

· 临床研究 ·

血清 Adropin 蛋白与 2 型糖尿病及颈动脉粥样硬化的关系

臧欢欢¹, 成兴波¹, 蒋伏松^{2*}, 高家彦³¹苏州大学附属第一医院内分泌科, 江苏 苏州 215006; ²上海交通大学附属第六人民医院东院内分泌代谢科, 上海 201306; ³江苏大学附属张家港澳洋医院内分泌科, 江苏 苏州 215600

[摘要] 目的: 探究血清 adropin 蛋白与 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)及颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)的关系。方法: 选取住院 T2DM 患者 108 例, 依据颈动脉彩色多普勒超声检查结果分为 T2DM + CAS 组 68 例和单纯 T2DM 组 40 例; 同期选取健康体检者 60 例作为正常对照(normal control, NC)组。采集受试者的一般资料并测定其临床代谢指标; 血清 adropin 浓度通过酶联免疫吸附法测定。结果: T2DM + CAS 组与单纯 T2DM 组的 adropin 浓度均低于 NC 组($P < 0.01$); 而 T2DM + CAS 组与单纯 T2DM 组比较, adropin 浓度差异无统计学意义。相关性分析显示, 血清 adropin 水平与体重指数、甘油三酯、空腹血浆葡萄糖、空腹胰岛素、稳态模型胰岛素抵抗指数、糖化血红蛋白、高敏 C 反应蛋白呈负相关(均 $P < 0.01$); 与高密度脂蛋白胆固醇呈正相关($P < 0.01$)。多元线性回归提示空腹胰岛素、糖化血红蛋白是 adropin 浓度的独立影响因素(均 $P < 0.01$)。结论: 血清 adropin 水平在 T2DM 患者中显著降低, 其可能通过调节胰岛素敏感性、脂质代谢和炎症反应等作用与 T2DM 的病理过程密切相关。

[关键词] 2 型糖尿病; Adropin; 胰岛素抵抗; 颈动脉粥样硬化; 内皮功能

[中图分类号] R587.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)02-232-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20190215

Relationship between serum adropin and carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus

Zang Huanhuan¹, Cheng Xingbo¹, Jiang Fusong^{2*}, Gao Jiayan³¹Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006; ²Department of Endocrinology, the Sixth Hospital - east of Shanghai, Shanghai 201306; ³Department of Endocrinology, Zhangjiagang AoYang Hospital, Suzhou 215600, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between serum adropin and carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** A total of 108 T2DM patients were divided into two groups based on the results of carotid color Doppler ultrasound: 68 with carotid atherosclerosis (T2DM+CAS group) and 40 without carotid atherosclerosis (simple T2DM group), and 60 healthy volunteers were enrolled as normal control (NC group). General information was gathered. Biochemistry, glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c) and fasting insulin (FIns) were detected by clinical laboratory. Serum adropin concentration was measured by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results:** The levels of adropin in T2DM+CAS and simple T2DM were significantly lower than that in NC ($P < 0.01$). There was no significant difference of the adropin concentration between T2DM+CAS group and simple T2DM group. Adropin level was negatively correlated with body mass index, triglycerides, fasting plasma glucose, FIns, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), HbA1c, high-sensitive C reactive protein and positively correlated with high-density lipoprotein cholesterol (all $P < 0.01$). Multiple linear regression analysis revealed that FIns and HbA1c were independent influencing factors of serum adropin (all $P < 0.01$). **Conclusion:** Serum adropin levels were significantly reduced in patients with T2DM, which may be closely related to the pathological process of T2DM by regulating insulin sensitivity, lipid metabolism and inflammatory responses.

[Key words] type 2 diabetes mellitus; adropin; insulin resistance; carotid atherosclerosis; endothelial function

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(02): 232-236]

[基金项目] 科技部 863 计划(SQ2015AA0201361); 上海市糖尿病重点实验室开放课题(SHDCKEY210403)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hajfs@126.com

近年来,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的患病率居高不下,且易并发动脉粥样硬化,是心血管事件的高危因素^[1]。颈动脉由于位置表浅且走行明确,可通过彩色多普勒超声进行无创探查,成为了反映全身大血管粥样硬化病变的“窗口”。随着瘦素、脂联素、成纤维细胞生长因子21等陆续被证实参与调节胰岛素敏感性和糖脂代谢平衡,一系列外周组织分泌的活性肽类引起了学者的重视。Adropin蛋白即是一种优势表达于肝脏组织的新型分泌蛋白,其由能量平衡相关基因(energy homeostasis associated gene, Enho)编码,肽链组成包含76个氨基酸^[2]。既往研究表明^[2-3],adropin可增强胰岛素敏感性、改善糖耐量、减少肝脏脂肪沉积,发挥重要的能量平衡作用。后续有研究亦证实,adropin促进血管内皮一氧化氮的释放,调节舒张功能,具有直接的内皮保护作用^[4],与动脉粥样硬化、心脏X综合征、心力衰竭等心血管疾病的发生密切相关^[5]。然而,截至目前尚未有研究报道adropin与T2DM并发颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)的相关性,本研究旨在初步探讨我国T2DM患者adropin蛋白水平及其与CAS的相关性。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2016年8月—2017年4月本科收治的住院T2DM患者108例,均符合1999年世界卫生组织糖尿病诊断标准,其中男62例,女46例,年龄22~78岁,病程1~27年。研究对象均接受双侧颈动脉彩色多普勒超声检查,依据结果分为两组:68例合并斑块形成者为T2DM+CAS组,40例内膜正常者为单纯T2DM组。同期于本院体检中心选取健康体检者60例为正常对照(normal control, NC)组,均行75 g口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT)排除糖尿病及糖耐量异常,且经颈动脉彩色多普勒超声证实不合并CAS。纳入的T2DM患者近1个月内未使用胰岛素治疗,其中T2DM+CAS组降糖方案为:磺酰脲类+二甲双胍(33例),磺酰脲类+阿卡波糖(21例),DPP-4抑制剂+二甲双胍(14例);单纯T2DM组降糖方案为:磺酰脲类+二甲双胍(21例),磺酰脲类+阿卡波糖(12例),DPP-4抑制剂+二甲双胍(7例)。排除标准:1型糖尿病、妊娠糖尿病、特殊类型糖尿病以及T2DM合并急性慢性感染患者;严重心脑血管疾病、高血压病患者;严重肝肾功能不全患者;恶性肿瘤及自身免疫性疾病患者;其他内

分泌疾病患者;使用影响糖代谢的药物(如糖皮质激素、性激素等)或长期服用调脂药物患者。研究经本院伦理委员会批准,且所有研究对象均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 颈动脉超声检查

颈动脉超声检查使用美国惠普SONOS 5500彩色多普勒超声仪,探头中心频率7.0~11.0 MHz。患者取平卧位,由固定专科人员对其双侧颈总动脉全段、分叉部位及颈内、外动脉扫描,并测量双侧颈总动脉分叉远端1 cm处前后壁共4个点颈动脉内-中膜厚度(carotid intima-media thickness, CIMT),测量5次,取平均值。依据2009年血管超声检查指南^[6]: CIMT < 1.0 mm为正常,1.0 mm ≤ CIMT < 1.5 mm为内膜增厚,局限性CIMT ≥ 1.5 mm为斑块形成。

1.2.2 一般资料收集和实验室测定

每个研究对象经询问病史,记录年龄、性别、吸烟状况、糖尿病病程,测量身高、体重及血压,计算体重指数(body mass index, BMI)。受试者经历10 h以上禁食,于次晨采集肘静脉空腹血,空腹血浆葡萄糖(fasting plasma glucose, FPG)、甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、超敏C反应蛋白(high-sensitive C reactive protein, hsC-RP)由Hitachi7600全自动生化分析仪测定;糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)采用高效液相色谱法测定;以酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定空腹胰岛素浓度(fasting insulin, FIns),并评估稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR),公式:HOMA-IR=FPG×FIns/22.5。另留1份血清,-70℃保存,避免反复冻融,ELISA法测定血清adropin浓度,试剂盒购于加拿大DEVELOP公司,批内及批间变异系数分别小于10%、12%。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 21.0软件。所有连续型数值变量按照是否服从正态分布分别以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)或中位数(上、下四分位数)表示,分类变量以计数或百分数表示。非正态分布的数值变量在分析之前进行对数转换。定量资料两组之间的差异比较采用独立样本 t 检验,多组的比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用SNK分析。分类资

料组间比较采用交叉表 χ^2 检验。血清 adropin 与其他临床指标行双变量 Pearson 相关和多元线性逐步回归分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床资料及血清 adropin 浓度比较

各组间性别、BMI、吸烟状况、TC、LDL-C 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。T2DM + CAS 组和单纯 T2DM 组收缩压、舒张压、TG、FPG、FIns 及 HOMA-IR 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，均高于 NC 组 ($P < 0.05$)；T2DM + CAS 组和单纯 T2DM 组 HDL-C 差异无

统计学意义 ($P > 0.05$)，均低于 NC 组 ($P < 0.05$)；且两组口服降糖药使用情况无统计学差异。T2DM + CAS 组年龄、hsC-RP、HbA1c 高于单纯 T2DM 组和 NC 组 ($P < 0.05$)，且糖尿病病程高于单纯 T2DM 组 ($P < 0.05$, 表 1)。

T2DM + CAS 组与单纯 T2DM 组 adropin 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，均低于 NC 组 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 血清 adropin 浓度与临床指标的 Pearson 相关分析

血清 adropin 与 BMI、hsC-RP、TG、FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c 呈负相关 ($P < 0.01$)；与 HDL-C 呈

表 1 各组临床资料及血清 adropin 水平比较

Table 1 Comparative results of clinical data and adropin level in each group

指标	T2DM+CAS组(n=68)	单纯T2DM组(n=40)	NC组(n=60)	P值
性别(男/女)	40/28	22/18	32/28	0.815
年龄(岁)	61 ± 10 ^{#△}	48 ± 12	45 ± 10	< 0.001
BMI(kg/m ²)	24.6 ± 3.0	24.3 ± 2.5	23.5 ± 2.5	0.060
吸烟[n(%)]	14(20.6)	9(22.5)	13(21.7)	0.972
糖尿病病程(年)	10(7~13) [△]	5(3~10)	-	< 0.001
收缩压(mmHg)	127 ± 11 [#]	125 ± 10 [#]	119 ± 12	0.001
舒张压(mmHg)	77 ± 9 [#]	80 ± 8 [#]	74 ± 11	0.006
hsC-RP[mg/L, Me(Q ₁ ~Q ₂)]	1.86(0.94~3.48) ^{#△}	1.48(0.90~2.78)	1.07(0.91~1.25)	< 0.001
TG(mmol/L)	1.42(0.85~2.18) [#]	1.43(0.97~1.94)	1.05(0.80~1.52)	0.040
LDL-C(mmol/L)	2.71 ± 0.79	2.76 ± 0.77	2.45 ± 0.63	0.064
HDL-C(mmol/L)	1.28 ± 0.29 [#]	1.25 ± 0.23 [#]	1.50 ± 0.26	< 0.001
TC(mmol/L)	4.41 ± 0.91	4.44 ± 0.87	4.37 ± 0.67	0.922
FPG(mmol/L)	8.47 ± 2.53 [#]	8.12 ± 2.01 [#]	5.19 ± 0.32	< 0.001
HbA1c(%)	9.74 ± 1.93 ^{#△}	9.06 ± 1.76 [#]	5.50 ± 0.25	< 0.001
FIns(μU/mL)	10.80 ± 6.01 [#]	10.66 ± 4.55 [#]	7.25 ± 1.57	< 0.001
HOMA-IR[Me(Q ₁ ~Q ₂)]	3.77(1.84~5.01) [#]	3.25(1.97~5.01) [#]	1.70(1.38~1.99)	< 0.001
adropin[ng/mL, Me(Q ₁ ~Q ₂)]	3.78(3.01~5.41) [#]	3.89(2.99~5.68) [#]	5.53(3.75~7.89)	< 0.001

与 NC 组比较, [#] $P < 0.05$; 与单纯 T2DM 组比较, [△] $P < 0.05$ 。

正相关 ($P < 0.01$, 表 2)。

2.3 血清 adropin 浓度影响因素的多元线性回归分析

以血清 adropin 为因变量, 以年龄、性别、BMI、hsC-RP、TG、HDL-C、FIns、HbA1c 为自变量 (FPG、HOMA-IR 与 FIns 存在共线性, 未纳入), 进行多元线性逐步回归分析, 结果提示 FIns、HbA1c 是血清 adropin 浓度的独立影响因素 (表 3)。

3 讨论

胰岛素抵抗是伴随 T2DM 发生发展始末的病理状态, 其机制错综复杂, 包括全身慢性低度炎症、下丘脑功能受损、脂代谢紊乱引起的脂肪酸异位积聚

及线粒体功能异常等^[7]。既往动物实验初步证实 adropin 蛋白可增加胰岛素敏感性, 其主要的调节效应包括以下 3 个方面: ①促使骨骼肌胰岛素诱导的蛋白激酶 B 磷酸化, 由此介导葡萄糖转运蛋白 4 向细胞表面转位, 增加组织对葡萄糖的摄取和利用^[8]; ②下调肝脏和脂肪组织中脂肪生成关键酶 (如硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1、脂肪酸合酶) 的表达, 进而显著改善了肝脏的脂肪变性^[2]; ③使过氧化物酶体增殖激活受体 γ 共激活因子 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 的活性减低, 引起包括肉碱棕榈酰基转移酶、CD36、丙酮酸脱氢酶激酶 4 在内的基因表达减少, 由此参与

表2 血清 adropin 与其他临床指标的 Pearson 相关分析
Table 2 Linear analysis between adropin and other clinical indexes

指标	r值	P值
性别	-0.043	0.578
年龄	-0.091	0.240
BMI	-0.288	<0.01
糖尿病病程	-0.041	0.675
收缩压	-0.071	0.362
舒张压	-0.002	0.984
hsC-RP	-0.224	<0.01
TG	-0.259	<0.01
LDL-C	-0.081	0.296
HDL-C	0.291	<0.01
TC	-0.004	0.960
FPG	-0.324	<0.01
HbA1c	-0.348	<0.01
FIns	-0.473	<0.01
HOMA-IR	-0.408	<0.01

表3 血清 adropin 水平影响因素的多元线性逐步回归分析
Table 3 Multiple linear regression analysis on the influencing factors of adropin

变量	非标准化 回归系数	标准误	标准回 归系数	t值	P值
FIns	-0.185	0.034	-0.399	-5.514	<0.001
HbA1c	-0.180	0.066	-0.198	-2.731	0.007

调节骨骼肌的底物氧化,促进碳水化合物氧化,抑制脂肪酸不全氧化,最终提高辅酶A/乙酰辅酶A的比值,提示线粒体的功能得到改善^[9]。近期,多项临床研究陆续报道,在以胰岛素抵抗为病理生理基础的疾病中检测到血清 adropin 浓度降低,包括妊娠糖尿病、代谢综合征及多囊卵巢综合征等^[10-12]。本次研究旨在观察血清 adropin 浓度与T2DM的关联,结果提示:T2DM患者 adropin 浓度明显低于健康对照组,差异有统计学意义。与本研究一致的是,Wu等^[13]曾观察到,在疑诊冠状动脉粥样硬化型心脏病的人群中,同时合并T2DM者的 adropin 浓度显著低于非T2DM者。相关性分析中, adropin 浓度与BMI、TG、FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c、hsC-RP呈负相关,与HDL-C呈正相关;多元线性逐步回归分析进一步显示除外可能的混杂因素,FIns、HbA1c仍是 adropin 浓度的独立影响因素,进一步结合前人的研究^[2,3,8-10,13],可初步推断 adropin 参与了糖脂代谢,在一定程度上与T2DM的发生发展密切相关。

动脉粥样硬化是T2DM的主要并发症之一,也是糖尿病患者致死、致残的重要原因。粥样硬化是一种复杂的慢性炎症性疾病,其发生发展的始动因素和关键环节即是内皮功能的障碍。因此早期发现和干预内皮功能异常对于T2DM和动脉粥样硬化的临床管理有重要意义。国外学者 Lovren 等^[4]报道, adropin 在人脐静脉和冠状动脉内皮细胞均有表达;体外实验中,其引发血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)/磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B或VEGFR2/ERK1/2通路的顺序激活,增强内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的活性,促进一氧化氮的合成释放,起到血管内皮的保护作用。此外,人体研究^[14-15]亦初步证实血清 adropin 浓度与血流介导的血管扩张功能(flow-mediated dilation, FMD)的评估结果相关,其有望应用于临床血管内皮功能的检测。已有研究报道^[16], adropin 降低可作为独立危险因素参与冠状动脉粥样硬化型心脏病的发生。本研究发现 adropin 与 hsC-RP 呈负相关,与张诚佳等^[16]研究一致,且既往曾有研究报道, adropin 可减少内皮细胞由肿瘤坏死因子 α 诱导的凋亡,推测其可能通过抗炎这一环节对动脉粥样硬化的发生和发展起到有利作用^[4]。至今尚缺乏研究探讨 adropin 与T2DM患者并发CAS的关系,本研究观察到T2DM+CAS组与单纯T2DM组 adropin 水平相当,差异并无统计学意义,可能由于样本量有限;血清 adropin 浓度与血脂、胰岛素抵抗相关^[3,10-11],两组间近期糖脂代谢状况相当,可能导致近期 adropin 浓度亦相差不大。今后,扩大样本量对不同 adropin 水平的T2DM患者进行纵向追踪,观察其CAS的发生与发展状况,可进一步明确 adropin 与T2DM患者并发CAS的相关性。

综上所述,本研究初步证实了血清 adropin 浓度在T2DM患者中显著降低,其可能通过调节胰岛素敏感性、脂质代谢和炎症反应等作用参与T2DM的病理过程。目前,已有动物实验证实,转基因表达或腹腔注射重组 adropin 治疗体内 adropin 表达下调的肥胖小鼠,可延缓饮食诱导肥胖的进程、降低空腹胰岛素水平、改善胰岛素抵抗、减少肝脏脂肪尤其是甘油三酯的沉积^[2]。未来,对 adropin 的研究将继续着重探讨其作为疾病的血清学筛查标志物及干预靶点的潜力,为T2DM的诊断和治疗提供新的切入点。

[参考文献]

[1] Taylor KS, Heneghan CJ, Farmer AJ, et al. All-cause and

cardiovascular mortality in middle-aged people with type 2 diabetes compared with people without diabetes in a large UK primary care database[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(8):2366-2371

[2] Kumar KG, Trevaskis JL, Lam DD, et al. Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism[J]. *Cell Metab*, 2008, 8(6):468-481

[3] Ganesh KK, Zhang J, Gao S, et al. Adropin deficiency is associated with increased adiposity and insulin resistance[J]. *Obesity(Silver Spring)*, 2012, 20(7):1394-1402

[4] Lovren F, Pan Y, Quan A, et al. Adropin is a novel regulator of endothelial function[J]. *Circulation*, 2010, 122(11 Suppl):S185-192

[5] Li L, Xie W, Zheng XL, et al. A novel peptide adropin in cardiovascular diseases[J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 453:107-113

[6] 中国医师协会超声医师分会. 血管超声检查指南[J]. *中华超声影像学杂志*, 2009, 18(10):993-1012

[7] Morino K, Petersen KF, Shulman GI. Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction[J]. *Diabetes*, 2006, 55(Suppl 2):S9-S15

[8] Gao S, Mcmillan RP, Zhu Q, et al. Therapeutic effects of adropin on glucose tolerance and substrate utilization in diet-induced obese mice with insulin resistance[J]. *Mol Metab*, 2015, 4(4):310-324

[9] Gao S, Mcmillan RP, Jacas J, et al. Regulation of substrate oxidation preferences in muscle by the peptide hormone adropin[J]. *Diabetes*, 2014, 63(10):3242-3252

[10] Celik E, Yilmaz E, Celik O, et al. Maternal and fetal adropin levels in gestational diabetes mellitus[J]. *J Perinat Med*, 2013, 41(4):375-380

[11] Yosae S, Khodadost M, Esteghamati A, et al. Metabolic syndrome patients have lower levels of adropin when compared with healthy overweight/obese and lean subjects[J]. *Am J Mens Health*, 2017, 11(2):426-434

[12] Kume T, Calan M, Yilmaz O, et al. A possible connection between tumor necrosis factor alpha and adropin levels in polycystic ovary syndrome[J]. *J Endocrinol Invest*, 2016, 39(7):747-754

[13] Wu L, Fang J, Chen L, et al. Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2014, 52(5):751-758

[14] Topuz M, Celik A, Aslantas T, et al. Plasma adropin levels predict endothelial dysfunction like flow-mediated dilatation in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *J Investig Med*, 2013, 61:1161-1164

[15] Oruc CU, Akpınar YE, Dervisoglu E, et al. Low concentrations of adropin are associated with endothelial dysfunction as assessed by flow-mediated dilatation in patients with metabolic syndrome[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2017, 55(1):139-144

[16] 张诚佳, 赵良平, 徐卫亭, 等. 血清adropin蛋白水平与冠心病的相关性[J]. *中华医学杂志*, 2014, 94(16):1255-1257

[收稿日期] 2017-08-23

