基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000998

2型糖尿病患者血浆血管内皮生长因子B水平及其与胰岛β细胞第一时相分泌功能的关系

吴 婧,何 琴,瞿 华,王 行,骆媛媛,刘 芳,邓华聪
(重庆医科大学附属第一医院内分泌科，重庆 400016)

【摘 要】**目的**:检测不同糖耐量个体血浆血管内皮生长因子B(vascular endothelial growth factor-B,VEGF-B)水平,探讨VEGF-B与糖脂代谢及胰岛β细胞第一时相分泌功能的关系。**方法**:选取45例新诊断2型糖尿病患者(type 2 diabetes mellitus,T2DM),37例糖调节受损个体(impaired glucose regulation,IGR),39例正常糖耐量个体(normal glucose tolerant,NGT),行静脉葡萄糖耐量试验,并检测血糖、胰岛素、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c,HbA1c),血脂4项等。ELISA法测定空腹血浆VEGF-B水平,酶法测定空腹游离脂肪酸(free fatty acids,FFA)水平。计算急性胰岛素反应(acute insulin response,AIR)、0~10 min胰岛素曲线下面积(area under the curves,AUC)、葡萄糖处置指数(glucose disposition index,GDI)评估β细胞第一时相分泌功能,稳态模型评估β细胞功能(homa β cell function,HOMA-β)及胰岛素抵抗(homeostasis model assessment of insulin resistance,HOMA-IR)。**结果**:T2DM组和IGR组血浆VEGF-B水平明显高于NGT组(P=0.000、0.004),且在T2DM组中最高;VEGF-B与AIR、AUC、GDI、HOMA-β显著负相关(P=0.006、0.005、0.010、0.000),与FPG、2hPG、HbA1c、FINS、TG、FFA、HOMA-IR显著正相关(FINS,P=0.001;余P=0.000)。多项logistic回归分析显示,三分位后,与低水平的血浆VEGF-B(<145.59 pg/ml)相比,更高VEGF-B水平时[145.59 pg/ml~180.07 pg/ml,OR=3.55(95%CI=1.05~12.02);>180.07 pg/ml,OR=3.64(95%CI=1.16~11.42)]β细胞第一时相胰岛素分泌功能减退的可能性更大。进一步控制TG和FFA后,上述相关关系消失(P>0.05)。**结论**:2型糖尿病患者血浆VEGF-B水平升高,血浆VEGF-B水平与糖脂代谢、胰岛β细胞第一时相分泌功能密切相关,VEGF-B可能参与2型糖尿病的发生发展。

【关键词】血管内皮生长因子B;第一时相胰岛素分泌;静脉葡萄糖耐量试验;脂代谢;2型糖尿病
【中图分类号】R589.1 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-02-23

Relationship between plasma vascular endothelial growth factor B and the first-phase of glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β cell in patients with type 2 diabetes mellitus

Wu Jing, He Qin, Qu Hua, Wang Hang, Luo Yuanyuan, Liu Fang, Deng Huacong
(*Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To detect plasma vascular endothelial growth factor B(VEGF-B) in healthy, impaired glucose regulation(IGR) and newly diagnosed type 2 diabetes mellitus(T2DM) subjects and to investigate the relationship between plasma VEGF-B levels and the first-phase of glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β cell in individuals with different glucose tolerance. ***Methods***: A clinical trial was conducted involving 45 patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus(T2DM group), 37 patients with impaired glucose regulation(IGR group), and 39 normal glucose tolerant subjects(NGT group); all of them underwent intravenous glucose tolerance test(IVGTT). Fasting plasma VEGF-B levels were assayed by ELISA and fasting plasma free fatty acids(FFA) levels were measured by enzymatic method. Plasma glucose, insulin, hemoglobin A1c(HbA1c), and lipids were also detected. The first-phase insulin secretion function was evaluated by acute insulin response(AIR), the area under the curve of the first-phase(0-10 min) insulin secretion(AUC) and glucose disposition index(GDI), and β cell function index(HOMA-β) and insulin resistance index (HOMA-IR) were assessed by homeostasis model assessment. ***Results***: plasma VEGF-B levels were higher in T2DM group and IGR group than in NGT group(P=0.000, 0.004), being the highest in T2DM group(P=0.010). Plasma VEGF-B levels were negatively correlated with AIR, AUC, GDI, HOMA-β(P=0.006, 0.005, 0.010, 0.000), and positively correlated with FPG, 2hPG, HbA1c, TG, FFA, FINS, HOMA-IR(P=0.000 except FINS, P=0.001). Multivariate logistic regression analysis revealed that

作者介绍:吴 婧,Email:luckywu666@126.com,
研究方向:糖尿病及其并发症的发生机制及治疗。
通信作者:邓华聪,Email:deng_huacong@126.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81270911、81070639、30771038);国家临床重点专科建设项目资助(编号:财社[2011]170号)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160623.1536.002.html (2016-06-23)

higher VEGF-B levels (145.59 pg/ml-180.07 pg/ml, *OR*, 3.55 [95% *CI*, 1.05-12.02] and >180.07 pg/ml, OR, 3.64 [95%CI, 1.16-11.42]) were related with greater probability of β cell hypofunction, compared with low VEGF-B levels (<145.59 pg/ml). After adjusting for TG or FFA, the association between VEGF-B levels and β cell hypofunction disappeared (all $P>0.05$). ***Conclusion***: Plasma VEGF-B levels are increased in Chinese patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus, and are strongly associated with glucose and lipid metabolism and the first-phase insulin secretion function of β cell. VEGF-B may be involved in the mechanism of β cell hypofunction in T2DM.

【Key words】vascular endothelial growth factor B; the first-phase of insulin secretion; intravenous glucose tolerance test; lipid metabolism; type 2 diabetes mellitus

β细胞功能障碍是 2 型糖尿病（type 2 diabetes mellitus, T2DM）的主要发病机制，包括 β 细胞功能缺陷和 β 细胞数量的减少。其在糖尿病前期就已经发生，早期主要表现为第一时相胰岛素分泌减少[1-2]。大量研究表明，脂质代谢紊乱与 β 细胞功能障碍有着非常密切的关系[3-4]。血管内皮生长因子 B（vascular endothelial growth factor B, VEGF-B），是血管生长因子家族重要成员之一，近年来因被发现参与脂质代谢而倍受关注。有研究发现[5]，VEGF-B 能上调脂肪酸转运蛋白（fatty acid transport proteins, FATPs）的表达从而促进骨骼肌、心肌对游离脂肪酸（free fatty acids, FFA）的摄取。动物实验表明，敲除 VEGF-B 及使用抗 VEGF-B 抗体中和治疗均能改善糖尿病小鼠糖脂代谢异常，提高其胰岛素敏感性并保护 β 细胞的功能[6]。但 VEGF-B 在人群中的研究还非常有限，国内外尚无 VEGF-B 与 T2DM 患者胰岛 β 细胞功能关系的临床研究报道。因此，本研究旨在测定不同糖耐量个体血浆 VEGF-B 水平，分析其与糖脂代谢及 β 细胞第一时相胰岛素分泌功能的关系，进而探讨 VEGF-B 在 T2DM 胰岛 β 细胞功能障碍发生发展过程中的病理生理作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究共纳入研究对象 121 例，均来自 2014 年 10 月至 2015 年 4 月重庆医科大学附属第一医院内分泌科门诊及体检中心，根据 1999 年世界卫生组织（WHO）糖尿病诊断标准将研究对象分为 T2DM 组、糖调节受损（impaired glucose regulation, IGR）组和糖耐量正常（normal glucose tolerant, NGT）组。其中 T2DM 组 45 例，年龄（51.33 ± 11.56）岁，男 25 例，女 20 例，均为新诊断 T2DM 患者；IGR 组 37 例，年龄（50.24 ± 11.24）岁，男 18 例，女 19 例，均为初诊；NGT 组 39 名，年龄（47.38 ± 12.62）岁，男 19 例，女 20 例。入选标准：糖尿病及糖调节受损者为初诊，且未接受任何降血糖、降血脂、降血压及饮食、运动治疗；年龄在 18~75 岁之间；无 T2DM 慢性或急性并发症；无心、脑血管疾病、肿瘤疾病、黄斑变性等眼疾及神经性疾病病史；近 3 个月未使用过类固醇等影响糖、脂代谢的药物；受检前 1 个月无急、慢性感染病史；肝、肾等重要脏器功能正常；未处于妊娠状态及哺乳期。本研究获重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准，每位研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 人体学指标测量 固定专人采用同一测量工具测量身高、体质量、腰围、臀围及血压，其中腰围和臀围测定最小记录单位为 0.1 cm。计算体质指数（body mass index, BMI）= 体质量（kg）/身高 ^{2}（m^2），腰臀比（waist hip ratio, WHR）。

1.2.2 生化指标检测 所有受试者清晨空腹（试验前禁食 12 h、禁饮 8 h）采静脉血测定血脂、糖化血红蛋白（hemoglobin A1c, HbA1C）、空腹血糖（fasting blood glucose, FPG）、空腹胰岛素（fasting insulin, FINS）。另抽静脉血 5 ml，1 000 r × g 离心 10 min 分离血浆，标记后-80 ℃低温冰箱保存，同批测定空腹 VEGF-B 、FFA 水平。

1.2.3 静脉葡萄糖耐量试验 空腹状态下 3 min 内快速推注 50%葡萄糖液（400 mg/kg），于 0、3、5、8、10 min 抽血备用，并检测各时点血糖、胰岛素。

1.2.4 检测方法 肝肾功、总胆固醇（total cholesterol, TC）、甘油三酯（triglyceride, TG）、高密度脂蛋白胆固醇（high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C）采用全自动生化仪（Beckman CX-7 Biochemical Autoanalyser, Brea, CA, USA）测定。血糖采用葡萄糖氧化酶法测定；HbA1C 采用高压液相法检测，胰岛素采用化学发光法检测。血浆 VEGF-B 采用 ELISA 测定（Human ELISA kit, Wuhan USCN Science Co, Ltd, China，批间 CV<12%，批内 CV<10%）。血浆 FFA 采用全自动生化分析仪（日立 HITACHT 7600-110，日本）酶法（Clinimate NEFA, SEKISUI Medical Co, Ltd, Japan，批间 CV<10%，批内 CV<3%）测定。

1.2.5 胰岛素抵抗及 β 细胞功能的评估 采用稳态模型胰岛素抵抗指数（homeostasis model assessment of insulin resis-

tance，HOMA-IR= FPG × FINS/22.5）及胰岛素分泌指数[homa β cell，HOMA-β=20 × FINS/(FPG-3.5)]评估胰岛素抵抗和基础胰岛素分泌功能。以葡萄糖刺激后 3~5 min 急性胰岛素反应[acute insulin response，AIR=($I_{3\ min}$+$I_{5\ min}$)/2]，和以不规则梯形面积公式计算的葡萄糖刺激后 0~10 min 胰岛素曲线下面积（area under the curves，AUC）反映第一时相胰相胰岛素分泌功能。以葡萄糖处置指数[glucose disposition index，GDI=$\log_{10}$(AIR × FBG/FINS)][7]反映校正胰岛素敏感性后，糖负荷后胰岛 B 细胞的功能。

1.3 统计学处理

所有数据采用 SPSS 19.0 统计软件分析，正态分布和近似正态分布的计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$表示。正态分布变量三组间比较采用单因素方差分析，两两比较行 LSD-t 法；非正态分布的数据，将其对数转化为正态后再分析。相关性分析采用 Pearson 相关分析及偏相关分析。VEGF-B 水平与 β 细胞功能减退的关系采用多元逻辑回归分析。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 一般临床资料和生化指标的比较（表 1）

2.1.1 一般临床资料的比较 3 组间年龄、收缩压、舒张压差异无统计学意义（P>0.05）；体质量、腰围、BMI、腰臀比 T2DM 组高于 NGT 组（t_D=3.506、3.268、3.227、3.243，P=0.001、0.001、0.002、0.001），且 IGR 组腰围、腰臀比高于 NGT 组（t_D=2.332、2.469，P=0.021、0.015），但 T2DM 组和 IGR 组无明显差别（P>0.05）；BMI 在 T2DM 组和 IGR 组，IGR 组和NGT 组之间无明显差别（P>0.05）。

2.1.2 生化指标的比较 FPG、2hPG、HbA1c、HOMA-IR、HOMA-β、FFA 在 3 组间差异均具有统计学意义；FINS、TG、hsCRP 在 T2DM 组及 IGR 组均高于 NGT 组（t_D=2.104、2.721，P=0.037、0.008、0.008），但在 T2DM 组和 IGR 组之间无明显差异（P>0.05）；HDL-C 在 T2DM 组低于 IGR 组和 NGT 组（t_D=-2.130、-3.074，P=0.035 或 P=0.003），但在 IGR 组和 NGT 组之间无明显差异（P>0.05）。3 组间 TC、LDL-C 则均无统计学差异（P>0.05）。

2.1.3 各组血浆 VEGF-B 水平及比较 NGT 组血浆 VEGF-B 水平为（142.62 ± 40.14）pg/ml，IGR 组为（166.73 ± 43.77）pg/ml，T2DM 组为（189.33 ± 39.22）pg/ml，且 3 组间血浆VEGF-B 水平均具有统计学差异（F=16.289，P=0.000；进一步两两比较：T2DM 组 vs. NGT 组，tD=5.708，P=0.000；T2DM 组 vs. IGR 组，t_D=2.607，P=0.010；IGR 组 vs. NGT 组，t_D=2.920，P=0.004）（图 1）。将所有受试者按性别分为男性组和女性组，男性组 62例，女性组 59 例，2 组间血浆 VEGF-B 水平无统计学差异[(171.27 ± 42.97) pg/ml vs. (163.26 ± 47.15) pg/ml，t=1.194，P=0.235]。

表 1 3 组间一般临床资料和生化指标的比较[$\bar{x} \pm s$，$M(Q_1, Q_3)$]

Tab.1 Comparison of clinical data and biochemical index among different groups[$\bar{x} \pm s$，$M(Q_1, Q_3)$]

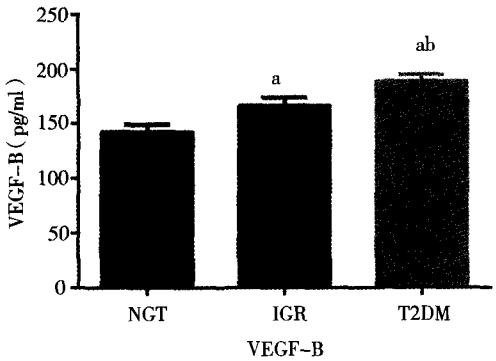
一般临床资料和生化指标	NGT	IGR	T2DM	统计量值	P值
例数（男/女）	39（19/20）	37（18/19）	45（25/20）	0.543	0.766
年龄（岁）	47.38 ± 12.62	50.24 ± 11.24	51.33 ± 11.46	1.224	0.298
体质量（kg）	59.81 ± 8.47	62.26 ± 9.43	67.11 ± 10.41	6.448	0.002
腰围（cm）	81.26 ± 8.41	85.54 ± 6.77	86.98 ± 8.54	5.639	0.005
BMI（kg/m²）	22.82 ± 2.87	24.13 ± 3.85	25.15 ± 3.17	5.210	0.007
WHR	0.86 ± 0.05	0.89 ± 0.05	0.89 ± 0.06	5.706	0.004
收缩压（mmHg）	124.90 ± 13.85	128.38 ± 16.99	128.89 ± 18.14	0.696	0.501
舒张压（mmHg）	80.05 ± 8.63	82.24 ± 8.86	80.84 ± 12.31	0.447	0.641
FPG（mmol/L）	5.10（4.90，5.20）	6.42（6.10，6.60）	8.80（7.81，10.60）	106.398	0.000
2hPG（mmol/L）	4.70（4.40，4.91）	7.96（7.40，8.28）	12.60（9.90，15.75）	94.098	0.000
FINS（uU/mL）[a]	5.21（4.71，5.76）	6.10（5.51，6.77）	6.85（4.39，10.06）	8.675	0.000
HbA1c（%）	5.58 ± 0.25	6.28 ± 0.45	9.49 ± 2.13	103.497	0.000
HOMA-IR	1.18（0.99，1.30）	1.69（1.47，1.96）	2.78（1.83，4.75）	68.292	0.000
HOMA-β[a]	65.01（53.48，75.71）	45.29（38.64，48.59）	24.42（17.07，41.02）	47.929	0.000
TG（mmol/L）[a]	1.10（0.87，1.50）	1.57（1.13，1.85）	1.66（1.01，2.41）	5.072	0.008
TC（mmol/L）	4.93 ± 0.88	5.10 ± 0.97	4.57 ± 1.95	1.600	0.206
HDL-C（mmol/L）	1.44 ± 0.45	1.36 ± 0.28	1.19 ± 0.36	5.054	0.008
LDL-C（mmol/L）	2.80 ± 0.86	2.96 ± 0.68	2.88 ± 0.96	2.103	0.127
FFA（mmol/L）	0.53 ± 0.16	0.73 ± 0.24	0.86 ± 0.21	24.881	0.000
超敏 C 反应蛋白（mg/L）	1.16 ± 0.83	1.76 ± 0.93	2.21 ± 1.92	6.191	0.003
VEGF-B（pg/mL）[a]	142.62 ± 40.14	166.73 ± 43.77	189.33 ± 39.22	16.289	0.000

注：VEGF-B，正偏态分布，因其较接近正态分布故用 $\bar{x} \pm s$ 表示，以更直观的呈现其水平；a：经过对数转换成正态分布

表 2 3 组间第一时相胰岛素分泌、急性胰岛素反应及葡萄糖处置指数的比较

Tab.2 Comparison of the first phase insulin secretion function, acute insulin response and glucose disposal index in different group

组别	NGT	IGR	T2DM	*F* 值	*P* 值
AIR	30.93（17.70,60.12）	16.88（11.76,22.53）	8.48（4.53,13.17）	33.052	0.000
AUC	227.40（135.08,436.30）	154.85（116.11,216.35）	92.39（48.05,133.22）	20.979	0.000
GDI	1.64（1.24,1.85）	1.22（1.07,1.44）	1.05（0.86,1.18）	25.142	0.000



a，与 NGT 组比较，*P* <0.05；b，与 IGR 组比较，*P*<0.05

图 1 3 组间血浆 VEGF-B 水平的比较

Fig.1 Plasma VEGF-B concentration in different groups

2.2 第一时相胰岛素分泌功能的比较（表 2）

3 组间 AIR、AUC、GDI 均有统计学差异，与 NGT 组相比，AIR、AUC、GDI 在 IGR 组已有降低（*P*=0.000、0.007、0.000），而在 T2DM 组则更低（*P* 均=0.000）。

2.3 血浆 VEGF-B 与各因素的关系（表 3）

相关分析显示，VEGF-B 与 HOMA-β、AIR、AUC、GDI 呈显著负相关（*P*=0.006、0.005、0.010、0.000），与 TG、FFA、FPG、2hPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 呈显著正相关（*P*=0.000、0.000、0.000、0.000、0.000、0.001、0.000）。校正性别、年龄、HOMA-IR 之后，VEGF-B 与 FINS 相关性消失（*P*=0.364），其余上述相关性仍存在（*P*=0.006、0.011、0.015、0.000、0.000、0.043、0.049、0.010）。因 GDI 本身已校正胰岛素敏感性，故未再重复校正 HOMA-IR，仅校正性别、年龄，校正后其与 VEGF-B 仍然密切相关（*r*'=-0.397，*P*=0.000）。

2.4 血浆 VEGF-B 与 β 细胞功能减退的关系分析（表 4）

所有受试者 AUC 值的三分位数为：<108.40、108.40~202.09、>202.09，依次赋值为 1、2、3。以 AUC 值的下三分位以下为 β 细胞第一时相胰岛素分泌功能减退。同时将所有受试者血浆 VEGF-B 值三分位为<145.59、145.59~180.07、>180.07，依次赋值为 3、2、1。以 AUC 三分位为因变量（赋值 3 为参考类别），进行多项 logistic 回归，在控制了性别、年龄、BMI、腰臀比这几项基本因素之后，回归分析结果显示，与低水平血浆 VEGF-B（<145.59 pg/ml）相比，更高 VEGF-B 水平时[145.59~180.07 pg/ml，*OR*=3.55（95%*CI*=1.05~12.02），*P*=0.042；>180.07 pg/ml，*OR*=3.64（95%*CI*=1.16~11.42），*P*=0.027]更可能出现 β 细胞第一时相胰岛素分泌功能减退。在进一步控制了 HOMA-IR 之后，VEGF-B 水平与 β 细胞功能减退的这种相关关系仍存在。但是在此基础上，再分别控制 TG 和 FFA 却发现，上述相关关系消失（*P*=0.064、0.316）。

表 3 VEGF-B 与各指标之间的相关系数（*r* 值）及偏相关系数（*r*' 值）

Tab.3 Correlation coefficient（*r* value）and partial correlation coefficient（*r*' value）between VEGF-B and the various indicators

参数	*r* 值	*P* 值	*r*' 值	*P* 值
体质量	0.165	0.071	-	-
BMI	0.110	0.230	-	-
腰围	0.168	0.066	-	-
WHR	0.176	0.054	-	-
收缩压	0.097	0.291	-	-
舒张压	0.061	0.505	-	-
TC	-0.001	0.992	-	-
TG	0.413	0.000	0.384	0.000
HDL-C	-0.119	0.194	-	-
LDL-C	0.015	0.890	-	-
FFA	0.497	0.000	0.439	0.000
超敏 C 反应蛋白	0.172	0.060	-	-
FPG	0.355	0.000	0.187	0.043
2hPG	0.329	0.000	0.182	0.049
HbA1c	0.361	0.000	0.236	0.010
FINS	0.298	0.001	-0.084	0.364
HOMA-IR	0.344	0.000	-	-
HOMA-β	-0.249	0.006	-0.249	0.006
AIR	-0.255	0.005	-0.232	0.011
AUC	-0.234	0.010	-0.223	0.015
GDI	-0.404	0.000	-	-

注：*r*'：校正年龄、性别、胰岛素抵抗指数；-：无 *r*' 值、*P* 值

3 讨 论

VEGF-B 是 VEGF 家族（vascular endothelial growth factors，VEGFs）重要成员之一。最初由 Olofsson 等[8]于 1996 年从人纤维肉瘤、红白血病癌细胞及Ⅰ型多发性内分泌腺瘤基因分离出人 VEGF-B cDNA。人类 VEGF-B 基因定位于 11 号染色体 q13，基因全长为 4000 bp，包含 8 个外显子和 6 个内含子。

表 4 校正模型中 VEGF-B 与 β 细胞功能减退的关系

Tab.4 Association of VEGF-B with the pancreatic β cell hypofunction in adjusted models

相关因素	VEGF-B（pg/ml）		
	<145.59	145.59~180.07	>180.07
性别、年龄	1.00	3.96（1.19~13.12）	4.34（1.44~13.10）
性别、年龄、BMI、WHR	1.00	3.55（1.05~12.02）	3.64（1.16~11.42）
性别、年龄、BMI、WHR、HOMA-IR	1.00	3.77（1.09~13.09）	4.34（1.21~15.61）
性别、年龄、BMI、WHR、HOMA-IR、TG	1.00	3.42（0.95~12.37）	3.68（0.93~14.62）
性别、年龄、BMI、WHR、HOMA-IR、FFA	1.00	2.29（0.61~8.58）	2.06（0.50~8.47）

既往关于 VEGF-B 的研究多集中在促血管生成、神经营养和保护[9]方面，认为 VEGF-B 能辅助加强多种病理情况下的血管生成过程，高表达 VEGF-B 与糖尿病视网膜病变、肿瘤生长侵袭等有关[10-11]。近年来，Karpanen 等[12]研究发现，VEGF-B 还参与脂质代谢，能促进小鼠心肌细胞肥大和心肌脂质沉积，从而致神经酰胺分泌增加，线粒体溶解，心肌细胞加速凋亡。且最新一篇发表在 Nature 上的研究发现，高脂饮食和糖尿病小鼠 VEGF-B 的表达较正常小鼠增多，敲除 VEGF-B 或者使用 VEGF-B 抗体中和治疗能改善糖尿病前期及糖尿病小鼠的糖脂代谢紊乱，提高胰岛素敏感性和保护 β 细胞功能[6]。但其后又有研究认为 VEGF-B 在高脂饮食诱导的代谢变化中并非必要因素[13]。面对动物实验研究上的争议，研究人体中 VEGF-B 与糖脂代谢是否有关，以及其是否参与影响 β 细胞功能就显得更加迫切和必要。

本试验对不同糖耐量个体进行分组研究，研究结果显示，糖调节受损者较糖耐量正常者有着更高的血浆 VEGF-B 水平，而 T2DM 患者的血浆VEGF-B 水平则更高，提示 VEGF-B 水平增高与糖尿病的糖代谢紊乱密切相关。而 SUN 等[14]的研究认为循环 VEGF-B 水平在 T2DM 患者和正常人群中无差别。这可能与实验设计、研究人群的糖脂代谢状态、既往是否用药及饮食生活习惯不同有关。有动物实验表明 VEGF-B 能通过促进脂肪酸异常转运，进而促进骨骼肌、心肌脂肪沉积[5]；骨骼肌脂肪沉积又往往可以引起胰岛素抵抗[15-16]。而敲除 VEGF-B 和用VEGF-B 中和抗体治疗均能提高糖尿病小鼠的胰岛素敏感性并降低其血糖水平，提示 VEGF-B 可以通过参与胰岛素抵抗影响血糖水平[6]。结合本研究，血浆VEGF-B 与 FINS、HOMA-IR、FPG、2hPG、HbA1c 均呈显著正相关，进一步表明人体内血浆 VEGF-B 水平升高与胰岛素抵抗及糖耐量异常程度密切相关，故推测在人体内，高水平 VEGF-B 可能同样通过参与胰岛素抵抗影响血糖水平。

同时，本研究还发现，HOMA-β、AIR、AUC、GDI 均在 T2DM 患者中最低，其次为糖调节受损者；相关分析显示，血浆 VEGF-B 水平与 HOMA-β、AIR、AUC、GDI 显著负相关，在校正胰岛素敏感性后，其相关性仍存在，表明血清 VEGF-B 与 β 细胞功能密切相关，T2DM 患者 VEGF-B 水平增高时，基础胰岛素和糖负荷后第一时相胰岛素分泌显著下降，葡萄糖处置能力降低，胰岛 β 细胞功能减退。新近的基础研究也有类似发现：Hagberg 等[6]研究显示，用特异性抗 VEGF-B 抗体 2H10 中和治疗 10 周的糖尿病小鼠较安慰剂治疗的糖尿病小鼠葡萄糖处置能力有所提高，并且对比 2H10 治疗组和安慰剂组的糖尿病小鼠的胰岛，发现 2H10 治疗组的小鼠胰岛大小正常，并很少有退化，而安慰剂组的糖尿病小鼠胰岛体积较小，且胰岛结构严重破坏；同时，检测凋亡标志物 Caspase 3 发现，与未使用 2H10 治疗的 db/db 小鼠相比，治疗组 db/db 小鼠的胰岛 β 细胞凋亡更少。这提示阻断 VEGF-B 信号通路可能通过保护胰岛结构完整和阻止 β 细胞凋亡来保护胰岛 β 细胞功能。因此，本研究及动物试验均证实糖尿病时 VEGF-B 水平增高可显著影响胰岛 β 细胞功能，但其机制不清。

前面已经提到，本研究和动物实验均表明 VEGF-B 与胰岛素抵抗、糖耐量异常密切相关[5-6]，而众所周知，胰岛素抵抗可以通过降低靶组织敏感性从而影响 β 细胞的功能。本研究中偏相关分析显示，校正胰岛素敏感性后，VEGF-B 与 AIR、AUC 的偏相关系数比未校正胰岛素敏感性时的相关系数小，表明校正胰岛素敏感性后 VEGF-B 与第一时相分泌功能的相关性减弱，提示胰岛素抵抗可能参与影响VEGF-B与 β 细胞功能之间的关系；但校正后 VEGF-B 与 AUC、AIR 的相关性仍具有统计学差异，且 logistic回

归分析显示，控制 HOMA-IR 之后，VEGF-B 与 B 细胞功能减退的相关性也仍具有统计学差异，这提示胰岛素抵抗可能并不是介导 VEGF-B 与 β 细胞功能关系的最重要因素。

“脂毒性”学说被认为在 β 细胞功能减退中起了非常重要的作用[4]。脂毒性即是血中 FFA 水平升高，超过脂肪组织的储存能力和各组织的氧化能力，过多的 FFA 以 TG 的形式在其他组织中沉积而造成的损伤。临床资料表明，糖尿病患者往往伴随脂代谢紊乱，表现为高 TG、高 FFA 血症，而长期高水平的 FFA 可导致胰岛 β 细胞功能受损，尤其在高糖条件下，使葡萄糖刺激的胰岛素分泌（glucose stimulated insulin secretion，GSIS）减少，甚至使第一时相胰岛素分泌消失[17]，并证实高 FFA 能抑制葡萄糖氧化，改变胰岛素基因表达，使胰岛素分泌减少[18-19]；高 TG、高 FFA 血症还能使过多的 FFA 以 TG 形式在胰岛 β 细胞中沉积，通过神经酰胺[20]、线粒体[21]、氧化应激[22]等途径，诱导 β 细胞凋亡。动物实验表明，VEGF-B 通过转运 FFA 参与脂代谢，且在糖尿病小鼠中，敲除 VEGF-B 或者用抗 VEGF-B 抗体治疗均能改善糖尿病前期及糖尿病小鼠 TG、FFA、HDL 水平，并同时观察到其胰腺 TG 沉积减少，且糖负荷后葡萄糖处置能力增强。同时，仅胰腺过表达 VEGF-B 对胰岛功能无明显影响。因此，阻断VEGF-B 信号通路对 β 细胞功能的保护作用可能与其降低了脂毒性密切相关[6]。本研究发现，IGR、T2DM 组血 TG、FFA 水平依次增高，相关分析显示血浆VEGF-B 与血 TG、FFA 水平显著正相关，与 HDL、LDL 水平无关。表明 VEGF-B 可能影响血 TG、FFA 水平。同时，logistic 回归显示，控制 TG 或者 FFA 后，高水平 VEGF-B 与 β 细胞功能第一时相分泌功能减退的相关性消失，进一步提示 VEGF-B 可能通过调节脂代谢影响 β 细胞功能。另外，Sun 等[14]的研究也表明血清 VEGF-B 水平增高与高脂血症关系密切，并同时发现使用噻唑烷二酮能降低循环 VEGF-B 水平。另有研究表明，噻唑烷二酮能降低糖尿病大鼠胰岛细胞内 TG 含量，恢复 GSIS，改善 β 细胞功能[23]。故推测噻唑烷二酮有可能也可以通过降低VEGF-B 水平来减少胰岛 TG 沉积，提高 β 细胞功能。但本试验为横断面观察研究，无法探讨以上各因素相互之间的因果关系，以上推测需要进一步研究证实。

本研究通过对不同糖耐量人群血浆 VEGF-B 水平的测定，发现血浆 VEGF-B 水平在糖调节受损和新诊断 2 型糖尿病患者中显著增高，且与糖脂代谢紊乱、β 细胞第一时相胰岛素分泌功能密切相关，其机制可能是通过影响脂代谢所致。VEGF-B 可能是治疗 2 型糖尿病和改善 β 细胞功能的一个新的靶点。但是 VEGF-B 在 2 型糖尿病人群中的表达情况尚需要大样本人群证实，且其影响 β 细胞功能的确切病理生理机制亦需更多基础及临床研究进一步阐明。

参 考 文 献

[1] Del Prato S, Tiengo A. The importance of first-phase insulin secretion: implications for the therapy of type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2001, 17(3): 164-174.

[2] Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy[J]. Lancet, 2005, 365(9467): 1333-1346.

[3] Cunha DA, Hekerman P, Ladriere L, et al. Initiation and execution of lipotoxic ER stress in pancreatic β-cells[J]. J Cell Sci, 2008, 121(pt 14): 2308-2318.

[4] McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2002, 51(1): 7-18.

[5] Hagberg CE, Falkevall A, Wang X, et al. Vascular endothelial growth factor B controls endothelial fatty acid uptake[J]. Nature 2010; 464(7290): 917-921.

[6] Hagberg CE, Mehlem A, Falkevall A, et al. Targeting VEGF-B as a novel treatment for insulin resistance and type 2 diabetes[J]. Nature, 2012, 490(7420): 426-430.

[7] Rosenbaum M, Nonas C, Horlick M, et al. beta-Cell function and insulin sensitivity in early adolescence: association with body fatness and family history of type 2 diabetes mellitus[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(11): 5469-5476.

[8] Olofsson B, Pajusola K, von Euler G, et al. Genomic organization of the mouse and human genes for vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) and characterization of a second splice isoform[J]. J Biol Chem, 1996, 271(32): 19310-19317.

[9] Falk T, Zhang S, Sherman SJ. Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) is up-regulated and exogenous VEGF-B is neuroprotective in a culture model of Parkinson's disease[J]. Mol Neurodegener, 2009 (4): 49.

[10] Zhong X, Huang H, Shen J, et al. Vascular endothelial growth factor-B gene transfer exacerbates retinal and choroidal neovascularization and vasopermeability without promoting inflammation[J]. Mol Vis, 2011(17): 492-507.

[11] Abedin ZR, Ma Z, Reddy EP. Increased angiogenesis in Cdk4 (R24C/R24C):Apc (+/Min) intestinal tumors[J]. Cell Cycle, 2010, 9 (12): 2456-2463.

[12] Karpanen T, Bry M, Ollila HM, et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor-B in mouse heart alters cardiac lipid metabolism and induces myocardial hypertrophy[J]. Circ Res, 2008, 103

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000965

类肿瘤干细胞标记物及缺氧诱导因子-1α在口腔鳞癌组织中的表达及相关性研究

李立峰,季　平,王　俊

(重庆医科大学附属口腔医院颌面外科、口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室、
重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室,重庆　401147)

【摘　要】目的:检测类肿瘤干细胞(cancer stem-like cell,CSC)标记物(CD44、ALDH1、NANOG)及缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)在口腔鳞癌组织中的表达并进行相关性分析。**方法**:应用免疫组化法检测 40 例重庆医科大学附属口腔医院颌面外科手术切除的口腔鳞癌组织、10 例癌旁组织、10 例淋巴结转移的淋巴结组织以及 10 例正常淋巴结组织中 CD44、ALDH1、NANOG 及 HIF-1α 的表达,采用 Fisher 确切概率法及秩和检验分析这些标记物与 HIF-1α 之间及其与肿瘤分化程度、分期及淋巴结转移的关系。**结果**:(1)CD44、NANOG、HIF-1α 在口腔鳞癌组织与癌旁组织中的表达差异均存在统计学意义(P_{CD44}=0.000;P_{NANOG}=0.000;$P_{HIF-1\alpha}$=0.000);(2)HIF-1α 与 CD44 在口腔鳞癌中的表达存在相关性(r_s=0.498,P=0.027);(3)CD44、ALDH1、NANOG 及 HIF-1α 在口腔鳞癌组织中的表达与分化程度、临床分期及淋巴结转移均无明显相关性。**结论**:CD44、NANOG、HIF-1α 在口腔鳞癌组织中呈高表达,其中 CD44 与 HIF-1α 的表达具有相关性。联合检测 CD44、NANOG、HIF-1α 可能对口腔鳞癌早期诊断具有重要意义。

【关键词】类肿瘤干细胞标记物;缺氧诱导因子-1α;口腔鳞癌;相关性分析

【中图分类号】R739.86　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2015-12-18

作者介绍:李立峰,Email:llf1021@163.com,
研究方向:口腔颌面部肿瘤的临床与基础研究。

通信作者:季　平,Email:jiping_62@hotmail.com。

基金项目:重庆市卫生局重点项目专项资助项目(编号:2013-1-030)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160513.1612.076.html
(2016-05-13)

(9):1018-1026.

[13] Dijkstra MH,Pirinen E,Huusko J,et al. Lack of cardiac and high-fat diet induced metabolic phenotypes in two independent strains of Vegf-b knockout mice[J]. Sci Rep,2014(4):6238.

[14] Sun CY,Lee CC,Hsieh MF,et al. Clinical association of circulating VEGF-B levels with hyperlipidemia and target organ damage in type 2 diabetic patients[J]. J Biol Regul Homeost Agents,2014,28(2):225-236.

[15] Virkamaki A,Korsheninnikova E,Seppala-Lindroos A,et al. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions on glucose uptake,antilipolysis,and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle[J]. Diabetes,2001,50(10):2337-2343.

[16] Kuhlmann J,Neumann-Haefelin C,Belz U,et al. Intramyocellular lipid and insulin resistance:a longitudinal in vivo 1H-spectroscopic study in Zucker diabetic fatty rats[J]. Diabetes,2003,52(1):138-144.

[17] Zhou YP,Grill VE. Long-term exposure of rat pancreatic islets to fatty acids inhibits glucose-induced insulin secretion and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle[J]. J Clin Invest,1994,93(2):870-876.

[18] Grill V,Qvigstad E. Fatty acids and insulin secretion[J]. Br J Nutr,2000,8(Suppl 1):79-84.

[19] Poitout V,Hagman D,Stein R,et al. Regulation of the insulin gene by glucose and fatty acids[J]. J Nutr,2006,136(4):873-876.

[20] Veret J,Coant N,Berdyshev EV,et al. Ceramide synthase 4 and de novo production of ceramides with specific N-acyl chain lengths are involved in glucolipotoxicity-induced apoptosis of INS-1 beta-cells[J]. Biochem J,2011,438(1):177-189.

[21] Barlow J,Affourtit C. Novel insights into pancreatic beta-cell glucolipotoxicity from real-time functional analysis of mitochondrial energy metabolism in INS-1E insulinoma cells[J]. Biochem J,2013,456(3):417-426.

[22] Piro S,Anello M,Di Pietro C,et al. Chronic exposure to free fatty acids or high glucose induces apoptosis in rat pancreatic islets:possible role of oxidative stress[J]. Metabolism,2002,51(10):1340-1347.

[23] Shimabukuro M,Zhou YT,Lee Y,et al. Troglitazone lowers islet fat and restores beta cell function of Zucker diabetic fatty rats[J]. J Biol Chem,1998,273(6):3547-3550.

(责任编辑:唐秋姗)