

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.32.012
文章编号: 1005-8982 (2018) 32-0065-04

绝经后女性 2 型糖尿病患者的 DKK1 蛋白 表达水平及其临床意义*

徐海洋¹, 周琼², 李军¹, 李思源³, 孙侃¹, 常向云¹, 王晓丽¹, 胡颖⁴

(1. 石河子大学医学院第一附属医院 内分泌代谢科, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆第二师二十九团医院 新疆 库尔勒市 841000; 3. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832000; 4. 新疆医科大学第四附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: 目的 探讨 Wnt 信号通路中 DKK1 蛋白在绝经后 2 型糖尿病 (T2DM) 女性患者中的表达及其与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能的关系。**方法** 选取 2015 年 10 月-2017 年 10 月于石河子大学第一附属医院和新疆维吾尔自治区石河子市第十五社区卫生服务中心住院的绝经后女性 T2DM 患者。收集患者临床资料并检测常规生化指标、空腹胰岛素 (FINS)、空腹 C 肽 (FCP) 及 DKK1 蛋白表达水平, 计算胰岛素敏感指数 (ISI)、胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 及胰岛素 β 细胞功能指数 (HOMA- β)。采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析。**结果** 与 NGT 组相比, T2DM 组 FPG、果糖胺、HbA1c、TC 及 HOMA-IR 水平提高, FCP、ISI 及 HOMA- β 水平降低 ($P < 0.05$)。T2DM 组 DKK1 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$)。DKK1 蛋白表达水平与 FCP 呈负相关, 与 HOMA-IR 呈正相关 ($P < 0.05$)。FPG、DKK1 蛋白是影响 FCP 及 HOMA-IR 水平的因素 ($P < 0.05$)。**结论** Wnt 信号通路中 DKK1 蛋白水平的高表达可能参与绝经后女性 T2DM 患者胰岛素抵抗、胰岛 β 细胞功能减退的发生发展过程, 进而导致绝经后女性 T2DM 的糖代谢及脂代谢紊乱。

关键词: 绝经后女性; 2 型糖尿病; DKK1

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

Expression level of DKK1 protein in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus*

Hai-yang Xu¹, Qiong Zhou², Jun Li¹, Si-yuan Li³, Kan Sun¹,
Xiang-yun Chang¹, Xiao-li Wang¹, Ying Hu⁴

(1. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. The 29th Regiment Hospital of the Second Xinjiang Division, Kuerle, Xinjiang 841000, China; 3. School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 4. The Fourth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

Abstract: Objective To study the expression of DKK1 protein of Wnt signaling pathway, and analyze the relationship of DKK1 expression with insulin resistance and islet beta cell function in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Postmenopausal women in the First Affiliated Hospital of Shihezi University and the 15th Community Health Service Center of Shihezi City in Xinjiang Uygur Autonomous Region between October 2015 and October 2017 were collected into a NGT group and a T2DM group. The general clinical

收稿日期: 2018-05-12

* 基金项目: 区域创新引导计划 (No: 2018BB040); 留学人员科技活动项目择优资助基金 (No: 2016LX009); 兵团中青年科技创新领军人才专项 (No: 2015BC001)

[通信作者] 李军, E-mail: xjlj@163.com; Tel: 18703093580

data and biological indicators were recorded. The levels of conventional biochemical indicators and fasting insulin and fasting c-peptide (FCP) as well as the expression level of DKK1 protein were measured. Insulin sensitivity index (ISI), insulin resistance index (HOMA-IR) and insulin β cell function index (HOMA- β) were calculated. Data was analyzed by SPSS 20.0. **Results** Compared with the NGT group, FPG, FMN, HbA1c, TC and HOMA-IR increased; however, FCP, ISI and HOMA- β decreased in the T2DM group ($P < 0.05$). The expression level of DKK1 protein increased in the T2DM group ($P < 0.05$). The serum level of DKK1 protein was negatively correlated with FCP, but positively correlated with HOMA-IR in postmenopausal women with T2DM ($P < 0.05$). FPG and DKK1 protein were the factors influencing FCP and HOMA-IR levels ($P < 0.05$). **Conclusions** The higher expression of DKK1 protein in Wnt signaling pathway may be involved in the development process of insulin resistance and decreasing islet cell function, thereby leading to the disorders of carbohydrate and lipid metabolisms in postmenopausal women with T2DM.

Keywords: postmenopausal women; type 2 diabetes; DKK1

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是一种遗传和环境因素共同作用而形成的多基因遗传性疾病,主要在基因缺陷的基础上存在胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 和胰岛素分泌障碍^[1]。LIU 等^[2]研究表明 Wnt 信号通路异常可能与器官纤维化、代谢综合征、骨相关疾病及肿瘤等多种疾病的发生密切相关。DKK1 蛋白是 Wnt 信号通路拮抗剂,可抑制信号的传导,导致 Wnt 信号通路异常。Wnt 信号通路中 DKK1 在绝经后女性体内的表达水平乃至在绝经后 T2DM 女性体内的表达水平都鲜有报道。本文通过观察 Wnt 信号通路中 DKK1 蛋白在绝经后 T2DM 女性患者体内的表达并分析其与 IR 及胰岛 β 细胞功能的关系,为绝经后女性 T2DM 的临床防治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 10 月-2017 年 10 月于石河子大学第一附属医院和新疆维吾尔自治区石河子市第十五社区卫生服务中心住院的绝经后女性患者作为研究对象,行 OGTT 试验后分为 T2DM 组和糖耐量正常 (normal glucose tolerance, NGT) 组。其中 T2DM 组患者 50 例,平均年龄 (65.40 ± 4.60) 岁; NGT 组患者 50 例,平均年龄 (66.66 ± 5.84) 岁。纳入标准: ① T2DM 的诊断符合 1999 年世界卫生组织制定的糖尿病诊断准则; ② 意识清楚,语言表达能力正常。排除标准: ① 1 型糖尿病、自身免疫性疾病; ② 严重肝肾功能异常、严重心脑血管疾患、肿瘤、风湿免疫病及血液病等。患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 临床资料及常规生化指标测定 按统一标准对患者进行临床资料的测量,包括年龄、身高、体重、收缩压 (systolic blood pressure, SBP) 及舒张压 (diastolic

blood pressure, DBP); 计算 BMI = 体重 (kg) / 身高 (m)²; 全自动生化分析仪 (日本日立株式会社, 型号: 7071 型) 测定空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、果糖胺 (Fructosamine, FMN)、胆固醇 (total cholesterol, TC)、三酰甘油 (Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein-C, LDL-C) 及高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein-C, HDL-C) 等生化指标; D10 全自动糖化血红蛋白测定仪用高压液相色谱法 (美国伯乐公司) 测定糖化血红蛋白 (hemoglobin a1c, HbA1c)。

1.2.2 IR 及胰岛 β 细胞功能测定及计算 全自动电化学发光分析仪 (德国罗氏公司, 型号: E710 型) 测定空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)、空腹 C 肽 (fasting C-peptide, FCP); 胰岛素敏感指数 (insulin sensitivity index, ISI) = $1 / \text{FPG} (\text{mmol/L}) \times \text{FINS} (\text{mIU/L})$ ^[3]; 胰岛素抵抗指数 (insulin resistance index, HOMA-IR) = $\text{FPG} (\text{mmol/L}) \times \text{FINS} (\text{mIU/L}) / 22.5$; 胰岛素 β 细胞功能 (insulin β cell function index, HOMA- β) = $20 \times \text{FINS} (\text{mIU/L}) / [\text{FPG} (\text{mmol/L}) - 3.5] (\%)$ ^[4]。

1.2.3 DKK1 蛋白测定 按照试剂盒说明书进行操作,采用双抗体夹心 ELISA 法测定 DKK1 蛋白,试剂盒购于广东伊莱瑞特生物科技有限公司。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计学软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 或中位数和四分位间距 $M (P_{25}, P_{75})$ 表示,比较用 t 检验或秩和检验。相关性分析采用 Pearson 法或 Spearman 法,影响因素分析采用逐步回归分析法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般临床资料比较

两组患者年龄、SBP、DBP、BMI、TG、LDL-C

及 HDL-C 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明基线齐, 具有可比性; 两组患者 FPG、FMN、HbA1c 及 TC 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组患者 IR 及胰岛 β 细胞功能比较

两组患者 FCP、HOMA- β 、ISI 及 HOMA-IR 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与 NGT 组相比, T2DM 组 HOMA-IR 水平较高; FCP、ISI 及 HOMA- β 水平降低。见表 2。

2.3 两组患者血清 DKK1 蛋白比较

NGT 组 DKK1 蛋白水平为 (209.37 ± 32.35) pg/ml,

T2DM 组为 (232.97 ± 39.31) pg/ml。两组患者血清 DKK1 蛋白比较, 差异有统计学意义 ($t = 2.438, P = 0.017$), T2DM 组较 NGT 组高。见附图。

2.4 DKK1 蛋白与 IR 及胰岛 β 细胞功能指标的相关性

对 DKK1 蛋白与 IR 及胰岛 β 细胞功能指标的相关性分析, 结果显示, DKK1 蛋白与 FCP 呈负相关 ($r = -0.280, P = 0.022$), 与 HOMA-IR 呈正相关 ($r = 0.256, P = 0.037$)。

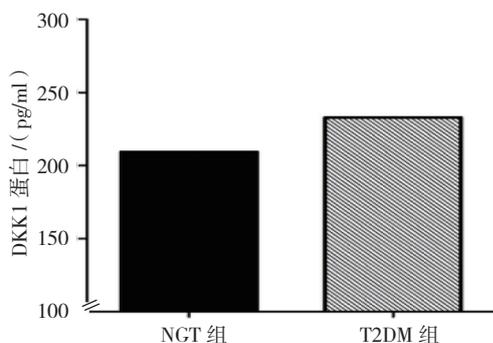
表 1 两组患者一般临床资料比较 ($n = 50, \bar{x} \pm s$)

组别	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	SBP / (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	DBP / (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	BMI / (kg/m^2 , $\bar{x} \pm s$)	FPG / [mmol/L, M (P_{25}, P_{75})]	FMN / ($\mu\text{mol}/\text{L}$, $\bar{x} \pm s$)
NGT 组	66.66 \pm 5.84	133.78 \pm 13.23	81.22 \pm 14.33	25.83 \pm 3.74	5.63 (4.91, 5.99)	239.74 \pm 36.54
T2DM 组	65.40 \pm 4.60	134.08 \pm 8.00	78.40 \pm 11.69	26.07 \pm 2.33	9.36 (7.88, 10.40)	337.66 \pm 87.31
<i>t/Z</i> 值	1.199	-0.137	1.055	-0.379	-7.332	-7.315
<i>P</i> 值	0.234	0.891	0.294	0.705	0.000	0.000

组别	HbA1c / (% , $\bar{x} \pm s$)	TG / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	TC / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	LDL-C / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	HDL-C / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)
NGT 组	6.23 \pm 0.92	1.78 \pm 0.54	4.57 \pm 0.75	2.84 \pm 0.59	1.18 \pm 0.34
T2DM 组	8.70 \pm 1.76	1.99 \pm 0.58	5.01 \pm 0.98	3.08 \pm 0.83	1.21 \pm 0.31
<i>t/Z</i> 值	-8.814	-1.873	-2.507	-1.703	-0.409
<i>P</i> 值	0.000	0.064	0.014	0.092	0.683

表 2 两组患者 IR 及胰岛 β 细胞功能比较 ($n = 50$)

组别	FCP / [nmol/L, M (P_{25}, P_{75})]	HOMA- β / [M (P_{25}, P_{75})]	ISI / [M (P_{25}, P_{75})]	HOMA-IR / ($\bar{x} \pm s$)
NGT 组	0.505 (0.39, 0.55)	83.49 (66.31, 106.67)	1.44 (1.09, 1.89)	2.00 \pm 0.70
T2DM 组	0.285 (0.230, 0.34)	29.02 (22.05, 49.55)	0.90 (0.73, 1.35)	3.75 \pm 1.14
<i>t/Z</i> 值	-7.081	-6.204	-4.116	-9.234
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000



附图 两组患者血清 DKK1 蛋白水平比较 ($n = 50, \bar{x} \pm s$)

2.5 多元线性逐步回归分析

以 FCP 为应变量, 以年龄、SBP、DBP、BMI、FPG、FMN、TG、TC、LDL-C、HDL-C 及 DKK1 为自变量, 进行多元线性逐步回归分析, 结果显示 FPG、FMN 及 DKK1 是 FCP 的影响因素 ($P < 0.05$)。以 HOMA-IR 为应变量, 以年龄、SBP、DBP、BMI、FPG、FMN、TG、TC、LDL-C、HDL-C 及 DKK1 为自变量, 进行多元线性逐步回归分析, 结果显示 FPG、DKK1 是 HOMA-IR 的影响因素 ($P < 0.05$)。见表 3、4。

表 3 以 FCP 为应变量的多元线性回归分析

自变量	b	S _b	b'	t 值	P 值
常量	0.752	0.080	-	9.389	0.000
FPG	-0.016	0.005	-0.361	-3.056	0.003
FMN	-0.000	0.000	-0.266	-2.263	0.027
DKK1	-0.001	0.000	-0.216	-2.150	0.035

表 4 以 HOMA-IR 为应变量的多元线性回归分析

自变量	b	S _b	b'	t 值	P 值
常量	-0.918	0.684	-	-1.343	0.184
FPG	0.347	0.041	0.711	8.533	0.000
DKK1	0.006	0.003	0.168	2.014	0.048

3 讨论

T2DM 作为多基因、多因素且具有高度的遗传异质性的全身性疾病,可损害机体众多器官、组织,其发病机制至今还没有完全阐明,主要表现为 IR 和胰岛素分泌障碍^[5]。我国糖尿病患者数已跃居世界第一,且患病率呈逐年递增趋势,其中 T2DM 占大多数,世界卫生组织预测,到 2025 年我国 T2DM 患者将超过 1.3 亿^[6]。对 T2DM 发病机制的进一步进行研究,有利于对该疾病的诊治。

多数 T2DM 患者同时存在严重的糖代谢紊乱和明显的脂代谢紊乱,它们有共同的代谢改变基础——IR^[7]。IR 的发生涉及多个信号通路,是一种多位点、多层次胰岛素信号共同作用异常的状态^[8]。近年研究发现,Wnt 信号通路参与调节胰岛 β 细胞的形态及功能,影响胰腺腺细胞功能,调节胰岛素分泌^[9]。异常的 Wnt 信号通路与 IR 和 T2DM 的发生发展密切相关^[10-11]。DKK1 蛋白作为 Wnt 信号通路中的抑制蛋白可抑制 Wnt 信号的激活。

本研究结果显示,与 NGT 组相比,T2DM 组 FPG、FMN、HbA1c 及 TC 水平较高,存在着明显的糖代谢及脂代谢紊乱,与张臻等报道一致,并且绝经后女性 T2DM 组 HOMA-IR 水平增高,FCP 水平、ISI 水平、HOMA-β 水平降低,表明绝经后女性 T2DM 患者存在着 IR 和胰岛素分泌功能障碍^[12]。本研究还发现,绝经后女性 T2DM 组与 NGT 组相比,T2DM 组 DKK1 蛋白表达水平较高,在绝经后女性中,DKK1 蛋白表达水平与 FCP 呈负相关,与 HOMA-IR 呈正相关。多因素回归分析表明 DKK1 蛋白是影响 FPG、HOMA-IR 的因素,随着 DKK1 蛋白表达水平的提高,FPG 水平降低,HOMA-IR 水平增高,说明绝经后女性 T2DM 患者 DKK1 蛋白的

高表达可能与 IR 及胰岛 β 细胞分泌功能障碍密切相关。孙婧等^[13]研究发现,胰岛素信号的传导及调控与 Wnt 信号通路及其信号传导通路的多个信号分子密切相关。DKK1 蛋白异常高表达可能抑制了经典 Wnt 信号通路的激活,导致 Wnt 信号通路代谢异常,进而对绝经后女性 T2DM 患者 IR 及胰岛 β 细胞分泌功能障碍产生了影响。但是 DKK1 蛋白在体内调控机制、细胞内信号通路及其在糖尿病中的作用机制有待进一步研究。

综上所述,绝经后女性 T2DM 患者体内 DKK1 蛋白的高表达可能参与患者 IR 及胰岛 β 细胞功能减退的发生发展过程,进而导致患者 T2DM 的糖代谢及脂代谢紊乱。以其为靶点,有利于绝经后女性 T2DM 发病的研究,为糖尿病的防治提供依据。

参 考 文 献:

- [1] 廖二元,莫朝晖,刘石平,等. 内分泌代谢病学 [M]. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社,2012: 1217-1223.
- [2] LIU S S, ZHOU P, ZHANG Y. Abnormal expression of key genes and proteins in the canonical Wnt/β-catenin pathway of articular cartilage in a rat model of exercise-induced osteoarthritis[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(3): 1999-2006.
- [3] 徐家窠,陈海波,刘红山,等. 白内障伴青光眼血脂比、胰岛素敏感性、眼内压和角膜内皮细胞的相互关系 [J]. 广东医学, 2017, 38(10): 1515-1518.
- [4] 刘宁,叶小珍,卢斌,等. 初诊 2 型糖尿病患者血清 25-羟维生素 D 水平与胰岛 α 细及 β 细胞功能的相关性 [J]. 医学研究生学报, 2016, 29(1): 57-61.
- [5] PRASAD R B, GROOP L. Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities[J]. Genes (Basel), 2015, 6(1): 87-123.
- [6] 廖涌. 中国糖尿病的流行病学现状及展望 [J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(7): 1042-1044.
- [7] AVRAMOGLU R K, BASCIANO H, ADELI K. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states[J]. Clin Chim Acta, 2006, 368: 1-19.
- [8] GUO S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models to disease mechanisms[J]. The Journal of Endocrinology, 2014, 220(2): 1-23.
- [9] SCHINNER S. Wnt-signaling and the metabolic syndrome[J]. Horm Metab Res, 2009, 41(2): 159-163.
- [10] COLAIANNI G, BRUNETTI G, FAIENZA M F. Osteoporosis and obesity: Role of Wnt pathway in human and murine models[J]. World J Orthop, 2014, 5(3): 242-246.
- [11] CHRISTODOULIDES C, LAGATHU C, SETHI J K, et al. Adipogenesis and WNT signalling[J]. Trends Endocrinol Metab, 2009, 20(1): 16-24.
- [12] 张臻,周翔海,纪立农. 中国人群及糖代谢异常人群血脂异常的研究进展 [J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(8): 754-756.
- [13] 孙婧,刘素娟,牛燕媚,等. Wnt 信号通路在有氧运动改善高脂饮食诱导 C57BL/小鼠胰岛素抵抗中的作用 [J]. 中国运动医学杂志, 2015, 34(3): 219-227.

(李科 编辑)