

2 型糖尿病患者血浆 Apelin-12 水平与血糖的关系

刘凤¹, 易华², 彭定琼¹, 段俊婷¹, 刘丽¹

(1. 民航总医院内分泌科, 北京市 100123; 2. 中国南方航空股份有限公司北京分公司后勤保障部, 北京市 101318)

[关键词] Apelin-12; 2 型糖尿病; 血糖

[摘要] **目的** 探讨 2 型糖尿病患者血浆脂肪细胞因子 Apelin-12 水平变化及其与血糖的关系。**方法** 选取 2012 年 1 月至 2015 年 6 月在民航总医院内分泌科住院的 41 例 2 型糖尿病患者作为研究对象, 并招募 44 例健康对照者作为对照组。根据有无合并冠心病、脑血管病及高血压病将 2 型糖尿病患者再分为 2 型糖尿病合并心脑血管疾病组 (21 例) 和单纯糖尿病组 (20 例)。酶联免疫吸附法测定 Apelin-12 的水平, 测定其糖化血红蛋白、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白以及空腹和餐后 2 h 血糖、C 肽的水平, 并对以上指标进行相关性分析。**结果** 与对照组相比, 2 型糖尿病患者血浆 Apelin-12 水平显著降低 ($t=2.70, P=0.01$); 2 型糖尿病合并心脑血管疾病组血浆 Apelin-12 的水平与单纯糖尿病组差异无统计学意义 ($t=-0.44, P=0.67$)。多元逐步回归分析显示, 在 2 型糖尿病患者中, 空腹血糖与 Apelin-12 相关 ($B=-0.12, \beta=-0.42, t=-2.03, P=0.04$)。**结论** 2 型糖尿病患者血浆 Apelin-12 水平显著降低且与空腹血糖呈负相关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The relationship between plasma apelin-12 and blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients

LIU Feng¹, YI Hua², PENG Dingqiong¹, DUAN Junting¹, LIU Li¹

(1. Department of Endocrinology, Civil Aviation General Hospital, Beijing 100123, China; 2. Department of Logistics Support, Beijing Branch of China Southern Airlines Limited Company, Beijing 101318, China)

[KEY WORDS] apelin-12; type 2 diabetes mellitus; blood glucose

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the plasma apelin-12 level in the subjects with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its relationship with blood glucose. **Methods** 41 T2DM patients who were hospitalized in the department of endocrinology of civil aviation general hospital were selected from January 2012 to June 2015, and 44 healthy subjects were enrolled as control group. The patients with T2DM were divided into two groups including one group (21 persons) complicated with hypertension, cardiovascular and cerebrovascular disease and another group (20 persons) without complications for subgroup analysis. The level of apelin-12 was measured by enzyme linked immunosorbent assay. Glycosylated hemoglobin (HbA1c), cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, fasting blood glucose, 2-hour postprandial glucose (2hPG) and C peptide were determined in T2DM group and control group. The correlation between apelin-12 and clinical indicators was analyzed. **Results** (1) The content of apelin-12 was significantly lower in the T2DM group than in control group ($t=2.70, P=0.01$). (2) Subgroup analysis showed that there was no significant difference in plasma apelin-12 level between T2DM with cardiovascular and cerebrovascular diseases and T2DM without complications ($t=-0.44, P=0.67$). (3) With stepwise multiple regression analysis, taking apelin-12 as dependent variable, and age, body mass index, blood pressure, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, high density lipoprotein, HbA1c, fasting blood glucose, 2-hour postprandial blood glucose, fasting C-peptide and 2-hour postprandial C-peptide were independent variables, fasting blood glucose was associated with apelin-12 in T2DM patients ($B=-0.12, \beta=-0.42, t=-2.03, P=0.04$). **Conclusion** Plasma apelin-12 levels were significantly lower in patients with T2DM and were negatively correlated with fasting blood glucose.

[收稿日期] 2018-10-28

[修回日期] 2018-12-23

[作者简介] 刘凤, 硕士, 主治医师, 研究方向为糖尿病及其并发症的发病机制研究, E-mail 为 liufeng0505@126.com。通信作者彭定琼, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为内分泌代谢性疾病发病机制的研究, E-mail 为 dingpq@yeah.net。

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种以胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗为特征的异质性疾病^[1],容易出现多种并发症及合并症,严重威胁着人类的健康。研究认为T2DM患者空腹血糖水平与新发缺血性脑卒中关系密切,是脑卒中存在的独立危险因素^[2]。C肽作为与胰岛素的等分子肽,除了能反映胰岛 β 细胞功能^[3]外,高水平的C肽还能预测T2DM患者发生冠心病的风险^[4],但是目前仍没有明确的标志物能早期准确预测T2DM的发生及其发生心脑血管疾病的风险。近年的研究发现脂肪细胞因子如Apelin和瘦素等在T2DM的发生和发展中具有重要作用^[5-6]。Apelin是血管紧张素样蛋白质J(angiotensin receptor-like protein J receptor, APJ)的特异性配体,是一种主要由脂肪组织分泌产生的新型脂肪细胞因子,主要在内皮细胞中表达^[7],通过磷酸化内皮型一氧化氮合酶来发挥作用^[8]。Apelin能改善胰岛素抵抗^[5],降低血压^[9],减少心肌细胞膜的损伤^[10],预测原发性高血压患者合并冠心病的风险^[11]。Apelin-12是Apelin的一个亚型,参与血管再生、氧化应激、糖脂代谢等过程,可增强靶细胞对胰岛素的敏感性,对糖尿病患者的心血管起到保护作用^[12],但Apelin-12在T2DM及心血管疾病发生中的作用目前尚不清楚。本研究旨在通过比较T2DM与健康对照者之间,以及T2DM合并心脑血管疾病者与单纯糖尿病者之间血浆Apelin-12的变化,以了解Apelin-12水平与T2DM及心脑血管疾病发生的关系。

1 资料和方法

1.1 研究对象

2012年1月至2015年6月在民航总医院内分泌科住院的41例[其中男性26例,女性15例,年龄(51.41±8.28)岁]T2DM患者为研究对象,其诊断符合2010年中国2型糖尿病防治指南^[13],排除标准包括糖尿病酮症酸中毒、非酮症高渗状态、急性感染、严重肝肾功能损害及恶性肿瘤。41例T2DM患者中,11例合并高血压病,3例合并冠心病,4例同时合并高血压病及冠心病,3例合并缺血性脑血管病,因此在T2DM患者中根据是否合并心脑血管疾病,分为合并心脑血管疾病组(21例)和单纯糖尿病组(20例)。其中高血压病的诊断标准符合2010年中国高血压防治指南^[13];冠心病的诊断标准符合1997年WHO冠心病诊断标准^[14];缺血性脑血管病的诊断标准符合第四届脑血管病学术会议修订的

脑梗死或短暂性脑缺血诊断标准^[15]。此外,招募了400例健康志愿者,其年龄在40~60岁之间,血糖、血脂、血压及血尿酸等指标均正常;并经75g葡萄糖耐量试验,除外糖尿病、空腹血糖异常及糖耐量受损者后,仅有44例[男性31例,女性13例,年龄(46.36±6.55)岁]糖代谢无异常者入选对照组。本研究经过研究对象知情同意,并通过民航总医院伦理委员会审议通过。

1.2 样本的收集

将静脉血3mL注入含K₂EDTA的试管中,立即加入抑肽酶,4℃以1600r/min离心15min后,留取上清液1mL,放入-80℃冰箱内保存备用。

1.3 Apelin-12的检测

将留取的血浆标本从-80℃冰箱取出后,使用酶联免疫吸附法按试剂盒说明书步骤进行Apelin-12的检测(试剂盒由Phoneix pharmaceuticals, inc.提供)。Apelin-12检测的批内和批间变异系数分别<5%和<14%。从室温平衡20min后的铝箔袋中取出所需板条,设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品50 μ L;样本孔中加入待测样本50 μ L;随后每孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体100 μ L,用封板膜封住反应孔,37℃恒温箱温育60min。弃去液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液,静置1min,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板5次。每孔加入底物A、B各50 μ L,37℃避光孵育15min。最后每孔加入终止液50 μ L,15min内在450nm波长处测定各孔OD值。

1.4 血糖、糖化血红蛋白及血脂等指标的检测

空腹血糖、餐后2h血糖、甘油三酯、总胆固醇、肌酐及尿酸均采用酶法检测;低密度脂蛋白和高密度脂蛋白采用清除法检测;以上检测均用日立7600仪器完成;空腹及餐后2h的C肽采用电化学发光法进行检测,由罗氏601仪器完成;糖化血红蛋白采用高效液相色谱法(G8仪器)进行检测。以上检测均在我院检验科内完成。

1.5 统计学方法

使用SPSS21.0统计软件进行统计学分析。所有计量资料均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。正态分布的计量资料两组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。Apelin-12与各变量的关系采用多元逐步回归分析。 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 T2DM组与对照组一般资料和Apelin-12水平比较

T2DM组的年龄、体质指数、血压、总胆固醇、甘

油三酯、糖化血红蛋白、空腹血糖及餐后 2 h 血糖均高于对照组,餐后 2 h C 肽和 Apelin-12 水平低于对照组,而低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、肌酐、尿酸及空腹 C 肽在两组间差异无显著性(表 1)。

表 1. T2DM 组与对照组一般资料和 Apelin-12 水平比较

Table 1. Comparison of general data and apelin-12 between T2DM group and control group

变量	对照组 (n=44)	T2DM 组 (n=41)	t 或 Z 值	P 值
男/女(例)	31/13	26/15	-3.30	0.00
年龄(岁)	46.36±6.55	51.41±8.28	-3.13	0.00
吸烟[例(%)]	5(11.4)	22(53.7)	-4.16	0.00
体质指数(kg/m ²)	23.02±2.45	24.82±3.77	-2.59	0.01
收缩压(mmHg)	122.16±11.19	130.17±16.83	-2.57	0.01
舒张压(mmHg)	70.57±9.54	75.39±10.82	-2.18	0.03
总胆固醇(mmol/L)	4.5±0.69	5.13±1.42	-2.56	0.01
甘油三酯(mmol/L)	1.01±0.4	2.18±1.74	-4.21	0.00
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.55±0.33	1.43±1.55	0.47	0.64
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.64±0.55	2.7±0.88	-0.36	0.72
肌酐(mmol/L)	67.09±9.6	66.35±16.04	0.26	0.80
尿酸(μmol/L)	273.13±63.73	301.03±68.47	-1.93	0.06
糖化血红蛋白(%)	5.56±0.28	8.83±2.02	-10.17	0.00
空腹血糖(mmol/L)	4.73±0.43	9.77±3.88	-8.28	0.00
餐后 2 h 血糖(mmol/L)	5.78±1.18	11.52±3.67	-9.13	0.00
空腹 C 肽(μg/L)	2.44±2.66	2.04±1.15	0.89	0.38
餐后 2 h C 肽(μg/L)	8.41±3.09	4.52±2.74	5.63	0.00
Apelin-12(μg/L)	0.29±0.11	0.45±0.37	2.70	0.01

2.2 合并心脑血管疾病组与单纯糖尿病组一般资料和 Apelin-12 水平比较

将 41 例 T2DM 患者按是否合并心脑血管疾病进行亚组分析,结果表明年龄、体质指数、血压、血脂、肌酐、尿酸、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖化血红蛋白、空腹 C 肽、餐后 2 h C 肽及 Apelin-12 在两组间差异均无显著性(表 2)。

2.3 T2DM 患者血浆 Apelin-12 的多因素相关分析

在 T2DM 患者中,以 Apelin-12 为因变量,年龄、体质指数、血压、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、糖化血红蛋白、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、空腹 C 肽、餐后 2 h C 肽为自变量,进行多元逐步回归分析,进入回归方程的是空腹血糖,结果显示空腹血糖与 Apelin-12 呈负相关(表 3)。

表 2. 合并心脑血管疾病组与单纯糖尿病组一般资料和 Apelin-12 水平比较

Table 2. Comparison of general data and apelin-12 between T2DM with cardiovascular and cerebrovascular disease group and T2DM without complications group

变量	合并心脑血管 疾病组(n=21)	单纯糖尿病组 (n=20)	t 值/ Z 值	P 值
男/女(例)	12/9	15/5	4.12	0.04
年龄(岁)	52.00±7.50	50.80±9.16	-0.46	0.65
吸烟[例(%)]	11(52.4)	11(55.0)	0.22	0.64
体质指数(kg/m ²)	25.91±4.38	23.73±2.75	-1.84	0.08
收缩压(mmHg)	135.24±19.82	124.85±11.15	-2.08	0.05
舒张压(mmHg)	76.33±13.46	74.40±7.34	-0.57	0.57
总胆固醇(mmol/L)	4.76±0.83	5.51±1.79	1.71	0.10
甘油三酯(mmol/L)	2.05±1.37	2.33±2.08	0.51	0.61
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.55±0.33	1.43±1.55	1.05	0.30
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.44±0.61	2.96±1.03	1.96	0.06
肌酐(mmol/L)	66.68±18.38	65.99±13.62	-0.14	0.89
尿酸(μmol/L)	319.04±64.59	283.02±69.05	-1.70	0.10
糖化血红蛋白(%)	8.87±1.87	8.80±2.20	-0.11	0.91
空腹血糖(mmol/L)	10.18±3.71	9.33±4.09	-0.70	0.49
餐后 2 h 血糖(mmol/L)	12.21±3.51	10.80±3.79	-1.18	0.25
空腹 C 肽(μg/L)	2.11±1.21	1.97±1.10	-0.37	0.71
餐后 2 h C 肽(μg/L)	4.35±2.69	4.72±2.88	0.37	0.72
Apelin-12(μg/L)	0.30±0.12	0.28±0.11	-0.44	0.67

表 3. T2DM 患者 Apelin-12 影响因素的多元逐步回归分析

Table 3. Stepwise multiple regression analysis of influencing factors of apelin-12 in patients with type 2 diabetes mellitus

影响因素	B	β	t	P 值
常数项	0.14	-	2.62	0.01
空腹血糖	-0.12	-0.42	-2.03	0.04

注: B 为偏回归系数, β 为标准回归系数。

3 讨论

Apelin 是一种脂肪细胞因子, Apelin-12 是其亚型之一,本研究发现在 T2DM 患者血浆 Apelin-12 水平显著低于健康对照者;而在 T2DM 患者中按是否合并心脑血管疾病进行亚组分析发现, Apelin-12 在两组间差异无显著性;而且在 T2DM 患者中血浆 Apelin-12 水平与空腹血糖呈负相关。

Apelin 是 G 蛋白偶联受体 APJ 的天然配体,参与高血压及 T2DM 的发生发展^[16]。本研究发现在 T2DM 患者血浆 Apelin-12 水平较对照组显著下降,

这与 Erdem 等^[17]及 Koval 等^[18]的研究结果一致,提示 Apelin-12 的下降与 T2DM 的发生相关。多元逐步回归分析结果显示,T2DM 患者血浆 Apelin-12 水平与空腹血糖负相关,提示 Apelin-12 是保护性因素,Apelin-12 水平越低,空腹血糖越高,越容易出现糖尿病,更进一步支持 Apelin-12 的下降与 T2DM 的发生相关的推论。那么如何升高血浆 Apelin-12 水平,降低 T2DM 的发生率可能是将来进一步研究的方向。

由于在高血压病的小鼠肾脏中 Apelin 表达减少,而给予 Apelin 后小鼠血压显著下降^[9],表明 Apelin 有降低血压的作用。不仅如此,在心力衰竭患者的冠状动脉内推注 Apelin-36 可增加冠状动脉血流量和增加最大左心室压力,降低左心室舒张期末压峰值。而静脉注射 Apelin-13 可增加心脏指数,降低平均动脉压和外周血管阻力。这意味着 Apelin 能扩张外周和冠状动脉血管,增加心脏的输出^[19]。由于 Apelin 具有降压、扩张冠状动脉的作用,本研究中 Apelin-12 在 T2DM 患者血浆中的减少可能致使 T2DM 患者更容易出现高血压和冠心病,提示 Apelin 降低可能也是 T2DM 患者出现动脉粥样硬化的预警因子^[20]。但本研究亚组分析显示,Apelin-12 水平在两组间差异无显著性,提示 T2DM 患者发生心脑血管疾病的风险与 Apelin-12 水平的高低无关。本研究的局限性在于入组的 T2DM 患者病例数较少,致使在亚组分析时 Apelin-12 水平在两组间差异无显著性。

综上所述,在 T2DM 患者血浆 Apelin-12 水平下降,且 Apelin-12 与空腹血糖呈负相关,推测 Apelin-12 的下降与 T2DM 的发生相关。但是 Apelin-12 与 T2DM 的关系及其作用机制还有待于进一步深入的研究。

[参考文献]

- [1] Wildova E, Kraml P, Potockova J, et al. The assessment of the serum C-peptide and plasma glucose levels by orally administered whey proteins in type 2 diabetes mellitus[J]. *Physiol Res*, 2017, 66(6): 993-999.
- [2] 张颖,刘亚平,马金霞,等. T2DM 患者空腹血糖水平与新发缺血性脑卒中的关系研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2015, 14(01): 7-10.
- [3] Saisho Y. Postprandial C-peptide to glucose ratio as a marker of beta cell function; implication for the management of type 2 diabetes[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): 744-753.
- [4] Wang L, Lin P, Ma A, et al. C-peptide is independently associated

with an increased risk of coronary artery disease in T2DM subjects: a cross-sectional study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): 1-11.

- [5] Nagib AM, El-Diasty A, El Husseny MA, et al. Apelin and new-onset diabetes after transplant in living kidney allograft recipients[J]. *Exp Clin Transplant*, 2015, 13(4): 319-323.
- [6] Lu CW, Lee CJ, Hou JS, et al. Positive correlation of serum leptin levels and peripheral arterial stiffness in patients with type 2 diabetes[J]. *Ci Ji Yi Xue Za Zhi*, 2018, 30(1): 10-14.
- [7] Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine[J]. *Pharmacol Ther*, 2005, 107(2): 198-211.
- [8] Sabry MM, Mahmoud MM, Shoukry HS, et al. Interactive effects of apelin, renin-angiotensin system and nitric oxide in treatment of obesity-induced type 2 diabetes mellitus in male albino rats[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2018: 1-11.
- [9] Najafipour H, Soltani HA, Nekooian AA, et al. Apelin receptor expression in ischemic and non-ischemic kidneys and cardiovascular responses to apelin in chronic two-kidney-one-clip hypertension in rats[J]. *Regul Pept*, 2012, 178(1-3): 43-50.
- [10] Pisarenko OI, Serebryakova LI, Pelogeykina YA, et al. In vivo reduction of reperfusion injury to the heart with apelin-12 peptide in rats[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2011, 152(1): 79-82.
- [11] 杨树涵,韩明磊,刘艳宾,等. 原发性高血压合并冠心病患者血清 Apelin 水平及其意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(12): 1259-1262.
- [12] Pisarenko OI, Lankin VZ, Konovalova GG, et al. Apelin-12 and its structural analog enhance antioxidant defense in experimental myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 391(1-2): 241-250.
- [13] 鲁晓涵,郭健,王妍苏,等. 内脂素与高血压的相关性[J]. *中华高血压杂志*, 2016, 24(6): 558-563.
- [14] 祝小霞,杨二丽,丁昆东. Essen 卒中风险评分量表与冠心病的相关性研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2017, 19(12): 1275-1278.
- [15] 任博,李琳,唐延军. 缺血性脑血管病自噬与颈动脉斑块的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(03): 261-264, 269.
- [16] 林朵朵,张志,刘紫东. Apelin-13 对 2 型糖尿病大鼠心肌纤维化防治的作用机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(10): 1009-1014.
- [17] Erdem G, Dogru T, Tasci I, et al. Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2008, 116(5): 289-292.
- [18] Koval S, Iushko K, Starchenko T. Relations of apelin with cardiac remodeling in patients with hypertension and type 2 diabetes[J]. *Folia Med (Plovdiv)*, 2018, 60(1): 117-123.
- [19] Japp AG, Cruden NL, Barnes G, et al. Acute cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure[J]. *Circulation*, 2010, 121(16): 1818-1827.
- [20] 陈珺,潘洪. 血清 Apelin 及对氧磷脂酶 1 与 2 型糖尿病患者动脉粥样硬化程度的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(06): 536-538.

(此文编辑 许雪梅)