

文章编号 1006-8147(2015)02-0101-04

论 著

胰岛素抵抗 OLETF 大鼠血清 IL-18 水平变化及替米沙坦的干预研究

王伟占^{1,4}, 孙立亭¹, 赵志强², 田凤石³

(1.天津医科大学研究生院,天津 300070;2.天津医科大学第二医院心内科,天津 300211;3.天津市第四中心医院心内科,天津 300140;4.天津医科大学第四中心临床学院心内科,天津 300140)

摘要 目的:测定胰岛素抵抗(IR)OLETF 大鼠血清白介素-18(IL-18)的表达水平,研究血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂(AT1R)替米沙坦对 IL-18 水平的影响及对 IR 的干预作用,探讨其改善 IR 的可能机制。方法:OLETF 大鼠 24 只,高脂喂养 20 周诱导建立 IR 模型,将成功造模的 24 只 IR 大鼠随机分为 2 组,模型(M)组 12 只继续给予高脂饲料,替米沙坦(T)组 12 只给予替米沙坦[5 mg/(kg·d)]加高脂饲料,LETO 大鼠 12 只为对照(NC)组,给予标准饲料。干预 20 周后测定两组大鼠的体重(W)、血清胰岛素(FINS)、空腹血糖(FBG)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)及 IL-18 水平,并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、胰岛素敏感指数(ISI)。结果:M 组大鼠与 NC 组大鼠相比,W、FBG、TG、LDL-C 及 IL-18 水平明显增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);T 组与 M 组相比,FBG、TG、LDL-C、IL-18 水平明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。多元线性回归分析提示 IL-18 是 HOMA-IR 的独立影响因素。结论:IL-18 可能通过促进炎症参与了 IR,而替米沙坦可能通过调节糖脂代谢、抑制前炎症因子 IL-18 的表达改善 IR。

关键词 胰岛素抵抗;替米沙坦;OLETF 大鼠;白介素-18

中图分类号 R589

文献标志码 A

Change of interleukin-18 in OLETF rats with insulin resistance and effects of telmisartan

WANG Wei-zhan^{1,4}, SUN Li-ting¹, ZHAO Zhi-qiang², TIAN Feng-shi³

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Cardiology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 3. Department of Cardiology, The Fourth Center Hospital of Tianjin, Tianjin 300140, China; 4. Department of Cardiology, The Fourth Center Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300140, China)

Abstract **Objective:** To investigate change of interleukin-18 (IL-18) in OLETF rats with insulin resistance (IR), and to study the effect of angiotensin II type 1 receptor antagonists (AT1R) telmisartan on IR and the expression of IL-18, and the possible mechanisms of telmisartan improving IR. **Methods:** Twenty-four OLETF rats were fed with high-fat diet for 20 weeks to establish the IR model. Twenty-four OLETF rats with IR were randomly assigned into two groups: the model group (group M), in which the rats were fed with high-fat diet; the telmisartan group (group T), in which the rats were fed with high-fat diet and telmisartan [5 mg/(kg·d)]. Twelve LETO rats fed with normal diet served as normal control group (group NC). After 20 weeks of drug intervention, the weight (W), plasma levels of fasting insulin (FINS), fasting blood glucose (FBG), triglycerides (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and IL-18 were detected in two groups. And HOMA-IR and ISI were measured. **Results:** Compared with group NC, the W, FBG, TG, LDL-C and IL-18 were significantly increased in group M ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); compared with group M, the FBG, TG, LDL-C and IL-18 were significantly decreased in group T ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The multiple linear regression analysis showed that the serum IL-18 was an independent determinant of HOMA-IR. **Conclusion:** The IL-18 is an independent factor for IR, and telmisartan can improve IR by regulating blood glucose and serum lipid as well as inhibiting the expression of IL-18.

Key words insulin resistance; telmisartan; OLETF rats; IL-18

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是包括高血压、肥胖、糖代谢异常和脂代谢异常的综合征,有研究表明,MS 患者发生心脑血管疾病的风险明显增加^[1]。MS 的核心为胰岛素抵抗(IR),IR 既是多

种疾病的共同危险因素,又是 MS、2 型糖尿病等多种疾病的主要生理学基础^[2]。近年来,越来越多的流行病学及实验研究证实,炎症与 IR 之间存在着相关关系,并推测炎症可能为促进 IR 的一个重要因素^[3]。IL-18 是一种作用强大的前炎症细胞因子,有研究发现 IL-18 在炎症级联反应中居于中心地

作者简介 王伟占(1987-),女,硕士在读,研究方向:心血管内科;

通信作者:田凤石, E-mail: fengshitian080101@126.com。

位^[4],它能刺激肿瘤坏死因子(TNF- α)和 IL-6 的合成,可能在肥胖、IR 及 MS 之间起重要的联系作用。Yamaoka-Tojo 等^[5]研究发现 IL-18 可能成为 MS 慢性临床表现的有效生化标记物及治疗冠心病危险因素的新干预靶点。血管紧张素 II 受体拮抗剂(Angiotensin II receptor blockers, ARBs)替米沙坦是一种特异性 ATI 受体拮抗剂,同时具有选择性 PPAR γ 激动剂的活性,由于其 ARB/PPAR γ 配体双重效应,在降压、改善胰岛素抵抗等降低 MS 发生率方面具有很大潜力。OLETF (otsuka long-evans tokushima fatty)大鼠具有胰岛素敏感性和胰岛素反应性的遗传性缺陷,能自发形成稳定的胰岛素抵抗状态,其具有多食,体质量易急剧增加,易患高胰岛素血症、高三酰甘油血症和高血糖症等特点,可以很好地模拟人类 IR 及 2 型糖尿病(T2DM)的自然病程,而高脂饮食会进一步加重大鼠的炎症状态。本研究选用 OLETF 鼠及与其同种系非糖尿病的 LETO(Long-evans tokushima otsuka)大鼠作为对照,旨在观察 IR 对炎症细胞因子 IL-18 表达的影响,并通过血管紧张素 II 1 型受体拮抗剂(AT1R)替米沙坦进行干预,进一步探讨替米沙坦改善 IR 的机制。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)大鼠:4 周龄 OLETF 大鼠 24 只,同系 LETO 大鼠 12 只为正常对照(NC)组,体质量为 140~190 g。均由日本大冢制药公司研究所提供。(2)饲料:大鼠高脂饲料、标准饲料均由中国医学科学院放射医学研究所提供。(3)主要仪器与试剂:大鼠 IL-18 ELISA 试剂盒由武汉华美生物技术有限公司提供,批号:Catalog NO.CSB-EO4610r,灵敏度为 0.156 ng/mL;替米沙坦(北京万生药物责任有限公司),全自动生化分析仪(德国 SWA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 饲养与分组 正常对照组 LETO 大鼠以标准饲料喂养,所有 OLETF 大鼠以高脂饲料分笼喂养,自由饮水^[6],高脂喂养 20 周后将成功建立 IR 模型的 24 只大鼠随机分为 2 组:模型(M)组 12 只,继续给予高脂饲料;替米沙坦(T)组 12 只给予高脂饲料加替米沙坦[5 mg/(kg·d)],共干预 20 周。

1.2.2 指标检测 所有 OLETF 大鼠喂养至 20 周时,均禁食 12 h,然后测定空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)并计算 IR 指数[HOMA-IR=(FBG×FINS)/22.5],胰岛素敏感指数[ISI=Ln1/(FBG×FINS)],判断是否成功建立 IR 模型。药物干预 20 周后,再次禁食 12 h,取空腹股动脉血 5 mL,储存备用。体质量

(W)采用动物体质量计称量,FBG 采用葡萄糖酶法测定,FINS 采用放射免疫法测定,甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)采用全自动生化分析仪测定,IL-18 采用双抗体夹心 ELISA 法测定,并严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法 采用 SPSS20.0 统计软件,计量资料经正态性检验,均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析(ANOVA)检验,相关分析采用 Pearson 相关,HOMA-IR 的影响因素采用多元线性回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OLETF 大鼠 IR 模型的建立 高脂喂养 20 周后,测定所有大鼠的 FBG、FINS,并计算 HOMA-IR、ISI。高脂组 FBG、FINS 和 HOMA-IR 均明显高于 NC 组,ISI 低于 NC 组($P < 0.01$),FINS、HOMA-IR 的差异均具有统计学意义($P < 0.01$),且 HOMA-IR 呈明显的上升趋势,表明造模成功,见表 1。

表 1 NC 组与 M 组 FBG、FINS 及 HOMA-IR 比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of FBG, FINS, HOMA-IR between the NC group and M group($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FBG/ (mmol/L)	FINS/ (mmol/L)	HOMA-IR	ISI
NC 组	12	5.46±0.41	15.61±0.41	3.79±0.35	-4.46±0.08
M 组	24	6.67±0.54	20.36±1.56	6.24±0.48	-6.03±0.08
<i>t</i>		10.198 ^a	11.798 ^a	15.499 ^a	12.714 ^a

^a 与对照组比较,差异有显著性, $P < 0.01$

2.2 NC 组、M 组与 T 组 FBG、FINS、HOMA-IR、W 及 IL-18 水平的比较 3 组间 FBG、FINS、HOMA-IR 及 IL-18 比较差异均具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 2。

表 2 各组间 FBG、FINS、HOMA-IR、IL-18 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of FBG, FINS, HOMA-IR, IL-18 among all groups($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FBG/ (mmol/L)	FINS/ (mmol/L)	HOMA-IR	IL-18/ (ng/mL)	W/g
NC 组(1)	12	5.75±0.29	15.51±0.53	3.96±0.21	0.26±0.007	536.25±33.992
M 组(2)	12	13.67±2.14	24.53±4.49	14.87±3.31	0.33±0.035	563.50±78.708
T 组(3)	12	11.65±1.04	20.82±1.28	10.76±0.92	0.29±0.025	571.10±73.728
<i>F</i>		55.406 ²⁾	16.745 ²⁾	46.129 ²⁾	12.714 ²⁾	9.478 ¹⁾
<i>P</i> (1):(2)		<0.001	<0.001	<0.001	0.010	0.038
<i>P</i> (2):(3)		0.024	0.018	0.040	0.035	0.877

1)与对照组比较,差异有显著性, $P < 0.05$;2)与对照组比较,差异有显著性, $P < 0.01$

M 组与 NC 组相比,FBG、FINS、HOMA-IR、W 及 IL-18 水平均明显增高,差异具有统计学意义;T 组与 M 组比较,FBG、FINS、HOMA-IR 及 IL-18 水平明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而 T 组与 M 组 W 的差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 NC 组、M 组与 T 组血脂水平的比较 3 组间 TC、TG、LDL-C 比较差异有统计学意义。M 组 TC、TG、LDL-C 水平明显高于 NC 组;T 组与 M 组相比,TC、TG、LDL-C 明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而 HDL-C 水平无明显变化,差异无统计学意义,见表 3。

表 3 各组间 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平的比较($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

Tab 3 Comparisons of TC, TG, HDL-C and LDL-C in the each group($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
NC 组(1)	12	2.58±0.17	1.38±0.13	2.23±0.11	0.83±0.15
M 组(2)	12	3.44±0.18	1.67±0.88	2.04±0.87	1.64±0.15
T 组(3)	12	2.78±0.22	1.50±0.11	2.28±0.12	1.03±0.14
F		32.619 ^b	10.554 ^a	8.510 ^a	49.853 ^b
P(1):(2)		<0.001	<0.001	0.008	<0.001
P(2):(3)		0.031	0.020	0.385	0.038

^a 与对照组比较,差异有显著性, $P<0.05$;^b 与对照组比较,差异有显著性, $P<0.01$

2.4 IL-18 与各指标的相关性分析

2.4.1 Pearson 相关性分析 IL-18 与 TC、TG、HOMA-IR 成正相关,差异具有统计学意义($P<0.05$);与 FBG、FINS 及 W 无明显相关性,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 IL-18 相关因素的分析结果

Tab 4 The analysis results of related factors for IL-18

变量	HOMA-IR	FBG	FINS	TC	TG	HDL-C	LDL-C	WEIGHT
IL-18								
r	0.603	0.56	0.22	0.48	0.24	0.43	0.48	-0.065
P	0.010	0.131	0.388	0.03	0.019	0.08	0.05	0.572

2.4.2 HOMA-IR 影响因素的多元线性回归分析

以 HOMA-IR 为因变量,以 FBG、FINS、TG、TC、HDL-C、LDL-C、IL-18 为自变量,在 $\alpha=0.05$ 水平上进行多元线性回归分析,回归方程: $HOMA-IR = -8.705 + 1.015FBG + 0.152FINS + 1.340TC + 0.848TG - 0.052HDL-C + 1.037LDL-C + 4.224IL-18$,而且 IL-18 是影响 HOMA-IR 的独立变量,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 5 HOMA-IR 影响因素的多元线性回归分析

Tab 5 Multiple linear regression analysis of influence factors for HOMA-IR

因变量	回归系数	标准误	标准化回归系数	t	P
FBG	0.962	0.043	0.698	22.630	0.000
FINS	0.455	0.024	0.514	18.668	0.000
TG	-0.824	0.385	-0.061	-2.141	0.036
TC	0.026	0.010	0.151	2.664	0.008
HDL-C	0.047	0.020	0.271	2.333	0.020
LDL-C	0.054	0.023	0.136	2.425	0.016
IL-18	0.149	0.062	0.347	2.422	0.021

3 讨论

近年来,2 型糖尿病、MS 的发病率及其诱发的心脑血管疾病在世界范围内迅速增加,其核心 IR 已成为人们最为关注的问题之一,一些基础研究和临床观察显示慢性亚临床炎症在 IR 的发病机制中具有重要的作用,因为这些患者体内的炎症因子水平都有不同程度地升高^[7]。

IL-18 是继 TNF- α 、IL-6 之后发现的又一作用强大的前炎性细胞因子,可由 B 细胞、T 细胞、巨噬细胞、脂肪细胞等分泌产生,在炎症反应中起关键作用。众多研究表明,IL-18 与 IR 之间存在着密切的关系,一方面 IR 所引起的代谢紊乱如高血糖、高血脂和內皮功能紊乱可诱导细胞炎症因子如 C 反应蛋白(CRP)、IL-18 等的产生^[8],另一方面 IR 产生的炎性因子又可加重糖脂代谢紊乱,同时抑制胰岛素信号的转导,进而加重 IR^[9]。此外,一些研究还发现,MS 个体的 IL-18 水平也升高,且升高的幅度与 MS 各组分的数量平行^[10],Hung 等^[11]在西澳大利亚人群的一项横断面研究中证实,血清 IL-18 与 MS 的血脂水平、空腹胰岛素水平等多种代谢指标相关,并且 MS 的心血管危险因素越多,IL-18 的水平越高。本研究通过高脂喂养 OLETF 大鼠诱导建立 IR 模型,并与 NC 组比较,发现两组血清 IL-18 水平的差异具有统计学意义,而且 Pearson 相关分析提示 IL-18 与 HOMA-IR 呈正相关,进一步行多元线性逐步回归分析显示 IL-18 是 HOMA-IR 的独立变量,均提示 IL-18 在 IR 的发生、发展中可能起到中心介质的作用,并可能作为 IR 病情变化及预后的一个预测指标。

本研究对存在 IR 的 OLETF 大鼠用替米沙坦进行干预 20 周后,发现与 M 组相比,T 组大鼠的 FBG、TG、LDL-C 水平均有明显地降低,HOMA-IR、血清 IL-18 的水平亦明显下降,差异具有统计学意

义,提示 AT1R 替米沙坦可能通过降低 IR 大鼠血清 IL-18 的水平来改善其 IR。替米沙坦改善 IR 的可能机制为:(1)血管紧张素 II 是一种前炎性因子,能够促进炎症反应,参与活性氧簇的产生和炎症反应的调节,进而促进 IR 的发展。替米沙坦是一种特殊结构的非肽类 AT1R,能高效地阻断血管紧张素 II 1 型受体;(2)替米沙坦具有过氧化物酶增殖体受体 γ 激动剂(PPAR- γ)的活性,PPAR- γ 一个重要的细胞分化转录因子,它一方面通过调节糖、脂质代谢,增加胰岛素敏感性,另一方面,通过抑制炎症因子转录中的转录因子,减少炎症因子如单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、IL-18 等的释放,从而改善 IR^[12];(3)肾素-血管紧张素系统(RAS)的一些作用肽,主要是血管紧张素 II,通过与胰岛素受体结合,阻断磷脂酰肌醇-3-磷酸酶(PI3-K)通路来抑制胰岛素的代谢作用,替米沙坦可直接抑制 RAS,进而改善 IR。

既往替米沙坦主要作为降压药物用于临床,本研究发现替米沙坦能够降低 IR 大鼠血清 IL-18 的水平,同时调节其糖脂代谢,进而改善其 IR 状态。以往研究表明,炎症对高血压病有重要的促进作用,炎症因子可以通过对血管壁的慢性刺激,使血管壁不断发生重构,从而使血压不断上升;而替米沙坦可能通过降低炎症因子 IL-18 的水平改善 IR,同时又可通过拮抗 RAS 及抗炎两个方面降低血压水平,随着对替米沙坦抗炎作用研究的进一步深入,替米沙坦可成为 IR 合并高血压新的干预靶点,并为临床存在 MS 或糖尿病合并高血压的患者提供新的更具依从性的治疗方案。

本实验的不足之处在于实验动物样本量不大,容易造成实验对象的选取偏倚。同时饲养周期过短,药物对实验动物的长期干预作用无法预知。但是本实验研究得出的结论与国内外相关报道的研

究结论相符,不能否定的是替米沙坦对 IR 合并高血压的干预治疗仍然有很好的前景。

参考文献:

- [1] 田雨,麦劲壮,李莹,等. 代谢综合征与心脑血管病关系的前瞻性研究[J]. 中国预防医学杂志, 2013,14(4):241
- [2] 戴晓岚. 代谢综合征的研究新进展[J]. 中国慢性病预防与控制, 2011, 19(4):432
- [3] Rabkin S W, Langer A, Ur E, et al. Inflammatory biomarkers CRP, MCP-1, serum amyloid alpha and interleukin-18 in patients with HTN and dyslipidemia: impact of diabetes mellitus on metabolic syndrome and the effect of statin therapy[J]. Hypertens Res, 2013,36(6):550
- [4] Presta I, Andreozzi F, Succurro E. IL-18 gene polymorphism and metabolic syndrome[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2009,19(2):5
- [5] Yamaoka-Tojo M, Taiki T, Kazuki W, et al. Circulating interleukin-18: A specific biomarker for atherosclerosis-prone patients with metabolic syndrome[J]. Nutr Metab (Lond), 2011,8(3):1
- [6] 郑喜兰,姚瑞栋,田凤石,等. 替米沙坦对早期喂养高脂 OLETF 大鼠 MS 相关因素的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2011,21(14):1577
- [7] Chen B H, Song Y, Ding E L, et al. Circulating levels of resistin and risk of type 2 diabetes in men and women: results from two prospective cohorts[J]. Diabetes Care, 2009,32(2):329
- [8] 郁秀琴,陈双,古丽扎尔·买买提明. 抵抗素、CRP、IL-18 和白细胞与代谢综合征关系的探讨[J]. 中华全科医学, 2012,10(2):193
- [9] 赵星, 方洁. 不同糖耐量人群血浆 IL-18 水平与胰岛素抵抗的相关性[J]. 贵阳医学院学报, 2009,34(4):399
- [10] Stensvold D, Slørdahl S A, Wisløff U. Effect of exercise training on inflammation status among People with metabolic syndrome [J]. Metab Syndr Relat Disord, 2012,10(4):267
- [11] Hung J, Mcquillan B M, Chapman C M, et al. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome Independent of obesity and insulin resistance[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005,25(6):1268
- [12] Ushijima K, Takuma M, Ando H, et al. Effect of telmisartan and valsartan on insulin sensitivity in obese diabetic mice[J]. Eur J Pharmacol, 2013,698(1/3):505

(2014-08-01 收稿)