

• 论 著 •

新诊断 2 型糖尿病患者血清 miR-126、VEGF 水平与胰岛素抵抗的相关性分析*

张跃栋¹, 高全成¹, 赵 睿¹, 浦月芳¹, 李韶华¹, 卫俊峰²

(冀中能源峰峰集团有限公司总医院:1. 检验科;2. 内分泌科, 河北邯郸 056200)

摘要:目的 分析新诊断 2 型糖尿病(T2DM)患者血清微小核糖核酸-126(miR-126)、血管内皮生长因子(VEGF)水平与胰岛素抵抗的相关性。方法 选取该院 2018 年 2 月至 2019 年 4 月收治的 T2DM 患者 86 例设为观察组,另选取同期体检健康者 86 例设为对照组。检测两组空腹血清 miR-126、VEGF、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血胰岛素(FIns)水平,计算体质量指数(BMI)、胰岛 β 细胞功能指数(HOMA- β)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、胰岛素敏感指数(ISI)。分析新诊断 T2DM 患者 miR-126、VEGF 水平与胰岛素抵抗的相关性。结果 两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$);两组 BMI、血清 TC、TG、FPG、HbA1c、FIns 水平及 HOMA-IR、HOMA- β 、ISI 比较,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组血清 VEGF 水平 $[(523.48\pm145.36)\text{ng/L}]$ 明显高于对照组 $[(295.45\pm94.46)\text{ng/L}]$,血清 miR-126 水平明显 $[(0.08\pm0.01)\text{ng}/\mu\text{L}]$ 低于对照组 $[(0.18\pm0.02)\text{ng}/\mu\text{L}]$,差异有统计学意义($P<0.05$);Pearson 相关分析发现:VEGF 与 BMI、TC、TG、FPG、HbA1c、FIns、HOMA-IR 呈正相关,与 HOMA- β 、ISI 呈负相关($P<0.05$);miR-126 与 BMI、TC、TG、FPG、HbA1c、FIns、HOMA-IR 呈负相关,与 HOMA- β 、ISI 呈正相关($P<0.05$);经多因素逐步回归分析得出:影响血清 VEGF 表达的因素为 ISI,影响血清 miR-126 水平表达的因素为 ISI、HbA1c($P<0.05$)。结论 新诊断 T2DM 患者 VEGF 水平升高、miR-126 水平降低,二者可能参与了胰岛素抵抗及 T2DM 的发生、发展。

关键词:2 型糖尿病; 血清微小核糖核酸-126; 血管内皮生长因子; 胰岛素抵抗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.08.010 **中图法分类号:**R587.1

文章编号:1673-4130(2020)08-0935-04 **文献标识码:**A

Correlation between serum miR-126, VEGF levels and insulin resistance in patients with newly diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus*

ZHANG Yuedong¹, GAO Quancheng¹, ZHAO Rui¹, PU Yuefang¹, LI Shaohua¹, WEI Junfeng²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Endocrine, the General Hospital of Jizhong Energy Fengfeng Group Company Limited, Handan, Hebei 056200, China)

Abstract: Objective To investigate correlation between serum microRNA-126(miR-126), vascular endothelial growth factor(VEGF) levels and insulin resistance in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus(T2DM). **Methods** 86 T2DM patients(observation group) and 86 healthy examinees(control group) in our hospital from February 2018 to April 2019 were selected. Then various indexes were detected, including fasting serum miR-126, VEGF, total cholesterol(TC), triglyceride(TG), fasting blood glucose(FPG), glycosylated hemoglobin(HbA1c), fasting insulin(FIns) levels, body mass index(BMI), Islet β cell function index(HOMA- β), insulin resistance index(HOMA-IR) and insulin sensitivity index(ISI). **Results** The gender and age of the two groups had no difference($P>0.05$); While statistic difference was found in the levels of BMI, serum TC, TG, FPG, HbA1c, FIns and HOMA-IR, HOMA- β and ISI($P<0.05$); The serum VEGF level in the observation group $[(523.48\pm145.36)\text{ng/L}]$ was significantly higher than that in the control group $[(295.45\pm94.46)\text{ng/L}]$, and the serum miR-126 level in the observation group $[(0.08\pm0.01)\text{ng}/\mu\text{L}]$ was significantly lower than the control group $[(0.18\pm0.02)\text{ng}/\mu\text{L}]$, the difference was statistically significant($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that VEGF was positively correlated with BMI, TC, TG,

* 基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划项目(20181732)。

作者简介:张跃栋,男,主管技师,主要从事临床检验研究。

本文引用格式:张跃栋,高全成,赵睿,等.新诊断 2 型糖尿病患者血清 miR-126、VEGF 水平与胰岛素抵抗的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(8):935-938.

FPG, HbA1c, FIns and HOMA-IR, and negatively correlated with HOMA- β and ISI ($P < 0.05$). The miR-126 was negatively correlated with BMI, TC, TG, FPG, HbA1c, FIns and HOMA-IR, and positively correlated with HOMA- β and ISI ($P < 0.05$). Multivariate stepwise regression analysis showed that the factors affecting the expression of serum VEGF were ISI. The factors affecting the expression of serum miR-126 were ISI and HbA1c ($P < 0.05$). **Conclusion** The VEGF levels are high in patients with T2DM and the miR-126 is low, which may be involved in the development and progression of insulin resistance and T2DM.

Key words: type 2 diabetes mellitus; microRNA-126; vascular endothelial growth factor; insulin resistance

糖尿病是内分泌科最常见的疾病,主要表现为以高血糖为特征,长期处于高血糖状态可导致各种脏器、组织受损,尤其是以肾脏、血管、心脏、眼等的慢性损伤、功能障碍为著^[1-2]。随着经济水平的提高、人们生活方式的改变,2 型糖尿病(T2DM)的发病率也逐年增加,多见于老年患者,如不采取有效的治疗,病情严重者容易发展为糖尿病肾病,对患者的生命健康造成威胁^[3]。T2DM 的发病机制尚未明确阐述,普遍认为可能与胰岛素作用缺陷有关。有研究发现,血清微小核糖核酸(miRNA)与胰岛素的生成、分泌有密切关系,且 miRNA 存在于人体外周血中,在血清中持续表达,且水平较稳定,有可重复性^[4],正是这一特性使 miRNA 可成为多种疾病的生物学标记物。血管内皮生长因子(VEGF)是一种高度特异的促血管内皮有丝分裂因子,具有增加血管内皮细胞的通透性,促进内皮细胞迁移、增殖的作用^[5]。因此,本研究分析新诊断 T2DM 患者血清微小核糖核酸-126(miR-126)、VEGF 水平与胰岛素抵抗的相关性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2018 年 2 月至 2019 年 4 月收治的新诊断 T2DM 患者 86 例作为观察组。其中男 40 例、女 46 例;年龄 40~70 岁,平均(55.82±10.63)岁;糖尿病病程 2.0~11.0 个月,平均病程(5.45±3.35)个月。纳入标准:(1)均符合中华医学会糖尿病学分会制定的《中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)》^[6]中 2 型糖尿病诊断标准;(2)患者及家属同意,并签署知情同意书。排除标准:(1)存在严重沟通者;(2)伴有恶性肿瘤者;(3)有严重心、脑、肝、肾等疾病者;(4)有其他内分泌疾病史。另选取同期体检健康者 86 例设为对照组,其中男 41 例,女 45 例;年龄 40~75 岁,平均(54.76±11.63)岁。两组性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。且本研究经医院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有受试者禁食 10 h 后,次日清晨取空腹肘静脉血 5 mL,采用 3 000 r/min 分离血清,放置 2 支试管内备用,可放置-80℃低温箱中保存备用。其中 1 支试管内血样本用于检测血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、空腹血糖(FPG)、糖化血

红蛋白(HbA1c)、空腹血胰岛素(FIns)水平;另 1 支试管血样本检测血清 miR-126、VEGF 水平。两组均测量身高、体质量,计算体质量指数(BMI)。

1.2.2 检测方法 (1)两组血清 TC、TG 水平采用酶联免疫吸附试验法(试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司)检测,严格按照说明书进行操作;(2)两组血清 FPG 水平采用己糖激酶法(试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司)检测,严格按照说明书进行操作;(3)两组血清 HbA1c 水平采用高效液相色谱法(伯乐,BIORADD-10,法国)检测,严格按照说明书进行操作;(4)两组血清 FIns 水平采用电化学发光法(罗氏,ROCHE601,德国),严格按照说明书进行操作;(5)血清 VEGF 水平采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验法(试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司)检测,严格按照说明书进行操作;(6)miRNA-126 检测方法:①免疫组化所需试剂及仪器分别为 qPCR 试剂盒(试剂盒购于上海宝曼生物科技有限公司),7300 荧光定量 PCR 仪,Trizol 试剂,反转录试剂(购于美国 ABI 公司),DAB 显色剂,其他如氯仿、异丙醇、无水酒精、双氧水、蛋白酶、氯化钠、磷酸二氢钠、苏木素等。②血清 miR-126 检测方法为两组组织标本中加入 Trizol 试剂 1 mL,摇匀后静放 4 min,加入氯仿震荡后置于冰上 4 min,高速离心 10 min,提取上层液,后依次加入异丙醇、无水酒精重复上述操作,当吸光度大于 1.8 时可用于检测。应用 qPCR 法检测 miRNA-126 水平,反转录用 15 μ L,反应条件为 15℃30 min,40℃30 min,90℃10 min。均在 300 荧光定量 PCR 仪下进行,计算待测标本,以 U6 为内参,计算 Δ 循环阈值(C_t), $\Delta C_t = C_{t\text{miRNA-126}} - C_{tU6}$ 。

1.2.3 计算方法 (1)BMI=体质量/身高²;(2)胰岛 β 细胞功能指数(HOMA- β)=FIns $\times$ 20/FPG-3.5;(3)胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=FPG $\times$ FIns/22.5,HOMA-IR $\geq$ 2 为胰岛素抵抗;(4)胰岛素敏感指数(ISI)=1/[log(FIns)+log(FPG)]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计,计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,血清 miR-126、VEGF 水平与 T2DM 患者胰岛素抵抗的相关性采用 Pearson 相关分析,各指标相关分析采用多元线性回归分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组相关生化指标及计算结果比较 两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$);两组 BMI、血清 TC、TG、FPG、HbA1c、FIns 及 HOMA-IR、HOMA- β 、ISI 比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料及相关生化指标比较				
项目	对照组 ($n=86$)	观察组 ($n=86$)	χ^2/t	P
性别(n)				
男	41	40	0.023	0.879
女	45	46		
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	54.76 $\pm$ 11.63	55.82 $\pm$ 10.63	0.624	0.534
BMI(kg/m ² , $\bar{x}\pm s$)	23.24 $\pm$ 2.41	25.43 $\pm$ 2.84	5.453	<0.05
TC(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	3.53 $\pm$ 0.56	5.68 $\pm$ 1.95	9.828	<0.05
TG(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	1.38 $\pm$ 0.54	3.19 $\pm$ 2.45	6.691	<0.05
FPG(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	5.12 $\pm$ 0.55	11.13 $\pm$ 3.82	14.441	<0.05
HbA1c(% , $\bar{x}\pm s$)	4.59 $\pm$ 0.52	8.84 $\pm$ 1.53	24.389	<0.05
FIns(mU/L, $\bar{x}\pm s$)	11.42 $\pm$ 4.83	27.63 $\pm$ 12.53	11.194	<0.05
HOMA-IR($\bar{x}\pm s$)	2.53 $\pm$ 1.14	13.42 $\pm$ 8.67	11.549	<0.05
HOMA- β ($\bar{x}\pm s$)	167.62 $\pm$ 31.09	96.51 $\pm$ 22.12	17.282	<0.05
ISI($\bar{x}\pm s$)	0.62 $\pm$ 0.09	0.51 $\pm$ 0.07	8.945	<0.05

2.2 两组血清 VEGF、miR-126 水平比较 观察组

表 3 血清 VEGF、miR-126 水平与其他指标的 Pearson 相关分析										
变量		BMI	TC	TG	FPG	HbA1c	FIns	HOMA-IR	HOMA- β	ISI
VEGF	r	0.238	0.432	0.254	0.433	0.534	0.412	0.432	-0.286	-0.425
	P	0.002	0.017	0.005	0.001	0.003	0.027	0.008	0.013	0.021
miR-126	r	-0.243	-0.334	-0.268	-0.455	-0.523	-0.458	-0.456	0.191	0.443
	P	0.011	0.012	0.003	0.015	0.021	0.012	0.018	0.021	0.002

表 4 影响血清 VEGF、miR-126 水平的多元逐步回归分析					
变量	自变量	β	SE	t	P
VEGF	ISI	0.634	0.147	4.608	0.032
miR-126	ISI	1.156	0.408	4.501	0.034
	HbA1c	0.982	0.347	2.305	0.024

3 讨 论

miRNA 是一类仅仅有 19~25 个核苷酸的小 RNA 分子,可以与靶基因 miRNA 的 3 非编码区结合,又可以与编码区不完全结合,而降解 RNA 或转录后抑制蛋白的翻译,是一种新的基因表达方式^[7-8]。有研究显示,糖尿病患者不同阶段有不同特征 miRNA 表达方式。且有相关资料显示,miRNA 与胰岛素的生成、分泌有密切关系^[9]。糖尿病患者血清 miRNA 差异表达发现 T2DM 患者血清中 miRNA-126 的表达缺失^[10],因此检测 T2DM 患者血清中 miRNA-126 的表达情况,有一定的临床意义。大血

血清 VEGF 水平明显高于对照组,血清 miR-126 水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组血清 VEGF、miR-126 水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	VEGF(ng/L)	miR-126(ng/ μ L)
对照组	86	295.45 $\pm$ 94.46	0.18 $\pm$ 0.02
观察组	86	523.48 $\pm$ 145.36	0.08 $\pm$ 0.01
t		12.198	41.473
P		<0.05	<0.05

2.3 血清 VEGF、miR-126 水平与其他指标的 Pearson 相关分析 Pearson 相关分析发现:VEGF 与 BMI、TC、TG、FPG、HbA1c、FIns、HOMA-IR 呈正相关,与 HOMA- β 、ISI 呈负相关($P<0.05$);miR-126 与 BMI、TC、TG、FPG、HbA1c、FIns、HOMA-IR 呈负相关,与 HOMA- β 、ISI 呈正相关($P<0.05$),见表 3。

2.4 影响血清 VEGF、miR-126 水平的多元逐步回归分析 经多因素逐步回归分析得出:影响血清 VEGF 表达的因素为 ISI,影响血清 miR-126 水平表达的因素为 ISI、HbA1c($P<0.05$),见表 4。

管并发症是 T2DM 患者常见的并发症之一^[11]。细胞因子对血管并发症的发生、发展有重要影响,对细胞的生长、增殖具有调节作用。糖尿病是一种以高血糖为特征的一类疾病,因长时间处于高糖状态,引起许多组织缺氧、缺血,导致一些促血管生成的细胞因子表达增高,如 VEGF 等,在糖尿病微血管病变的发生、发展中有重要作用^[12]。

本研究显示,新诊断 T2DM 患者血清 VEGF 水平明显高于体检健康者,血清 miR-126 水平明显低于体检健康者,说明在 T2DM 初期就已经开始有血管因子及基因参与。有研究显示,T2DM 患者血清中低表达 miR-126 是 T2DM 患者潜在的非侵入性辅助诊断标志物及独立危险因素^[13]。另有研究报道新诊断 T2DM 患者与 HbA1c 密切相关,HbA1c 可作为新诊断 T2DM 患者肾损伤的有效评估指标之一^[14]。Pearson 相关分析发现:miR-126 水平与 BMI、TC、TG、FPG、HbA1c、FIns、HOMA-IR 呈负相关,与

HOMA-β、ISI 呈正相关($P<0.05$),说明 miR-126 在糖尿病的发病过程中具有一定的作用。有研究显示血清 miR-126 表达偏低是 T2DM 肾脏疾病的危险因素,可作为治疗的靶点^[15]。Pearson 相关分析发现:VEGF 与 BMI、TC、TG、FPG、HbA1c、FIns、HOMA-IR 呈正相关,与 HOMA-β、ISI 呈负相关($P<0.05$),说明糖脂代谢异常、胰岛素抵抗的逐步加重有一定的关系。经多因素多元逐步回归分析得出:影响血清 VEGF 表达的因素为 ISI,影响血清 miR-126 水平表达的因素为 ISI、HbA1c($P<0.05$),进一步说明了血清 VEGF、miR-126 水平与胰岛素抵抗相关指标有一定关系。有研究显示,T2DM 患者的认知功能下降与 VEGF 水平升高有一定的相关性,说明 VEGF 对 T2DM 病情的加重有一定的影响^[16]。

在正常生理条件下 VEGF 的表达量很低,其作用主要是维持人体正常血管生长,保持血管密度的生理稳态,但是其表达的调控受多种因素影响^[17]。在 T2DM 患者动脉粥样硬化的形成过程中,VEGF 表达水平升高,同时也参与血管腔内皮的修复,但是会引起血管的通透性增加,使炎性细胞进入血管内,导致动脉粥样硬化加重,形成恶性循环。金海英等^[18]报道 T2DM 患者血清中 VEGF 水平升高,可能参与 T2DM 的发生、发展。李晓云等^[19]报道上调 miR-126 的表达可有助于减轻糖尿病大鼠缺血组织损伤。何继宏等^[20]报道 miR-126 可能通过介导内皮功能的损伤而参与糖尿病血管并发症的发生、发展。

4 结 论

高血糖、高血脂、胰岛素抵抗是引起糖脂代谢异常的因素,对血清 miR-126、VEGF 水平有较大的影响。新诊断 T2DM 患者 VEGF 水平升高、miR-126 水平降低,二者与 T2DM 患者胰岛素抵抗有一定相关性。但本研究样本数较少,存在一定的局限性,需进一步深入研究。

参考文献

[1] 王德征,王冲,王卓.自我效能对 2 型糖尿病患者自我管理行为影响的研究进展[J].中国慢性病预防与控制,2018,26(7):546-549.

[2] LIU T,WANG Z,CHEN X,et al. Low molecular-weight fucoidan protects against hindlimb ischemic injury in type 2 diabetic mice through enhancing endothelial nitric oxide synthase phosphorylation[J]. J Diabetes, 2018, 10(11): 820-834.

[3] 崇显瑾,余青原,杨历新.2 型糖尿病肾病患者血清中 miR-126 和 sVCAM-1 的表达关系及意义[J].河北医药,2019,41(3):334-337.

[4] 孙雅楠,李斯,房辉,等. MicroRNA-9-3p 在 2 型糖尿病合并不稳定型心绞痛患者血浆中的表达分析[J].中国现代

医学杂志,2017,27(28):86-90.

[5] 姚向飞,蔡东,权皎洁.2 型糖尿病肾病患者外周血 IGF-1、TGF-β 和 VEGF 水平及临床意义[J].解放军医药杂志,2017,29(6):78-81.

[6] 中华医学会糖尿病学分会.中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J].中华糖尿病杂志,2018,10(1):4-67.

[7] AL-KAFAJI G,AL-MAHROOS G,AL-MUHTARESH H A,et al. Circulating endothelium-enriched microRNA-126 as a potential biomarker for coronary artery disease in type 2 diabetes mellitus patients[J]. Biomarkers,2017,22(3/4):268-278.

[8] 王奕,陈雪辉,陈红兵.2 型糖尿病发病进程中血清微小核糖核酸-103 表达的临床意义[J].安徽医药,2017,21(10):1840-1843.

[9] 罗艳,胡桂英,李长勇.糖尿病患者 miRNA-29 水平与胰岛素抵抗的相关性[J].中国老年学杂志,2018,38(5):1036-1039.

[10] 宋白利,付留俊,刘婕,等.新诊断 2 型糖尿病患者血清 miR-126 表达水平与非酒精性脂肪性肝病的相关性研究[J].中国糖尿病杂志,2018,26(10):812-816.

[11] 张蕊,何建秋,葛晓春,等.颈动脉内-中膜厚度和血浆同型半胱氨酸与 2 型糖尿病大血管并发症的关系[J].新疆医科大学学报,2018,41(11):1380-1383.

[12] 吕蒙,张克勤.2 型糖尿病并微血管病变患者血小板参数、凝血指标、D-二聚体变化及其临床意义[J].实用心脑血管肺血管病杂志,2017,25(1):126-128.

[13] 万淑君,王成,王静,等.2 型糖尿病微血管并发症患者血清 miR-16、miR-126 和 miR-221 水平检测及临床意义[J].现代检验医学杂志,2016,31(5):9-13.

[14] 黄国圣,张锦明,赵玲,等.新诊断 2 型糖尿病患者胰岛素基础量与 BMI、HbA1c 的相关性分析[J].医学临床研究,2018,35(3):498-500.

[15] 郭晓莉,陈艳,马卫国,等.血液循环中 miR-126 作为标志物对 2 型糖尿病肾脏疾病患者诊断的临床意义[J].临床肾脏病杂志,2017,17(6):361-365.

[16] 周晔,余晨欢,李英棉,等.糖尿病患者认知功能障碍与血清 VEGF 水平的相关性研究[J].河北医药,2017,39(24):3763-3765.

[17] 陈萍,贾彦军,李杨,等.不同糖耐量人群血浆血管内皮生长因子-B 水平与胰岛素抵抗的相关性研究[J].中国糖尿病杂志,2017,25(1):25-29.

[18] 金海英,王萍.糖尿病患者血清 VEGF、KIM-1、IL-6 及 NADPH 浓度的变化及其意义[J].现代医学,2019,47(1):63-66.

[19] 李晓云,王立新,牛建一,等.miR-126 在糖尿病大鼠脑缺血损伤组织中的表达及在血管再生中的意义[J].中华神经医学杂志,2016,15(9):908-912.

[20] 何继宏,杨海,张芳娣,等.miR-16、126 表达预测糖尿病微血管并发症的临床价值[J].现代医院,2018,18(4):610-611.