

IGF-1R、IGFBP-1 与妊娠期糖尿病巨大儿的相关性研究

谢伟姣¹, 王 敏², 于 力², 陈秀芳², 宋丽萍³, 周 玲^{1,2}

摘要 采用 Real-Time PCR 技术对妊娠期糖尿病 (GDM) 并分娩巨大儿胎盘 22 例 (巨大儿组) 和同期 18 例正常孕妇分娩正常体重儿 (对照组) 胎盘组织中胰岛素样生长因子-1 受体 (IGF-1R) 以及胰岛素样生长因子结合蛋白-1 (IGFBP-1) 的 mRNA 进行检测, 并分析两者与 GDM 巨大儿发生的相关性。结果显示 巨大儿组患者胎盘中 IGF-1R 的表达量要显著高于对照组 ($P < 0.05$); 胎盘中 IGFBP-1 的表达水平巨大儿组较对照组低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

关键词 妊娠期糖尿病; 巨大儿; 胎盘; IGF-1R; IGFBP-1

中图分类号 R 714.256

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)10-1508-03

巨大儿 (出生体重超过 4 000 g 的婴儿) 的分娩是妊娠期糖尿病 (gestational diabetic mellitus, GDM) 患者最主要的不良妊娠结局, 有研究^[1]显示, GDM 患者的子女 (特别是出生时为巨大儿的子女) 成年后发生肥胖及 2 型糖尿病等代谢性疾病的几率会显著升高。在妊娠期间, 胎盘是连接母婴生命的桥梁, 因此胎盘的作用是巨大儿形成的重要原因; 近年来, 胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) 调节胎盘生长及胎儿发育的作用越来越受重视, 研究^[2]表明, 母体血清中 IGF 与巨大儿发生关系密切, 其表达水平或基因印记状态的变化都能导致胎儿生长过度, 但对胎盘组织中 IGF 水平与 GDM 巨大儿发生相关研究仍然较少, 故该研究比较与分析胰岛素样生长因子-1 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R) 以及 IGF 结合蛋白-1 (insulin-like growth factor binding protein-1, IGFBP-1) mRNA 在 GDM 合并巨大儿及正常孕妇胎盘组织中表达水平及差异, 探讨 IGF-1R 及 IGFBP-1 在 GDM 巨大儿发生中的作用, 为临床 GDM 的治疗和预防巨

大儿的产生提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取 2010 年 ~ 2012 年在安徽医科大学解放军 306 医院住院并分娩的 GDM 合并巨大儿胎盘 22 例作为巨大儿组, 年龄 21 ~ 33 (27.3 ± 5.4) 岁, 孕周 37 ~ 40 (38.5 ± 1.0) 周; 选取同期非糖尿病且分娩正常体重儿孕妇胎盘 18 例作为对照组, 年龄 22 ~ 30 (26.4 ± 3.0) 岁, 孕周 37 ~ 41 (39.2 ± 2.0) 周, 巨大儿组和对照组 (患有其他疾病除外) 均为第一胎, 两组孕妇年龄、孕周比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。入选标准: GDM 的诊断标准为: 2011 年美国糖尿病学会 (American Diabetes Association, ADA) 诊断标准^[3]: 孕 24 ~ 28 周 75 g OGTT 血糖水平满足以下之一: 空腹血糖 ≥ 5.1 mmol/L, 服糖后 1 h 血糖 ≥ 10.0 mmol/L, 服糖后 2 h 血糖 ≥ 8.5 mmol/L; 巨大儿的诊断标准为: 足月出生体重 $\geq 4 000$ g。正常体重儿指出生体重在 2 500 ~ 4 000 g。

1.2 方法

1.2.1 胎盘组织的取材及制备 两组均在分娩或剖宫产时于胎盘分娩出后 5 min 内从胎盘母体面中央 (避开坏死及钙化区) 取绒毛组织块约 1 cm $\times$ 1 cm $\times$ 1 cm, 生理盐水溶液充分漂洗后置入冻存管封存, 液氮中保存以待 mRNA 的提取。

1.2.2 总 RNA 提取 总 RNA 提取试剂盒由日本 TaKaRa 公司提供, 每一块组织均取 2 μ g 总 RNA。

1.2.3 RT-PCR 检测 采用 Primer 5.0 软件设计引物, IGF-1R 正义引物 (5' $\rightarrow$ 3') 为 CAACCACGAGGCT-GAGAAGC, 反义引物 (5' $\rightarrow$ 3') 为 CAGCATCCTAGCCT-TCTCAC; IGFBP-1 正义引物 (5' $\rightarrow$ 3') 为 GATGGGT-TACCTGCCGACTG, 反义引物 (5' $\rightarrow$ 3') 为 TCTTCCCA-CAGTCCCAACGC; 内参照 GAPDH 基因序列正义引物 (5' $\rightarrow$ 3') 为 TCACTGCCACCCAGAAGACT, 反义引物 (5' $\rightarrow$ 3') 为 TTTCTAGACGGCAGGTCAGG, 以上引物均由上海生物工程有限公司合成。按反转录酶第一链 cDNA 合成试剂书进行操作, 将组织总 RNA 反转录为 cDNA, 建立 PCR 反应体系, 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预

2014-02-25 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 30900759)

作者单位: ¹ 安徽医科大学解放军 306 临床学院, 北京 100101

² 中国人民解放军 306 医院妇产科, 北京 100101

³ 中国科学院微生物所, 北京 100101

作者简介: 谢伟姣, 女, 硕士研究生;

周 玲, 女, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: icepear@hotmail.com

变性 10 s ,然后 95 ℃ 变性 5 s ,60 ℃ 退火延伸 30 s ,扩增 40 个循环;目的基因表达采用相对定量法表示,以标准化样本间的差异,用 ABI 7500 分析软件定量分析 PCR 结果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 t 检验分析组间差异。

2 结果

① 巨大儿组患者胎盘中 IGF-1R 的表达量要显著高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);② 巨大儿组患者胎盘中 IGFBP-1 的表达水平较对照组低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组胎盘组织中 IGF-1R 及 IGFBP-1 的 mRNA 表达水平比较 ($n = 40, \bar{x} \pm s$)

组别	n	mRNA	
		IGFBP-1	IGF-1R
巨大儿	22	0.104 ± 0.086*	0.083 ± 0.038*
对照	18	0.241 ± 0.032	0.058 ± 0.031

与对照组比较: * $P < 0.05$

3 讨论

目前,在巨大儿形成原因中,IGFs 系统调节胎盘生长及导致巨大儿发生的研究较深入,但尚缺乏定论。IGFs 系统由一组配体 (IGF-1、IGF-2)、受体 (IGF-1R、IGF-2R) 及 6 种结合蛋白 (即 IGFBP-1、IGFBP-2、IGFBP-3、IGFBP-4、IGFBP-5、IGFBP-6) 组成,是一类能够促进细胞生长、增殖和分化的多肽,在胎儿生长发育过程中起着重要的调节作用;其中 IGFs 中的 IGF-1 和 IGFBP-1 与妇产科的关系密切^[4]

Bhaumick et al^[5] 研究发现,GDM 患者胎盘中 IGF-1R 的表达量要显著高于正常孕妇,与本研究结果一致;IGF-1R 在人体各组织中广泛表达,其有两种配体 IGF-1 及 IGF-2,均通过与 IGF-1R 结合促进胎盘的的生长及调节胎盘功能,从而促进胎儿的生长发育,其机制可能是促进细胞的分裂、分化,抑制细胞凋亡,影响胎盘的转运及代谢功能。既往研究^[6]显示,IGF-1R mRNA 表达量增多是巨大儿发生的独立危险因素。本研究结果显示,巨大儿组患者胎盘中 IGF-1R mRNA 的表达量要显著高于对照组,且差异有统计学意义,由此推测,胎盘中过度表达的 IGF-1R mRNA 增加了 IGF-1R 与其配体 IGF-1 及

IGF-2 的结合机会,最终导致巨大儿的发生。

IGFBP 是一个分泌蛋白家族,包括 (IGFBP1 ~ 6) 6 个蛋白,广泛存在于各种组织中,通过调节 IGF 的生物活性,促进或抑制细胞的生长、分裂及凋亡;Lindsay et al^[7] 研究发现,在 GDM 患者胎盘中 IGFBP-1 的表达水平会显著下降,本研究提示胎盘组织 IGFBP-1 mRNA 水平巨大儿组较对照组低,差异有统计学意义,与上述研究结果一致;由于 IGFBP-1 的主要功能是通过与 IGF 的结合来调节血液和羊水中游离的 IGF 水平,所以当胎盘中 IGFBP-1 的表达水平下调时与 IGF 结合量减少,会直接导致游离的 IGF 浓度升高,从而增加 IGF 与其受体的结合机会,促进细胞和组织的生长,从而促进胎儿的过度生长导致巨大儿的形成。

本研究结果表明,GDM 并分娩巨大儿产妇胎盘中 IGF-1R 表达量显著升高,而 IGFBP-1 的表达水平显著下调,提示胎盘组织中 IGF-1R 及 IGFBP-1 的表达可能在巨大儿的发生中发挥重要作用,但其分子作用机制仍需进一步研究,从分子水平了解巨大儿的发生机制对于预防 GDM 巨大儿的发生具有深远意义。

参考文献

- [1] Anna V, van der Ploeg H P, Cheung N W, et al. Sociodemographic correlates of the increasing trend in prevalence of gestational diabetes mellitus in a large population of women between 1995 and 2005 [J]. Diabetes Care 2008, 31 (12): 2288 - 93.
- [2] 葛静,薛丹,王军. Glypican-3 和 Glypican-6 在巨大儿胎盘组织中的表达及意义 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21 (1): 19 - 21.
- [3] American Diabetes Association. Executive summary: standards of medical care in diabetes-2011 [J]. Diabetes Care 2011, 34 Suppl 1: S4 - 10.
- [4] 金爽,尹春燕. IGF-1/IGFBP-1 与妊娠期疾病的相关性研究现状 [J]. 医学综述, 2010, 16 (23): 3533 - 5.
- [5] Bhaumick B, Danilkewich A D, Bala R M. Altered placental insulin and insulin-like growth factor-1 receptors in diabetes [J]. Life Sci, 1988, 42 (17): 1603 - 14.
- [6] 潘红娟,江华. 胎盘中胰岛素样生长因子受体表达水平与巨大儿关系的研究 [J]. 吉林医学, 2011, 32 (16): 3218 - 9.
- [7] Lindsay R S, Westgate J A, Beattie J, et al. Inverse changes in fetal insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF binding protein-1 in association with higher birth weight in maternal diabetes [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2007, 66 (3): 322 - 8.

粪便中乙肝病毒的定量检测及其与乙肝病毒标志物的相关性研究

周翔天^{1,2}, 吕 茹^{1,2}, 郑吉顺³, 陈国胜^{1,2}, 刘艳艳^{1,2}, 叶 英^{1,2}, 李家斌^{1,2}

摘要 采集 50 例乙型肝炎未并发消化道出血患者的血液和粪便标本, 采用酶联免疫法检测粪便和血清中乙肝病毒标志物(HBVM), QIAmp DNA Stool kit 试剂盒法提取粪便总 DNA, 巢式 PCR 定性检测粪便中乙肝病毒 DNA (HBV-DNA), 实时荧光定量 PCR (FQ-PCR) 定量检测血清和粪便中 HBV-DNA。根据血清 HBVM 阳性的不同组合(感染模式)将 50 例患者分成 3 组, 粪便乙肝表面抗原(HBsAg)阳性 37 例, 血清 HBsAg 阳性 46 例, 两者检出率差异有统计学意义($P < 0.05$)。1 例血清阴性者, 粪便中 HBsAg 阳性。FQ-PCR 定量检测血清和粪便 HBV-DNA 含量分别为 4.35 ± 1.49 和 4.50 ± 1.59 。血清 HBV-DNA 检测, 30 例阳性(60%), 粪便中 HBV-DNA 共检测出 31 例阳性(62%)。

关键词 HBV-DNA; 乙型肝炎病毒标志物; 粪便; FQ-PCR; 巢式 PCR

中图分类号 R 512.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)10-1510-04

2014-05-19 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81172737)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院感染科, 合肥 230022

² 安徽省细菌耐药监控中心, 合肥 230022

³ 合肥市第一人民医院, 合肥 230012

作者简介: 周翔天, 男, 硕士研究生;

李家斌, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lijiaabin948@vip.sohu.com

乙肝病毒(hepatitis B Virus, HBV)的非肠道传染方式早在 70 年代初就被国内外学者所公认。但近几年来也有报道^[1]表明在人的胃液中检测出 HBV, 而且许多乙型肝炎患者存在家族中乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性的聚集现象, 同时发病前并无输血、注射或针刺史。表明 HBV 的肠道传染方式可能也起一定的作用。但对于粪便中是否存在 HBV 却鲜有报道。该研究采用试剂盒法, 提取粪便中总 DNA, 使用荧光定量 PCR (FQ-PCR) 法等相关技术检测 50 例乙肝患者粪便中乙肝病毒 DNA (hepatitis B Virus-DNA, HBV-DNA), 旨在了解乙肝患者粪便中 HBV 的确切情况及传染性如何, 并对其与乙肝病毒标志物(hepatitis B Virus marker, HBVM)之间的关系及临床意义作进一步探讨。

1 材料与方法

1.1 病例资料 50 例慢性乙型肝炎未并发消化道出血病患, 均为我院感染科住院患者。诊断符合 2011 年版中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会联合修订的《慢性乙型肝炎防治指南》诊断标准。其中男 38 例, 女 12 例, 男女比例 3.2 : 1.0。年龄 33 ~ 79 (53.46 ± 11.43) 岁。同期随

The correlation study of relativity between macrosomia of gestational diabetic pregnancy and IGF-1R, IGFBP-1

Xie Weijiao¹, Wang Min², Yu Li², et al

(¹ The 306 Hospital of Anhui Medical University, Beijing 100101; ² Gynaecology and Obstetrics, The 306th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100101)

Abstract The mRNA of insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R) and IGF binding protein-1 (IGFBP-1) in the placenta of 22 macrosomia of gestational diabetic (macrosomica group) and 18 normal birth weight infant (control group) were measured by Real Time PCR, explored the relationship between macrosomia of gestational diabetic and the levels of IGF-1R and IGFBP-1. The level of IGF-1R in the placenta of macrosomia group was significantly higher than that of control group; the expression level of IGFBP-1 in the placenta of macrosomia group was lower than that of control group, and had significant difference between the two groups.

Key words gestational diabete mellitus; macrosomia; placenta; insulin-like growth factor 1 receptor; IGF binding protein-1