

· 论 著 ·

SHBG 与胰岛素传导通路蛋白在 GDM 孕妇胎盘组织中的表达分析*

息小雪, 郑 阳, 金 镇[△], 孙 磊, 孙 倩, 练思宇, 冯 冲, 王 越, 张 宝

(中国医科大学附属盛京医院妇产科, 沈阳 110004)

摘要:目的 探讨妊娠期糖尿病(GDM)孕妇胎盘组织中的性激素结合球蛋白(SHBG)与胰岛素受体底物(IRS)-1、IRS-2、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)p85 的表达及相关性。方法 选取 2013 年 6 月至 2014 年 6 月在中国医科大学附属盛京医院住院的妊娠 37~42 周行择期剖宫产的 30 例 GDM 孕妇(GDM 组)和 30 例同期行剖宫产分娩的正常孕妇(对照组)。采用免疫组织化学染色的方法检测 SHBG、IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 在两组胎盘组织中的表达情况。应用 Pearson 相关分析 SHBG 与 IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 的相关性。结果 在 GDM 组与对照组孕妇胎盘组织中 SHBG、IRS-1、PI3Kp85 表达量比较, 差异均具有统计学意义($P<0.05$), 而 IRS-2 表达量两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Pearson 相关分析显示, SHBG 和 IRS-1 在胎盘组织中的表达呈正相关($P<0.01$, $R^2=0.542$)。SHBG 和 PI3Kp85 在胎盘组织中的表达呈正相关($P<0.05$, $R^2=0.520$)。结论 SHBG 在孕妇胎盘中表达量减少能够通过影响 IRS-1/PI3Kp85 信号传导通路而在 GDM 发病中发挥一定的作用。

关键词:妊娠期糖尿病; 性激素结合球蛋白; 胰岛素受体底物; 磷脂酰肌醇 3 激酶

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.17.004 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)17-2417-04

The expression and correlation between SHBG and the protein of the insulin signaling pathway in placenta tissue of GDM patients*

XI Xiaoxue, ZHENG Yang, JIN Zhen[△], SUN Lei, SUN Qian, LIAN Siyu, FENG Chong, WANG Yue, ZHANG Bao

(Department of Obstetrics and Gynecology, Shengjing Hospital Affiliated to China

Medical of University, Shenyang, Liaoning 110004, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of sex hormone binding globulin(SHBG) and insulin receptor substrate(IRS)-1, IRS-2, phosphatidyl inositol 3 kinase(PI3K) p85 in the placenta tissue of gestational diabetes mellitus, and analyze their correlation. **Methods** Thirty pregnant women with GDM who delivered by cesarean section between 37 and 42 gestational weeks in the hospital from June 2013 to June 2014 were enrolled in the study as GDM group. Thirty normal pregnant women who delivered during the same period by cesarean section were recruited as control group. Expression of SHBG, IRS-1, IRS-2, PI3Kp85 were detected by using immunocytochemical staining in placenta tissues from 30 GDM pregnant women and 30 normal pregnant women. Correlation coefficient between each indicators is obtained by using the Pearson correlation analysis. **Results** The SHBG and IRS-1, PI3Kp85 expression in GDM pregnant women and normal pregnant women were statistically different($P<0.05$), while the SHBG and IRS-2 in GDM pregnant women and normal women were not statistically different($P>0.05$). Pearson correlation analysis show that SHBG and IRS-1 expression in placenta tissue were positively correlated($P<0.01$, $R^2=0.542$). SHBG and IRS-1 expression in placenta tissue were positively correlated($P<0.05$, $R^2=0.520$). **Conclusion** The decline of SHBG expression in placenta can indirectly influence the IRS-1/PI3Kp85 signaling pathway, which play a role in the pathogenesis of GDM.

Key words: gestational diabetes mellitus; sex hormone binding globulin; insulin receptor substrate; phosphatidyl inositol 3 kinase

妊娠期糖尿病(GDM)在我国的发病率为 1%~5%, 近年来发病率有明显上升趋势^[1]。多数 GDM 患者在产后都能恢复正常, 然而将来患 2 型糖尿病的风险将会明显增加^[2]。性激素结合球蛋白(SHBG)对 GDM 有重要调节作用^[3-5]。SHBG 是由肝脏细胞产生的一种循环类胆固醇蛋白, 既能够运输性激素, 还能够作用于组织受体以调节细胞功能^[6]。同时, SHBG 在母体血清和胎盘中的低表达可能诱发或加重 GDM^[7]。胰岛素抵抗(IR)是导致 GDM 发生、发展的重要原因, IR 的病理基础是胰岛素传导通路异常^[8]。因此, 本研究采用免疫组织化学(简称免疫组化)染色的方法检测了 SHBG、胰岛素受体底物(IRS)-1、IRS-2、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)p85 在两组中胎盘组织的表达情况, 应用 Pearson 相关分析了 SHBG 与 IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 的相关性, 以探讨 SHBG 的表达在 GDM 发病

中的作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 6 月至 2014 年 6 月在中国医科大学附属盛京医院住院的妊娠 37~42 周行择期剖宫产的 30 例 GDM 孕妇, 诊断标准依据中华人民共和国卫生行业标准《WS 331-2011 妊娠期糖尿病诊断》及 2010 年国际糖尿病和妊娠研究组(IADPSG)推荐的 GDM 诊断标准^[9-10]。另外, 选取 30 例同期行剖宫产分娩的正常孕妇作为对照组, 糖代谢均正常且既往无糖尿病, 无心、肝、肾等功能异常。所有患者签署知情同意书。在胎盘娩出后, 取母体面 1.0 cm×1.0 cm×1.0 cm 大小的胎盘组织, 并进行石蜡包埋, 4 μm 连续切片。

1.2 主要试剂 兔抗人 SHBG、IRS-1、IRS-2 多克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司。兔抗人 PI3Kp85 单克隆抗

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81170591)。

作者简介: 息小雪, 女, 医师, 主要从事妊娠期糖尿病等方面的研究。 [△] 通讯作者, E-mail: jinzhen66@aliyun.com。

体购自北京博奥森生物技术有限公司。免疫组化染色链霉素亲和素-生物素-过氧化物酶复物(SABC)试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化染色 石蜡切片常规脱蜡、水化后加入抗原修复液在室温放置 15 min,血清封闭于孵箱(37℃)放置 30 min,然后加入一抗(兔抗人 SHBG/IRS-1/IRS-2 多克隆抗体,1:150/1:320/1:320 稀释,或 1:150 稀释的兔抗人 PI3Kp85 单克隆抗体)湿盒孵育,4℃冰箱过夜。第 2 天,滴加羊抗兔二抗和辣根过氧化物酶,DAB 溶液显色。阴性对照以 PBS 替代一抗,在相同条件下进行免疫组化染色,光镜下观察。

1.3.2 SHBG、IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 表达强度的半定量分析

应用 NIS-Elements F3.0 图像采集软件和 NIS-Elements BR3.0 图像分析软件(日本 Nikon 公司)进行图像采集,并计算平均光密度值(MOD),并对其表达强度进行半定量分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,Pearson 相关分析各指标间的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇一般临床资料的比较 两组孕妇年龄、孕周比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);GDM 组新生儿体质量明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 GDM 组与对照组一般临床资料的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄(岁)	孕周(周)	新生儿体质量(g)
GDM 组	29.57±2.61	39.00±0.66	3 792.33±527.67
对照组	28.53±3.08	39.06±0.73	3 445.00±453.41
<i>t</i>	-1.402	0.319	-2.734
<i>P</i>	0.166	0.751	0.008

2.2 SHBG 在胎盘组织中的表达 SHBG 主要表达于胎盘合体滋养层细胞的细胞膜和细胞质,见图 1、2。对照组 MOD($0.300 9 \pm 0.033 2$)高于 GDM 组($0.277 9 \pm 0.029 6$),差异有统计学意义($t = 2.828, P = 0.006$)。

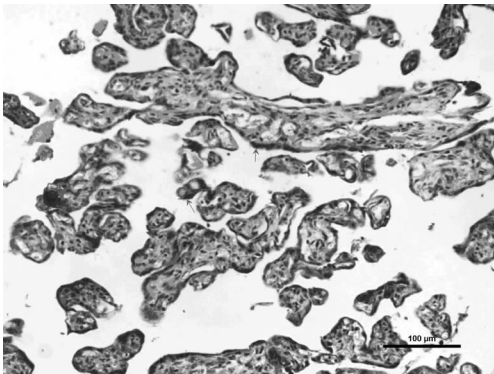


图 1 对照组胎盘中 SHBG 的表达(200×)

2.3 IRS-1 在胎盘组织中的表达 IRS-1 主要分布于胎盘合体滋养层细胞和血管内皮细胞细胞膜和细胞质中,见图 3、4。对照组 MOD($0.296 0 \pm 0.030 4$)高于 GDM 组($0.273 7 \pm 0.031 9$),差异有统计学意义($t = 2.778, P = 0.007$)。

2.4 IRS-2 在胎盘组织中的表达 IRS-2 主要表达于胎盘合体滋养层细胞和血管内皮细胞中,见图 5、6。对照组的 MOD 为 $0.280 6 \pm 0.025 5$,GDM 组的 MOD 为 $0.291 1 \pm 0.019 6$,

两组比较差异无统计学意义($t = -1.788, P = 0.079$)。

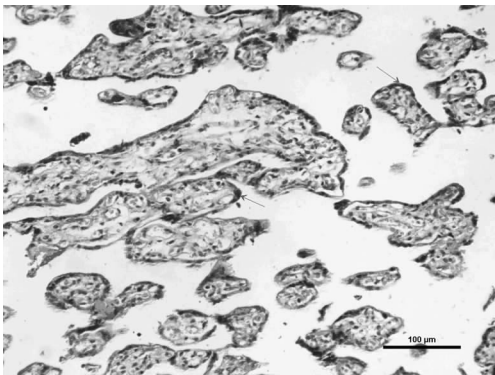


图 2 GDM 组胎盘中 SHGB 的表达(200×)

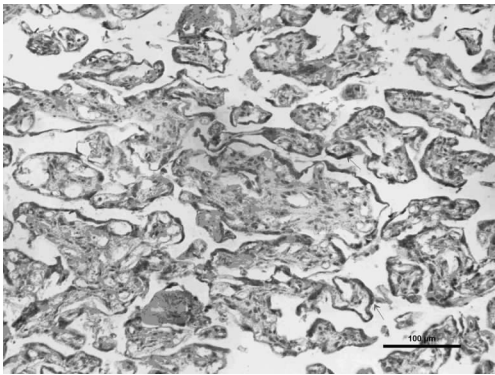


图 3 对照组胎盘中 IRS-1 的表达(200×)

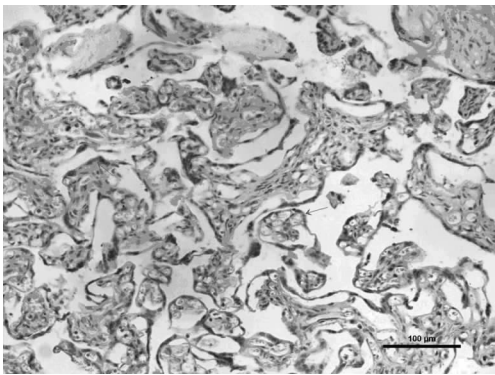


图 4 GDM 组胎盘中 IRS-1 的表达(200×)

2.5 PI3Kp85 在胎盘组织中的表达 PI3Kp85 主要表达于胎盘合体滋养层细胞的细胞膜和细胞质中,见图 7、8。对照组 MOD($0.299 4 \pm 0.017 0$)高于 GDM 组($0.285 9 \pm 0.022 7$),差异有统计学意义($t = 2.594, P = 0.012$)。

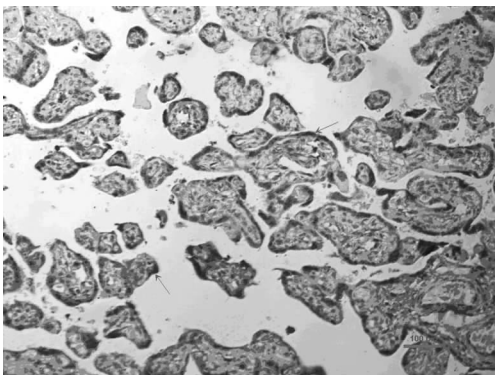


图 5 对照组胎盘中 IRS-2 的表达(200×)

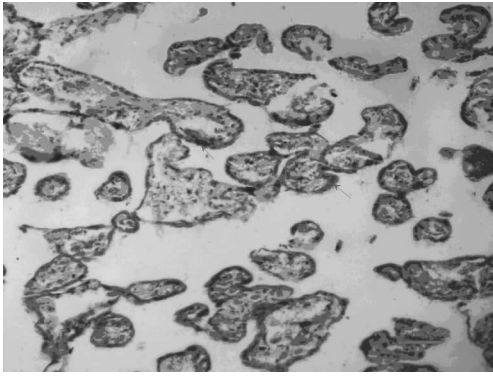


图 6 GDM 组胎盘中 IRS-2 的表达(200×)

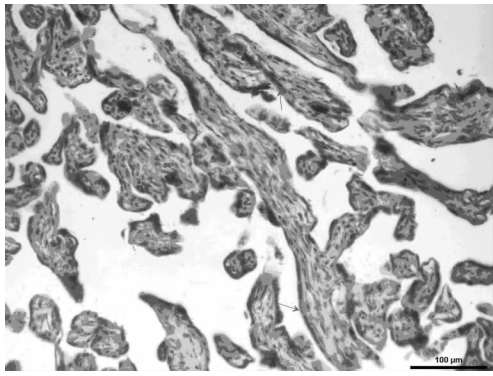


图 7 对照组胎盘中 PI3Kp85 的表达(200×)

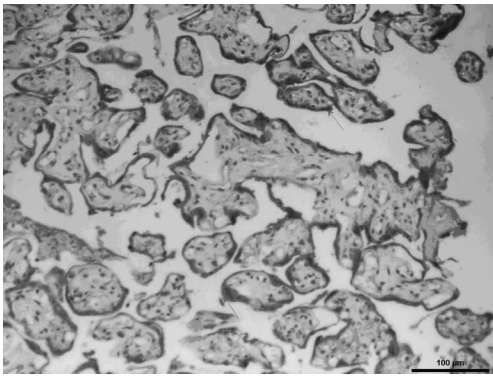


图 8 GDM 组胎盘中 PI3Kp85 的表达(200×)

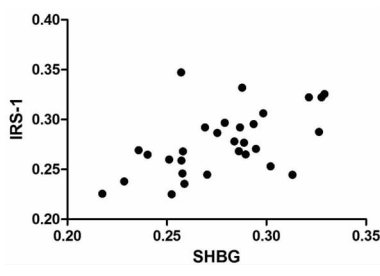


图 9 SHBG 和 IRS-1 蛋白在胎盘组织中表达量的相关性

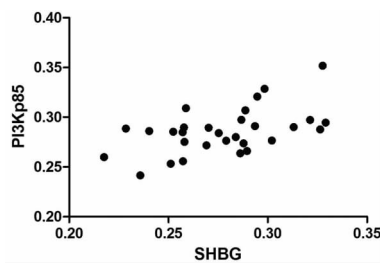


图 10 SHBG 和 PI3Kp85 蛋白在胎盘组织中表达量的相关性

2.6 SHBG 与 IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 蛋白表达量的相关性分析 Pearson 相关分析结果显示 SHBG 和 IRS-1 在胎盘组织中的表达量呈正相关($P=0.002, R^2=0.542$),见图 9。SHBG 和 IRS-2 在胎盘组织中的表达无明显相关性($P=0.963$)。SHBG 与 PI3Kp85 在胎盘组织中的表达量呈正相关($P=0.03, R^2=0.520$),见图 10。

3 讨 论

SHBG 是主要由肝细胞合成和分泌的一种多功能球蛋白,不仅受到性激素调节,还是胰岛素及其代谢的重要调节激素,胰岛素水平升高时,肝脏 SHBG 的合成减少。SHBG 表达降低是 GDM 和 2 型糖尿病的独立危险因素^[5]。前期的研究显示 GDM 患者多数存在高胰岛素血症并且其血清中 SHBG 浓度明显减少,高胰岛素血症导致了血清中 SHBG 浓度的减少。早孕期血清 SHBG 水平降低预示着将来 GDM 发病的可能;早孕期血清 SHBG 水平降低程度不但可以作为早期预测 GDM 发病的一个指标,而且还可以判定 GDM 发病的时间和程度^[11-12]。GDM 患者胎盘滋养细胞中有 SHBG 存在,但是其合成和分泌较少,其表达降低将导致人滋养细胞的生物学改变^[13-15],说明 SHBG 在 GDM 的发病过程中可能发挥着重要作用。

目前研究发现 GDM 的发病机制和 2 型糖尿病发病机制相似,其中 IR 是导致 GDM 的重要原因,IR 的病理基础是胰岛素传导通路异常,同时 IR/IRS-1/PI3K/AKT/GLUT-4 通路在血糖调节中起关键作用,在其通路的任何环节发生异常时均会导致 IR^[8-9]。因此,在临床中通过对此通路各蛋白表达的检测能够有效对 GDM 的发生进行监测和干预。

本研究对 GDM 孕妇胎盘内 SHBG、IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 的分布情况及表达强度进行了分析。采用 Pearson 相关分析了 SHBG 与 IRS-1、IRS-2、PI3Kp85 的相关性。GDM 组 SHBG、IRS-1、PI3Kp85 表达量均低于对照组($P<0.05$),而 IRS-2 表达量两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。SHBG 和 IRS-1 在胎盘组织中的表达呈正相关;SHBG 和 PI3Kp85 在胎盘组织中的表达呈正相关。在本课题此前研究中,GDM 孕妇胎盘中 SHBG 表达量与葡萄糖转运蛋白-4 的表达量均明显降低,SHBG 与葡萄糖转运蛋白-4 在 GDM 胎盘组织中的表达呈正相关^[16]。因此 SHBG 在孕妇胎盘中表达量减少能够通过影响 IRS-1/PI3Kp85 信号传导通路而在 GDM 发病中发挥一定的作用。

参考文献

[1] 韩树恒. 妊娠期糖尿病患者血糖对妊娠结局的影响[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(1): 76-77.
[2] Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes - A systematic review[J]. Diabetes Care, 2002, 25(10): 1862-1868.
[3] Bartha JL, Comino-Delgado R, Romero-Carmona R, et al. Sex hormone-binding globulin in gestational diabetes[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2000, 79(10): 839-845.
[4] Kopp HP, Festa A, Krugluger W, et al. Low levels of Sex-Hormone-Binding Globulin predict insulin requirement in patients with gestational diabetes mellitus[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2001, 109(7): 365-369.
[5] Thadhani R, Wolf M, Hsu-Blatman K, et al. First-trimester sex hormone binding globulin and subsequent gestational diabetes mellitus[J]. Am J Obstet(下转第 2422 页)

究样本量有限且随访时间不长,因此临床还应增加病例数,进一步观察和比较远期疗效。

参考文献

- [1] Petrelli F, De Stefani A, Raspagliesi F, et al. Radiotherapy with concurrent cisplatin-based doublet or weekly cisplatin for cervical cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 134(1): 166-171.
 - [2] Heijkoop ST, Van Doorn HC, Stalpers LJ, et al. Results of concurrent chemotherapy and hyperthermia in patients with recurrent cervical cancer after previous chemoradiation[J]. *Int J Hyperthermia*, 2014, 30(1): 6-10.
 - [3] Koh WJ, Greer BE, Abu-Rustum NR, et al. Cervical cancer[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2013, 11(3): 320-343.
 - [4] Massad LS. Developing guidelines for cervical cancer prevention in the face of diagnostic complexity[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2014, 12(3): 349-353.
 - [5] 周晖, 卢淮武, 彭永排, 等. 《2015 年 NCCN 宫颈癌临床实践指南》解读[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2015, 31(3): 185-191.
 - [6] 姜佩, 张友忠. 宫颈癌筛查细胞学结果异常的临床处理[J]. *现代妇产科进展*, 2010, 19(4): 241-244.
 - [7] 杨斌. 宫颈细胞学之国内外现状与几点意见[J]. *中华病理学杂志*, 2008, 37(9): 581-583.
 - [8] Rose PG, Java JJ, Whitney CW, et al. Locally advanced adenocarcinoma and adenosquamous carcinomas of the cervix compared to squamous cell carcinomas of the cervix in gynecologic oncology group trials of cisplatin-based chemoradiation[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 135(2): 208-212.
 - [9] Moore DH, Blessing JA, McQuellon RP, et al. Phase III study of cisplatin with or without paclitaxel in stage IVB, recurrent, or persistent squamous cell carcinoma of the cervix: a gynecologic oncology group study[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(15): 3113-3119.
 - [10] Green JA, Kirwan JM, Tierney JF, et al. Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet*, 2001, 358(9284): 781-786.
 - [11] Jakubowicz J, Blecharz P, Skotnicki P, et al. Toxicity of concurrent chemoradiotherapy for locally advanced cervical cancer[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2014, 35(4): 393-399.
 - [12] Likhacheva A, Jhingran A, Bodurka DC, et al. Prospective study of symptom assessment among patients with cervical cancer during concurrent chemoradiotherapy with weekly cisplatin or every-3-week cisplatin and 5-fluorouracil[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(8): 1520-1527.
 - [13] Au-Yeung G, Mileskin L, Bernshaw DM, et al. Radiation with cisplatin or carboplatin for locally advanced cervix cancer: the experience of a tertiary cancer centre[J]. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 2013, 57(1): 97-104.
 - [14] Hulston CJ, Jeukendrup AE. No placebo effect from carbohydrate intake during prolonged exercise[J]. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 2009, 19(3): 275-284.
 - [15] Chen XS, Nie XQ, Chen CM, et al. Weekly paclitaxel plus carboplatin is an effective nonanthracycline-containing regimen as neoadjuvant chemotherapy for breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(5): 961-967.
- (收稿日期: 2016-03-28 修回日期: 2016-06-11)
-
- (上接第 2419 页)
- Gynecol, 2003, 189(1): 171-176.
 - [6] Selva DM, Hogeveen KN, Innis SM, et al. Monosaccharide-induced lipogenesis regulates the human hepatic sex hormone-binding globulin gene[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(12): 3979-3987.
 - [7] Stefan N, Schick F, Haring HU. Sex hormone-binding globulin and risk of type 2 diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(27): 2675-2676.
 - [8] Karlsson M, Thorn H, Parpal S, et al. Insulin induces translocation of glucose transporter GLUT4 to plasma membrane caveolae in adipocytes[J]. *FASEB J*, 2002, 16(2): 249-251.
 - [9] 吴肖冰, 洪福昌, 张春来, 等. 深圳市 3551 例妊娠梅毒患者的性伴追踪情况及其影响因素分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2015, 49(12): 1067-1072.
 - [10] International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel, Metzger BE, Gabbe SG, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(3): 676-682.
 - [11] Jin Z, Guan X, Gao H, et al. The change in sex hormone binding globulin and the influence by gestational diabetes mellitus in fetal period[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2009, 25(10): 647-652.
 - [12] 金镇, 王娉婷, 王晓岩, 等. 早孕时血清 SHBG 水平与妊娠期糖尿病发病的关系[J]. *中国妇幼保健*, 2010, 25(28): 4113-4115.
 - [13] 孙磊, 金镇. 妊娠期糖尿病胎盘 SHBG 的免疫细胞化学与酶标免疫电镜观察[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2010, 18(10): 28-29.
 - [14] Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, et al. Klinefelter's syndrome[J]. *Lancet*, 2004, 364(9430): 273-283.
 - [15] Samango-Sprouse C. Mental development in polysomy X Klinefelter syndrome (47, XXY; 48, XXXY): effects of incomplete X inactivation[J]. *Semin Reprod Med*, 2001, 19(2): 193-202.
 - [16] 姜洁璇, 孙磊, 金镇, 等. 性激素结合球蛋白和葡萄糖转运蛋白在妊娠期糖尿病胎盘组织中的表达及相关性[J]. *中国医科大学学报*, 2015, 44(1): 5-9.
- (收稿日期: 2016-03-12 修回日期: 2016-06-01)