

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.018

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.018

Sfrp5, Klotho 血清表达量在糖尿病患者氧化应激、脂肪细胞因子分泌中的相关性

王蕊, 安建立, 朱悦雨, 田伊茗, 尹福在, 陆强, 韩改玲, 张伟东, 付静静, 王锐

(秦皇岛市第一医院内分泌科, 河北 秦皇岛 066000)

[摘要] 目的: 探究糖尿病患者的分泌型卷曲蛋白相关蛋白-5(secreted frizzled-related protein-5, Sfrp5), Klotho血清表达量以及与氧化应激、脂肪细胞因子分泌的相关性。方法: 选取2016年1月至2017年11月首次确诊的60例2型糖尿病患者(T2DM组)和60例糖耐量减低患者(IGT组), 同时招募60例同年年龄段的健康体检者作为对照组。比较3组Sfrp5, Klotho血清表达量, 氧化应激指标(超氧化物歧化酶、丙二醛)以及脂肪细胞因子(内脂素、脂联素和瘦素)水平差异, 应用Person相关分析探究糖尿病患者Sfrp5, Klotho血清表达量与氧化应激、脂肪细胞因子的相关性。结果: IGT组和T2DM组的Sfrp5和Klotho的表达量明显低于对照组($P < 0.05$); T2DM组患者的Sfrp5和Klotho的表达量明显低于IGT组($P < 0.05$)。与对照组和IGT组相比, T2DM组的SOD、内脂素和脂联素水平更低($P < 0.05$), 而MDA和瘦素水平较高($P < 0.05$)。相关性分析显示: Sfrp5和Klotho的表达量与SOD($r = 0.470, 0.482$)、内脂素($r = 0.495, 0.396$)和脂联素($r = 0.556, 0.479$)水平呈正相关, 而与MDA($r = -0.567, -0.496$)和瘦素($r = -0.552, -0.498$)水平呈负相关。结论: 糖尿病患者Sfrp5, Klotho血清表达量明显降低; Sfrp5, Klotho可能在糖尿病患者氧化应激、脂肪组织炎症反应中发挥重要作用。

[关键词] 分泌型卷曲蛋白相关蛋白-5; Klotho; 糖尿病; 氧化应激; 脂肪细胞因子

Relationship of Sfrp5 and Klotho serum levels on oxidative stress and secretion of adipocytokines in diabetic patients

WANG Rui, AN Jianli, ZHU Yueyu, TIAN Yiming, YIN Fuzai, LU Qiang, HAN Gailing, ZHANG Weidong,
FU Jingjing, WANG Rui

(Department of Endocrine, First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao Hebei 066000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the relationship of Sfrp5 and Klotho serum levels on oxidative stress and secretion of adipocytokines in diabetic patients. **Methods:** Sixty patients with type 2 diabetes (T2DM group) and 60 patients with impaired glucose tolerance (IGT group) were selected for the first time from January 2016 to November

收稿日期 (Date of reception): 2018-04-23

通信作者 (Corresponding author): 王锐, Email: wrqwzbg83@163.com

基金项目 (Foundation item): 秦皇岛市第一医院青年科研基金 (201502A135)。This work was supported by the Youth Research Fund of First Hospital of Qinhuangdao, China (201502A135).

2017. Sixty healthy subjects of the same age were recruited as the control group. The serum levels of Sfrp5 and Klotho, oxidative stress indicators (superoxide dismutase, malondialdehyde) and adipocytokines (visfatin, adiponectin and leptin) were compared among the three groups. The Person correlation analysis was used to investigate the relationship between serum Sfrp5 and Klotho expression and oxidative stress and adipocytokines in diabetic patients. **Results:** The expressions of Sfrp5 and Klotho in the IGT group and the T2DM group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). The expression of Sfrp5 and Klotho in the T2DM group were significantly lower than those in the IGT group ($P<0.05$). Patients with T2DM had lower levels of SOD, lipotropin and adiponectin ($P<0.05$) compared with the control group and the IGT group, while the MDA and Leptin levels were higher ($P<0.05$). Correlation analysis showed that the expression of Sfrp5 and Klotho positively correlated with the levels of SOD ($r=0.470, 0.482$), visfatin ($r=0.495, 0.396$) and adiponectin ($r=0.556, 0.479$), while the MDA ($r=-0.567, -0.496$) and leptin ($r=-0.552, -0.498$) levels were negatively correlated. **Conclusion:** The serum levels of Sfrp5 and Klotho are significantly decreased in diabetic patients, and Sfrp5 and Klotho may play important roles in oxidative stress and adipose tissue inflammation in diabetic patients.

Keywords Sfrp5; Klotho; diabetes; oxidative stress; adipocytokines

在饮食、生活习惯以及人口老龄化等多种因素的共同影响下,我国2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的发病率和患病率正在激增,糖尿病及其相关并发症成为影响我国人群预期寿命和生活质量的重要因素^[1]。胰岛素抵抗是T2DM的典型特点,其具体机制尚不十分明确。T2DM既是一系列代谢综合征,也是一种慢性低水平的自身免疫反应,而脂肪组织的氧化应激与细胞因子分泌异常被认为T2DM在胰岛素抵抗的发生机制中起重要作用。分泌型卷曲蛋白相关蛋白-5(secreted frizzled-related protein-5, Sfrp5)^[2]和抗衰老基因Klotho^[3]被认为在抗氧化和慢性炎症中具有重要作用,但其与糖尿病患者的氧化应激与脂肪细胞分泌的相关性尚不十分明确;研究Sfrp5, Klotho血清表达量在T2DM患者氧化应激、脂肪细胞因子分泌的相关性有助于进一步研究T2DM患者氧化应激的发生机制,为评估T2DM患者氧化应激和胰岛素抵抗水平提供新的生物标志物。

1 对象与方法

1.1 对象

研究经秦皇岛市第一医院医学伦理委员会批准。选取2016年1月至2017年11月间于秦皇岛市第一医院内分泌科确诊的2型糖尿病患者(T2DM组)和糖耐量减低患者(IGT组)。所有纳入研究的患者获得家属知情同意均在空腹状态下进行口服葡萄

糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT),其中糖尿病的诊断标准为空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L或和OGTT后2 h血糖 ≥ 11.1 mmol/L,糖耐量减低的标准为空腹血糖 < 6.1 mmol/L,OGTT后2 h血糖 > 7.8 mmol/L但 < 11.1 mmol/L^[4]。排除标准:1)1型糖尿病患者;2)既往有糖尿病病史且近期正在应用降糖治疗;3)合并有心脑血管疾病以其他系统慢性疾病;4)妊娠妇女、恶性肿瘤、急慢性感染、痛风、高血脂、自身免疫性疾病。

1.2 实验室检查

于患者治疗前清晨空腹状态下抽取无抗凝剂静脉血2 mL,高速离心机离心后留取血清样本。血清Sfrp5, Klotho,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),丙二醛(malondialdehyd, MDA),内脂素,脂联素和瘦素水平均使用相应ELISA检测试剂盒及其配套试剂(美国Genetex公司生产,购自上海西宝生物科技有限公司)由EL-10A全自动酶标仪(山东博科生物产业有限公司)进行定量检测。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0统计软件版进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用方差分析比较组间差异,两两比较采用S-N-K法;计数资料以例数(构成比)表示,组间差异比较采用 χ^2 检验;应用Pearson相关模型探究指标间的相关性。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3组一般资料间的比较

共纳入T2DM患者和IGT患者各60例, 并选择60例同年龄段健康体检者作为对照组, 3组一般资料间差异无统计学意义($P>0.05$, 表1)。

2.2 3组 Sfrp5 和 Klotho 表达量间比较

IGT组和T2DM组患者的Sfrp5和Klotho的表达量明显低于对照组($t_{IGT}=6.951$, 5.171, $t_{T2DM}=9.485$, 8.632, $P<0.05$); T2DM组患者的Sfrp5和Klotho的表达量明显低于IGT组($t=2.590$, 5.171; $P=0.011$, <0.001 ; 图1)。

2.3 3组氧化应激与脂肪细胞因子水平间比较

与对照组和IGT组相比, T2DM组的SOD、内脂素和脂联素水平更低($t_{对照组}=11.033$, 8.289,

10.986, $t_{IGT}=3.917$, 5.885, 7.800; P 均 <0.001), 而MDA和瘦素水平较高($t_{对照组}=11.524$, 6.577, $t_{IGT}=11.070$, 5.555; P 均 <0.001 ; 表2)。

2.4 Sfrp5 表达量与氧化应激与脂肪细胞因子水平间的相关性

相关性分析显示: Sfrp5表达量与SOD($r=0.470$)、内脂素($r=0.495$)和脂联素($r=0.556$)水平呈正相关, 而与MDA($r=-0.567$)和瘦素($r=-0.552$)水平呈负相关(图2)。

2.5 Klotho 表达量与氧化应激与脂肪细胞因子水平间的相关性

相关性分析显示: Klotho表达量与SOD($r=0.482$)、内脂素($r=0.396$)和脂联素($r=0.479$)水平呈正相关, 而与MDA($r=-0.496$)和瘦素($r=-0.498$)水平呈负相关(图3)。

表1 3组一般资料比较($n=60$)

Table 1 Comparison of general information among the 3 groups ($n=60$)

组别	年龄/岁	性别/[例(%)]		血压/mmHg		总胆固醇/(mmol·L ⁻¹)
		男	女	收缩压	舒张压	
对照组	50.62 ± 8.18	33 (55.00)	27 (45.00)	121.34 ± 7.22	77.21 ± 8.13	4.76 ± 0.82
IGT组	51.33 ± 8.59	35 (58.33)	25 (41.67)	122.63 ± 9.76	78.25 ± 9.16	4.90 ± 0.78
T2DM组	52.41 ± 8.30	39 (65.00)	21 (35.00)	124.18 ± 9.91	80.03 ± 9.38	5.02 ± 0.89
<i>P</i>	0.322	0.525		0.089	0.083	0.103

组别	总三酰甘油/(mmol·L ⁻¹)	低密度脂蛋白胆固醇/(mmol·L ⁻¹)	高密度脂蛋白胆固醇/(mmol·L ⁻¹)	血肌酐/(μmol·L ⁻¹)	尿素氮/(mmol·L ⁻¹)
对照组	1.54 ± 0.43	2.57 ± 0.58	1.46 ± 0.39	71.35 ± 12.32	4.38 ± 1.02
IGT组	1.65 ± 0.49	2.69 ± 0.62	1.41 ± 0.35	73.39 ± 14.01	4.51 ± 0.98
T2DM组	1.71 ± 0.65	2.73 ± 0.65	1.35 ± 0.38	75.16 ± 16.31	4.63 ± 1.19
<i>P</i>	0.073	0.164	0.120	0.347	0.441

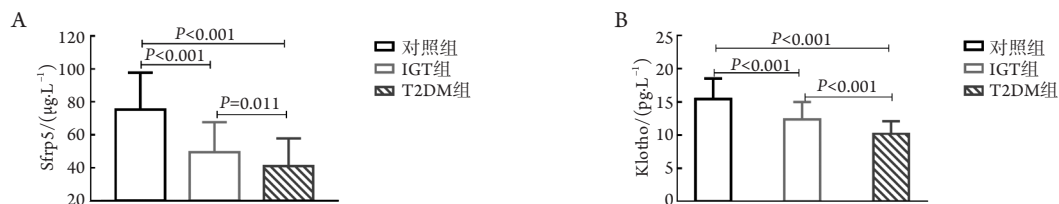


图1 3组Sfrp5(A)和Klotho(B)表达量比较($n=60$)

Figure 1 Comparison of expression levels of Sfrp5 (A) and Klotho (B) among the 3 groups ($n=60$)

表2 3组氧化应激和脂肪细胞因子水平比较

Table 2 Comparison of oxidative stress and adipocytokines among the 3 groups

组别	氧化应激		脂肪细胞因子		
	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹)	内脂素/(nmol·L ⁻¹)	脂联素/(nmol·L ⁻¹)	瘦素/(nmol·L ⁻¹)
对照组	96.35 ± 9.79	3.31 ± 1.02	10.45 ± 2.03	7.07 ± 0.78	6.56 ± 0.79
IGT组	83.86 ± 9.09*	4.50 ± 1.68*	9.56 ± 1.79*	6.57 ± 0.67*	7.43 ± 0.73*
T2DM组	77.38 ± 9.03* [#]	6.77 ± 2.09* [#]	7.91 ± 1.23* [#]	5.63 ± 0.65* [#]	8.25 ± 0.88* [#]

与对照组相比, * $P < 0.05$; 与IGT组相比, [#] $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the IGT group, [#] $P < 0.05$.

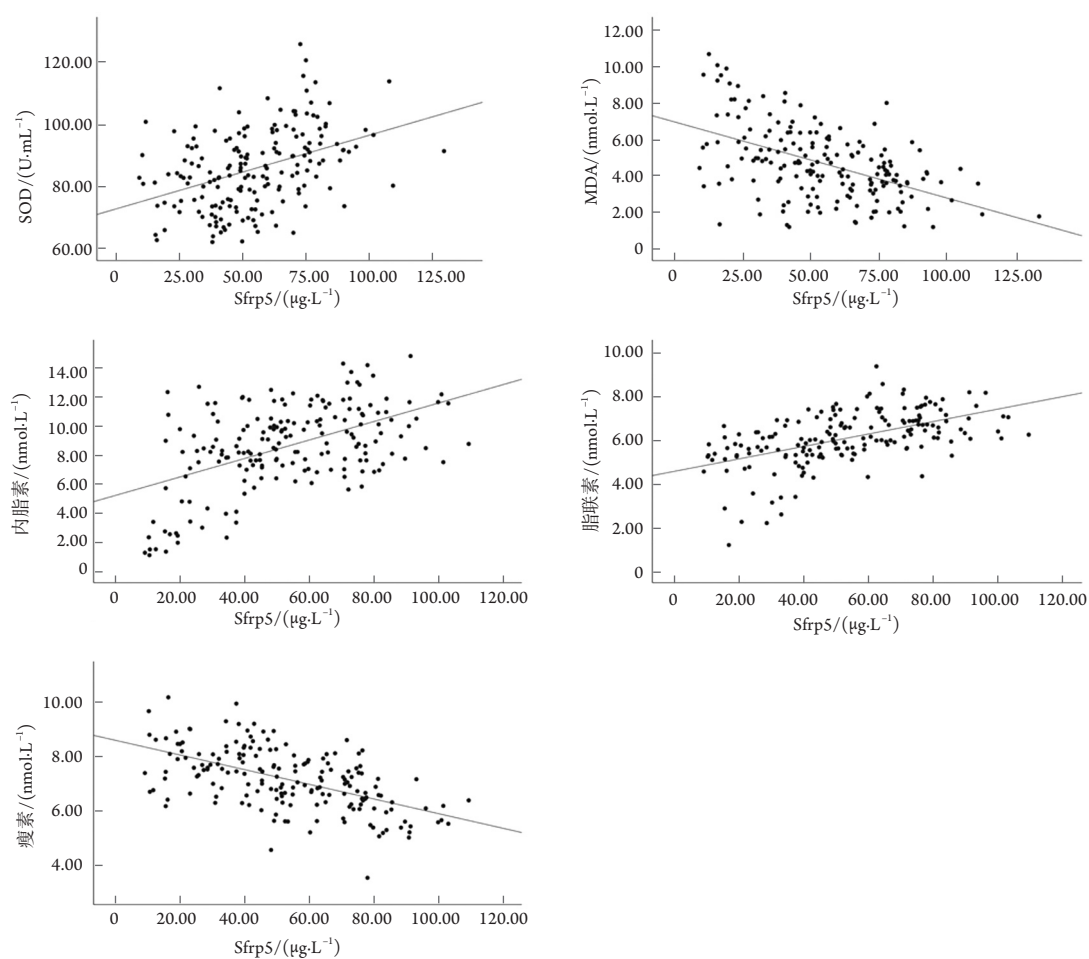


图2 Sfrp5表达量与氧化应激和脂肪细胞因子水平间的相关性

Figure 2 Correlation between Sfrp5 expression and oxidative stress and adipocytokine levels

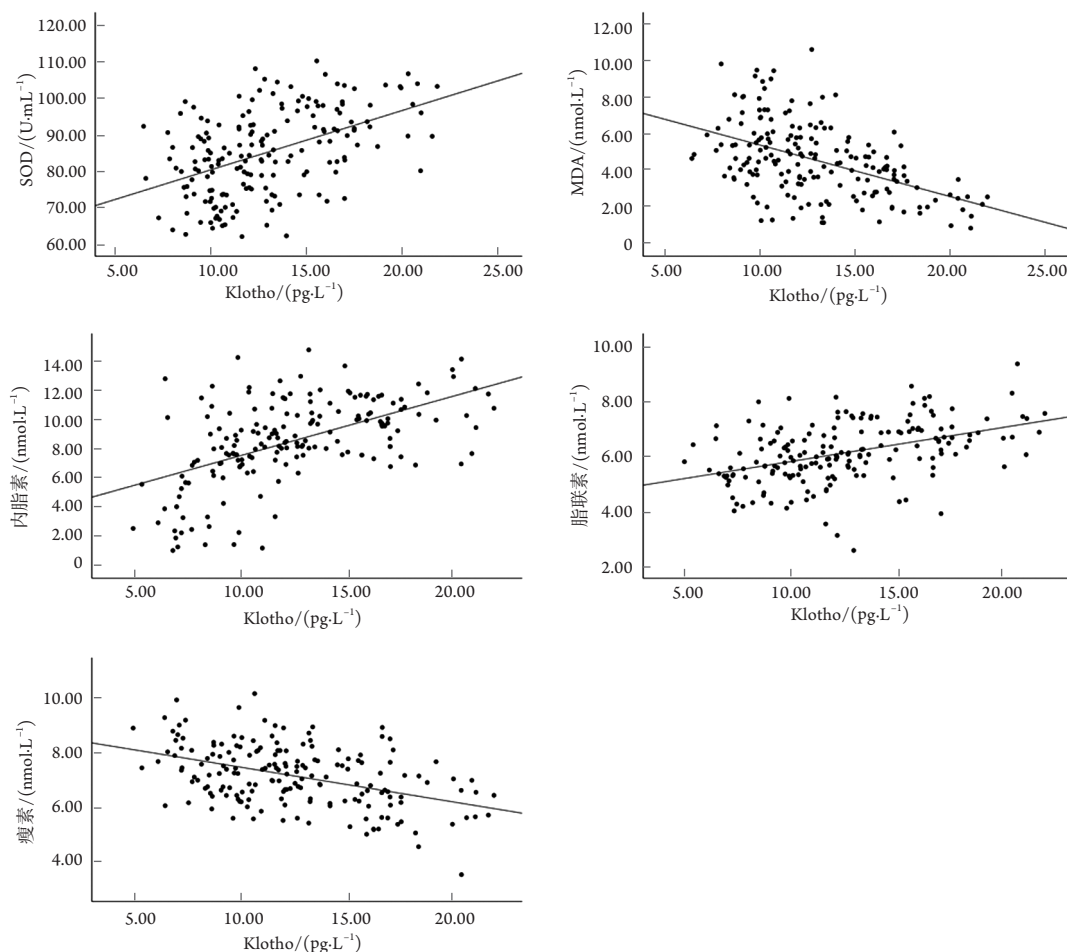


图3 Klotho表达量与氧化应激和脂肪细胞因子水平间的相关性

Figure 3 Correlation between Klotho expression and oxidative stress and adipocytokine levels

3 讨论

糖尿病是一种最常见的慢性非传染性疾病,严重影响患者的生活质量^[5],其相关并发症亦造成严重的家庭和社会负担。尽管目前对于糖尿病的治疗已取得了较好的疗效,但其发病机制尚未完全阐明,也缺乏病因针对性治疗。肥胖是T2DM的重要独立危险因素,在胰岛素抵抗中发挥重要作用^[6],而其可能的机制被认为与脂肪组织的慢性非特异性自身免疫反应有关,这一炎症反应主要体现在氧化应激反应和脂肪细胞因子的分泌失调^[7]。

Sfrp5是脂肪细胞特异性分泌的一种具有激素作用的蛋白,具有抑制炎症细胞浸润和炎症因子释放的功能。研究^[8]提示其循环表达量与胰岛素抵抗密切相关;抗衰老蛋白Klotho主要由肾脏产生,参与了机体的钙磷代谢过程,其与成纤维细胞生长因子23(fibroblast growth factor 23, FGF23)共同作用,在糖尿病血管和肾损伤中起重

要作用^[3]。本研究通过对T2DM, IGT和健康体检人群3组血清Sfrp5和Klotho的表达量,结果显示:T2DM和IGT患者的Sfrp5和Klotho的表达量均明显低于对照组,而T2DM患者的表达量更低,这提示Sfrp5和Klotho的表达水平与糖耐量(即胰岛素抵抗)存在负相关,这与Hu等^[9]和Silva等^[3]等对上述两种新型激素与胰岛素抵抗的相关性研究结果较为相似。

MDA是一种具有强氧化性的小分子物质,为机体内常见的氧化应激产物;SOD是细胞内清除氧自由基,抑制氧化应激反应的典型酶类^[10]。MDA和SOD的水平是评估机体氧化应激状态的重要指标,T2DM患者的SOD水平最低,而MDA最高,IGT患者次之,这提示糖耐量和胰岛素抵抗与机体的氧化应激水平密切相关。脂肪细胞因子由脂肪细胞和脂肪组织中浸润的炎症细胞共同产生,其中脂联素和瘦素具有明显的促炎作用,而高水平的内脂素则表现出显著抑制炎症反应的效

果^[11]。这与本研究中T2DM患者的内脂素水平较低而脂联素和瘦素水平明显升高相符,也提示胰岛素抵抗程度与脂肪组织的炎性水平具有较高的相关性。

通过应用Pearson相关性分析探究Sfrp5和Klotho的表达量与不同糖耐量状态患者的氧化应激与脂肪因子分泌状态的相关性,结果显示:Sfrp5和Klotho的表达量与SOD、内脂素和脂联素水平正相关,而与MDA和瘦素水平呈负相关。研究^[12]显示:Sfrp5可以调节肥胖小鼠的代谢功能障碍,在白色脂肪组织中,Sfrp5在转录本和蛋白质水平都高于其他组织的水平表达;Sfrp5可以通过Wnt/JNK信号通路抑制脂肪组织的氧化应激反应,并对脂肪细胞因子的分泌进行调节,这一系列过程是通过在细胞外间隙隔离Wnt蛋白并阻止Wnt与其受体结合实现的^[13]。而脂肪组织功能失调时,Wnt信号的过度活化可以反向抑制Sfrp5的mRNA表达,从而表现为Sfrp5表达量降低,而氧化应激反应和促炎脂肪细胞因子高表达^[14]。Klotho蛋白家族包含 α -Klotho和 β -Klotho两种,这两种蛋白均位于细胞膜上,并与成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)共同发挥作用,参与组织和器官(如脑、肝、肾)的代谢过程^[15]。 β -Klotho可以与FGF21相结合,表现出增加胰岛素敏感性和增强葡萄糖代谢从而诱导减重等多种作用。此外,流行病学研究^[16]还显示:低血清klotho水平和肾功能减退具有显著相关性,且独立于多数已知的肾功能减退危险因素,其作为糖尿病肾病的预测因子具有较高的应用价值^[17];这一机制可能与Klotho/FGF通路抑制血管和肾小球的氧化应激反应,直接活化ROS^[18]并通过NF- κ B途径抑制炎症脂肪细胞因子的表达^[19],而调高内脂素水平有关^[20]。

综上所述,糖尿病患者Sfrp5, Klotho血清表达量明显降低;Sfrp5, Klotho可能在糖尿病患者氧化应激、脂肪组织炎症反应中发挥重要作用。

参考文献

1. Yang L, Shao J, Bian Y, et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among inland residents in China (2000-2014): a meta-analysis[J]. *J Diabetes Investig*, 2016, 7(6): 845-852.
2. Razzaque MS. The role of Klotho in energy metabolism[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8(10): 579-587.
3. Silva AP, Mendes F, Pereira L, et al. Klotho levels: association with insulin resistance and albumin-to-creatinine ratio in type 2 diabetic patients[J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(10): 1809-1814.
4. 梁峰, 胡大一, 沈珠军. 2014美国糖尿病指南: 糖尿病诊疗标准[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2014, 8(6): 1182-1190.
LIANG Feng, HU Dayi, SHEN Zhujun. 2014 American diabetes guide: diabetes treatment standards[J]. *Chinese Journal of Clinicians. Electronic Version*, 2014, 8(6): 1182-1190.
5. Zhou H, Zhu J, Liu L, et al. Diabetes-related distress and its associated factors among patients with type 2 diabetes mellitus in China[J]. *Psychiatry Res*, 2017, 252: 45-50.
6. 王越, 李启富. 肥胖与糖尿病肾病: 探索与思考[J]. *中华糖尿病杂志*, 2017, 9(4): 214-217.
WANG Yue, LI Qifu. Obesity and diabetic nephropathy: exploration and thinking[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2017, 9(4): 214-217.
7. Wang X, Yao B, Wang Y, et al. Macrophage cyclooxygenase-2 protects against development of diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2017, 66(2): 494-504.
8. Xu Q, Wang H, Li Y, et al. Plasma Sfrp5 levels correlate with determinants of the metabolic syndrome in Chinese adults[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2017, 33(6).
9. Hu W, Li L, Yang M, et al. Circulating Sfrp5 is a signature of obesity-related metabolic disorders and is regulated by glucose and liraglutide in humans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(1): 290-298.
10. Herder C, Carstensen M, Ouwens DM. Anti-inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15(Suppl 3): 39-50.
11. Nakamura K, Fuster JJ, Walsh K. Adipokines: a link between obesity and cardiovascular disease[J]. *J Cardiol*, 2014, 63(4): 250-259.
12. Chu DT, Malinowska E, Gawronska-Kozak B, et al. Expression of adipocyte biomarkers in a primary cell culture models reflects preweaning adipobiology[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(26): 18478-18488.
13. Nakamura K, Sano S, Fuster JJ, et al. Secreted frizzled-related protein 5 diminishes cardiac inflammation and protects the heart from ischemia/reperfusion injury[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(6): 2566-2575.
14. Carstensen M, Wiza C, Röhrig K, et al. Effect of Sfrp5 on cytokine release and insulin action in primary human adipocytes and skeletal muscle cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85906.
15. Lee S, Choi J, Mohanty J, et al. Structures of β -klotho reveal a 'zip code'-like mechanism for endocrine FGF signalling[J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 501-505.
16. 王雪, 王云枝. 糖尿病肾病发生及发展的相关因素[J]. *中国临床实用医学*, 2017, 8(5): 99-101.
WANG Xue, WANG Yunzhi. Factors related to the occurrence and development of diabetic nephropathy[J]. *Chinese Journal of Clinical Practical Medicine*, 2017, 8(5): 99-101.
17. Lu X, Hu MC. Klotho/FGF23 axis in chronic kidney disease and

- cardiovascular disease[J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2017, 3(1): 15-23.
18. Guo Y, Zhuang X, Huang Z, et al. Klotho protects the heart from hyperglycemia-induced injury by inactivating ROS and NF- κ B-mediated inflammation both in vitro and in vivo[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1864(1): 238-251.
19. Weng Y, Chabot JR, Bernardo B, et al. Pharmacokinetics (PK), pharmacodynamics (PD) and integrated PK/PD modeling of a novel long acting FGF21 clinical candidate PF-05231023 in diet-induced obese and leptin-deficient obese mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119104.
20. Sun B, Yang G, Yang M, et al. Long-term high-fat diet links the regulation of the insulin-sensitizing fibroblast growth factor-21 and visfatin[J]. *Cytokine*, 2012, 59(1): 131-137.

本文引用: 王蕊, 安建立, 朱悦雨, 田伊茗, 尹福在, 陆强, 韩改玲, 张伟东, 付静静, 王锐. Sfrp5, Klotho血清表达量在糖尿病患者氧化应激、脂肪细胞因子分泌中的相关性[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(8): 1702-1708. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.018

Cite this article as: WANG Rui, AN Jianli, ZHU Yueyu, TIAN Yiming, YIN Fuzai, LU Qiang, HAN Gailing, ZHANG Weidong, FU Jingjing, WANG Rui. Relationship of Sfrp5 and Klotho serum levels on oxidative stress and secretion of adipocytokines in diabetic patients[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(8): 1702-1708. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.08.018