

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.12.012

文章编号: 1005-8982(2016)12-0053-05

论著

## 2 型糖尿病伴干眼症患者泪液和血清白细胞介素 6 的变化

张洁<sup>1</sup>, 王伟超<sup>2</sup>, 王虹<sup>3</sup>, 刘素波<sup>2</sup>, 李雅婷<sup>4</sup>

(1. 石家庄市第三医院 眼科, 河北 石家庄 050011; 2. 石家庄市第一医院 内分泌科, 河北, 石家庄 050011; 3. 石家庄市第一医院 干部老年病科, 河北 石家庄 050011; 4. 石家庄市第七医院 健康检查科, 河北 石家庄 050031)

**摘要:**目的 探讨 2 型糖尿病伴干眼症患者泪液、血清中白细胞介素 6(IL-6)浓度的变化。方法 纳入人群分为 3 组:A 组为 2 型糖尿病不伴干眼症患者组,B 组为 2 型糖尿病伴干眼症患者组,C 组为正常对照组。用 ELISA 法分别检测 3 组人群泪液、血清中 IL-6 的含量。采用单因素方差分析进行数据之间比较。并对泪液、血清 IL-6 进行相关性分析。结果 A、B 和 C 组泪液 IL-6 含量分别为:(12.90±8.30)pg/ml、(22.43±12.97)pg/ml 和 (4.69±3.29)pg/ml,血清 IL-6 含量分别为(144.85±57.52)pg/ml、(256.26±117.96)pg/ml 和(97.01±51.60)pg/ml。其中 A 组与 B 组血清及泪液 IL-6 含量均较 C 组高,B 组血清及泪液 IL-6 含量较 A 组高( $P < 0.01$ );泪液 IL-6 与血清 IL-6 水平呈正相关( $r=0.73, P < 0.01$ )。结论 2 型糖尿病不伴干眼症患者泪液、血清 IL-6 含量均较正常健康人群增高,2 型糖尿病伴干眼症患者泪液、血清 IL-6 水平进一步升高,提示泪液、血清 IL-6 水平与 2 型糖尿病伴干眼症的发生有关。泪液 IL-6 与血清 IL-6 水平呈直线正相关,提示泪液 IL-6 水平监测对于糖尿病并发干眼症患者的病情监测有一定的临床价值。

**关键词:** 糖尿病;干眼症;泪液;血清;白细胞介素 6

**中图分类号:** R771.3

**文献标识码:** A

### Expression of interleukin-6 in tears of type 2 diabetic patients with xerophthalmia

Jie Zhang<sup>1</sup>, Wei-chao Wang<sup>2</sup>, Hong Wang<sup>3</sup>, Su-bo Liu<sup>2</sup>, Ya-ting Li<sup>4</sup>

(1. Department of Ophthalmology, the Third Clinical Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei 050011, China; 2. Department of endocrinology, the First Clinical Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei 050011, China; 3. Department of senile disease, the First Clinical Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei 050011, China; 4. The Seventh Clinical Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei 050031, China)

**Abstract: Objective** To detect the concentration of the interleukin-6 (IL-6) in tears and serums of type 2 diabetic patients with xerophthalmia. **Methods** Patients were divided into: Group A (type 2 diabetes mellitus), Group B (type 2 diabetes mellitus with xerophthalmia) and Group C (normal). The concentrations of IL-6 in tear and serum

收稿日期:2016-01-04

were detected by ELISA. Comparisons between groups were tested by One-Way ANOVA analysis. **Results** Concentrations of tear IL-6 were  $(12.90 \pm 8.30)$  pg/ml in group A,  $(22.43 \pm 12.97)$  pg/ml in group B and  $(4.69 \pm 3.29)$  pg/ml in group C. The concentrations of IL-6 in group A and group B were significantly higher than that in group C ( $P < 0.01$ ). The concentration of IL-6 in group B was significantly higher than that in group A ( $P < 0.01$ ). The level of tear IL-6 had positive correlation with the level of serum IL-6 ( $r = 0.73$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusions** The IL-6 concentration of tear in diabetic patients with xerophthalmia is elevated, which indicates that tear IL-6 and serum IL-6 are related to the occurrence of type 2 diabetes mellitus with xerophthalmia. Tear IL-6 level is positively related to serum IL-6 level, which indicates that tear IL-6 is useful in the surveillance of 2 diabetes mellitus with xerophthalmia.

**Keywords:** diabetic; xerophthalmia; tear; serum; interleukin-6

糖尿病现已成为仅次于心脑血管疾病和肿瘤之后的第 3 位危害人类健康的疾病,糖尿病可导致全身多种器官的并发症,而以眼部为首发症状就诊于眼科的糖尿病患者愈来愈引起临床医师的关注<sup>[1]</sup>。既往对糖尿病视网膜病变的关注和研究较多,近年来研究认为,糖尿病眼表病变也成为导致糖尿病患者生活质量降低的重要原因<sup>[2]</sup>。干眼症是 2 型糖尿病患者中高发的一类眼表疾病,据统计我国 2 型糖尿病患者中一半以上合并此症。近年来,糖尿病发病炎症学说受到广泛关注和普遍认可,该学说认为糖尿病及其血管并发症的发生、发展是有多种炎症因子参与的<sup>[3-4]</sup>。其发生、发展过程中介导炎症反应的重要细胞因子之一为白细胞介素 6(IL-6)<sup>[5]</sup>。而目前细胞因子与干眼的关系是干眼症研究的热点之一,研究显示干燥性角结膜炎患者结膜和泪液中炎症因子的表达明显增高,其中白细胞介素 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、IL-8 和肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$  的表达水平在正常人与干眼症患者之间有明显差异。本研究通过收集 2 型糖尿病伴干眼症患者的血清及泪液,采用酶联免疫吸附试验对其细胞因子 IL-6 浓度进行检测,旨在探讨 2 型糖尿病并发干眼症患者是否与糖尿病患者自身介导炎症反应的细胞因子 IL-6 相关。

## 1 资料与方法

### 1.1 材料与试剂

人 IL-6 ELISA 试剂盒(美国 TBE 公司),敏感性  $>0.7$  pg/ml。

### 1.2 仪器与设备

超低温冰箱、酶标仪(法国 Jouan 公司);LXJ-II 型离心机(上海医用仪器厂)。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 病例选择** 将纳入人群分为 3 组:2 型糖尿病无干眼症组(A 组)50 例。其中,男性 24 例,女性 26 例;平均年龄 55.6 岁。2 型糖尿病伴干眼症组(B 组)50 例,其中,男性 25 例,女性 25 例;平均年龄 57.4 岁。正常对照组(C 组)50 例。其中,男性 27 例,女性 23 例;平均年龄 54.3 岁。以上 3 组人群的年龄和性别比例均相匹配。

2 型糖尿病患者按 1999 年 WHO《2 型糖尿病的诊断标准》进行确诊,患者起病年龄均  $>30$  岁,患者口服降糖药物有效果,除外降糖药物继发性失效,糖尿病自身免疫相关抗体检测阴性,非酮症状态,除外严重心、肺、脑疾患,除外严重肝、肾疾病以及明确应激状态。

干眼症参照 2003 年全国眼表疾病研讨会所提出的干眼症诊断标准进行确诊,患者无眼部外伤及手术史、无角膜接触镜佩戴史;3 个月内眼部未曾发生活动性炎症,局部无滴眼液使用史;除 2 型糖尿病外无其他影响泪腺分泌泪液疾病。

以健康志愿者为正常对照组。3 个月内眼部无不适感,无用眼疲劳。

**1.3.2 标本收集** 所有受试者禁食、停药 8~10 h,然后分别同时采集 3 组人群的血液和泪液,检查者轻拉被检者下睑结膜并微后压,以毛细玻璃管轻置于穹窿结膜与球结膜交界处,使泪液流入毛细玻璃管,分别收集左、右眼泪液,转移至同一微量离心管。标本收集成功,泪液标本置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻保存备用;血液标本离心分离血清,与泪液标本同条件超低温保存以备集中检测。

标本采集注意事项:以毛细玻璃管法收集泪液,由经培训合格的研究人员依据标准操作流程完成,

检查者动作需轻柔。

**1.3.3 检测方法** 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测。遵照美国 TBE 公司的人 IL-6 ELISA 试剂盒说明进行操作。OD450 值采用酶标仪进行测定。标准曲线绘制,横坐标为标准品浓度,纵坐标为 OD 值。最后通过标本的 OD 值在标准曲线上查出其浓度。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )来表示,分别对泪液、血清中 IL-6 的浓度进行单因素方差分析,若组间不同或不完全相同,再进一步做 SNK-*q* 检验从而再比较各组间的差别。最后对泪液、血清中 IL-6 浓度水平作相关性分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组人群泪液 IL-6 的含量

A 组为  $(12.90 \pm 8.30)$ pg/ml, B 组为  $(22.43 \pm 12.97)$ pg/ml, C 组为  $(4.69 \pm 3.29)$ pg/ml。对 3 组数据进行单因素方差分析, $F$  值为 42.98,提示 A 组、B 组和 C 组各组间不同或不完全相同,进一步做 SNK-*q* 检验比较各组间差别。研究结果表明,A 组和 B 组泪液 IL-6 含量均高于 C 组,B 组泪液 IL-6 含量高于 A 组, $q$  值分别为 4.29、9.26 和 -4.98, $P < 0.01$ 。见附表。

### 2.2 3组人群血清 IL-6 的含量

A 组为  $(144.85 \pm 57.52)$ pg/ml, B 组为  $(256.26 \pm 117.96)$ pg/ml, C 组为  $(97.01 \pm 51.60)$ pg/ml。对 A 组、B 组和 C 组的 3 组数据进行单因素方差分析,其  $F$  值为 50.365,表明 A 组、B 组和 C 组各组间不同或不

附表 泪液及血清中 IL-6 的含量 ( $n=50$ )

组别	例数	泪液/(pg/ml)	血清/(pg/ml)
A	50	$12.90 \pm 8.30$	$144.85 \pm 57.52$
B	50	$22.43 \pm 12.97$	$256.26 \pm 117.96$
C	50	$4.69 \pm 3.29$	$97.01 \pm 51.60$
$F$ 值		42.98	50.365
$P$ 值		0.000	0.000
$q(A \text{ vs. } B)$		-4.98 <sup>†</sup>	-6.84 <sup>†</sup>
$q(A \text{ vs. } C)$		4.29 <sup>†</sup>	2.94 <sup>†</sup>
$q(B \text{ vs. } C)$		9.26 <sup>†</sup>	9.78 <sup>†</sup>

注:† 组间两两比较, $P < 0.01$

全相同,进一步做 SNK-*q* 检验再比较各组间差别,研究结果表明,A 组和 B 组血清 IL-6 含量均较 C 组高,B 组血清 IL-6 含量较 A 组高, $q$  值分别为 2.94、9.78 和 -6.84, $P < 0.01$ ,见附表。

### 2.3 泪液 IL-6 与血清 IL-6 浓度的相关分析

将本研究所有受试人群每个受试者的泪液 IL-6 浓度和血液 IL-6 浓度作为变量,判断两者的相关关系。泪液 IL-6 浓度分布与血清 IL-6 浓度分布呈直线正相关,其中  $r$  值为 0.73, $P < 0.01$ ,95%CI: (0.27,0.92)。

## 3 讨论

糖尿病为当今世界危害人类健康的 3 大疾病之一,近年来,糖尿病的发病率已呈现出逐年升高趋势<sup>[6]</sup>。随着 2 型糖尿病患者数量的增加,糖尿病引起的眼表并发症越来越受到临床重视。研究发现,2 型糖尿病患者的干眼症发生率明显高于正常人。干眼是指任何原因引起的泪液质或量异常,或动力学异常导致的泪膜稳定性下降,并伴有眼部不适,和(或)眼表组织损害为特征的多种疾病的总称<sup>[7]</sup>,是目前临床上常见的眼表疾病之一。干眼的发病因素复杂,表现为眼部的干涩、烧灼感、异物感、痒感、畏光、眼红及视疲劳等症状。有研究证实,糖尿病患者的血糖长期处于较高水平会影响其机体正常的生理代谢、免疫反应和细胞凋亡,从而导致眼表结构发生改变,诱使干眼症的发生。干眼分为泪液生成不足型和蒸发过强型两种。泪液生成不足型干眼在临床上以干燥性角结膜炎和 SJÖGREN 综合征最为多见,蒸发过强型干眼则包括睑板腺功能障碍、暴露及角膜接触镜等因素所致的干眼症。

眼表面的炎症反应是影响干眼病病情的重要因素。多数学者认为,这种炎症是一种非感染性且基于免疫反应的炎症。尽管干眼症患者的病因很多,但其共有的一个病因就是炎症因子的参与<sup>[8]</sup>。很多研究显示,细胞因子 IL-1 $\alpha$ 、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  和 TNF- $\beta$  的表达水平在正常人与干眼症患者之间有明显差异。在严重干眼症患者泪液和结膜上皮细胞中,上述的细胞因子含量明显增加,并且与干眼症的严重程度相关<sup>[9-10]</sup>。免疫病理结果表明干燥性角结膜炎和 SJÖGREN 综合征患者结膜上皮有多种炎症因子增高,而 IL-6 是最有价值的<sup>[11]</sup>。2 型糖尿病的炎症

学说已得到众多学者的认可,炎症因子在 2 型糖尿病发病机制中的作用也备受关注。IL-6 是重要的炎症因子之一,其在 2 型糖尿病发生发展过程中的作用不容忽视。因此本研究首先考虑对泪液 IL-6 水平与 2 型糖尿病伴干眼症的关系进行探讨。同时,不可否认泪液其他炎症因子与 2 型糖尿病伴干眼症的关系,可在后续的研究中进一步观察。

B 细胞、T 细胞和单核细胞等是产生 IL-6 的主体,IL-6 在损伤修复及免疫、炎症反应中起到了关键性调节作用<sup>[12]</sup>,IL-6 水平检测在糖尿病并发症防控中的作用应受到重视,本研究以泪液、血液为检查手段,探讨 IL-6 在糖尿病并发干眼症患者泪液及血液中的表达。IL-6 的主要生物学作用是促进 B 细胞增殖分化和分泌抗体;在 IL-2 和 IL-6 共同作用下,T 细胞分化为细胞毒性 T 淋巴细胞;促使肝脏合成急性期蛋白;并对神经系统、血液系统等产生广泛效应。IL-6 为一种内源性致热原,可参与炎症反应;另外,IL-6 作为急性反应的始发因子,可参与很多疾病的发病过程,并起到重要的作用。SHENG 等<sup>[13]</sup>研究发现,IL-6 与胰岛素相互作用,从而可以影响 2 型糖尿病的发生,有证据表明 IL-6 参与 2 型糖尿病的免疫过程,低浓度 IL-6 水平的生物学效应主要表现为免疫调节作用,高浓度 IL-6 则主要表现为病理性损伤作用。胰岛素抵抗在 2 型糖尿病发病中起重要作用,并贯穿于 2 型糖尿病全过程,IL-6 也是一种可以引起胰岛素抵抗的重要细胞因子<sup>[14]</sup>。正常人外周血 IL-6 水平显著低于 2 型糖尿病患者外周血 IL-6 水平。有研究显示<sup>[15]</sup>,血清 IL-6 水平与糖尿病的严重程度有显著的关联。国内有研究表明,血清 IL-6 水平与 2 型糖尿病患者的病程呈正相关,可做为其严重程度的独立危险因素,因此可成为糖尿病患者视网膜病变病情的监测指标<sup>[16]</sup>。国内学者对比视网膜病变光凝治疗前后的房水及玻璃体内 VEGF 和 IL-6 含量,发现治疗后 VEGF 和 IL-6 含量显著降低,提示了房水中 VEGF 和 IL-6 浓度的变化和视网膜病变的发生有密切的关系。FUNATSU 等<sup>[17]</sup>通过检测糖尿病患者房水、玻璃体和血浆中的 IL-6 浓度,并研究其相互的关系,结果表明随着糖尿病病程的延长,眼底视网膜病变的加重,患者房水、玻璃体和血浆中的 IL-6 浓度也随之增高,由此提示 IL-6 与糖尿病的发生、发展有着密切的联系。

综合以上研究发现,糖尿病、糖尿病视网膜病变患者血清中的 IL-6 水平明显升高,糖尿病患者眼玻璃体和房水中 IL-6 的浓度也有显著增高。本研究以 2 型糖尿病伴干眼症患者为研究对象,检测 2 型糖尿病伴干眼症患者泪液及血清的 IL-6 浓度,在国内外尚属首创。泪液的收集检查过程是无创,易于被患者接受。本研究通过检测糖尿病患者泪液、血清中 IL-6 的浓度,进一步明确糖尿病患者泪液 IL-6 的水平与 2 型糖尿病并发干眼症的关系,对糖尿病并发干眼症患者的临床病情监测起到一定的作用。

本研究通过对 A、B 和 C 3 组人群血清 IL-6 的浓度进行测定,发现 2 型糖尿病患者较健康人血清 IL-6 浓度显著升高,糖尿病并发干眼症患者比糖尿病无干眼症患者的血清 IL-6 浓度显著升高。本研究通过对 A、B 和 C 3 组人群泪液 IL-6 进行测定,结果表明 2 型糖尿病患者较健康人的泪液 IL-6 浓度高,糖尿病并发干眼症患者比糖尿病无干眼症患者的泪液 IL-6 浓度高。由此可以推测:泪液、血清 IL-6 水平与 2 型糖尿病伴干眼症的发生有关系。进一步研究泪液 IL-6 与血清 IL-6 的相关性表明,A、B 和 C 3 组人群血清 IL-6 与泪液 IL-6 水平呈直线正相关,变化趋势一致,即用泪液 IL-6 变化趋势推测血液 IL-6 变化趋势是可能和可行,因此对泪液 IL-6 浓度进行测定的方法,有望成为糖尿病并发干眼症患者病情监测及评估的可能方法。

#### 参 考 文 献:

- [1] 王淑莉,陈瑞合,黄宝玲,等. 首诊于眼科的 2 型糖尿病 88 例分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011, 25(5): 518-519.
- [2] SCARDINA G A, RUGGIERI A, MESSINA P. Periodontal disease and sjogren syndrome: a possible correlation[J]. Angiology, 2010, 61(3): 289-293.
- [3] BARZILAY J I, ABRAHAXN L, HECKBERT S R, et al. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the cardiovascular health study[J]. Diabetes, 2001, 50(16): 2384-2389.
- [4] ANTONETTI DA, KLEIN K, GARDNER TW. Diabetic retinopathy[J]. N Engl J Med, 2012, 366(13): 1227-1239.
- [5] MANNING P J, SUTHERLAND W H, WALKER R J, et al. The effect of glucose ingestion on inflammation and oxidative stress in obese individuals[J]. Metabolism, 2008, 57 (10): 1345-1349.
- [6] NAJAFI L, MALEK M, VALOJERDI A E, et al. Dry eye and its correlation to diabetes microvascular complications in people

- with 2 diabetes mellitus[J]. *J Diabetes Complications*, 2013, 27(5): 459-462.
- [7] 赵堪兴,杨培增. 眼科学[M]. 第8版. 北京:人民卫生出版社,2013:92.
- [8] 丛晨阳,毕宏生,温莹. 干眼症发病机制和治疗方法的研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2012, 12(3): 464-467.
- [9] YOON K C, JEONG I Y, PARK Y G, et al. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in tears of patients with dry eye syndrome[J]. *Cornea*, 2007, 26(4): 431-437.
- [10] LAM H. Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome[J]. *American Journal of Ophthalmology*, 2009, 147(2): 198-205.
- [11] PFLUGFELDER S C. Antiinflammatory therapy for dry eye[J]. *Am J Ophthalmol*, 2004, 137(2): 337-342.
- [12] YAH Z, ZHAO N, WANG Z, et al. A mutated human tumor necrosis factor-alpha improves the therapeutic index in vitro and in vivo[J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 415-423.
- [13] SHENG W H, CHIANG B L, CHANG S C, et al. Clinical manifestations and inflammatory cytokine responses in patients with severe acute respiratory syndrome [J]. *J Formos Med Assoc*, 2005, 104(10): 715-723.
- [14] RODRIGUEZ-RODRIGUEZ E, PEREA J M, LOPEZ-SOBALER A M, et al. Obesity, insulin resistance and increase in adipokines levels: importance of the diet and physical activity[J]. *Nutr Hosp*, 2009, 24(4): 415-421.
- [15] KOLEVA-GEORGIEVA D N, SIVKOVA N P, TERZIEVA D, et al. Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy[J]. *Filia Med (Plovdiv)*, 2011, 533(2): 44-50.
- [16] 张艳茹. 糖尿病视网膜病变患者血清同型半胱氨酸、自细胞介素-6和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的检测意义[J]. *中国实用医刊*, 2012, 39(11): 9-10.
- [17] FUNATSU H, YAMASCHITA H, NOMA H, et al. Aqueous humour levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patient [J]. *Ophthalmology*, 2005, 243(1): 3-8.

(张蕾 编辑)