



自身抗体和细胞因子与成人隐匿性自身免疫糖尿病亚型的关系

1型和2型糖尿病是糖尿病常见的两大类型。成人隐匿性自身免疫糖尿病(LADA)是从2型糖尿病患者中筛选出来的1型糖尿病[1]。LADA的发病机制与胰岛素依赖型糖尿病大致相同,所不同的是LADA患者的胰岛 β 细胞免疫损害过程进行缓慢。国外学者已有报道谷氨酸脱羧酶抗体(GADA)和胰岛细胞抗体(LCA)阳性或高滴度有助于识别LADA患者中的异质性[2],即LADA-1型和LADA-2型。本研究测定GADA和LCA这两种血清抗体的水平和细胞因子即白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α),并讨论其在LADA-1型和LADA-2型患者中的意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象

1.1.1 分组 选择500例2型糖尿病患者,符合1997年自身免疫糖尿病标准[1],起病年龄大于16岁,无并发酮症。试验分LADA组(再分为LADA-1和LADA-2组)、2型糖尿病组和正常对照组,具体分组如下。GADA假阳性或ICA假阳性的患者,结合病史、临床表现、辅助检查等给予排除。

LADA组:目前诊断LADA尚无统一标准。我们参考Lohmann[2]的GADA阳性和ICA阳性并符合上述糖尿病入选标准。其中LADA-1组:在500例2型糖尿病患者中选择48例(男23、女25)ICA阳性、GADA阴性者,体质量指数(BMI)(17.9 ± 5.3) kg/m^2 ,年龄(39.5 ± 8.7)岁(20~59);LADA-2组:在500例2型糖尿病患者选择55例(男26、女29)GADA阳性、ICA阴性;BMI:(21.3 ± 4.6) kg/m^2 ,年龄(50.5 ± 7.6)岁(25~65)。如有GADA阳性和ICA阳性同时存在的患者,青壮年(20~44岁)以ICA为主,归入LADA-1组;而中老年人(45~65岁)以GADA为主,归入LADA-2组。

2型糖尿病组:397例(男190、女207)2型糖尿病患者,年龄(52.7 ± 6.9)岁(28~70),GADA阴性、ICA阴性,BMI:(24.7 ± 4.3) kg/m^2 。

正常对照组:选择80例(男42、女38),年龄(35.0 ± 5.7)岁(25~45),无糖尿病家族史,空腹血糖和餐后2 h血糖正常,BMI:(18.9 ± 6.7) kg/m^2 。

1.1.2 合并症诊断标准 高血压:收缩压 ≥ 18.62 kPa或舒张压 ≥ 11.97 kPa,或血压未达上述标准但有高血压史和服降压药史者;高血脂:空腹血清甘油三酯 ≥ 1.7 mmol/L或总胆固醇 ≥ 6.0 mmol/L或低密度脂蛋白胆固醇 ≥ 3.12 mmol/L者。肥胖:计算BMI。糖尿病肾病:留取24 h尿,用放射免疫法测定尿蛋白浓度,并计算尿蛋白排泄率,药盒购自中国原子能科学院同位素研究所。

1.2 方法

对2001年3月~2003年5月在广西医科大学第一附属医院就诊并符合上述条件的500例2型糖尿病患者清晨采集血清,测定GADA、ICA、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、空腹和餐后C肽、IL-6和TNF- α ,并同时记录病史、测量血压、身高、体质量,计算BMI。

1.2.1 GADA、ICA测定 采用美国BLOMEARIC公司试剂盒,用酶联免疫法测定,按说明书操作加以改良。25℃温育60 min,并温柔水平摇匀,用酶标仪计数。每批测试均设置标准对照阴、阳性各2管。批内变

异系数4.8%，批间变异系数9.7%。结果以GADA>1.05为阳性，ICA>1.5为阳性。对80例正常人测定GADA<0.9为阴性，ICA<1.0为阴性。

1.2.2 血清C肽测定 采用北京原子能研究院试剂盒，放射免疫法测定。

1.2.3 HBA1c测定 采用高效液相法(美国Bio-Rad VARIANT糖化血红蛋白分析仪)，按试剂盒说明书进行操作(正常参考值4.2%~6.2%)。

1.2.4 IL-6、TNF- α 测定 采用美国BLOMEARIC公司试剂盒，用酶联免疫法测定。严格按说明书进行，批内变异系数6.8%，批间变异系数10.7%。

1.3 统计学处理

采用SPSS 9.0软件行方差分析，多个样本均数两两比较采用SNK法。方差不齐采用秩和检验分析。

2 结果

500例2型糖尿病中55例GADA阳性，即LADA-2型GADA占11%(55/500)；500例2型糖尿病中48例ICA阳性，即LADA-1型ICA占9.6%(48/500)；500例2型糖尿病中397例GADA阴性、ICA阴性，即GADA和ICA占0%。LADA-2和LADA-1患者GADA、ICA水平的临床生化指标、细胞因子、糖尿病并发症与正常对照组比较情况见表1。LADA-2型糖尿病患者GADA、ICA水平与IL-6和TNF- α 的相关系数为 $r=0.451$ ，LADA-1型糖尿病患者GADA、ICA水平与IL-6和TNF- α 的相关系数为 $r=0.407$ ($P<0.05$)，两者呈正相关。

表1 各组糖尿病患者的临床生化指标、细胞因子、糖尿病并发症比较

Tab.1 Comparison of clinical biochemical markers, cytokines, diabetic complications in patients of different groups

Item	LADA-2	LADA-1	T2DM	Control
<i>n</i>	55	48	397	80
HBA1c (%)	7.2~15.2	7.8~16.1	7.2~13.7	4.2~6.1
C peptide before meal (nmol/L)	0.28±0.14*	0.24±0.13*	0.89±0.13**	0.43±0.17
C peptide 2 h after meal (nmol/L)	0.65±0.34**	0.52±0.32**	1.52±0.37*	2.76±0.33
Hypertension (%)	57.8	9.1 [△]	58.9	0
High blood fat (%)	66.2	12.8 [△]	71.3	0
Insulin treatment (%)	33.3	78.6 [△]	9.8	0
Diabetic kidney disease (%)	72.7	8.9 [△]	68.9	0
IL(pg/ml)	110.3±0.34**	109.5±0.31**	105.6±0.29*	90.45±0.36
TNF- α (ng/L)	3.72±0.28**	3.65±0.26**	3.57±0.21*	1.78±0.26

T2DM: Type 2 diabetes mellitus. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.01$ vs LADA-2 or control group

3 讨论

LADA是一类特殊的糖尿病，其发病机制与1型糖尿病相似，是T细胞介导的自身免疫性疾病。LADA患者体内存在的GADA和ICA表明了该病的免疫特性[1]。LADA的早期临床表现既与2型糖尿病相似，又具有1型糖尿病的特点。我们的研究发现，GADA在2型糖尿病中的阳性率为11%，同时伴高血压、肥胖等，与2型糖尿病相似，为LADA-2型糖尿病。ICA在2型糖尿病中的阳性率为9.6%，同时伴有起病年龄较为年青、胰岛功能差、需要使用胰岛素治疗等临床症状，类似1型糖尿病，为LADA-1型糖尿病。这些抗体阳性实际就是LADA，与国内外学者的研究基本相符[1~3]。

LADA所有患者都具有异质性，这种异质性可通过抗体水平加以反应[2]。我们的研究结果表明：LADA-1型糖尿病具有经典1型糖尿病的特征，起病年龄比较年青、BMI较小、胰岛功能较差、依赖胰岛素治疗，并发高血压、高血脂、糖尿病肾病的发生率较低，比较容易发生酮症。LADA-2型糖尿病具有与2型糖尿病相似的临床和代谢特点，C肽水平较低，容易并发高血压、高血脂、糖尿病肾病等慢性并发症。LADA-1型糖尿病并发症与LADA-2型比较有显著性差异，与Lohmann看法一致[2]。LADA-2型糖尿病组与2型糖尿病组比较，前者的GADA阳性率较高，后者没有抗体阳性。我们还发现一些LADA糖尿病患者同时存在GADA、ICA两种抗体，在青壮年以ICA为主，在中老年以GADA为主，与文献报道一致[3]。

IL-6是体内许多细胞产生的一种具有多种生物活性的刺激因子，作为细胞因子的重要成员，参与机体的各种病理生理过程。糖化蛋白的终末产物(AGEs)诱发糖尿病患者的外周淋巴细胞分泌IL-6，同时TNF- α 与AGEs能协同刺激血管内皮细胞分泌IL-6[4]。我们的研究结果显示，在LADA-2型、LADA-1型糖尿病病人的IL-6和TNF- α 水平较高，分别与正常对照组、2型糖尿病组比较有显著性差异。其机制可能是：IL-6作为一种多功能因子，通过与肾小球系膜细胞上的IL-6受体结合，刺激肾小球系膜的增殖和细胞外基质产生糖尿病自身抗体，参与胰岛素抵抗。有文献报道TNF- α 促进系膜细胞合成前列腺素、白介素、血小板活化因子等炎症介质，通过超氧离子改变胰岛B细胞抗原化学结构，引起自身免疫反应而刺激糖尿病自身抗体的产生[5]。细胞因子对GADA、ICA有促进作用，正如我们的研究结果表示：IL-6和TNF- α 的分泌与GADA、ICA抗体水平升高有关，两者相关密切，呈正相关。

LADA是T细胞介导的自身免疫性疾病，Th细胞亚群在疾病的发生过程中起了一定的作用。其中致病性免疫过程是T细胞亚群Th1介导的，而Th2细胞亚群则是介导保护性免疫反应的。Th1型细胞因子(IL-2、IFN)通过直接促进细胞凋亡和/或上调选择性粘附分子的表达，以及Th1细胞因子可促进自身反应性T细胞在胰腺的浸润，二者均导致 β 细胞的破坏；Th1细胞介导的针对谷氨酸脱羧酶的自身免疫反应增强，并通过分子内和分子间传导的机制转导至其他 β 细胞。了解LADA的异质性及其亚型对于充分揭示糖尿病的病理过程和指导其临床治疗都有重要意义。研究具有不同抗体的LADA患者的病理改变有助于了解 β 细胞的免疫破坏进程，从而为LADA-1型糖尿病的预防和治疗提供有力的依据。两种LADA亚型的区分更详细地指导这部分患病人群的治疗。由于LADA-1型患者体内免疫破坏进展迅速，对这部分患者尽早采用胰岛素治疗，使空腹血糖和餐后血糖控制到正常水平，保护受自身免疫破坏的胰岛 β 细胞功能，防止糖尿病慢性并发症[6]。对LADA-2型糖尿病患者是否单用口服降糖剂或与胰岛素合用来纠正胰岛素不足或者是使用胰岛素增敏剂来处理、防治糖尿病还有待进一步的研究。

(责任编辑：黄开颜)

参考文献：

[1] 李霞, 周智广, 黄干, 等. 谷氨酸脱羧酶抗体水平对两种成人隐匿性自身免疫糖尿病亚型的识别[J]. 中华内科杂志, 2003, 42(1): 7-10.

Li X, Zhou ZG, Huang G, et al. Identification of the subtypes of latent autoimmune diabetes in adults by glutamic acid decarboxylase 65 antibody titers[J]. Chin J Intern

Med, 2003, 42(1): 7-10.

[2] Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, et al. Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct type of latent autoimmune diabetes in adults (LADA)[J]. Diabetologia, 2001, 44(8): 1005-10.

[3] 董维平, 张洪德, 胡远峰, 等. 谷氨酸脱羧酶抗体和胰岛细胞抗体联合检测对1型糖尿病早期诊断的意义[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1999, 15(5): 267-70.

Dong WP, Zhang HD, Hu YF, et al. Significance of combined determination of GADA and ICA in early diagnosis of type 1 diabetes mellitus[J]. Chin J Endocrinol Metab, 1999, 15(5): 267-70.

[4] 黄敬泽, 王健, 黄培基, 等. II型糖尿病患者血、尿白介素-6变化的意义[J]. 中国免疫学杂志, 2002, 18(10): 729-31.

Huang JZ, Wang J, Huang PJ, et al. The clinical significance of elevated plasma and urinary interleukin-6 level in type II diabetes mellitus[J]. Chin J Immunol, 2002, 18(10): 729-31.

[5] 刘颖慧, 李红. TNF- α 与糖尿病肾病[J]. 国外医学·内分泌学分册 (Foreign Med Sci • Endocrinol Sect), 2002, 22(4): 253-5.

[6] Dubuquoy L, Bourdon C, Peuchmaur M, et al. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) gamma: a new target for the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2000, 24(8-9): 719-24.

参考文献:

[1] 李霞, 周智广, 黄干, 等. 谷氨酸脱羧酶抗体水平对两种成人隐匿性自身免疫糖尿病亚型的识别[J]. 中华内科杂志, 2003, 42(1): 7-10.

Li X, Zhou ZG, Huang G, et al. Identification of the subtypes of latent autoimmune diabetes in adults by glutamic acid decarboxylase 65 antibody titers[J]. Chin J Intern Med, 2003, 42(1): 7-10.

[2] Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, et al. Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct type of latent autoimmune diabetes in adults (LADA)[J]. Diabetologia, 2001, 44(8): 1005-10.

[3] 董维平, 张洪德, 胡远峰, 等. 谷氨酸脱羧酶抗体和胰岛细胞抗体联合检测对1型糖尿病早期诊断的意义[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1999, 15(5): 267-70.

Dong WP, Zhang HD, Hu YF, et al. Significance of combined determination of GADA and ICA in early diagnosis of type 1 diabetes mellitus[J]. Chin J Endocrinol Metab, 1999, 15(5): 267-70.

[4] 黄敬泽, 王健, 黄培基, 等. II型糖尿病患者血、尿白介素-6变化的意义[J]. 中国免疫学杂志, 2002, 18(10): 729-31.

Huang JZ, Wang J, Huang PJ, et al. The clinical significance of elevated plasma and urinary interleukin-6 level in type II diabetes mellitus[J]. Chin J Immunol, 2002, 18(10): 729-31.

[5] 刘颖慧, 李红. TNF- α 与糖尿病肾病[J]. 国外医学·内分泌学分册 (Foreign Med Sci • Endocrinol Sect), 2002, 22(4): 253-5.

[6] Dubuquoy L, Bourdon C, Peuchmaur M, et al. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) gamma: a new target for the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Gastroenterol Clin Biol, 2000, 24(8-9): 719-24.

