

网络出版时间: 2016-6-22 14:44:58 网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160622.1444.044.html

精氨酸兴奋实验对胰岛 β 细胞功能的评价

孙建然, 惠灿灿, 邓大同, 许敏, 代芳, 陈明卫, 胡红琳, 何勇, 王佑民

摘要 目的 探讨精氨酸兴奋实验(AST)与标准馒头餐实验(SBMT)对胰岛 β 细胞功能的评价。方法 选取118例住院的2型糖尿病患者行SBMT和AST,评价胰岛 β 细胞功能,评估AST的安全性、有效性及临床应用价值。结果 SBMT和AST各时间点血糖水平差异有统计学意义($P < 0.001$),但AST各时间点血糖水平均低于SBMT($P < 0.001$)。AST胰岛素曲线下面积、胰岛素均值、峰值与SBMT胰岛素曲线下面积呈正相关性。结论 对2型糖尿病患者胰岛 β 细胞功能方面的评价两者具有一致性,且AST具有血糖波动小、简单易行、安全性更好的特点。

关键词 胰岛 β 细胞功能; 标准馒头餐实验; 精氨酸兴奋实验

中图分类号 R 587.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)08-1171-05

糖尿病随着人民生活水平的提高,其发病率呈现逐年上升的趋势。及时有效地评价胰岛 β 细胞的功能对糖尿病的早期诊断及疾病预后有着极其重要的意义^[1]。目前研究胰岛 β 细胞功能的方法主要包括胰岛 β 细胞功能的评估指数、Bergman最小模型、高葡萄糖钳夹技术、口服和静脉葡萄糖刺激实验和其他非糖刺激实验等^[2]。其中口服葡萄糖耐量实验(OGTT)是评价机体糖代谢状况的“金标准”,同时也是检测机体胰岛 β 细胞释放胰岛素的经典方法。临床上应用最广泛的SBMT^[3]。非糖刺激实验主要包括胰高血糖素实验和AST,其中AST近年来在临床应用中十分广泛,该研究对多例临床患者行SBMT和AST,对比两者实验结果,分析AST在临床的应用价值。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取2011年4月~2012年2月安徽医科大学第一附属医院住院2型糖尿病患者118

例;其中男69例,女49例;年龄22~78(53.30 ± 11.43)岁;病程(5.63 ± 5.89)年;体质指数(body mass index, BMI)为(24.90 ± 3.07) kg/m²;糖化血红蛋白为(9.29 ± 2.47)%。研究对象签订知情同意书,采取抽签方式决定首次行SBMT或AST,间隔1周后再行另一实验。糖尿病诊断依据2014年美国糖尿病协会(ADA)的糖尿病诊断标准,分型根据胰岛素释放实验或C肽释放实验。所有患者无外伤、感染等应激状态,无严重肝肾功能损害,无糖尿病急性并发症及其他影响胰岛分泌功能的急慢性疾病史。

1.2 方法

1.2.1 SBMT 糖尿病患者实验前停药12 h以上,实验前晚8时开始禁食,次晨7~8时静坐30 min,于一侧肘部静脉留置针抽取空腹血,测血糖、胰岛素及C肽;随后进食100 g富强面粉制成的馒头,从吃第1口馒头起计时,于30、60、120、180 min各抽1次静脉血,测定血糖、胰岛素、C肽。

1.2.2 AST 所有测试对象需实验前停药12 h以上,前1 d禁食12~14 h,次日上午9点前,平卧位,先经肘静脉穿刺,空腹抽静脉血4 ml,保留穿刺针头后静脉推注25%精氨酸(上海信宜金朱药业有限公司)20 ml,30 s注射完毕,以电子秒表准确计时,于注射后2、4、6、8 min时各采静脉血2 ml。上述血标本经1 500 r/min离心血清-20℃保存,测定0、2、4、6、8 min胰岛素及C肽的值。上述指标测定,血糖测定:采用葡萄糖氧化酶法,仪器:Modular DPP型全自动生化仪(瑞士罗氏公司),试剂盒:南京欧诺公司,质控值为(6.83 ± 0.02) mmol/L。血标本分3批采用放免法测定胰岛素、C肽,药盒购自西门子医学诊断产品(上海)有限公司;批内、批间变异系数分别为:INS < 2.4%、< 1.8%;C肽 < 4.0%、< 1.1%。

1.2.3 计算指标^[4] BMI = 体重/身高² (kg/m²);稳态模型评价的胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = 空腹血糖 × 空腹胰岛素值/22.5,作为评估胰岛素抵抗指标;稳态模型评价的胰岛素分泌指数(HOMA-IS) = $20 \times$ 空腹胰岛素值/(空腹血糖 - 3.5),作为评估

2016-05-19 接收

基金项目: 安徽省科技攻关项目(编号 1206c0805034)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院内分泌科、安徽省内分泌代谢病省级实验室,合肥 230022

作者简介: 孙建然,男,硕士研究生;

邓大同,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: dengdatong69@163.com

胰岛素分泌的指标; AST: 胰岛曲线下面积 $AUC = INS_0 + 2 \times INS_2 + 2 \times INS_4 + INS_6 + INS_8$, 单位为 $mmol/(L \cdot min)$; 峰值为 2、4、6、8 min 之最大值, 平均值为 2、4、6、8 之平均值, 峰差值为峰值减去 0 min 数值; SBMT: 胰岛素曲线下面积 $AUC = BG_0 + 2 \times BG_{30} + 2 \times BG_{60} + BG_{120} + BG_{180}$, 单位为 $mmol/(L \cdot min)$, 其余计算公式同上。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件进行分析, 定量变量指标符合正态分布的用 $\bar{x} \pm s$ 表示; 检验各变量正态分布情况, 胰岛素呈偏态分布的经对数转换成正态分布后进行分析; 组间差异用配对 t 检验或重复测量资料的方差分析判定; 两变量间的回归分析采用简单线性回归; 两变量间的相关分析采用 Pearson 相关分析和偏相关分析。

2 结果

2.1 AST 与 SBMT 各时间点血糖、胰岛素及 C 肽变化 通过配对 t 检验, 分析显示: 患者分别在在进行 AST 及 SBMT 时的空腹血糖差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 空腹胰岛素差异无统计学意义 ($P = 0.497$)。通过重复测量资料的方差分析, SBMT 后, 患者 0、30、60、120、180 min 的血糖具有显著变化 ($F = 126.450, P < 0.001$)。注射精氨酸以后, 0、2、4、6、8 min 5 个时间点的患者血糖水平差异有统计学意义 ($F = 12.302, P < 0.001$), 但是 AST 各时间点水平均低于 SBMT ($P < 0.001$)。说明 AST 不同于 SBMT, AST 虽会引起血糖的波动, 但是幅度仍低于 SBMT。见表 1。

表 1 AST 及 SBMT 各时间点血糖、胰岛素及 C 肽变化 ($\bar{x} \pm s$)

项目	血糖 (mmol/L)	胰岛素 (mU/L)	C 肽 (nmol/L)
AST			
0 min	7.61 ± 2.19	0.94 ± 0.44	1.03 ± 0.59
2 min	7.69 ± 3.63	1.32 ± 0.45	1.67 ± 1.11
4 min	8.10 ± 2.74	1.36 ± 0.45	1.89 ± 1.02
6 min	8.33 ± 2.82	1.30 ± 0.45	1.82 ± 1.05
8 min	7.36 ± 3.70	1.20 ± 0.46	1.70 ± 0.93
F 值	126.450	—	—
P 值	<0.001	—	—
SBMT			
0 min	8.86 ± 3.45	0.88 ± 0.42	1.00 ± 0.50
30 min	11.37 ± 3.45	1.13 ± 0.40	1.44 ± 0.72
60 min	15.40 ± 4.21	1.27 ± 0.48	2.05 ± 1.32
120 min	18.84 ± 5.37	1.41 ± 0.41	2.80 ± 1.40
180 min	17.95 ± 5.35	1.33 ± 0.54	3.27 ± 1.60
F 值	12.302	—	—
P 值	<0.001	—	—

2.2 AST 可反映糖尿病患者的胰岛功能 对两者

实验的各项指标进行计算, 见表 2, 并且对其进行 Pearson 相关分析。结果表明: AST 胰岛素曲线下面积与 SBMT 胰岛素曲线下面积、胰岛素峰值、HOMA-IR、HOMA-IS 呈正相关性, 相关系数分别为 0.572、0.805、0.068、0.099。SBMT 胰岛素曲线下面积亦与 AST 胰岛素峰值、胰岛素均值、HOMA-IR、HOMA-IS 呈正相关性, 相关系数分别为 0.683、0.528、0.317、0.213。以上结果说明 AST 与 SBMT 在反映胰岛 β 细胞功能方面效果相当。

2.3 AST 的胰岛素曲线下面积、均值及峰值 比较 AST 和 SBMT, 两者峰值、均值、峰差值的相关系数分别为 0.768、0.792、0.682。通过简单线性回归分析: 两者胰岛素曲线下面积见图 1, 回归系数 β 为 0.5 ($P < 0.001$); AST 胰岛素均值与 SBMT 胰岛素曲线下面积见图 2, 回归系数 β 为 0.07 ($P < 0.001$); AST 胰岛素峰值与 SBMT 胰岛素曲线下面积见图 3, 回归系数 β 为 0.07 ($P < 0.001$)。结果显示 AST 胰岛素曲线下面积、胰岛素均值、胰岛素峰值对评估胰岛 β 细胞功能具有影响因素少、计算简便的特点。

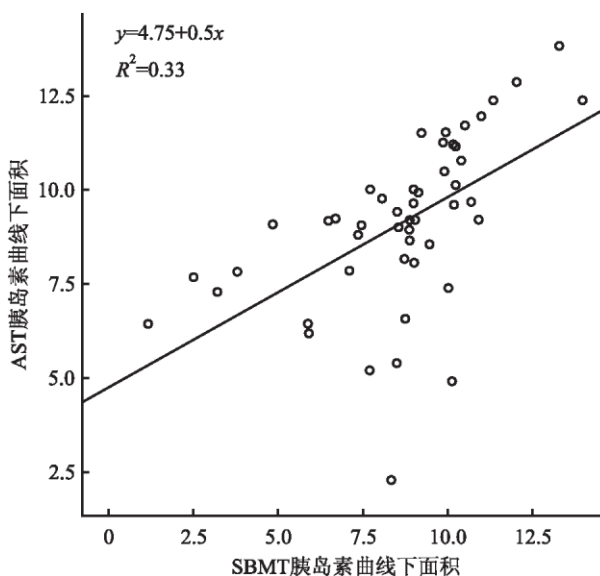


图 1 两实验胰岛素曲线下面积的简单线性回归分析

2.4 经 Pearson 相关及偏相关分析 在 AST 中, BMI 与空腹胰岛素和 C 肽呈正相关性, 相关系数分别为 0.154、0.459; 病程与空腹胰岛素和 C 肽呈负相关性, 相关系数为 -0.60、-0.45; 而性别对胰岛素的分泌功能影响不大, 相关系数为 0.004、0.003。在调整年龄、性别后, C 肽与 BMI 相关 ($P < 0.001$), 而胰岛素不相关 ($P = 0.172$)。

表2 AST与SBMT各项指标计算($\bar{x} \pm s$)

实验	胰岛素曲线下面积 [mmol/(L·min)]	胰岛素峰值 (mmol/L)	胰岛素均值 (mmol/L)	胰岛素峰差值 (mmol·μIU/ml ²)	HOMA-IR	HOMA-IS
AST	8.46 ± 2.35	1.51 ± 0.33	1.28 ± 0.37	0.63 ± 0.44	0.63 ± 0.44	6.67 ± 17.42
SBMT	8.82 ± 2.43	1.51 ± 0.29	1.30 ± 0.38	0.56 ± 0.40	0.56 ± 0.40	6.68 ± 5.92

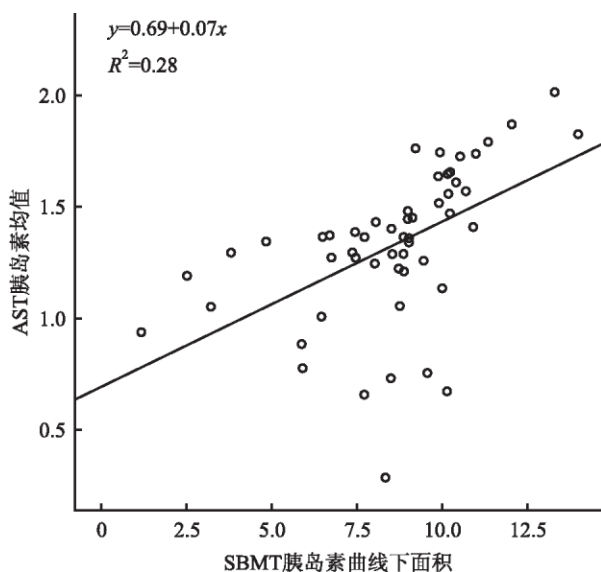


图2 AST胰岛素均值与SBMT胰岛素曲线下面积的简单线性回归分析

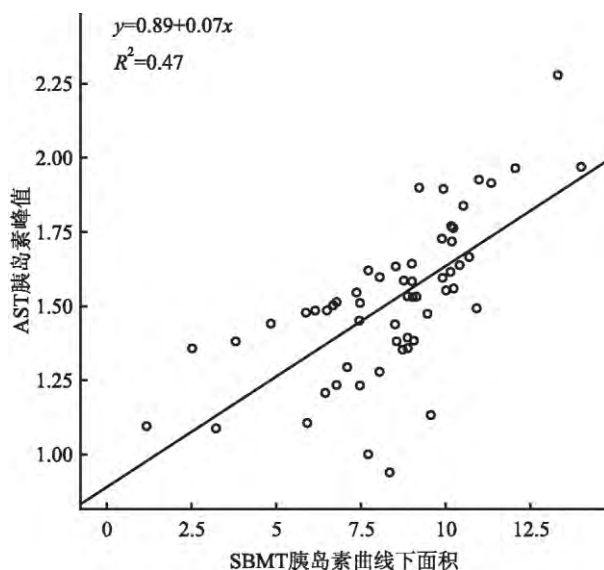


图3 AST胰岛素峰值与SBMT胰岛素曲线下面积的简单线性回归分析

2.5 不良反应 患者行AST时,有12例患者出现短暂、轻微的口内金属感或舌头短暂麻刺、灼热感,均能耐受,于推注1 min内消失,发生率为10.17%;另有22例受试者于实验结束后诉推注当时曾出现轻微舌头灼热感,持续5~15 s内即消失,发生率为

18.74%。有6例受试者实验前因精神紧张出现头晕、心悸,于平卧休息后消失,可继续实验。无心率及呼吸频率加快、胃肠道不适、血压升高、心慌、头晕、恶心、呕吐、胸闷等不良反应发生。无1例受试者因不能耐受而终止本实验。

3 讨论

目前普遍认为胰岛β细胞功能紊乱在2型糖尿病的发生、发展中起关键作用。在临床及科研工作中,常需对胰岛β细胞的功能作出定量评估以指导治疗及预测疾病的转归。正常人给予葡萄糖刺激后,胰岛素的分泌呈现出双相峰,葡萄糖刺激后的第一个高峰为快速相(acute insulin release, AIR)胰岛素分泌,反映了胰岛β细胞的存储功能。第二个高峰为第二相胰岛素分泌,反映了胰岛β细胞的分泌功能^[9]。Mugabo et al^[9]发现2型糖尿病的早期及一些糖耐量异常的个体即存在第一时相减少,而第二时相并未减少。AIR减少是餐后血糖升高及胰岛素抵抗的重要因素, AIR的恢复与2型糖尿病患者强化治疗后能否获得长期缓解息息相关。高葡萄糖钳夹技术是检测胰岛β细胞功能分泌的精确方法,可以直接测定第一时相和第二时相胰岛素的分泌^[9]。然而此项检查技术要求高、操作复杂,限制了其在临床的应用。

本实验结果表明,应用精氨酸快速静脉注射对胰岛β细胞有较强的兴奋作用,胰岛素和C肽在4 min左右时分泌达高峰,8 min左右逐步恢复至正常水平,提示快速静脉注射精氨酸主要是激发β细胞内已存储胰岛素的释放。然而对血糖水平无较大影响,这与精氨酸同步兴奋胰高血糖素有关^[9]。此外,该方法简单易行,可用于评价糖尿病、冠心病等患者的胰岛α和β细胞早期分泌功能,在临床上有实用价值。血循环中C肽/胰岛素分子的比值可以作为肝脏胰岛素代谢率的参数,因为胰岛素与C肽等分子分泌,胰岛素经过肝脏部分摄取代谢后进入体循环。Pearson相关及偏相关分析显示, BMI与空腹胰岛素和C肽呈正相关性,而年龄和性别对胰岛

素的分泌功能影响不大,而病程与空腹胰岛素、C 肽呈负相关性。结果提示随着 BMI 的增加,机体组织对胰岛素敏感性下降,表现在空腹胰岛素、C 肽水平增高及精氨酸兴奋后早期分泌峰值的降低,即肥胖导致机体胰岛细胞对外界变化的反应性降低,因而肥胖是导致血糖升高、发生糖尿病危险的重要因素。并且病程越长,胰岛 β 细胞的功能越差。此外,偏相关分析显示,在调整年龄和性别后,BMI 与 C 肽相关而与胰岛素不相关,可能与体重增加后胰岛 β 细胞分泌的胰岛素部分经肝脏摄取而对 C 肽的摄取较少有关。两实验空腹血糖差异有统计学意义,可能与糖尿病患者实验前停药 12 h 以上,导致空腹血糖控制不佳引起。另外本实验中精氨酸注射后 0、2、4、6、8 min 5 个时间点血糖差异有统计学意义,与林迪妮等^[4]研究结果不同,可能是 AST 的结果与患者空腹胰岛素水平、BMI、血脂、血压及糖化血红蛋白水平等多种因素影响有关^[5]。

临床上常用的糖刺激实验存在一定的局限性,当患者长期血糖控制不佳易出现糖毒性、胰岛 β 细胞抑制^[6]。胡肇衡等^[1]发现患者空腹血糖未超过 9 mmol/L 时行 OGTT 实验或 SBMT 能反映胰岛 β 细胞的功能,在超过 13 mmol/L 时,胰岛 β 细胞功能受到抑制,胰岛素或 C 肽的释放受到抑制。AST 与糖刺激实验原理不同。精氨酸本身携带正电荷,通过作用于阳离子氨基转运子 2 (CAT2) 转入细胞膜导致细胞膜去极化,引发 L 型电位依赖性钙通道 (VD-DC) 开放,细胞内钙离子浓度增高,促进已存储的胰岛素释放。并且随着血糖水平的增高,精氨酸刺激胰岛素分泌的反应会持续性增加并呈量效关系^[7]。其敏感性虽低于糖刺激,但是当糖刺激已经不能反映胰岛素的双相分泌时,AST 仍可以作为评估胰岛的第一相分泌。患者在强化降糖解除糖毒性之后,行 OGTT 实验往往会使血糖再度升高,使降糖治疗方案失败^[2]。

综上所述,AST 可以方便、安全地评价胰岛 β 细胞的功能,与 SBMT 相辅相成。当 SBMT 在评估糖尿病血糖控制不佳及第一、二时相胰岛素分泌缺乏时,可优先行 AST,其中 AST 胰岛素曲线下面积、胰岛素均值、胰岛素峰值具有重要的临床参考价值^[3]。此外,为了全面的评估胰岛 β 细胞的功能,可以考虑联合多种实验,如 AST + SBMT + OGTT + 胰高血糖素刺激实验^[4]。

参考文献

- [1] Eklio22glu B S,Atabek M E,Akyürek N,et al. Prediabetes and cardiovascular parameters in obese children and adolescents [J]. J Clinl Res Pediatr Endocrinol,2016,8(1):80-5.
- [2] Wang X L,Ye F,Li J,et al. Impaired secretion of glucagon-like peptide 1 during oral glucose tolerance test in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus [J]. Saudi Med J,2016,37(1):48-54.
- [3] Lozinska L,Westrom B,Prykhodko O,et al. Decreased insulin secretion and glucose clearance in exocrine pancreas-insufficient pigs [J]. Exp Physiol,2016,101(1):100-12.
- [4] 林迪妮,谷雪梅,沈飞霞,等. 精氨酸刺激实验对胰岛 β 细胞功能评估的临床价值 [J]. 温州医科大学学报,2015,45(8):604-7.
- [5] Dirice E,Kulkarni R N. Harnessing immune cells to enhance beta-cell mass in type 1 diabetes [J]. J Investig Med,2016,64(1):14-20.
- [6] Mugabo Y,Zhao S,Seifried A,et al. Identification of a mammalian glycerol-3-phosphate phosphatase: Role in metabolism and signaling in pancreatic beta-cells and hepatocytes [J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2016,113(4):E430-9.
- [7] Zhang Y,Chi J,Wang W,et al. Different effects of two dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and glimepiride on beta-cell function in a newly designed two-step hyperglycemic clamp [J]. J Diabetes,2015,7(2):213-21.
- [8] Sjostrand M,Carlson K,Arnqvist H J,et al. Assessment of beta-cell function in young patients with type 2 diabetes: arginine-stimulated insulin secretion may reflect beta-cell reserve [J]. J Intern Med,2014,275(1):39-48.
- [9] 范心怡,马晓松,王颜刚,等. 2 型糖尿病患者精氨酸刺激试验结果影响因素分析 [J]. 山东医药,2015,35(19):90-2.
- [10] Othman N A,Docherty P D,Krebs J D,et al. The necessity of identifying the basal glucose set-point in the IVGTT for patients with type 2 diabetes [J]. Biomed Eng Online,2015,14:18.
- [11] 胡肇衡,高月琴,卢纹凯,等. 高血糖状态对 2 型糖尿病患者胰岛 β 细胞分泌功能的影响 [J]. 中华糖尿病杂志,2004,12(4):235-7.
- [12] 何 扬,王 川,黎 锋,等. 非葡萄糖与葡萄糖刺激对不同糖耐量人群 β 细胞功能的评估 [J]. 中华医学杂志,2013,93(10):760-3.
- [13] 刘永泉,田 惠,万福生,等. 馒头餐后 2 小时血糖在糖尿病筛查中的意义 [J]. 中华医学杂志,2014,94(18):1388-92.
- [14] Wei C,Unsworth R,Davis N,et al. Survivors of childhood leukemia treated with haematopoietic stem cell transplantation and total body irradiation should undergo screening for diabetes by oral glucose tolerance tests [J]. Diabet Med,2016 [Epub ahead of print].

网络出版时间: 2016-6-22 14:44:58 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160622.1444.046.html>

受体相互作用蛋白激酶 1 在食管鳞状细胞癌中的表达及临床意义

崔凯¹, 耿慧武², 姬强², 朱克超¹, 卢晨¹, 夏杰³, 刘晓颖², 于在诚¹

摘要 目的 探讨受体相互作用蛋白激酶 1 (RIP1) 蛋白在食管鳞癌中的表达情况及临床意义。方法 应用 Western blot 法和免疫组织化学法检测并且分析 100 例食管鳞癌患者的癌组织、相应癌旁组织和对应正常黏膜组织中 RIP1 的表达情况。结果 71% 食管鳞癌组织中 RIP1 蛋白的表达水平高于对应癌旁组织和正常黏膜组织, 20% 食管鳞癌癌旁组织 RIP1 蛋白的表达水平高于对应癌组织和正常食管黏膜组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。食管鳞癌组织中高表达的 RIP1 蛋白水平与其 TNM 分期、病理分级、有无淋巴结转移有关 ($P < 0.05$), 与性别、年龄无关。癌旁组织中高表达的 RIP1 蛋白水平与肿瘤浸润深度、TNM 分期有关 ($P < 0.05$), 与性别、年龄、有无淋巴结转移及病理分级无关。结论 RIP1 蛋白在食管鳞癌中的高表达可能与肿瘤的病理分

级、TNM 分期及预后有关, 对于食管鳞癌的发生发展有一定的预测作用。

关键词 食管肿瘤; 鳞状细胞; 免疫组织化学; 受体相互作用蛋白激酶 1

中图分类号 R 735.1; R 341

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)08-1175-05

食管癌是人类常见的恶性肿瘤之一, 其发病率居我国恶性肿瘤的第四位, 食管癌绝大部分是鳞状细胞癌, 原发腺癌较少见。其早期无明显典型症状, 偶有下咽异物感、胸骨后疼痛等。手术是治疗食管癌的首选方法, 但手术切除率仅为 58% ~ 92%, 且术后 5 年生存率仍不到 40%^[1], 食管恶性肿瘤的早期发现与治疗能够大大提高患者的手术切除率和 5 年生存率。受体相互作用蛋白 1 (receptor interacting protein kinase 1) 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 其可以通过激活 NF- κ B、活化 Caspase-8、参与活性氧的产生等方式, 在细胞凋亡、细胞存活及细胞程序性坏死等信号传导中起关键作用^[2]。另外其功能受泛素化、锌指蛋白等的调节^[3]。目前关于 RIP1 在

2016-04-19 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(编号: 81201368)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院胸外科, 合肥 230022

² 安徽医科大学生命科学院生物学系, 合肥 230032

³ 安徽医科大学第四附属医院急诊外科, 合肥 230011

作者简介: 崔凯, 男, 硕士研究生;

于在诚, 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yuzaicheng@vip.sina.com

Arginine stimulation test in evaluating the function of islet β -cell

Sun Jianran, Hui Cancan, Deng Datong, et al

(Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the standard bread meal test and the arginine stimulation test in evaluating beta cell function. **Methods** 118 hospitalized patients with type 2 diabetes were carried out arginine stimulation test and standard bread meal test to evaluate the function of islet β -cell. Moreover, the safety, the efficiency and the clinical value of arginine stimulation test were estimated. **Results** For each time point, there were differences of blood glucose between standard bread meal test and arginine stimulation test ($P < 0.001$). However, the blood glucose changes of arginine stimulation test were lower than those of the standard bread meal test ($P < 0.001$). Insulin area under the curve, mean value, peak value of arginine stimulation test had positive correlation with insulin area under the curve of the standard bread meal test. **Conclusion** The results of arginine stimulation test are consistent with those of standard bread meal test. Furthermore, the arginine stimulation test shows a superiority to assess islet function of type 2 diabetes patients, suggesting it has advantages such as less impact on blood sugar, simpler operation and more safety.

Key words pancreatic β -cell function; standard bread meal test; arginine stimulation test