

胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达与胰岛素抵抗程度及产后糖代谢异常的相关性研究

杨斌,葛迎春*,吉冬梅,李蓉

作者单位:226600 江苏 海安,海安市中医院妇产科

作者简介:杨斌,毕业于南京中医药大学,本科,主治医师,主要研究方向为产科常见病、疑难病的研治

* 通信作者,E-mail:binyang83987@163.com

【摘要】目的 研究妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus,GDM)患者胎盘及脂肪组织中高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1,HMGB1)表达与胰岛素抵抗程度及产后糖代谢异常的相关性。**方法** 选择2018年1月至2020年3月在海安市中医院诊断为GDM并接受剖宫产的58例患者作为GDM组,同期在我院产检并接受剖宫产的60例健康孕妇作为对照组。剖宫产当天取血清并检测 HMGB1、空腹血糖(fasting blood glucose,FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin,FINS)的含量,计算胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment insulin resistance,HOMA-IR);剖宫产术中取脂肪组织、术后取胎盘组织,检测 HMGB1 的表达水平;剖宫产后6~8周行口服葡萄糖耐量试验,判断是否发生糖代谢异常。**结果** GDM组血清中 HMGB1 及 FINS 的含量、HOMA-IR 水平、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平均高于对照组($P < 0.05$);GDM组胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平与血清 HMGB1 及 FINS 的含量、HOMA-IR 水平具有正相关关系;GDM组中产后糖代谢异常患者的血清 HMGB1 含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平均高于产后糖代谢正常患者($P < 0.05$)。**结论** GDM患者胎盘及脂肪组织中 HMGB1 高表达与母体血液循环中 HMGB1 增多、胰岛素抵抗加重及产后糖代谢异常有关。

【关键词】 妊娠期糖尿病;高迁移率族蛋白 B1;胎盘组织;脂肪组织;胰岛素抵抗

【中图分类号】R 714.25 **【文献标志码】**A **【文章编号】**1674-4020(2022)03-084-05

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2022.03.19

Research on correlation of HMGB1 expression in placenta and adipose tissue with insulin resistance and abnormal postpartum glucose metabolism

Yang Bin, Ge Yingchun*, Ji Dongmei, Li Rong

Department of Obstetrics and Gynecology, Hai'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hai'an Jiangsu 226600, P. R. China

* Corresponding author, E-mail: binyang83987@163.com

【Abstract】Objective To study the correlation between the expression of high mobility group box 1 (HMGB1) in placenta and adipose tissue of patients with gestational diabetes mellitus (GDM) and the degree of insulin resistance and abnormal postpartum glucose metabolism. **Methods** A total of 58 patients who were diagnosed with GDM and underwent cesarean section in Hai'an Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2018 to March 2020 were selected as the GDM group, and 60 healthy pregnant women who received cesarean section in our hospital during the same period were selected as the control group. Serum was collected on the day of cesarean section, and the contents of HMGB1, fasting blood glucose (FBG), and fasting insulin (FINS) were detected, and homeostasis model assessment insulin resistance (HOMA-IR) was calculated; Adipose tissue was collected during hysterectomy and placental tissue after operation to detect the expression level of HMGB1; oral glucose tolerance test was performed 6 to 8 weeks after cesarean section to determine whether abnormal glucose metabolism occurred. **Results** The serum levels of HMGB1 and FINS, HOMA-IR levels, and the

expression levels of HMGB1 in placenta and adipose tissue in the GDM group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). Serum HMGB1, FINS and HOMA-IR levels were positively correlated; serum HMGB1 levels and HMGB1 expression levels in placenta and adipose tissue in postpartum patients with abnormal glucose metabolism in GDM group were higher than those in postpartum patients with normal glucose metabolism ($P < 0.05$). **Conclusion** The high expression of HMGB1 in placenta and adipose tissue of GDM patients is related to the increase of HMGB1 in maternal blood circulation, aggravation of insulin resistance and abnormal postpartum glucose metabolism.

[Key words] gestational diabetes mellitus; high mobility group protein B1; placental tissue; adipose tissue; insulin resistance

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是妊娠期常见的并发症, 表现为妊娠期首次发生的糖尿病及糖耐量异常, 一方面危害孕妇及胎儿的健康, 另一方面增加孕妇远期发生糖代谢异常及心血管疾病的风险^[1-2]。胰岛素抵抗是与 GDM 发病及未来发展为产后糖代谢异常密切相关的病理生理机制, 母体血液循环中的多种激素、细胞因子均会影响胰岛素生物信号转导。胎盘和内脏脂肪组织具有极强的内分泌功能, 是孕期母体血液循环中激素和细胞因子的重要来源, 研究胎盘和内脏脂肪组织内分泌特征的变化是近些年探究 GDM 发病机制的热门靶点。

高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是参与炎症反应调控的细胞因子, 有研究报道 GDM 和 2 型糖尿病患者血清中 HMGB1 的含量均明显升高且与胰岛素抵抗程度相关^[3-4], 提示 HMGB1 的过度分泌可能与胰岛素抵抗的产生或加重有关, 进而可能参与 GDM 及 2 型糖尿病的发病。脂肪和胎盘均表达 HMGB1, 但 GDM 发病过程中脂肪和胎盘中 HMGB1 所起的作用尚不完全清楚。因此, 本研究将收集胎盘组织和网膜脂肪组织, 围绕 HMGB1 表达的变化展开研究, 通过对照研究及相关性分析来阐明 HMGB1 表达与 GDM 患者胰岛素抵抗程度及产后糖代谢异常的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2018 年 1 月至 2020 年 3 月在海安市中医院诊断为 GDM 并接受剖宫产的 58 例患者作为 GDM 组, 入组标准: ① 孕 24 ~ 28 周时接受口服葡萄糖耐量试验 (oral glucose tolerance test, OGTT), 符合 GDM 诊断标准^[5]; ② 孕期进行饮食控制、运动锻炼控制血糖; ③ 符合剖宫产指征并行剖宫产, 剖宫产当天留取外周静脉血, 术中留取网膜脂肪组织, 术后留取胎盘组织; ④ 产后 6 ~ 8 周门诊复诊。排除标准: ① 孕前患有糖尿病; ② 合并子痫前期、肝内胆汁淤积等其他妊娠期并发症; ③ 孕期接受胰岛素治疗。另取同期在我院产检并接受剖宫产的 60 例健康孕妇作为对照组。本研究取得医院伦理委员会批准, 获得入组对象知情同意。

1.2 临床样本收集

剖宫产当天抽取空腹肘静脉血 5 ~ 6 mL 置入含有促凝剂的生化采血管内, 离心分离血清后放置在 -80℃

保存; 剖宫产术中, 切取大网膜脂肪组织块、大小约 1 cm × 1 cm × 1 cm, 4 ~ 5 块, 生理盐水清洗后吸干水分, 放置在 -80℃ 保存; 剖宫产后, 在胎盘母体面、脐带周围 2 ~ 3 cm 处剪取绒毛组织块、大小约 1 cm × 1 cm × 1 cm, 4 ~ 5 块, 生理盐水清洗后吸干水分, 放置在 -80℃ 保存。

1.3 胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达的检测

采用 RIPA 裂解液对胎盘组织和脂肪组织进行匀浆, 12 000 r/min、4℃ 离心 10 min, 分离上清得到蛋白样本, 采用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 将 30 μg 蛋白样本用于 western blot 检测。在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶中电泳, 电转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温孵育 PVDF 膜 1 h, HMGB1 抗体 (Abcam 公司、1:1 000 稀释) 或 β-actin 抗体 (Sigma 公司、1:5 000 稀释) 4℃ 孵育 PVDF 膜过夜, HRP 二抗 (Abcam 公司、1:2 000 稀释) 室温孵育 PVDF 膜 1 h, 最后在凝胶成像系统 (上海天能公司) 中显影得到 HMGB1 及 β-actin 的条带, 根据 HMGB1 与 β-actin 条带灰度值的比值计算 HMGB1 的蛋白表达水平。

1.4 血清指标检测

采用全自动生化分析仪 (美国罗氏公司) 检测空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG), 采用电化学发光仪 (美国罗氏公司) 检测空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS), 代入公式 $FBG \times FINS / 22.5$ 计算稳态模型胰岛素抵抗指数 (homeostasis model assessment insulin resistance, HOMA-IR); 采用酶联免疫吸附法试剂盒 (上海西唐公司) 检测 HMGB1 的含量。

1.5 产后糖代谢异常的随访

产后第 6 ~ 8 周时门诊复诊, 行 OGTT 检查, 根据结果判断是否存在产后糖代谢异常, 糖代谢异常包括: ① 糖尿病: $FBG \geq 7.0$ mmol/L 和/或 OGTT 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L; ② 空腹血糖受损: $FBG 6.1 \sim 7.0$ mmol/L 且 OGTT 2 h 血糖 < 7.8 mmol/L; ③ 葡萄糖耐量受损: $FBG 6.1 \sim 7.0$ mmol/L 且 OGTT 2 h 血糖 $7.8 \sim 11.1$ mmol/L。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件录入数据, 计量资料首先进行正态性检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 两计量资料的相关性分析采用 Pearson 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料的比较

GDM 组年龄 (29.89 ± 6.58) 岁, 孕前体质指数

(body mass index, BMI) (23.44 ± 7.15) kg/m^2 , 孕周 (37.84 ± 7.15) 周, 新生儿体重 (3.08 ± 0.62) kg ; 对照组年龄 (27.83 ± 10.93) 岁, 孕前 BMI (22.31 ± 6.88) kg/m^2 , 孕周 (38.75 ± 10.12) 周, 新生儿体重 (3.36 ± 0.98) kg 。两组间年龄、孕前 BMI、孕周、新生儿体重的比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 两组血清中 HMGB1 含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平的比较

与对照组比较, GDM 组患者剖宫产当天血清 HMGB1 的含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平均明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 详见图 1、图 2 及表 1。

2.3 GDM 组血清中 HMGB1 含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平的相关性

GDM 组血清中 HMGB1 含量与胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平均具有正相关关系, 胎盘组织中 HMGB1 表达水平与脂肪组织中 HMGB1 表达水平也具有正相关关系, 见图 3。

2.4 两组胰岛素抵抗程度的比较

与对照组比较, GDM 组患者剖宫产当天 FINS 含量、HOMA-IR 水平均明显升高, 差异有统计学意义 ($P <$

0.05), 详见表 2。

2.5 GDM 组胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达与胰岛素抵抗程度的相关性

GDM 组患者胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平与剖宫产当天 FINS 含量、HOMA-IR 水平具有正相关关系, 见下页图 4。

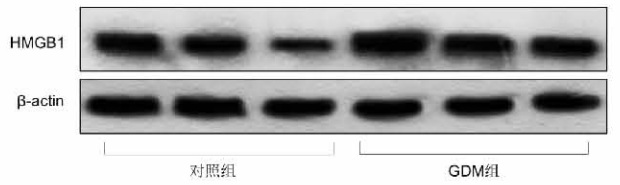


图 1 两组胎盘组织中 HMGB1 的条带图

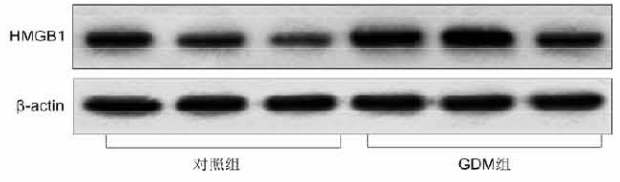
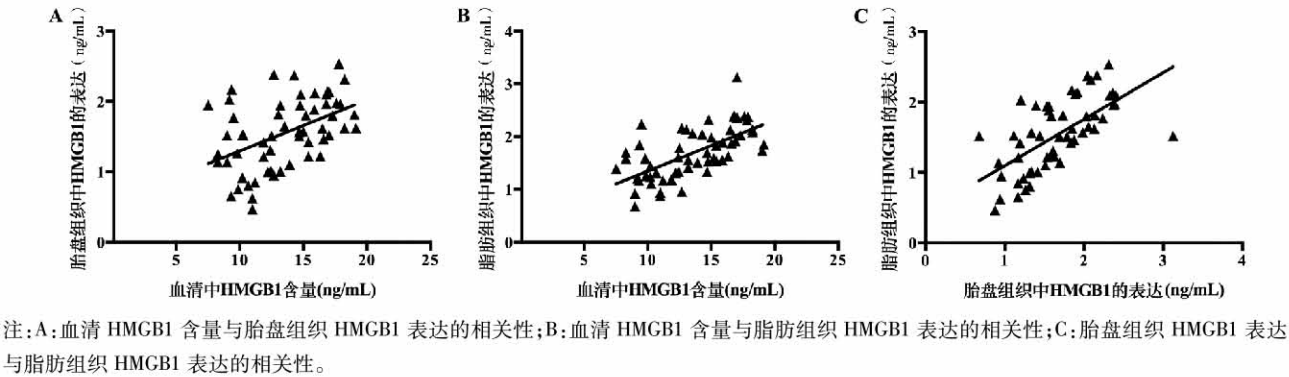


图 2 两组脂肪组织中 HMGB1 的条带图

表 1 两组血清中 HMGB1 含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平的比较 (ng/mL , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	血清中 HMGB1 含量	胎盘中 HMGB1 表达水平	脂肪中 HMGB1 表达水平
GDM 组	58	13.52 ± 3.21	1.55 ± 0.49	1.69 ± 0.49
对照组	60	9.58 ± 1.84	1.00 ± 0.25	1.00 ± 0.32
t 值		8.241	7.718	9.086
P 值		<0.001	<0.001	<0.001



注: A: 血清 HMGB1 含量与胎盘组织 HMGB1 表达的相关性; B: 血清 HMGB1 含量与脂肪组织 HMGB1 表达的相关性; C: 胎盘组织 HMGB1 表达与脂肪组织 HMGB1 表达的相关性。

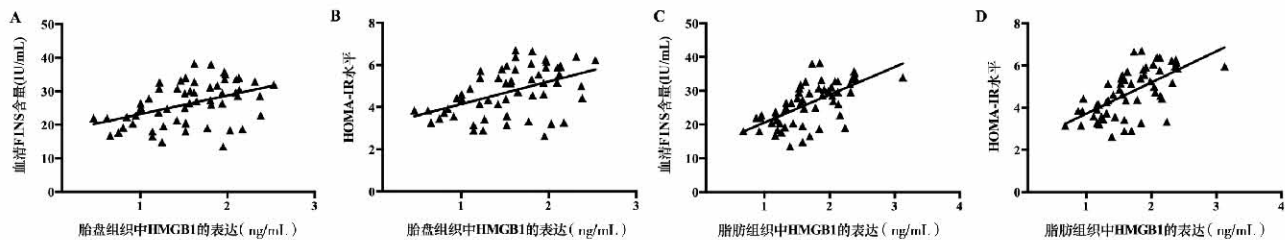
图 3 GDM 组血清中 HMGB1 含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平的相关性

表 2 两组胰岛素抵抗程度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	F-INS (IU/mL)	HOMA-IR
GDM 组	58	26.24 ± 6.27	4.73 ± 1.12
对照组	60	19.47 ± 4.48	3.48 ± 0.68
t 值		6.766	7.356
P 值		<0.001	<0.001

2.6 GDM 组中产后糖代谢异常患者与产后糖代谢正常患者胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平的比较

与 GDM 组中产后糖代谢正常患者比较, 产后糖代谢异常患者胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平均明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 详见下页图 5、图 6 及表 3。



注:A:胎盘中 HMGB1 与 FINS 的相关性;B:胎盘中 HMGB1 与 HOMA-IR 的相关性;C:脂肪中 HMGB1 与 FINS 的相关性;D:脂肪中 HMGB1 与 HOMA-IR 的相关性。

图4 GDM 组患者胎盘及脂肪组织中 HMGB1 与 FINS、HOMA-IR 的相关性

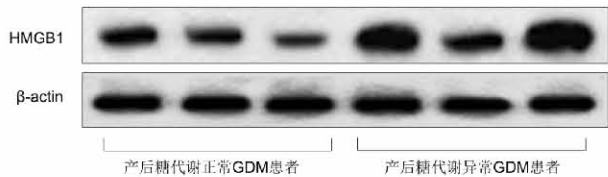


图5 GDM 组中产后糖代谢异常患者与产后糖代谢正常患者胎盘组织中 HMGB1 的条带图

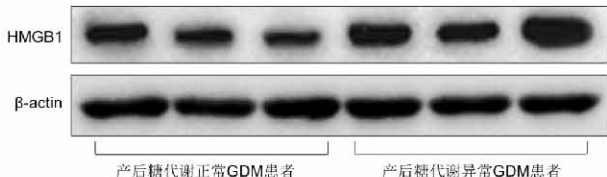


图6 GDM 组中产后糖代谢异常患者与产后糖代谢正常患者脂肪组织中 HMGB1 的条带图

表3 GDM 组中产后糖代谢异常患者与产后糖代谢正常患者血清中 HMGB1 含量、胎盘及脂肪组织中 HMGB1 表达水平的比较 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

GDM 组	例数	血清中 HMGB1 含量	胎盘中 HMGB1 表达水平	脂肪中 HMGB1 表达水平
产后糖代谢异常	20	14.43 ± 2.74	1.78 ± 0.34	1.89 ± 0.37
产后糖代谢正常	38	13.05 ± 3.37	1.43 ± 0.52	1.58 ± 0.51
t 值		2.182	2.714	2.402
P 值		0.029	0.009	0.020

3 讨论

胰岛素抵抗不仅是 GDM 主要的病理生理特征,也存在于正常妊娠过程。有研究报道,正常孕妇在孕期的胰岛素敏感性下降约 50%,胰岛素分泌量增加 250%;而在 GDM 的发病过程中,胰岛素抵抗程度较正常孕妇显著加重^[6]。孕期胰岛素抵抗的产生与母体炎症反应的激活密切相关,肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor, TNF-α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1β、IL-18、HMGB1 等是目前已知在孕期分泌增多且与胰岛素抵抗相关的炎症细胞因子,多项研究发现, GDM 患者血清中 HMGB1、TNF-α、IL-1β、IL-18 等的含量明显增加且与胰岛素抵抗程度具有相关性^[7-9],本研究也发现 GDM 患者血清中 HMGB1 的含量明显高于正常孕妇。但 GDM 发病过程中母体血液循环中影响胰岛素敏感性的炎症细胞因子的来源尚不清楚,目前 GDM 的发病机制也未完全阐明。

胎盘和脂肪组织具有较强的内分泌功能,能够合成多种细胞因子、激素等并释放进入血液循环,在妊娠维持、分娩启动、病理妊娠中均起重要作用。胎盘和脂肪组织在 GDM 的发病过程中也发挥重要作用,国外多项研究发现 GDM 的脂肪和胎盘组织中存在炎症反应的过

度激活^[10-12]。HMGB1 是重要的炎症细胞因子,本研究发现 GDM 孕妇胎盘组织和脂肪组织中 HMGB1 的表达水平明显高于正常孕妇,表明胎盘和脂肪中 HMGB1 的异常高表达与 GDM 的发病有关。进一步通过相关性分析发现:GDM 患者胎盘和脂肪中 HMGB1 的表达与血清中 HMGB1 的含量呈正相关,表明 GDM 发病过程中母体血液循环内异常增高的 HMGB1 可能来源于胎盘和脂肪组织中异常高表达的 HMGB1;同时本研究还发现胎盘和脂肪中 HMGB1 的表达具有正相关关系,表明胎盘和脂肪异常高表达的 HMGB1 可能存在互相促进的作用。

HMGB1 对胰岛素抵抗有促进作用,对胰岛素信号转导通路中胰岛素受体底物-1、葡萄糖转运蛋白4、蛋白激酶 B 等的表达有抑制作用^[13-14]。国内多项研究发现, GDM 患者脂肪和胎盘组织中存在胰岛素信号转导障碍,胰岛素信号转导通路中的胰岛素受体底物-1、葡萄糖转运蛋白4、蛋白激酶 B 等的表达均明显减少^[15-16],表明胎盘和脂肪组织可能在 GDM 的胰岛素抵抗中发挥重要作用。本研究通过相关性分析发现:GDM 患者胎盘和脂肪组织中 HMGB1 的表达与胰岛素抵抗程度呈正相关,即与 FINS 含量及 HOMA-IR 水平呈正相关,表明胎盘及脂肪组织中异常高表达的 HMGB1 在 GDM 发病过

程中与母体胰岛素抵抗及高胰岛素血症的加重有关。

GDM 不仅在孕期威胁孕妇和胎儿的健康,还会增加孕妇远期发生糖代谢异常的风险。产后糖代谢异常同样与胰岛素抵抗有关,Fan Y^[17]和 Lappas M^[18]的研究分别证实 GDM 患者胰岛素抵抗加重、细胞游离胰岛素 DNA 水平增加与产后发展为 2 型糖尿病密切相关。本研究已经证实胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的高表达与 GDM 胰岛素抵抗的加重有关,在此基础上分析 HMGB1 与产后糖代谢异常的关系可知:产后 6~8 周糖代谢异常孕妇胎盘及脂肪组织中 HMGB1 的表达水平高于糖代谢正常孕妇。笔者分析认为,脂肪组织中 HMGB1 的高表达可能在产后继续分泌大量 HMGB1 进入血液循环并引起胰岛素抵抗、导致糖代谢异常;胎盘组织在分娩后离开母体,但本研究的结果发现胎盘组织中 HMGB1 的高表达也与产后糖代谢异常有关,可能是孕期胎盘组织表达和释放的 HMGB1 与脂肪组织存在关联、作用于脂肪组织并放大了炎症反应,进而使脂肪组织的炎症反应持续处于放大激活状态,并在产后继续影响胰岛素敏感性、引起胰岛素抵抗。

综上所述,本研究通过以上临床样本的检测和分析发现 GDM 患者胎盘及脂肪组织中 HMGB1 高表达与母体血液循环中 HMGB1 增多、胰岛素抵抗加重及产后糖代谢异常有关,但 HMGB1 造成胰岛素抵抗的机制、对胎盘和脂肪组织中胰岛素信号转导通路的影响、引起产后糖代谢异常的机制仍有待更多的研究。

【参考文献】

- [1] Nwose EU, Mogbusiaghan M, Bwititi PT, et al. Barriers in determining prevalence of type 2 diabetes mellitus among postpartum GDM: The research and retraining needs of healthcare professionals [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(4):2533-2539.
- [2] Nielsen KK, O'Reilly S, Wu N, et al. Development of a core outcome set for diabetes after pregnancy prevention interventions (COS-DAP): a study protocol [J]. *Trials*, 2018, 19(1):708.
- [3] Hill AV, Menon R, Perez-Patron M, et al. High-mobility group box 1 at the time of parturition in women with gestational diabetes mellitus [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2019, 82(5):e13175.
- [4] 石燕,伍理,郑维玲,等.妊娠期糖尿病患者外周血高迁移率族蛋白 1 表达水平检测及其临床意义 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2014, 30(7):543-545.
- [5] 中华医学会妇产科学分会产科学组,中华医学会围产医学分会妊娠合并糖尿病协作组.妊娠合并糖尿病诊治指南(2014) [J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(8):561-569.
- [6] Catalano PM. Trying to understand gestational diabetes [J]. *Diabet Med*, 2014, 31(3):273-281.
- [7] Tsiotra PC, Halvatsiotis P, Patsouras K, et al. Circulating adipokines and mRNA expression in adipose tissue and the placenta in women with gestational diabetes mellitus [J]. *Peptides*, 2018, 101:157-166.
- [8] Braga FO, Negrato CA, Matta Mfd, et al. Relationship between inflammatory markers, glycated hemoglobin and placental weight on fetal outcomes in women with gestational diabetes [J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2019, 63(1):22-29.
- [9] Yaqiong L, Guohua W, Fuyan Y, et al. Study on the levels of 25 (OH) D, inflammation markers and glucose and fat metabolism indexes in pregnant women of Han nationality in Jiangsu province with gestational diabetes mellitus [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(35):e21654.
- [10] Dong Y, Madhu C, Ancizar B, et al. Adipose tissue inflammation and adrenomedullin overexpression contribute to lipid dysregulation in diabetic pregnancies [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(10):3810-3818.
- [11] Bianchi C, Taricco E, Cardellicchio M, et al. The role of obesity and gestational diabetes on placental size and fetal oxygenation [J]. *Placenta*, 2020, 13(103):59-63.
- [12] Cinkajzlová A, Anderlová K, Šimjůk P, et al. Subclinical inflammation and adipose tissue lymphocytes in pregnant females with gestational diabetes mellitus [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11):dgaa528.
- [13] Jiang Y, Steinle JJ. HMGB1 inhibits insulin signalling through TLR4 and RAGE in human retinal endothelial cells [J]. *Growth Factors*, 2018, 36(3-4):164-171.
- [14] Liu L, Jiang Y, Steinle JJ. Inhibition of HMGB1 protects the retina from ischemia-reperfusion, as well as reduces insulin resistance proteins [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5):e0178236.
- [15] 杨敏,张静,赵喜花.妊娠糖尿病患者脂肪组织中 IRS-1、IRS-2、Omentin-1 表达与胰岛素抵抗 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2019, 27(9):1159-1162.
- [16] 冯卫红,王艳霞,计静,等. IRS-1 和 GLUT4 在妊娠期糖尿病患者胎盘组织中的表达水平及其临床意义 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(3):251-253.
- [17] Fan Y, Wang L, Liu H, et al. β -Cell function or insulin resistance was associated with the risk of type 2 diabetes among women with or without obesity and a history of gestational diabetes [J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8(1):e001060.
- [18] Lappas M, Georgiou HM, Willcox JC, et al. Postpartum circulating cell-free insulin DNA levels are higher in women with previous gestational diabetes mellitus who develop type 2 diabetes in later life [J]. *J Diabetes Res*, 2019, 24(2019):3264184.

(收稿日期:2021-07-12 编辑:伍励)