

比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明两种测定 HbA1c 的方法具有可比性。用胶乳凝集法检测结果(Y),与 HPLC 检测结果(X)进行相关分析。得到回归方程为 $Y=1.04X-0.68$, $r=0.985$,表明两种方法具有较好的相关性。

表 1 两种方法的精密度评价($n=50, \%$)

质控品(靶值)	批内 CV		批间 CV	
	HPLC 法	胶乳凝集法	HPLC 法	胶乳凝集法
I 水平	0.954	1.458	1.570	2.113
II 水平	1.266	1.697	1.908	2.284

3 讨论

糖尿病已成为一个重要的公共健康问题。目前随着 HbA1c 检测技术的提高, HbA1c 已经逐渐成为糖尿病常规临床检测项目,作为反映长期血糖水平的金标准和并发症的风险测定指标,应用于临床和科研工作^[5]。HbA1c 不单只作为糖尿病治疗效果监测的指标,国内有研究表明, HbA1c 水平与非糖尿病高血压患者有密切关系,是原发性高血压的危险因素^[6]。随着科学技术的不断进步,各种仪器设备不断进入检验领域, HbA1c 的测定仪器就有几十种之多。美国临床化学协会(AACC)GHb 标准化分会和国际临床化学联合会(IFCC) HbA1c 标准化工作组建议以 HPLC 方法作为检测 HbA1c 的金标准^[7]。

Bio-Rad-D10 HPLC HbA1c 分析仪是运用以阳离子交换为原理的 HPLC 法,该法先进、灵敏度高,特异性好,检测速度快,自动化程度高,随时检测,克服了人为差异的问题。胶乳凝集法是利用抗原抗体发生的凝集反应直接测定总血红蛋白中的 HbA1c 百分浓度的方法。该法最大的优点是在全自动生化仪上测定,不用另外购置专门的仪器,较好地节约了实验室成本。但需要手工吸血样本与溶血素混合,受人为因素影响

• 经验交流 •

较大,以及易受高浓度葡萄糖、胆红素、三酰甘油等物质干扰。

本文评估了两种方法的精密性,批内、批间 CV 均小于 3%, HPLC 法测定结果为 $(5.87 \pm 1.13)\%$, 胶乳凝集法测定结果为 $(5.12 \pm 1.25)\%$, 差异无统计学意义($P>0.05$)。通过方法学比对,确定两法检测 HbA1c 具有较高的相关性($r=0.985$),与文献报道一致^[8]。综上所述,胶乳凝集法结果稍低于 HPLC 法,两者的结果虽然存在一定的差异,但是均在临床可接受范围内,且两种方法具有很好的相关性和一致性,均能满足临床需要。

参考文献

- [1] 徐全中,张秀明,温冬梅,等. 广东中山地区健康成人糖化血红蛋白 A1c 水平调查[J]. 临床检验杂志,2013,31(8):632-633.
- [2] 王丽娟,纪立农. 国际专家委员会关于糖化血红蛋白检测在糖尿病诊断中的作用的报告[J]. 中国糖尿病杂志,2009,17(8):563-568.
- [3] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2010[J]. Diabetes care,2010,33 Suppl 1:11-61.
- [4] 李卿,居漪. 糖化血红蛋白 A1c 的检测方法和干扰因素[J]. 临床检验杂志,2012,30(6):418-420.
- [5] 薛声能,程桦. 糖化血红蛋白的研究进展[J]. 国际内科学杂志,2008,35(10):586-588.
- [6] 徐安平,李卫宁,张毅,等. 糖化血红蛋白检测对非糖尿病高血压患者的临床价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(7):777-778.
- [7] 杨利黎,孙静. 两种糖化血红蛋白分析仪的临床应用[J]. 检验医学与临床,2008,5(9):545-546.
- [8] 黄保荣,王金松,王金安,等. 三个可溯源性糖化血红蛋白测定系统测定结果的比对和偏倚评估[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(1):63-66.

(收稿日期:2014-01-08)

新疆维吾尔族 2 型糖尿病患者外周血单核细胞核因子- κ B 和糖皮质激素受体的表达及意义

张 燕,沈 林

(乌鲁木齐市第一人民医院检验科,新疆乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 探讨外周血单个核细胞(PBMC)核因子- κ B(NF- κ B)、糖皮质激素受体(GR)的表达与新疆维吾尔族 2 型糖尿病(T2DM)的关系。方法 初步诊断为 T2DM 的维吾尔族患者 142 例(糖尿病组),采用 Western-blot 法检测外周血 PBMC NF- κ B 和 GR 蛋白表达水平的变化,并选取 140 例健康体检者作为对照组。结果 糖尿病组 NF- κ B 表达水平高于对照组,GR 表达水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 NF- κ B 和 GR 表达相互拮抗,在糖尿病发病中起着重要作用。

关键词:维吾尔族; 糖尿病; 核因子- κ B; 糖皮质激素; 受体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.047

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2964-02

2 型糖尿病(T2DM)是一种慢性低度炎症性疾病,新疆维吾尔族的 T2DM 发病率明显高于全国平均水平^[1]。炎症导致的胰岛素抵抗是 T2DM 的发病原因之一。单核细胞(PBMC)核因子- κ B (NF- κ B)和糖皮质激素受体(GR)是调控基因表达的核转录因子,参与机体的炎症和免疫应答^[2]。本文检测了新疆维吾尔族 T2DM 患者外周血 PBMC 的 NF- κ B 和 GR 蛋白表达水平,以探讨这两种指标对 T2DM 患者的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 7 月至 2010 年 12 月在本院内分泌科住院的维吾尔族 T2DM 患者 142 例作为糖尿病组,男 68 例,女 74 例,平均 (55.3 ± 8.5) 岁,符合 2001 年 WHO 制订的 T2DM 诊断标准,排除明确的心、肺、肝、肾疾病,急慢性感染和恶性肿瘤等。另外选择本院体检中心的健康体检者 140 例作为对照组,男 62 例,女 78 例,平均 (52.5 ± 7.2) 岁,均无高

血压、糖尿病等慢性疾病,肝、肾功能正常。两组收缩压、空腹血糖、总胆固醇、三酰甘油、C-反应蛋白等指标水平差异有统计学意义($P < 0.05$),在年龄、性别比、PBMC 计数等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组研究对象的临床资料比较

指标	对照组	病例组
年龄(岁)	52.50±7.20	55.30±8.50
性别比(男/女,n)	62/78	68/74
高血压(n)	0	22
收缩压(mm Hg)	125.90±14.80	135.60±18.70*
舒张压(mm Hg)	75.20±11.30	77.50±10.00
PBMC 计数($\times 10^9/L$)	1.82±0.32	2.21±0.53
空腹血糖(mmol/L)	4.86±1.49	8.22±1.84*
总胆固醇(mmol/L)	4.76±1.03	6.52±1.10*
三酰甘油(mmol/L)	1.71±0.52	3.39±1.14*
C-反应蛋白(mmol/L)	2.86±1.11	13.5±3.42**

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$,与对照组比较。

1.2 主要试剂 淋巴细胞分层液、核蛋白提取试剂盒购自晶美生物工程有限公司(美国 Active Motif 产品);逆转录试剂盒、DNA 聚合酶、DNA 标记物,由上海生工生物技术有限公司提供;小鼠抗人 Ig G p65 单克隆抗体为 Cell Signal Technology 公司产品;辣根酶标记二抗、ECL 发光试剂均购自杭州华安生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有研究对象入院时无菌采集肘静脉血 10 mL,采用 Ficoll 密度梯度离心法分离 PBMC,分装成两管,一管以 Bradford 法测定蛋白浓度,一管用于测定 NF- κ B 活性, -80 °C 保存。

1.3.2 Western-blot 法检测蛋白水平 运用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,取核蛋白提取物 40 μ g 用于 Western-blot 法检测。采用 Gene Genius Bio Imaging System(Syngene 公司)进行拍照及灰度扫描,测定相对光密度值(ROD)。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS17.0 处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间计量资料采用方差齐性检验,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

在 SDS-PAGE 图谱中,内参物 β -actin 蛋白电泳的位置在 43×10^3 附近,各样本的 β -actin 蛋白表达水平基本相同;在相对分子质量 65×10^3 附近出现的条带,即为 NF- κ B;在相对分子质量 95×10^3 附近出现的条带,即为 GR- α 。糖尿病组外周血 PBMC NF- κ B 表达显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),而 GR 表达低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组 NF- κ B 和 GR 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF- κ B	GR
糖尿病组	142	0.92±0.18**	0.35±0.05*
对照组	140	0.67±0.22	0.78±0.09

** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$,与对照组比较。

3 讨 论

近年来研究资料显示,心血管疾病的发生与 T2DM 或糖代谢异常密切相关^[3]。细胞因子、炎性介质参与了机体正常代谢稳态的维持,以及胰岛素抵抗、T2DM、脂质代谢紊乱及动脉硬化等疾病的发生^[4]。

NF- κ B 是各种炎性因子的转录因子,被认为是其中的核心部分,同时 NF- κ B 通路也是最早发现的氧化还原通路之一^[5],活化的 NF- κ B 与氧自由基(ROS)之间存在着密切的联系,ROS 可通过多种途径调节 NF- κ B 的活性。研究证实,NF- κ B 可高效诱导多种前炎性细胞因子、白细胞黏附因子、单核细胞趋化因子等的基因的表达^[6]。石秀林等^[7]的研究提示,新诊断的 T2DM 患者的外周血 PBMC NF- κ B 活性明显增高,本研究与其结果类似,可能与糖尿病患者正处于炎症状态有关,但其机制尚不清楚。GR 是核受体家族的重要成员之一,参与多种生理功能的调节。NF- κ B 和 GR 都是诱导转录因子,它们在免疫反应的调节中起着完全相反的作用。近年研究证实,NF- κ B 和 GR 相互作用,在功能上互为转录拮抗剂^[8]。

本研究结果显示,新疆维吾尔族 T2DM 患者 PBMC NF- κ B 的表达比对照组高,但 GR 的表达水平低于对照组,提示新疆维吾尔族 T2DM 患者存在局部炎症状态。降低炎症反应水平可能会延缓糖尿病的发展及其并发症的发生,今后可能会成为糖尿病患者的治疗指标之一。但由于本研究标本量较少,尚需大样本研究,以期探寻糖尿病的分子机制,为糖尿病的诊断和治疗提供依据。

参考文献

[1] 朱筠,谢自敬.乌鲁木齐市维吾尔族糖尿病相关因素研究[J].中国糖尿病杂志,2008,16(9):563-565.
 [2] Wilson SH, Best PJM, Edwards WD, et al. Nuclear factor- κ B immunoreactivity is present in human coronary plaque and enhanced in patients with unstable angina pectoris [J]. Atherosclerosis, 2002,160(1):147-153.
 [3] Ali Raza J, Movahed A. Current concepts of cardiovascular diseases in diabetes mellitus[J]. Int J Cardiol, 2003,89(2):123-134.
 [4] Federici M, Lauro R. Review article: diabetes and atherosclerosis—running on a common road[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2005,22(S2):11-15.
 [5] Robertson RP, Harmon J, Tran PO, et al. Glucose toxicity in β -cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection[J]. Diabetes, 2003,52(3):581-587.
 [6] Sun Z, Andersson R. NF- κ B activation and inhibition; a review [J]. Shock, 2002,18(2):99-106.
 [7] 石秀林,李焱,严励,等.新诊断 2 型糖尿病患者二甲双胍治疗后外周血单个核细胞核因子 κ B 活性的变化[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(6):1135-1138.
 [8] Cho IJ, Kim SG. A novel mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 and glucocorticoid receptor (GR) interacting protein-1-dependent combinatorial mechanism of gene transrepression by GR[J]. Mol Endocrinol, 2009,23(1):86-99.