

· 临床研究 ·

2 型糖尿病肾病患者血清 HPA 及 IL-2 水平变化的临床意义*

甘华侠¹, 熊琪辉², 刘建英¹

(1. 南昌大学第一附属医院内分泌科, 南昌 330006; 2. 南昌大学第三附属医院北院内科, 南昌 330006)

摘要:目的 探讨 2 型糖尿病(T2DM)肾病患者血清乙酰肝素酶(HPA)及白细胞介素-2(IL-2)水平的变化及其临床意义。

方法 依据 24 h 尿清蛋白排泄率(UAER)将 67 例 T2DM 患者分为 3 组:NA 组 25 例(初诊 2 型糖尿病组,UAER<30 mg/24 h),MA 组 22 例(微量清蛋白尿组,UAER 30~300 mg/24 h);ODN 组 20 例(大量清蛋白尿组,UAER>300 mg/24 h)。选取糖耐量正常者 20 例为对照组(NC 组)。用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测所有研究对象血清 HPA 及 IL-2 表达水平,并对相关临床资料进行统计学分析。**结果** ODN 组的血清 HPA、IL-2 水平最高,其次为 MA 组,再次为 DM 组,而 NC 组最低,各组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** (1)血清 HPA、IL-2 表达水平与糖尿病肾病的发生、发展呈正相关,也许可作为预测及判断糖尿病肾病严重程度的重要指标之一;(2)在初诊 T2DM 患者及 T2DM 肾病患者中,血清 HPA 与 IL-2 的表达水平具有相同趋势变化关系。

关键词:糖尿病,2 型;肾病;白细胞介素 2;乙酰肝素酶

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.06.009

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)06-0624-03

Clinical significance of changes on serum heparanase and interleukin-2 levels in type 2 diabetic nephropathy patients*

Gan Huaxia¹, Xiong Qihui², Liu Jianying¹

(1. Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China;

2. Department of Internal Medicine, Third Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

Abstract: Objective To investigate and evaluate serum levels of heparanase(HPA)and interleukin-2(IL-2) in type 2 diabetic mellitus (T2DM) nephropathy patients. **Methods** 67 T2DM patients were divided into three groups according to the level of urine albumin excretion rate (UAER): 25 patients in NA group (onset T2DM group, UAER<30 mg/24 h), 22 patients in MA group (microalbuminuria group, UAER 30—300 mg/24 h), and 20 patients in ODN group (macroalbuminuria group, UAER>300 mg/24 h). 20 persons with normal glucose tolerance were selected as the control group (NC group). Serum HPA and IL-2 levels were measured by ELISA. Clinical materials were collected simultaneously and analyzed statistically. **Results** The serum levels of HPA and IL-2 were significantly higher in ODN group(overt diabetic nephropathy)than those of the other three groups($P<0.05$). The serum levels of HPA and IL-2 were significantly higher in MA group(diabetic nephropathy with Microalbuminuria)than those in NA group(onset type 2 diabetes)($P<0.05$). And the serum levels of HPA and IL-2 in normal NC group was least. **Conclusion** (1)Serum HPA and IL-2 levels are related with the development of type 2 diabetic nephropathy, and serum HPA and IL-2 levels could be used as effective serological indicators for the severity of type 2 diabetic nephropathy;(2)The serum levels of HPA and IL-2 have the same trend of change in T2DM and type 2 diabetic nephropathy patients.

Key words: diabetes mellitus, type 2; nephrosis; interleukin-2; heparanase

随着我国社会经济的进步和人民生活水平的不断提高,2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的患病率也迅速上升^[1]。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是常见的 T2DM 微血管并发症之一,也是导致糖尿病患者死亡的主要原因之一。目前多认为 DN 属于一种以蛋白尿为临床特点的肾小球疾病,但其发病机制尚未完全明确^[2]。基于目前关于糖尿病及其并发症发生、发展的炎症学说的讨论越来越广泛^[3-4],本研究对无并发症的初发 T2DM 患者及 T2DM 肾病患者血清中的乙酰肝素酶(heparanase, HPA)、白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)进行了检测和观察。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 9 月至 2012 年 1 月南昌大学第一附

属医院收治的 67 例 T2DM 患者,符合 WHO 1999 年制订的 T2DM 诊断标准,除外各种急性慢性感染性疾病、糖尿病酮症、非糖尿病性肾脏疾病、肝脏疾病、Graves 病、肺间质纤维化、结缔组织病及肿瘤等。依据 24 h 尿清蛋白排泄率(UAER)将 67 例 T2DM 患者分为 3 组,其中初发 T2DM 组(NA 组,UAER<30 mg/24 h)25 例,男 15 例,女 10 例;微量清蛋白尿组(MA 组,UAER 30~300 mg/24 h)22 例,男 8 例,女 14 例;大量清蛋白尿组(ODN 组:UAER>300 mg/24 h)20 例,男 12 例,女 8 例。选取糖耐量正常者 20 例作对照组(NC 组),男 10 例,女 10 例,均为健康体检者,无心脑血管病、肝病、肾病等,无高血压及糖尿病家族史,临床基础检查及生化指标等无显著异常。

1.2 研究方法 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测研究对

* 基金项目:江西省教育厅科学技术研究资助项目(GJJ12104)。

作者简介:甘华侠(1973~),副主任医师,硕士,主要从事糖尿病及其并发症研究。

象的血清 HPA、IL-2, ELISA 试剂盒购自上海西塘生物技术有限公司, 严格按说明书操作。测量研究对象的血压, 计算 BMI, 对 T2DM 患者询问病程。采用美国 Beckman COULTER 公司的生化检测仪检测研究对象的静脉空腹血糖 (FBG)、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、血尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、尿酸 (UA); 用高效液相法检测其 HbA1c; 连续留取 3 次不同日的 24 h 尿液, 采用放射免疫计数法, 分别测定 24 h 尿清蛋白, 并计算 3 次尿清蛋白的平均值作为 DN 诊断与分型的指标, 计算 UAER。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件, 计量资料比较用 *t* 检验、方差分析, 相关性检验采用 Pearson 相关分析法及多元线性逐步回归分析法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 UAER 及血清 HPA、IL-2 水平比较 ODN 组的血清 HPA、IL-2 水平最高, 其次为 MA 组, 再次为 NA 组, NC 组最低, 各组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), HPA 和 IL-2 具有相同变化趋势。见表 1。

2.2 各组病程、BMI、血压比较 见表 2。

2.3 各组 FPG、HbA1c、BUN、Cr、UA 水平比较 见表 3。

2.4 各组血脂水平比较 见表 4。

表 1 各组 UAER 及血清 HPA、IL-2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	UAER(mg/24 h)	HPA(ng/mL)	IL-2(pg/mL)
NC 组	20	—	32.95 ± 3.81	28.22 ± 2.23
NA 组	25	3.4 ± 1.8	49.02 ± 3.39*	30.40 ± 2.55*
MA 组	22	197.0 ± 25.9 [△]	66.38 ± 6.39* [△]	40.45 ± 3.01* [△]
ODN 组	20	560.0 ± 132.6 ^{▲▲}	85.02 ± 3.29* ^{△▲}	55.77 ± 3.24* ^{△▲}

*: $P < 0.05$, 与 NC 组相比; [△]: $P < 0.05$, 与 NA 组相比; [▲]: $P < 0.05$, 与 MA 组相比; —: 此项无数据。

表 2 各组病程、BMI、血压比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	病程(年)	BMI (kg/m ²)	收缩压 (mm Hg)	舒张压 (mm Hg)
NC 组	20	—	22.7 ± 3.1	122.4 ± 16.1	81.4 ± 7.3
NA 组	25	4.8 ± 1.7	24.6 ± 2.2	129.1 ± 12.7*	80.8 ± 9.2
MA 组	22	6.6 ± 2.2 [△]	24.4 ± 3.1	141.7 ± 17.7 [#]	88.1 ± 11.1
ODN 组	20	9.9 ± 4.2 ^{▲▲}	25.4 ± 4.0	145.9 ± 17.8 [#]	90.5 ± 18.0

*: $P < 0.05$, [#]: $P < 0.01$, 与 NC 组相比; [△]: $P < 0.01$, 与 NA 组相比; [▲]: $P < 0.01$, 与 MA 组相比; —: 此项无数据。

表 3 各组 FPG、HbA1c 及 BUN、Cr、UA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	UA(mmol/L)
NC 组	20	4.23 ± 0.43	5.07 ± 0.51	3.21 ± 1.47	65.73 ± 23.93	261.76 ± 43.24
NA 组	25	8.39 ± 1.89 [#]	9.55 ± 2.15 [#]	4.32 ± 1.82	67.56 ± 33.61	265.83 ± 70.48
MA 组	22	9.09 ± 2.10 [#]	10.20 ± 2.44 [#]	6.92 ± 2.97	88.97 ± 24.34* [△]	291.63 ± 100.29
ODN 组	20	7.82 ± 3.43 [#]	7.69 ± 2.24 [#]	26.54 ± 12.98 [#] □▲	274.17 ± 72.86 [#] □▲	323.07 ± 48.02 [#] □▲

*: $P < 0.05$, [#]: $P < 0.01$, 与 NC 组相比; [△]: $P < 0.05$, [□]: $P < 0.01$, 与 NA 组相比; [▲]: $P < 0.01$, 与 MA 组相比。

表 4 各组血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	<i>n</i>	TG	TC	HDL-C	LDL-C
NC 组	20	1.32 ± 0.36	4.72 ± 0.15	1.54 ± 0.39	2.68 ± 0.39
NA 组	25	1.71 ± 0.53*	5.09 ± 1.50*	1.18 ± 0.35 [#]	3.18 ± 1.20*
MA 组	22	2.79 ± 1.20 [#]	5.50 ± 1.08 [#]	1.28 ± 0.32 [#]	3.95 ± 0.82 [#] △
ODN 组	20	3.20 ± 1.52 [#]	5.54 ± 1.55 [#]	0.94 ± 0.22 [#]	4.14 ± 1.30 [#] △▲

*: $P < 0.05$, [#]: $P < 0.01$, 与 NC 组相比; [△]: $P < 0.05$, 与 NA 组相比; [▲]: $P < 0.05$, 与 MA 组相比。

2.5 HPA、IL-2 水平与其他指标的相关性 Pearson 相关分析法显示: T2DM 患者血清 HPA 水平与 IL-2、UAER、收缩压、LDL-C、病程呈正相关 (r 分别为 0.875、0.897、0.436、0.514、0.602, $P < 0.05$), 与 FPG、HbA1c 等其他指标无明显相关 ($P > 0.05$); T2DM 患者血清 IL-2 水平与 HPA、UAER、收缩压、LDL-C、病程呈正相关 (r 分别为 0.875、0.916、0.415、0.438、0.532, $P < 0.05$), 与 FPG、HbA1c 等其他指标无明显相关 ($P > 0.05$)。

以 UAER 为因变量, 以 HPA、IL-2 为自变量, 进行多元线性逐步回归分析显示, HPA、IL-2 是 UAER 的独立相关因素, 决定系数 r^2 分别为 0.836、0.868, $P < 0.05$ 。

3 讨 论

近年来有学者认为炎症因子可能影响了糖尿病及其并发

症的发生、发展^[5-8]。乙酰硫酸肝素盐蛋白聚糖 (HSPGs) 是一种广泛存在于肾小球基底膜上的蛋白聚糖类化合物, 其降解后可能破坏肾小球基底膜结构和电荷屏障, 进而导致蛋白的漏出^[9]。而 HPA 是目前所发现的, 在人体内惟一能特异性降解 HSPGs 上带有丰富负电荷的乙酰硫酸侧链的糖苷内切酶^[10]。HPA 的表达异常可能与多种肾小球性疾病的发生、发展存在关联^[11]。IL-2 是一种多效能的细胞因子, 学界已普遍认为其具有促进细胞增殖、凋亡, 影响多种免疫细胞的功能^[12]。因为有研究发现 IL-2 在维持调节性 T 细胞功能方面具有重要作用^[13], 而再次引起研究者的重视。

本研究发现, NA 组、MA 组、ODN 组的血清 HPA、IL-2 水平显著高于 NC 组, 且各组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 并且相关性分析及回归分析显示血清 HPA、IL-2 水平与 UAER

水平呈正相关,HPA、IL-2 二者之间亦呈正相关。这一结果表明,HPA、IL-2 这两个炎症细胞因子也许通过共同参与调节 T2DM 患者肾小球对于清蛋白的滤过而影响 T2DM 患者 DN 的发生、发展;推测血清 HPA、IL-2 表达水平也许与 DN 的发生、发展相关。John 等^[14]研究发现,IL-2 表达于人类血管内皮和平滑肌细胞,并经 HPA 作用后以具有生物活性的形式释放,可解释本研究所观察到的,血清 HPA 与 IL-2 水平改变存在一定的相关性的原因。而初发 T2DM 患者的血清 HPA 水平高于健康人群,说明其血清 HPA 水平的异常增高可能先于微量清蛋白尿的发生,这一研究结果与 Itay 等^[15]的研究相一致,即认为 HPA 在 DN 的发生、发展中起一定作用。本研究还显示,HPA、IL-2 与糖尿病病程、收缩压呈正相关,而与 FBG、HbA1c 无显著性相关,表明血清 HPA、IL-2 改变可能并不是短、中期血糖波动的结果,而是一个较长期的过程,病程和收缩压可能是影响血清 HPA、IL-2 水平的重要因素。

综上所述,血清 HPA、IL-2 表达水平与 DN 的发生、发展呈正相关,也许可作为预测及判断 DN 严重程度的重要指标之一;在初诊 T2DM 患者及 T2DM 肾病患者中,血清 HPA 与 IL2 的表达水平具有相同趋势变化关系。

参考文献:

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12):1090-1101.
- [2] Dronavalli S, Duka I, Bakris GL. The pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2008, 4(8):444-452.
- [3] Navarro JF, Mora C. Diabetes inflammation, proinflammatory cytokines, and diabetic nephropathy[J]. *Sci World J*, 2006, 6(10):908-917.
- [4] Ray A, Huisman MV, Amsma JT, et al. The role of inflammation on atherosclerosis, intermediate and clinical cardiovascular endpoints in type 2 diabetes mellitus[J]. *Eur J Intern Med*, 2009, 20(3):253-260.
- [5] Leinonen ES, Hiukka A, Hurt-Camejo E, et al. Lowgrade inflammation, endothelial activation and carotidintima-media thickness in type 2 diabetes [J]. *J Intern Med*,

2004, 256(2):119-127.

- [6] Hwang JS, Wu TL, Chou SC, et al. Development of multiple complications in type 2 diabetes is associated with the increase of multiple markers of chronic inflammation[J]. *J Clin Lab Anal*, 2008, 22(1):6-13.
- [7] Mora C, Navarro JF. Inflammation and diabetic nephropathy[J]. *Curr Diab Rep*, 2006, 6(6):463-468.
- [8] Katherine R. Linking metabolism and immunology: Diabetic nephropathy is an inflammatory disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(6):1537-1538.
- [9] Sarrazin S, Lamanna WC, Esko JD. Heparan sulfate proteoglycans[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(7):4952-4960.
- [10] Freeman C, Parish CR. A rapid quantitative assay for the detection of mammalian heparanase activity[J]. *Biochem J*, 1997, 325(1):229-237.
- [11] Maciej S, Jakub K, Marian K. The role of heparanase in diseases of the glomeruli[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2010, 58(1):45-56.
- [12] Lan RY, Selmi C, Gershwin ME. The regulatory, inflammatory, and T cell programming roles of interleukin-2(IL-2)[J]. *J Autoimmun*, 2008, 31(1):7-12.
- [13] Setoguchi R, Hori S, Takahashi T, et al. Homeostatic maintenance of natural Foxp3(+) CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by interleukin(IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(5):723-735.
- [14] John DM, Suzanne EC, Deandra RS, et al. Interleukin-2 is present in human blood vessels and released in biologically active form by heparanase[J]. *Immunol Cell Biol*, 2012, 90(2):159-167.
- [15] Itay S, Neta I, Samih Z, et al. Heparanase levels are elevated in the urine and plasma of type 2 diabetes patients and associate with blood glucose levels[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(2):e17312.

(收稿日期:2012-10-17 修回日期:2012-11-07)

(上接第 623 页)

- [5] 林摇川,熊摇希,杨摇君,等.慢性宫颈炎定义与治疗方法的历史沿革[J].*医学综述*,2012,18(9):1330-1332.
- [6] 薛凤霞,耿女.《2010 年美国 CDC 关于宫颈炎症的诊治规范》解读[J].*国际妇产科学杂志*,2011,38(6):530-530.
- [7] 罗晔,唐大川,罗海燕,等.壳聚糖在医药领域的应用研究[J].*海峡药学*,2009,21(5):12-17.
- [8] 万荣欣,顾汉卿.壳聚糖及其衍生物抗菌性能的研究进展[J].*透析与人工器官*,2010,21(2):36-40.
- [9] 郭亮生,胡敏,程云霞.壳聚糖宫颈抗菌膜对宫颈环形电切术后创面愈合的影响[J].*山东医药*,2011,51(6):40-41.

- [10] 傅小英,周琴,金芬园.壳聚糖宫颈抗菌膜联合爱宝治疗宫颈糜烂的临床疗效观察[J].*海峡药学*,2012,24(2):121-122.
- [11] 李润铭,邓顺周.甲壳素及壳聚糖在医药领域的应用研究进展[J].*食品与药品*,2007,9(12):50-53.
- [12] 李红儿.聚焦超声联合壳聚糖抗菌膜治疗重度宫颈糜烂疗效观察[J].*浙江中西医结合杂志*,2011,21(3):178-179.
- [13] 廖红,董志,傅洁民.甲壳素及其衍生物在烧伤、烫伤方面的作用及应用[J].*西部药学*,2004,1(1):32-33.

(收稿日期:2012-10-16 修回日期:2012-12-02)