

妊娠期糖尿病患者血清 vaspin 水平变化及其与炎症因子关系的探讨

朱慧静, 朱 昕, 解合兰, 程 霖, 张巧芹, 杨明明

基金项目: 菏泽市立医院科研项目(编号:20150302)

作者单位: 274031 山东, 菏泽市立医院内分泌科(朱慧静, 朱 昕, 解合兰, 程 霖, 杨明明), 产科(张巧芹)

作者简介: 朱慧静(1984-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 糖尿病的基础与临床。E-mail: huijing158@163.com

通讯作者: 杨明明(1979-), 女, 大学本科, 医学学士, 主治医师, 研究方向: 糖尿病的基础与临床。E-mail: fanyycarp158@163.com

【摘要】 目的 探讨妊娠期糖尿病(GDM)患者血清脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(vaspin)水平的变化及其与炎症因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素6(IL-6)的相关性。**方法** 选取2016-10~2017-12于菏泽市立医院产科门诊行常规产前检查的孕妇120例, 按75 g葡萄糖耐量试验(OGTT)结果, 分为GDM组60例, 糖耐量正常妊娠(GNGT)组60例。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定空腹血清 vaspin、TNF- α 、IL-6 水平并进行统计学分析。**结果** GDM组血清 vaspin、TNF- α 、IL-6 水平均显著高于 GNGT 组($P < 0.05$)。线性相关分析显示, vaspin 与孕前体质质量指数(BMI)、BMI 增加幅度、血清胰岛素(FINS)、稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)呈显著正相关($P < 0.05$), 与 TNF- α 、IL-6 呈显著负相关($P < 0.05$)。多元线性回归分析显示, 孕前 BMI、TNF- α 、IL-6 和 HOMA-IR 是血清 vaspin 的独立影响因素($P < 0.05$)。**结论** GDM 患者血清 vaspin、TNF- α 、IL-6 水平均升高, vaspin 可能代偿性参与了肥胖、胰岛素抵抗及 GDM 的发生发展, 同时 vaspin 有抑制炎症反应的作用。

【关键词】 脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂; 妊娠期糖尿病; 炎症因子; 胰岛素抵抗

【中图分类号】 R 714 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2019)07-0736-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2019.07.09

Changes of serum vaspin levels in patients with gestational diabetes mellitus and its correlation with inflammatory factors ZHU Hui-jing, ZHU Xin, XIE He-lan, et al. Department of Endocrinology, Heze Municipal Hospital, Shandong 274031, China

【Abstract】 Objective To explore the changes of serum vaspin levels in patients with gestational diabetes mellitus(GDM) and its correlation with inflammatory factors of tumor necrosis factor-alpha(TNF- α) and interleukin-6(IL-6). **Methods** One hundred and twenty pregnant women undergoing prenatal examination in the Obstetrical Out-patient Clinic of Heze Municipal Hospital from October 2016 to December 2017 were selected. The 120 pregnant women were divided into GDM group($n = 60$) and normal glucose tolerance(GNGT) group($n = 60$) according to their different oral glucose tolerance test(OGTT) results. The levels of fasting serum vaspin, TNF- α and IL-6 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), and statistical analysis was conducted. **Results** The serum levels of vaspin, TNF- α and IL-6 in the GDM group were significantly higher than those in the GNGT group($P < 0.05$). Correlation analysis showed that vaspin was positively correlated with pre-gestational body mass index(BMI), increment of BMI during pregnancy, fasting insulin(FINS) and homeostasis model assessment of insulin resistance(HOMA-IR) but negatively correlated with TNF- α and IL-6($P < 0.05$). In a multiple linear regression analysis, pre-gestational BMI, TNF- α , IL-6 and HOMA-IR were independent risk factors of serum vaspin concentrations. **Conclusion** Serum levels of vaspin, TNF- α and IL-6 in GDM patients are increased. Vaspin may be compensatory in the occurrence and development of obesity, insulin resistance and GDM, and can inhibit the inflammatory response.

【Key words】 Vaspin; Gestational diabetes mellitus(GDM); Inflammatory factors; Insulin resistance

随着我国“全面二孩”政策的放开, 高龄孕妇增多, 妊娠期糖尿病(GDM)的发病率不断上升。GDM

严重影响母婴健康, 对于母亲, 不仅增加剖宫产率, 而且产后也易发展为2型糖尿病(T2DM); 对于胎

儿,不仅增加早产、胎儿宫内窘迫、巨大儿的发病风险,而且将来患糖尿病、肥胖,甚至心血管疾病、神经心理失调的风险也增加。GDM 的发病机制尚未完全阐明,目前普遍认为与 T2DM 相似,胰岛素抵抗(IR)是 GDM 的主要病理基础^[1]。近年来血清脂肪细胞因子与 IR 的关联性日益受到重视,在 GDM 的发生、发展中亦具有重要意义。肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白介素 6 (IL-6) 作为功能多样的促炎细胞因子,可相互作用,通过激活下游通路共同对胰岛素信号转导产生干扰,从而导致 IR,引发 GDM^[2]。脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂 (vaspin) 是一种主要由内脏脂肪组织分泌的脂肪细胞因子,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族^[3]。研究表明,vaspin 具有改善胰岛素敏感性的作用,与肥胖、IR 和 T2DM 密切相关^[4,5]。但目前有关 vaspin 在 GDM 患者中的研究不多,且结论存在争议。本研究旨在探讨 vaspin 在 GDM 发病机制中的作用,及其与炎症因子的关系,为 GDM 的早期诊断、病情监测和研究新的治疗策略提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016-10 ~ 2017-12 在菏泽市立医院产科门诊行常规产前检查的单胎妊娠孕妇共 120 例,于妊娠第 24 ~ 28 周行口服 75 g 葡萄糖耐量试验 (OGTT),根据 OGTT 结果分为 GDM 组 (60 例) 和糖耐量正常妊娠 (NGT) 组 (60 例)。GDM 诊断标准参照国际妊娠期合并糖尿病共识小组 (IADPSG) 制定的诊断标准^[6]: 5.1 mmol/L $\leq$ 空腹血糖 (FPG) < 7.0 mmol/L, OGTT 1h 血糖 $\geq$ 10.0 mmol/L, 8.5 mmol/L $\leq$ OGTT 2h 血糖 < 11.1 mmol/L, 上述血糖值之一达标即诊断 GDM。排除标准: (1) 生殖辅助技术妊娠; (2) 合并高血压、感染、肝肾功能不全或其他系统性疾病; (3) 孕前有糖尿病、甲状腺疾病、多囊卵巢综合征史; (4) 近期应用影响糖代谢的药物,如糖皮质激素等。本研究经我院伦理委员会批准,受试者均

签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 基线资料收集 基线资料于首次产检 (孕 13 ~ 15 周) 时获得,包括年龄、孕产次、孕前身高、体质量,计算孕前体质量指数 (BMI) = 体质量 (kg) / 身高 (m)²。于孕 24 ~ 28 周行 75 g OGTT,测量收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP),并记录孕妇当时的 BMI,计算孕期 BMI 增长幅度 = 当前 BMI - 孕前 BMI。

1.2.2 临床生化指标测定 所有受试者均隔夜空腹 10 h 以上,清晨抽取肘静脉血 4 ml, 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清。采用日立 7600 全自动生化分析仪测定 FPG、血脂谱 [总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)]; 高压液相波谱法检测糖化血红蛋白 (HbA1c); 采用放射免疫法检测血清胰岛素 (FINS); 采用稳态模型计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) = FPG $\times$ FINS / 22.5。

1.2.3 vaspin、TNF- α 、IL-6 测定 另抽取一份空腹血样 2 ml, 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清, - 70 $^{\circ}$ C 保存,采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定 vaspin、TNF- α 和 IL-6。vaspin 检测试剂盒购自美国 ALPCO 公司, TNF- α 和 IL-6 检测试剂盒购自上海船夫生物科技有限公司。操作严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法 应用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用 t 检验,采用 Pearson 相关分析进行相关性检验,采用多元线性回归进行影响因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇临床及生化指标比较 两组间孕周、SBP、DBP、TC 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); GDM 组年龄、孕前 BMI、BMI 增加幅度、FPG、1 h 血糖、2 h 血糖、HbA1c、FINS、HOMA-IR、TG、LDL-C 均高于 NGT 组, HDL-C 低于 NGT 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组孕妇临床及生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	孕周	孕前 BMI (kg/m ²)	BMI 增加幅度 (kg/m ²)	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	HbA1c (%)	FPG (mmol/L)
GDM 组	60	31.80 $\pm$ 3.92	25.94 $\pm$ 0.89	23.62 $\pm$ 1.40	3.95 $\pm$ 0.64	114.30 $\pm$ 9.40	75.20 $\pm$ 7.60	7.05 $\pm$ 0.51	6.13 $\pm$ 0.53
NGT 组	60	26.77 $\pm$ 2.85	25.91 $\pm$ 0.96	22.95 $\pm$ 1.55	3.40 $\pm$ 0.67	111.80 $\pm$ 9.60	72.70 $\pm$ 7.40	5.13 $\pm$ 0.35	4.18 $\pm$ 0.40
t	-	8.043	0.168	2.479	5.091	1.409	1.833	24.113	22.583
P	-	0.000	0.867	0.015	0.000	0.162	0.069	0.000	0.000

组别	例数	1 h 血糖 (mmol/L)	2 h 血糖 (mmol/L)	FINS (mU/L)	HOMA-IR	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
GDM 组	60	11.40 $\pm$ 1.20	9.22 $\pm$ 0.34	9.04 $\pm$ 2.74	2.48 $\pm$ 0.82	4.64 $\pm$ 1.35	1.98 $\pm$ 1.41	1.20 $\pm$ 0.31	2.48 $\pm$ 1.02
NGT 组	60	7.29 $\pm$ 0.77	5.95 $\pm$ 0.82	7.66 $\pm$ 3.44	1.42 $\pm$ 0.67	4.46 $\pm$ 0.94	1.51 $\pm$ 0.92	1.35 $\pm$ 0.38	1.81 $\pm$ 0.80
t	-	22.298	28.591	2.432	7.672	0.852	2.191	2.417	4.019
P	-	0.000	0.000	0.017	0.000	0.396	0.031	0.017	0.000

2.2 两组孕妇 vaspin、TNF-α 及 IL-6 比较 GDM 组血清 vaspin、TNF-α、IL-6 水平均高于 GNGT 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组孕妇 vaspin、TNF-α 及 IL-6 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	Vaspin (ng/ml)	TNF-α (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
GDM 组	60	0.70 ± 0.423	42.82 ± 15.41	22.61 ± 10.45
GNGT 组	60	0.51 ± 0.484	34.55 ± 13.60	18.28 ± 9.90
<i>t</i>	—	2.252	3.115	2.332
<i>P</i>	—	0.026	0.002	0.021

2.3 血清 vaspin 与各指标间的 Pearson 相关分析结果 Pearson 相关分析结果显示,血清 vaspin 水平与孕前 BMI、BMI 增加幅度、FINS、HOMA-IR 呈显著正相关,与 TNF-α、IL-6 呈显著负相关。见表 3。

表 3 血清 vaspin 与各指标间的 Pearson 相关分析结果

相关因素	<i>r</i>	<i>P</i>
孕前 BMI	0.328	0.000
BMI 增加幅度	0.210	0.021
FINS	0.269	0.003
HOMA-IR	0.260	0.004
TNF-α	-0.205	0.025
IL-6	-0.193	0.035

2.4 血清 vaspin 的多元线性回归分析结果 以 vaspin 为因变量,以上述临床和实验室指标为自变量进行多元线性回归分析,按照入选变量的显著性水准为 0.05、剔除变量的显著性水准为 0.10 进入方程。结果显示,孕前 BMI、TNF-α、IL-6 和 HOMA-IR 是血清 vaspin 的独立影响因素。见表 4。

表 4 血清 vaspin 的多元线性回归分析结果

相关因素	B	<i>P</i>
常量	-1.350	0.023
孕前 BMI	0.095	0.000
TNF-α	-0.007	0.006
IL-6	-0.010	0.010
HOMA-IR	0.111	0.011

3 讨论

3.1 GDM 是指妊娠期间发生的不同程度的糖代谢异常,但血糖未达到显性糖尿病的水平,占孕期糖尿病的 80% ~ 90%。早在 1979 年,WHO 就提出 GDM 是 IR 的早期表现,属于特殊类型的糖尿病。研究^[7]表明慢性低度炎症是导致 IR 的重要机制之一,从病理学来说 GDM 也是一种炎症性疾病,各种炎症细

胞因子在其中起着重要作用。TNF-α 主要由单核巨噬细胞分泌,其一方面可通过促进胰岛 β 细胞一氧化氮生成和细胞凋亡而引起 β 细胞选择性破坏,诱导 IR;另一方面还可通过抑制葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) 基因的转录活性,使胰岛素不能转运至浆膜而引起 IR^[7]。IL-6 是一种由多细胞分泌的功能多样的炎症因子,在免疫、炎症反应及组织损伤修复等过程中起着关键性调节作用。研究^[8,9]表明,IL-6 与 IR 密切相关,在 GDM 的发生发展中也起到了重要作用,其机制可能为:(1) IL-6 可下调脂肪细胞的脂蛋白酶,诱导急性炎症反应,进而阻断胰岛素信号通路,导致胰岛素受体底物 (IRS-1) 丝氨酸磷酸化障碍,从而间接抑制胰岛素依赖的葡萄糖转运;(2) IL-6 也可抑制脂肪细胞 GLUT4 的表达,从而抑制胰岛素刺激的外周组织对葡萄糖的摄取。本研究结果显示,GDM 患者血清 TNF-α、IL-6 水平均显著高于正常妊娠者($P < 0.05$),这与国内外许多学者研究的结果相似^[10,11],也进一步说明了 TNF-α、IL-6 作为促炎因子在 GDM 发病机制中具有重要作用。

3.2 Vaspin 是一种新发现的脂肪细胞因子,2005 年首次由 Hida 等^[3]从 OLETF 大鼠的内脏脂肪组织中分离出来,同源性分析显示其与 α₁-抗胰蛋白酶有 40.5% 的同源性。研究^[4,5]发现,在肥胖、多囊卵巢综合征及单纯 T2DM 患者中 vaspin 水平与肥胖程度及 HOMA-IR 呈正相关;但随着糖尿病大血管、微血管并发症的发生,血清 vaspin 水平逐渐下降^[12,13],提示脂肪组织诱导 vaspin 产生可能是机体对肥胖及 IR 的一种防御机制,通过其代偿性的增高对病症起警示作用,但随着糖尿病病程的延长及并发症的产生,这种防御机制减弱甚至消失。Heiker 等^[14]研究发现,给予胰岛细胞外源性 vaspin 后,胰岛素浓度上升,但胰岛素分泌未受影响,推测 vaspin 可能通过抑制人激肽释放酶 7 (KLK7) 介导的胰岛素降解来代偿 IR。目前国内外有关 vaspin 与 GDM 关系的研究不多,且结果不一致。Jia 等^[15]研究发现 GDM 患者血清 vaspin 水平显著高于正常妊娠孕妇,且 vaspin 水平与 HOMA-IR、瘦素及 TG 水平呈正相关,提示 vaspin 与 IR 密切相关,可能在 GDM 发病机制中起着一定的作用。但也有研究^[16,17]发现,与正常妊娠孕妇比较,GDM 患者血清 vaspin 水平没有显著差别,甚至低于 GNGT 组,且 vaspin 水平与 BMI、血清胰岛素、定量胰岛素敏感性指标 (QUICKI) 均无相关性,提示妊娠期 vaspin 不能作为独立预测 IR 的指标,可能与 GDM 的发生发展无关。本研究中,GDM 组

血清 vaspin 水平显著高于 GNCT 组,与 Jia 等^[15]的研究结果相似;相关分析显示,血清 vaspin 水平与孕前 BMI、BMI 增加幅度、FINS、HOMA-IR 水平均呈显著正相关,且回归分析显示,孕前 BMI 是血清 vaspin 水平的独立影响因素,进一步提示人类血清中的 vaspin 可能来源于脂肪组织,vaspin 与肥胖和 IR 关系密切。GDM 患者血清 vaspin 水平升高可能也是对肥胖和 IR 一种代偿效应,但具体机制仍有待进一步的研究证实。

3.3 有研究^[3]显示,肥胖小鼠给予重组 vaspin 能显著减少炎性和致糖尿病性因子 TNF- α 的表达,增加抗炎和糖尿病保护性因子脂联素的表达^[3],提示 vaspin 的表达可能受多种炎性介质的调控,有一定的抗炎作用。在本研究中,相关分析显示血清 vaspin 水平与 TNF- α 、IL-6 呈显著负相关;且回归分析显示 TNF- α 和 IL-6 是 vaspin 的独立影响因素,推测 vaspin 可能有调节局部炎性介质间的平衡,抑制炎症反应的作用;在 IR 和 GDM 的发病机制中,vaspin 可能是一种保护性的因子,通过其代偿性的增高对病症起警示作用。

综上所述,vaspin 可能是联系肥胖、IR、慢性炎症与 GDM 的纽带,在 GDM 的发生发展中起到重要的作用,为 GDM 的预防、治疗及监测提供了一个新的突破点。

参考文献

- 1 Raina SK. Conducting evaluation in gestational diabetes[J]. J Postgrad Med, 2015, 61(4): 266.
- 2 Magee TR, Ross MG, Wedekind L, et al. Gestational diabetes mellitus alters apoptotic and inflammatory gene expression of trophoblasts from human term placenta[J]. J Diabetes Complications, 2014, 28(4): 448–459.
- 3 Hida K, Wada J, Eguchi J, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(30): 10610–10615.
- 4 Pala D, Carlos-Cândido AP, Leandro-da-Cruz L, et al. Vaspín association with insulin resistance is related to physical activity and body fat in Brazilian adolescents - A cross-sectional study[J]. Nutr Hosp,

- 2016, 33(3): 588–594.
- 5 Polak K, Czyzyk A, Simoncini T, et al. New markers of insulin resistance in polycystic ovary syndrome[J]. J Endocrinol Invest, 2017, 40(1): 1–8.
- 6 Gupta Y, Kalra B, Baruah MP, et al. Updated guidelines on screening for gestational diabetes[J]. Int J Womens Health, 2015, 7: 539–550.
- 7 Mauvais-Jarvis F. Novel link between inflammation, endothelial dysfunction, and muscle insulin resistance[J]. Diabetes, 2013, 62(3): 688–690.
- 8 Honkanen J, Nieminen JK, Gao R, et al. IL-17 immunity in human type 1 diabetes[J]. J Immunol, 2010, 185(3): 1959–1967.
- 9 Esser N, Paquot N, Scheen AJ. Anti-inflammatory agents to treat or prevent type 2 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular disease[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2015, 24(3): 283–307.
- 10 Bo S, Valpreda S, Menato G, et al. Should we consider gestational diabetes a vascular risk factor? [J]. Atherosclerosis, 2007, 194(2): e72–e79.
- 11 Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy[J]. Diabetes, 2002, 51(7): 2207–2213.
- 12 Li HL, Peng WH, Cui ST, et al. Vaspín plasma concentrations and mRNA expressions in patients with stable and unstable angina pectoris[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(9): 1547–1554.
- 13 Gulcelik NE, Karakaya J, Gedik A, et al. Serum vaspín levels in type 2 diabetic women in relation to microvascular complications [J]. Eur J Endocrinol, 2009, 160(1): 65–70.
- 14 Heiker JT, Klötting N, Kovacs P, et al. Vaspín inhibits kallikrein 7 by serpin mechanism[J]. Cell Mol Life Sci, 2013, 70(14): 2569–2583.
- 15 Jia X, Wang S, Ma N, et al. Comparative analysis of vaspín in pregnant women with and without gestational diabetes mellitus and healthy non-pregnant women[J]. Endocrine, 2015, 48(2): 533–540.
- 16 Stepan H, Kralisch S, Klostermann K, et al. Preliminary report: circulating levels of the adipokine vaspín in gestational diabetes mellitus and preeclampsia[J]. Metabolism, 2010, 59(7): 1054–1056.
- 17 Huo Y, Liu SX, Song GY, et al. Plasma levels and placental expression of vaspín in pregnant women with diabetes mellitus[J]. Braz J Med Biol Res, 2015, 48(3): 273–279.

[收稿日期 2019-01-03][本文编辑 余 军 吕文娟]