

初发1型糖尿病儿童辅助性Th1 细胞因子紊乱相关因素分析

吕玲¹ 刘佳悦¹ 马静³ 林书祥² 黄乐¹

(1. 天津市儿童医院内分泌科, 天津 300074; 2. 天津市儿童医院儿科研究
所遗传免疫研究室, 天津 300074; 3. 天津医科大学第二医院内分泌科, 天津 300211)

[摘要] 目的 检测初发1型糖尿病患儿IL-1 β 、IL-12、IL-18、TNF- α 等细胞因子水平,并分析其与感染、起病时间等临床指标相关性。**方法** 选择初发1型糖尿病患儿33例为病例组,依据外周血白细胞(WBC)水平将33例患儿分为WBC增高组和WBC正常组;另选取健康体检儿童27例为对照组。应用酶联免疫吸附法检测血清IL-1 β 、IL-12、IL-18、TNF- α 等细胞因子水平;同时检测病例组患儿血气pH值、血糖、血乳酸、果糖胺、外周血白细胞及中性粒细胞等各临床指标水平。**结果** 病例组细胞因子IL-12水平高于对照组($P<0.001$)。病例组IL-18水平与发病时间呈负相关($r=-0.413$, $P=0.015$);中性粒细胞与IL-1 β 水平呈正相关($r=0.413$, $P=0.023$);外周血WBC与IL-18水平亦呈正相关($r=0.352$, $P=0.038$)。WBC增高组细胞因子IL-1 β 、IL-12、IL-18水平高于WBC正常组(均 $P<0.05$)。**结论** 1型糖尿病患儿存在Th1细胞分泌细胞因子紊乱,感染可进一步提高细胞因子的分泌水平,可能推动了早期糖尿病起病过程。
[中国当代儿科杂志,2013,15(1):50-52]

[关键词] 1型糖尿病;辅助性Th1细胞因子;儿童

Factors associated with Th1 cytokine disorders in children with newly diagnosed type 1 diabetes

LV Ling, LIU Jia-Yue, MA Jing, LIN Shu-Xiang, HUANG Le. Department of Endocrinology, Tianjin Children's Hospital, Tianjing 300074, China (Lv L, Email: lvlingzhuren@163.com)

Abstract: Objective To measure levels of cytokines including IL-1 β , IL-12, IL-18 and TNF- α in children with newly diagnosed type 1 diabetes and to analyze their correlation with clinical indices such as infection and onset time. **Methods** A total of 33 children with newly diagnosed type 1 diabetes were assigned to the case group, and 27 healthy children to the control group. The case group was further divided into increased white blood cell (WBC) and normal WBC subgroups according to peripheral WBC level. The serum levels of cytokines including IL-1 β , IL-12, IL-18 and TNF- α were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Blood pH, blood sugar, blood lactate, fructosamine, peripheral leukocytes and neutrophils and some other clinical indices were also measured. **Results** The level of IL-12 in the case group was higher than in the control group ($P<0.001$). In the case group, the level of IL-18 was negatively correlated with onset time ($r=0.413$, $P=0.015$), the neutrophil count was positively correlated with IL-1 β level ($r=0.413$, $P=0.023$) and the WBC count was positively correlated with IL-18 level ($r=0.352$, $P=0.038$). IL-1 β , IL-12 and IL-18 levels in the increased WBC subgroup were higher than in the normal WBC subgroup ($P<0.05$ for all comparisons). **Conclusions** Cytokine secretion disorders of Th1 cells exist in children with type 1 diabetes. Infections may induce cytokine secretion and might contribute to the early onset of diabetes.
[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(1):50-52]

Key words: Type 1 diabetes; Th1 cytokine; Child

研究表明1型糖尿病是由T淋巴细胞介导的,由遗传、环境等多种因素共同参与的一种器官特异性自身免疫性疾病^[1]。T细胞活化和细胞因子在1型糖尿病发生和演变过程中起着关键作用,研究认为Th1细胞活化和细胞因子异常增加,改变了Th1/Th2细胞平衡,表现为以Th1细胞表型占优势,从而激活细胞毒性巨噬细胞、细胞毒性T细胞和自然杀伤细胞,导致胰岛 β 细胞破坏^[2]。1型糖尿病的发病前期存在胰岛炎,该病潜伏期长短不一,近年来的研究认为免疫紊乱、感染特别是肠道病毒感染是具有糖

[收稿日期]2012-06-06;[修回日期]2012-08-20
[作者简介]吕玲,女,硕士,主任医师。

尿病易感基因的个体表现为临床糖尿病过程的触发器。白细胞(WBC)是重要的免疫炎症反应因子之一,中性粒细胞是连接固有免疫和适应性免疫的桥梁。本研究将对初发 1 型糖尿病患儿 Th1 细胞因子 IL-1β、IL-12、IL-18、TNF-α 等水平进行检测,并分析其与感染、起病时间等临床指标相关性,探讨免疫紊乱在儿童 1 型糖尿病起病中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2008 年 1 月至 2009 年 12 月期间于天津市儿童医院内分泌病房收治的初发 1 型糖尿病患儿 33 例为病例组,其中男 18 例,女 15 例,男女之比为 1.2:1;年龄 1~14 岁,平均年龄 12±4 岁;病程 1 周至 4 个月。所有病例入院前均未接受过任何治疗,且符合 1999 年 WHO 关于 1 型糖尿病的诊断标准^[6]。27 例行健康体检的儿童为对照组,其中男 15 例,女 12 例,男女之比为 1.25:1,年龄 1~14 岁,平均年龄 11±4 岁。两组年龄及性别比差异无统计学意义。

1.2 方法

所有患儿于治疗前采集静脉血 2 mL,检测血气 pH 值、血糖、血乳酸、果糖胺、外周血 WBC 及中性粒细胞等临床指标;同时留取 2 mL 静脉血于 -70℃ 保存待测。对照组儿童于体检时留取 2 mL 静脉血,应用酶联免疫吸附法检测两组血清 IL-1β、IL-12、IL-18、TNF-α 细胞因子水平。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 13.0 软件对所有数据进行统计学分析。正态分布计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验;其中 IL-1β 为非正态分布资料,经对数转换后进行统计分析;IL-18 亦为非正态分布资料,经数据转换后仍不符合正态分布,采用秩和检验。发病时间与细胞因子水平相关性分析应用 Spearman 相关分析。细胞因子与各临床指标之间的相关性分析用 Pearson 或 Spearman 分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组辅助性 Th1 细胞因子水平比较

病例组细胞因子 IL-12 水平高于对照组 (*P* < 0.001),而 IL-1β、IL-18、TNF-α 水平在两组间差异无统计学意义。见表 1。

2.2 病例组起病时间与辅助性 Th1 细胞因子水平相关性分析

病例组患儿发病时间与 IL-18 水平呈负相关 (*r* = -0.413, *P* = 0.015),与 IL-1β、IL-12 和 TNF-α 无相关性(分别 *r* = -0.140、-0.059 和 -0.091,均 *P* > 0.05)。

表 1 病例组与对照组细胞因子水平比较 (ng/mL)					
组别	例数	IL-1β* ($\bar{x} \pm s$)	IL-12 ($\bar{x} \pm s$)	IL-18 [中位数(四分位间距)]	TNF-α ($\bar{x} \pm s$)
对照组	27	1.8±0.4	16±3	1.61(0.36,5.50)	26±6
病例组	33	1.9±0.6	23±8	0.71(0.18,6.39)	27±14
<i>t</i> /(<i>Z</i>)值		0.641	4.819	(-0.592)	1.227
<i>P</i> 值		0.524	<0.001	0.228	0.225

注:*为非正态分布数据,经对数转换后统计分析结果。

2.3 病例组相关临床指标与辅助性 Th1 细胞因子水平相关性分析

细胞因子 IL-1β、IL-12、IL-18、TNF-α 与血气 pH 值、血糖、血乳酸、果糖胺、外周血 WBC 及中性粒细胞等临床指标的相关性分析显示,外周血中性粒细胞与 IL-1β 水平呈正相关(*r* = 0.413, *P* = 0.023);外周血 WBC 与 IL-18 水平亦呈正相关(*r* = 0.352, *P* = 0.038);其他细胞因子与各临床指标间无相关性。

2.4 病例组不同 WBC 水平辅助性 Th1 细胞因子水平的影响

依据外周血 WBC 水平(正常范围:8~10×10⁹/L)将病例组患儿分为 WBC 增高组和 WBC 正常组,WBC 增高组细胞因子 IL-1β、IL-12、IL-18 水平均高于 WBC 正常组(均 *P* < 0.05)。见表 2。

表 2 WBC 增高组与 WBC 正常组细胞因子水平比较 (ng/mL)					
组别	例数	IL-1β ($\bar{x} \pm s$)	IL-12 ($\bar{x} \pm s$)	IL-18 [中位数(四分位间距)]	TNF-α ($\bar{x} \pm s$)
WBC 正常组	9	4.9±1.5	18±6	0.71(0.13,1.15)	26±11
WBC 增高组	24	8.1±6.1	24±8	1.24(0.71,7.64)	30±15
<i>t</i> /(<i>Z</i>)值		2.341	2.426	(-2.251)	0.882
<i>P</i> 值		0.027	0.026	0.029	0.225

3 讨论

既往研究证实 1 型糖尿病以 Th1 细胞表型占优势,其可激活细胞毒性巨噬细胞、细胞毒性 T 细胞和自然杀伤细胞,损伤胰岛 β 细胞引发胰岛炎症,致使胰岛素分泌减少或缺乏,最终引发糖尿病^[2]。

Th1 细胞分泌 IL-1、IL-12、IL-18、TNF- α 等细胞因子,主要介导细胞免疫应答,被认为是引起糖尿病的重要免疫介质。已证明 IL-12 是调节 Th1 细胞分化启动的关键细胞因子,亦是糖尿病发病的关键因子,其不仅能促进 Th1 细胞分化并分泌 IL-1、IL-18 和 TNF- α 等细胞因子,同时能阻止 Th2 细胞的发育及 IL-4、IL-10 的分泌^[3]。本研究显示初发 1 型糖尿病组细胞因子 IL-12 水平高于对照组,说明 IL-12 在糖尿病发病中起重要作用。

研究发现 1 型糖尿病的发病前期存在胰岛炎,当出现糖尿病症状时,80% 的胰岛 β 细胞已经被破坏^[1]。作为炎症过程的重要调节因子,细胞因子与胰岛 β 细胞凋亡密切相关^[4]。本研究显示初发病人细胞因子 IL-18 水平与发病时间呈负相关,推测 Th1 细胞分泌紊乱可能推动了早期糖尿病起病过程。

IL-18 是近年来发现的前炎症细胞因子,作为先天免疫系统的一种介质,其低水平可能抑制胰岛的炎症破坏,然而随着血糖升高,IL-18 水平与高血糖相互促进,形成恶性循环,促进糖尿病的发展。Altinova 等^[5]研究显示血清 IL-18 水平在 1 型糖尿病中高于正常对照组,并认为作为感染标志之一的 IL-18 水平反映了餐后血糖漂移的程度。

戴阳丽等^[6]对儿童 1 型糖尿病的 10 年回顾性调查显示,入院时伴感染 82 例,占 31.2%,其中以呼吸道感染为主,提示感染为儿童 1 型糖尿病临床症状出现的重要诱因之一,且 IL-10 水平在酮症酸中毒组明显升高。

Calder 等^[7]研究证实,感染诱发的高血糖以及由此导致的免疫细胞激活是由于免疫系统的细胞对糖利用增加的结果。本研究对细胞因子 IL-1 β 、IL-12、TNF- α 、IL-18 水平与血气 pH 值、血糖、血乳酸、果糖胺、外周血 WBC 及中性粒细胞等各临床指标相关性分析显示 IL-18 与外周血 WBC 水平呈正相

关,IL-1 β 与中性粒细胞水平呈正相关。

既往研究发现中性粒细胞是机体在感染早期阶段构筑抵御外来病原菌入侵的第一道防线,同时中性粒细胞亦可通过分泌一些趋化因子和细胞因子参与 Th1 型细胞的调节^[8]。本研究发现 WBC 增高组细胞因子 IL-1 β 、IL-12、IL-18 水平高于 WBC 正常组;证实感染可进一步增加细胞因子分泌水平,推测感染是诱导 Th1 细胞因子水平升高或加重 1 型糖尿病的进程从而加速胰岛 β 细胞凋亡的重要因素之一。

[参 考 文 献]

- [1] Knip M, Siljander H. Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes [J]. *Autoimmun Rev*, 2008, 7(7): 550-557.
- [2] Umeshappa CS, Huang H, Xie Y, Wei Y, Mulligan SJ, Deng Y, et al. CD4⁺ Th-APC with acquired peptide/MHC class I and II complexes stimulate type 1 helper CD4⁺ and central memory CD8⁺ T cell responses[J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 193-206.
- [3] Gallardo CD, Guzman MA. Immunopathology of the diabetes mellitus type 1 [J]. *Archivos de Alergia e Inmunologia Clinica*, 2008, (39)4: 151-160.
- [4] Settin A, Ismail A, El-Magd MA, El-Baz R, Kazamel A. Gene polymorphisms of TNF-308 (G/A), IL-10(-1082) (G/A), IL-6 (-174) (G/C) and IL-1Ra (VNTR) in Egyptian cases with type 1 diabetes mellitus[J]. *Autoimmunity*, 2009, 42(1) 50-55.
- [5] Altinova AE, Yetkin I, Akbay E, Bukan N, Arslan M. Serum IL-18 levels in patients with type 1 diabetes: relations to metabolic control and microvascular complications[J]. *Cytokine*, 2008, 42(2): 217-221.
- [6] 戴阳丽,傅君芬,梁黎,董关萍. 儿童 1 型糖尿病的 10 年回顾及白介素-10 在糖尿病酮症酸中毒中的临床意义[J]. *中国当代儿科杂志*, 2010, 12(11): 849-852.
- [7] Calder PC, Dimitriadis G, Newsholme P. Glucose metabolism in lymphoid and inflammatory cells and tissues[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2007, 10(4): 531-540.
- [8] Wan XX, Yue SB, Peng XX, Ping Z, Gang C. Neutrophils induce the maturation of immature dendritic cells: a regulatory role of neutrophils in adaptive immune responses[J]. *Immunol Invest*, 2007, 36(3): 337-350.

(本文编辑:万静)