-6、TNF-α、Ins 的动态变化,同时评估了单核-巨噬细胞和胰腺 β 细胞功能状态,结果具有提示意义。

T2DM 患者体内存在单核-巨噬细胞功能障碍,但原因不明。Donath 和 Shoelson<sup>[15]</sup>研究发现,T2DM 患者免疫系统的变化使胰岛细胞、循环白细胞等细胞激活,造成特定细胞因子和趋化因子水平的改变。Hung 等<sup>[16]</sup>对血浆蛋白生长阻止剂 Gas6 的检测结果表明,T2DM 患者 Gas6 浓度降低,其水平与空腹血糖、TNF-α、IL-6、血管细胞黏附分子(VCAM)-1 呈负相关,提示血浆 Gas6 与血管内皮功能有一定相关性。IL-6 作为骨骼肌细胞信号分子,可选择性调节骨骼肌细胞<sup>[17]</sup>。Kaneto 等<sup>[18]</sup>发现 T2DM 患者胰腺 β 细胞、骨骼肌细胞、单核巨噬细胞等存在细胞内缺氧逆境,逆境信号诱导细胞因子分泌和代偿。Dasu 等<sup>[19]</sup>发现活化血液单核细胞通过增加 IL-6 表达而抵抗缺氧逆境。Tabet 等<sup>[20]</sup>认为高血糖可诱导巨噬细胞缺氧逆境,导致细胞功能受损。Bauer 等<sup>[21]</sup>研究证实,白细胞介素 1 受体相关激酶-3(IRAK3)是 IRAK/核转录因子介导的慢性炎症的关键抑制剂,高水平超氧化物歧化酶 2 与低水平 IRAK3 是线粒体缺氧逆境的标记。Hulsmans 等<sup>[22]</sup>提出系统性抵抗在 T2DM 发病机制中具有重要作用。总之,单核-巨噬细胞与胰腺 β 细胞功能障碍在 T2DM 发病机制中具有重要作用。

### 参考文献

- [1] DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009[J]. Diabetologia, 2010, 53(7):1270-1287.
- [2] 陈瓚坤,梁兴伦. 2 型糖尿病患者空腹、餐后血清 TNF-α、IL-6 水平的研究[J]. 苏州大学学报:医学版, 2009, 29(6):1146-1148.
- [3] Go MJ, Min H, Lee JY, et al. Association of an anti-inflammatory cytokine gene IL4 polymorphism with the risk of type 2 diabetes mellitus in Korean populations[J]. Genomics Inform, 2011, 9(3): 114-120.
- [4] Tura A, Pacini G, Kautzky-Willer A, et al. Basal and dynamic proinsulin-insulin relationship to assess β-cell function during OGTT in metabolic disorders[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 285(1):155-162.
- [5] 葛才保. 以细胞膜转运理论分析 2 型糖尿病发病机理[J]. 实用糖尿病杂志, 2011, 7(4):11-13.
- [6] 葛才保,陈六生,张力. 细胞外三磷酸腺苷在细胞膜物质转运中的作用机制与 2 型糖尿病和肿瘤的病因研究[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(1):75-76.
- [7] Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease[J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(2):85-97.
- [8] Jing GJ, JJ Wang, Zhang SX. ER stress and apoptosis: a new mechanism for retinal cell death[J]. Exp Diabetes Res, 2012, 69(1):1-11.
- [9] Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways(下转第 2199 页)

同时还可激活无活性的 MMP-2 前体。合成的 MMP-2 多于降解细胞外基质消耗的 MMP-2, 导致其水平增高, 基质降解失衡, 最终导致血管平滑肌细胞增生而分泌大量细胞外基质, 细胞增生和细胞外基质沉积与由 MMP-2 引起基质降解失衡共同作用导致斑块形成<sup>[5]</sup>。MMP-2 也参与血管再生、炎症等病理过程, 与动脉粥样硬化关系密切<sup>[6]</sup>。Kai 等<sup>[7]</sup>研究发现, ACS 患者在发病时 MMP-2 含量明显升高, 发病几天后达到峰值, 然后缓慢下降, 可见 MMP-2 与动脉粥样斑块形成有关。AMI 患者恢复期 MMP-2 浓度较急性期明显降低, 提示 MMP-2 可反映 AMI 危险程度, 可能是由于 AMI 导致的微循环损伤较 UA 更严重, 合成 MMP-2 更多, 引发全身炎症反应更强烈。

Hcy 作为炎症反应标志物, 也是心血管事件的独立预测因子<sup>[8]</sup>。高同型半胱氨酸血症可损伤血管内皮, 促进血管平滑肌增生, 且 Hcy 可增加血小板黏附性, 促进心肌缺血的发生和发展<sup>[9]</sup>。研究表明 Hcy 可损伤内皮细胞, 使其修复延迟, 激活炎症因子, 同时通过氧化应激作用促进动脉粥样硬化的发生和发展<sup>[10]</sup>。本研究结果显示, ACS 患者 Hcy 水平高于健康者, 且 AMI 患者水平高于 UA 患者, 说明 Hcy 与 ACS 病情严重程度存在一定相关性, 与类似研究结果一致<sup>[11]</sup>。Hcy 能加强低密度脂蛋白的自身氧化修饰, 而氧化的低密度脂蛋白能影响 NO 合成和凝血酶调节蛋白活性, 从而导致内皮功能进一步受损。氧化的低密度脂蛋白被巨噬细胞吞噬, 使泡沫细胞增多, 脂肪核变大, 最终导致粥样斑块的形成, 更增加了斑块易破裂性<sup>[12]</sup>。AMI 患者急性期 Hcy 水平高于恢复期, 说明 Hcy 与 AMI 炎症反应有一定相关性, 可用于预后评估, 可能是由于 ACS 患者蛋氨酸代谢增加, Hcy 合成增多, 刺激单核细胞释放白细胞介素-6, 介导粥样斑块内的炎症反应, 而治疗后炎症反应减轻, 蛋氨酸代谢减少, Hcy 水平下降。

以上研究显示, MMP-2 虽然对 ACS 诊断不具有特异性, 但其血清浓度可反映患者病情进展程度, 在 ACS 诊断、病情监测、预后评估及调整治疗方案等方面具有重要意义。Hcy 作为心脑血管疾病的独立危险因素, 不仅促进血管内皮功能损伤, 而且在 ACS 患者早期动脉硬化形成方面发挥重要作用, 有可能是预测 ACS 发生的有效指标。监测 ACS 高发人群 Hcy 水平, 及时采取预防性干预治疗, 对降低心血管疾病发病率, 提高

一级预防效果具有重要意义。

参考文献

[1] Layd-Janes D, Adains RJ, Bmun TM, et al. Heart disease and stroke statistics-2010 update a report from the American HR association[J]. *Circulation*, 2010, 19(2): 213-215.

[2] 刘颖, 李永杰, 高旭光. 急性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸水平及相关因素分析[J]. *中国全科医学*, 2006, 9(19): 1611-1613.

[3] 江守洪, 张明哲, 刘传木, 等. 血清同型半胱氨酸水平与冠脉病变的关系[J]. *山东医药*, 2011, 51(5): 39-40.

[4] 唐其东, 吴平生, 侯玉清, 等. 血清基质金属蛋白酶-2 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂-2 水平变化与急性冠脉综合征的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(5): 391-394.

[5] 梁晓萍, 戴勇, 石丹, 等. 血清基质金属蛋白酶-9 与冠心病相关性的临床研究[J]. *中国心血管杂志*, 2002, 7(2): 94-95.

[6] 李秀昌, 胡燕燕, 张运, 等. 血清同型半胱氨酸水平与冠心病严重程度相关性的探讨[J]. *山东医科大学学报*, 2001, 39(4): 301-301.

[7] Kai H, Jccda H, Yasnkawa H, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1998, 32(2): 368-372.

[8] Ridker PM. Creative protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus[J]. *J AM Coll Cardiol*, 2007, 49(21): 2129-2138.

[9] 李林. Hcy 与 Hs-CRP 测定在 CHD 诊断中的价值[J]. *放射免疫学杂志*, 2009, 22(6): 6411.

[10] Atlen P, Burke V, Fonseaa FK, et al. Increased serum homocysteine and sudden death resulting from coronary atherosclerosis with fibronasplaques[J]. *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 2002, 22(11): 1936-1941.

[11] 赵然尊, 石蓓. 基质金属蛋白酶与冠心病研究新进展[J]. *心血管病学进展*, 2005, 26(5): 501-504.

[12] 李春香, 郭宏昌. 同型半胱氨酸在急性冠脉综合征患者中检测价值[J]. *陕西医学杂志*, 2011, 40(3): 320-327.

(收稿日期: 2012-02-22)

(上接第 2197 页)

in inflammation and human diseases[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2010, 6(4): 232-241.

[10] Tuttolomondo A, La Placa S, Di Raimondo D, et al. Adiponectin, resistin and IL-6 plasma levels in subjects with diabetic foot and possible correlations with clinical variables and cardiovascular comorbidity[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2010, 50(9): 2-7.

[11] Sigal LH. Basic science for the clinician 52: adipokines[J]. *J Clin Rheumatol*, 2011, 17(3): 157-161.

[12] Dinarello CA, Donath MY, Mandrup-Poulsen T. Role of IL-1 $\beta$  in type 2 diabetes[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2010, 17(4): 314-321.

[13] Kolb H, Eizirik DL. Resistance to type 2 diabetes mellitus: a matter of hormesis[J]. *Nature Rev Endocrinol*, 2012, 8(3): 183-192.

[14] Lorenzo C, Wagenknecht LE, D'Agostino RB Jr, et al. Insulin resistance,  $\beta$ -Cell dysfunction, and conversion to type 2 diabetes in a multiethnic population[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(1): 67-72.

[15] Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(2): 98-107.

[16] Hung YJ, Lee CH, Chu NF, et al. Plasma protein growth arrest-specific 6 levels are associated with altered glucose tolerance, inflammation and endothelial dysfunction[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(8): 1840-1844.

[17] Wolsk E, Mygind H, Grøndahl TS, et al. IL-6 selectively stimulates fat metabolism in human skeletal muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 299(5): 832-840.

[18] Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, et al. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis[J/OL]. *Mediators Inflamm*, 2010-02-16[2012-07-21], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20182627>.

[19] Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, et al. High glucose induces toll-like receptor expression in human monocytes: mechanism of activation[J]. *Diabetes*, 2008, 57(12): 3090-3098.

[20] Tabet F, Lambert G, Cuesta Torres LF, et al. Lipid-free apolipoprotein A-I and discoidal reconstituted high-density lipoproteins differentially inhibit glucose-induced oxidative stress in human macrophages[J]. *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 2011, 31(5): 1192-1200.

[21] Bauer S, Neumeier M, Wanner J, et al. Systemic resistance is increased in type 2 diabetic patients treated with loop diuretics[J]. *J Diabetes Complications*, 2011, 25(6): 377-381.

[22] Hulsmans M, Geeraert B, De Keyzer D, et al. Interleukin-1 receptor-associated kinase-3 is a key inhibitor of inflammation in obesity and metabolic syndrome[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): 30411-30414.

(收稿日期: 2012-02-12)