

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.12.020

文章编号: 1005-8982 (2018) 12-0109-04

妊娠糖尿病患者血清中 RBP4 及 NF- κ B 活性的变化及临床意义

谭冠文¹, 赵江瑞¹, 孙抗²

(1. 信阳职业技术学院, 河南 信阳 464000; 2. 信阳职业技术学院附属医院, 河南 信阳 464000)

摘要: 目的 探究视黄醇结合蛋白4 (RBP4) 和蛋白质核因子 κ B (NF- κ B) 在妊娠糖尿病患者外周血中的表达及其临床意义。**方法** 选取2014年12月-2016年12月在该院产科产检的104例孕妇, 依据其糖耐量检测结果分为妊娠糖尿病 (GDM) 组46例和妊娠正常糖耐量 (NGT) 组58例, 通过ELISA测定两组血清中RBP4、NF- κ B、空腹血糖 (FBG) 及空腹血胰岛素 (Fins) 等指标的变化, 并分析其与胰岛素抵抗 (HOMA-IR) 的相关性。**结果** 妊娠糖尿病组血清中RBP4、NF- κ B、FBG及HOMA-IR等指标均高于妊娠正常糖耐量组 ($P < 0.05$)。血清中NF- κ B的活性与HOMA-IR呈正相关 ($r = 0.755, P = 0.003$); 血清中RBP4的水平与HOMA-IR不相关 ($r = 0.268, P = 0.376$); RBP4与NF- κ B的水平呈正相关 ($r = 0.752, P = 0.003$)。**结论** RBP4水平和NF- κ B活性在妊娠糖尿病的发生、发展中起重要作用, 可能为其治疗提供潜在的靶点。

关键词: RBP4; NF- κ B; 妊娠糖尿病; 胰岛素抵抗

中图分类号: R714.2

文献标识码: A

Changes of serum RBP4 and NF- κ B in patients with gestational diabetes mellitus and its clinical significance

Guan-wen Tan¹, Jiang-rui Zhao¹, Kang Sun²

(1. School of Medicine, Xinyang Vocational Technical College, Xinyang, Henan 464000, China;
2. the Affiliated Hospital of Xinyang Vocational Technical College, Xinyang, Henan 464000, China)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of the RBP4 and NF- κ B in serum of patients with gestational diabetes mellitus. **Methods** Totally 104 pregnant women were collected in our hospital from December 2014 to December 2016, which were divided into gestational diabetes mellitus group (GDM) (46 cases) and normal glucose tolerance pregnancy group (NGT) (58 cases) according to the sugar tolerance test results. Changes of serum RBP4 level, NF- κ B activity, fasting blood glucose (FBG) and fasting blood insulin (Fins) were detected by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Correlations between insulin resistance (HOMA-IR) and them were analyzed. **Result** Compared with the GNT group, serum RBP4 level, NF- κ B activity, FBG level and Fins level were significantly increased in GDM group ($P < 0.05$). The serum NF- κ B activity was positively correlated with HOMA-IR ($r = 0.755, P = 0.003$); there was no significant correlation between the serum BRP4 level and HOMA-IR ($r = 0.268, P = 0.376$); the serum BRP4 level had a positive correlation with NF- κ B activity ($r = 0.752, P = 0.003$). **Conclusion** BRP4 level and NF- κ B activity may play an important role in gestational diabetes mellitus process, and they are likely to be potential targets for treatment of gestational diabetes mellitus.

Keywords: BRP4; NF- κ B; gestational diabetes mellitus; insulin resistance

妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是指在妊娠期间首次发生或发现的任何程度的糖耐量受损; 属于妊娠期常见但严重的并发症, 不仅威胁到母体健康, 还会大大增加婴儿成年后心血管疾病的发病风险^[1-3]。但是目前 GDM 的发病机制尚未完全明确, 研究显示 GDM 可能与环境、饮食结构和遗传因素相关, 且目前胰岛素信号通路异常所致的胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 被认为是 GDM 发病的主要机制之^[4-6]。此外, 炎症反应在生理性 IR 向 GDM 发展的过程中起至关重要的作用^[7]。视黄醇结合蛋白 4 (retinol binding protein 4, RBP4) 是一种脂肪细胞因子, 广泛分布于人体血清、尿液及脑脊液中^[8]。研究显示^[8-9], RBP4 可降低胰岛素敏感性、加重炎症反应, 目前已可作为一种血清学指标, 进行心血管疾病的早期筛查及检测, 但其在妊娠糖尿病中作用并没有明确系统的研究。蛋白质核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 同样作为一种炎症反应因子, 可参与调控多种基因的表达, 进而影响相关疾病的病理生理进程^[10-11]。本研究检测妊娠糖尿病患者血清中 RBP4、NF- κ B、空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG)、空腹血胰岛素 (fasting insulin, Fins) 等指标的变化, 并分析其与稳态模式评估胰岛素抵抗 (HOMA-IR) 之间的相关性, 为妊娠糖尿病的早期诊疗提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 病例纳入标准 按照 2010 年国际妊娠合并糖尿病研究组织推荐的 GDM 诊断标准^[12], 即空腹血糖、进糖后 1 h、进糖后 2 h 的上限分别为 5.1、10.0 和 8.5 mmol/L。所有孕妇均行口服葡萄糖耐量实验: 实验中有 2 项或 2 项以上 \geq 上限值, 则诊断为 GDM; 实验结果阴性者为正常 (标准) 葡萄糖耐量。所有孕妇均单胎首次妊娠。

1.1.2 排除标准 妊娠前有糖尿病、高血压及其他内外科慢性病病史; 合并其他高血压疾病或内分泌代谢性疾病者, 如: 妊娠高血压、甲状腺功能亢进 (甲亢) 及皮质醇增多症等; 有服用特殊药物及影响糖代谢药物史的患者; 有烟酒等不良嗜好者。

1.2 临床资料

依据纳入及排除标准, 选取 2014 年 12 月-2016 年 12 月在本院产科产检的 104 例孕妇, 同时依据其糖耐量检测结果分为妊娠糖尿病 (gestational diabetes

mellitus group, GDM) 组和妊娠非糖尿病 (normal glucose tolerance pregnancy, NGT) 组。其中, GDM 组共 46 例。年龄 25 ~ 28 岁, 平均 (28.92 \pm 1.9) 岁; 孕周 20 ~ 28 周, 平均 (26.16 \pm 1.26) 周。NGT 组共 58 例。年龄 23 ~ 29 岁, 平均 (28.31 \pm 2.14) 岁; 孕周 20 ~ 28 周, 平均 (26.43 \pm 1.51) 周。收集并录入研究对象的一般临床资料, 以供后续实验分析。本研究通过医院伦理委员会审核备案, 且所有入选对象均签署知情通知书。

1.3 主要试剂

NF- κ B 活性检测试剂盒 (购自上海基尔顿生物科技有限公司), RBP4 定量检测试剂盒 (购自美国 R&D 公司)。

1.4 ELISA 测定 RBP4 水平及 NF- κ B 活性

清晨空腹状态下, 采集研究对象外周静脉血 5 ml, 离心 (2 500 r/min) 10 min 分离血清, 并将血清置入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中冷冻保存备用。RBP4 水平及 NF- κ B 活性采用 ELISA 检测, 依据试剂盒说明书进行操作, 简述如下: 待测样品及酶标板取出后室温平衡 30 min, 标记后向相应微孔中加入标准品或待测样品, 温育 30 min 后洗板 5 次; 加 HRP- 标记的抗体, 温育 30 min 后洗板 5 次; 加底物 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min 显色; 加终止液并用酶标仪检测各孔在 450 nm 的光密度值。

1.5 IR 评估

采用葡萄糖氧化酶法检测 FBG 水平, 采用放射免疫法测定 Fins 的水平, 而后采用 HOMA-IR 进行 IR 评估。计算公式: HOMA-IR = Fins \times FBG / 22.5。

1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 *t* 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇一般临床资料比较

两组孕妇的一般临床资料见附表, 统计学分析显示: GDM 组与 NGT 组孕妇在年龄、孕期、体重指数 (body mass index, BMI)、舒张压 (diastolic blood pressure, DBP) 及收缩压 (systolic blood pressure, SBP) 等方面比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。见附表。

附表 两组一般临床资料 ($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄 / 岁	妊娠 / 周	BMI / (kg/m ²)	SBP/mmHg	DBP/mmHg
NGT	28.31 ± 2.14	26.43 ± 1.51	21.92 ± 2.11	128.7 ± 9.62	79.77 ± 9.01
GDM	28.92 ± 1.9	26.16 ± 1.26	23.18 ± 2.63	132.43 ± 10.2	81.32 ± 7.68
<i>t</i> 值	0.385	0.236	0.431	0.514	0.352
<i>P</i> 值	0.891	0.934	0.692	0.418	0.904

2.2 两组血清糖代谢情况及 HOMA-IR 值比较

GDM 组患者血清中 FBG 的含量 (6.92 ± 1.02) mmol/L 高于 NGT 组 (4.20 ± 0.55) mmol/L ($t=2.789$, $P=0.007$); 而 GDM 组和 NGT 组孕妇血清中 Fins 的含量分别为 (11.98 ± 1.67) 和 (10.89 ± 1.58) mIU/L, 差异无统计学意义 ($t=0.562$, $P=0.389$); 此外 GDM 组患者的 HOMA-IR 值 (3.74 ± 0.96) 高于 NGT 组的 (2.04 ± 0.23) ($t=2.104$, $P=0.012$), 呈明显的胰岛素抵抗。

2.3 血清中 RBP4 的水平及其与 HOMA-IR 的相关性分析

GDM 组患者血清中 RBP4 的水平 (70.08 ± 6.39) mg/L 高于 NGT 组 (47.31 ± 9.07) mg/L, 两者差异有统计学意义 ($t=2.904$, $P=0.002$)。经 Pearson 等级相关分析发现 RBP4 的水平与 HOMA-IR 值之间无相关 ($r=0.268$, $P=0.376$)。

2.4 血清中 NF- κ B 的活性及其与 HOMA-IR 的相关性分析

GDM 组患者血清中 NF- κ B 的活性 (3.73 ± 0.92) ng/ml 高于 NGT 组 (1.05 ± 0.17) ng/ml, 两者差异有统计学意义 ($t=3.272$, $P=0.001$)。经 Pearson 等级相关分析发现 NF- κ B 的活性与 HOMA-IR 值之间呈正相关 ($r=0.755$, $P=0.003$)。

2.5 血清中 RBP4 水平和 NF- κ B 活性之间的相关性分析

GDM 患者血清中 RBP4 水平和 NF- κ B 活性之间呈正相关 ($r=0.752$, $P=0.003$)。

3 讨论

研究显示, 孕妇激素水平发生变化, 特别是促进脂肪分解的激素水平增加, 可导致体内炎症因子的分泌、糖代谢及脂质代谢的异常, 并出现胰岛素抵抗^[6, 12-13]。本研究对所有纳入孕妇的血清糖代谢水平进行统计学分析, 结果显示 GDM 组血清中 FBG 的含量升高; 而两组研究对象血清中 Fins 的含量无差异;

此外 GDM 组的 HOMA-IR 值高于 NGT 组, 出现胰岛素抵抗。本结果与早期的研究具有一致性。

胰岛素抵抗的发生, 不仅涉及到体内糖代谢异常, 也涉及到脂质代谢的异常。RBP4 是一种核受体辅助因子, 可影响视黄酸受体及视黄醇受体所调节的基因表达过程, 并导致脂质的异常代谢^[14-15]。近年来, 许多学者对 RBP4 在妊娠糖尿病中的作用进行大量研究, 所得结果却不尽相同。DU 等^[16]对 76 例中国妇女进行的相关研究显示 RBP4 在 GDM 患者血清中的表达水平升高, 且与 TG 和 HDL 的表达具有相关性, 可影响体内脂质代谢过程。KHOVIDHUNKIT 等^[17]对泰国妇女进行的研究则显示 RBP4 在妊娠糖尿病患者及正常孕妇血清中的表达水平并无差异。造成不一致结果的原因可能是样本量或是种族、地区的差异。本研究通过对 46 例妊娠糖尿病患者和 58 例妊娠非糖尿病孕妇的对照研究发现, 妊娠糖尿病患者血清中 RBP4 的水平升高。经 Pearson 相关性分析发现 RBP4 的水平与 HOMA-IR 值之间无相关。由此可认为, RBP4 水平的升高对判断妊娠糖尿病具有重要的参考意义, 但血清 RBP4 水平与胰岛素抵抗之间无关。

此外, 本研究还检测 NF- κ B 在妊娠糖尿病中的可能作用, 结果显示, GDM 组血清中 NF- κ B 的活性高于 NGT 组。NF- κ B 作为信号转导路径的枢纽, 一旦激活即可通过相应的正反馈机制, 加速炎症反应的发生^[18]; 而持续的炎症反应正是妊娠糖尿病的发病机制之一。故血清中 NF- κ B 活性的升高可作为诊断妊娠糖尿病的生物标志物。早期有研究认为, 炎症因子可通过激活 JNK 通路或 NF- κ B 通路引起胰岛素抵抗^[19-20], 本研究经 Pearson 等级相关分析发现 NF- κ B 的活性与 HOMA-IR 值之间呈正相关。本结果从侧面证实 NF- κ B 参与调控妊娠糖尿病胰岛素抵抗的发生, 在妊娠糖尿病发病中起着的重要作用; 但是 NF- κ B 信号通路的异常在妊娠糖尿病中的具体作用及相关作用机制还有待进一步深入的研究。此外, 研究结果还显示, GDM 患者血清中 RBP4 水平和

NF- κ B 活性之间呈正相关,说明两者之间可能存在某种形式的协同作用,可共同作为妊娠糖尿病的诊断指标。

综上所述,本研究发现妊娠糖尿病组患者血清中 RBP4、NF- κ B、FBG 及 HOMA-IR 等指标的表达水平均呈升高趋势,且 NF- κ B 的活性与 HOMA-IR 呈正相关,可能参与影响妊娠糖尿病患者胰岛素抵抗的发生;此外,RBP4 与 NF- κ B 的水平呈正相关,两者可协同作为今后妊娠糖尿病诊断的重要参考指标,并有望为其治疗提供潜在的靶点。

参 考 文 献

- [1] DUGAS C, PERRON J, KEARNEY M, et al. Postnatal prevention of childhood obesity in offspring prenatally exposed to gestational diabetes mellitus: where are we now[J]. *Obes Facts*, 2017,10(4):396-406.
- [2] POULAKOS P, MINTZIORI G, TSIROU E, et al. Comments on gestational diabetes mellitus: from pathophysiology to clinical practice[J]. *Hormones (Athens)*, 2015, 14(3): 335-344.
- [3] GUILLÉN M A, HERRANZ L, BARQUIEL B, et al. Influence of gestational diabetes mellitus on neonatal weight outcome in twin pregnancies[J]. *Diabet Med*, 2014, 31(12): 1651-1656.
- [4] CHASAN-TABER L. Life style interventions to reduce risk of diabetes among women with prior gestational diabetes mellitus[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2015, 29(1): 110-122.
- [5] BENTLEY-LEWIS R, DAWSON D L, WENGER J B, et al. Placental histomorphometry in gestational diabetes mellitus: the relationship between subsequent type 2 diabetes mellitus and race/ethnicity[J]. *Am J Clin Pathol*, 2014, 141(4): 587-592.
- [6] KUSUNOKI Y, KATSUNO T, NAKAE R, et al. Insulin resistance and β -cell function influence postprandial blood glucose levels in Japanese patients with gestational diabetes mellitus[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2015, 31(12): 929-933.
- [7] PANTHAM P, AYE I L, POWELL T L. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus[J]. *Placenta*, 2015, 36(7): 709-715.
- [8] PARK S E, LEE N S, PARK J W, et al. Association of urinary RBP4 with insulin resistance, inflammation, and microalbuminuria[J]. *Eur J Endocrinol*, 2014, 171(4): 443-449.
- [9] ZABETIAN-TARGHI F, MAHMOUDI M J, REZAEI N, et al. Retinol binding protein 4 in relation to diet, inflammation, immunity, and cardiovascular diseases[J]. *Adv Nutr*, 2015, 6(6): 748-762.
- [10] YUAN Y L, LIN B Q, ZHANG C F, et al. Timosaponin B-II ameliorates palmitate-induced insulin resistance and inflammation via IRS-1/PI3K/Akt and IKK/NF- κ B pathways[J]. *Am J Chin Med*, 2016, 44(4): 755-769.
- [11] KE B, ZHAO Z, YE X, et al. Inactivation of NF- κ B p65 (RelA) in liver improves insulin sensitivity and inhibits cAMP/PKA pathway[J]. *Diabetes*, 2015, 64(10): 3355-3362.
- [12] FEI B B, LING L, HUA C, et al. Effects of soybean oligosaccharides on antioxidant enzyme activities and insulin resistance in pregnant women with gestational diabetes mellitus[J]. *Food Chem*, 2014(158): 429-432.
- [13] LI D D, SU D Y, XUE L, et al. Relationship between a lipoprotein lipase gene polymorphism in placental tissue and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 7751-7758.
- [14] KOTNIK P, FISCHER-POSOVSZKY P, WABITSCH M. RBP4: a controversial adipokine[J]. *Eur J Endocrinol*, 2011, 165(5): 703-711.
- [15] ZABETIAN-TARGHI F, MAHMOUDI M J, REZAEI N, et al. Retinol binding protein 4 in relation to diet, inflammation, immunity, and cardiovascular diseases[J]. *Adv Nutr*, 2015, 6(6): 748-762.
- [16] DU M, WANG B, LIANG Z, et al. The Relationship between retinol-binding protein 4 concentrations and gestational diabetes mellitus in Chinese women[J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2016, 81(2): 174-180.
- [17] KHOVIDHUNKIT W, PRUKSAKORN P, PLENGPANICH W, et al. Retinol-binding protein 4 is not associated with insulin resistance in pregnancy[J]. *Metabolism*, 2012, 61(1): 65-69.
- [18] ZHANG H, SUN S C. NF- κ B in inflammation and renal diseases[J]. *Cell Biosci*, 2015(5): 63.
- [19] PRIYANKA A, SINDHU G, SHYNI G L, et al. Bilobalide abates inflammation, insulin resistance and secretion of angiogenic factors induced by hypoxia in 3T3-L1 adipocytes by controlling NF- κ B and JNK activation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017(42): 209-217.
- [20] CYPHERT T J, MORRIS R T, HOUSE L M, et al. NF- κ B-dependent airway inflammation triggers systemic insulin resistance[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, 309(9): R1144-1152.

(王荣兵 编辑)