

- 3 Kubicka S, Claas C, Staab S, et al. p53 mutation pattern and expression of c-erbB-2 and c-met in gastric cancer; relation to histological subtypes, *Helicobacter pylori* infection, and prognosis [J]. *Dig Dis Sci*, 2002, 47(1): 114 - 121.
- 4 Graziano F, Cascinu S, Staccioli MP, et al. Potential role and chronology of abnormal expression of the deleted in colon cancer (DCC) and the p53 proteins in the development of gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2001, 1: 9.
- 5 Hao Y, Zhang J, Yi C, et al. Abnormal change of p53 gene in gastric and precancerous lesions and APC gene deletion in gastric carcinoma and near tissues [J]. *J Tongji Med Univ*, 1997, 17(2): 75 - 78.
- 6 Oue N, Motoshita J, Yokozaki H, et al. Distinct promoter hypermethylation of p16INK4a, CSH1, and RAR-beta in intestinal diffuse-adherent, and diffuse-scattered type gastric carcinoma [J]. *J Pathol*, 2002, 198(1): 55 - 59.
- 7 Obata Y, Takahashi T, Sakamoto J, et al. SEREX analysis of gastric cancer antigens [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2000, 46: s37 - s42.
- 8 Maruyama K, Sugano S. Oligo-capping: a simple method to replace the cap structure of eukaryotic mRNAs with oligoribonucleotides [J]. *Gene*, 1994, 138(1-2): 171 - 174.
- 9 Edery I, Chu LL, Sonenberg N, et al. An efficient strategy to isolate full-length cDNAs based on an mRNA cap retention procedure (CAP-*ture*) [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(6): 3363 - 3371.
- 10 Chenchik A, Moqadam F, Siebert P. A laboratory guide to RNA: isolation, analysis and synthesis [M]. New York: Wiley-Liss, 1996: 273 - 321.
- 11 Du XJ, Wang JX, Liu N, et al. Identification and molecular characterization of a peritrophin-like protein from fleshy prawn (*Penaeus chinensis*) [J]. *Mol Immunol*, 2006, 43(10): 1633 - 1644.
- 12 Schmidt WM, Mueller MW. CapSelect: a highly sensitive method for 5' CAP-dependent enrichment of full-length cDNA in PCR-mediated analysis of mRNAs [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(21): e31.
- 13 Efimov VA, Chakhmakhcheva OG, Archdeacon J, et al. Detection of the 5'-cap structure of messenger RNAs with the use of the cap-jumping approach [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(22): 4751 - 4759.
- 14 Carninci P, Kameoka C, Kitamura A, et al. High-efficiency full-length cDNA cloning by biotinylated CAP trapper [J]. *Genomics*, 1996, 37(3): 327 - 336.
- 15 Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* [M]. 2nd ed. America: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989: 396 - 455.

[收稿日期 2010-12-14] [本文编辑 谭毅 黄晓红]

课题研究 · 论著

阿托伐他汀对老年早期糖尿病肾病患者外周血 NF- κ B 和胰岛素抵抗的影响

李建英, 王志英, 陈健, 谭文芳

基金项目: 广西科技厅青年科学基金资助项目(编号: 0991062)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院干部病房

作者简介: 李建英(1969-), 女, 大学本科, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 老年病。E-mail: gxljydx@163.com

[摘要] 目的 观察阿托伐他汀对老年早期糖尿病肾病患者外周血单个核细胞中核因子- κ B (NF- κ B) P65 的磷酸化水平和血清 hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 炎症因子以及胰岛素抵抗的影响。方法 选择 66 例老年早期 2 型糖尿病患者随机分为糖尿病常规治疗组(对照组, $n=31$)及糖尿病常规治疗联合阿托伐他汀干预组(治疗组, $n=35$), 比较两组治疗前后 NF- κ B、血清 hs-CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 及胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)的变化。结果 治疗 12 周后, 治疗组外周血 NF- κ B 水平、血清炎症因子、HOMA-IR 显著下降($P<0.05$), 对照组无明显变化($P>0.05$)。结论 阿托伐他汀可降低糖尿病肾病患者炎症水平, 改善胰岛素抵抗。

[关键词] 阿托伐他汀; 糖尿病肾病; 核因子- κ B; 胰岛素抵抗

[中图分类号] R 587.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)05-0397-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.05.03

Effect of atorvastatin on nuclear factor κ B activity in peripheral blood mononuclear cell and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus elderly patients with early nephropathy LI Jian-ying, WANG Zhi-ying, CHEN Jian, et al. Senior Officials inpatient Ward, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To observe effect of atorvastatin on nuclear factor κ B (NF- κ B) activity in peripheral blood mononuclear cell, as well as serum inflammation factors including high sensitivity C reactive protein (hs-CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β) and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus elderly patients with early nephropathy. **Methods** There were 66 type 2 diabetics with early nephropathy in this study. Diabetics randomly divided into two group: type 2 diabetic routine treatment group (control group, $n = 31$) and type 2 diabetic routine treatment combined with atorvastatin (treatment group, $n = 35$). Level of NF- κ B, inflammation factors and HOMA-IR were compared between pre-treatment and post-treatment in two groups. **Results** After twelve weeks of treatment, level of NF- κ B, inflammatory factors and HOMA-IR were significantly decreased in treatment group ($P < 0.05$). Those were not decreased in control group ($P > 0.05$). **Conclusion** Atorvastatin might benefit patients with diabetes mellitus by improving inflammatory state, as well as insulin resistance.

[Key words] Atorvastatin; Diabetic nephropathy; NF- κ B; Insulin resistance

近年研究表明糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 早期已经存在胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR), 且炎症因子在 IR 中发挥了重要作用, 以核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 为网络中心的内皮细胞活化及炎症因子 [如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)] 等诱导参与了糖尿病及血管并发症的发生发展^[1]。抗炎是治疗糖尿病的新靶点^[2], 近来普遍强调羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂 (他汀类) 具有调脂以外的抗炎作用^[3]。本实验通过观察阿托伐他汀对老年早期 2 型糖尿病肾病患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PMNC) 中 NF- κ B、血清炎症因子 [超敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C reactive protein, hs-CRP)、TNF- α 、IL-6、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)] 以及胰岛素抵抗指数 (homeostasis modal assessment insulin resistance, HOMA-IR) 的影响, 探讨阿托伐他汀对老年早期 DN 患者的抗炎作用以及对 IR 的影响, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2007-08 ~ 2010-08 我院老年早期 2 型糖尿病肾病患者 66 例, 按 1999 年 WHO 《糖尿病诊断标准》进行诊断和分型, 3 个月内至少 2 次尿白蛋白排泄率 (UAER) 20 ~ 200 μ g/min。随机分为对照组及治疗组。对照组 31 例, 男性 17 例, 女性 14 例, 年龄 (65.4 ± 7.1) 岁, 病程 (10.8 ± 6.9) 年; 治疗组 35 例, 男性 19 例, 女性 16 例, 年龄 (65.3 ± 6.7) 岁, 病程 (11.2 ± 5.5) 年。两组的年龄、性别、病程差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。所有患者 2 周内未使用维生素 A、E、C 及阿司匹林、调脂药、

ACEI、ARB 类药物、胰岛素、胰岛素增敏剂及抗氧化药物。排除标准: 心脏、肝脏及其他全身性疾病引起的蛋白尿; 原发性泌尿系统疾病; 高血压病、高脂血症、糖尿病酮症酸中毒及其他并发症; 近期感染; 明确的心、肝、肺、肿瘤、外伤、风湿免疫性疾病; 妊娠期及哺乳期; 血肌酐激酶 (CK) $\geq$ 正常上限的 3 倍, 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 或门冬氨酸氨基转移酶 (AST) $\geq$ 正常上限的 1.5 倍。

1.2 方法

1.2.1 研究方法 所有入选的 2 型糖尿病患者均先给予糖尿病常规治疗, 包括糖尿病饮食、低盐低脂饮食、口服降糖药, 待血糖稳定 1 个月 [空腹血糖 (FBG) ≤ 7 mmol/L, 餐后 2 h 血糖 (PBG) ≤ 10 mmol/L]。对照组只给予糖尿病常规治疗, 治疗组在糖尿病常规治疗的同时每晚服阿托伐他汀 20 mg (商品名: 立普妥, 辉瑞制药有限公司生产, 规格: 片剂, 20 mg/片)。观察两组治疗前、治疗 12 周后的血糖 (FBG、PBG)、胰岛素 (FINS)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、血脂 (TC、TG、LDL-C、HDL-C)、血肌酐 (Cr)、肝功能 (CK、ALT、AST) 等生化指标变化情况。两组均分别抽取 10 例患者, 应用免疫印迹分析法检测 PMNC 中 NF- κ B P65 的磷酸化水平。服药期间每个月测 1 次生化指标, ALT 或 AST $\geq$ 正常上限的 1.5 倍时, 撤出观察组。

1.2.2 实验方法 禁食 10 h 后, 于清晨空腹抽血, TC、TG、LDL-C、HDL-C、FBG、PBG、Cr、CK、ALT、AST 用全自动生化分析测定; HbA1c 用亲和层析微柱法测定; FINS 用放免法测定。抽静脉血按试剂盒要求分离血清, -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存待测。PMNC 中 NF- κ B P65 (Ser536) 磷酸化水平用 Western blot 分析, 以 Fi-

coll 淋巴细胞分离液密度梯度离心法分离 PMNC,调整细胞数量为 3.8×10^6 ,BCA 法检测总蛋白含量。每样品取 30 μg 上样,SDS-PAGE 电泳,100 V 恒压设定定时为 90 min,转膜,TBS 漂洗,室温封闭 60 min。按照 1:1000 用碧云天提供的 Western 一抗稀释液稀释 NF- κ B P65 抗体。把经过封闭的蛋白膜与稀释好的一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 缓慢摇动过夜,确保稀释的抗体至少能在摇动的瞬间覆盖蛋白膜。按照 Western 的实验步骤进行后续的洗涤、二抗孵育、洗涤和检测等操作。结果以 alphaimager 2200 多功能凝胶成像仪定量扫描条带灰度,以 p65 蛋白条带/ β -actin 蛋白条带的比值反映 NF- κ B P65 (Ser536) 的磷酸化水平(抗 NF- κ B P65 抗体购自碧云天生物技术研究

所)。HOMA-IR = (FBG $\times$ FINS)/22.5。
1.3 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件包进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据比较用 t 检验,检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。
2 结果
2.1 两组生化指标及血清炎症因子水平治疗前后比较 治疗组治疗前后 TC、HDL-C、LDL-C、FINS、HOMA-IR 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),TG、FBG、PBG、HbA1c 差异无统计学意义($P > 0.05$)。对照组治疗前后生化指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗组治疗后血清炎症因子较治疗前显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。对照组治疗后较治疗前差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组生化指标及炎症因子水平治疗前后比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TC (mmol/L)		TG (mmol/L)		HDL-C (mmol/L)		LDL-C (mmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	31	5.39 $\pm$ 0.28	5.37 $\pm$ 0.29	1.56 $\pm$ 0.24	1.57 $\pm$ 0.29	1.14 $\pm$ 0.05	1.14 $\pm$ 0.07	3.15 $\pm$ 0.18	3.12 $\pm$ 0.18
治疗组	35	5.40 $\pm$ 0.24	4.70 $\pm$ 0.16 [▲]	1.57 $\pm$ 0.29	1.56 $\pm$ 0.29	1.13 $\pm$ 0.06	1.25 $\pm$ 0.05 [*]	3.17 $\pm$ 0.13	2.58 $\pm$ 0.30 [▲]
t	-	0.866	10.846	0.131	0.187	0.626	5.525	0.695	8.912
P	-	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01

组别	例数	FBG (mmol/L)		FINS (mmol/L)		PBG (mmol/L)		HBG (%)		HOMA-IR	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	31	7.90 $\pm$ 0.88	7.81 $\pm$ 0.86	12.51 $\pm$ 2.25	12.49 $\pm$ 2.22	9.62 $\pm$ 1.26	9.60 $\pm$ 1.23	7.73 $\pm$ 0.60	7.72 $\pm$ 0.60	4.46 $\pm$ 1.26	4.41 $\pm$ 1.23
治疗组	35	7.91 $\pm$ 0.91	7.77 $\pm$ 0.96	12.48 $\pm$ 2.30	9.86 $\pm$ 2.35 [▲]	9.64 $\pm$ 0.78	9.63 $\pm$ 0.60	7.74 $\pm$ 0.65	7.73 $\pm$ 0.70	4.41 $\pm$ 1.30	3.49 $\pm$ 1.25 [*]
t	-	0.156	0.188	0.034	4.669	0.068	0.100	0.031	0.012	0.177	11.983
P	-	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01

组别	例数	hs-CRP (mg/L)		TNF-a (ng/L)		IL-6 (ng/L)		IL-1 β (ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	31	7.75 $\pm$ 2.80	7.74 $\pm$ 2.79	35.80 $\pm$ 7.65	35.36 $\pm$ 7.0	20.00 $\pm$ 2.55	20.10 $\pm$ 2.57	15.91 $\pm$ 1.89	15.90 $\pm$ 1.78
治疗组	35	7.74 $\pm$ 2.83	5.65 $\pm$ 2.07 [▲]	35.78 $\pm$ 8.34	24.88 $\pm$ 7.86 [▲]	20.01 $\pm$ 2.42	17.15 $\pm$ 2.14 [▲]	6.09 $\pm$ 1.95	11.45 $\pm$ 1.71 [*]
t	-	0.110	3.414	0.018	5.731	0.010	5.011	0.374	10.277
P	-	>0.05	<0.05	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01

注:组内与治疗前比较,* $P < 0.05$,[▲] $P < 0.01$

2.2 两组 PMNC 中 NF- κ B P65 的磷酸化水平治疗前后比较 治疗 12 周后,治疗组 NF- κ B P65 的磷酸化水平降低($P < 0.05$),对照组治疗前后差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 PMNC 中 NF- κ B P65 的磷酸化水平
治疗前后比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后	t	P
对照组	10	0.95 $\pm$ 0.18	0.94 $\pm$ 0.32	0.026	>0.05
治疗组	10	0.95 $\pm$ 0.17	0.81 $\pm$ 0.14 [*]	2.111	<0.05
t	-	0.166	1.301		
P	-	>0.05	<0.05		

注:组内与治疗前比较,* $P < 0.05$

2.3 不良反应 治疗组有 1 例糖尿病患者因 ALT 升高至 102 U/L,撤出观察组。

3 讨论

3.1 IR 和胰岛素分泌缺陷是 2 型糖尿病主要发病机理中的两个主要环节。IR 产生的高胰岛素血症直接作用于肾出球小动脉,导致肾小球高滤过、高灌注,造成肾脏损伤;胰岛素通过影响血管紧张素间接改变肾小球血流动力学,使肾小球内压增高,同时降低肾近曲小管对白蛋白的重吸收,使尿白蛋白排出增多。IR 往往伴随有 NF- κ B 活性升高^[4]以及炎症因子如 TNF-a、hs-CRP、IL-6 等水平升高^[5,6]。

3.2 近年来有证据表明阿托伐他汀具有降脂以外的作用,如改善内皮功能、抗炎^[7]、抗增殖、抗氧化作用。阿托伐他汀在脂肪组织中可以减少炎症性活力,增强葡萄糖转运蛋白4基因的表达,促成胰岛素敏感性的改善^[8]。Riad等^[9]研究报道低剂量阿托伐他汀对链脲霉素诱导下的糖尿病鼠具有抗炎作用,给糖尿病鼠口服阿托伐他汀50 mg·kg⁻¹·d⁻¹,48 d后与对照组比较,低剂量阿托伐他汀没有改变血脂,但减少NF-κB P65的蛋白表达(-53%, $P < 0.05$),减少验证标志物血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)的mRNA表达(-24%),减少细胞间粘附分子(ICAM-1)(-81%)和VCAM-1(-74%),这些有益的改变独立于血脂之外的抗氧化、抗炎作用,包括细胞外信号调节酶/NF-κB信号通路。Furuya等^[8]研究报道口服阿托伐他汀4周能将肥胖鼠的甘油三酯、FINS、TNF-α、IL-6水平降低,恢复胰岛素的敏感性。本研究治疗组加服阿托伐他汀12周后TC、LDL-C、FINS、hs-CRP、TNF-α、IL-6、IL-β、PMNC中NF-κB水平明显降低,表明阿托伐他汀可以减轻DN患者炎症反应,改善IR,支持上述观点。对照组对NF-κB P65的磷酸化水平、炎症因子和胰岛素影响不明显,提示仅控制血糖不能完全改善糖尿病患者的炎症反应及IR,联合阿托伐他汀抗炎效果明显,同时还能减轻IR。

综上所述,阿托伐他汀能够降低DN老年患者的炎症指标,改善炎症状态及胰岛素的敏感性。

参考文献

- 1 Sanchez AP, Sharma K. Transcription factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Expert Rev Mol Med, 2009,11:e13.
- 2 Goldfine AB, Fonseca V, Shoelson SE. Therapeutic approaches to target inflammation in type 2 diabetes[J]. Clin Chem, 2011,57(2):162-167.
- 3 Zhang N, Huan Y, Huang H, et al. Atorvastatin improves insulin sensitivity in mice with obesity induced by monosodium glutamate[J]. Acta Pharmacol Sin, 2010,31(1):35-42.
- 4 He L, He M, Lv X, et al. NF-kappaB binding activity and pro-inflammatory cytokines expression correlate with body mass index but not glycosylated hemoglobin in Chinese population[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2010,90(1):73-80.
- 5 Ji ZZ, Dai Z, Xu YC. A new tumor necrosis factor (TNF)-α regulator, lipopolysaccharides-induced TNF-α factor, is associated with obesity and insulin resistance[J]. Chin Med J(Engl), 2011,124(2):177-182.
- 6 Figler RA, Wang G, Srinivasan S, et al. Links between insulin resistance, adenosine A2B receptors, and inflammatory markers in mice and humans[J]. Diabetes, 2011,60(2):669-679.
- 7 Gensini GF, Gori AM, Dilaghi B, et al. Effect of atorvastatin on circulating hsCRP concentrations: a sub-study of the achieve cholesterol targets fast with atorvastatin stratified titration(ACTFAST) study[J]. Int J Cardiol, 2010,142(3):257-264.
- 8 Furuya DT, Poletto AC, Favaro RR, et al. Anti-inflammatory effect of atorvastatin ameliorates insulin resistance in monosodium glutamate-treated obese mice[J]. Metabolism, 2010,59(3):395-399.
- 9 Riad A, Du J, Stiehl S, et al. Low-dose treatment with atorvastatin leads to anti-oxidative and anti-inflammatory effects in diabetes mellitus[J]. Eur J Pharmacol. 2007,569(3):204-211.

[收稿日期 2011-02-20][本文编辑 韦挥德 韦颖]

课题研究·论著

妊娠期糖尿病孕妇血清视黄醇结合蛋白4水平变化及临床意义

任利容, 于燕, 黄小红, 张锐

基金项目: 深圳市宝安区科技局资助项目(编号:2009373)

作者单位: 518133 广东,深圳市宝安区妇幼保健院产科

作者简介: 任利容(1969-),女,医学博士,副主任医师,研究方向:围产医学。E-mail:renlirong2001@yahoo.com.cn

[摘要] 目的 了解妊娠期糖尿病(GDM)孕妇血清视黄醇结合蛋白4(RBP4)水平变化及临床意义。

方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定50例孕晚期GDM孕妇及50例正常孕晚期孕妇血清RBP4水平,同时测定两组孕妇空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹胰岛素(FINS)水平,计算稳态模型评估的

万方数据