

## 2 型糖尿病患者肠道菌群特征及其与胰岛素抵抗间的关系

李亚楠<sup>1</sup>, 鲁燕<sup>1</sup>, 祁小飞<sup>1</sup>, 姚勇利<sup>2</sup>

1. 苏州大学附属第一医院内分泌科, 江苏 苏州 215006; 2. 青海省人民医院内分泌科, 青海 西宁 810000

**摘要:** **目的** 研究 2 型糖尿病(T2DM)患者肠道菌群特征及其与胰岛素抵抗(IR)间的关系。**方法** 将 2017 年 3 月至 2018 年 1 月收治的 46 例 T2DM 患者纳入为观察组,同时将 50 例同期行健康体检者纳入为对照组,首先采集观察组与对照组粪便标本,调查 42 例 T2DM 患者肠道菌落特征,并比较两组患者血脂代谢及 IR 指数,分析肠道菌落失常与患者血脂紊乱及 IR 间的关系。**结果** T2DM 组柔嫩梭菌、肠球菌水平显著高于健康对照组[(5.78 ± 1.12) logN/g vs (5.21 ± 1.01) logN/g, (4.61 ± 0.89) logN/g vs (4.23 ± 0.87) logN/g,  $P < 0.05$ ],拟杆菌与大肠杆菌水平显著低于对照组[(6.64 ± 1.07) logN/g vs (7.41 ± 1.05) logN/g, (1.91 ± 0.54) logN/g vs (2.18 ± 0.55) logN/g,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ],两组球形梭菌、乳酸杆菌、普氏菌及双歧杆菌水平无明显差异( $P > 0.05$ );两组血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及 IR 指数间存在明显差异[(5.77 ± 1.13) mmol/L vs (4.02 ± 0.58) mmol/L, (3.41 ± 0.67) mmol/L vs (1.36 ± 0.35) mmol/L, (1.21 ± 0.46) mmol/L vs (1.63 ± 0.43) mmol/L, (3.59 ± 0.89) mmol/L vs (1.89 ± 0.51) mmol/L, (1.02 ± 0.23) vs (3.68 ± 1.01),  $P < 0.05$ ];经 Pearson 相关性分析得出,拟杆菌与 IR 指数呈负相关( $r = -0.264$ ,  $P < 0.05$ ),肠球菌与 TG 呈正相关,与 HDL-C 呈负相关( $r = 0.313$ ,  $-0.247$ ,  $P < 0.05$ ),柔嫩梭菌与 HDL-C 呈负相关,与 IR 指数呈正相关( $r = -0.221$ ,  $0.314$ ,  $P < 0.05$ )。**结论** T2DM 患者存在肠道菌落失常现象,肠道菌落失常可能通过影响患者血脂代谢加重其 IR 现象。

**关键词:** 2 型糖尿病; 肠道菌落特征; 柔嫩梭菌; 肠球菌; 拟杆菌; 胰岛素抵抗

中图分类号: R 587.1 文献标识码: B 文章编号: 1674-8182(2019)12-1682-04

## Characteristics of intestinal flora and its relationship with insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus

LI Ya-nan\*, LU Yan, QI Xiao-fei, YAO Yong-li

\*Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215006, China

Corresponding author: LU Yan, E-mail: lucai1817@163.com

**Abstract: Objective** To study the characteristics of intestinal flora and their relationship with insulin resistance (IR) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Forty-six patients with T2DM from March 2017 to January 2018 were enrolled in observation group, and another 50 healthy examiners were enrolled in control group at the same time. The fecal samples of two groups were collected to investigate the characteristics of intestinal flora in 42 T2DM patients. The blood lipid metabolism and IR index were compared between two groups, and the correlations of intestinal flora disorder with dyslipidemia and IR were analyzed. **Results** The levels of clostridium leptum [(5.78 ± 1.12) logN/g vs (5.21 ± 1.01) logN/g] and enterococcus [(4.61 ± 0.89) logN/g vs (4.23 ± 0.87) logN/g] in T2DM group were statistically higher than those in control group (all  $P < 0.05$ ), and the levels of bacteroides [(6.64 ± 1.07) logN/g vs (7.41 ± 1.05) logN/g] and escherichia coli [(1.91 ± 0.54) logN/g vs (2.18 ± 0.55) logN/g] were significantly lower than those in control group (all  $P < 0.05$ ). There were no significant differences in the levels of spherobacillus, lactobacillus, plasmodium and bifidobacterium between two groups (all  $P > 0.05$ ). There were significant differences in the levels of TC [(5.77 ± 1.13) mmol/L vs (4.02 ± 0.58) mmol/L], TG [(3.41 ± 0.67) mmol/L vs (1.36 ± 0.35) mmol/L], HDL-C [(1.21 ± 0.46) mmol/L vs (1.63 ± 0.43) mmol/L], LDL-C [(3.59 ± 0.89) mmol/L vs (1.89 ± 0.51) mmol/L] and IR [(1.02 ± 0.23)

vs(3.68 ± 1.01)] between two groups(all  $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that bacteroides was negatively correlated with IR index ( $r = -0.264, P < 0.05$ ), and enterococcus was positively correlated with TG( $r = 0.313, P < 0.05$ ) and negatively correlated with HDL-C( $r = -0.247, P < 0.05$ ), and clostridium leptum was negatively correlated with HDL-C( $r = -0.221, P < 0.05$ ) and positively correlated with IR index( $r = 0.314, P < 0.05$ ). **Conclusion** Intestinal flora disorders occur in patients with T2DM. Intestinal flora disorders may aggravate the IR phenomenon by affecting blood lipid metabolism.

**Key words:** Type 2 diabetes mellitus; Intestinal flora features; Clostridium leptum; Enterococcus; Bacteroides; Insulin resistance

**Fund program:** Suzhou Science and Technology Plan Project (SYS201603, SS201823)

2 型糖尿病(T2DM)是一种常见的代谢异常疾病,目前并无彻底根治的方法,只能采取药物调控血糖,控制病情发展<sup>[1]</sup>。T2DM 患者一般存在胰岛素抵抗(IR)现象,机体靶器官对胰岛素作用的敏感性下降,需大量的胰岛素才能达到理想效果<sup>[2]</sup>。炎症反应、免疫失常均与 IR 相关,而肠道菌落在机体免疫、炎症反应、能量调节中发挥重要功效。有研究报道,T2DM 患者存在肠道菌落失常现象<sup>[3]</sup>。为探究 T2DM 患者肠道菌落与其 IR 间的关系,我院开展如下研究。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

1.1.1 研究对象 将本院 2017 年 3 月至 2018 年 1 月收治的 46 例 T2DM 患者纳为观察组,同时选取 50 例同期于医院体检部行健康体检者为对照组,健康志愿者无糖尿病、无重要脏器损坏。其中观察组男 23 例,女 23 例;年龄 18~65(45.22 ± 15.26)岁,对照组男 27 例,女 23 例;年龄 18~65(46.14 ± 16.02)岁,两组性别、年龄无明显差异( $P > 0.05$ )。本研究经本院伦理委员会批准。

1.1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)T2DM 患者符合 1999 年 WHO 制定的诊断标准<sup>[4]</sup>;(2)年龄 18~65 周岁;(3)知情且自愿参与本研究。排除标准:(1)其他类型糖尿病患者;(2)其他内分泌疾病者;(3)近一个月服用抗生素及微生态制剂;(4)近一个月有腹泻或其他胃肠道疾病史;(5)胃肠手术史。

### 1.2 方法

1.2.1 T2DM 患者肠道菌落特征调查 采集 96 例研究对象粪便标本,使用密闭储存盒放置于 -80 °C 低温冰箱中待用,按照步骤<sup>[5]</sup>提取粪便细菌总 DNA,

应用菌属 16rRNA v3 序列特异性引物进行实时荧光定量 PCR 分析,最终结果以细菌拷贝数的常用对数/g 表示。

1.2.2 脂质代谢指标检测 取研究对象空腹静脉血 5 ml,室温离心 10 min 分离血清,测定其血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量。

1.2.3 IR 指数计算 参照 HOMA 常模<sup>[6]</sup>, $HOMA - IR = (FINS \times FPG) / 22.5$ 。

1.3 观察指标 (1)统计并比较两组目标菌属含量及比例差异。(2)比较两组脂质代谢水平及 IR 指数。(3)采用 Pearson 相关性分析肠道菌群变化与脂代谢及 IR 指数关系。

1.4 统计学方法 数据分析用 SPSS 19.0 软件处理。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间采用独立样本  $t$  检验;计数资料以例或百分比形式表示,采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组目标菌属拷贝数差异 T2DM 组柔嫩梭菌、肠球菌水平显著高于健康对照组,拟杆菌与大肠杆菌水平显著低于对照组( $P < 0.05, P < 0.01$ ),两组球形梭菌、乳酸杆菌、普氏菌及双歧杆菌水平无明显差异( $P > 0.05$ )。见表 1。

2.2 两组脂代谢及 IR 指数比较 T2DM 组 TC、TG、LDL-C 显著高于健康对照组;HDL-C、IR 指数显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.3 肠道菌落变化与脂代谢及 IR 指数间的相关性分析 拟杆菌与 IR 指数呈负相关( $r = -0.264, P < 0.05$ );肠球菌与 TG 呈正相关,与 HDL-C 呈负相

表 1 两组目标菌属拷贝数差异 ( $\log N/g, \bar{x} \pm s$ )

组别	例数	球形梭菌	柔嫩梭菌	乳酸杆菌	肠球菌	拟杆菌	普氏菌	双歧杆菌	大肠杆菌
T2DM 组	46	7.38 ± 1.22	5.78 ± 1.12	3.74 ± 0.88	4.61 ± 0.89	6.64 ± 1.07	4.65 ± 0.95	4.41 ± 0.68	1.91 ± 0.54
健康对照组	50	7.41 ± 1.23	5.21 ± 1.01	3.71 ± 0.79	4.23 ± 0.87	7.41 ± 1.05	4.66 ± 0.93	4.39 ± 0.77	2.18 ± 0.55
$t$ 值		0.12	2.62	0.18	2.11	3.56	0.05	0.13	2.42
$P$ 值		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.01	>0.05	>0.05	<0.05

表 2 两组脂代谢及 IR 指数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	IR 指数
T2DM 组	46	5.77 ± 1.13	3.41 ± 0.67	1.21 ± 0.46	3.59 ± 0.89	1.02 ± 0.23
健康对照组	50	4.02 ± 0.58	1.36 ± 0.35	1.63 ± 0.43	1.89 ± 0.51	3.68 ± 1.01
<i>t</i> 值		9.66	19.01	4.62	11.60	18.13
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 3 肠道菌落变化与 FPG、脂代谢及 IR 指数间的相关性分析

菌属		TG	HDL-C	IR 指数
拟杆菌属	<i>r</i> 值	-	-	-0.264
	<i>P</i> 值	-	-	<0.05
肠球菌属	<i>r</i> 值	0.313	-0.247	-
	<i>P</i> 值	<0.05	<0.05	-
柔嫩梭菌属	<i>r</i> 值	-	-0.221	0.314
	<i>P</i> 值	-	<0.05	<0.05

关( $r = 0.313, -0.247, P < 0.05$ ); 柔嫩梭菌与 HDL-C 呈负相关, 与 IR 指数呈正相关( $r = -0.221, 0.314, P < 0.05$ )。见表 3。

### 3 讨论

目前尚未明确糖尿病的致病机制, 医学界认为是一种由环境与遗传共同决定的复发性疾病<sup>[7-8]</sup>。近年来, 有研究发现多数糖尿病患者除了糖类代谢异常外, 还存在脂质代谢异常、肥胖、慢性炎症等问题, 而肠道菌落与机体代谢、营养吸收及免疫调节间存在密切关系<sup>[9-10]</sup>。本文收集 46 例 T2DM 患者与 50 例健康者的粪便标本, 行肠道菌落检验得出, T2DM 患者普遍存在肠道菌落失衡现象, 其柔嫩梭菌、肠球菌水平过高, 而拟杆菌与大肠杆菌水平过低, 经相关性分析得出, 肠道菌落改变与 T2DM 患者脂代谢异常及 IR 间均存在相关性, 提示肠道菌落异常可能参与 T2DM 的发展。

肠道菌落种类多, 分布复杂, 在消化系统的功效各不相同, 肠道厚壁杆菌是肠道中含量最高的优势细菌, 包括球形梭菌与柔嫩杆菌, 拟杆菌是人体肠道内的第二大优势类细菌, 属于革兰阴性严格厌氧菌<sup>[11-12]</sup>。本研究发现, T2DM 组柔嫩梭菌、肠球菌水平显著高于健康对照组, 拟杆菌与大肠杆菌水平显著低于对照组, 提示 T2DM 患者肠道菌落失常。柔嫩梭菌与球形梭菌的菌种亚群中大多数细菌是产丁酸盐细菌, 而丁酸不能被宿主吸收, 有动物性实验表明, 肥胖小鼠肠道内厚壁菌属增多, 进而提高了宿主对食物能量的吸收能力<sup>[13]</sup>。拟杆菌参与胆汁酸、类固醇、多糖的代谢, 还具有维持肠道正常生理的功效, 能有效降解人体不能代谢的植物多糖, 为宿主提供能量<sup>[14-15]</sup>。T2DM 患者肠道内柔嫩梭菌水平较高, 而拟杆菌水平较低, 这种异常变化可能引起代谢性内毒素血症水平异常, 诱导类似高脂饮食所导致的系统性

验证反应, 促进机体各组织中炎症因子的分泌, 促进糖尿病发展<sup>[16]</sup>。

各种原因所导致的胰岛素促进葡萄糖摄取与利用效率下降, 机体代偿性分泌过多胰岛素所产生的高胰岛素血症为 IR, IR 与 T2DM 病程发展直接相关, IR 指数是反映患者胰岛素功能的有效指标<sup>[17-18]</sup>。本研究发现, T2DM 患者空腹血糖水平及脂质代谢相关指标与正常对照组间存在显著差异, 进一步经 Pearson 相关性分析得出, 肠球菌属与 TG 呈正相关, 与 HDL-C 呈负相关, 柔嫩梭菌属与 HDL-C 呈负相关, 柔嫩梭菌与 IR 指数呈负相关, 拟杆菌属与 IR 指数呈正相关, 提示肠道菌落改变与 T2DM 患者脂质代谢及 IR 间均存在关系。推测肠道菌落异常可能通过影响患者脂质代谢参与糖尿病进程, 加重其 IR 现象。但本文研究样本太小, 为证实以上推论, 还应加大样本进行深入研究。

综上所述, T2DM 患者存在肠道菌落失常现象, 肠道菌落失常可能通过加重患者血脂代谢异常影响患者 IR 症状。

### 参考文献

- [1] 中华医学会内分泌学分会. 中国 2 型糖尿病合并肥胖综合管理专家共识[J]. 糖尿病天地(临床), 2016, 32(8): 623-627.
- [2] Mazeri S. Improved use of abattoir information to aid the management of liver fluke in cattle[J]. J Immunol, 2017, 182(1): 498-506.
- [3] Goedecke JH, Mendham AE, Clamp L, et al. An exercise intervention to unravel the mechanisms underlying insulin resistance in a cohort of black South African women: protocol for a randomized controlled trial and baseline characteristics of participants[J]. JMIR Res Protoc, 2018, 7(4): e75.
- [4] 徐向进, 潘长玉, 田慧, 等. WHO 及美国糖尿病学会糖尿病诊断标准在老年人群中应用的分析和评估[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2002, 18(5): 357-361.
- [5] 薛静静, 梁瑜祯. 肠道菌群与 2 型糖尿病关系的研究进展[J]. 山东医药, 2016, 56(9): 101-103.
- [6] Qasim QA, Fareed YY, Jabir MA, et al. Evaluation of chemerin and apelin adipokines in obese and non-obese type 2 diabetes mellitus patients[J]. Int J Pharm Sci Rev Res, 2016, 40(1): 228-233.
- [7] Han J, Kim SH, Suh YJ, et al. Serum chemerin levels are associated with abdominal visceral fat in type 2 diabetes[J]. J Korean Med Sci, 2016, 31(6): 924-931.
- [8] Noel S, Martina-Lingua MN, Bandapalle S, et al. Intestinal Microbiota-kidney cross talk in acute kidney injury and chronic kidney dis-

- ease[J]. *Nephron Clin Pract*, 2014, 127(1/2/3/4):139-143.
- [9] Rong ZH, Liang SC, Lu JQ, et al. Effect of intermittent fasting on physiology and gut Microbiota in presenium rats[J]. *J South Med Univ*, 2016, 37(4):423-430.
- [10] 熊青, 杨学军, 任汐, 等. 肠道菌群特征与胰岛素抵抗的相关性研究[J]. *重庆医学*, 2016, 45(33):4658-4660.
- [11] 马苏娴, 张锐锐, 王苏, 等. 2 型糖尿病患者肠道菌群变化及意义[J]. *山东医药*, 2017, 57(16):20-23.
- [12] Steen O, Goldenberg RM. The role of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in the management of type 2 diabetes[J]. *Can J Diabetes*, 2017, 41(5):517-523.
- [13] Dominguez Rieg JA, Chirasani VR, Koepsell H, et al. Regulation of intestinal SGLT1 by catestatin in hyperleptinemic type 2 diabetic mice[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(1):98-111.
- [14] de Matos MA, Duarte TC, Ottone Vde O, et al. The effect of insulin resistance and exercise on the percentage of CD16(+) monocyte subset in obese individuals[J]. *Cell Biochem Funct*, 2016, 34(4):209-216.
- [15] Singhal A, Agrawal A, Ling J. Regulation of insulin resistance and type II diabetes by hepatitis C virus infection: A driver function of circulating miRNAs [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(4):2071-2085.
- [16] 李琳琳, 杨浩, 王焯. 肠道菌群代谢产物短链脂肪酸与 2 型糖尿病的关系[J]. *新疆医科大学学报*, 2017, 40(12):1517-1521.
- [17] 赵涛, 乐静, 李传静, 等. 二甲双胍对 2 型糖尿病胰岛素抵抗患者糖脂代谢及脂肪因子的影响[J]. *安徽医药*, 2016, 20(7):1382-1385.
- [18] 巩静, 陈广, 王定坤, 等. 从脾胃论治糖尿病与肠道菌群的关系[J]. *中国中西医结合杂志*, 2016, 36(4):484-487.

收稿日期: 2019-03-30 编辑: 王国品

· 临床研究 ·

## 自噬相关蛋白 p62、Beclin1 在宫颈癌组织中的表达及意义

周冠琼<sup>1</sup>, 戴红艳<sup>1</sup>, 王昊珏<sup>1</sup>, 文洽先<sup>2</sup>, 张振勇<sup>2</sup>

1. 无锡市锡山人民医院妇产科, 江苏 无锡 214100; 2. 无锡市第三人民医院肿瘤科, 江苏 无锡 214000

**摘要:** **目的** 探究自噬相关蛋白 p62、Beclin1 在宫颈癌组织中的表达, 并分析其意义。 **方法** 选取 2016 年 1 月到 2018 年 12 月诊治的 120 例宫颈癌患者手术切除宫颈癌组织为研究对象, 另外选取 50 例未癌变子宫肌瘤患者手术切除的宫颈组织和 50 例手术切除获取的宫颈上皮内瘤变组织(CIN III)作为对照组, 分别检测其 p62、Beclin1 表达情况, 并分析其相关性。 **结果** p62 主要在宫颈鳞状细胞癌和 CIN III 组织细胞核中表达, 染色呈黄褐色; Beclin1 主要在正常宫颈上皮和 CIN III 组织细胞的细胞质和膜中表达, 染色呈黄棕色。 p62 在子宫颈鳞状细胞癌中阳性表达明显高于正常宫颈上皮和 CIN III 组织( $P < 0.017$ ), Beclin1 与之相反, 其宫颈癌阳性表达明显低于正常宫颈上皮和 CIN III 组织( $P < 0.017$ ); 有淋巴结转移患者 p62 在细胞质表达高于无淋巴结转移患者( $P < 0.05$ ), p62 在胞核、Beclin1 在胞膜和 Beclin1 在胞质表达均与患者其他临床特征无关( $P > 0.05$ )。 **结论** 自噬相关蛋白 p62、Beclin1 表达与宫颈癌发生和进展相关, 并且 p62 表达与宫颈癌预后相关, 二者表达或可用于评估癌症的发生与发展。

**关键词:** 自噬相关蛋白; p62; Beclin1; 宫颈癌; 蛋白表达

**中图分类号:** R 737.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2019)12-1685-04

### Expression of autophagy-related proteins p62 and Beclin1 in cervical cancer tissues and their significance

ZHOU Guan-qiong\*, DAI Hong-yan, WANG Hao-jue, WEN Qia-xian, ZHANG Zhen-yong

\* Department of Obstetrics and Gynecology, Xishan People's Hospital, Wuxi, Jiangsu 214100, China

Corresponding author: WEN Qia-xian, E-mail: ayrikk@126.com

**Abstract: Objective** To explore the expression of autophagy-related proteins p62 and Beclin1 in cervical cancer tissues and their significance. **Methods** From January 2016 to December 2018, 120 cases of cervical cancer tissues, 50 cases of