

• 短篇论著 •

IL-35、IL-37 在初发 2 型糖尿病患者外周血清中表达水平的研究*

谢彦鹏¹, 练昌颖², 张建民¹, 吴倩宇², 肖光文^{2△}

1. 嘉应学院医学院附属医院综合科, 广东梅州 514031; 2. 嘉应学院医学院基础部, 广东梅州 514031

摘要:目的 探讨初发 2 型糖尿病(T2DM)患者外周血清中白细胞介素(IL)-35 和 IL-37 表达水平变化及与糖尿病相关指标的相关性。方法 收集 2020 年 7 月至 2021 年 12 月嘉应学院医学院附属医院内科收治的 53 例初发 T2DM 患者及 50 例体检健康者的血清, 采用贝克曼 AU5800 生化仪检测空腹血糖(FBG)、血脂谱及肝肾功能等进行检测, 采用化学发光免疫法测定血清空腹胰岛素(FINS)水平, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 IL-35 和 IL-37 水平, 采用高效液相色谱法测定糖化血红蛋白(HbA1c), 对比分析两组各指标的差异, 并分析 IL-35 和 IL-37 与其他指标的相关性。结果 初发 T2DM 患者血清 IL-35 和 IL-37 水平均显著低于健康志愿者, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$), 并发冠心病的初发 T2DM 患者血清 IL-35 和 IL-37 水平均显著低于单纯初发 T2DM 患者, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$), 初发 T2DM 患者血清 IL-35 和 IL-37 与其 FBG、FINS 和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)呈负相关, 与血脂谱各指标、尿酸和 HbA1c 无明显相关。结论 初发 T2DM 患者外周血清 IL-35 和 IL-37 表达水平显著降低, 其在初发 T2DM 病因及发病机制可能起保护作用。

关键词: 2 型糖尿病; 白细胞介素-35; 白细胞介素-37**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.01.021**中图法分类号:** R737.25**文章编号:** 1673-4130(2023)01-0109-04**文献标志码:** A

2 型糖尿病(T2DM)目前被认为是威胁人类健康的重要疾病之一,也是感染、视网膜病变、肾病等其他疾病的重要危险因素之一,其发病机制尚不明确。T2DM 是由遗传、行为、环境等多种危险因素共同参与和相互作用引起的多病因疾病,其发病机制主要涉及胰岛 β 细胞功能紊乱和胰岛素抵抗等关键环节^[1]。炎症相关指标 C 反应蛋白(CRP)和白细胞介素(IL)-6 被认为可以预测 T2DM^[2]。其中 CRP 甚至被认为是预测中年男性 T2DM 发展的独立危险因素,另有流行病学证据证明了慢性炎症与 2 型糖尿病之间存在密切的相关性^[3-4]。许多炎症相关的疾病的发病过程中抑制炎症相关的细胞因子 IL-35 和 IL-37 在其发病过程中发挥了一定的保护作用。IL-35 和 IL-37 在 T2DM 的发病过程中是如何表达及是否同样发挥保护作用有待探明。本研究为了探明 IL-35 和 IL-37 在初发 T2DM 患者血清中的表达水平及与糖尿病相关指标的相关性,收集了 53 例初发 T2DM 患者和 50 例健康体检者的血清,比较其血清中 IL-35、IL-37 的表达水平的差异,同时分析 IL-35、IL-37 与 T2DM 患者糖尿病相关指标的相关性,为进一步明确 T2DM 的发病机制提供资料,现将研究情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集选择 2020 年 7 月至 2021 年 12 月嘉应学院医学院附属医院(下称本院)内科收治的 53 例初发 T2DM 患者为初发 T2DM 组,纳入标准:

(1)均符合《中国 2 型糖尿病防治指南》(2020 版)中对 T2DM 的诊断标准;(2)初发糖尿病患者,年龄 ≤ 75 岁,具备基本的听说读写和沟通能力;(3)空腹血糖水平高于 7.0 mmol/L。排除标准:(1)I 型糖尿病;(2)患有糖尿病急性并发症、严重心脑血管疾病、严重血液疾病、严重脏器病变、急性感染和其他内分泌代谢性疾病;(3)近期服用过钙剂药物、维生素 D 类药物或日光暴晒者;(4)正在接受降糖或胰岛素治疗者;精神意识障碍、癫痫疾病者。另选取同期来本院进行健康体检的 50 例体检健康者作为健康对照组,年龄 ≤ 75 岁。本研究经本院伦理委员会审核获批,所有入选患者和体检健康者均要求知晓本研究并签署知情同意书。

1.2 方法 由专人负责测定患者和健康志愿者身高、体质量、血压等,计算体质量指数(BMI)。采用贝克曼 AU5800 生化仪对空腹血糖(FBG)、血脂谱及尿酸等进行检测,采用化学发光免疫法测定血清空腹胰岛素(FINS)水平,试剂盒购自北京科美生物技术有限公司,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 IL-35 和 IL-37 水平,试剂盒购自武汉菲恩生物科技有限公司,采用高效液相色谱法测定糖化血红蛋白(HbA1c),仪器和配套试剂购自赛默飞公司。稳态模型评估法计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = FINS \times FPG \times 22.5 - 1。

1.3 标本采集 空腹 12 h 采集静脉血,其中 1 mL

* 基金项目:广东省教育科研“十三五”规划课题(2018GXJK178);梅州市科技计划项目(2020B143);嘉应学院大学生创新创业训练计划项目(202010582252)。

△ 通信作者, E-mail: 15916547823 @163.com。

血样肝素抗凝管收集,待测糖化血红蛋白(HbA1c)浓度,3~5 mL 血样非抗凝试管收集后 37 °C 孵育 30 min 后,3 000 r/min 离心 15 min 分离 2 mL 血清于-70 °C 冰箱中冻存,待测 IL-35、IL-37 和胰岛素浓度,其余血清用于测定 FBG、血脂谱及尿酸等。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2016 建立数据库,采用 SPSS21.0 进行统计分析,正态分布计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述,组间比较采用 *t* 检验或方差分析,偏态分布计量资料采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 进行描述,组间比较采用非参数检验;两列计量资料之间的相关性分析采用 Pearson 线性相关分析;计数资料采用构成比或频率进行描述,组间比较使用 χ^2 检验; $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 健康对照组和初发 T2DM 组血清 IL-35、IL-37

及临床指标 纳入研究的两组人群在性别和年龄上比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),具有可比性。初发 T2DM 组 BMI、FBG、FINS、HbA1c 和 HOMA-R 显著高于健康对照组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),IL-35 和 IL-37 显著低于健康对照组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),而胆固醇、三酰甘油、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、尿酸等指标两组间比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 1~2。

2.2 不同特征的初发 T2DM 患者血清 IL-35 和 IL-37 水平比较 初发 2 型糖尿病患者血清 IL-35 和 IL-37 水平分别在不同年龄(60 岁为界)、不同性别、是否肥胖(BMI 以 25 kg/m² 为界)及是否有高血压等方面比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),在是否有冠心病上比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 1 健康志愿者和初发 T2DM 患者性别、年龄、BMI 和血清血脂谱的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	性别 (男/女, <i>n/n</i>)	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	胆固醇 (mmol/L)	三酰甘油 (mmol/L)	高密度脂蛋白 (mmol/L)	低密度脂蛋白 (mmol/L)
健康对照组	50	26/24	61(56±65)	23.32±2.23	4.35±1.15	1.55±0.91	1.20±0.32	2.64±1.17
初发 T2DM 组	53	28/25	62(57±65)	25.94±2.53	4.83±1.57	1.94±1.39	1.12±0.34	2.95±1.45
$\chi^2/t/Z$		0.070	-0.957	-5.520	-1.758	-1.703	1.173	-1.117
<i>P</i>		0.545	0.341	<0.001	0.082	0.092	0.244	0.244

表 2 健康志愿者和初发 T2DM 患者血清尿酸、糖尿病相关指标、IL-35 和 IL-37 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	尿酸 (mmol/L)	FPG (mmol/L)	FINS (mIU/L)	HbA1c (%)	HOMA-R	IL-35 (pg/mL)	IL-37 (pg/mL)
健康对照组	50	284.2±119.9	4.82±0.84	6.96±1.84	5.00±0.67	1.49±0.75	90.36±20.06	86.86±21.20
初发 T2DM 组	53	332.3±131.5	7.72±1.37	8.67±3.15	6.97±1.08	2.97±1.21	75.63±20.70	74.54±22.19
χ^2/t		-1.937	-12.851	-3.31	-11.085	-7.976	-3.459	-2.730
<i>P</i>		0.056	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.007

表 3 不同特征的初发 T2DM 患者血清 IL-35、IL-37 水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	IL-35(pg/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>	IL-37(pg/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>	
年龄(岁)	<60	23	75.54±20.45	1.216	0.230	76.27±24.43	0.425	0.672
	≥60	30	69.70±21.32			74.58±23.67		
性别	男	28	72.89±21.06	0.176	0.861	74.98±25.11	-0.115	0.909
	女	25	71.53±21.47			75.67±24.82		
BMI(kg/m ²)	<25	21	70.47±22.23	-0.847	0.401	72.84±25.24	-0.752	0.456
	≥25	32	74.97±20.85			76.93±24.51		
冠心病	有	9	65.45±18.23	2.092	0.041	64.74±19.37	2.362	0.022
	无	44	77.71±21.56			76.56±21.71		
高血压	有	19	76.21±24.15	1.136	0.261	78.41±23.91	0.975	0.334
	无	34	70.03±23.54			73.57±25.13		

2.3 初发 T2DM 患者血清 IL-35 和 IL-37 表达水平与其他指标的相关性分析 初发 T2DM 病患者血清 IL-35 和 IL-37 均与 FPG、FINS 和 HOMA-R 呈负相

关(均 $P > 0.05$),与胆固醇、三酰甘油、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、尿酸和 HbA1c 等其他指标无明显的相关性(均 $P > 0.05$),IL-35 与 IL-37 之间呈正相

关($P > 0.05$),见表 4。

表 4 初发 T2DM 患者血清 IL-35、IL-37 水平与其他指标的 Pearson 线性相关性分析结果

糖尿病相关指标	血清 IL-35 水平 (pg/mL)		血清 IL-37 水平 (pg/mL)	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
胆固醇	-0.156	0.264	-0.094	0.501
三酰甘油	-0.086	0.539	-0.050	0.720
高密度脂蛋白	0.047	0.738	0.083	0.555
低密度脂蛋白	-0.155	0.268	-0.091	0.518
尿酸	-0.219	0.115	-0.166	0.235
FPG	-0.296	0.032	-0.275	0.047
FINS	-0.271	0.049	-0.301	0.028
HbA1c	-0.215	0.122	-0.264	0.056
HOMA-R	-0.276	0.046	-0.297	0.031
血清 IL-37 水平	0.341	0.012	—	—

注:—表示无数据。

3 讨论

BETTINI 等^[6]通过建立 NOD. RIP-IL35 转基因小鼠模型,使 IL-35 仅在胰岛 β 细胞内特异性表达,来探讨其对自身免疫性糖尿病发病的影响及机制,经研究发现,在 NOD 小鼠上,IL-35 可以抑制原发性和继发性自身免疫性糖尿病的发生。CONWAY 等^[7]研究表明,1 型糖尿病(T1DM)患者的血清中 IL-35 的表达显著降低,且 IL-35 可通过抑制 T1DM 鼠模型的炎症反应等改善和控制大鼠的血糖水平。另有研究显示 IL-37 可以防御小鼠肥胖引起的炎症和胰岛素抵抗,而中央型肥胖是 T2DM 发病的环境因素之一^[8]。这些研究都表明 IL-35 和 IL-37 在 T2DM 的病因和发病机制中可能起到保护作用。但从临床 T2DM 患者的角度去探讨 IL-35 和 IL-37 的表达水平及是否起到保护作用的研究目前报道甚少,考虑到许多 T2DM 患者在治疗过程中受到药物或其他因素的影响,对 IL-35 和 IL-37 表达水平量可能存在较大影响,因此本文把研究对象设定为初发 T2DM 患者。从研究情况来看,初发 T2DM 组血清 IL-35 和 IL-37 的水平明显低于健康对照组,这表明 IL-35 和 IL-37 在 T2DM 发病初期是处于下调状态的,这与 IL-35 和 IL-37 在一些其他炎症性疾病如炎症性肠病、心肌炎和支气管哮喘急性发作期等的表达水平也呈现下调相类似,可能促使其在 T2DM 发病初期炎症负向调节作用中表达水平量出现明显减少^[9-11]。

并发冠心病是 T2DM 患者死亡的重要原因之一,大部分 T2DM 患者存在早期冠状动脉粥样硬化,当二者合并时,常呈现广泛的弥散性病变,表现为更差的预后和更高的死亡率^[12]。本研究中初发 T2DM 并发冠心病人群血清 IL-35 和 IL-37 的水平显著低于无并发冠心病人群。IL-35 和 IL-37 在肿瘤、炎症和自身

免疫性疾病等疾病中发挥重要作用,往往与疾病的严重程度及预后存在相关性。T2DM 合并冠心病人群血清 IL-35 和 IL-37 水平的降低,表面可能导致相对单纯 T2DM 更严重的抑炎/促炎过程的失衡,进一步促进疾病的发生。

目前,IL-35 被认为在治疗风湿^[13]、慢性阻塞性肺疾病^[14]和心肌炎^[7]等疾病中可能有较好的运用价值,同时被认为可以成为判断治疗效果和预测预后的重要指标。IL-37 同样被认为能缓解哮喘的过敏性炎症,可以减少炎症细胞的浸润,并可以减轻气道高反应性^[15]。在炎症性疾病中,IL-37 能够抑制脂多糖诱导的 DC 的炎症细胞因子的分泌和炎症细胞因子基因的表达,还能降低 Toll 样受体激动剂刺激产生的炎症因子,从而起到抑制固有免疫的作用^[16]。IL-37 被认为也是一个可以作为治疗某些肿瘤、过敏性和炎症性疾病来开发的细胞制剂,并且在疾病预后疗效的判断方面被认为有重要的价值^[17]。本研究着重分析了 T2DM 患者 IL-35 和 IL-37 与血脂谱、尿酸及糖尿病常规检测指标之间的相关性,寻找 IL-35 和 IL-37 作为糖尿病疗效判断指标的可能性。结果显示 IL-35 和 IL-37 与 FPG、FINS 和 HOMA-R 存在一定的负相关性,而与血脂谱相关指标、尿酸和 HbA1c 相关性较弱或无相关。这进一步证实了 IL-35 和 IL-37 在 T2DM 病因及发病机制可能有一定的保护作用,可能也能成为判断糖尿病疗效的重要指标之一。

综上所述,初发 T2DM 患者血清中 IL-35 和 IL-37 的水平表达比健康对照呈现下调状态,其可能在 T2DM 病因及发病机制中起保护作用。

参考文献

- [1] BEKELE B B, NEGASH S, BOGALE B, et al. Effect of diabetes self-management education (DSME) on glycated hemoglobin (HbA1c) level among patients with T2DM: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Diabetes Metab SYND, 2021, 15(1): 177-185.
- [2] GONG Y Y, PENG H Y. Correlation analysis of epicardial adipose tissue thickness, C-reactive protein, interleukin-6, visfatin, juxtaposed with another zinc finger protein 1, and type 2 diabetic macroangiopathy[J]. Lipids Health Dis, 2021, 20(1): 1-10.
- [3] PRADHAN A D, MANSON J A E, RIFAI N, et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus[J]. JAMA, 2001, 286(3): 327-334.
- [4] WU C, YUAN Y, LIU H, et al. Epidemiologic relationship between periodontitis and type 2 diabetes mellitus[J]. BMC Oral Health, 2020, 20(1): 1-15.
- [5] SHEN P, ROCH T, LAMPROPOULOU V, et al. IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases[J]. Nature, 2014, 507(7492): 366-370.
- [6] BETTINI M, CASTELLAW AH, LENNON G P, et al.

- Prevention of autoimmune diabetes by ectopic pancreatic beta-cell expression of interleukin-35[J]. *Diabetes*, 2012, 61(6):1519-1526.
- [7] CONWAY D S, THOMPSON N R, COHEN J A. Influence of hypertension, diabetes, hyperlipidemia and obstructive lung disease on multiplesclerosis disease course[J]. *Mult Scler*, 2017, 23(2):277-285.
- [8] BALLAK D B, VAN DIEPEN J A, MOSCHEN A R, et al. IL-37 protects against obesity-induced inflammation and insulin resistance[J]. *Nat Commun*, 2014, 5(1):1-13.
- [9] FONSECA-CAMARILLO G, FURUZAWA-CARBALLE DA J, YAMAMOTO-FURUSHO J K. Interleukin 35 (IL-35) and IL-37: intestinal and peripheral expression by T and B regulatory cells in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Cytokine*, 2015, 75(2):389-402.
- [10] ALLAM G, GABER A M, OTHMAN S I, et al. The potential role of interleukin-37 in infectious diseases; role of IL-37 in HIV-1, viral myocarditis, HCV, HBV, tuberculosis, leprosy, pneumonia, listeria, aspergillosis, candidiasis, and eumycetoma infection[J]. *Int Rev Immunol*, 2020, 39(1):3-10.
- [11] HU D. Role of anti-inflammatory cytokines IL-35 and IL-37 in asthma[J]. *Inflammation*, 2017, 40(2):697-707.
- [12] MANSOUR M, AL-NOZHA, HUSSEIN M, et al. Coronary artery disease and diabetes mellitus[J]. *J Taibah Univ Med Sc*, 2016, 11(4):330-338.
- [13] SAKKAS L I, MAVROPOULOS A, PERRICONE C, et al. IL-35: a new immunomodulator in autoimmune rheumatic diseases[J]. *Immunol Res*, 2018, 66(3):305-312.
- [14] PONCE-GALLEGOS M A, PÉREZ-RUBIO G, AMBROCIO-ORTIZ E, et al. Genetic variants in IL17A and serum levels of IL-17A are associated with COPD related to tobacco smoking and biomass burning[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):1-11.
- [15] LV J, XIONG Y, LI W, et al. IL-37 inhibits IL-4/IL-13-induced CCL 11 production and lung eosinophilia in murine allergic asthma[J]. *Allergy*, 2018, 73(8):1642-1652.
- [16] LIU J X, LIAO B, YU Q H, et al. The IL-37-Mex3B-Toll-like receptor 3 axis in epithelial cells in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *J Aller Clin Immun*, 2020, 145(1):160-172.
- [17] HUANG G, LI M, TIAN X, et al. The emerging roles of IL-36, IL-37, and IL-38 in diabetes mellitus and its complications[J]. *Endoc Metab Immune*, 2022, 122(10):997-1008.

(收稿日期:2022-02-10 修回日期:2022-08-20)

• 短篇论著 •

心电图参数联合外周血 miR-21、miR-133a、miR-150 检测对急性心肌梗死的诊断价值*

张敏敏¹, 郑蒙蒙^{2△}

1. 淮安市第二人民医院心电图室, 江苏淮安 223001; 2. 涟水县人民医院呼吸内科, 江苏淮安 223499

摘要:目的 探讨心电图参数联合外周血微小 RNA(miRNA)-21、miR-133a、miR-150 检测对急性心肌梗死(AMI)的诊断价值及与心肌纤维化的关联性。**方法** 选取该院 74 例 AMI 患者作为研究组,另选健康体检者 74 例作为对照组。比较两组心肌纤维化指标、心电图参数、外周血 miRNA 水平,分析心电图参数、外周血 miRNA 与心肌纤维化指标的相关性,并分析心电图参数、外周血 miRNA 对 AMI 的诊断价值。**结果** 研究组 QT 间期离散度(QTD)、层黏连蛋白(LN)、透明质酸(HA)、转化生长因子-β1(TGF-β1)、miR-21、miR-133a、miR-150 及 CTnT 水平均高于对照组,且 AMI 患者心电图参数 QTD、外周血 miR-21、miR-133a、miR-150 均与心肌纤维化指标 LN、HA、TGF-β1 及 CTnT 呈正相关($P < 0.05$);心电图参数 QTD、外周血 miR-21、miR-133a、miR-150 诊断 AMI 的曲线下面积(AUC)分别为 0.878(95%CI:0.814~0.926)、0.763(95%CI:0.686~0.829)、0.843(95%CI:0.775~0.898)、0.808(95%CI:0.735~0.868),各指标联合诊断的 AUC 最大,为 0.900(95%CI:0.841~0.944),最佳诊断灵敏度、特异度分别为 86.49%、81.08%。**结论** 心电图参数 QTD 联合外周血 miR-21、miR-133a、miR-150 在 AMI 诊断方面具有较高诊断效能,且与心肌纤维化指标密切相关。

关键词:急性心肌梗死; 心电图; 微小 RNA; 心肌纤维化; 诊断**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.01.022**中图法分类号:**R542.22**文章编号:**1673-4130(2023)01-0112-05**文献标志码:**A

急性心肌梗死(AMI)是冠状动脉急性闭塞引起的心肌缺血性坏死,具有起病急骤、进展迅速、致残致

死率高等特点,及时再通梗死冠状动脉、恢复心肌血流灌注对挽救濒死心肌、改善患者预后至关重要^[1-2]。

* 基金项目:江苏省优势学科建设工程项目(YSHL0803-441)。

△ 通信作者, E-mail:hepsar8448@21cn.com。