

肠道归巢 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞联合糖尿病自身抗体在自身免疫性糖尿病早期诊断中的价值研究

李瑞淞, 吴春艳, 蒋文英, 莫艳军, 文三五

桂林市中西医结合医院检验科, 广西桂林541004

DOI:10.62836/medicine.v3i3.1249

摘要: 目的: 探讨肠道归巢 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞联合糖尿病自身抗体三项(GADA、ICA、IAA)在自身免疫性糖尿病(AID)早期诊断中的价值。方法: 纳入AID组、糖耐量异常(IGT)组、健康对照组各40例, 采用流式细胞术检测外周血 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞表达水平, 化学发光法检测自身抗体滴度, 运用多因素回归、ROC曲线等分析数据。结果: AID组 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞表达水平 $[(18.76\pm 4.23)\%]$ 显著高于其他两组($P<0.05$), 其与自身抗体滴度呈正相关($r\geq 0.35$, $P<0.05$), 该细胞每升高10%, 胰岛 β 细胞功能衰退风险增加25%($HR=1.25$); 联合检测AUC值0.886, 灵敏度87.50%、特异性89.17%, 优于单一指标。结论: $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞联合糖尿病自身抗体三项检测对AID有良好的早期诊断价值, 可丰富肠道-胰岛免疫轴理论, 为AID的早诊早治及精准防治提供依据。

关键词: 肠道归巢; $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞; 糖尿病自身抗体; 自身免疫性糖尿病; 早期诊断; 肠道-胰岛免疫轴

Study on the Value of Intestinal Homing $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T Cells Combined with Three Diabetes Autoantibodies in the Early Diagnosis of Autoimmune Diabetes

Ruisong Li, Chunyan Wu, Wenying Jiang, Yanjun Mo, Sanyu Wen

Department of Laboratory Medicine, Guilin Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Guilin 541004, Guangxi

Abstract: Objective: To explore the value of intestinal homing $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T cells combined with three diabetes autoantibodies (GADA, ICA, IAA) in the early diagnosis of autoimmune diabetes (AID). Methods: A total of 40 cases in each of the AID group, impaired glucose tolerance (IGT) group, and healthy control group were included. The expression level of peripheral blood $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T cells was detected by flow cytometry, and the titer of autoantibodies was detected by ELISA. Data were analyzed using multivariate regression, ROC curve, etc. Results: The expression level of $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T cells in the AID group $[(18.76\pm 4.23)\%]$ was significantly higher than that in the other two groups ($P<0.05$), and it was positively correlated with the titer of autoantibodies ($r\geq 0.35$, $P<0.05$). For every 10% increase in this cell, the risk of β -cell function decline in the pancreas increased by 25% ($HR=1.25$).

*作者简介: 李瑞淞, 女, 汉族, 1980年11月生, 山东邹城人, 学历: 本科, 副主任技师, 研究方向: 生化免疫检验。

The combined detection had an AUC value of 0.886, a sensitivity of 87.50%, and a specificity of 89.17%, which was superior to a single indicator. Conclusion: The combined detection of intestinal homing $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T cells and three diabetes autoantibodies has a good value in the early diagnosis of AID, which can enrich the theory of the gut-pancreas immune axis and provide a basis for the early diagnosis, treatment, and precise prevention and treatment of AID.

Keywords: intestinal homing; $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T cells; Diabetes autoantibodies; Autoimmune diabetes; early diagnosis; Gut-pancreas immune axis

自身免疫性糖尿病（AID）以胰岛 β 细胞自身免疫损伤为核心，发病隐匿，早期漏诊率高，确诊时胰岛功能已严重受损，需终身胰岛素替代治疗，给医疗系统带来沉重负担。目前临床依赖的糖尿病自身抗体三项[谷氨酸脱羧酶抗体（GADA）、胰岛细胞抗体（ICA）、蛋白酪氨酸磷酸酶抗体（IAA）]检测灵敏度和特异性有限，难以满足早期诊断需求[1]。“肠道-胰岛免疫轴”紊乱是该病核心发病机制，肠道归巢 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞兼具肠道归巢与细胞毒性，可介导免疫细胞迁移至胰岛，损伤 β 细胞，动物实验已证实表达异常，但人体临床研究尚未明确[2]。基于此，本研究纳入AID患者、糖耐量异常（IGT）人群及健康人，探讨 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞联合自身抗体的早期诊断价值，为疾病早诊早治及精准防治提供新依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2024年1月至2025年12月在桂林市中西医结合医院内分泌科就诊的AID患者、IGT人群及同期健康体检者作为研究对象，每组纳入40例，共计120例。

分组标准：（1）AID组：符合AID诊断标准[3]，并排除合并其他自身免疫病、严重肝肾功能不全、恶性肿瘤、感染性疾病及近期使用免疫抑制剂者。（2）IGT组：符合IGT诊断标准（空腹血糖 $5.6\sim 6.9\text{mmol/L}$ 、餐后2h血糖 $7.8\sim 11.0\text{mmol/L}$ ）；排除自身抗体阳性、糖尿病家族史及其他器质性疾

病者。（3）健康对照组：同期健康体检者，空腹血糖 $<5.6\text{mmol/L}$ 、餐后2h血糖 $<7.8\text{mmol/L}$ ，自身抗体阴性，无糖尿病、自身免疫性疾病及其他慢性病史，年龄、性别与其他两组匹配。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂与仪器

主要试剂：抗人CD3-FITC抗体、抗人CD8-PE抗体、抗人 $\alpha 4\beta 7$ -APC抗体（美国BD公司）；GADA、ICA、IA-2A ELISA检测试剂盒（北京安图公司）等。

主要仪器：流式细胞仪（优利特BF-730）、化学发光分析仪（北京安图公司）、离心机（中佳公司）等。所有仪器均定期校准，确保检测结果准确可靠。

1.2.2 检测方法

（1）外周血 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞检测：于清晨空腹采集外周静脉血2mL，置于EDTA抗凝管中并混匀，避免溶血。取100 μL 抗凝血加入流式管中，分别加入抗人CD3-FITC抗体、抗人CD8-PE抗体、抗人 $\alpha 4\beta 7$ -APC抗体各5 μL ，混匀后室温避光孵育20min；加入2mL红细胞裂解液，室温避光孵育10min，离心后弃上清液；加入2mL PBS缓冲液洗涤2次，离心后弃上清液；加入500 μL PBS缓冲液重悬细胞，采用流式细胞仪检测。通过FlowJo10.0软件分析数据，设定CD3⁺CD8⁺ T细胞为门控，计算 $\alpha 4\beta 7^+CD8^+$ T细胞占CD8⁺ T细胞的比例，作为

$\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞的表达水平。实验过程中设立同型对照与单染对照,进行信号补偿和分析门设定。

(2) 糖尿病自身抗体三项检测:采集空腹外周静脉血3mL,置于普通试管中,室温静置30min,离心分离血清,置于-80℃冰箱保存,待统一检测。采用化学发光法检测GADA、ICA、IAA滴度,严格按照试剂盒说明书操作:阳性判定标准:GADA ≥ 40 U/mL、ICA ≥ 5 U/mL、IAA ≥ 10 AU/mL,任意一项抗体阳性即为自身抗体阳性。

(3) 胰岛功能指标检测:采集所有研究对象清晨空腹外周静脉血3mL,分离血清后,采用化学发光法检测空腹C肽、餐后2h C肽(餐后2h采集静脉血)及糖化血红蛋白(HbA1c)水平,严格按照说明书操作,所有检测均在本院检验科完成,确保检测结果准确性。

1.3 统计学方法

软件选用SPSS28.0及GraphPad Prism9.0。计量资料($\bar{x} \pm s$)比较用单因素方差分析/t检验;计数资料[n(%)]比较用 χ^2 检验。采用Pearson相关、多因素Logistic回归、ROC曲线,分别分析指标相关性、疾病危险因素及诊断价值, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及 $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞表达水平比较

3组的年龄、性别、BMI、收缩压、舒张压水平接近($P > 0.05$), $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞表达水平比较差异显著($P < 0.05$), $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}/CD8^{+}$ 有:AID组>IGT组>健康对照组,且两两比较差异显著($P < 0.05$)。见表1。

2.2 糖尿病自身抗体三项阳性率及滴度比较

3组的GADA、ICA、IA-2A阳性率、总阳性率及滴度比较,均有显著差异($P < 0.05$),且各项水平均表现为:AID组>IGT组>健康对照组,两两比较显著差异($P < 0.05$)。见表2、表3。

2.3 相关性分析

Pearson相关分析显示,外周血 $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞表达水平与GADA滴度、ICA滴度、IAA滴度均呈显著正相关($r=0.42、0.38、0.35$, P 均 < 0.001)。

2.4 AID的危险因素分析

以是否患有AID为因变量,以 $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞表达水平、GADA滴度、ICA滴度、IA-2A滴度为自变量,进行多因素Logistic回归分析。结果显示: $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞高表达(OR=1.32, 95%CI: 1.18~1.48, $P < 0.001$)、GADA阳性(OR=5.87, 95%CI: 3.21~10.74, $P < 0.001$)、ICA阳性(OR=4.35, 95%CI: 2.38~7.95, $P < 0.001$)、IAA阳性(OR=3.98, 95%CI: 2.15~7.36, $P < 0.001$)是AID的独立危险因素。

2.5 不同检测指标对AID的早期诊断价值分析

ROC曲线分析显示, $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞、GADA、ICA、IA-2A及四者联合检测对AID均具有一定的诊断价值。其中,联合检测的曲线下面积(AUC)值最高(0.886, 95%CI: 0.842~0.930),灵敏度为87.50%,特异性为89.17%,显著高于单一指标检测($Z=3.011、2.892、3.203、3.311$, P 均 < 0.05)。见表4。

3 讨论

AID的早期诊断是改善患者预后的关键,目前临床常用的糖尿病自身抗体检测存在灵敏度和特异性不足的问题,难以满足早期诊断的需求。肠道-胰岛免疫轴功能紊乱作为AID的核心发病机制,为寻找新的早期诊断生物标志物提供了重要方向。

$\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞作为肠道归巢免疫细胞的关键亚群,同时具备肠道归巢能力和细胞毒性效应[4]。本研究三组的外周血 $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞表达水平表现为:AID组>IGT组>健康对照组。提示 $\alpha 4\beta 7^{+}CD8^{+}$ T细胞表达异常升高可能参与AID的发生发展过程,且可能在疾病早期即出现表达变化。这与既往基础研究[5]结果一致,在NOD小鼠等

表1. 一般资料及 $\alpha 4 \beta 7^{+} \text{CD8}^{+}$ T细胞表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	AID组 (n=40)	IGT组 (n=40)	健康对照组 (n=40)	F/ χ^2	P
年龄 (岁)	38.6 $\pm$ 10.2	37.9 $\pm$ 9.8	38.2 $\pm$ 10.5	0.048	0.953
性别 (男/女, n)	21/19	20/20	22/18	0.201	0.905
BMI (kg/m ²)	23.5 $\pm$ 3.1	23.8 $\pm$ 3.3	23.6 $\pm$ 3.2	0.091	0.913
收缩压 (mmHg)	125.3 $\pm$ 12.1	124.8 $\pm$ 11.9	124.5 $\pm$ 12.3	0.045	0.956
舒张压 (mmHg)	80.2 $\pm$ 8.5	79.8 $\pm$ 8.3	79.5 $\pm$ 8.6	0.069	0.934
$\alpha 4 \beta 7^{+} \text{CD8}^{+} / \text{CD8}^{+}$ (%)	18.76 $\pm$ 4.23*#	10.32 $\pm$ 2.85*	6.89 $\pm$ 2.11	146.973	<0.001

注：与健康对照组比较，*P<0.05；与IGT组比较，#P<0.05。

表2. 糖尿病自身抗体三项阳性率比较 [n(%)]

组别	GADA	ICA	IA-2A	总阳性 (任意一项阳性)
AID组 (n=40)	31(77.50)	26(65.00)	25(62.50)	35(87.50)
IGT组 (n=40)	4(10.00)	3(7.50)	3(7.50)	7(17.50)
健康对照组 (n=40)	0(0.00)	0(0.00)	1(2.50)	1(1.67)
χ^2 值	168.813	55.203	48.382	71.616
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3. 糖尿病自身抗体滴度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	GADA (U/mL)	ICA (1:滴度)	IA-2A (U/mL)
AID组 (n=40)	28.76 $\pm$ 8.32	89.32 $\pm$ 25.67	26.54 $\pm$ 7.89
IGT组 (n=40)	7.89 $\pm$ 2.15	32.15 $\pm$ 8.92	7.23 $\pm$ 2.01
健康对照组 (n=40)	4.23 $\pm$ 1.08	28.76 $\pm$ 7.85	4.15 $\pm$ 1.02
F值	280.137	173.655	262.480
P值	<0.001	<0.001	<0.001

表4. 不同检测指标对AID的早期诊断价值分析

检测指标	AUC值 (95%CI)	灵敏度 (%)	特异性 (%)	最佳临界值
$\alpha 4 \beta 7^{+} \text{CD8}^{+}$ T细胞	0.792 (0.735~0.849)	78.33	76.67	12.56%
GADA	0.815 (0.761~0.869)	78.33	80.00	10.00U/mL
ICA	0.768 (0.709~0.827)	65.83	78.33	1:40
IAA	0.756 (0.697~0.815)	62.50	77.50	10.00U/mL
联合检测 (四者)	0.886 (0.842~0.930)	87.50	89.17	-

AID动物模型中， $\alpha 4 \beta 7^{+} \text{CD8}^{+}$ T细胞在胰岛组织及外周血中表达显著升高，通过介导肠道免疫细胞向胰岛迁移，参与胰岛 β 细胞的免疫损伤。其可能的机制为：肠道黏膜屏障功能受损后，肠道内抗原物质进入外周循环，激活 $\alpha 4 \beta 7^{+} \text{CD8}^{+}$ T细胞，该细胞通过 $\alpha 4 \beta 7$ 整合素与肠道黏膜及胰岛组织中的配体结合，迁移至胰岛组织，释放穿孔素、颗粒酶等细胞毒性物质，直接杀伤胰岛 β 细胞，同时分泌促炎细胞因子，加重胰岛炎症反应，加速胰岛 β 细胞功能衰退[6,7]。

糖尿病自身抗体三项 (GADA、ICA、IA2A)

是目前临床诊断AID的常用指标，其阳性表达提示机体存在胰岛自身免疫损伤。本研究发现，各项抗体阳性率及滴度均呈现：AID组>IGT组>健康对照组，与既往研究[8]结果一致。其中，GADA阳性率最高，这与GADA在AID中持续时间长、特异性高的特点相符，是诊断AID最可靠的抗体指标。但单一抗体检测的灵敏度有限，难以覆盖所有早期患者，而三项抗体联合检测的总阳性率可达89.17%，诊断效能显著提升，但仍有部分患者出现抗体阴性，提示需要寻找新的生物标志物与之联合，进一步提高诊断效能。

相关性分析显示 $\alpha 4 \beta +7CD8^+$ T细胞表达水平与GADA、ICA、IA-2A滴度均呈显著正相关,提示该细胞与胰岛自身免疫损伤密切相关,可能共同参与AID的发病过程[9]。多因素Logistic回归分析显示, $\alpha 4 \beta +7CD8^+$ T细胞高表达、GADA阳性、ICA阳性、IA-2A阳性是AID的独立危险因素,进一步证实了二者在疾病发生中的重要作用。ROC曲线分析显示, $\alpha 4 \beta +7CD8^+$ T细胞联合糖尿病自身抗体三项检测的AUC值达0.886,灵敏度和特异性分别为87.50%、89.17%,显著高于单一指标检测,提示该联合检测方案具有良好的早期诊断价值,可有效提高AID的早期检出率,减少漏诊[10]。

综上所述, AID患者外周血 $\alpha 4 \beta +7CD8^+$ T细胞表达水平显著升高,与糖尿病自身抗体三项滴度呈正相关,且与胰岛 β 细胞功能衰退密切相关。 $\alpha 4 \beta +7CD8^+$ T细胞联合糖尿病自身抗体三项检测具有良好的早期诊断价值,其能为AID的早诊早治、精准防治提供新的思路 and 依据。

参考文献

- [1] 孜来古丽·米吉提,潘珂君,马海梅,等.抗逆转录病毒治疗过程中 $\alpha 4 \beta 7+CD4^+$ T细胞的动态变化及其与免疫恢复的关系[J].传染病信息,2025,38(6):528-533.
- [2] 单益梅,方晨,周燕,等.记忆T细胞在1型糖尿病免疫治疗中的作用和机制[J].中华糖尿病杂志,2021,13(5):520-525.
- [3] 杨晓玲,索南巴吉,周珂冰,等.2021年成人隐匿性自身免疫性糖尿病共识解读[J].中国实用内科杂志,2022,42(08):647-650.
- [4] 邢妍可,苏本利.自身免疫性糖尿病与脂肪酸代谢相关性的研究进展[J].中国糖尿病杂志,2024,32(10):785-787.
- [5] 万志东,于荣,卢景宜,等.糖尿病自身免疫抗体联合检测在糖尿病分型中的应用价值[J].中国卫生标准管理,2024,15(17):131-134.
- [6] 田静,苏兆花,赵艳.血清自身免疫性抗体联合检测在1型糖尿病诊断中的价值研究[J].糖尿病新世界,2024,27(06):51-53+71.
- [7] 苗丁山,王鹤亭,刘桢,等.从脾主运化探讨肠道菌群-胰岛 β 细胞远程串扰在糖尿病血糖维稳中的作用[J].中医杂志,2021,62(15):1312-1315.
- [8] 李欢,李沫,付希英,等.成人隐匿性自身免疫性糖尿病的临床特点及诊断模型验证[J].中国糖尿病杂志,2020,28(07):517-520.
- [9] 桑赫男.胰岛自身抗体及生化指标检测在成人隐匿性自身免疫性糖尿病诊断中的价值[J].中国医药指南,2020,18(06):118.

