

GLP-1 与 2 型糖尿病及糖尿病肾病的相关性研究

唐丽丽, 史 丽, 李 红, 徐玉善

(昆明医学院第一附属医院内分泌与代谢病科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨 2 型糖尿病患者 (T2DM) 和健康对照者 (NC), 糖尿病肾病者 (DN) 和糖尿病非肾病者 (NDN) 血浆胰高血糖素样肽 -1 (GLP-1) 水平的差异. **方法** 选择 144 例云南汉族人群为研究对象, 包括 2 型糖尿病患者 86 例 [其中 55 例糖尿病无肾病 (NDN), 30 例糖尿病肾病 (DN)], 为 T2DM 组, 健康对照者 59 例, 为 NC 组. 采用 EIA 法测定空腹 GLP-1 浓度, 比较不同组别之间血浆 GLP-1 水平的差异. **结果** T2DM 患者空腹血浆 GLP-1 浓度低于 NC 者, $[(3.83 \pm 6.84) \text{ pmol/L vs } (2.78 \pm 2.95) \text{ pmol/L}, P < 0.05]$; NDN 患者与 DN 患者空腹血浆 GLP-1 浓度差异无统计学意义 $[(2.68 \pm 2.57) \text{ pmol/L vs } (2.96 \pm 3.58) \text{ pmol/L}, P = 0.665]$. 血浆 GLP-1 水平与 HDL-C 呈正相关, 与年龄呈负相关. **结论** 血浆 GLP-1 水平的降低可能是 2 型糖尿病的危险因素, 而 GLP-1 水平增高有可能在 2 型糖尿病患者大血管并发症的发生中发挥作用. 年龄的增长引起 GLP-1 浓度下降可能为 T2DM 的发病机制之一.

[关键词] 2 型糖尿病; 糖尿病肾病; 胰高血糖素样肽 -1

[中图分类号] R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 01 - 0090 - 04

Association of GLP-1 with Type 2 Diabetes Mellitus and Diabetic Nephropathy

TANG Li-li, SHI Li, LI Hong, XU Yu-shan

(Dept. of Endocrine and Metabolic Disease, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the plasma concentration of Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1) in type 2 diabetes patients (T2DM), normal controls (NC), diabetic nephropathy (DN) and diabetic non-nephropathy (NDN). **Methods** We recruited 86 T2DM patients in Yunnan Han population (including 55 NDN cases and 30 DN cases) and 59 normal controls (NC group). Fasting plasma level of GLP-1 was measured by Enzyme linked immunosorbent assay (EIASA) method. **Results** T2DM patients had significant lower GLP-1 level than controls $[(3.83 \pm 6.84) \text{ pmol/l vs } (2.78 \pm 2.95) \text{ pmol/l}, P = 0.025]$. The difference of the fasting plasma GLP-1 between NDN and DN patients was not statistically significant $[(2.68 \pm 2.57) \text{ pmol/l vs } (2.96 \pm 3.58) \text{ pmol/L}, P = 0.665]$. GLP-1 level was positively correlated with HDL-C and was negatively correlated with age. **Conclusions** Fasting plasam GLP-1 level might be a risk factor for T2DM. GLP-1 level may play a role in the pathogenesis of macrovascular complications in T2DM. Aging-related reduced GLP-1 may be one of the pathway involving in T2DM.

[Key words] Type 2 diabetes mellitus; Diabetic nephropathy; Glucagon-like peptide-1

2 型糖尿病已成为威胁人们生命和健康的主要社会问题. 近年来的研究表明, 2 型糖尿病的发生与肠促胰岛素的分泌异常有关. 胰高血糖素样肽

-1 (Glucagon-Like Peptide 1, GLP-1) 是一种肠促胰岛素 (incretin), 是由营养物质, 特别是由葡萄糖刺激而引起释放的一类胃肠激素. GLP-1 可促

进胰岛素合成及分泌;可改善糖尿病患者丧失的早期胰岛素应答能力;抑制胰岛 β 细胞的凋亡和促进 β 细胞增殖、诱导胰岛 β 细胞再生来保护胰岛 β 细胞;抑制胰高血糖素分泌;GLP-1 还有抑制胃肠运动和胃液分泌延迟、胃排空、促进葡萄糖利用等作用. 基于 GLP-1 的上述作用, 它已成为治疗糖尿病的新武器. 相关研究^[1,2]均提示 GLP-1 餐后分泌不足与 2 型糖尿病的发生有密切关系. 针对 2 型糖尿病患者和正常人相比是否存在空腹 GLP-1 内源性分泌能力降低, 肾功能不全是否会干预 GLP-1 的代谢等问题, 笔者通过测定 T2DM 患者(包括糖尿病肾病和糖尿病非肾病)和正常人体内血浆 GLP-1 浓度, 观察 GLP-1 水平的变化及其与血糖、血脂、胰岛 β 细胞功能及胰岛素敏感性之间的相关性, 初步探讨其可能的机制.

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 2 型糖尿病组(T2DM组) 按 1999 年 WHO 标准诊断为 2 型糖尿病的无血缘关系的患者 85 例(男 44 例, 女 41 例), 平均年龄 (59.7 ± 12.7) 岁, 排除其他可能导致蛋白尿的因素和肾脏疾病后, 按尿白蛋白肌酐比值分为正常蛋白尿组即 NDN 组(尿白蛋白肌酐比值: 男性 < 22 mg/g, 女性 < 31 mg/g)、糖尿病肾病组即 DN 组(尿白蛋白肌酐比值: 男性 > 22 mg/g, 女性 > 31 mg/g). NDN 组 55 例(男 29 例, 女 26 例), 平均年龄 (58.4 ± 13.5) 岁; DN 组 31 例(男 15 例, 女 15 例), 平均年龄 (61.9 ± 10.9) 岁.

1.1.2 正常对照组(NC组) 无糖尿病、高血压家族史且血糖、血脂、血压均正常者作为健康对照组, 共 59 例(男 37 例, 女 22 例), 平均年龄 (48.25 ± 9.23) 岁.

1.2 主要试剂

GLP-1 检测试剂盒 (EIA): 美国 Minipore 公司生产; 血浆胰岛素、C 肽测定药盒 (放射免疫法): 北京北方生物技术研究所提供.

1.3 实验方法

1.3.1 标本采集 研究对象于测量前日晚上 10 时起禁食 (不禁水), 测量当日清晨 8 时坐位抽取肘静脉血液样本, 尽快分离血清和血浆. 血清标本直接送检测定空腹葡萄糖 (FPG)、空腹胰岛素 (FINS)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-c) 和高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-c) 水平. EDTA 抗凝管抽取 3 mL 肘静脉

血, 在 30 s 内加入 30 μ L DPPP-IV 抑制剂 (10 μ L/mL), 混匀后马上 1 000 r/min 低温离心 (-18 $^{\circ}$ C) 10 min 后分离血浆于 EP 管中, 置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中待测 GLP-1.

1.3.2 血浆 GLP-1 浓度的测定 用酶联免疫法测定 (EIA) 按照试剂盒的说明书由专人操作, 血糖测定采用葡萄糖氧化酶法.

1.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS 软件. 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料以百分比表示. 经 K-S 检验发现 GLP-1 及 HOMA-IR、HOMA- β 为非正态分布, 通过自然对数变换符合正态分布后进行统计学分析. 两组间均数的比较, 经 Levene 检验总体方法, 如方差齐选用独立样本 t 检验, 如方差不齐采用近似 t 检验. 血浆 GLP-1 浓度与其他变量间的关系用简单直线相关分析和多元逐步回归分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血浆 GLP-1 浓度在 T2DM 和 NC 人群中的比较

研究资料进行正态性检验, 结果显示 GLP-1 浓度呈偏态分布, 经对数转换后为正态分布, 进行统计分析. T2DM 组血浆 LnGLP-1 水平为 (1.03 ± 0.57), NC 组为 (0.81 ± 0.52). T2DM 组血浆 LnGLP-1 水平显著低于 NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 分别纠正年龄、性别和 BMI 后差异仍然存在 ($P < 0.05$), 见表 1.

表 1 血浆 GLP-1 浓度在 T2DM 和 NC 人群中的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of plasm levels of GLP-1 between T2DM and NC ($\bar{x} \pm s$)

| 项 目 | NC | T2DM |
|----------------|-----------------|-------------------|
| GLP-1 (pmoL/L) | 3.83 ± 6.84 | 2.77 ± 2.95 |
| LnGLP-1 | 1.03 ± 0.57 | $0.81 \pm 0.52^*$ |

与 NC 组比较, $*P < 0.05$.

2.2 血浆 GLP-1 浓度在 NDN 和 DN 人群中的比较

NDN 组血浆 LnGLP-1 水平为 (0.80 ± 0.50), DN 组为 (0.84 ± 0.57). DN 组血浆 LnGLP-1 水平高于 NDN 组, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2.

2.3 GLP-1 相关的 T2DM 危险因素进行多元逐步回归分析

血浆 GLP-1 作为因变量, 以年龄、FPG、HDL-c、Ln(HOMA- β) 为自变量, 进行多元逐步回归分析, 全体受试对象的血浆 GLP-1 水平与年龄、HDL-c 显著相关 ($P < 0.05$); T2DM 者的血浆 GLP-1 水平与年龄相关 ($P < 0.05$); DN 者的血浆 GLP-1 水平与 HDL-C 相关 ($P < 0.05$), 见表 3~5.

表 2 血浆 GLP-1 浓度在 NDN 和 DN 人群中的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of plasm levels of GLP-1 between NDN and DN patients ($\bar{x} \pm s$)

| 项 目 | NDN | DN |
|----------------|-----------------|-----------------|
| GLP-1 (pmoL/L) | 2.67 \pm 2.57 | 2.96 \pm 3.58 |
| LnGLP-1 | 0.80 \pm 0.50 | 0.84 \pm 0.57 |

表 3 全体受试对象的多元回归模型

Tab. 3 The multiple regression model of all subjects

| 入选变量 | 回归系数 (B) | 标准误 (SB) | 标准回归系数 (Beta) | t | P |
|-------|----------|----------|---------------|--------|-------|
| 常数 | 0.397 | 0.114 | 3.485 | 0.001 | |
| 年龄 | -0.003 | 0.002 | -0.182 | -2.248 | 0.026 |
| HDL-C | 0.146 | 0.052 | 0.225 | 2.790 | 0.006 |

表 4 T2DM 的多元回归模型

Tab. 4 The multiple regression model of T2DM

| 入选变量 | 回归系数 (B) | 标准误 (SB) | 标准回归系数 (Beta) | t | P |
|------|----------|----------|---------------|--------|-------|
| 常数 | 0.594 | 0.117 | 5.085 | | 0.001 |
| 年龄 | -0.004 | 0.002 | -0.225 | -2.099 | 0.039 |

表 5 DN 的多元回归模型

Tab. 5 The multiple regression model of DN

| 入选变量 | 回归系数 (B) | 标准误 (SB) | 标准回归系数 (Beta) | t | P |
|-------|----------|----------|---------------|-------|-------|
| 常数 | 0.019 | 0.149 | 0.129 | 0.898 | |
| HDL-C | 0.305 | 0.126 | 0.146 | 2.421 | 0.022 |

3 讨论

2 型糖尿病发病机制为胰岛素抵抗和胰岛 B 细胞功能逐渐下降. 大量研究表明胰高血糖素样肽-1 (Glucagon-Like Peptide 1, GLP-1) 具有降血糖、促胰岛素分泌的功能. 有研究甚至显示 GLP-1 的作用缺陷从而引起 B 细胞功能障碍可能是导致个体发展为 2 型糖尿病的重要原因^[3].

本研究采用酶免疫分析法测得的云南地区汉族健康人群的血浆 GLP-1 平均水平为 3.83 pmol/L. 国内一些研究结果: 上海地区人群中的空腹血浆 GLP-1 的平均浓度约为 0.973 μ g/L、湖南汉族人群中的血浆 GLP-1 的平均水平为 (18.8 \pm 3.1) pmol/L, 与本结果不一致, 可能与检测方法不同有关, 也可能正常人群 GLP-1 水平存在种族差异.

GLP-1 在调节胰岛素和胰升血糖素分泌、调

节食欲, 调节胃肠功能状态方面发挥了重要的生理功能. GLP-1 的分泌功能的改变就有可能导致代谢的紊乱, 或者代谢紊乱者可能存在 GLP-1 分泌的紊乱. 多数研究已证实 GLP-1 分泌缺乏与 2 型糖尿病的发生有关. Nauck 等^[4]报道, 2 型糖尿病患者 GLP-1 分泌受损, 输入外源性 GLP-1 能明显增加胰岛素分泌, 在血糖正常时, 静脉输注生理量的 GLP-1 能明显增加胰岛素分泌, 但随着血糖水平下降, 葡萄糖的刺激作用消失, GLP-1 促胰岛素分泌的作用变小, 此时继续输注 GLP-1, 血糖水平不会进一步下降. 本研究中 T2DM 患者空腹血浆 GLP-1 水平降低, Logistic 结果进一步显示每降低一个单位的 LnGLP-1, 糖尿病的风险增加 1.48 倍, 与郭立新^[5]、熊静等人^[6]的结果一致. 提示血浆 GLP-1 水平降低与 2 型糖尿病的发生有关, GLP-1 可能是 2 型糖尿病的保护因子.

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是

DM 常见的慢性并发症之一, 在 DM 病人群中的发生率约为 20%~40%^[7]. GLP-1 除了被 DPP-4 裂解失活外, GLP-1 还通过肾脏滤过清除, GLP-1 可与血液中的大分子蛋白 (如白蛋白、转铁蛋白、免疫球蛋白) 结合, 减少肾脏对它的清除, 从而延长其半衰期. 有研究结果表明大鼠肾切除后 GLP-1 的代谢率下降, 离体灌注肾脏可有效摄取 GLP-1. 肾功衰竭的患者血浆 GLP-1 水平升高, 提示人的肾脏参与了 GLP-1 的清除^[8]. 糖尿病肾病的患者肾功能存在不同程度受损, 是否会影响 GLP-1 的代谢. 本实验发现 DN 组空腹血浆 GLP-1 水平比 NDN 组稍高, 但没有统计学差异; 血浆 GLP-1 水平与肾小球滤过率 (GFR) 水平呈无相关性, 提示肾脏在 GLP-1 的代谢过程中所起的作用可能不大, 也可能是糖尿病肾病的样本数太少; 且大部分处于糖尿病早期, 对 GLP-1 的代谢还没有影响. GLP-1 与糖尿病肾病有无关系及其具体机制需要我们扩大样本量, 从不同角度进行探讨.

2 型糖尿病患者注射一定剂量的 GLP-1 后, 甚至在不增加胰岛素水平的情况下, 患者体内也能显著减少膳食相关的甘油酯的短程运输^[9]. Klonoff 等^[9]报道 2 型糖尿病患者连续 36 个月使用 GLP-1 激动剂 Exenatide, 体质量下降 5.3 kg, 三酰甘油降低 12%, 总胆固醇下降 5%, 低密度脂蛋白下降 6%, 高密度脂蛋白增加 24%. 临床研究中也发现使用 GLP-1 可减少能量摄入约 20%, 由于摄食减少可降低血糖、血脂, 且伴随体重下降, 所以这些作用特点都可使糖尿病患者获益. 本研究发现在 T2DM 患者中, 血浆 GLP-1 水平 HDL-C 呈正相关. 即 GLP-1 的分泌增高时, HDL-C 的浓度也随之增高. 这说明 GLP-1 可使高密度脂蛋白增加, 调节脂代谢, 与国内外的研究相符.

随着年龄的增加, 糖耐量倾向于降低. Gilden 报道^[10]60 岁以上的老年人中超过 60% 的人有糖耐量降低, 血糖水平与年龄增长呈正相关^[11]. 本研究中, 对全体受试对象、T2DM 组和 DN 组进行的分析发现 GLP-1 与年龄呈负相关, 即随着年龄的增长, 血浆 GLP-1 水平降低. 推测可能与老年患者常常并发多种慢性疾病, 脏器功能较年轻人明显衰退, 肠道 L 细胞功能下降有关; 也可能是肠-胰岛素轴受损有关.

综上所述, T2DM 患者空腹血浆 GLP-1 水平的降低可能是 2 型糖尿病的危险因素, 糖尿病肾病早期可能对 GLP-1 的清除作用并没有减弱. GLP-1 可能在 T2DM 患者大血管并发症的发生中发挥一定作用; GLP-1 分泌受限可能是老年人 DM

发生的机制之一. 总之 GLP-1 的发现为研究 T2DM 的发病机制增加了新的内容, 为糖尿病的治疗提供新的药物靶点.

[参考文献]

- [1] VAIVERDE L, WANG G S, BURGHARDT K, et al. Bioactive GLP-1 in gut, reek-pteor expression in pancreas, and insulin response to GLP-1 in diabetes prone ras [J]. *Endocrine*, 2004, 23: 77-84.
- [2] WILSBOIL T, KRARUP T, DEACON C F, et al. Reduced postprandial Gonoentra-tions of intact Biologically Active Glucangon-like Peptide 1 In type 2 diabetic patients [J]. *Diabetes*, 2001, 50: 609-613.
- [3] LUGARI R, DEI CAS A, UGOLOTTI D, et al. Evidence for early impairment of glueagon-like Peptide 1-induced insulin secretion in human type 2 (non insulin-dependent) diabetes [J]. *Hormone and Metabolic Research*, 2002, 34 (3): 150-154.
- [4] NAUCK M A, KLEINE N, ORSKOV C, et al. Normalization of fasting hypergly-caemia by exogenous glucagons-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (noninsulin depend ent) diabetic patients [J]. *Diabetologia*, 1993, 36 (8): 741-744.
- [5] 郭立新. 胰高血糖素样肽-1 与 2 型糖尿病的治疗 [J]. *中国医学信息报*, 2010, 25(4): 15-16.
- [6] 熊静, 莫朝辉, 谢艳红, 等. 初诊 2 型糖尿病患者肠促胰岛素和胰高血糖素水平的变化 [J]. *Chinese General Practice*, 2010, 13(12B): 3 951-3 953.
- [7] AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Position statement: Diabetic nephrophathy [J]. *Diabetes Care*, 1998, 21: 50.
- [8] MEIER J J, GALLWITZ B, SALMEN S, et al. Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes [J]. *Endocrinol Metab*, 2003, 88(6): 2 719-2 725.
- [9] KLONOFF D C, BUSE J B, NIELSEN L L, et al. Exenatide effects on diabetes, obesity, cardiovascular risk factors and hepatic biomarkers in patients with type 2 diabetes treated for at least 3 years [J]. *Curr Med Res Opin*, 2008, 24 (1): 275-286.
- [10] MORROW L A, HALTER J B. Treatment of the elderly with diabetes [M]. In: Kahn C R, Weir G C eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*. (13rd ed) Malvern, PA: Lea & Febiger. 1994: 57-65.
- [11] GILDEN J L. Nutrition and older diabetic [J]. *Clin Geriatr Med*, 1999, 15(2): 371-390.

(2011-11-12 收稿)