

2 型糖尿病患者神经-内分泌-免疫网络有关指标的紊乱及其临床意义

穆塔里甫·吾布利哈斯木¹, 木和塔尔·阿西木², 热娜·艾则孜³, 阿布力克木·吐尔地¹, 胡尔西旦阿吉¹, 哈木拉提·吾甫尔³

1. 新疆医科大学第一附属医院, 乌鲁木齐 830054
2. 和田地区维吾尔医医院心脑血管内科, 新疆和田 848000
3. 新疆医科大学维吾尔医药系, 乌鲁木齐 830011

摘要 为分析 2 型糖尿病患者神经-内分泌-免疫网络紊乱情况及其临床意义, 选择 174 例经临床诊断明确的 2 型糖尿病患者, 用放射免疫法和流式细胞技术检测外周血中 CD4⁺、CD8⁺、NK 细胞数量、CD4⁺/CD8⁺ 比值及 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、ACTH、CORT、DA、NE 水平, 选择 30 例健康志愿者为正常对照组进行相同检测。结果显示, 与正常对照相比, 2 型糖尿病患者 CD4⁺、CD8⁺ 及 NK 细胞数量下降 ($P < 0.01$), CD8⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 比值升高 ($P < 0.01$), IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 均有升高 ($P < 0.01$), ACTH 及 CORT 下降 ($P < 0.01$), DA 和 NE 升高 ($P < 0.01$)。研究表明, 2 型糖尿病患者神经-内分泌-免疫网络的紊乱中, 其体液免疫增强、细胞免疫减弱, 交感神经兴奋及应激性内分泌功能减弱为主要表现。对于 2 型糖尿病的治疗, 除采用现有手段, 应加强机体对胰岛素抵抗调控平衡态的修复与重建, 重视神经-内分泌-免疫系统标志的检测及相应的新治疗研究。

关键词 2 型糖尿病; 神经-内分泌-免疫网络

中图分类号 R587.1, R392

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)08-0046-05

Disorder of Neuro-Endocrine-Immune Network in Patients with Type-2 Diabetes Mellitus and Its Clinical Significance

OBULKASIM Mutallip¹, HAXIM Muhtar², AZIZ Rena³, TURDI Ablikim¹, Hurxidahaji¹, UPUR Halmurat³

1. The First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumuqi 830054, China
2. Hotan Hospital of Traditional Uighur Medicine, Hotan 848000, Xinjiang Uighur Autonomous Region, China
3. Faculty of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumuqi 830011, China

Abstract To investigate the disorder of neuro-endocrine-immune network in patients with type-2 diabetes mellitus and its clinical significance, 174 patients with clinical proven type-2 diabetes mellitus were enrolled in the study. Radio-immune technology and flow cytometer technology were used to detect the blood levels of CD4⁺, CD8⁺, NK and CD4⁺/CD8⁺, and cytokines including IL-1 β , IL-6, TNF- α , ACTH, CORT and DA as well as NE. Analyses were performed on the basis of gender with 33 normal people served as the control group. A significant decrease of CD4⁺, CD8⁺, NK lymphocytes count, and a significant increase of CD4⁺/CD8⁺ were found in type-2 diabetes mellitus patients compared with the control group ($P < 0.01$). Low IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels were found in type-2 diabetes mellitus groups ($P < 0.01$). The serum ACTH, CORT levels were decreased in type-2 diabetes mellitus patients ($P < 0.01$); both serum DA and NE levels were increased in type-2 diabetes mellitus groups compared with the normal group ($P < 0.01$). The disturbance of neuro-endocrine-immune network in patients with type-2 diabetes mellitus is characterized by the humoral immunity activated and cellular immunity depressed; sympathetic nerve activated; the stress related endocrine depressed. It is important to strengthen and recover the

收稿日期: 2001-01-21

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目 (30525023)

作者简介: 穆塔里甫·吾布利哈斯木, 主治医师, 研究方向为糖尿病视网膜病变的维西医结合, 电子邮箱: mutallipo@yahoo.com.cn; 哈木拉提·吾甫尔 (通信作者, 中国科协所属全国学会个人会员登记号: S253002398M), 教授, 研究方向为维吾尔医药学现代化, 电子邮箱: Halmurat@263.net

balance of neuro-endocrine-immune network, for the treatment of type-2 diabetes mellitus, which is an important issue for the future research on diabetes.

Keywords type-2 diabetes mellitus; neuro-endocrine-immune network

神经-内分泌-免疫网络的紊乱与很多疾病发生、发展有密切关系。Rosmond^[1]提出,应激导致下丘脑-垂体-肾上腺轴(Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis, HPA)功能紊乱有可能是研究糖尿病发病机制及治疗的一条探索途径。下丘脑-垂体-肾上腺轴是机体重要的神经内分泌免疫调控系统。由于该网络调节机制的复杂性、多样性,国外研究和报道结论多有不一致。国内此方面的研究和报道很少。本研究对174例2-型糖尿病患者血清及血浆中部分神经内分泌和免疫学指标进行检测,分析2型糖尿病患者神经-内分泌-免疫(Neuro-Endocrine-Immune, NEI)网络的紊乱及其与临床特点的关系。

1 材料与方法

1.1 取材

收集新疆医科大学第一附属医院内分泌科2007年9月至2008年2月诊治的、按照美国糖尿病学会(American Diabetes Association, ADA)2005年公布的糖尿病诊断及分型标准^[2]诊断明确的2型糖尿病住院患者174例的血标本,其中男性患者102例,女性患者72例,年龄在27~83岁,平均年龄 59.42 ± 11.60 岁。以33例正常志愿者作对照,其中男18例,女15例,年龄在35~75岁,平均年龄 55.0 ± 10.0 岁,均为新疆医科大学第一附属医院体格检查正常者。

1.2 仪器和方法

1.2.1 外周血CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK细胞百分比测定

北京时间8:00为采血时间。采肘静脉血2mL, EDTA抗凝。采血后3h内送往新疆医科大学第一附属医院检验科,用流式细胞仪进行检测。各试管中加入抗凝全血100 μ L,并分别加入FITC-CD3/PE-CD4, FITC-CD3/PE-CD8和同型对照各20 μ L双色标记单抗试剂,混匀后室温避光15min,加红细胞溶解液1mL,室温避光10min后,1000r/min,离心5min,弃上清。PBS缓冲液洗一次,弃上清。加入0.5mL PBS重悬细胞,上机检测分析。各指标的测定,按试剂盒说明书操作。

1.2.2 血清ACTH、CORT、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量测定

北京时间8:00为采血时间。采肘静脉血5mL,立即将2mL血放入有抑肽酶和EDTA·2Na的抗凝管中,以3500r/min离心10min,取上清-70℃保存,备测促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质醇(CORT)。将另外3mL血以3500r/min离心10min,取上清-70℃保存,备测白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)。将所有标本送往新疆医科大学第一附属医院核医学科,采用放射免疫分析法分别进行检测。各指标的测定按试剂盒说明书操作。

1.2.3 血浆DA、NE含量测定

1) 色谱条件。流动相配比硫酸水:甲醇,流量1mL/min,

进样环体积20 μ L,工作电压+121V,柱温30℃,监测波长360nm。

2) 血清样品的制备和检测。北京时间8:00为采血时间。采肘静脉血2mL,分离血浆,-70℃冻存,集中检测。血浆中加入等体积的0.1mol/L(含内标物200 μ g/mL)高氯酸,在冰浴中振荡混合1.5min,再加上高氯酸1滴(原液),在冰浴中继续混合1.5min。18000r/min离心20min,取上清液置入Eppendorf管中,置于液氮罐保存待测。测定时取管底超滤液,每次近样10 μ L,检测20min,进行去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)检测。

1.3 统计方法

应用SPSS 13.0统计软件进行数据处理,计量资料用均数和标准差描述,两组样本比较用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 2-型糖尿病患者与对照组神经内分泌免疫指标比较

由表1可见,与正常对照组相比,CD4⁺及CD8⁺在2型糖尿病患者下降明显($P<0.01$);CD4⁺/CD8⁺在2型糖尿病患者升高明显($P<0.01$)。NK细胞在2型糖尿病患者较正常对照组下降明显($P<0.01$)。2型糖尿病患者IL-1 β 、IL-6及TNF- α 较正常对照组升高明显($P<0.01$)。ACTH及CORT在2型糖尿病患者较正常对照组下降明显($P<0.01$)。NE及DA在2型糖尿病患者较正常对照组升高明显($P<0.01$)。

2.2 2-型糖尿病患者性别与神经内分泌免疫指标的关系

表2显示,在2型糖尿病患者中男性血清IL-6含量明显高于女性($P<0.05$),其余指标(外周血中CD4⁺、CD8⁺、NK细胞数量、CD4⁺/CD8⁺比值及IL-1 β 、TNF- α 、ACTH、CORT、DA和NE水平)在男女之间均无明显差异($P>0.05$)。

3 讨论

2型糖尿病患者长期高血糖作为一种慢性刺激,作用于下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA),使其活性增加,皮质醇分泌增多。皮质醇可促进外周组织蛋白质分解,氨基酸产生增加,并可激活脂肪分解酶,使脂肪分解增加,血中甘油和游离脂肪酸增多。这样就有更多的氨基酸、游离脂肪酸和甘油作为糖原异生的原料,最终使血糖升高^[3]。另一方面,皮质醇可抑制外周组织,如肌肉组织、脂肪组织、淋巴组织、结缔组织等对葡萄糖的摄取和利用,进一步提高血糖。糖尿病人体内长期高水平的皮质醇是造成胰岛素分泌相对不足、胰高血糖素分泌过多,从而使血糖进一步提高的原因之一^[4-5]。

近年来有许多有关糖尿病患者皮质醇分泌异常的报道,但报道结果并不一致。一些研究发现2型糖尿病患者皮质醇

胞参与体液免疫。T 淋巴细胞是人体重要的免疫细胞群^[16],外周血成熟 T 细胞主要有 CD4⁺和 CD8⁺两个亚群。人体正常的免疫有赖于 T 淋巴细胞的调节,尤其是 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的相互制约和平衡。CD4⁺ T 细胞促进 B 细胞、T 细胞和其他免疫细胞的免疫分化与增殖,协调细胞间的相互作用;CD8⁺细胞能抑制各种免疫细胞的功能。本研究中,CD4⁺和 CD8⁺亚群值明显低于对照组,提示 2 型糖尿病患者自身免疫调节功能减弱,即具有抑制免疫细胞毒性效应的 T 细胞减少、自身抗体生成减少,导致辅助抗体产生的功能减弱。CD4⁺/CD8⁺比值是临床上常用作了解机体细胞免疫功能的敏感指标。本研究中,CD4⁺/CD8⁺比值明显升高,提示 2 型糖尿病患者存在明显的细胞免疫功能异常,这可能与 CD8⁺ T 细胞减少关系较大,故 CD8⁺ T 细胞的相对减少在此细胞免疫缺陷中居主导地位。这种由 T 淋巴细胞介导的免疫异常可造成对胰岛 β 细胞的损伤,可能在 2 型糖尿病的发生发展中起着重要作用。提示 2 型糖尿病患者存在 T 淋巴细胞亚群的变化,存在细胞免疫功能缺陷,这可能是 2 型糖尿病患者易合并感染的重要原因。

TNF- α 具有多种生物学活性,可促进炎症反应。早期的糖尿病动物模型试验表明,浸润胰岛的炎性细胞可表达 TNF- α ,且胰岛内 TNF- α 表达越高,胰岛炎的出现也越提前且越严重^[17],说明胰岛局部 TNF- α 表达增多与胰岛损伤有密切关系。Philip 等^[18]研究表明,TNF- α 含量与胰岛素敏感性呈负相关,参与胰岛素抵抗的形成。本研究中,2 型糖尿病组血清 TNF- α 水平均显著高于正常对照组,表明 TNF- α 在糖尿病中参与胰岛素抵抗的形成,并可能持续对胰岛 β 细胞产生损害,在糖尿病的发生、发展中均起一定的作用。

IL-1 β 是高浓度葡萄糖诱导的 2 型糖尿病胰岛 β 细胞凋亡的重要中介因子。Maedler 等^[19]将人胰岛长时间暴露于高浓度葡萄糖中,发现高浓度葡萄糖不仅诱导 IL-1 β 的释放,也诱导 β 细胞合成 IL-1 β 蛋白,血糖控制不良的 2 型糖尿病患者的胰岛 β 细胞可表达 IL-1 β ,而非糖尿病对照组则无 IL-1 β 的表达。本研究中,2 型糖尿病组血清 IL-1 β 水平均显著高于正常对照组,外周血中 IL-1 β 水平增高可能是促使胰腺 β 细胞凋亡、功能受损,并且胰岛素分泌缺陷的标志物。

IL-6 主要由单核细胞和巨噬细胞产生,是炎症反应的主要调节介质,参与局部的炎症,具有刺激细胞生长、促进细胞分化和加速急性期蛋白合成的作用^[20]。作为急性炎症因子的 IL-6 还可作用于内皮细胞,通过合成乳附分子和化学诱导分子,提高白细胞杀伤吞噬能力。同时,IL-6 可促进 TNF- α 细胞过度激活和扩增,加速细胞凋亡,促进胰岛 β 细胞的破坏^[21]。本研究中,2 型糖尿病组血清 IL-6 水平均显著高于正常对照组,外周血中 IL-6 水平增高可能是调节免疫细胞功能,造成胰岛病理损伤的原因。

单胺类神经递质是一类调节中枢神经系统(兴奋与抑制)的重要物质,单胺类神经递质及其代谢产物直接影响机体的行为和情绪等生理活动^[22],这些物质在血清中或脑组织中的含量可反映神经系统功能的变化。DA 是 NE 和肾上腺素

(E)生物合成的前体,也是哺乳动物第三种内源性单胺类。NE 是交感神经末梢的分泌物,当精神紧张或刺激使交感神经处在兴奋状态时,肾上腺素及 NE 分泌增多,使肝糖元分解输出增多,阻碍葡萄糖进入肌肉及脂肪组织细胞,使血糖升高^[23]。本研究结果显示,2 型糖尿病患者外周血中的多巴胺和去甲肾上腺素水平明显升高。提示此类神经递质的异常可能伴随 2 型糖尿病的整个过程,或者与 2 型糖尿病患者长期的抑郁和焦虑有关。

总之,2 型糖尿病患者在环境污染及精神压力等内外因素的刺激下,交感神经被兴奋而分泌 DA、NE 含量增加,继而引起下丘脑-垂体-肾上腺素轴的反应性分泌 ACTH 和 CORT,导致应激性能量调节,即促进外周组织蛋白质分解,氨基酸产生增加,并可激活脂肪分解酶,使脂肪分解增加,血中甘油和游离脂肪酸增多,使血糖持续升高,机体的免疫进入应激状态。因为环境污染及精神压力等长期、持续作用,使 DA、NE 含量居高不下,而应激作用 HPA 轴的功能改变是一个动态变化的过程,同时受到激素水平的负反馈调节,有从高反应到低反应的趋势,它取决于所受的应激的程度、时间等因素,长期、慢性的应激可能导致 HPA 轴的功能耗竭,表现在 ACTH 和 CORT 激素水平的下降,从而使 CD4⁺、CD8⁺及 NK 细胞数量下降等,细胞免疫被抑制,抵抗力下降。因为 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等细胞因子的分布广泛,体内含量高,故体内炎症反应不容易控制;胰腺的非感染性炎症反应引起胰岛素量和功能的异常,形成恶性循环,病情难以控制,不能使网络轻易恢复平衡态。

2 型糖尿病是一个系统性疾病,我们强调神经内分泌免疫网络调控的同时,并不否定内分泌激素改变的重要性,因为局部和整体是相互作用的。对于 2 型糖尿病治疗,除了现有的手段,应加强修复与重建机体对胰岛素抵抗调控的平衡态,包括神经-内分泌-免疫系统标志的检测,以及相应的新的治疗研究,这可能是今后研究的重要方向。

4 结论

2 型糖尿病患者神经-内分泌-免疫网络处于紊乱状态中,其主要表现在 2 型糖尿病患者体液免疫增强、细胞免疫减弱、交感神经兴奋、应激性内分泌功能减弱等方面。因此,在临床上对 2 型糖尿病患者的诊治中要充分考虑患者神经-内分泌-免疫网络紊乱状态,以此指导 2 型糖尿病患者病情、病程的监控和诊治。

参考文献 (References)

- [1] Rosmond R. Stress induced disturbances of the HPA axis: A pathway to type-2 diabetes[J]. *Med Sci Monit*, 2003, 9(2): 37-38.
- [2] IDF Clinical Guidelines Task Force. Global guidelines for type2 diabetes [S]. Brussels: International Diabetes Federation, 2005.
- [3] Roy M S, Roy A, Brown S. Increased urinary-free cortisol outputs in diabetic patients [J]. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 1998, 12

- (1): 24-27.
- [4] 杨坤, 徐焱成, 郭昆全. 2 型糖尿病患者降血糖治疗前后血皮质醇浓度的变化及其临床意义[J]. 临床内科杂志, 2006, 23(10): 672-674.
Yang Kun, Xu Yancheng, Guo Kunquan. *Journal of Clinical Internal Medicine*, 2006, 23(10): 672-674.
- [5] 李金生. 2 型糖尿病胰岛素抵抗与 β 细胞分泌功能关系探讨 [J]. 中原医刊, 2003, 30(2): 24-25.
Li Jinsheng. *Central Plains Medical Journal*, 2003, 30(2): 24-25.
- [6] Chan O, Inouye K, Riddell M C, *et al.* Diabetes and the hypothalamic pituitary-adrenal(HPA) axis[J]. *Minerva Endocrinol*, 2003, 28(2): 87-102.
- [7] 王晓辉, 田浩明. 2 型糖尿病患者血浆皮质醇、游离脂肪酸水平和胰岛素抵抗[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(3): 210-211.
Wang Xiaohui, Tian Haoming. *Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2004, 20(3): 210-211.
- [8] Oltmanns K M, Dödt B, Schultes B, *et al.* Cortisol correlates with metabolic disturbances in a population study of type 2 diabetic patients [J]. *Eur J Endocrinol*, 2006, 154(2): 325-331.
- [9] Ehrstrom S M, Kornfeld D, Thuresson J, *et al.* Signs of chronic stress in women with recurrent candida vulvovaginitis [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 193(4): 1376-1381.
- [10] Böhm A H, Nater U M, Franke S, *et al.* Basal and stimulated hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with functional gastrointestinal disorders and healthy controls [J]. *Psychosomatic Medicine*, 2005, 67(2): 288-294.
- [11] 章汝霜, 李启富, 欧杨, 等. 2 型糖尿病患者的下丘脑-垂体-肾上腺轴功能研究[J]. 重庆医科大学学报, 2007, 32 (8): 802-804.
Zhang Rushuang, Li Qifu, Ou Yang, *et al.* *Journal of Chongqing Medical University*, 2007, 32(8): 802-804.
- [12] Esquifino A I, Chacon F, Cano P, *et al.* Twenty four hour rhythms of mitogenic responses, lymphocyte subset populations and amino acid content in submaxillary lymph nodes of growing male rats subjected to calorie restriction[J]. *Immuno*, 2004, 156(7): 66-73.
- [13] 田志刚, 魏海明, 孙沛. NK 细胞免疫识别及其调节机制与免疫相关性疾病[J]. 中国科学技术大学学报, 2008, 38(8): 896-904.
Tian Zhigang, Wei Haiming, Sun Rui. *Journal of University of Science and Technology of China*, 2008, 38(8): 896-904.
- [14] Sawaki J, Tsutsui H, Hayashi N, *et al.* Type 1 cytokine/chemokine production by mouse NK cells following activation of their TLR/MyD88-mediated pathways[J]. *Int Immunol*, 2007, 19(3): 311-320.
- [15] Newman K C, Riley E M. Whatever turns you on: Accessory-cell-dependent activation of NK cells by pathogens [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(4): 279-291.
- [16] Wang D, Li Q, Yang Y. Relevance of peripheral T lymphocyte subsets, blood sugar control and course of disease in type-2 diabetes mellitus[J]. *Clinical Focus*, 2005, 25(11): 1292-1293.
- [17] Mueller C, Held W, Imboden M A, *et al.* Accelerated B-cell destruction in transferred autoimmune diabetes correlates with an increased expression of the genes coding for TNF- α and granzyme A in the intra-islet in[J]. *Diabetes*, 1995, 44(1): 112-117.
- [18] Philip A, Subramanian R, Chunling L, *et al.* Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6, expression in obesity and insulin resistance[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 280(5): 745-751.
- [19] Maedler K, Sergeev P, Ris F, *et al.* Glucose induced beta cell production of IL-1 beta contributes to glucose-toxicity in human pancreatic islets[J]. *Clin Invest*, 2002, 110: 851-860.
- [20] Huth C, Heid I M, Vollmert C, *et al.* IL-6 gene promoter polymorphisms and type-2 diabetes: Joint analysis of individual participant's data from 21 studies[J]. *Diabetes*, 2006, 55(11): 2915-2921.
- [21] Van der Meer M J M, Sweep C G J, Rijnkels C E M, *et al.* Acute stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by IL-1 β , TNF α and IL-6: A dose response study[J]. *Endocrinol Invest*, 1996, 19: 175-182.
- [22] Riddle E L, Fleckenstein A E, Hanson G R. Role of mono-amine transporters in mediating psycho-stimulant effects [J]. *AAPS J*, 2005, 7(4): 847-851.
- [23] Manschot S M, Brands A M, Van der Grand J, *et al.* Brain magnetic resonance imaging correlates of impaired cognition in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2006, 54(4): 1106-1113.

(责任编辑 李慧政)

·学术动态·



“第十五届全国图象图形学学术会议”征文

由中国图象图形学学会主办的“第十五届全国图象图形学学术会议”将于 2010 年 12 月 10-14 日在广州举行。

征文范围: 图像采集与编码、图像处理、图像分析和识别、图像理解和计算机视觉、视频与多媒体通信、计算机图形学与可视化、虚拟现实和增强现实、数字媒体技术和艺术、医学图像处理、信息安全、人机交互与用户界面、生物特征识别、图象和视频检索、视频监控技术、移动媒体计算、图像与图形处理的硬件实现技术。全文截稿日期为 2010 年 9 月 15 日。

会议网站: <http://ncig2010.gdut.edu.cn/>。

联系电话: 010-82614486; 电子信箱: w9215@126.com。