基础研究 文章编号:0253-3626(2010)10-1494-04

糖尿病患者和糖耐量异常个体血清视黄醇结合蛋白 4 水平及影响因素的研究

刘静婧,任 伟,李素芳,吴丹东,李金超,郑晓雅
(重庆医科大学附属第一医院内分泌科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨初发 2 型糖尿病(Type 2 diabetes,T2DM)和葡萄糖耐量异常(Impaired glucose regulation,IGR)人群血清视黄醇结合蛋白 4(Retinol binding protein 4,RBP4)水平及其影响因素。方法:采用酶联免疫吸附(Enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)法测定 27 例初发 2 型糖尿病(T2DM 组)、27 例糖耐量异常(IGR 组)个体的空腹血清 RBP4 浓度,并用 26 例糖耐量正常个体(Normal glucose tolerance,NGT)做对照,同时测定血糖、血脂、血压、身高、体重、腰腹围和胰岛素水平,分析各指标与血清 RBP4 的相关性。结果:初发 T2DM 和 IGR 人群血清 RBP4 水平明显高于正常人群,但是两组人群之间 RBP4 水平没有差异。多元相关与回归分析显示空腹胰岛素(Fasting insulin,FINS)、胰岛素抵抗(Insulin resistance,IR)和收缩压(Systolic blood pressure,SBP)与 RBP4 呈正相关,但没有指标是影响血清 RBP4 水平的主要因素。结论:初发 T2DM 和 IGR 人群外周血 RBP4 蛋白高表达,并与 T2DM 及其相关临床指标相关,这提示了 RBP4 可能在 T2DM 发生发展中起作用。

【关键词】2 型糖尿病;糖耐量异常;视黄醇结合蛋白 4
【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-01-29

Serum level of retinol binding protein 4 and related factors in human subjects with impaired glucose regulation and type 2 diabetes

LIU Jing-jing, et al
(*Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study serum level of retinol binding protein 4 (RBP4) and related factors in human subjects with impaired glucose regulation (IGR) and incipient type 2 diabetes (T2DM). *Methods*: The correlation between each indicator and serum RBP4 were analyzed by means of determination of the fasting serum RBP4 concentration of 27 patients with incipient type 2 diabetes (T2DM) and 27 subjects with impaired glucose regulation (IGR) by use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the results of which were compared with that of 26 individuals with normal glucose tolerance (NGT group). The blood glucose, blood lipid, blood pressure, height, body weight, and the level of insulin were determined at the same time. *Results*: The levels of serum RBP4 in incipient T2DM and IGR groups were significantly higher than that in normal group, but there was no difference in the level of RBP4 between these two groups. Multiple correlation and regression analysis showed that fasting insulin (FINS), insulin resistance (IR), and systolic blood pressure (SBP) was positively correlated with RBP4, but there was no indicator showing the main factors affecting serum RBP4 level. *Conclusion*: The over-expression of RBP4 protein in peripheral blood in incipient T2DM and IGR groups as well as some relation with T2DM and its related clinical parameters suggest that RBP4 possibly plays a role in the occurrence and development of T2DM

【Key words】Type 2 diabetes; Impaired glucose regulation; Retinol binding protein 4

视黄醇结合蛋白 4(Retinol binding protein 4,RBP4)是近年来被发现的脂肪源性因子,属于视黄醇结合蛋白(Retinol binding protein,RBP)家族中的分泌型视黄醇结合蛋白。主要由肝细胞和脂肪细胞分泌,在协助视黄醇发挥生理功能中起着不可替代的作用。Yang 等[1]在 T2DM 动物实验中报道了 RBP4 血清水平的升高能够通过抑制肌肉中的胰岛素信号通路和增加肝糖输出而增加胰岛素抵抗(Insulin resistance,IR)。RBP4 过表达或者注射 RBP4 基因的小鼠都引发了 IR,而 RBP 基因敲除的小鼠其胰岛素敏感性明显增加。近几年研究发现,RBP4 参与了 2 型糖尿病(Type 2 diabetes,T2DM)和葡萄糖耐量异常(Impaired glucose regulation,IGR)人群的胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足,在肥胖人群中血清 RBP4 水平比

作者介绍:刘静婧(1984-),女,硕士,
研究方向:糖尿病。
通讯作者:任 伟,男,教授,E-mail:renwei67@sina.com。
基金项目:重庆市卫生局医学科学基金(编号:2008-2-96)。

正常人群高出 2~3 倍[2]。本研究通过对初发的 T2DM 和 IGR 人群血清 RBP4 水平的测定,分析其与 T2DM 和 IGR 相关指标的关系,以便了解 RBP4 在 T2DM 发生发展中的作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选自 2009 年 2~6 月在重庆医科大学附属第一医院内分泌实验室行 75 g 口服葡萄糖耐量试验(Oral glucose tolerance test,OGTT)的初发血糖异常人群及正常人群共 80 人。依据 WHO1999 年标准将研究对象分为:糖耐量正常组(Normal glucose tolerance,NGT)26 例(男 9 例,女 17 例);IGR 组 27 例(男 11 例,女 16 例);T2DM 组 27 例(男 16 例,女 11 例)。排除条件为:有肝、肾功能损害者,合并有心、脑及外周血管严重病变者。

1.2 方法

受试者签署书面的知情同意书。对所有研究对象按照统一表格进行详细的病史询问及体格检查。空腹测量身高、体重,血压测量采用标准汞式血压计,测量两次取平均值。留取空腹肘静脉血约 5 ml,其中 2 ml 分离血浆(10%EDTA-Na 抗凝)用于血糖、胰岛素的测定,3 ml 分离血清用于血脂、RBP4 的测定。所有研究对象进行标准 75 g OGTT,留取葡萄糖负荷后 2 h 的血浆,用于葡萄糖浓度的检测。空腹及负荷后留取的血浆立即测空腹血糖、空腹胰岛素及负荷后 2 h 血糖,余血清标本置于 -35℃冰箱冻存,收集完善后统一测血清RBP4 水平和血脂。

血液生化检测:血糖测定用葡萄糖氧化酶法(中生北控生物科技股份有限公司),血脂测定用酶学方法(上海复星长征医学科学有限公司),胰岛素测定采用电化学发光法(德国罗氏诊断有限公司)。血清 RBP4 测定采用 ELISA 测试药盒(美国 R&DSystems,Inc),批内差异 4.7%,批间差异 6.9%。实验步骤严格按照说明书进行。

体重指数(Body mass index,BMI)按照公式计算:体重(kg)除以身高(m)的平方。胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment insulin resistame,HOMA-IR)= 空腹血糖 × 空腹胰岛素/22.5,胰岛素 β 细胞功能指数(Homeostasis model assessment for beta cell function,Homa-β)=20 × 空腹胰岛素/(空腹血糖 -3.5)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS11.5 统计软件进行统计学处理。符合正态分布的计量资料结果均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布资料用中位数表示,经对数转换后行统计分析。多组间比较用方差分析,初发 T2DM 危险因素用 logistic 回归分析,单因素相关分析应用 Pearson 相关分析,多元逐步回归分析 RBP4 的相关因素。

2 结 果

2.1 研究对象各临床指标的比较(表 1)

T2DM 组的 BMI 较 NGT 组明显增加($P<0.01$),较 IGR组增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 NGT 组比较,IGR 组收缩压(Systolic blood pressure,SBP)、舒张压(Diastole blood pressure,DBP)、空腹血糖(Fasting blood glucose,FBG)、甘油三酯(Triglyceride,TG)和 HOMA-IR 增加,差异具有统计学意义

表 1 不同糖耐量组各临床及生化指标比较

指标	NGT	IGR	T2DM	P 值
例数	26	27	27	
年龄(岁)	48 ± 15	50 ± 14	54 ± 10	0.266
BMI(kg/m²)	23.2 ± 2.6	24 ± 3.9	26.17 ± 2.57**#	0.002
WHR	0.79 ± 0.15	0.86 ± 0.06	0.91 ± 0.05**##	<0.001
SBP(mmHg)	110 ± 10	124 ± 21*	128 ± 16**	0.001
DBP(mmHg)	70 ± 9	77 ± 8*	82 ± 10**	<0.001
FBG(mmol/L)	5.51 ± 0.28	6.24 ± 0.4*	8.41 ± 1.34**##	<0.001
2hPBG(mmol/L)	6(3.9~7.7)	8.2(5.9~11.0)**	15.75(7.7~26.6)**##	<0.001
FINS(mU/L)	6.62(2.61~20.33)	8.7(1.28~30.2)	10.5(3.4~42.4)	0.094
TG(mmol/L)	1.22 ± 0.51	1.69 ± 0.79*	1.95 ± 0.66**	0.001
TC(mmol/L)	4.68 ± 0.78	5.06 ± 0.81	5.53 ± 1.39**	0.014
HDL-c(mmol/L)	1.36 ± 0.28	1.27 ± 0.29	1.22 ± 0.29	0.235
LDL-c(mmol/L)	2.46 ± 0.63	2.77 ± 0.72	3.24 ± 1.09**	0.004
HOMA-IR	1.64(0.63~5.06)	2.37(0.31~8.72)*	3.84(1.13~14.51)**	<0.001
HOMA-B	80.57 ± 45.83	70.65 ± 45.27	54.34 ± 46.70*	0.117

注:正态分布资料以均数 ± 标准差表示,非正态分布资料以中位数(最小值 ~ 最大值)表示方差分析结果。与 NGT 组比:*$P<0.05$,**$P<0.01$;与 IGR 组比:#$P<0.05$,##$P<0.01$

(P<0.05);IGR 组餐后 2 h 血糖(2-hour postprandial blood glucose,2 h PBG)显著升高(P<0.01);T2DM 组腰臀围(Waist-hip ratio,WHR)、SBP、DBP、FBG、2 h PBG、TG、总胆固醇(Total cholesterd,TC)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein-cholesterd,LDL-c)和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)显著升高(P<0.01),而胰岛 β 细胞功能指数(HOMA-B)降低,差异具有统计学意义(P<0.05)。与 IGR 组比较,T2DM 组 WHR、FBG 和 2 h PBG 显著升高,差异具有统计学意义(P<0.01)。

2.2 NGT、IGR 和 T2DM 组 RBP4 血清水平的比较(表 2)

与 NGT 组比较,IGR 组血清 RBP4 浓度升高,T2DM 组血清 RBP4 浓度显著升高,差异分别具有统计学意义(P<0.05;P<0.01)。而 IGT 与 T2DM 组的 RBP4 浓度无差异。

2.3 初发 T2DM 危险因素的 logistic 回归分析

将所有研究对象作为整体进行分析,以性别、年龄、BMI、WHR、高血压病、血脂谱、血清 RBP4 水平分别作为自变量,是否发生 T2DM 作为应变量,进行单因素 logistic 回归分析。结果显示,年龄、BMI、WHR、高血压病、血清 RBP4 是初发 T2DM 危险因素(OR 值分别为 3.157、3.838、4.444、2.779、1.048)。再将以上各指标作为自变量,T2DM 作为应变量,进行逐步 logistic 回归分析。结果显示年龄、BMI、WHR 为 T2DM 发生的主要危险因素(OR 值分别为 2.985,2.878,2.952)。而血清 RBP4 并不是一个影响 T2DM 发生的主要危险因素。

2.4 血糖异常组血清 RBP4 水平与 T2DM 相关临床指标的相关分析(表 3)

在血糖异常组(T2DM/IGR)进行 Pearson 相关分析,校正了年龄、性别后,SBP、FINS、HOMA-IR 与 RBP4 呈正相关,相关系数见(表 3),均有统计学意义(P<0.05)。BMI、WHR、DBP、FBG、2 h PBG、TG、TC、HDL-c、LDL-c、HOMA-B 与RBP4 无显著相关性。经多元逐步回归分析,没有任何相关临床指标对血清 RBP4 水平有显著的影响。

2.5 血糖异常组血清 RBP4 水平与肥胖的的关系(表 4)

在血糖异常组(T2DM/IGR)中根据 BMI(2004 年中华医学会糖尿病分会超重/肥胖:BMI≥25 kg/m²)分为超重/肥胖亚组(BMI≥25 kg/m²)和非肥胖亚组(BMI<25 kg/m²)比较这 2 个亚组间的 RBP4 水平,结果可见两组间的 RBP4 水平无差异。

3 讨 论

近年的研究发现在 T2DM 小鼠中升高的 RBP4 水平能够抑制肌肉中的胰岛素信号通路和增加肝糖输出,RBP4 可能通过抑制磷脂酰肌醇 3 激酶(Phosphatidylinositol 3 kinase,PI3K)活性、胰岛素受体底物 1(Insulin receptor substrate-1,IRS1)酪氨酸磷酸化,诱导磷酸烯醇式丙酮酸激酶基因表达,

表 2 NGT、IGR 和 T2DM 组 RBP4 血清水平的比较

RBP4 浓度(μg/ml)			P			
NGT(n=26)	IGR(n=27)	T2DM(n=27)	ANOVA	NGT /IGR	NGT/T2DM	IGR/T2DM
20.48(15.14~58.7)	28.48(15.53~80.29)	38.58(20.63~96.77)	<0.001	0.033	<0.001	0.200

注:非正态分布资料以中位数(最小值 - 最大值)表示

表 3 血清 RBP4 水平与相关临床指标的相关性分析

指标	Pearson 相关系数	P
BMI	0.031	0.412
WHR	-0.013	0.463
SBP	0.233	0.045
DBP	0.076	0.293
FBG	0.190	0.084
2 h PBG	0.175	0.102
Fins	0.227	0.049
TG	0.014	0.460
TC	0.208	0.066
HDL-c	0.075	0.294
LDL-c	0.103	0.230
HOMA-IR	0.267	0.026
HOMA-B	0.127	0.180

表 4 血糖异常组中肥胖和非肥胖亚组血清 RBP4 水平的比较

		BMI≥25	BMI<25	P 值
RBP4	T2DM/IGR	42.5 ± 21.8	39.2 ± 18.1	0.540

数据以均数 ± 标准差表示

提示 RBP4 可能参与机体 IR 的发病[1]。本研究发现初发T2DM 和 IGR 患者的血清 RBP4 水平都明显高于正常人群，而他们的 HOMA-IR 均显著高于正常人群，提示在胰岛素抵抗这一病理状态下 RBP4 的蛋白表达有异常增高。同时 T2DM 和 IGR 患者的 SBP、DBP、FBG、2 h PBG、TG 都明显高于对照组，表现明显的胰岛素抵抗。多元相关与回归分析也提示在血糖异常人群中胰岛素抵抗与 RBP4 呈正相关。本研究结果与 Cho YM 等[2]的研究结果一致，虽然与正常组相比，两组的 RBP4 水平明显升高，但是 T2DM 和 IGR 组的 RBP4 水平没有明显差异。这可能与两组的 HOMA-IR、SBP、DBP 和血脂均没有明显差异有关。同时我们发现血糖异常人群中血清 RBP4 水平与 SBP、FINS 正相关，这是因为血压、空腹胰岛素与 IR 相关，这一结果与 Takebayashi[3]和 Graham[4]关于 RBP4 和血压有关，以及 Haiya Wu[5]关于 RBP4 和 FINS 有关的结论一致。因此，血清 RBP4 水平的升高可能通过胰岛素抵抗的通路来影响 T2DM 的发生。

单因素 logistic 回归分析提示血清 RBP4 水平是初发 T2DM 危险因素。同时，年龄、BMI、WHR、高血压病也是T2DM 危险因素。多元逐步 logistic 回归分析指出 RBP4 并不是一个初发 T2DM 的主要危险因素。T2DM 是一个多因素影响的疾病，血糖的控制程度可能受血清 RBP4 水平的影响，RBP4 的高表达可能影响 T2DM 的发生发展。反之，虽然 IGR 和T2DM 组的 FBG 和 2 h PBG 有明显差异，但是其血清RBP4 水平却没有明显差异，这提示外周血葡萄糖水平可能不是一个影响 RBP4 的决定性因素，多元相关与回归分析也提示在血糖异常人群中血糖水平并不是一个影响血清 RBP4 水平的因素。这与之前的研究结果一致[1,6]。

Yang[1]最初报道了肥胖是 RBP4 水平的重要影响因素，肥胖人群的 BMI 和 WHR 比正常人群均有显著升高。Stefan 等[7]报道在健康人群中升高的血清 RBP4 水平只与脂肪肝正相关，与体脂水平、内脏脂肪和腹部皮下脂肪均没有相关性。这提示肥胖是否影响 RBP4 仍然是在讨论中的问题。本文结果显示在血糖异常组 RBP4 与 BMI、WHR 没有相关性，且在肥胖和非肥胖亚组的比较中并没有发现肥胖人群有更高的血清 RBP4 水平。Qi 等[6]在对中国代谢综合症人群的研究发现，虽然 RBP4 水平与 BMI 和腰围正相关，但却是一个很小的影响因素。因此伴随着高代谢综合症危险的 RBP4 水平的升高可能并不仅仅是脂肪组织过量的结果，更应该考虑与胰岛素抵抗的机制相关。在本研究中，初发的 T2DM 和糖耐量异常人群已经表现出明显的胰岛素抵抗和 BMI、WHR 的升高，显示已经伴随着代谢综合症的危险因素，但是其 RBP4 与 BMI、WHR 却没有相关性，且在 T2DM/IGR 中的肥胖人群也没有升高的血清 RBP4 也再次验证了这点。当然本文在样本量上的局限性也可能导致肥胖与 RBP4 水平无关这样的结论，但是就以上文献可以看出肥胖是否影响 RBP4 仍然是在讨论中的问题，可在以后的研究中扩大样本量进行更全面系统的分析。

在 RBP4 和脂代谢的研究中我们发现 RBP4 与 TC、TG、HDL-c 和 LDL-c 没有相关性。这一结果与 Cho YM[2]的结果一致。但和之前的一些研究结果有差异[8,9]。von Eynatten[8]在对 T2DM 患者研究中发现血清 RBP4 水平与 TC、LDL-c、TG 正相关。对长期进行血液透析的肾功能严重受损的患者，血清 RBP4 水平与 TG 正相关，而在正常对照组中，RBP4 水平与 TG、TC 没有相关性[9]。这种结果的差异可能和不同的实验设计、选择人群不同和样本量都有关系。虽然在血糖异常人群中血清 RBP4 水平与 SBP、FINS 和 IR 正相关，但没有任何相关临床指标对血清 RBP4 水平有显著的影响。RBP4 通过何种具体途径影响 T2DM 的发生发展仍然需要更多研究讨论。

综上所述，血清 RBP4 水平在初发 T2DM 和 IGR 人群中升高，但是它们之间的 RBP4 水平没有明显差异。血清 RBP4 是初发 T2DM 的危险因素但并不是一个影响 T2DM 发生的主要危险因素。血糖异常人群中 SBP、FINS 和 IR 与 RBP4 有正相关性。但没有任何相关临床指标对血清 RBP4 水平有显著影响。RBP4 通过这些相关临床指标影响 T2DM 发生发展的的机制还需要进一步讨论。

参 考 文 献

[1] Yang Q, Graham T E, Mody N, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes[J]. Nature, 2005, 436(7049): 356-362.

[2] Cho Y M, Youn B S, Lee H, et al. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(11): 2457-2461.

[3] Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S, et al. Retinol binding protein-4 levels and clinical features of type 2 diabetes patients[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(7): 2712-2719.

[4] Graham T E, Yang Q, Blüher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects[J]. N Engl J Med, 2006, 354: 2552-2563.

[5] Wu H, Jia W, Bao Y, et al. Serum retinol binding protein 4 and non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 79(2): 185-190.

[6] Qi Q, Yu Z, Ye X, et al. Elevated retinol-binding protein 4 levels are associated with metabolic syndrome in chinese people[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(12): 4827-4834.

[7] Stefan N, Hennige A M, Staiger H, et al. High circulating retinol-binding protein 4 is associated with elevated liver fat, but not with total, subcutaneous, visceral, or intramyocellular fat in humans[J]. Diabetes Care, 2007, 30: 1173-1178.

[8] von Eynatten M, Lepper P M, Liu D, et al. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease[J]. Diabetologia, 2007, 50(9): 1930-1937.

[9] Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, et al. Serum levels of adipokine retinol-binding protein-4 in relation to renal function[J]. Diabetes Care, 2007, 30(10): 2588-2592.

（责任编辑：关蕴良）