

• 论 著 •

糖尿病患者血清炎症小体与颈动脉内中膜厚度的相关性分析*

潘 航¹, 冷蔚玲¹, 杨 丹², 雷小添¹, 吴明霞¹, 吴绮楠¹, 梁自文^{1△}
(陆军军医大学第一附属医院: 1. 内分泌科; 2. 超声科, 重庆 400038)

摘要:目的 分析新诊断 2 型糖尿病患者颈动脉内中膜厚度与血清 NLRP3 炎症小体的相关性。方法 选取 2015 年 1 月至 2016 年 10 月于该院内分泌科就诊的新诊断 2 型糖尿病患者 53 例(试验组)及体检的健康志愿者 50 例(对照组), 利用颈动脉超声观察颈动脉内中膜厚度情况; 抽取空腹血测定空腹胰岛素、C 肽、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、游离脂肪酸(FFA); 采用双抗体夹心酶联免疫法检测血清 NLRP3 炎症小体和炎症介质白介素 1 β (IL-1 β)及 IL-18 水平。**结果** 新诊断 2 型糖尿病患者 NLRP3、IL-1 β 、IL-18 水平及其颈动脉内中膜厚度明显高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且颈动脉内中膜厚度与 NLRP3、IL-18、IL-1 β 呈正相关($r = 0.438, 0.371, 0.306, P < 0.05$)。**结论** 血清 NLRP3 炎症小体活化与新诊断 2 型糖尿病患者颈动脉内中膜厚度呈正相关。

关键词:新诊断 2 型糖尿病; 颈动脉内中膜厚度; NLRP3 炎症小体; 高频超声
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.19.002 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)19-2818-04

Analysis on correlation between serum NLRP3 inflammasome activation and carotid intima-media thickness in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus*

PAN Hang¹, LENG Weiling¹, YANG Dan², LEI Xiaotian¹, WU Mingxia¹, WU Qinan¹, LIANG Ziwen^{1△}
(1. Department of Endocrinology; 2. Department of Ultrasound, First Affiliated Hospital of Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To analyze the correlation of serum NLRP3 inflammasome level and carotid intima-media thickness (IMT) in the patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Fifty-three cases of newly diagnosed T2DM (experimental group) and 50 healthy volunteers undergoing physical examination (control group) in the hospital from January 2015 to October 2016 were collected. IMT was observed by carotid ultrasound. The fasting insulin, C-peptide, glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting blood glucose, 2 h postprandial blood glucose, total cholesterol (TC), TG, LDL-C, HDL-C and FFA were tested. The serum levels of NLRP3, IL-1 β and IL-18 were measured with ELISA. **Results** The serum levels of NLRP3, IL-1 β , IL-18 and IMT in the patients with newly diagnosed T2DM were significantly higher than those in the healthy group, the differences were statistical significance ($P < 0.05$), moreover IMT was positively correlated with NLRP3, IL-18 and IL-1 β ($r = 0.438, 0.371, 0.306, P < 0.05$). **Conclusion** The serum NLRP3 inflammasome activation is positively correlated with IMT in the patients with newly diagnosed T2DM.

Key words: newly diagnosed type 2 diabetes; carotid artery intima-media thickness; NLRP3 inflammasome; high-frequency ultrasound

据国际糖尿病联盟的最新统计, 2015 年全球糖尿病患者人数已达 4.15 亿, 估计到 2040 年全球将有 6.42 亿人患糖尿病, 而大部分糖尿病患者死于心血管并发症^[1]。糖尿病最常见的心血管病变是动脉粥样硬化(AS), 其发病机制复杂, 至今尚不完全清楚。目前, 人们比较认可的是以“脂质沉积、巨噬细胞浸润及平滑肌细胞增殖”为特征的慢性炎症反应^[2], 特别是斑块中巨噬细胞释放的促炎因子起到至关重要的作用, 白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 IL-18 是目前最明确的促 AS 发展的炎症因子^[3]。巨噬细胞在各种内源性损伤信号和外源性炎症反应刺激因子的作用下, 重新合成和组装 NLRP3 炎症小体, 后者促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟并释放到细胞外, 参与局部慢性炎症

反应的发生、发展, 在 AS 的发生、发展过程中扮演重要的角色^[4]。2 型糖尿病(T2DM)和 AS 都是慢性炎症反应状态对不同器官长期损伤的结果, 血管病变的早期筛查和防治就是临床 T2DM 治疗的主要课题。近年来, 临床将反映全身 AS 重要且敏感的指标—颈动脉内中膜厚度(IMT)广泛用于心脑血管疾病的筛查^[5]。因此, 本研究拟探讨新诊断 T2DM 患者血清 NLRP3 炎症小体活化及其与 IMT 的相关性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2015 年 1 月至 2016 年 10 月内分泌科就诊的新诊断 T2DM 患者 53 例作为试验组, 男 26 例, 女 27 例, 平均年龄(52.92 $\pm$ 7.27)岁; 体检健康志愿者 50 例作为

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81670711)。
作者简介: 潘航, 男, 医师, 主要从事内分泌与代谢方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: ziwenliang99@163.com。

对照组,男 26 例,女 24 例,平均年龄(51.42 ± 7.04)岁。T2DM 的诊断标准按 1999 年世界卫生组织制定标准执行:临床症状加任意时间的血浆葡萄糖 ≥ 11.1 mmol/L,或空腹血糖(FPG) ≥ 7.0 mmol/L,或口服葡萄糖耐量试验(OGTT)餐后 2 h 血糖(2 h HPG) ≥ 11.1 mmol/L;重复测量予以确认,即可诊断为糖尿病。排除标准:(1)患有痛风、矽肺、阿尔茨海默病、自身免疫性疾病及克罗恩病等可能影响 NLRP3 炎症小体信号通路的慢性疾病患者;(2)肝功能不全(丙氨酸氨基转移酶大于正常上限 2 倍)、肾功能不全(肌酐 >266 μ mol/L)、有严重肺部疾病、骨折、肿瘤及各种急性感染性疾病,以及应用炎症反应抑制药物的患者;(3)患有高血压病史、长期吸烟的患者。

1.2 方法

1.2.1 实验室检查 所有受试者采血前 24 h 禁酒及高脂饮食,晨起空腹状态下采集静脉血分别送至本院检验科测定肝肾功能、血脂、FPG 和 2 h HPG 以及核医学科测定胰岛素和 C 肽水平。另外,所有受检者抽取外周血 3 mL,3 000 r/min 的速度离心 15 min,然后收集血清分装并标记,−70 °C 冰箱中保存,择期行双抗体夹心酶联免疫法(ELISA)测定 NLRP3、IL-1 β 和 IL-18 水平。

1.2.2 IMT 检测 IMT 采用 PHILIP-iE33 彩色多普勒超声诊断仪进行检测,选择高频线阵探头,探头频率为 5~12 MHz,必要时可用 2~5 MHz 凸阵探头。受检者取仰卧位,头偏向对侧,充分暴露颈部,下颌微仰,充分暴露检查侧的颈动脉,先左侧后右侧。探头置于颈部,纵横切面扫描颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉,仔细观察血管壁的 3 层结构,记录血管内径、斑块位置和大小,以及 IMT。测量 3 次 IMT,取其平均值。以 IMT ≥ 1.2 mm 为增厚,局限性 IMT ≥ 1.5 mm 定义斑块为诊断标准。根据超声下斑块回声特征的不同,颈动脉斑块又分为软斑块、硬斑块及混合性斑块。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计数

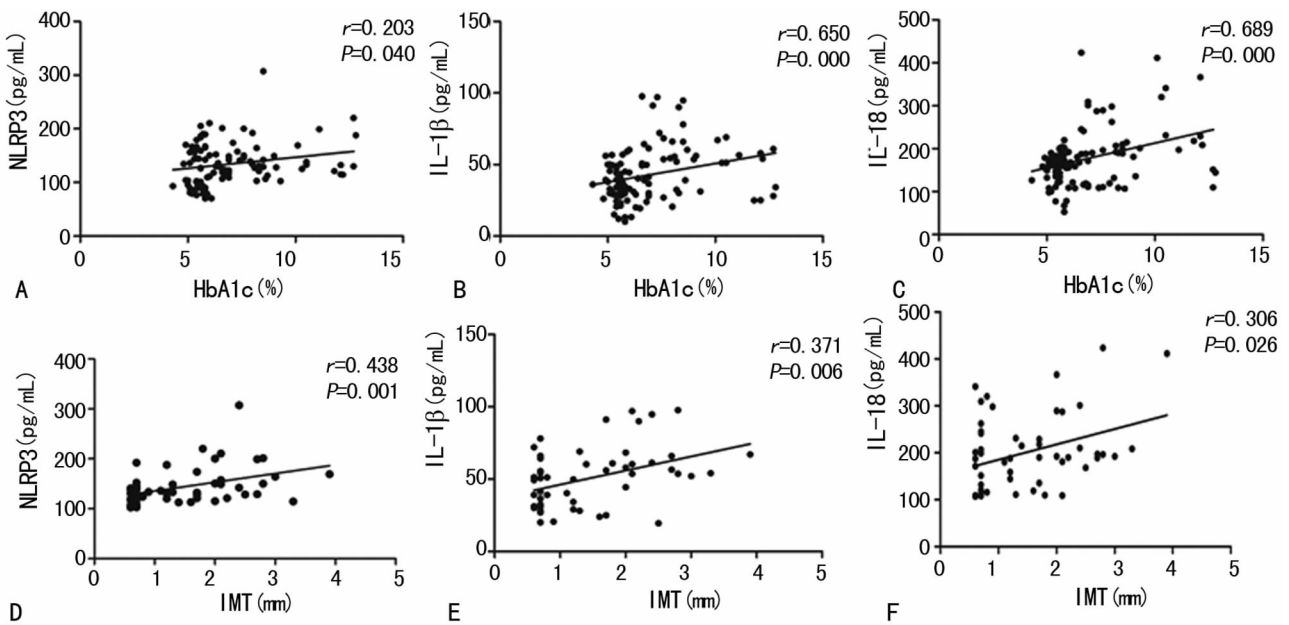
资料以 $[n(\%)]$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;不服从正态分布的计量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验。服从正态分布的用 Pearson 相关性进行分析;不服从正态分布的用 Spearman 相关性进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象一般资料比较 试验组 FPG、2 h HPG、糖化血红蛋白(HbA1c)、胰岛素抵抗(HOMA-IR)、三酰甘油(TG)、游离脂肪酸(FFA)、空腹胰岛素(FINS)、空腹 C 肽(FC-P)水平明显高于对照组,而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。两组人群的体质指数(BMI)、总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 两组研究对象血清中 NLRP3、IL-1 β 和 IL-18 水平比较及其与 HbA1c、IMT 的相关性分析 见表 2。试验组患者血清 NLRP3、IL-1 β 和 IL-18 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Spearman 或 Pearson 相关性分析显示, HbA1c 与 NLRP3、IL-1 β 和 IL-18 呈正相关($r = 0.203, 0.650, 0.689, P < 0.05$);同时,试验组患者 HOMA-IR 与炎症小体 Spearman 相关性分析显示, HOMA-IR 与 NLRP3、IL-1 β 呈正相关($r = 0.327, 0.412, P < 0.05$),而与 IL-18 无相关性($r = 0.147, P = 0.295$)。此外, Spearman 相关性分析显示,糖尿病患者中, IMT 与 NLRP3、IL-1 β 、IL-18 呈正相关($r = 0.438, 0.371, 0.306, P < 0.05$),见图 1。

2.3 两组 IMT 及斑块形成情况比较 试验组患者 IMT 均值 $[1.20(0.60, 3.09)]$ 明显高于对照组 $[0.70(0.56, 2.50)]$,差异有统计学意义($P < 0.01$)。进行 Spearman 相关性分析显示, HbA1c 与 IMT 呈正相关($r = 0.263, P = 0.007$);HOMA-IR 值与 IMT 呈正相关($r = 0.494, P = 0.000$)。见图 2。



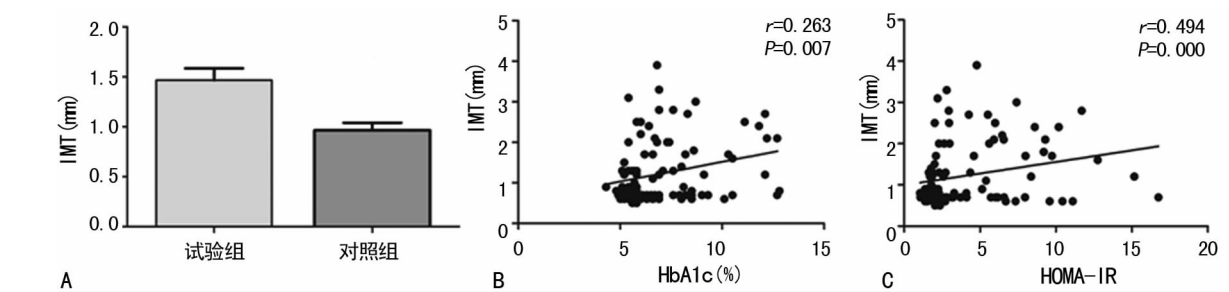
注:A表示 NLRP3 活化与 HbA1c 呈正相关;B表示 IL-1 β 与 HbA1c 呈正相关;C表示 IL-18 与 HbA1c 呈正相关;D表示 NLRP3 活化与 IMT 呈正相关;E表示 IL-1 β 与 IMT 正相关;F表示 IL-18 与 IMT 正相关

图 1 两组研究对象 NLRP3 炎症小体活化与 HbA1c 和 IMT 相关性分析

表 1 两组研究对象一般资料比较(̄x±s)

组别	BMI(kg/m ²)	FPG(mmol/L)	2 hHPG(mmol/L)	FINS(μU/mL)	FC-P(ng/mL)	HOMA-IR
试验组	24.58±3.51	8.82±3.75	15.60±5.52	15.41±5.72	2.02±0.95	6.06±3.50
对照组	24.21±2.57	5.01±0.50	6.44±0.67	8.65±2.02	1.64±0.62	1.92±0.49
P	0.539	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000

组别	HbA1c(%)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	FFA(mmol/L)
试验组	8.37±1.99	5.18±1.49	3.03±3.13	1.06±0.23	3.12±0.78	0.46±0.17
对照组	5.45±0.35	5.38±1.63	1.75±1.39	1.34±0.41	3.18±0.71	0.34±0.17
P	0.000	0.618	0.004	0.000	0.665	0.001



注: A 表示试验组 IMT 较对照组明显增加($P<0.01$); B 表示 HbA1c 与 IMT 呈正相关; C 表示 HOMA-IR 与 IMT 呈正相关

图 2 新诊断 T2DM 患者 IMT 改变及其相关性分析

表 2 两组研究对象血清 NLRP3、IL-1β 和 IL-18 水平比较(̄x±s, pg/mL)

组别	NLRP3	IL-1β	IL-18
试验组	143.67±37.02*	50.71±20.89#	200.48±80.03#
对照组	124.51±39.10	34.45±12.71	153.91±37.17

注: 与对照组比较, * $P<0.05$; # $P<0.01$

3 讨 论

颈动脉 IMT 增加预示着 AS 的发生, 而 AS 是糖尿病患者主要的血管并发症, 随着病情的进展会诱发急性心肌梗死、脑梗死等疾病, 具体机制尚不完全清楚。既往研究表明, 免疫应答(包括固有免疫和获得性免疫)在 AS 发生、发展及血栓形成过程中发挥重要作用^[6]。固有免疫通过模式识别受体(PRRs)来感知内源性危险信号分子模式(DAMPs)和外源性病原体相关分子模式(PAMPs), 进而激发炎症反应, 启动防御机制^[7]。NOD 样受体 NLRP3 是一种胞内的模式识别受体, 可被多种不同外源性和内源性的刺激信号激活, 组装形成一个多蛋白复合体, 即“NLRP3 炎症小体”, 其可激活半胱天冬酶-1, 进而促进促炎细胞因子 IL-1β 和 IL-18 的剪切成熟和分泌, 引起系列炎症反应。大量研究表明, NLRP3 炎症小体促进了 AS 的发生、发展, 通过慢病毒介导的 RNAi 技术特异度沉默载脂蛋白酶 E(ApoE) -/- 小鼠的 NLRP3 基因, 可以缓解小鼠 AS 的形成, 进一步敲除 IL-1β, 可导致 AS 面积减少约 30%^[8]。IL-18 在 AS 斑块中也是高表达并发挥与 IL-1β 相似的作用。本研究中笔者发现, 在初发型 T2DM 患者已经存在 IMT 明显增厚的现象, 证明 T2DM 确诊时多数患者已经存在血管内皮细胞的异常活化和基底膜增加, 如不加控制极易形成 AS。进一步进行 Spearman 相关性分析显示, IMT 与 NLRP3、IL-1β、IL-

18 呈正相关, 提示在临床治疗中如能采取减少糖尿病患者 NLRP3 炎症小体活化的措施, 可能会达到缓解动脉内中膜增厚, 抑制 AS 形成的目的。

目前对 NLRP3 炎症小体活化如何形成 AS 的机制尚未完全阐明。既往研究表明, T2DM 患者 AS 形成与血糖过高和胰岛素抵抗等有关。本研究结果显示, HbA1c 与 IMT 呈正相关, 证明降低血糖, 可以缓解 AS 的发生、发展。胰岛素增多是 AS 的高危因素, 其原因可能是通过巨噬细胞的作用促进 AS 形成^[9]。本研究发现, 两组研究对象比较, 试验组 HOMA-IR 明显升高, HOMA-IR 与 IMT 呈正相关, 且 HOMA-IR 与 NLRP3、IL-1β 也呈正相关, 与 IL-18 无相关性, 结果提示减少 T2DM 患者胰岛素抵抗, 可以从一定程度上降低 NLRP3 炎症小体活化, 从而缓解 AS 的发生、发展。本研究结果还发现, 试验组患者血清 NLRP3、IL-1β 和 IL-18 水平明显高于对照组, 而 HbA1c 与 NLRP3、IL-1β、IL-18 呈正相关, 提示 NLRP3 活化及 IL-1β、IL-18 升高与高血糖相关。有研究证实, 高血糖是 IL-1β 产生和胰腺 NLRP3 炎症小体活化的关键诱导剂^[10]。故降低 T2DM 患者血糖, 调节血脂代谢紊乱, 可以减少 NLRP3 炎症小体活化、降低血清中 IL-1β 和 IL-18 的水平, 从而缓解 AS 的发生、发展。

综上所述, 试验组患者血清 NLRP3 炎症小体水平与颈 AS 严重程度呈正相关, 其在一定程度上可以预测颈 AS 程度, 临床上可以检测 NLRP3 炎症小体反映 AS 发生的风险, 并为延缓糖尿病患者 AS 的发生和发展提供新的检测和治疗靶点。

参考文献

[1] Rao Kondapally Seshasai S, Kaptoge S, Thompson A, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death[J]. N Engl J Med, 2011, (下转第 2823 页)

进展性颅内出血,从而改善预后。氨甲环酸抗纤溶治疗是一种简单有效,在各级医院均能开展的一项治疗措施,值得在 TBI 的院前急救及临床治疗中推广应用。

参考文献

[1] Iaccarino MA, Bhatnagar S, Zafonte R. Rehabilitation after traumatic brain injury[J]. Handb Clin Neurol, 2015, 127(4):411-422.

[2] 王忠诚. 神经外科学[M]. 2 版. 武汉:湖北科学技术出版社, 2015:301-302.

[3] Williams-Johnson JA, McDonald AH, Strachan G, et al. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2) A randomised, Placebo-Controlled trial[J]. West Indian Med J, 2010, 59(6): 612-624.

[4] Dewan Y, Komolafe EO, Mejia-Mantilla JH, et al. CRASH-3 tranexamic acid for the treatment of significant traumatic brain injury; study protocol for an international randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Trials, 2012, 13(1): 1-14.

[5] De Oliveira Manoel AL, Neto AC, Veigas PV, et al. Traumatic brain injury associated coagulopathy[J]. Neurocrit Care, 2015, 22(1):34-44.

[6] Gupta G, Wadhwa C, Garg R, et al. Impact of Coagulation Profile on Outcome of Head Injury[J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(1):4-6.

[7] Juratli TA, Zang B, Litz RJ, et al. Early hemorrhagic progression of traumatic brain contusions: frequency, correlation with coagulation disorders, and patient outcome; a prospective study[J]. J Neurotrauma, 2014, 31(17):1521-1527.

[8] Liu J, Tian HL. Relationship between trauma-induced coagulopathy and progressive hemorrhagic injury in patients with traumatic brain injury[J]. Chin J Traumatol, 2016, 19(3):172-175.

[9] 刘宝南. 颅脑损伤的凝血纤溶功能异常与进展性颅内出血的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(14): 2100-2102.

[10] Cole E, Davenport R. Early tranexamic acid use in trauma haemorrhage: Why do we give it and which patients benefit most? [J]. Int Emerg Nurs, 2015, 23(1):38-41.

[11] Simão F, Ustunkaya T, Clermont AC, et al. Plasma kallikrein mediates brain hemorrhage and edema caused by tissue plasminogen activator therapy in mice after stroke [J]. Blood, 2017, 129(16):2280-2290.

[12] Shimohata T, Kawamura K, Takahash T, et al. Effects of Angiopoietin-1 on hemorrhagic transformation and cerebral edema after tissue plasminogen activator treatment for ischemic stroke in rats[J]. PLoS One, 2014, 9(6): 214-220.

(收稿日期:2017-02-06 修回日期:2017-04-06)

(上接第 2820 页)

364(9):829-841.

[2] Montecucco F, Liberale L, Bonaventura A, et al. The role of inflammation in cardiovascular outcome[J]. Curr Atheroscler Rep, 2017, 19(3):11.

[3] Lu X, Kakkar V. Inflammasome and atherogenesis[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(1):108-124.

[4] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals[J]. Nature, 2010, 464(7293):1357-1361.

[5] Fowokan AO, Lesser IA, Humphries KH, et al. The predictive relationship between baseline insulin and glucose with subclinical carotid atherosclerosis after 5 years in a multi-ethnic cohort[J]. Atherosclerosis, 2017, 257: 146-151.

[6] Bomfim GF, Rodrigues FL, Carneiro FS. Are the innate

and adaptive immune systems setting hypertension on fire? [J]. Pharmacol Res, 2017, 117:377-393.

[7] Witztum JL, Lichtman AH. The influence of innate and adaptive immune responses on atherosclerosis[J]. Annu Rev Pathol, 2014, 9:73-102.

[8] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. Cell, 2010, 140(6):805-820.

[9] Park YM, R Kashyap S, A Major J, et al. Insulin promotes macrophage foam cell formation; potential implications in diabetes-related atherosclerosis[J]. Lab Invest, 2012, 92(8):1171-1180.

[10] Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation[J]. Nat Immunol, 2010, 11(2):136-140.

(收稿日期:2017-02-16 修回日期:2017-04-22)

欢迎投稿

欢迎订阅