

OX-2膜糖蛋白对冠心病合并糖尿病患者IL-6表达的影响

杜世杰¹, 刘成华^{2*}

¹山东第一医科大学(山东省医学科学院)研究生部, 山东 济南

²山东第一医科大学附属临沂市中心医院心血管内科, 山东 临沂

收稿日期: 2024年11月27日; 录用日期: 2024年12月21日; 发布日期: 2024年12月31日

摘要

目的: 探讨OX-2膜糖蛋白(CD200)对冠心病合并糖尿病患者体内慢性炎症的调控作用。方法: 选取2023年3月~2024年3月在临沂市中心医院就诊的符合纳入标准的冠心病患者、糖尿病患者、冠心病合并糖尿病患者3组各20例共60例, ELISA法检测各组患者血清中CD200分子浓度, 流式细胞术测定血清中白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)水平, 对两组数据进行统计学分析比较, 进而探究CD200对慢性炎症的抑制性调控作用。结果: 冠心病患者、糖尿病患者、冠心病合并糖尿病患者3组数据均高于正常参考值(0~5.3 mmol/L), 冠心病合并糖尿病组IL-6 (16.53 ± 3.88 mmol/L)水平高于冠心病组IL-6 (13.91 ± 1.70 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$); 冠心病合并糖尿病组IL-6 (16.53 ± 3.88 mmol/L)水平高于糖尿病组IL-6 (15.70 ± 5.24 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$), 糖尿病组IL-6 (15.70 ± 5.24 mmol/L)水平高于冠心病组IL-6 (13.91 ± 1.70 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。冠心病组CD200分子浓度(1570.98 ± 231.31 mmol/L)高于冠心病合并糖尿病组CD200 (1052.09 ± 171.82 mmol/L)水平, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 糖尿病组CD200分子浓度(1063.30 ± 186.56 mmol/L)高于冠心病合并糖尿病组CD200 (1052.09 ± 171.82 mmol/L)水平, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 冠心病组CD200分子浓度(1570.98 ± 231.31 mmol/L)高于糖尿病组CD200分子浓度(1063.30 ± 186.56 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。Spearman相关分析提示, 冠心病患者血清CD200分子浓度与IL-6分子浓度呈负相关($r = -0.95, P < 0.01$); 糖尿病患者血清CD200分子浓度与IL-6分子浓度呈负相关($r = -0.91, P < 0.01$); 冠心病合并糖尿病患者血清CD200分子浓度与IL-6分子浓度呈负相关($r = -0.91, P < 0.01$)。3组患者血清CD200分子浓度均与IL-6分子浓度呈负相关($r = -0.69, P < 0.01$)。结论: CD200对IL-6起到抑制性调控作用, 能够有效控制炎症, 进而缓解动脉粥样硬化的病理发展进程。针对CD200的研究为临床治疗冠心病合并糖尿病患者提供新的策略。并预测开发针对CD200-CD200R轴的激动剂有望延缓冠心病合并糖尿病患者的疾病进展。

关键词

冠状动脉粥样硬化性心脏病, 糖尿病, 慢性炎症, 白细胞介素-6, OX-2膜糖蛋白

*通讯作者。

The Effect of OX-2 Membrane Glycoprotein on the Expression of IL-6 in Patients with Coronary Heart Disease Combined with Diabetes

Shijie Du¹, Chenghua Liu^{2*}

¹Graduate School of Shandong First Medical University (Shandong Academy of Medical Sciences), Jinan Shandong

²Department of Cardiology, Linyi Central Hospital, Shandong First Medical University, Linyi Shandong

Received: Nov. 27th, 2024; accepted: Dec. 21st, 2024; published: Dec. 31st, 2024

Abstract

Objective: To explore the regulatory effect of OX-2 membrane glycoprotein (CD200) on chronic inflammation in patients with coronary heart disease (CHD) complicated with diabetes mellitus (DM). **Methods:** A total of 60 patients were enrolled in this study, including 20 patients with CHD, 20 patients with DM, and 20 patients with CHD complicated with DM, all of whom met the inclusion criteria. The concentration of CD200 molecules in the serum of each group was determined by ELISA, and the level of IL-6 in the serum was measured by flow cytometry. The two sets of data were analyzed and compared to investigate the inhibitory regulatory effect of CD200 on chronic inflammation. **Results:** The data from the three groups of patients with coronary heart disease (CHD), diabetes mellitus (DM), and CHD complicated with DM were all higher than the normal reference values (0~5.3 mmol/L). The level of IL-6 in the CHD complicated with DM group (16.53 ± 3.88 mmol/L) was significantly higher than that in the CHD group (13.91 ± 1.70 mmol/L), with a statistically significant difference ($P < 0.01$). The level of IL-6 in the CHD complicated with DM group (16.53 ± 3.88 mmol/L) was also significantly higher than that in the DM group (15.70 ± 5.24 mmol/L), with a statistically significant difference ($P < 0.01$). Moreover, the level of IL-6 in the DM group (15.70 ± 5.24 mmol/L) was significantly higher than that in the CHD group (13.91 ± 1.70 mmol/L), also with a statistically significant difference ($P < 0.01$). The concentration of CD200 molecules in the CHD group (1570.98 ± 231.31 mmol/L) was significantly higher than that in the CHD complicated with DM group (1052.09 ± 171.82 mmol/L), with a statistically significant difference ($P < 0.01$). The molecular concentration of CD200 in the diabetic group (1063.30 ± 186.56 mmol/L) was higher than that in coronary heart disease complicated with diabetes (1052.09 ± 171.82 mmol/L), there was a significant difference ($P < 0.01$). The concentration of CD200 molecules in the CHD group (1570.98 ± 231.31 mmol/L) was significantly higher than that in the DM group (1063.30 ± 186.56 mmol/L), with a statistically significant difference ($P < 0.01$). Spearman correlation analysis revealed a negative correlation between the serum CD200 molecule concentration and IL-6 molecule concentration in patients with CHD ($r = -0.95$, $P < 0.01$); Similarly, a negative correlation was observed between serum CD200 molecule concentration and IL-6 molecule concentration in patients with DM ($r = -0.91$, $P < 0.01$), as well as in patients with CHD complicated with DM ($r = -0.91$, $P < 0.01$). The serum CD200 molecule concentrations in all three patient groups showed a negative correlation with IL-6 molecule concentrations ($r = -0.69$, $P < 0.01$). **Conclusion:** CD200 exerts inhibitory regulatory effects on IL-6, effectively controlling inflammation and alleviating the pathological progression of atherosclerosis. Research on CD200 provides new strategies for the clinical treatment of patients with coronary heart disease combined with diabetes. It is also predicted that the development of agonists targeting the CD200-CD200R axis is expected to delay disease progression in patients with coronary heart disease combined with diabetes.

Keywords

Coronary Artery Atherosclerotic Heart Disease, Diabetes Mellitus, Chronic Inflammation, Interleukin-6, CD200

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种广泛存在于动脉壁的多灶性、浸润性、慢性免疫炎症性疾病。AS 发病机制颇为复杂, 其中, 炎症在其起始、进展及各个病理阶段都发挥了重要作用。动脉粥样硬化的一大特征在于, 其病理过程始于动脉内膜的损伤, 并累及整个动脉结构。AS 起始于脂质在动脉壁的积聚, 继而导致内皮功能障碍, 进而触发循环免疫细胞的迁移与聚集。在这一过程中, 循环中的单核细胞首先会粘附于动脉壁的损伤区域, 随后渗透入内并分化为巨噬细胞, 巨噬细胞通过吞噬机制摄取脂质, 逐渐转化为泡沫细胞, 最终促进了脂肪条纹的形成。随着这一过程的推进, 基质金属蛋白酶被激活, 导致胶原降解, 同时血管平滑肌细胞和内皮细胞发生迁移和增殖, 直至动脉粥样硬化斑块的形成[1]。AS 发病机制复杂, 目前普遍认为, 炎症在其发生发展的各个阶段都发挥了重要作用[2]。动脉粥样硬化以动脉壁内膜层的损伤和斑块的积聚为显著表现, 当其累及冠状动脉, 就引发了冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CAD)的发生。

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是 CAD 的一个重要合并疾病。一项涵盖 102 个前瞻性研究的荟萃分析结果揭示, 糖尿病患者罹患冠心病的风险相较于无糖尿病成年人高出 2~3 倍[3]。CAD 仍然是糖尿病患者死亡的主要原因之一。特别是在 2 型糖尿病(Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM)患者中, 与无糖尿病的个体相比, CAD 通常早发生 14.6 年, 并且病情更为严重, 分布更为广泛[4], 冠心病合并糖尿病对患者的生命安全造成了极大的威胁。糖尿病患者存在的糖代谢紊乱、胰岛素抵抗及血脂紊乱状态, 通过免疫炎症、氧化应激、蛋白质糖基化、内质网应激等一系列机制共同促进了 CAD 的发生发展。

CAD 和 DM 共同特征之一是慢性炎症, CAD 患者体内普遍存在慢性低度炎症状态。慢性炎症也是 CAD 的危险因素之一, 它引发的氧化应激和加剧炎症反应, 对血管内皮细胞造成损害, 进而促进动脉粥样硬化的进程。而在 DM 患者中, 血糖和游离脂肪酸水平的升高, 可使炎性小体活性增加, 并提升核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3)与炎症趋化因子的水平[5]。此外, 在 DM 患者体内, 坏死性凋亡(NETosis)标记物水平也有所升高, NETosis 是一种巨噬细胞死亡的特殊方式, 已在动物模型中证实 NETosis 对 CAD 疾病进程发展中的潜在影响[6]。

OX-2 膜糖蛋白(CD200)是一种在免疫细胞表面表达的糖蛋白, 它可与 CD200 抑制性受体(CD200R)相结合, 在动脉粥样硬化过程中发挥重要作用。CD200 通过与 CD200R 的相互作用, 激活细胞内的抑制性信号通路, 招募 RasGAP, 从而抑制效应细胞的活性[7], 并抑制单核细胞的形成和募集, 减少炎症过程中单核细胞和巨噬细胞的积累, 从而稳定 AS 斑块, 防止其破裂。白细胞介素-6 (interleukin, IL-6)是评价血清中炎症反应程度的重要指标, 其在炎症反应和免疫应答过程中发挥着重要作用, 它不仅对血管内皮细胞具有毒性效应, 还深度参与炎性损伤过程, 能够刺激细胞生长、促进细胞分化并加速急性期蛋白的合成[8]。并且 IL-6 水平升高可诱发体内多种炎症介质含量迅速上升, 包括肿瘤坏死因子- α 、IL-3 等, 进一步诱发炎症瀑布形成。Christina Kassiteridi 团队的一项动物实验研究进一步表明, CD200-CD200R 激

活后通过抑制骨髓细胞中信号转导与转录激活因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 的磷酸化从而减少动脉粥样硬化病变过程中白细胞介素 6 (Interleukin-6, IL-6) 的产生[9], 最终起到控制炎症, 缓解动脉粥样硬化进程的作用。本研究通过 ELISA 测定冠心病患者、糖尿病患者、冠心病合并糖尿病患者 3 组各 20 例共 60 例样本血清中 CD200 分子浓度, 与流式细胞术测定的 IL-6 水平进行相关性分析, 旨在探索 CD200 对炎症的抑制性调控作用。

2. 资料与方法

2.1. 临床资料

选取 2023 年 3 月~2024 年 3 月在临沂市中心医院诊治的冠心病患者、糖尿病患者、冠心病合并糖尿病患者 3 组各 20 例共 60 例。纳入标准: 经诊断为: 糖尿病(中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)诊断标准)、冠心病(世界卫生组织(WHO)诊断标准)。排除标准 1) 糖尿病急性代谢并发症的患者; 2) 先天性心脏病的患者; 3) 限制性或肥厚性心肌病的患者; 4) 急性心律失常的患者; 5) 严重瓣膜病变的患者; 6) 自身免疫性疾病的患者; 7) 严重肺疾病的患者; 8) 肿瘤的患者; 9) 高出血风险的患者; 10) 严重心律失常的患者; 11) 脑出血的患者; 12) 肝、肾功能损伤的患者; 13) 入组前近 3 个月内参加过药物临床试验的患者; 14) 经研究者判断, 受试者有其他可能导致本研究被迫中途终止的因素, 如其他的严重疾病(含精神疾病)需要合并治疗, 有严重的实验室检查异常, 伴有家庭或社会等因素, 会影响到受试者的安全, 或资料及样品的收集。本研究经过医院伦理委员会批准, 患者自愿参加本研究, 并签署知情同意书。3 组年龄和性别构成比较: 冠心病组男性 9 例, 女性 11 例; 年龄 34~73 岁, 平均年龄(62.35 ± 11.98)岁; 糖尿病组男性 10 例, 女性 10 例; 年龄 42~75 岁, 平均年龄(66.40 ± 5.56)岁; 冠心病合并糖尿病组男性 11 例, 女性 9 例; 年龄 57~74 岁, 平均年龄(64.4 ± 9.47)岁。各组间年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

2.2. 方法

取研究对象入院时晨空腹静脉血样, 流式细胞术检测外周血清中 IL-6 水平。取研究对象晨空腹静脉血样, 将收集于血清分离管的全血标本在室温放置 0.5 小时, 离心机 1000Xg 离心 20 分钟, 将上清置于 -80°C 冰箱保存待用, 用纯化的人 CD200 分子抗体包被微孔板, 制成固相抗体, 往包被单抗的微孔中依次加入 CD200 分子, 再与辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)标记的 CD200 分子抗体结合, 形成抗体 - 抗原 - 酶标抗体复合物, 经过彻底洗涤后加底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TMB)显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 CD200 分子呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值), 通过标准曲线计算样品中人 CD200 分子浓度。

2.3. 统计学方法

通过 SPSS 27.0 软件进行处理, 数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。Pearson 相关分析评估各样本 IL-6 水平与 CD200 分子浓度之间的相关性。

3. 结果

3.1. 3 组血清 IL-6 分子浓度比较

冠心病患者、糖尿病患者、冠心病合并糖尿病患者 3 组数据均高于正常参考值($0 \sim 5.3 \text{ mmol/L}$), 冠心病合并糖尿病组 IL-6 ($16.53 \pm 3.88 \text{ mmol/L}$)水平高于冠心病组 IL-6 ($13.91 \pm 1.70 \text{ mmol/L}$), 差异有统计学

意义($P < 0.01$); 冠心病合并糖尿病组 IL-6 (16.53 ± 3.88 mmol/L)水平高于糖尿病组 IL-6 (15.70 ± 5.24 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$), 糖尿病组 IL-6 (15.70 ± 5.24 mmol/L)水平高于冠心病组 IL-6 (13.91 ± 1.70 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3.2. 3 组血清 CD200 分子浓度比较

冠心病组 CD200 分子浓度(1570.98 ± 231.31 mmol/L)高于冠心病合并糖尿病组 CD200 (1052.09 ± 171.82 mmol/L)水平, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 糖尿病组 CD200 分子浓度(1063.30 ± 186.56 mmol/L)高于冠心病合并糖尿病组 CD200 (1052.09 ± 171.82 mmol/L)水平, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 冠心病组 CD200 分子浓度(1570.98 ± 231.31 mmol/L)高于糖尿病组 CD200 分子浓度(1063.30 ± 186.56 mmol/L), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3.3. 3 组血清 CD200 分子浓度与 IL-6 分子浓度相关性分析

Spearman 相关分析提示, 冠心病患者血清 CD200 分子浓度与 IL-6 分子浓度呈负相关($r = -0.95$, $P < 0.01$); 糖尿病患者血清 CD200 分子浓度与 IL-6 分子浓度呈负相关($r = -0.91$, $P < 0.01$); 冠心病合并糖尿病患者血清 CD200 分子浓度与 IL-6 分子浓度呈负相关($r = -0.91$, $P < 0.01$)。3 组患者血清 CD200 分子浓度均与 IL-6 分子浓度呈负相关($r = -0.69$, $P < 0.01$)。

4. 讨论

CAD 患者体内为慢性低度炎症状态。慢性炎症也是 CAD 的危险因素之一, 慢性炎症可通过氧化应激和炎症反应, 损伤血管内皮细胞, 促进动脉粥样硬化的进程[10]。DM 是 CAD 的重要合并疾病, 慢性炎症是 CAD 和 DM 共同特征。近年来越来越多的研究支持 DM 慢性炎症状态的假说, 认为 DM 可能是细胞因子介导的炎性反应[11], IL-6 参与炎性损伤过程, 具有刺激细胞生长、促进细胞分化和加速细胞急性期蛋白合成的作用, 在炎症反应和免疫应答过程中发挥重要作用。本研究发现, 冠心病患者、糖尿病患者、冠心病合并糖尿病患者血清中 IL-6 水平均高于正常值, 且冠心病合并糖尿病组患者血清中 IL-6 水平高于冠心病组及糖尿病组, 表明 IL-6 在冠心病及糖尿病的疾病进程中起着重要的作用, 且两种疾病状态下炎症反应的叠加效应加剧了冠心病合并糖尿病的疾病恶化。

CD200 是一种在免疫细胞上表达的糖蛋白, 它可与 CD200R 结合, 通过抑制单核细胞的形成和募集, 进而减少炎症过程中单核细胞和巨噬细胞的积累。近期研究发现, CD200 与 CD200R 结合后, 可以减少动脉粥样硬化病变过程中 IL-6 的产生[9], 起到缓解动脉粥样硬化进程的作用。本研究发现, 3 组患者血清中 CD200 分子浓度与 IL-6 分子浓度均呈负相关, 这与 Christina Kassiteridi 团队的动物实验研究结果相符, 以上发现, 验证了 CD200 对炎症的抑制性调控作用, 为临床治疗冠心病合并糖尿病患者提供新的策略。并预测开发针对 CD200-CD200R 轴的激动剂有望延缓冠心病合并糖尿病患者的疾病发展。

参考文献

- [1] Ross, R. (1999) Atherosclerosis—An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*, **340**, 115-126. <https://doi.org/10.1056/nejm199901143400207>
- [2] 刘俊田. 动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 36(2): 141-152.
- [3] Li, N., Katzmarzyk, P.T., Horswell, R., Zhang, Y., Li, W., Zhao, W., et al. (2014) BMI and Coronary Heart Disease Risk among Low-Income and Underinsured Diabetic Patients. *Diabetes Care*, **37**, 3204-3212. <https://doi.org/10.2337/dc14-1091>
- [4] González-Juanatey, C., Anguita-Sánchez, M., Barrios, V., Núñez-Gil, I., Gómez-Doblas, J.J., García-Moll, X., Lafuente-Gormaz, C., Rollán-Gómez, M.J., Peral-Disdier, V., Martínez-Dolz, L., Rodríguez-Santamarta, M., Viñolas-Prat, X.,

- Soriano-Colomé, T., Muñoz-Aguilera, R., Plaza, I., Curcio-Ruigómez, A., Orts-Soler, E., Segovia-Cubero, J., Fanjul, V., Marín-Corral, J., Cequier, Á. and Savana Research Group (2023) Impact of Advanced Age on the Incidence of Major Adverse Cardiovascular Events in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Stable Coronary Artery Disease in a Real-World Setting in Spain. *Journal of Clinical Medicine*, **12**, 5218. <https://doi.org/10.3390/jcm12165218>
- [5] 赵蕙琛, 扈艳雯, 刘元涛, 柴家超, 马小莉. 糖尿病血管并发症病理机制研究进展[J]. 青岛医药卫生, 2023, 55(6): 432-435.
- [6] Menegazzo, L., Ciciliot, S., Poncina, N., Mazzucato, M., Persano, M., Bonora, B., *et al.* (2014) Netosis Is Induced by High Glucose and Associated with Type 2 Diabetes. *Acta Diabetologica*, **52**, 497-503. <https://doi.org/10.1007/s00592-014-0676-x>
- [7] Holmannová, D., Koláčková, M., Kondělková, K., Kuneš, P., Krejsek, J. and Andráš, C. (2012) CD200/CD200R Paired Potent Inhibitory Molecules Regulating Immune and Inflammatory Responses; Part I: CD200/CD200R Structure, Activation, and Function. *Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)*, **55**, 12-17. <https://doi.org/10.14712/18059694.2015.68>
- [8] 成士清, 刘成玉. 炎症标志物 CRP、IL-6 和 ICAM-1 与冠心病的关系[J]. 齐鲁医学杂志, 2006, 21(2): 180-182.
- [9] Kassiteridi, C., Cole, J.E., Griseri, T., Falck-Hansen, M., Goddard, M.E., Seneviratne, A.N., *et al.* (2021) CD200 Limits Monopoiesis and Monocyte Recruitment in Atherosclerosis. *Circulation Research*, **129**, 280-295. <https://doi.org/10.1161/circresaha.119.316062>
- [10] 刘雪梅, 夏伟. 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血清白细胞衍生趋化因子 2 水平及影响因素分析[J]. 成都医学院学报, 2021, 16(6): 721-724.
- [11] 黎海芪, 毛萌. 科学评估儿童体格生长与发育[J]. 中国实用儿科杂志, 2019, 34(10): 810-814.