

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.07.016

2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者外周血 TLR4、NF- κ B mRNA 水平及其与胰岛素抵抗的关系

王玉楠, 徐 丹, 许 琳, 吴瑶强

辽宁省丹东市第一医院内分泌科, 辽宁丹东 118000

摘 要:目的 探讨 2 型糖尿病(T2DM)合并非酒精性脂肪肝(NAFLD)患者外周血 Toll 样受体 4 (TLR4)、核转录因子- κ B(NF- κ B) mRNA 水平,以及二者与胰岛素抵抗(IR)的相关性。方法 选择 2020 年 8 月至 2021 年 8 月该院收治的 T2DM 患者 187 例作为研究对象,根据是否合并 NAFLD 分为合并 NAFLD 组 99 例,未合并 NAFLD 组 88 例。另外选择健康体检中心 100 例健康成年人作为对照组。检测并比较各组受试者临床资料、相关生化指标及外周血 TLR4、NF- κ B mRNA 水平,并分析外周血 TLR4、NF- κ B mRNA 水平与各项指标的相关性,以及 T2DM 发生 NAFLD 的危险因素。结果 对照组、未合并 NAFLD 组、合并 NAFLD 组体质指数(BMI)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、肝脏脂肪含量(LFC)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平依次升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);多因素 Logistic 回归分析发现,BMI、TG、LFC、HOMA-IR、TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平升高是 T2DM 患者发生 NAFLD 的危险因素($P < 0.05$);根据 HOMA-IR 对 T2DM 患者进行分组,发现 TLR4、NF- κ B mRNA、LFC、BMI、HbA1c、TG、LDL-C 水平随着 HOMA-IR 增加而升高,不同 HOMA-IR 组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);Pearson 相关分析显示,外周血 TLR4、NF- κ B mRNA 与 BMI、TG、LFC 和 HOMA-IR 在校正前和校正相关因素后均呈正相关($P < 0.05$)。结论 T2DM 合并 NAFLD 患者 IR 严重程度与外周血 TLR4/NF- κ B 信号通路有关,后者可能在 T2DM 合并 NAFLD 患者的发生、发展中起一定作用。

关键词:2 型糖尿病; 非酒精性脂肪肝; TLR4/NF- κ B 信号通路; 胰岛素抵抗; 相关性

中图分类号:R587.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)07-0925-06

Peripheral blood TLR4, NF- κ B mRNA in patients with type 2 diabetes mellitus complicated with non-alcoholic fatty liver disease and their correlations with insulin resistance

WANG Yu'nan, XU Dan, XU Lin, WU Yaoqiang

Department of Endocrinology, Dandong First Hospital, Dandong, Liaoning 118000, China

Abstract: Objective To investigate the levels of Toll-like receptor 4 (TLR4) and nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) mRNA in peripheral blood of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) complicated with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and their correlations with insulin resistance (IR). **Methods** A total of 187 T2DM patients admitted to Dandong First Hospital from August 2020 to August 2021 were selected as the study subjects and were divided into NAFLD group (99 cases) and non-NAFLD group (88 cases) according to whether they had NAFLD. In addition, 100 healthy adults in health examination center were selected as control group. The clinical data, related biochemical parameters and the levels of TLR4 and NF- κ B mRNA in peripheral blood of all groups were detected and compared, the correlations between TLR4, NF- κ B mRNA in peripheral blood and various indicators, as well as the risk factors of NAFLD in T2DM were analyzed. **Results** Body mass index (BMI), glutamate aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), fasting blood glucose (FPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), liver fat content (LFC), HOMA-IR, TLR4 and NF- κ B mRNA increased successively in control group, non-NAFLD group, NAFLD group, with statistical significance ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that BMI, TG, LFC, HOMA-IR, TLR4 and NF- κ B mRNA levels elevation were risk factors for NAFLD in T2DM patients ($P < 0.05$). T2DM patients were grouped according to HOMA-IR, TLR4, NF- κ B mRNA, LFC, BMI, HbA1c, TG and LDL-C levels increased with the increase of HOMA-IR, the

作者简介:王玉楠,女,副主任医师,主要从事内分泌相关疾病研究。

本文引用格式:王玉楠,徐丹,许琳,等.2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者外周血 TLR4、NF- κ B mRNA 水平及其与胰岛素抵抗的关系[J].检验医学与临床,2022,19(7):925-929.

differences among different HOMA-IR T2DM patients were statistically significant ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that TLR4 and NF- κ B mRNA in peripheral blood correlated positively with BMI, TG, LFC and HOMA-IR before and after adjusting relevant factors ($P < 0.05$). **Conclusion** The severity of IR in T2DM patients with NAFLD relates to peripheral blood TLR4/NF- κ B signaling pathway, which might play a role in the occurrence and development of T2DM patients with NAFLD.

Key words: type 2 diabetes mellitus; non-alcoholic fatty liver; TLR4/NF- κ B signaling pathway; insulin resistance; correlation

2 型糖尿病(T2DM)占有所有糖尿病患者的 90% 以上,其发病机制为胰岛素抵抗(IR)和胰岛 β 细胞分泌不足^[1]。近年来研究发现,伴 IR 者肝细胞在长期脂肪蓄积下可逐渐发生变性,罹患非酒精性脂肪肝(NAFLD)风险更高^[2]。临床数据显示,NAFLD 在普通人群中发病率约为 2.00%,而在 T2DM 患者中则为 28.00%~55.00%^[3],二者既可能是彼此发生的危险因素,又可能是同一病因的不同病理特征,且 T2DM 合并 NAFLD 患者糖脂代谢紊乱和 IR 现象更加明显。核转录因子- κ B(NF- κ B)/Toll 样受体 4(TLR4)信号通路是参与机体炎症级联反应的重要一环,越来越多的研究证明,其与天然免疫、脂肪代谢、IR 及血管炎症和动脉硬化等存在密切关系^[4-6],提示 NF- κ B、TLR4 可能在 T2DM、NAFLD 发病机制中发挥重要作用。但外周血 NF- κ B、TLR4 的表达变化是否与 T2DM 合并 NAFLD 患者 IR 严重程度有关仍缺乏系统研究。基于此背景,本研究通过观察 T2DM 合并 NAFLD 患者 NF- κ B、TLR4 mRNA 的表达变化,以期更加全面深入地探讨二者与 IR 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 8 月至 2021 年 8 月本院收治的 T2DM 患者 187 例作为研究对象,根据是否合并 NAFLD 分为合并 NAFLD 组 99 例,未合并 NAFLD 组 88 例。(1)纳入标准:①NAFLD 诊疗标准参考 2016 版欧洲肝病学会 NAFLD 诊疗指南^[7],T2DM 符合 2013 年中华医学会糖尿病学分会制定的相关诊断标准^[8];②临床症状主要表现为腹胀、乏力或肝区隐痛等;③既往男性饮酒量每周小于 140 g 或女性每周小于 70 g;④未合并恶性肿瘤、其他严重全身性疾病或感染性疾病。(2)排除标准:①由于智力、精神或语言障碍,不能表达主观不适症状;②存在肾功能不全,血肌酐 $>$ 正常值上限 1.5 倍;③近 3 个月内服用过影响肝功能、钙磷代谢或糖代谢的药物;④有急慢性肝炎、肝硬化或肝癌病史;⑤孕妇或哺乳期女性;⑥血色病及抗胰蛋白酶缺乏症等其他原因所致肝脏疾病。另外选择健康体检中心 100 例健康成年人为对照组,其中男 53 例,女 47 例。所有研究对象自愿加入本研究,并签署知情同意书,本研究已通过本院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 基线资料收集 收集所有研究对象年龄、身

高、体质量资料,身高精确度为 0.01 m,体质量精确度为 0.1 kg,并计算体质量指数(BMI)。

1.2.2 标本采集及生化指标检测 清晨采用抗凝管(北京科美信生物技术有限公司)采集所有研究对象空腹(10 h)外周静脉血 10 mL。取 5 mL 血液标本采用 iChem-530 全自动生化分析仪(深圳市库贝尔生物科技有限公司)检测患者空腹血糖(FPG)、血脂指标[甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)]、肝功能指标[丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)]、糖化血红蛋白(HbA1c)及肝脏脂肪含量(LFC)等指标。计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR), $HOMA-IR = FPG \times \text{空腹胰岛素(FINS)} / 22.5^{[9]}$ 。根据 HOMA-IR 值将 187 例 T2DM 患者分为 HOMA-IR $<$ 1.2 组、HOMA-IR 1.2~1.6 组、HOMA-IR $>$ 1.6 组。

1.2.3 外周血单个核细胞(PBMC)中 TLR4、NF- κ B 表达检测 取外周静脉血 4 mL,分为 2 份。1 份标本中滴入 CD14-PE-CY7(美国 BD 公司),室温下避光孵育 18 min,再滴入 1 mL 红细胞裂解液(上海恒斐生物科技有限公司),18~25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 10 min,离心处理去除上清液,滴入 500 μL 固定/渗透溶液(上海玉博生物科技有限公司),18~25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 20 min,离心处理去除上清液,选择 1 mL BD 磷酸洗涤缓冲液进行细胞破膜,然后滴入 TLR4-PE(北京兰博利德商贸有限公司,货号:MA120237),室温下避光孵育 30 min,再滴入 1 mL BD 磷酸洗涤缓冲液冲洗细胞,离心处理去除上清液,予 200 μL 磷酸盐缓冲液(PBS)(上海恒斐生物科技有限公司)重悬细胞配备为单细胞悬液。使用流式细胞仪(北京东迅天地医疗仪器有限公司)测定 TLR4 在 PBMC 中的表达情况。

另 1 份标本根据 Trizol 法提取标本细胞总 RNA,所提取的总 RNA 质量和浓度均符合 PCR 反应要求,测定 A_{260} 、 A_{280} 值,并计算总 RNA 浓度, -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存,所有标本均于 1 个月内集中检测。按照反转录试剂盒说明书,选择 2 μL RNA 溶液行反转录,获得 cDNA 模板。以 β -actin 为内参,RT-PCR 法检测 NF- κ B mRNA 表达,反应完毕后,计算机自动分析并得出标本的 NF- κ B mRNA,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s;60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s;70 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 s,共 40 个循环。以 Primer 软件设计引物,NF- κ B 上游:TTTGACCTGAGGGTAAGACTTCT;下游:AACA-

GAGAGGATTTTCGTTTCCG;产物长度:163 bp。 β -actin 上游:CAGGAAGGAAGGCTGGAAGAGTG;下游:AACCGCGAGAAGATGACCCAGAT;产物长度:179 bp。为避免因标本总 RNA 浓度的不同或是其他不可控因素导致的误差,同一条件检测 3 次数值取其平均值,最终结果用公式计算: $A=B1(\text{目的基因})/B2(\text{内参基因})$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,多组间的两两比较采用 SNK- q 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;T2DM 合并 NAFLD 患者外周血 TLR4、NF- κ B 水平与各项临床指标的相关性采用 Pearson 相关分析;T2DM 患者发生 NAFLD 的影响因素分析采用 Logistic 回归分析($\alpha_{\text{入}}=0.05$, $\alpha_{\text{出}}=0.10$)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组各项指标比较 合并 NAFLD 组、未合并

NAFLD 组及对照组性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,合并 NAFLD 组、未合并 NAFLD 组 BMI、ALT、AST、TG、TC、FPG、HbA1c、LFC、HOMA-IR、TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平均明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与未合并 NAFLD 组比较,合并 NAFLD 组 ALT、AST、TG、TC、FPG、HbA1c、LFC、HOMA-IR、TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平均明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 T2DM 患者发生 NAFLD 的 Logistic 回归分析 单因素 Logistic 回归分析结果显示,患者 BMI、FPG、HbA1c、ALT、AST、TG、TC、HOMA-IR、LFC、TLR4 及 NF- κ B mRNA 均与 T2DM 患者合并 NAFLD 有关($P<0.05$)。对单因素 Logistic 回归分析结果中有统计学意义的变量进行多因素 Logistic 回归分析,发现 BMI、TG、LFC、HOMA-IR、TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平升高是 T2DM 患者发生 NAFLD 的危险因素($P<0.05$)。见表 2。

表 1 3 组各项指标比较(n/n 或 $\bar{x} \pm s$)

组别	n	男/女	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	ALT (U/L)	AST (U/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
对照组	100	53/47	46.79 $\pm$ 5.13	22.67 $\pm$ 2.74	20.74 $\pm$ 2.18	24.86 $\pm$ 2.59	1.27 $\pm$ 0.13	3.05 $\pm$ 0.41	1.28 $\pm$ 0.13
未合并 NAFLD 组	88	46/42	47.22 $\pm$ 5.67	24.08 $\pm$ 2.81	51.98 $\pm$ 5.26	50.73 $\pm$ 5.11	1.75 $\pm$ 0.18	4.10 $\pm$ 0.53	1.13 $\pm$ 0.11
合并 NAFLD 组	99	59/40	47.16 $\pm$ 5.34	25.84 $\pm$ 3.05	59.73 $\pm$ 6.01	56.17 $\pm$ 5.73	2.23 $\pm$ 0.24	4.85 $\pm$ 0.64	1.01 $\pm$ 0.09
F		0.24	0.75	9.64	13.46	12.54	7.19	10.41	4.17
P		0.84	0.42	<0.001	<0.001	<0.001	0.01	<0.001	0.09

组别	n	LDL-C (mmol/L)	FPG (mmol/L)	HbA1c (%)	LFC (mU/mL)	HOMA-IR	NF- κ B mRNA	TLR4 (%)
对照组	100	2.37 $\pm$ 0.24	5.04 $\pm$ 0.50	4.72 $\pm$ 0.46	4.11 $\pm$ 0.42	0.65 $\pm$ 0.07	0.19 $\pm$ 0.03	0.40 $\pm$ 0.04
未合并 NAFLD 组	88	2.65 $\pm$ 0.34	5.86 $\pm$ 0.61	5.47 $\pm$ 0.55	11.73 $\pm$ 1.18	1.19 $\pm$ 0.12	0.69 $\pm$ 0.14	4.08 $\pm$ 0.69
合并 NAFLD 组	99	2.94 $\pm$ 0.39	8.24 $\pm$ 0.83	6.93 $\pm$ 0.72	22.39 $\pm$ 2.35	1.68 $\pm$ 0.17	0.95 $\pm$ 0.26	6.57 $\pm$ 1.02
F		5.45	8.23	6.56	23.47	17.16	19.84	22.16
P		0.07	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 T2DM 患者发生 NAFLD 的 Logistic 回归分析

影响因素	单因素分析		多因素分析	
	OR(95%CI)	P	OR(95%CI)	P
BMI	2.74(1.15~5.12)	<0.001	2.08(1.42~2.76)	0.02
FPG	1.41(1.13~3.06)	0.03	1.23(0.89~1.95)	0.12
HbA1c	1.34(1.11~2.74)	0.04	0.99(0.90~1.17)	0.09
ALT	1.60(1.20~2.15)	0.02	1.64(0.98~3.69)	0.08
AST	1.76(1.22~2.96)	0.02	1.34(0.81~2.69)	0.19
TG	2.15(1.35~4.96)	<0.001	2.50(1.93~3.64)	<0.001
TC	1.43(1.20~3.51)	0.02	1.22(0.87~1.96)	0.16
HOMA-IR	1.95(1.42~2.99)	<0.001	1.90(1.34~2.85)	0.01

续表 2 T2DM 患者发生 NAFLD 的 Logistic 回归分析

影响因素	单因素分析		多因素分析	
	OR(95%CI)	P	OR(95%CI)	P
LFC	2.64(1.45~6.05)	<0.001	2.06(1.36~4.85)	<0.001
TLR4	2.75(1.39~7.69)	<0.001	2.32(1.25~5.64)	<0.001
NF-κB mRNA	2.45(1.26~7.06)	<0.001	2.11(1.39~4.98)	<0.001

2.3 不同 HOMA-IR T2DM 患者各项指标比较 根据 HOMA-IR, 将 187 例 T2DM 患者分为 HOMA-IR<1.2 组 62 例、HOMA-IR 1.2~1.6 组 67 例、HOMA-IR>1.6 组 58 例, 随着 HOMA-IR 增加, TLR4、NF-κB mRNA、LFC、BMI、HbA1c、TG、LDL-C 水平升高, 不同 HOMA-IR 组间比较, 差异均有统

计学意义($P<0.05$)。见表 3。
2.4 外周血 TLR4、NF-κB 表达与各项临床指标的相关分析 Pearson 相关分析显示, 外周血 TLR4、NF-κB mRNA 与 BMI、TG、LFC、HOMA-IR 在校正前和校正相关因素后均呈正相关($P<0.05$)。见表 4。

表 3 不同 HOMA-IR T2DM 患者各项指标比较(n/n 或 $\bar{x}\pm s$)

组别	n	男/女	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	ALT (U/L)	AST (U/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)
HOMA-IR<1.2 组	62	34/28	45.73±4.62	22.57±2.39	54.94±5.58	53.11±5.34	1.17±0.12	2.34±0.22
HOMA-IR 1.2~1.6 组	67	37/30	45.12±4.58	23.94±2.48	55.67±5.63	53.78±5.49	1.95±0.20	2.38±0.23
HOMA-IR>1.6 组	58	31/27	45.96±4.78	25.01±2.56	57.12±5.70	54.11±5.53	2.41±0.25	2.30±0.21
F		0.95	0.84	7.43	1.12	0.92	10.75	2.84
P		0.47	0.62	0.01	0.58	0.46	<0.001	0.09

组别	n	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	FPG (mmol/L)	HbA1c (%)	LFC (mU/mL)	NF-κB mRNA	TLR4 (%)
HOMA-IR<1.2 组	62	1.04±0.08	3.25±0.31	6.51±0.65	5.01±0.49	10.55±1.03	0.50±0.05	3.10±0.44
HOMA-IR 1.2~1.6 组	67	1.09±0.09	3.64±0.37	6.69±0.67	6.11±0.63	18.46±1.91	0.76±0.09	5.75±0.73
HOMA-IR>1.6 组	58	1.12±0.11	4.01±0.40	6.82±0.68	7.84±0.79	28.76±2.85	1.06±0.17	7.39±1.32
F		1.13	4.64	2.31	8.74	10.18	13.65	16.9
P		0.21	0.03	0.08	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 外周血 TLR4、NF-κB 表达与各项临床指标的相关分析

项目	TLR4				NF-κB mRNA			
	校正前		校正后		校正前		校正后	
	r	P	r	P	r	P	r	P
BMI	0.301	<0.001	0.311	<0.001	0.277	0.002	0.295	<0.001
TG	0.225	0.003	0.223	0.002	0.216	0.004	0.246	0.002
LFC	0.286	0.001	0.300	<0.001	0.290	0.001	0.313	<0.001
HOMA-IR	0.367	<0.001	0.368	<0.001	0.375	<0.001	0.354	<0.001

3 讨 论

T2DM 是一种慢性终身疾病, 其病理机制较为复杂, 在糖耐量异常阶段, 肝脏脂肪变性的发生率为 33.3%~69.6%, 当肝糖原储量超过肝脏储存阈值时, 即可形成代谢应激性肝损伤, 提示在 T2DM 发病前, 肝脏的脂质代谢已经发生了紊乱^[10]。有研究发现, 脂质过氧化和氧化应激反应引发的肝脏炎症水平

升高和纤维化是导致 NAFLD 发生的直接因素^[11], 然而近年来发现其“第一次打击”即 IR 引发的肝细胞脂肪变性也扮演了尤为重要的角色。IR 是 T2DM 病理表现, IR 可导致胰岛素抑制脂肪酶的活性下降, 进而上调游离脂肪酸(FFA)表达, FFA 的利用不足和大量氧化可直接导致 TG 水平升高, 进而使脂肪大量堆积于肝细胞中, 而影响 NAFLD 的发生、发展^[12]。然而

现阶段研究尚未完全阐明 IR 的发生机制,故进一步明确 T2DM 合并 NAFLD 的 IR 发生机制,对临床医师早期评估其 IR 状况,采取相关控制措施,以阻断病情进一步发展,改善此类患者预后意义重大^[13]。

本研究观察了 T2DM 患者外周血 NF- κ B、TLR4 表达变化,发现在对照组、未合并 NAFLD 组、合并 NAFLD 组中 TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平依次升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$),这提示外周血 NF- κ B、TLR4 可作为 T2DM 发生 NAFLD 的预警指标。目前研究认为,T2DM、NAFLD、IR 均存在慢性低度炎症反应,TLR4 参与诸多慢性炎症疾病的病理过程和免疫应答,也是与 IR 关系最为密切的 Toll 样受体(TLRs)之一^[14-15],其可以直接激活炎症性激酶和活性氧簇而直接抑制胰岛素生物学效应,也能够活化 NF- κ B 并促进炎症介质的激活及释放去敏感化因子,而间接导致 IR^[16]。NF- κ B 是一种具有多项调节作用的转录因子,当代谢性炎症反应和 IR 等活化因素刺激其结合位点,NF- κ B 被激活后,可促使 NF- κ B 与 I κ B α 解离,并迅速转移至核内而激活,导致炎症介质增多,加重组织和循环炎症反应^[17],同时 T2DM 患者机体内本身存在白细胞介素(IL)-6、IL-8 与肿瘤坏死因子(TNF)- α 等炎症介质的过度分泌,由此造成的炎症级联放大反应可造成远处脏器的病理损伤,又可正反馈进一步促进 NF- κ B 的活化,导致 IR 加剧^[18]。同样,本研究也通过 Logistic 回归分析发现,TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平升高是 T2DM 患者发生 NAFLD 的危险因素。

另外,本研究根据 HOMA-IR 将 187 例 T2DM 患者进行分组,结果显示 TLR4 及 NF- κ B mRNA 水平随着 HOMA-IR 增加而升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。同时通过 Pearson 相关分析发现,校正相关因素后,患者外周血 TLR4、NF- κ B mRNA 与 HOMA-IR 仍具有相关性($P < 0.05$),提示外周血 TLR4、NF- κ B 和 IR 在 T2DM 合并 NAFLD 的发生过程中可能起到交互作用。考虑可能机制如下:TLR4/NF- κ B 信号通路激活后产生系统性代谢性炎症反应的情况下,肝脏自噬受抑制,肝脏脂肪变性和内脏脂肪沉积,同时可能促发内质网应激反应等,如 c-Jun 氨基末端激酶信号通路^[19]和 p38 MAPK 信号通路^[20]等其他炎症信号通路被激活并引起信号转导级联反应,从而减弱肝脏和系统对胰岛素的敏感性。

综上所述,T2DM 合并 NAFLD 患者 IR 严重程度与外周血 TLR4/NF- κ B 信号通路有关,后者可能在 T2DM 合并 NAFLD 的发生、发展中起一定作用。但本研究尚存在一些不足之处,首先,纳入研究样本较少,且仅对患者入院时的实验室指标进行了检测分析,再加之实验操作测量误差等也可能会影响研究结果的准确性;其次,现阶段临床缺乏更新且规范化的

诊疗指南,对患者分层研究仍有主观性差异,可能对结果造成偏倚。在今后的研究中有必要开展多中心研究,扩大样本量,以进一步探讨外周血 NF- κ B、TLR4 表达水平对 T2DM 合并 NAFLD 患者 IR 严重程度评估价值。

参考文献

- [1] XU L, LI T, YIN J, et al. Association between serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease in community patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Peer J, 2019, 7(4):563-566.
- [2] TANEJA V. Intrahepatic lipid content after insulin glargine addition to metformin in type 2 diabetes mellitus with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2019, 15(8):714-719.
- [3] OZ A, ID B, NKA C, et al. Cardiac dysfunction in patients with nonalcoholic fatty liver disease (naflD) and type 2 diabetes mellitus (T2DM)[J]. Am Heart J, 2020, 229(52):158-159.
- [4] SHI X, WANG S, LUAN H, et al. Clinopodium Chinese attenuates palmitic acid-induced vascular endothelial inflammation and insulin resistance through TLR4-Mediated NF- κ B and MAPK pathways[J]. Am J Chin Med, 2019, 47(1):97-117.
- [5] LI L, LI R, ZHU R, et al. Salvianolic acid B prevents body weight gain and regulates gut microbiota and LPS/TLR4 signaling pathway in high-fat diet-induced obese mice[J]. Food Funct, 2020, 55(18):1205-1209.
- [6] CHEN X, YAN Y, WENG Z, et al. TAK-875 mitigates β -cell lipotoxicity-induced metaflammation damage through inhibiting the TLR4-NF- κ B pathway[J]. J Dia Res, 2019, 29(7):1-11.
- [7] 常彬霞.《2016 年欧洲肝病学会、欧洲糖尿病学会和欧洲肥胖学会临床实践指南:非酒精性脂肪性肝病》摘译[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(8):1450-1454.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 33(7):447-498.
- [9] 云灿琴. 初诊 2 型糖尿病患者血清 25(OH)D 水平特点及与 HOMA-IR、胰岛 β 细胞功能的关系研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020, 73(2):105-108.
- [10] LIU S T, SU K Q, ZHANG L H, et al. Hypoglycemic agents for non-alcoholic fatty liver disease with type 2 diabetes mellitus: a protocol for systematic review and network MAeta-analysis[J]. Medicine, 2020, 99(26):411-415.
- [11] FERNANDO B, MCPHAUL M J, SRILAXMI K, et al. Intact fasting insulin identifies nonalcoholic fatty liver disease in patients without diabetes[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2021, 55(18):127-131.
- [12] ZHOU Q, WANG Y, WANG J, et al. Prevalence and risk factor analysis for the nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Medicine, 2021, 100(10):940-944.

(下转第 933 页)

机体存在炎症反应,且患者发病后机体处于慢性炎症状态下,可形成糖基化终末期产物,产生白三烯等血管活性物质,使机体内 C 肽水平降低,进而抑制胰岛素的分泌,促进 IR 和胰岛 β 细胞功能衰退,最终造成糖代谢紊乱,诱发无法控制的血糖升高^[11]。同时 Hp 阳性导致炎症反应异常发生,释放大量的炎症因子, TNF- α 能够抑制脂蛋白脂肪酶活性,进而影响脂质代谢过程,还能抑制乳糜微粒和极低密度脂蛋白中 TG 水解,从而影响 TG 的清除,导致 TG 水平升高,造成脂代谢紊乱^[12]。MOKHTARE 等^[13]认为 Hp 能够上调 TNF- α 、IL-6 水平,而 IL-6 和 TNF- α 会对羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶基因的表达产生影响,进而抑制肝细胞载脂蛋白的合成和分泌,抑制胆固醇羟化酶,影响胆汁合成,降低了肝脏胆固醇的分解代谢,增加了肝脏胆固醇合成,造成脂代谢紊乱,进而造成血糖水平紊乱,增加 IR,这与本文研究结果相似,也较好地解释了本文结果。

综上所述, Hp 感染可能导致健康人群糖脂代谢异常,诱发机体炎症反应,临床中应防治 Hp 感染。

参考文献

- [1] LIU W D, TIAN J J, HUI W J, et al. A retrospective study assessing the acceleration effect of type I Helicobacter pylori infection on the progress of atrophic gastritis[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 4143.
- [2] LI Y L, LI X Y, TAN Z J. An overview of traditional Chinese medicine therapy for Helicobacter pylori-related gastritis[J]. Helicobacter, 2021, 26(3): e12799.
- [3] TOKAI Y, FUJISAKI J, ISHIZUKA N, et al. Usefulness of the I-type Wako Helicobacter pylori antibody J test[J]. JGH Open, 2021, 5(6): 131-135.
- [4] 田华, 黄毓娟. 蒲公英多糖对幽门螺杆菌相关性胃炎大鼠胃黏膜炎症反应及 MAPK/ERK 通路的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(35): 3877-3880.
- [5] 田利华, 薛亚男, 涂强. 幽门螺杆菌感染与非酒精性脂肪肝对 2 型糖尿病患者糖脂代谢的影响[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(2): 237-240.
- [6] 万维松, 王乐, 胡余昌, 等. 免疫组化染色与¹⁴C 尿素呼气试验在幽门螺杆菌相关胃炎诊断中的比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(1): 47-50.
- [7] MA H, XIAO J, CHEN Z X, et al. Relationship between helicobacter pylori infection and type 2 diabetes using machine learning BPNN mathematical model under community information management[J]. Results Phys, 2021, 26(1): 17-21.
- [8] KIM Y J, CHUNG W C, KIM D B. Efficacy of bismuth added to standard triple therapy as the first-line eradication regimen for Helicobacter pylori infection[J]. Helicobacter, 2021, 26(3): e12792.
- [9] 蔡佩佩, 蔡小鸟, 唐森森, 等. 三联药物方案对幽门螺杆菌阴性消化性溃疡患者临床症状评分及炎症细胞因子水平的影响[J]. 药物生物技术, 2020, 27(4): 345-347.
- [10] 曾会, 詹玉虎, 陈志娟. 幽门螺杆菌感染血清学抗体与胃镜下胃溃疡患者病理特点的相关性分析[J]. 贵州医药, 2020, 44(2): 299-301.
- [11] GAO S J, SONG D F, LIU Y T, et al. Helicobacter pylori CagA protein attenuates 5-Fu sensitivity of gastric cancer cells through upregulating cellular glucose metabolism[J]. Onco Target Thera, 2020, 13(1): 6339-6349.
- [12] 赖杰, 王佳, 张琦, 等. 幽门螺杆菌感染对老年 2 型糖尿病患者糖脂代谢及胰岛功能的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(3): 264-267.
- [13] MOKHTARE M, MIRFAKHRAEE H, ARSHAD M, et al. The effects of Helicobacter pylori eradication on modification of metabolic syndrome parameters in patients with functional dyspepsia[J]. Diabetes Metab Syndr, 2017, 11(2): S1031-S1035.

(收稿日期: 2021-08-10 修回日期: 2021-12-16)

(上接第 929 页)

- [13] TANASE D M, GOSAV E M, COSTEA C F, et al. The intricate relationship between type 2 diabetes mellitus (T2DM), insulin resistance (IR), and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. J Diabetes Res, 2020, 20(8): 1-16.
- [14] FERRARI F, BOCK P M, MOTTA M T, et al. Biochemical and molecular mechanisms of glucose uptake stimulated by physical exercise in insulin resistance state; role of inflammation[J]. Arq Bras Cardiol, 2019, 113(6): 816-821.
- [15] YAN S, JIANG Z, CHENG L, et al. TLR4 knockout can improve dysfunction of β -cell by rebalancing proteomics disorders in pancreas of obese rats[J]. Endocrine, 2020, 67(1): 67-79.
- [16] 李敏, 张涛, 徐佩茹. TLR4 信号通路及炎症因子对肥胖儿童胰岛素抵抗的影响研究[J]. 新疆医科大学学报, 2020, 24(1): 10-13.
- [17] 陈实, 孟庆华, 李承红. 慢性间歇缺氧大鼠胰岛素抵抗与炎症因子的关系[J]. 实用医学杂志, 2017, 35(10): 72-75.
- [18] 陈实, 李承红, 孟庆华. OSAHS 患者胰岛素抵抗指数变化及其与血清炎症因子水平的相关性[J]. 山东医药, 2017, 57(7): 66-68.
- [19] 白秋方, 胡军, 杨少娟, 等. c-Jun 氨基末端激酶信号通路对肥胖诱导的大鼠胰岛 β 细胞凋亡的调控作用[J]. 临床内科杂志, 2018, 35(1): 50-53.
- [20] JOSEPH D Y, RIVERS S L, GIACCA A. 1858-P: P38 MAPK inhibition protects against FFA-induced insulin resistance and hepatic fat accumulation[J]. Diabetes, 2020, 69(1): 1858-1862.

(收稿日期: 2021-09-20 修回日期: 2021-11-19)