

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.06.012

文章编号: 1005-8982(2016)06-0054-05

临床论著

视黄醇结合蛋白 4、中性粒细胞淋巴细胞比值 与 2 型糖尿病视网膜病变的关系

殷俏, 郭淑芹, 张云良, 王翥, 肖艳新, 王君, 程晓东, 温晓英
(河北省保定市第一中心医院 内分泌一科, 河北 保定 071000)

摘要:目的 检测视黄醇结合蛋白 4(RBP4)及中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)在 2 型糖尿病视网膜病变(DR)的表达水平,探讨 RBP4、NLR 与 DR 的相关性。**方法** 选取 163 例患者作为研究对象,其中单纯 2 型糖尿病(T2DM)组 41 例,非增生性 2 型糖尿病视网膜病变(NPDR)组 40 例,增生性 2 型糖尿病视网膜病变(PDR)组 42 例,40 例正常体检人作为对照组(NC)。空腹 10 h 后检测所有受试者静脉血糖、三酰甘油、胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、尿酸、同型半胱氨酸、空腹胰岛素、中性粒细胞与淋巴细胞,计算 NLR。稳态模型评估胰岛素抵抗指数。酶联免疫吸附法测定血清 RBP4。采用方差分析、相关分析及 Logistic 逐步回归进行统计学分析。**结果** 与 NC 组比较,T2DM 组、NPDR 组、PDR 组 RBP4、NLR 显著升高,与 NPDR 组比较 RDR 组 RBP4 显著升高(P 均 < 0.05)。RBP4 与收缩压、舒张压、空腹血糖、胰岛素抵抗指数、三酰甘油、胆固醇、同型半胱氨酸、NLR 呈正相关,与高密度脂蛋白呈负相关($P < 0.05$)。Logistic 回归分析发现收缩压、空腹血糖、RBP4、NLR、胰岛素抵抗、胆固醇为 DR 的危险因素。**结论** RBP4 与 NLR 在 DR 患者表达水平增高,且 NLR 可影响 DR 患者血清 RBP4 表达,RBP4 与 NLR 是 DR 的危险因素,与 DR 相关。

关键词: 视黄醇结合蛋白 4;中性粒细胞与淋巴细胞比值;2 型糖尿病;糖尿病视网膜病变

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

Relationship of serum RBP4 and neutrophil-lymphocyte ratio with type 2 diabetic retinopathy

Qiao Yin, Shu-qin Guo, Yun-liang Zhang, He Wang, Yan-xin Xiao,
Jun Wang, Xiao-dong Cheng, Xiao-ying Wen
(The First Department of Endocrinology, the First Central Hospital of Baoding,
Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: Objective To detect the expression level of retinol binding protein 4 (RBP4) and neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) in type 2 diabetic retinopathy (DR) patients, and to explore the relationship of RBP4 and NLR with DR. **Methods** A total of 163 subjects were investigated, including 41 cases of type 2 diabetes mellitus (T2DM group), 40 cases of non-proliferative type 2 diabetic retinopathy (NPDR group), 42 cases of proliferative diabetic retinopathy (PDR group) and 40 cases of normal control (NC group). Venous plasma glucose, circulating triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, uric acid, homocysteine, neutrophil count and lymphocyte count were detected 10 hours after fasting test; and NLR was calculated. Fasting insulin was measured by electrochemical luminescence, and insulin resistance (HOMA-IR) was determined by homeostasis model assessment. Serum RBP4 was measured by enzyme linked immunosorbent assay. Data were statistically analyzed using analysis of variance, correlation analysis and logistic stepwise regression analysis. **Results** Compared with the NC group, RBP4 and NLR of the T2DM, NPDR and PDR groups significantly increased ($P < 0.05$), the increase of RBP4 in the PDR group was more significant than that in the NPDR group ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that RBP4 correlated with systolic blood pressure, diastolic blood pressure, fasting blood glucose,

收稿日期: 2015-10-15

[通信作者] 郭淑芹, E-mail: 981491509@qq.com; Tel: 15733810869

HOMA-IR, circulating triglycerides, total cholesterol, homocysteine and NLR; but negatively correlated with high-density lipoprotein cholesterol ($P < 0.05$). Logistic stepwise regression analysis showed that RBP4, NLR, systolic pressure, fasting blood glucose, HOMA-IR and cholesterol were the risk factors of DR. **Conclusions** RBP4 expression level and NLR increase in patients with DR, and NLR can affect serum RBP4 expression in DR patients. RBP4 and NLR are the risk factors for DR, and associated with DR.

Keywords: retinol binding protein 4; neutrophil-lymphocyte ratio; type 2 diabetes mellitus; diabetic retinopathy

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病的常见并发症。据统计,2013 年全世界约 3.82 亿人患有糖尿病,中国拥有 9 800 万 20~79 岁的糖尿病患者,其中 DR 的患病率为 24.7%~37.5%^[1]。其中大约 10% 的患者存在视力障碍,2% 的患者失明,随着糖尿病患病率的增加,预计到 2030 年糖尿病患者失明的人数将增加一倍^[2]。但其发病机制目前尚不清楚,由于 DR 过程中出现多种炎症反应因素的参与,越来越多的学者认为 DR 可能是一种慢性、低度炎症反应过程^[2]。中性粒细胞与淋巴细胞比例(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)是一种廉价、简单、实用的炎性标记物,研究证明 NLR 是癌症和心血管疾病预后的危险因素^[3-4],脂肪因子视黄醇结合蛋白 4(retinol binding protein 4, RBP4)由肝脏合成,参与炎症活动,促进胰岛素抵抗^[5]。有研究提示慢性炎症与胰岛素抵抗有关^[6],可加速糖尿病患者微血管病变的进展。因此, RBP4 与 NLR 可能相关且与 DR 有密切关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 11 月-2015 年 3 月于保定市第一中心医院住院治疗的 163 人。其中,男性 88 例,女性 75 例,年龄 45~77 岁,平均(55.07 ± 9.611)岁,分为单纯 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)组 41 人,非增生性 2 型糖尿病视网膜病变(nonproliferative diabetic retinopathy, NPDR)组 40 人,增生性 2 型糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)组 42 人;同时,选取 40 例正常人作为对照组(NC)。糖尿病患者均符合 1999 年 WHO 世界卫生组织 2 型糖尿病诊断标准;依据 2002 年国际糖尿病性视网膜病变分期标准对 DR 患者分期。排除①患有感染性疾病、肝脏疾病、血液系统疾病、恶性肿瘤疾病;②伴有 1 型糖尿病、特殊类型糖尿病、糖尿病急性并发症、甲状腺疾病、自身免疫疾病、外伤等疾病的患者;③1 月内服用过影响血液流变学药物、糖皮质激素、非甾体抗炎等药物。

1.2 指标测定

所有视网膜病变患者均初次就诊且未应用药物治疗,询问并记录所有研究对象的年龄、性别,测量其身高、体重、血压,均禁食 10 h 后次日清晨采集空腹静脉血。日本希森美康公司生产 XE-2100 仪器测量中性粒细胞、淋巴细胞数,计算 $NLR = \text{中性粒细胞数} / \text{淋巴细胞数}$ 。日立全自动 7600 生化仪器检验空腹静脉血糖(fasting blood-glucose, FPG)、三酰甘油(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, CHO)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、尿酸(uric acid; UA)、同型半胱氨酸(homocysteine, HCY)。电化学发光法(德国罗氏电化学发光仪 Cobas6000-E601)测定空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)。稳态模型评估胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = 空腹血糖(mmol/L) × 空腹胰岛素(mIU/L) / 22.5。日本爱科莱 HA8180 型仪器测量 HbA1C 含量。酶联免疫吸附法测定 RBP4(上海酶联免疫生物科技有限公司提供试剂盒),批内差异 <6%,批间差异 <10%。近 2 个月使用二甲双胍 250 mg/d 以上为二甲双胍使用阳性。(本位研究对象为初发视网膜病变患者研究其发病机制,未对患者治疗效果追查,因此对治疗效果未进行分析,以后会对本部分患者进行跟踪调查再做分析)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析, Shapiro-Wilk 检验资料是否符合正态分布,正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布资料经对数转换,转换后仍为非正态以中位数及四分位数间距表示;方差齐性检验采用 Levene 检验,方差齐的多组间比较用方差分析,组间差异比较采用 q 检验;方差不齐多组间比较采用非参数 H 检验,两两比较采用 Nemenyi 检验;计数资料用率表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关分析采用 Pearson 相关分析方法。视网膜病变是否发生的危险因素采用 Logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组基本资料比较

4 组年龄、性别差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。随着病情加重 4 组病程、收缩压、舒张压、体重指数呈升高趋势(均 $P < 0.05$),见表 1。

2.2 各组生化指标比较

随着病情加重 4 组 HbA1C、FBG、FINS、HOMA-IR、TG、CHO、UA、Hcy 呈升高趋势,高密度脂蛋白呈下降趋势(均 $P < 0.05$)。与 NC 组比较,DM 组、NPDR 组、PDR 组 RBP4、NLR 显著升高(RBP4 q 值分别为

3.088、5.768、4.870,NLR q 值分别为 0.47、1.03、1.83,均 $P < 0.05$)。与 NPDR 组比较 PDR 组 RBP4 显著升高(q 值分别为 30.291, $P < 0.05$),与 DM 组比较 NPDR 组、PDR 组 NLR 显著升高(q 值分别为 0.64、1.41,均 $P < 0.05$),见表 2。

2.3 Pearson 相关分析

收缩压、舒张压、FBG、HOMA-IR、TG、CHO、Hcy、NLR 与 RBP4 呈正相关(r 分别为 0.235、0.200、0.336、0.428、0.172、0.242、0.900、0.268, $P < 0.05$),与 HDL 呈负相关($r = -0.406, P < 0.05$)。

表 1 各组基本资料比较

组别	例数	男/女/例	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	病程/ (年, $\bar{x} \pm s$)	体重指数/ ($\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x} \pm s$)	收缩压/ ($\text{mmHg}, \bar{x} \pm s$)	舒张压/ ($\text{mmHg}, \bar{x} \pm s$)	二甲双胍/ (+/-, 例)
NC 组	40	23/17	52.97 \pm 9.71		24.87 \pm 2.52	129.71 \pm 25.49	77.21 \pm 12.63	
T2DM 组	41	25/16	53.54 \pm 10.18	6.55 \pm 4.96	26.56 \pm 2.46 ¹⁾	137.90 \pm 19.71	83.41 \pm 12.43 ¹⁾	12/29
NPDR 组	40	18/22	57.34 \pm 9.82	11.77 \pm 5.32 ²⁾	26.85 \pm 3.83 ¹⁾	140.42 \pm 21.15 ¹⁾	83.52 \pm 10.74 ¹⁾	10/30
PDR 组	42	22/22	57.07 \pm 7.72	11.46 \pm 6.06 ²⁾	26.79 \pm 3.43 ¹⁾	148.29 \pm 16.18 ¹⁾²⁾	84.71 \pm 8.12 ¹⁾	9/33
F/χ^2 值		2.554	1.895	10.456	3.079	4.092	2.957	0.678
P 值		0.466	0.537	0.000	0.030	0.008	0.035	0.713

注:1)与 NC 组比较, $P < 0.05$;2)与 T2DM 组比较, $P < 0.05$;3)与 NPDR 组比较, $P < 0.05$

表 2 各组生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	HbA1C/%	FBG/(mmol/L)	FINS/($\mu\text{U}/\text{L}$)	HOMA-IR	TG/(mmol/L)	CHO/(mmol/L)
NC 组	4.62 \pm 0.76	5.53 \pm 0.31	6.45(3.65, 9.01)	1.67(1.56, 1.73)	1.05 \pm 0.29	4.62 \pm 0.65
T2DM 组	8.48 \pm 1.73 ¹⁾	9.77 \pm 3.40 ¹⁾	10.01(4.59, 15.01) ¹⁾	3.14(1.97, 4.69) ¹⁾	1.82 \pm 0.68 ¹⁾	4.92 \pm 1.00
NPDR 组	8.65 \pm 1.18 ¹⁾	10.93 \pm 2.97 ¹⁾²⁾	12.95(6.21, 17.14) ¹⁾	6.28(3.37, 8.29) ¹⁾²⁾	1.61 \pm 0.79 ¹⁾	5.76 \pm 1.30 ¹⁾²⁾
PDR 组	9.07 \pm 1.65 ¹⁾	10.96 \pm 1.52 ¹⁾²⁾	12.21(8.43, 16.92) ¹⁾	6.92(4.82, 8.58) ¹⁾²⁾	1.82 \pm 0.76 ¹⁾	5.90 \pm 1.30 ¹⁾²⁾
F/H 值	84.51	42.24	8.82	104.875	11.876	15.278
P 值	0.000	0.000	0.03	0.000	0.000	0.000

组别	LDL/(mmol/L)	HDL/(mmol/L)	UA/($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Hcy/($\mu\text{mol}/\text{L}$)	RBP4/(mg/L)	NLR
NC 组	2.63 \pm 0.54	1.52 \pm 0.25	270.56 \pm 51.51	11.98 \pm 1.34	41.80 \pm 6.22	0.35 \pm 0.11
T2DM 组	2.89 \pm 0.78	1.13 \pm 0.251)	290.90 \pm 86.10	12.49 \pm 1.51	45.20 \pm 7.09 ¹⁾	0.39 \pm 0.99 ¹⁾
NPDR 组	2.55 \pm 0.69	1.08 \pm 0.26 ¹⁾	308.83 \pm 73.89 ¹⁾	14.37 \pm 1.83 ¹⁾²⁾	48.19 \pm 6.49 ¹⁾	0.44 \pm 0.93 ¹⁾²⁾
PDR 组	2.70 \pm 0.87	1.01 \pm 0.32 ¹⁾²⁾	319.91 \pm 90.19 ¹⁾	16.16 \pm 2.30 ¹⁾²⁾³⁾	57.13 \pm 8.13 ¹⁾²⁾³⁾	0.48 \pm 0.11 ¹⁾²⁾
F/H 值	1.742	34.313	2.931	47.828	33.224	15.02
P 值	0.161	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000

注:1)与 NC 组比较, $P < 0.05$;2)与 T2DM 组比较, $P < 0.05$;3)与 NPDR 组比较, $P < 0.05$

表 3 2 型糖尿病视网膜病变患者危险因素的 Logistic 回归分析

相关因素	β 值	SE	Wald 值	OR 值	95%CI		P 值
					下限	上限	
收缩压	1.156	0.565	7.206	4.553	1.505	13.769	0.007
FBG	3.104	0.744	17.432	22.292	5.191	95.726	0.000
NLR	1.297	0.441	8.670	3.660	1.543	8.681	0.003
RBP4	0.905	0.404	5.010	2.472	1.119	5.459	0.025
CHO	2.856	0.928	9.471	17.386	2.821	107.160	0.002
HOMA-IR	1.677	0.461	13.237	5.349	2.167	13.200	0.000

2.4 Logistic 回归分析

将所有患者按照有无 DR 分组后以病程、收缩压、舒张压、FBG、HDL、TG、CHO、RBP4、NLR 为协变量进行 logistic 回归分析,结果显示收缩压、FBG、RBP4、NLR、CHO、HOMA-IR 是 DR 患者的危险因素,见表 3。

3 讨论

DR 是糖尿病严重的微血管病变之一,其病变过程包括白细胞黏附、聚集和移行,血管渗透性增加和血流动力学改变,但具体发病机制尚不清楚。因此,对 DR 的发病机制、早期筛查及治疗方法的探索显得尤为重要,目前认为的发病机制是高血糖、多元醇-肌醇代谢异常、血流动力学障碍、凝血机制异常、蛋白质非酶促糖基化、氧自由基形成及血管增生因子等多种因素的协同作用^[1]。RBP4 是血液中唯一转运视黄醇的蛋白,主要在肝脏合成,脂肪组织是第 2 来源。NLR 一种廉价的反应炎症的指标,可预测糖尿病肾病恶化程度^[2]。本研究结果提示,血清 RBP4 值随着 DR 的加重而增加,原因可能是 RBP4 能够通过某些促炎机制导致视网膜毛细血管功能障碍进而促进 DR 的发展。Farjo 等^[3]研究发现 RBP4 通过视黄醇特有的膜受体 STRA6 及部分激活 NADPH 氧化酶刺激视网膜毛细血管内皮细胞表达血管细胞黏附分子-1、细胞间黏附分子-1、E-选择素、单核细胞趋化蛋白-1 和白细胞介素-6,进而促使白细胞聚集和黏附到内皮细胞,导致视网膜毛细血管内皮细胞功能障碍加速 DR 进程。Du 等^[4]研究发现 RBP4 通过视黄醇独有机制驱动炎症反应促进 DR 的进展,具体表现为视网膜白细胞介素-18(IL-18)的 mRNA 及活化(裂解)的 IL-18 蛋白表达增多。有研究发现 RBP4 可以抑制内皮细胞的胰岛素活性,导致血管舒张依赖的一氧化氮水平减弱,促进血管内皮功能的紊乱^[10]。研究发现 PDR 组及 NPDR 组较 T2DM 组 NLR 值明显升高,其原因可能归因于高糖对中性粒细胞及淋巴细胞的作用。有报道,血糖控制较差的 2 型糖尿病患者的外周血淋巴细胞氧化性 DNA 损伤增加^[11],淋巴细胞凋亡增多^[12];与此相反,外周血中性粒细胞凋亡减少,受损中性粒细胞清除时间延长,连延至慢性炎症^[13],慢性炎症反过来又增加胰岛素抵抗,加速高糖毒性,同时本文得出 PDR 组及 NPDR 组 FBG 及 HOMA-IR 较 T2DM 组明显升高,与上述结论相同。Logistic 回归分析显示 RBP4

和 NLR 是 DR 的危险因素,因此,2 型糖尿病患者 RBP4 和 NLR 增高提示 DR 病情加重。

本研究发现 RBP4 与 NLR 正相关,但两者之间的具体影响机制尚不清楚。猜测 NLR 与 RBP4 都与炎症有关,都能促使白细胞聚集黏附,损伤血管内皮细胞,进而在 DR 的进程中起到协同作用。

本研究发现 RBP4 与 HOMA-IR 正相关,胰岛素抵抗可引起糖、脂类、蛋白代谢异常,增加 DR 的发生。同时,得出 RBP4 与 CHO、TG 正相关,与 HDL-C 呈负相关,Wu 等^[14]研究显示在血脂异常患者中血清 RBP4 促进小而密低密度脂蛋白胆固醇及氧化低密度脂蛋白胆固醇合成增多,高血脂可通过多元醇及非酶促糖基化促进组织氧化,同时高脂增加血液黏度,减慢血流速度,增加视网膜血管缺氧,导致血管内皮功能紊乱,使 DR 加重。Hcy 为含硫氨基酸,是蛋氨酸代谢过程中的重要中间产物,本研究得出 RBP4 与 Hcy 正相关,具体机制国内尚未相关报道。可能的机制是 Hcy 可减少一氧化氮的释放,促进血小板聚集,损害血管内皮,在损伤血管上机制与 RBP4 相似。本文得出 DR 患者 UA 较正常人升高,国内研究 UA>212 mmol/L,DR 发生率及发病风险增加^[15]。

综上所述,本研究结果显示:DR 患者 RBP4 与 NLR 增高,提示两者是 DR 的危险因素之一;NLR 可影响 DR 患者血清 RBP4 表达;为 DR 的较早筛查提供依据、发病机制提供新思路、治疗提供新方法。但 RBP4 与 NLR 在 DR 的具体作用机制需要更深入的研究。

参 考 文 献:

- [1] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014 年)[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(11): 851-865.
- [2] Whiting DR, Guariguata L, Weil L, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030 [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2011, 94(3): 311-321.
- [3] Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, et al. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients with colorectal cancer [J]. Br J Cancer, 2013, 109(2): 401-407.
- [4] Sen N, Afsar B, Ozcan F, et al. The neutrophil to lymphocyte ratio was associated with impaired myocardial perfusion and long term adverse outcome in patients with ST-elevated myocardial infarction undergoing primary coronary intervention [J]. Atherosclero-

- sis, 2013, 228(1): 203-210.
- [5] Moraes-Vieira PM, Yore MM, Dwyer PM, et al. RBP4 activates antigen-presenting cells, leading to adipose tissue inflammation and systemic insulin resistance[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(3): 512-526.
- [6] Hummasti S, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity and diabetes[J]. *Circ Res*, 2010, 107(5): 579-591.
- [7] Okyay GU, Inal S, Onec K, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio in evaluation of inflammation in patients with chronic kidney disease[J]. *Ren Fail*, 2013, 35(1): 29-36.
- [8] Farjo KM, Farjo RA, Halsey S, et al. Retinol-binding protein 4 induces inflammation in human endothelial cells by an NADPH oxidase- and nuclear factor kappa B-dependent and retinol-independent mechanism[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(24): 5103-5115.
- [9] Du M, Otolara L, Martin AA, et al. Transgenic mice overexpressing serum retinol-binding protein develop progressive retinal degeneration through a retinoid-independent mechanism[J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(16): 2771-2789.
- [10] Xiao Y, Xu AM, Hui XY, et al. Circulating lipocalin-2 and retinol-binding protein 4 are associated with intima-media thickness and subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66607.
- [11] Adaikalakoteswari A, Rema M, Mohan V, et al. Oxidative DNA damage and augmentation of poly(ADP-ribose) polymerase/nuclear factor-kappa B signaling in patients with type 2 diabetes and microangiopathy[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(9): 1673-1684.
- [12] Otton R, Soriano FG, Verlengia R, et al. Diabetes induces apoptosis in lymphocytes[J]. *J Endocrinol*, 2004, 182(1): 145-156.
- [13] Hanses F, Park S, Rich J, et al. Reduced neutrophil apoptosis in diabetic mice during staphylococcal infection leads to prolonged TNF α production and reduced neutrophil clearance[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23633.
- [14] Wu J, Shi YH, Niu DM, et al. Association among retinol-binding protein 4, small dense LDL cholesterol and oxidized LDL levels in dyslipidemia subjects[J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(9): 619-622.
- [15] 曾静波, 装晓明, 穆君. 血清尿酸与我国 2 型糖尿病患者视网膜病变的相关性研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(12): 1079-1081.

(张蕾 编辑)