

• 临床探讨 •

GLP-1 类药物利拉鲁肽对自身免疫性糖尿病患者血清炎症因子和抗炎因子水平影响研究

周碧芸, 叶丽婷

(广东省佛山市南海经济开发区人民医院检验科 528234)

摘要:目的 探讨 GLP-1 类药物利拉鲁肽对自身免疫性糖尿病患者血清炎症因子和抗炎因子水平影响。方法 LADA 患者 40 例随机分为利拉鲁肽组($n=20$)和胰岛素组($n=20$),并纳入性别和年龄相符的非糖尿病健康志愿者 20 例作为对照组。综合分析入组时和治疗后 1 个月时促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6)和抗炎因子(IL-10、TGF β 以及 IL-4)等指标的改变情况。结果 LADA 患者治疗前血清促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6)均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,利拉鲁肽组患者 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平下降最为明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。胰岛素组仅见 IL-6 水平下降差异具有统计学意义($P<0.05$)。LADA 患者治疗前血清抗炎因子(IL-10、TGF β 以及 IL-4)均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。利拉鲁肽组 IL-4 和 TGF β 水平上升最为明显,差异有统计学意义($P<0.05$),胰岛素组未见明显上升($P>0.05$)。利拉鲁肽与促炎因子 Δ TNF- α 、 Δ IL-1 β 和 Δ IL-6 呈明显负相关($P<0.05$),与抗炎因子 Δ IL-10 和 Δ TGF β 呈明显正相关($P<0.05$)。结论 利拉鲁肽可以有效调节 LADA 患者体内促炎-抗炎系统平衡的作用,改善体内慢性炎症因子损伤状态。

关键词:利拉鲁肽; 自身免疫性糖尿病; 促炎因子; 抗炎因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.16.052 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)16-2363-03

缓慢进展型自身免疫性糖尿病(latent autoimmune diabetes, LADA)是免疫介导 1 型糖尿病(T1DM)的一种亚型,其临床表现介于经典 1 型和 2 型糖尿病之间。LADA 早期可不依赖胰岛素治疗,但胰岛 β 细胞功能减退的速度是 2 型糖尿病的 3 倍^[1]。LADA 发病机制以 T 细胞介导的胰岛 β 细胞破坏为主,同时巨噬细胞、自然杀伤细胞以及各类促炎因子也参与到 β 细胞的破坏^[2]。欧洲 ACTION LADA 研究表明,LADA 患者系统性促炎因子浓度高于健康对照患者,同时抗炎因子低于健康对照组^[3]。这提示 LADA 患者体内处于慢性炎症因子反应损伤状态。体内促炎-抗炎系统失衡不但是 LADA 引起的病理生理结果,也会加重胰岛 β 细胞的破坏。胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1)是由 30 个氨基酸残基组成的肠道激素^[4]。生理情况下,回肠和结肠黏膜的 L 细胞在食物刺激下可大量分泌 GLP-1,激活胰岛 β 细胞 GLP-1 受体,促进胰岛素分泌,抑制胰高血糖素分泌,进而调控并维持血糖稳定^[5]。同时, GLP-1 受体也广泛分布于人体各个器官组织,包括血管平滑肌、巨噬细胞、单核细胞、中枢神经系统以及肾组织。正因为如此,部分研究还发现 GLP-1 具有一定的抗炎作用^[6]。利拉鲁肽是一种人 GLP-1 长效类似物,与天然的 GLP-1 具有 97% 以上的同源性,且不易被降解。部分实验研究发现利拉鲁肽具有一定的抗炎作用^[7]。目前,国内外关于利拉鲁肽对于 LADA 患者促炎-抗炎系统影响的研究报道尚少。因此,本研究通过纳入 40 例 LADA 患者,综合分析经利拉鲁肽治疗后血清促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6)和抗炎因子(IL-10、TGF- β 以及 IL-4)水平改变情况,现总结如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 6 月至 2015 年 6 月于该院住院治疗的 LADA 患者 40 例,入选标准:(1)年龄 20~80 岁;(2)入组时未服用降糖药物,或降糖治疗少于 1 月且停药 3 个月以上,确诊 LADA 后的前 6 个月不依赖胰岛素治疗;(3)糖尿病症状+任意时间血糖大于或等于 11.1 mmol/L,空腹血糖大于 7 mmol/L,或 OGTT 2 h 血糖大于 11.1 mmol/L,或糖化血红蛋白 7%~10%;(4)谷氨酸脱羧酶抗体(GADA)阳性;(5)空腹 C 肽(FCP)大于或等于 200 pmol/L 或就餐后 2 h C 肽大于或等于 400 pmol/L;(6)糖尿病病程小于 3 年。排除标准:合并糖

尿病急性并发症,出现脑血管意外、心肌梗死、急慢性胰腺炎等应激情况,肝肾功能不全、严重贫血、肿瘤、妊娠、接收糖皮质激素及细胞毒性药物治疗的患者。终止标准:对试验用药不耐受或过敏,不能按时规律服用,试验用药达不到有效控制血糖。LADA 患者 40 例随机分为利拉鲁肽组($n=20$)和胰岛素组($n=20$)。另纳入性别和年龄相符的非糖尿病健康志愿者 20 例作为对照组。本研究经本院伦理委员会通过,研究对象入选后签署知情同意书。

1.2 治疗方法 将患者血糖控制小于 7 mmol/L,餐后 2 h 血糖小于 10 mmol/L。胰岛素组患者接受胰岛素治疗,根据血糖的变化调整用量,当空腹血糖大于 7.0 mmol/L 或餐后 2 h 血糖大于 10 mmol/L 时增加胰岛素用量,直至血糖达标。根据血糖变化调整胰岛素用量,当患者出现低血糖相关不适时则随时监测血糖,调整胰岛素用量。利拉鲁肽组在每日皮下注射,起始剂量为 0.6 mg/d,之后根据血糖监测情况进行剂量调整,1 周后增至 1.2 mg/d,血糖仍控制欠佳者 2 周后可增加值最大量 1.8 mg/天。用药开始两周所有入组患者若无特殊不适症状可每日监测空腹血糖和餐后 2 h 血糖,2 周后可改为隔天监测。

1.3 检测指标 于治疗前、治疗后 1 个月患者留取空腹静脉血 10 mL,离心取上清液至于-80℃保存,用于检测促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6)和抗炎因子(IL-10、TGF- β 以及 IL-4)。上述促炎和抗炎因子均通过 ELISA 试剂盒检验,严格按照试剂说明书完成。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件综合统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,且方差齐时,组间比较采用 t 检验或单因素方差分析,多组间两两比较采用 q 检验。非正态分布或方差不齐时,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验分析,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,二元资料通过 Fisher's 精确检验分析。应用 Pearson 和 Spearman 线性相关分析利拉鲁肽治疗与各个促炎因子和抗炎因子标间改变的关系。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料结果 3 组对象在性别、年龄、BMI、吸烟史、高血压病、高脂血症以及冠心病等方面未见明显差异($P>$

0.05)。空腹血糖方面,利拉鲁肽组和胰岛素组患者均明显高于对照组($P<0.05$),而 2 组之间差异未见明显统计学意义($P<0.05$)。GADA 方面,利拉鲁肽组和胰岛素组之间差异未见明显统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 3 组患者一般情况比较

项目	利拉鲁肽组($n=20$)	胰岛素组($n=20$)	对照组($n=20$)	χ^2/t	P
年龄(岁)	43.5±11.7	41.2±9.8	42.2±8.3	2.541	0.110
男/女(n/n)	10/12	10/10	10/10	1.524	0.217
BMI(kg/m ²)	23.6±1.9	23.5±2.2	24.2±1.2	1.778	0.182
GADA(U/mL)	232.2±24.5	229.8±21.2	—	2.088	0.104
空腹血糖(mmol/L)	6.8±0.7	6.6±0.6	5.0±0.6	4.808	0.028
吸烟[$n(\%)$]	10(50)	9(45)	10(50)	2.540	0.111
高血压病[$n(\%)$]	4(20)	3(15)	4(20)	2.794	0.094
高脂血症[$n(\%)$]	3(15)	4(20)	2(10)	0.762	0.383
冠心病[$n(\%)$]	1(5)	1(5)	1(5)	2.286	0.131

2.2 血清促炎因子水平改变 治疗前,LADA 患者血清促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6)水平均高于对照组患者($P<0.05$)。经过治疗后,可见 LADA 患者促炎因子均出现不同程度下降。其中利拉鲁肽组患者血清 TNF- α [(80.7±18.2) pg/mL *vs.* (57.3±14.1) pg/mL, $t=2.022$, $P=0.026$]、IL-1 β [(22.7±5.1) pg/mL *vs.* (12.2±3.9) pg/mL, $t=1.922$, $P=0.032$]和 IL-6[(683.7±45.4) pg/mL *vs.* (301.6±82.2) pg/mL, $t=2.121$, $P=0.021$]水平下降具有统计学意义($P<0.05$);而胰岛素组患者仅血清 IL-6[(645.7±80.1) pg/mL *vs.* (321.6±56.9) pg/mL, $t=1.823$, $P=0.039$]水平下降具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 治疗前后血清不同促炎因子水平改变

组别	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
对照组($n=20$)	14.2±2.3	8.1±3.0	144.2±31.9
胰岛素组($n=20$)			
治疗前	77.7±20.6	24.7±4.7	645.7±80.1
治疗后	74.3±16.3	22.9±5.6	321.6±56.9
利拉鲁肽组($n=20$)			
治疗前	80.7±18.2	22.7±5.1	683.7±45.4
治疗后	57.3±14.1	12.2±3.9	301.6±82.2
t/P 胰岛素组内(治疗前后)	1.037/0.154	1.261/0.108	2.493/0.009
t/P 利拉鲁肽组内(治疗前后)	2.269/0.015	2.045/0.025	2.605/0.007
t/P 治疗后组间	1.821/0.039	2.157/0.019	0.925/0.181

2.3 血清抗炎因子水平改变 治疗前,LADA 患者血清抗炎因子(IL-10、TGF- β 以及 IL-4)水平均低于对照组患者($P<0.05$)。经治疗后,可见 LADA 患者血清抗炎因子出现不同程

度的上升。其中,利拉鲁肽组患者血清 TGF- β [(16.5±2.7) pg/mL *vs.* (30.5±2.9) pg/mL, $t=1.734$, $P=0.046$]和 IL-4 [(21.2±5.2) pg/mL *vs.* (33.5±3.5) pg/mL, $t=2.032$, $P=0.025$]水平上升具有统计学意义($P<0.05$),胰岛素组患者抗炎因子水平之前前后改变无明显统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.4 相关性分析 通过 Pearson 和 Sperman 相关性分析各项促炎因子和抗炎因子治疗前后差异(Δ =治疗后-治疗前)与年龄、性别等指标的相关性。结果发现,利拉鲁肽与促炎因子 Δ TNF- α ($r=-0.678$, $P=0.002$)、 Δ IL-1 β ($r=-0.522$, $P=0.012$)和 Δ IL-6($r=-0.690$, $P=0.005$)呈明显负相关,与抗炎因子 Δ TGF- β ($r=0.631$, $P=0.009$)和 Δ IL-10($r=0.704$, $P=0.005$)呈明显正相关。而其他指标之间未见明显相关性($P>0.05$),如表 4 所示。

表 3 治疗前后血清不同抗炎因子水平改变

组别	IL-10 (pg/mL)	TGF- β (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)
对照组($n=20$)	23.1±5.0	44.3±7.4	45.9±4.4
胰岛素组($n=20$)			
治疗前	11.0±1.0	15.1±3.9	20.5±4.3
治疗后	13.2±4.1	17.5±4.8	23.5±3.1
利拉鲁肽组($n=20$)			
治疗前	10.4±1.3	16.5±2.7	21.2±5.2
治疗后	11.2±2.1	30.5±2.9	33.5±3.5
t/P 胰岛素组内(治疗前后)	0.846/0.202	1.071/0.146	1.182/0.123
t/P 利拉鲁肽组内(治疗前后)	1.294/0.102	2.749/0.006	2.401/0.016
t/P 治疗后组间	1.518/0.069	2.526/0.008	2.638/0.006

表 4 相关性分析

变量	促炎因子						抗炎因子					
	Δ TNF- α		Δ IL-1 β		Δ IL-6		Δ IL-10		Δ TGF- β		Δ IL-4	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
年龄	-0.004	0.237	-0.004	0.322	0.002	0.443	-0.003	0.539	-0.044	0.109	-0.044	0.109
性别	0.009	0.114	0.009	0.116	-0.012	0.348	-0.011	0.328	0.005	0.389	0.005	0.389
BMI	0.001	0.162	0.032	0.123	-0.010	0.571	-0.005	0.531	0.002	0.482	0.002	0.482
利拉鲁肽	-0.678	0.002	-0.522	0.012	-0.690	0.005	0.107	0.072	0.631	0.009	0.704	0.005
Δ IL-10	0.156	0.147	-0.003	0.143	-0.012	0.327	—	—	0.008	0.647	0.015	0.192
Δ TGF- β	0.101	0.128	0.021	0.214	-0.001	0.791	0.008	0.647	—	—	0.023	0.088
Δ IL-4	0.005	0.439	0.005	0.102	0.001	0.564	0.015	0.192	0.023	0.088	—	—

3 讨 论

LADA 的发病机制以 T 细胞介导的胰岛 β 细胞破坏为主,同时巨噬细胞、自然杀伤细胞、各类促炎因子等也参与到 β 细胞的破坏当中。GLP-1 受体广泛分布于包括免疫系统在内的人体各个组织,因此利拉鲁肽不但可以通过激活胰岛 β 细胞 GLP-1 受体,促进胰岛素分泌,抑制胰高血糖素分泌,进而调控并维持血糖稳定还可以调节体内多种免疫细胞的功能^[8]。研究认为,利拉鲁肽可以通过清除底物趋化因子 N 末端的脯氨酸或是丙氨酸多肽,降低促炎因子,发挥抑制炎症因子作用^[9-11]。本研究综合分析 LADA 患者经利拉鲁肽治疗后血清促炎因子(TNF- α , IL-1 β 以及 IL-6)和抗炎因子(IL-10, TGF- β 以及 IL-4)水平改变情况。结果发现利拉鲁肽可以明显降低 LADA 患者体内慢性炎症因子应激反应,减少炎症因子损伤。

本研究筛选了 3 种促炎因子,分别是 TNF- α , IL-1 β 以及 IL-6。LADA 的发展过程中,辅助性 T 淋巴细胞激活可促使 TNF- α , IL-1 β 以及 IL-6 等促炎因子表达增多。本结果发现 LADA 患者治疗前血清 TNF- α , IL-1 β 以及 IL-6 水平均不同程度升高。经过治疗后,可见胰岛素组和利拉鲁肽组患者上述促炎因子明显下降。相关性分析可见利拉鲁肽与上述 3 种促炎因子治疗前后水平改变密切相关。以 TNF- α 和 IL-6 为代表的促炎因子,可以影响 CXCR3 参与 Th1 细胞的募集^[12]。而欧洲 ACTION LADA 及中国 LADA China 研究均提示 LADA 患者血清 IL-6 浓度高于健康对照^[13]。目前关于利拉鲁肽对于促炎因子的研究多为动物实验研究,郭南京等^[14]学者通过观察不同剂量利拉鲁肽干预组(50、100、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$),对糖耐量异常大鼠胰岛 IL-1 β 和凋亡基因 caspase3 表达的影响,结果发现利拉鲁肽呈剂量依赖性,可能通过抑制胰岛 IL-1 β 炎症因子表达,从而改善胰岛功能及糖代谢,延缓或阻止糖尿病发生、发展。

在抗炎因子方面,本研究筛选了 IL-10, TGF- β 以及 IL-4 三种因子进行检测分析。本结果发现 LADA 患者治疗前血清 IL-10、TGF- β 以及 IL-4 水平均不同程度降低,经过血糖控制治疗后可不同程度上升。这提示在 LADA 患者体内存在慢性促炎因子和抗炎因子的平衡失调,这种失调可能参与到 LADA 的发病机制当中。值得注意的是,经过利拉鲁肽治疗后 LADA 患者血清促炎因子水平有所下降,但仍明显高于正常范围,说明体内仍处于慢性炎症状态。而抗炎因子虽然有所上升,但仍低于正常水平。赵伟等^[15]学者通过高糖高脂饲料喂养联合小剂量链脲佐菌素,鼠尾静脉注射建立糖尿病大鼠模型,发现利拉鲁肽可抑制糖尿病大鼠肺组织 TGF- β 1 的表达发挥器官保护作用。

总之,利拉鲁肽作为 GLP-1 类似物不但具有调节血糖作用,还可以通过降低促炎因子,提升抗炎因子,达到调节体内促炎-抗炎系统平衡的作用,改善 LADA 患者体内慢性炎症因子损伤状态。

参考文献

[1] Hawa MI, Kolb H, Schloot N, et al. Adult-onset autoimmune diabetes in Europe is prevalent with a broad clinical phenotype; Action LADA 7[J]. Diabetes Care, 2013, 36(4):908-913.

[2] Andersen CD, Bennet L, Nystrom L, et al. Worse glycaemic control in LADA patients than in those with type 2 diabetes, despite a longer time on insulin therapy [J]. Diabetologia, 2013, 56(2):252-258.

[3] Zhou Z, Xiang Y, Ji L, et al. Frequency, immunogenetics, and clinical characteristics of latent autoimmune diabetes in China (LADA China study): a nationwide, multicenter, clinic-based cross-sectional study [J]. Diabetes, 2013, 62(2):543-550.

[4] Mezquita-Raya P, Reyes-Garcia R, Moreno-Perez O, et al. Clinical effects of liraglutide in a real-world setting in Spain: diabetes-monitor SEEN diabetes mellitus working group study [J]. Diabetes, 2015, 6(2):173-185.

[5] Iepsen EW, Torekov SS, Holst JJ. Liraglutide for Type 2 diabetes and obesity: a 2015 update [J]. Expert review of cardiovascular therapy, 2015, 13(7):753-767.

[6] Pahlajani S, Citrome L. Liraglutide subcutaneous injection for weight loss: where does it fit [J]. International journal of clinical practice, 2015, 69(7):719-721.

[7] Wang K, Sun Y, Lin P, et al. Liraglutide Activates AMPK Signaling and Partially Restores Normal Circadian Rhythm and Insulin Secretion in Pancreatic Islets in Diabetic Mice [J]. Biological, 2015, 38(8):1142-1149.

[8] Davenport C, Mahmood WA, Forde H, et al. The effects of insulin and liraglutide on osteoprotegerin and vascular calcification in vitro and in patients with type 2 diabetes [J]. European journal of endocrinology, 2015, 173(1):53-61.

[9] 陈频, 陈晨, 邵珠林, 等. 利拉鲁肽对新诊断的糖化血红蛋白 $>9\%$ 的 2 型糖尿病患者的有效性及安全性 [J]. 中华内科杂志, 2015, 54(4):307-312.

[10] Candeias EM, Sebastiao IC, Cardoso SM, et al. Gut-brain connection: The neuroprotective effects of the anti-diabetic drug liraglutide [J]. World journal of diabetes, 2015, 6(6):807-827.

[11] 陈频, 邵珠林, 徐向进, 等. 利拉鲁肽联合骨髓间充质干细胞介导胃肠激素对链脲佐菌素诱导的 1 型糖尿病大鼠模型糖代谢的影响 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(3):277-281.

[12] Rausch R. Basal insulin and liraglutide combined in a pen [J]. MMP, 2015, 38(4):154-156.

[13] Siraj ES, Williams KJ. Liraglutide in Weight Management [J]. N Engl J Med, 2015, 373(18):1782.

[14] 郭南京, 孙嘉, 陈宏, 等. 利拉鲁肽对糖耐量异常 OLETF 大鼠胰岛白细胞介素-1 β 表达的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(6):878-881.

[15] 赵伟, 陈光敏, 孙蓓, 等. 利拉鲁肽对糖尿病大鼠肺组织局部 RAS 活性及 TGF- β 1、III 型胶原蛋白表达的影响 [J]. 中华医学杂志, 2014, 94(6):459-463.