

## · 论著 ·

# NK 细胞数量在 2 型糖尿病患者外周血中的变化及临床意义

肖叔敏 叶翠 周赛君 于珮

天津医科大学代谢病医院肾病透析科, 国家卫生健康委员会激素与发育重点实验室 (天津医科大学), 天津市代谢性疾病重点实验室, 天津医科大学代谢病医院内分泌研究所 300070

通信作者: 于珮, Email: yupeit@tjmu.edu.cn

**【摘要】 目的** 观察 2 型糖尿病 (T2DM) 患者不同情况下外周血中自然杀伤细胞 (NK 细胞) 及自然杀伤 T 细胞 (NKT 细胞) 的数量变化, 分析其与 T2DM 心血管并发症的关系。**方法** 纳入 2015 年 6 月—2016 年 2 月于天津医科大学代谢病医院住院治疗的 T2DM 患者 124 例 (T2DM 组) 和年龄、性别相匹配的天津医科大学总医院空港医院的健康体检者 50 名 (NC 组), 于清晨空腹抽取外周静脉血, 流式细胞仪检测 T2DM 组及 NC 组外周血中 NK 细胞数量和 NKT 细胞数量, 并按照病程长短及是否合并心血管并发症分亚组, 分别观察 NK 细胞数量和 NKT 细胞数量在 T2DM 不同病程、有无心血管并发症存在时的变化。**结果** T2DM 组 NK 细胞数量及 NKT 细胞数量较 NC 组明显下降 ( $t=4.63$ 、 $5.38$ ,  $P$  均  $<0.01$ )。T2DM 患者外周血中 NK 细胞数量与年龄和病程呈负相关 ( $r=-0.36$ 、 $-0.38$ ,  $P$  均  $<0.05$ ), 病程  $>8$  年组 NK 细胞数量较病程  $\leq 8$  年组明显降低 ( $F=20.15$ ,  $P<0.01$ )。NKT 细胞数量与年龄、稳态模型评估-胰岛素抵抗指数、甘油三酯、极低密度脂蛋白-胆固醇呈负相关 ( $r=-0.20$ 、 $-0.49$ 、 $-0.29$ 、 $-0.28$ ,  $P$  均  $<0.05$ ), 与高密度脂蛋白-胆固醇、估算的肾小球滤过率呈正相关 ( $r=0.18$ 、 $0.22$ ,  $P$  均  $<0.05$ )。T2DM 伴冠心病组 NKT 细胞数量较 T2DM 不伴冠心病组有下降趋势 ( $F=20.37$ ,  $P<0.05$ ), 而 NK 细胞数量较 T2DM 不伴冠心病组明显下降 ( $F=33.90$ ,  $P<0.01$ )。NK 细胞监测 T2DM 伴冠心病患者的受试者工作特征 (ROC) 曲线下面积为  $0.92$ ,  $95\%$   $CI$  为  $0.84\sim0.99$ , 敏感性  $90.9\%$ , 特异性  $80.5\%$ 。**结论** T2DM 患者外周血中 NK 细胞及 NKT 细胞数量下降, NK 细胞数量对 T2DM 心血管并发症有监测价值。

**【关键词】** NK 细胞; 2 型糖尿病; 免疫炎症; 心血管并发症

**基金项目:** 国家自然科学基金青年项目 (81600643); 天津市自然科学基金面上项目 (17JCYBJC27000); 天津市自然科学基金重点项目 (18JCZDJC32900)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.03.001

**Changes of the number of NK cells in peripheral blood of patients with type 2 diabetes mellitus and its clinical significance** Xiao Shumin, Ye Cui, Zhou Saijun, Yu Pei. Department of Nephrology and Dialysis, NHC Key Laboratory of Hormones and Development (Tianjin Medical University), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, The Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Yu Pei, Email: yupeit@tjmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the changes of the number of natural killer cells (NK cells) and natural killer T cells (NKT cells) in peripheral blood in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) under different conditions, and to analyze their relationship with cardiovascular complications of T2DM. **Methods** From June 2015 to February 2016, 124 T2DM patients (T2DM group) who were hospitalized in the Metabolic Diseases Hospital of Tianjin Medical University were included and 50 healthy subjects (NC group) matching with age and gender in the Airport Hospital of Tianjin Medical University General Hospital were included. Fasting peripheral venous blood was extracted. The number of NK cells and NKT cells in peripheral blood of T2DM group and NC group were detected by flow cytometry. All patients were then further

divided into subgroups according to their diabetic duration and with or without cardiovascular diseases. The changes in the number of NK cells and NKT cells in T2DM with different disease course and with or without cardiovascular complications were observed. **Results** The number of NK cells and NKT cells in T2DM group were decreased significantly compared with NC group ( $t=4.63, 5.38$ , all  $P<0.01$ ). The number of NK cells in peripheral blood of T2DM patients was negatively correlated with age and disease course ( $r=-0.36, -0.38$ , all  $P<0.05$ ). The number of NK cells in the group with a disease course greater than 8 years was significantly lower than that in the group with a disease course less than or equal to 8 years ( $F=20.15, P<0.01$ ). The number of NKT cells was negatively correlated with age, homeostasis model assessment of insulin resistance, triglyceride and very low density lipoprotein cholesterol level ( $r=-0.20, -0.49, -0.29, -0.28$ , all  $P<0.05$ ), and positively correlated with the level of high density lipoprotein cholesterol and estimated glomerular filtration rate ( $r=0.18, 0.22$ , all  $P<0.05$ ). In T2DM with coronary heart disease (CHD) group, the number of NKT cells was lower than that in T2DM without CHD group ( $F=20.37, P<0.05$ ), while the number of NK cells was significantly lower than that in T2DM without CHD group ( $F=33.90, P<0.01$ ). The area under the receiver operating characteristics (ROC) curve of NK cells predicting T2DM patients with CHD was 0.92 (95% CI: 0.84-0.99) with 90.9% sensitivity and 80.5% specificity. **Conclusion** The number of NK cells and NKT cells in peripheral blood in patients with T2DM are decreased, and the number of NK cells is of monitoring value for cardiovascular complications of T2DM.

**【Key words】** Natural killer cells; Type 2 diabetes mellitus; Immune inflammation; Cardiovascular complications

**Fund program:** National Natural Science Foundation for Young Scientists of China (81600643); Tianjin Natural Science Foundation of China (17JCYBJC2700); Tianjin Natural Science Foundation of China (18JCZDJC32900)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.03.001

2 型糖尿病 (T2DM) 发病机制错综复杂, 尚不明确, 且慢性并发症较多, 严重影响患者的生活质量; 其中, 心血管并发症是糖尿病常见的大血管并发症之一, 也是最常见的糖尿病患者死亡的原因<sup>[1-2]</sup>。以往研究表明, T2DM 与免疫炎症反应关系密切, 且“免疫-代谢”学说也已成为研究 T2DM 及其慢性并发症发生、发展的新热点<sup>[3]</sup>。自然杀伤细胞 (NK 细胞) 参与机体固有免疫, 其活化形式 NKT 细胞可以分泌多种细胞因子, 参与免疫过程<sup>[4-5]</sup>。以往研究发现, NK 细胞与 T2DM 有关, 但其在 T2DM 患者外周血中的变化及其与 T2DM 心血管并发症有何联系尚不明确<sup>[6-7]</sup>。为进一步探讨 T2DM 及其心血管并发症与免疫炎症反应的关系, 本研究选取 T2DM 患者和正常对照人群, 对其 NK 细胞及相关指标进行检测分析, 为临床监测 T2DM 及其心血管并发症提供新方法。

## 1 研究对象与方法

**1.1 研究对象** 选取于 2015 年 6 月—2016 年 2 月于天津医科大学代谢病医院住院治疗的 T2DM 患者 124 例作为 T2DM 组, 其中男性 74 例, 女性 50 例, 平均年龄 ( $55.4 \pm 11.8$ ) 岁。T2DM 诊断标准参考 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准。T2DM 伴冠心病的

诊断标准为: (1) 既往有心肌梗死病史或典型心绞痛病史, 专科医院或综合医院的心内科确诊为冠心病。 (2) 冠状动脉造影发现至少一支冠状动脉主要分支狭窄程度  $\geq 50\%$ 。 (3) 核素心肌显像检查结果提示有心肌缺血, 满足以上任何一条即可诊断冠心病。选取年龄、性别均匹配的天津医科大学总医院空港医院的 50 名健康体检志愿者作为对照组, 其中男性 28 名, 女性 22 名, 平均年龄 ( $52.5 \pm 8.3$ ) 岁。本研究经过医院伦理委员会批准, 所有受试者均签署了知情同意书, 均排除心、肝、脑等重要脏器重大疾病, 近 1 个月内无任何形式的感染、外伤、手术等应激情况。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 基本临床指标检测** 所有研究对象均完善个人详细信息, 禁食 12 h 后, 于次日清晨 7:30 ~ 8:30 空腹采取肘正中静脉血标本, 采用德国 Byer 公司的全自动生化分析仪检测血清甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C)、极低密度脂蛋白-胆固醇 (VLDL-C)、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、 $\gamma$  谷氨酰转氨酶、总胆红素、直接胆红素、血尿酸、血肌酐、尿素氮, 采用乳胶增强免疫比浊法检测 C 反应蛋白, 葡萄糖

氧化酶法检测空腹血糖及餐后 2 h 血糖(2 hPG),高压液相法测 HbA1c。稳态模型评估-胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = 空腹血糖 × 空腹胰岛素/22.5。估算的肾小球滤过率(eGFR)采用 CKD-EPI 公式计算。

1.2.2 外周血单个核细胞的分离 所有受试者留取空腹静脉血 3 ml 左右,用密度梯度离心法(Ficoll)分离外周血单个核细胞,具体步骤如下:

(1)在 EDTA 抗凝管中加入 3 ml 磷酸盐缓冲液(PBS),混匀。(2)取 3 ml 单个核细胞分离液加入到离心管中,25℃,离心半径 3 cm,4 000 r/min,离心 5 min,加入静脉血;25℃,离心半径 3 cm,2 000 r/min,再次离心 25 min。离心后可见 4 层,从上往下分别为血浆层、外周血单个核细胞层(白膜层)、单个核细胞分离液层、红细胞和粒细胞层。(3)吸取白膜层于新的离心管中,加入 5 ml PBS,混匀,4℃,离心半径 3 cm,1 400 r/min,离心 10 min。(4)弃上清,加入 5 ml PBS,混匀,4℃,离心半径 3 cm,1 400 r/min,离心 10 min。(5)重复上述步骤 1~2 次,弃上清,适当 PBS 重悬细胞,加入到细胞计数板上,倒置显微镜下观察。

1.2.3 NK 细胞的检测 取分离后的外周血单个核细胞,采用美国 BD 公司的 FACSCalibur 流式细胞仪检测 NK 细胞数量和 NKT 细胞数量。

1.3 统计学处理 运用 SPSS21.0 统计软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,非正态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)表示,两组间的计量资料比较采用独立样本  $t$  检验或 Mann-Whitney  $U$  秩和检验,多组间数据采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 单因素 ANOVA 秩和

检验。分类资料的组间比较采用  $\chi^2$  检验进行分析。采用 Pearson 相关分析两个正态分布计量资料的相关性,采用 Spearman 相关分析非正态分布计量资料与等级资料的相关性。采用多元线性回归分析连续性计量资料与多个计量资料间的相关性。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 NK 细胞对糖尿病慢性并发症的监测价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 T2DM 组与对照组临床资料比较 与对照组相比,T2DM 组直接胆红素、总胆固醇、甘油三酯、HbA1c、空腹血糖水平升高,HDL-C 水平下降( $P$  均  $< 0.01$ );两组间谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 $\gamma$  谷氨酰转移酶、总胆红素、LDL-C、尿素氮、血肌酐、血尿酸、C 反应蛋白差异均无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ ),见表 1。

2.2 T2DM 组与对照组 NK 细胞、NKT 细胞数量的比较及影响因素分析 NK 细胞为  $CD3^+ CD56^+$  细胞,NKT 细胞为  $CD3^+ CD56^+$  细胞(图 1)。与对照组相比,T2DM 组 NK 细胞和 NKT 细胞数量明显下降( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 2。双变量相关分析结果显示,T2DM 组 NK 细胞水平与年龄、病程呈负相关;NKT 细胞水平与年龄、HOMA-IR、甘油三酯、VLDL-C 呈负相关,与 HDL-C、eGFR 呈正相关,见表 3 和表 4。以 NK 细胞水平为因变量,年龄和病程为自变量进行多元回归分析,结果显示,病程与 NK 细胞水平呈负相关(表 5)。以 NKT 细胞水平为因变量,以年龄、HOMA-IR、甘油三酯、VLDL-C、HDL-C、eGFR 为自变量进行多元回归分析,结果显示 HOMA-IR 和 eGFR 与 NKT 细胞呈正相关,见表 6。

表 1 T2DM 组与对照组临床资料比较 [ $\bar{x} \pm s, M(Q25, Q75)$ ]

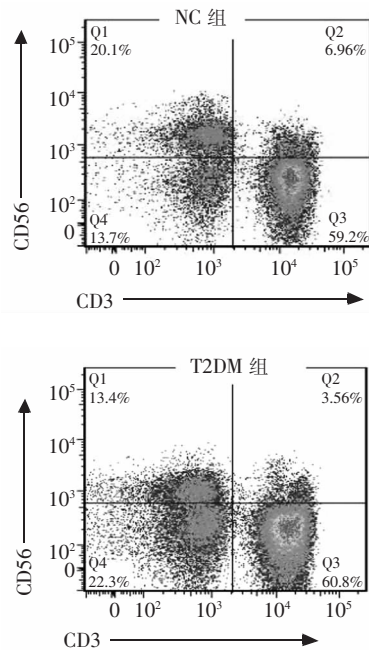
组别	例数	性别 (男/女)	年龄(岁)	谷丙转氨酶 (IU/L)	谷草转氨酶 (IU/L)	$\gamma$ 谷氨酰转移酶 (IU/L)	总胆红素 ( $\mu$ mol/L)
对照组	50	28/22	52.45 $\pm$ 8.26	17.60(12.40,22.60)	25.60 $\pm$ 14.44	33.80(22.15,58.90)	13.29 $\pm$ 5.54
T2DM 组	124	74/50	55.39 $\pm$ 11.85	20.50(14.70,31.10)	20.33 $\pm$ 16.01	25.20(18.60,39.20)	12.75 $\pm$ 5.63
$\chi^2/t/U$ 值		0.35	-1.62	2 464.00	1.18	3 252.00	0.57
$P$ 值		0.56	0.11	0.06	0.24	0.10	0.57

组别	例数	直接胆红素 ( $\mu$ mol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	尿素氮 (mmol/L)
对照组	50	1.89 $\pm$ 0.48	4.53 $\pm$ 1.03	1.37 $\pm$ 0.97	1.27 $\pm$ 0.25	3.14 $\pm$ 0.69	4.83 $\pm$ 1.28
T2DM 组	124	4.88 $\pm$ 2.78	5.04 $\pm$ 1.14	2.26 $\pm$ 2.05	1.12 $\pm$ 0.27	3.29 $\pm$ 0.93	5.49 $\pm$ 2.57
$\chi^2/t$ 值		-4.00	-2.75	-2.98	3.08	-0.93	-1.73
$P$ 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.36	0.09

组别	例数	血肌酐( $\mu$ mol/L)	血尿酸( $\mu$ mol/L)	空腹血糖(mmol/L)	HbA1c(%)	C 反应蛋白(mg/L)
对照组	50	63.25(51.18,71.38)	327.13 $\pm$ 80.22	5.10 $\pm$ 0.69	5.19 $\pm$ 0.42	0.61(0.38,1.17)
T2DM 组	124	25.20(18.60,39.20)	303.13 $\pm$ 90.82	8.49 $\pm$ 2.65	8.94 $\pm$ 2.09	1.90(0.95,4.35)
$\chi^2/t/U$ 值		2 397.00	1.64	-9.00	-12.70	2 464.00
$P$ 值		0.16	0.10	<0.01	<0.01	0.08

注:T2DM:2 型糖尿病;HDL-C:高密度脂蛋白-胆固醇;LDL-C:低密度脂蛋白-胆固醇

2.3 T2DM 不同病程组 NK 细胞、NKT 细胞数量的比较 与对照组相比, T2DM 病程  $\leq 8$  年组(短病程组)、T2DM 病程  $> 8$  年组(长病程组) NK 细胞和 NKT 细胞数量明显下降( $P$  均  $< 0.01$ ); 并且与短病程组相比, 长病程组 NK 细胞数量明显下降( $P < 0.01$ ), NKT 细胞下降无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表 7。



注: CD3: 分化簇 3; CD56: 分化簇 56; NC 组: 对照组; T2DM 组: 2 型糖尿病组; NK 细胞: 自然杀伤细胞; NKT 细胞: 自然杀伤 T 细胞

图 1 对照组与 T2DM 组 NK 细胞及 NKT 细胞流式图

表 2 T2DM 组与对照组 NK 细胞、NKT 细胞比较  
[ $\bar{x} \pm s, M(Q25, Q75)$ ]

组别	例数	NK 细胞(%)	NKT 细胞(%)
对照组	50	16.37 $\pm$ 6.60	4.27 (2.15, 7.38)
T2DM 组	124	11.54 $\pm$ 5.47	1.95 (1.55, 2.45)
$t/U$ 值		4.63	729.50
$P$ 值		$< 0.01$	$< 0.01$

注: NK 细胞: 自然杀伤细胞; NKT 细胞: 自然杀伤 T 细胞; T2DM 组: 2 型糖尿病组

表 3 T2DM 患者 NK 细胞与临床资料相关性分析

指标	$r$ 值	$P$ 值
年龄(岁)	-0.36	0.04
病程(年)	-0.38	$< 0.01$
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	-0.05	0.69
空腹血糖( $\text{mmol}/\text{L}$ )	0.03	0.72
2 hPG( $\text{mmol}/\text{L}$ )	0.03	0.70
HbA1c(%)	0.05	0.56

注: NK 细胞: 自然杀伤细胞; T2DM: 2 型糖尿病; BMI: 体重指数; 2 hPG: 餐后 2 h 血糖

表 4 T2DM 患者 NKT 细胞与临床资料相关性分析

指标	$r$ 值	$P$ 值
年龄(岁)	-0.20	0.02
病程(年)	-0.05	0.56
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	-0.05	0.67
空腹血糖( $\text{mmol}/\text{L}$ )	0.06	0.50
2 hPG( $\text{mmol}/\text{L}$ )	0.01	0.95
HbA1c(%)	-0.08	0.38
HOMA-IR	-0.49	0.01
甘油三酯( $\text{mmol}/\text{L}$ )	-0.29	$< 0.01$
VLDL-C( $\text{mmol}/\text{L}$ )	-0.28	$< 0.01$
HDL-C( $\text{mmol}/\text{L}$ )	0.19	0.04
eGFR [ $\text{ml}/(\text{min} \cdot 1.73\text{m}^2)$ ]	0.22	0.02

注: NKT 细胞: 自然杀伤 T 细胞; T2DM: 2 型糖尿病; BMI: 体重指数; 2 hPG: 餐后 2 h 血糖; HOMA-IR: 稳态模型评估-胰岛素抵抗指数; VLDL-C: 极低密度脂蛋白-胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白-胆固醇; eGFR: 估算的肾小球滤过率

表 5 T2DM 患者 NK 细胞相关因素的多元线性回归分析

指标	$B$	$SE$	$\beta$	$P$ 值
常量	13.467	0.760		$< 0.01$
病程(年)	-0.249	0.770	-0.278	$< 0.01$

注: NK 细胞: 自然杀伤细胞; T2DM: 2 型糖尿病

表 6 T2DM 患者 NKT 细胞相关因素的多元线性回归分析

指标	$B$	$SE$	$\beta$	$P$ 值
常量	-6.40	2.84		0.04
eGFR [ $\text{ml}/(\text{min} \cdot 1.73\text{m}^2)$ ]	0.05	0.02	0.45	0.02
HOMA-IR	-0.52	0.20	0.45	0.02

注: NKT 细胞: 自然杀伤 T 细胞; T2DM: 2 型糖尿病; eGFR: 估算的肾小球滤过率; HOMA-IR: 稳态模型评估-胰岛素抵抗指数

表 7 T2DM 不同病程组 NK 细胞及 NKT 细胞比较

组别	例数	NK 细胞(%)	NKT 细胞(%)
对照组	50	16.37 $\pm$ 6.60	4.27 (2.15, 7.38)
短病程组	61	13.41 $\pm$ 6.11 <sup>a</sup>	2.06 (1.53, 2.66) <sup>a</sup>
长病程组	63	9.73 $\pm$ 4.06 <sup>ab</sup>	1.86 (1.60, 2.11) <sup>a</sup>
$F/H$ 值		20.15	10.70
$P$ 值		$< 0.01$	$< 0.01$

注: 与 NC 组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 T2DM  $\leq 8$  年组相比, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; NK 细胞: 自然杀伤细胞; NKT 细胞: 自然杀伤 T 细胞; 短病程组: 2 型糖尿病病程  $\leq 8$  年组; 长病程组: 2 型糖尿病病程  $> 8$  年组

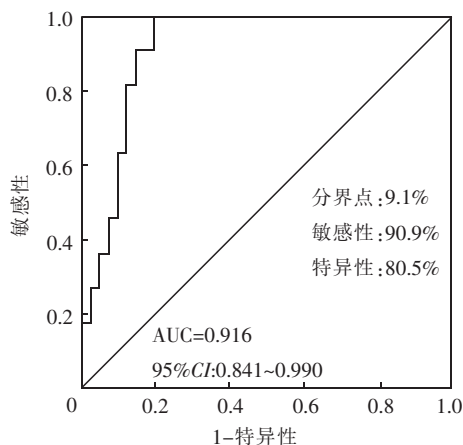
2.4 NK 细胞、NKT 细胞在 T2DM 伴冠心病患者中数量的变化及其监测价值 将 T2DM 按照有无并发症分为 T2DM 不伴冠心病组和 T2DM 伴冠心病组。与对照组相比, T2DM 不伴冠心病组 NK 细胞和 NKT 细胞数量下降( $P$  均  $< 0.05$ ); T2DM 伴冠心病组 NK 细胞和 NKT 细胞数量均明显下降( $P$  均  $< 0.01$ )。与 T2DM 不伴冠心病组相比, T2DM 伴冠心病组 NK 细胞数量显著下降( $P < 0.01$ ), NKT 细胞数量明显下降( $P < 0.05$ ), 见表 8。

表 8 T2DM 伴冠心病组细胞变化

[ $\bar{x} \pm s, M(Q25, Q75)$ ]			
组别	例数	NK 细胞(%)	NKT 细胞(%)
对照组	50	16.37 $\pm$ 6.60	4.27 (2.15, 7.38)
T2DM 不伴 CHD 组	13	12.94 $\pm$ 3.55 <sup>a</sup>	2.06 (1.61, 2.60) <sup>a</sup>
T2DM 伴 CHD 组	41	7.56 $\pm$ 2.30 <sup>bc</sup>	1.81 (1.59, 2.13) <sup>bd</sup>
F/H 值		33.90	15.22
P 值		<0.01	<0.01

注:与 NC 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与 T2DM 组相比,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ,<sup>d</sup> $P < 0.05$ ;NK 细胞:自然杀伤细胞;NKT 细胞:自然杀伤 T 细胞;T2DM 不伴 CHD 组:2 型糖尿病不伴冠心病组;T2DM 伴 CHD 组:2 型糖尿病伴冠心病组

通过对 T2DM 不伴冠心病组与 T2DM 伴冠心病组的一般情况及临床指标分析显示,与 T2DM 不伴冠心病组相比,T2DM 伴冠心病组年龄大,病程长( $P$  均  $< 0.01$ );HbA1c 水平升高,eGFR 降低( $P$  均  $< 0.05$ ),见表 9。进一步对两组间有明显统计学意义的 NK 细胞绘制 ROC 曲线,其曲线下面积为 0.92,95%CI 为 0.84 ~ 0.99,取截点为 9.1%,其敏感性为 90.9%,特异性为 80.5%,见图 2。



注:NK 细胞:自然杀伤细胞;T2DM:2 型糖尿病;AUC:曲线下面积;ROC 曲线:受试者工作特征曲线

图 2 NK 细胞诊断 T2DM 伴冠心病的 ROC 曲线

### 3 讨论

T2DM 与免疫炎症反应有着密切的联系。近年来,众多研究发现 T2DM 患者存在明显的免疫系统的异常<sup>[8-9]</sup>。机体免疫系统包括固有免疫和适应性免疫,其中固有免疫是机体免疫的第一道防线,而 NK 细胞是固有免疫的重要成员<sup>[5]</sup>。NK 细胞不仅可以通过多种机制参与机体的免疫防御,而且可以

介导和参与系统性炎症反应<sup>[10]</sup>。既往对于 NK 细胞在 T2DM 患者外周血中变化的研究结果不尽相同。研究发现,T2DM 患者 NK 细胞数目与正常人相比无明显差异,但是活化状态的 NK 细胞数量较正常人有所升高,研究者认为,NK 细胞主要通过分泌细胞因子参与 T2DM 的发病过程,活化状态的 NK 细胞才具有分泌细胞因子的功能,所以在 T2DM 状态下,未活化的 NK 细胞会转化为活化状态的 NK 细胞,而总的 NK 细胞数目不发生变化<sup>[11]</sup>。也有研究观察到与正常人相比,T2DM 患者 NK 细胞数量上升<sup>[12]</sup>。上述研究的差异性可能与入选人群有关。笔者的结果发现,T2DM 患者外周血中 NK 细胞和 NKT 细胞的数量相对于对照组明显降低,统计分析显示这种变化与病程密切相关,在不同病程的 T2DM 患者外周血中 NK 细胞的数量存在差异,与短病程组相比,长病程组 NK 细胞和 NKT 细胞的数量更少。有文献曾报道,外周血中 NK 细胞的数目和活性受氧化应激和多种炎症因子的影响<sup>[13-14]</sup>。T2DM 患者处于慢性炎症反应状态,炎症反应过程中释放的炎症因子,以及机体高糖导致氧化应激反应过程中产生的活性氧簇等产物可能会损伤 NK 细胞,并影响 NK 细胞的激活。所以,T2DM 患者外周血中 NK 细胞以及 NKT 细胞的这种变化可能是 T2DM 慢性炎症反应的结果。

以往的研究在对颈动脉切片进行免疫组化染色后,发现在各个阶段的斑块中均有 NK 细胞存在,并发现 NK 细胞与内皮细胞和巨噬细胞有紧密接触<sup>[15]</sup>。临床研究也发现,冠心病患者外周血中 NK 细胞数量减少<sup>[16-17]</sup>。上述研究提示,NK 细胞与动脉粥样硬化的发生、发展有重要联系。笔者的研究结果显示,T2DM 伴冠心病组较 T2DM 不伴冠心病组 NK 细胞和 NKT 细胞数量下降。这与以往的研究结果一致。T2DM 伴冠心病患者外周血中 NK 细胞数量下降的原因可能与其凋亡数目增加有关,诱导其凋亡的因素可能包括氧化应激、细胞因子等。笔者通过 ROC 曲线分析显示,应用 NK 细胞的数量监测 T2DM 伴冠心病并发症有较好的敏感性和特异性,可作为其诊断与监测的指标之一。

表 9 T2DM 伴 CHD 组与 T2DM 不伴 CHD 组临床指标的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	年龄(岁)	病程(年)	HbA1c(%)	eGFR(ml/min/1.73m <sup>2</sup> )
T2DM 不伴 CHD 组	13	46.27 $\pm$ 14.73	3.68 $\pm$ 2.55	8.37 $\pm$ 1.51	146.39 $\pm$ 46.11
T2DM 伴 CHD 组	41	61.14 $\pm$ 8.82	10.78 $\pm$ 7.13	9.22 $\pm$ 2.27	117.98 $\pm$ 39.36
t 值		-3.20	-5.29	2.09	2.04
P 值		<0.01	<0.01	0.04	<0.05

注:NK 细胞:自然杀伤细胞;NKT 细胞:自然杀伤 T 细胞;eGFR:估算的肾小球滤过率;T2DM 不伴 CHD 组:2 型糖尿病不伴冠心病组;T2DM 伴 CHD 组:2 型糖尿病伴冠心病组

本研究从 NK 细胞出发揭示了 T2DM 患者体内炎症反应状态与免疫系统功能的关系。基于本研究和以往的研究结果,提示 T2DM 患者外周血中 NK 细胞和 NKT 细胞的减少可能是与 T2DM 患者体内的炎症状态有关。综上所述,T2DM 的发生、发展与免疫炎症反应有着密切的联系,笔者的研究结果为 T2DM 与免疫炎症反应的关系提供了新的证据。

### 参 考 文 献

- [1] Haddad JA, Haddad AN. The past decade in type 2 diabetes and future challenges[J]. *Hormones (Athens)*, 2018, 17(4): 451-459. DOI:10.1007/s42000-018-0080-y.
- [2] Webb D, Dales J, Zaccardi F, et al. Intensive versus standard multifactorial cardiovascular risk factor control in screen-detected type 2 diabetes: 5-year and longer-term modelled outcomes of the ADDITION-Leicester study[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(3): e3111. DOI:10.1002/dmrr.3111.
- [3] Szpigel A, Hainault I, Carlier A, et al. Lipid environment induces ER stress, TXNIP expression and inflammation in immune cells of individuals with type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(2): 399-412. DOI:10.1007/s00125-017-4462-5.
- [4] Bunting MD, Varelias A, Souza-Fonseca-Guimaraes F, et al. GVHD prevents NK-cell-dependent leukemia and virus-specific innate immunity[J]. *Blood*, 2017, 129(5): 630-642. DOI:10.1182/blood-2016-08-734020.
- [5] Presta I, Vismara M, Novellino F, et al. Innate immunity cells and the neurovascular unit[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): pii: E3856. DOI:10.3390/ijms19123856.
- [6] Phoksawat W, Jumnainsong A, Leelayuwat N, et al. Aberrant NKG2D expression with IL-17 production of CD4<sup>+</sup> T subsets in patients with type 2 diabetes[J]. *Immunobiology*, 2017, 222(10): 944-951. DOI:10.1016/j.imbio.2016.05.001.
- [7] Nam HW, Cho YJ, Lim JA, et al. Functional status of immune cells in patients with long-lasting type 2 diabetes mellitus[J]. *Clin Exp Immunol*, 2018, 194(1): 125-136. DOI:10.1111/cei.13187.
- [8] Bessac A, Cani PD, Meunier E, et al. Inflammation and gut-brain axis during type 2 diabetes: focus on the crosstalk between intestinal immune cells and enteric nervous system[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 725. DOI:10.3389/fnins.2018.00725.
- [9] Schloot NC, Pham MN, Hawa MI, et al. Inverse relationship between organ-specific autoantibodies and systemic immune mediators in type 1 diabetes and type 2 diabetes: action LADA 11[J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(11): 1932-1939. DOI:10.2337/dc16-0293.
- [10] Domínguez-Andrés J, Feo-Lucas L, Minguito de la Escalera M, et al. Inflammatory Ly6Chigh monocytes protect against candidiasis through IL-15-driven NK cell/neutrophil activation[J]. *Immunity*, 2017, 46(6): 1059-1072. e4. DOI:10.1016/j.immuni.2017.05.009.
- [11] Guo H, Xu B, Gao L, et al. High frequency of activated natural killer and natural killer T-cells in patients with new onset of type 2 diabetes mellitus[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2012, 237(5): 556-562. DOI:10.1258/ebm.2012.011272.
- [12] Piątkiewicz P, Milek T, Bernat-Karpińska M, et al. The dysfunction of NK cells in patients with type 2 diabetes and colon cancer[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2013, 61(3): 245-253. DOI:10.1007/s00005-013-0222-5.
- [13] Xu H, Wang X, Wang W. Monomethylarsonous acid: induction of DNA damage and oxidative stress in mouse natural killer cells at environmentally-relevant concentrations[J]. *Mutat Res*, 2018, (832-833): 1-6. DOI:10.1016/j.mrgentox.2018.05.017.
- [14] Rabacal W, Pabbisetty SK, Hoek KL, et al. Transcription factor KLF2 regulates homeostatic NK cell proliferation and survival[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(19): 5370-5375. DOI:10.1073/pnas.1521491113.
- [15] Cheng F, Twardowski L, Reifenberg K, et al. Combined B, T and NK cell deficiency accelerates atherosclerosis in BALB/c mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0157311. DOI:10.1371/journal.pone.0157311.
- [16] Kyaw T, Tipping P, Toh BH, et al. Killer cells in atherosclerosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 816: 67-75. DOI:10.1016/j.ejphar.2017.05.009.
- [17] van Puijvelde GHM, Kuiper J. NKT cells in cardiovascular diseases[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 816: 47-57. DOI:10.1016/j.ejphar.2017.03.052.

(收稿日期:2018-12-12)

(本文编辑:饶颖)