

·临床研究·

2型糖尿病患者骨保护素和NF- κ B受体活化因子配体与左室舒张功能障碍的相关研究

郑奔容, 唐喜香, 江博雄, 李梅, 王一娜
(中山大学附属第三医院特诊医疗中心, 广东广州 510630)

摘要:【目的】探讨2型糖尿病(T2DM)患者血清骨保护素(OPG)和可溶性NF- κ B受体活化因子配体(sRANKL)水平与可能左室舒张功能障碍(LADD)的相关性。【方法】本研究纳入68例T2DM患者和37例健康对照者,利用ELISA方法测定血清OPG和sRANKL水平,同时利用心脏彩超测定T2DM患者左室舒张功能,E/A<1定义为LADD。进一步将T2DM患者分为E/A \geq 1和E/A<1两个亚组。采用Spearman相关性分析、logistics回归分析和ROC曲线评估血清OPG和sRANKL与T2DM患者可能LADD的相关性。【结果】与健康对照者相比,T2DM患者血清OPG水平明显升高,差异有统计意义($P<0.01$),而sRANKL水平降低,但无统计学意义($P=0.032$)。亚组分析则显示E/A<1组的OPG水平较E/A \geq 1组升高($P<0.01$),而sRANKL降低($P<0.01$)。Spearman相关性分析显示,血清OPG水平与E/A比值呈负相关,而sRANKL则与E/A比值呈正相关。单因素logistics回归分析显示,血清OPG水平[OR(95%CI)=1.068(1.031,1.106), $P<0.001$]和sRANKL水平[OR(95%CI)=0.976(0.959,0.992), $P=0.003$]与T2DM患者可能LVDD显著相关。ROC曲线分析显示,联合OPG与sRANKL诊断糖尿病患者可能LADD的敏感性为78.13%,特异性为88.3%(曲线下面积:0.857;95%CI=(0.768,0.946); $P<0.001$)。【结论】T2DM患者血清中升高的OPG和降低的sRANKL水平提示其可能与LADD相关。

关键词:2型糖尿病;左室舒张功能障碍;骨保护素;NF- κ B受体活化因子配体

中图分类号:R587.2 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2023)06-0991-08

DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0613

Correlation between Serum Osteoprotegerin/Soluble Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand Levels and the Left Ventricular Diastolic Dysfunction in Type 2 Diabetes

ZHENG Ben-rong, TANG Xi-xiang, JIANG Bo-xiong, LI Mei, WANG Yi-na
(VIP Medical Service Center, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)
Correspondence to: WANG Yi-na; E-mail:377165615@qq.com

Abstract:【Objective】To study the possible correlation between serum osteoprotegerin (OPG)/soluble receptor activator of the nuclear factor κ B ligand (sRANKL) levels and the left ventricular diastolic dysfunction (LADD) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).【Methods】Totally 68 T2DM patients and 37 healthy controls were selected. Serum OPG and sRANKL were determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The left ventricular diastolic function of T2DM patients was measured by transthoracic echocardiography, where E/A < 1 were regarded as LVDD. T2DM patients were further divided into two subgroups according to E/A ratio (E/A \geq 1.0 and E/A<1). Spearman correlation analysis, logistic regression and ROC curves were used to assess the possible correlation between serum OPG/sRANKL and LADD in T2DM patients.【Results】Compared with the healthy controls, serum OPG level in T2DM patients

收稿日期:2023-09-06

基金项目:国家自然科学基金(82000278)

作者简介:郑奔容,第一作者,研究方向:内分泌及全身性疾病,E-mail:zhengbr@mail.sysu.edu.cn;王一娜,通信作者,副主任医师,E-mail:377165615@qq.com

was higher with statistically significant difference ($P < 0.01$), while serum sRANKL level was lower without statistically significant difference ($P = 0.32$). T2DM patients with $E/A < 1$ had significantly higher OPG level and lower sRANKL level than those with $E/A \geq 1$ ($P < 0.01$) in subgroup analysis. Spearman correlation analysis showed serum OPG level was negatively correlated with E/A ratio, while sRANKL was positively related with E/A ratio. In single factor logistic regression analyses, serum OPG [OR (95% CI)=1.068 (1.031, 1.106), $P < 0.001$] and sRANKL [OR (95% CI)=0.976 (0.959, 0.992), $P = 0.003$] were significant correlation with LVDD in T2DM patients. ROC curve analysis showed that the sensitivity and specificity of combined OPG and sRANKL in diagnosing T2DM patients LADD were 78.13% and 88.3%, respectively (area under the curve: 0.857; 95% CI=(0.768, 0.946); $P < 0.001$). [Conclusions] The elevated OPG and decreased sRANKL levels may be associated with LADD in T2DM patients.

Key words: type 2 diabetes; left ventricular diastolic dysfunction; osteoprotegerin; receptor activator of the nuclear factor κ B ligand

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2023, 44(6):991-998]

2型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)是一种以高血糖为特征的慢性代谢性疾病。高血糖可通过共存的微血管病、大血管病、代谢紊乱和自主神经病变影响心肌和冠状动脉,最终导致心脏舒张和收缩功能障碍^[1]。在临床心力衰竭(heart failure, HF)发生之前,T2DM患者往往已经出现临床前左心重构和功能障碍^[2]。实际上,左室舒张功能障碍(left ventricular diastolic dysfunction, LVDD)被认为是T2DM患者心肌功能异常最早期的标志^[3]。研究显示,约三分之一的T2DM患者存在临床前LVDD,其发生早于左室收缩功能障碍^[4]。因此,早期检测T2DM患者LVDD有助于制定防治HF的干预措施,从而改善T2DM患者预后。虽然超声心动图是评估LVDD的金标准,但由于检查时间原因,超声心动图作为大规模筛查的方法受到限制,利用血清学检查结合超声心动图,使大规模筛查变得更为便利和现实。因此,寻找T2DM患者LVDD的血清生物标志物具有重要的临床意义。骨保护素(osteoprotegerin, OPG)是一种分泌型糖蛋白,属于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体家族成员。它可以通过与NF- κ B受体活化因子(RANK)配体(RANKL)结合,竞争性抑制RANKL和RANK之间的相互作用,从而抑制破骨细胞分化、成熟并诱导其凋亡。RANKL也是TNF细胞因子家族的成员,其以II型膜蛋白或可溶性蛋白的形式存在。OPG/RANK/RANKL轴已被确定为骨代谢的关键调控系统,并且在糖尿病和心脏的研究中分别受到越来越多的关注^[5]。研究显示,OPG和RANKL可用于预测糖尿病合并高血压患者的亚临

床左室收缩功能障碍,并与老年男性HF参数相关^[6-7]。然而,目前关于血清OPG和可溶性RANKL(sRANKL)与T2DM患者LVDD关系的报道较少。因此,本研究旨在明确T2DM患者血清OPG和sRANKL的表达特征,并评估它们与LVDD的关系。

1 材料与方法

1.1 研究人群

本研究纳入2022年6月至2022年12月期间,在中山大学附属第三医院内分泌科门诊就诊的68例T2DM患者作为研究组,在体检中心就诊的37名健康志愿者作为对照组。所有入组的研究对象均由同一医生进行评估。T2DM的诊断采用世界卫生组织(WHO)1999年的标准。所有患者在纳入本研究前均接受了超声心动图检查,LVEF $\geq 50\%$ 。根据左室舒张功能的相关指标,我们采用其中一个指标E/A,进一步将T2DM患者分为 ≥ 1 和 $E/A < 1$ 两个亚组。排除标准包括:严重的糖尿病并发症、高血压、冠心病、原发性心肌病、心脏瓣膜病、心律失常、甲状腺功能亢进、恶性肿瘤、严重肝肾功能不全以及资料不全的患者。研究方案符合《赫尔辛基宣言》,并经中山大学第三附属医院伦理委员会批准。所有参与者均签署了知情同意书。

1.2 临床资料收集

通过HIS系统收集所有参与者的临床资料,包括性别、年龄、身高、体质量、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、心率(heart rate, HR)、生活方式(吸烟状态

和饮酒量)、糖尿病持续时间、合并症、糖尿病治疗(口服降糖药、胰岛素注射或两者兼有),和其他相关用药史。

1.3 实验室检查

禁食8 h后采集所有参与者的外周静脉血,离心获取血清。采用HITACHI 7180全自动生化分析仪测量空腹血糖、肌酐、尿酸、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C);Bio-Rad D-10高效液相色谱法测量糖化血红蛋白A1C(glycosylated hemoglobin type A1c, HbA1c);酶联免疫吸附试验(ELISA)测量血清OPG(美国RayBio)和sRANKL(捷克BioVendor)的水平。

1.4 超声心动图检查

由一名经验丰富的超声医生对T2DM患者进行经胸超声心动图(飞利浦IE33)检查。根据美国超声心动图学会的建议,采用二维超声心动图在左室长轴切面测量左房内径(left atrium, LA)、左室舒张末期内径(left ventricular internal end-diastole dimension, LVDd)、室间隔厚度(interventricular septum, IVS)、左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thicknesses, LVPW);采用改良双平面Simpson法在心尖四腔心和两腔心切面测量左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF);采用多普勒超声在心尖四腔心切面测量二尖瓣舒张早、晚期峰值血流速度(E、A),并计算E/A比值。所

有参数重复测量三次,取平均值。LVDD定义为E/A<1.0。

1.5 统计分析

使用SPSS 22.0进行数据分析。正态分布的连续性变量表示为平均值±标准差,其组间差异采用Student *t*检验;非正态分布的连续性变量表示为中位数(四分位间距),其组间差异采用Mann - Whitney *U*检验;分类变量表示为频数(百分比),其组间差异采用卡方检验。采用Spearman相关性分析检验OPG和sRANKL与LADD的相关性。采用单因素logistics回归分析和多因素logistics回归分析评估血清OPG和sRANKL水平与T2DM患者左室舒张功能之间的关系。采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清OPG和sRANKL预测T2DM患者LVDD的临界值、敏感度和特异度。

2 结果

2.1 基线资料

研究组包括36名男性和32名女性,年龄(50±8)岁;对照组包括18名男性和19名女性,年龄(50±9)岁。根据超声心动图结果,研究组分为两个亚组,E/A≥1.0组(*n*=36)和E/A<1.0组(*n*=32),两亚组间的抗血小板、他汀、ACEI/ARB药物使用情况存在统计学差异(*P*<0.05),而其余基线资料无显著差异(表1)。

表1 2型糖尿病患者的基线特征
Table 1 Baseline characteristics of T2DM patients [n(%), (mean ± SD), *M*(*P*₂₅, *P*₇₅)]

Variables	E/A≥1.0(<i>n</i> =36)	E/A<1.0(<i>n</i> =32)	$\chi^2/t/z$	<i>P</i>
Clinical indices				
Male	19(52.8)	17(53.1)	0.001	0.977
Age/years	49.6±3.7	50.8±3.4	-1.482	0.143
BMI/(kg/m ²)	23.23±4.74	23.55±4.16	-0.283	0.778
SBP/mmHg	130.44±14.69	136.56±12.53	-1.824	0.074
DBP/mmHg	77.53±11.34	77.81±12.41	-0.097	0.923
HR/bpm	79.82±16.54	81.50±17.74	-0.397	0.692
Blood biochemical indices				
Cr/(μmol/L)	60.84±14.82	60.06±23.65	-0.046	0.964
UA/(μmol/L)	337.41±117.22	307.12±212.62	1.022	0.311
TC/(mmol/L)	4.96±1.15	4.64±1.06	1.153	0.253

续表

Variables	E/A \geq 1.0(n=36)	E/A<1.0(n=32)	$\chi^2/t/z$	P
TG/(mmol/L)	2.39 \pm 1.36	1.83 \pm 1.22	1.510	0.136
HDL-C/(mmol/L)	1.10 \pm 0.26	1.08 \pm 0.29	0.425	0.672
LDL-C/(mmol/L)	3.25 \pm 0.93	2.96 \pm 0.94	1.299	0.198
Lifestyles				
Smoking	9 (25.0)	6(18.8)	0.560	0.535
Alcohol	8(22.2)	5(15.6)	0.049	0.490
Diabetes-related variables				
Diabetes duration/years	4.5 (2.0~ 8.2)	8.0 (3.1~ 13.2)	-1.908	0.050
FBG/(mmol/L)	8.98 \pm 4.04	9.67 \pm 5.24	-0.604	0.548
HbA1c/%	8.24 \pm 2.18	8.54 \pm 2.87	-0.477	0.635
HOMA-IR	2.55 (1.59~ 4.06)	2.80 (1.32~ 5.09)	-0.054	0.563
Medications				
Insulin	22(61.1)	18(56.3)	1.067	0.684
Metformin	18(50.0)	18(56.3)	0.000	0.606
Glucosidase inhibitor	8(22.2)	8(25.0)	0.000	0.788
DPP4 inhibitors	2(5.6)	0(0)	2.065	0.176
GLP-1 analogs	6(16.7)	8(25.0)	0.366	0.396
Glinides	4(11.1)	0(0)	4.267	0.52
Sulfonylureas	6(16.7)	10(31.3)	1.333	0.157
TZDs	8(22.2)	4(12.5)	1.641	0.294
SGLT2	4(11.1)	0(0)	4.267	0.52
Anti-platelet	15(41.7)	22(68.8)	4.061	0.025
Statin	17(47.2)	23(71.9)	3.304	0.039
ACEI_ARB	11(30.6)	18(56.3)	3.822	0.032
β _blocker	8(22.2)	10(30.3)	0.495	0.400
CCB	12(33.3)	13(40.6)	0.199	0.534
Diuretic	3(8.3)	4(12.5)	0.235	0.573
Comorbidity				
Hypertension	13(36.1)	15(46.9)	0.504	0.478
Cardiac structure and function				
LA/mm	30.02 \pm 2.89	31.89 \pm 3.45	0.785	0.698
LVDd/mm	45.08 \pm 3.52	44.47 \pm 4.30	0.648	0.519
IVS/mm	12.22 \pm 1.27	12.66 \pm 1.62	-1.238	0.220
LVPW/mm	9.69 \pm 1.33	9.78 \pm 1.07	-0.295	0.769
LVEF/%	61.56 \pm 6.99	64.59 \pm 5.44	-1.983	0.052
E/A ratio	1.40 \pm 0.39	0.77 \pm 0.13	9.083	0.000

Data are presented as mean (SD), $M(P_{25}, P_{75})$ or n (%). BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; FBG: fasting blood glucose; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; Cr: plasma creatinine; UA: uric acid; TC: total cholesterol; TG: triglycerides; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; DPP4: dipeptidyl peptidase-4; GLP1: Glucagon-like peptide-1; TZDs: Thiazolidinediones; SGLT2: sodium-dependent glucose transporters 2; ACEI-ARB: angiotensin converting enzyme inhibitor-angiotensin receptor blocker; CCB: calcium channel blockers; LA: left atrium; LVDd: left ventricular internal end-diastole dimension; IVS: interventricular septum; LVPW: left ventricular posterior wall thicknesses; LVEF: left ventricular ejection fraction.

2.2 T2DM 患者和健康对照者血清 OPG 和 sRANKL 水平

T2DM 患者血清 OPG 浓度为 (57.26 ± 28.01) pg/mL, 显著高于健康对照者 $[(39.80 \pm 12.49)$ pg/mL, $t' = -4.3993$, $P < 0.01$; 图 1]。而 T2DM 患者的血清 sRANKL 浓度为 $125.7(90.14 \sim 148.2)$ pmol/L, 低于健康对照者 $[136.2(84.60 \sim 204.0)$ pmol/L, $z = -0.994$, $P = 0.320$], 但差异无统计学意义。

2.3 T2DM 亚组患者血清 OPG 和 sRANKL 水平

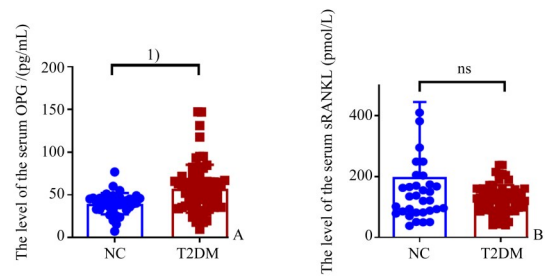
E/A < 1.0 的 T2DM 患者血清 OPG 浓度高于 E/A ≥ 1.0 的患者 $[(72.81 \pm 29.39)$ vs (43.43 ± 17.85) pg/mL, $t = 5.043$, $P < 0.01$; 图 2]。然而, E/A < 1.0 的 T2DM 患者血清 sRANKL 浓度低于 E/A ≥ 1.0 的 T2DM 患者 $[(108.91 \pm 38.20)$ vs (139.67 ± 35.85) pmol/L, $t = -3.426$, $P < 0.01$]。

2.4 T2DM 患者血清 OPG 和 sRANKL 水平与 E/A 比值的关系

Spearman 相关性分析显示(图 3), 在 T2DM 患者中, 血清 OPG 水平与 E/A 比值呈负相关($r_s = -0.476$, $P < 0.001$), 而血清 sRANKL 水平与 E/A 比值呈正相关($r_s = 0.436$, $P < 0.001$)。单因素 logistics 回归分析显示, 血清 OPG 水平 [OR (95% CI) = 1.068 (1.031, 1.106), $P < 0.001$] 和血清 sRANKL 水平 [OR (95% CI) = 0.976 (0.959, 0.992), $P = 0.003$] 与 T2DM 患者可能 LVDD 显著相关。多因素模型 1 校正了年龄和性别后, OPG [OR (95% CI) = 1.068 (1.031, 1.107), $P < 0.001$] 和 sRANKL [OR (95% CI) = 0.976 (0.959, 0.993), $P = 0.006$] 与 T2DM 患者 LVDD 独立相关。模型 2 进一步校正 BMI、糖尿病病程、TG、HDL-C、LDL-C、高血压、吸烟状态、酒精摄入、HbA1c 和 HOMA-IR 后, 血清 OPG [OR (95% CI) = 1.184 (1.069, 1.310), $P = 0.001$] 和 sRANKL [OR (95% CI) = 0.965 (0.939, 0.992), $P = 0.013$] 仍与 T2DM 患者可能 LVDD 独立相关(表 2 和表 3)。

2.5 ROC 曲线分析

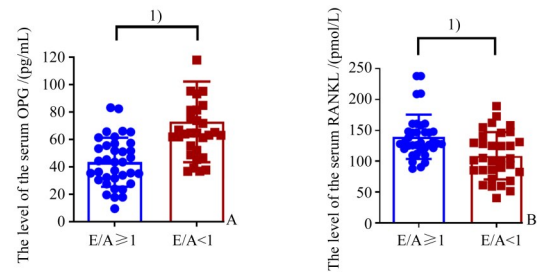
采用 ROC 曲线分析评价血清 OPG 和 sRANKL 对 T2DM 患者 LVDD 的诊断价值。结果显示, OPG 水平 > 59.32 pg/mL 诊断 LADD 的敏感性为 71.9%, 特异性为 80.6% (曲线下面积: 0.823; 95% CI = (0.762, 0.919); $P < 0.001$); 而血清 sRANKL 水平 < 107.57 pmol/L 诊断 LADD 的敏感性为 56.3%, 特异性为 88.9% (曲线下面积: 0.711; 95% CI = (0.584, 0.838); $P < 0.005$; 图 4A)。联合 OPG 与 sRANKL 诊断 LADD 的敏感性为 78.13%, 特异性为 88.3% [曲线下面积: 0.857; 95% CI = (0.768, 0.946); $P < 0.001$; 图 4B]。



A: the level of the OPG between healthy controls ($n = 37$) and T2DM patients ($n = 68$); B: the level of sRANKL between healthy controls ($n = 37$) and T2DM patients ($n = 68$); $^1P < 0.01$, ns: $P = 0.320$.

图 1 T2DM 患者和健康对照者血清 OPG 和 sRANKL 水平比较

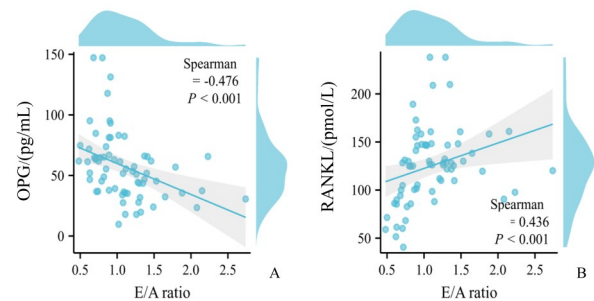
Fig. 1 Comparison of serum OPG and sRANKL levels between healthy controls and T2DM patients



A: the level of the OPG between E/A ≥ 1 ($n = 36$) and E/A < 1 ($n = 32$) groups; B: the level of the sRANKL between E/A ≥ 1 ($n = 36$) and E/A < 1 ($n = 32$) groups; $^1P < 0.01$.

图 2 T2DM 亚组血清 OPG 和 sRANKL 水平比较

Fig. 2 Comparison of serum OPG and sRANKL levels between T2DM subgroups



A: the correlation of OPG and E/A ratio, $n = 68$, $r_s = -0.476$, $P < 0.001$; B: the correlation of sRANKL and E/A ratio, $n = 68$, $r_s = 0.436$, $P < 0.001$.

图 3 T2DM 患者血清 OPG 和 sRANKL 水平与 E/A 比值的 Spearman 相关性分析

Fig. 3 Spearman correlation analysis of OPG and sRANKL levels with E/A ratio in T2DM patients

表2 Logistics回归分析评估OPG和T2DM患者LVDD的关系

Table 2 Logistics regression analysis assessing the relationships of OPG with LVDD in T2DM patients

Variable	<i>P</i>	\widehat{OR}	OR 95% CI
Model 1			
Constant	0.357	-	-
OPG	0.000	1.068	(1.031, 1.107)
Gender	0.804	0.862	(0.267, 2.787)
Age	0.969	1.003	(0.849, 1.185)
Model 2			
Constant	0.823	-	-
OPG	0.001	1.184	(1.069, 1.310)
Gender	0.716	0.653	(0.066, 6.468)
Age	0.231	0.834	(0.621, 1.122)
HOMA-IR	0.264	1.334	(0.805, 2.210)
HbA1c	0.765	1.075	(0.668, 1.731)
TG	0.479	0.751	(0.341, 1.657)
HDL_C	0.293	13.701	(0.104, 1 806.924)
LDL_C	0.517	0.585	(0.115, 2.965)
Smoker	0.351	0.284	(0.020, 3.994)
Alcohol	0.935	1.116	(0.078, 15.909)
Duration	.162	1.107	(0.960, 1.276)
BMI	0.734	0.961	(0.763, 1.210)
Hypertension	0.082	7.676	(0.773, 76.203)

HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; TG: triglycerides; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; BMI: body mass index.

表3 Logistics回归分析评估sRANKL和T2DM患者LVDD的关系

Table 3 Logistics regression analysis assessing the relationships of sRANKL with LVDD in T2DM patients

Variable	<i>P</i>	\widehat{OR}	OR 95% CI
Model 1			
Constant	0.893	-	-
sRankl	0.006	0.976	(0.959, 0.993)
Gender	0.633	1.307	(0.435, 3.926)
Age	0.376	1.069	(0.922, 1.239)
Model 2			
Constant	0.144	-	-
sRankl	0.013	0.965	(0.939, 0.992)
Gender	0.339	2.068	(0.466, 9.180)
Age	0.399	0.910	(0.730, 1.134)
HOMA-IR	0.183	1.215	(0.912, 1.618)
HbA1c	0.854	1.026	(0.780, 1.349)
TG	0.150	0.664	(0.380, 1.160)
HDL_C	0.458	2.584	(0.210, 31.765)
LDL_C	0.353	0.647	(0.258, 1.622)
Smoker	0.802	0.798	(0.136, 4.668)
Alcohol	0.631	0.582	(0.064, 5.289)
Duration	0.224	1.056	(0.967, 1.152)
BMI	0.742	0.974	(0.834, 1.138)
Hypertension	0.615	0.684	(0.156, 3.006)

HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; TG: triglycerides; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; BMI: body mass index.

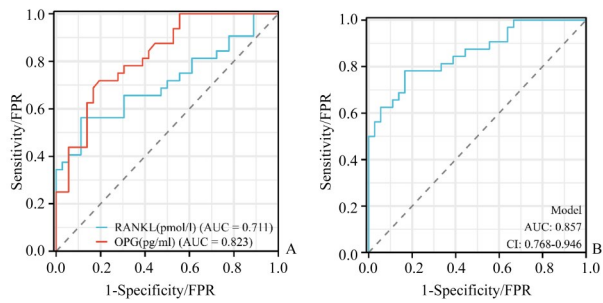
3 讨论

在本研究中,我们证实了T2DM患者循环OPG水平增加,而sRANKL水平降低,并可能与LVDD密切相关。本研究排除了高血压、冠心病、心肌病、心律失常、甲亢等其他可能导致心功能异常的因素,因此OPG和sRANKL可能在糖尿病心肌病中发挥重要作用。

OPG和RANKL是与骨代谢相关的经典细胞因子。RANKL在体内以膜结合型和可溶性型两种形式存在,可激活破骨细胞,促进骨吸收;而OPG是一种分泌型糖蛋白,可作为RANKL的诱饵受体,抑

制RANKL和RANK之间的相互作用,进而抑制骨吸收。众所周知,OPG/RANKL/RANK轴在骨转换中起着重要作用。而近期研究发现,OPG/RANKL/RANK轴与血管钙化、内皮功能障碍、炎症反应和细胞凋亡密切相关,被认为在T2DM的发病机制中起着重要作用,近年来备受关注^[8-10]。

临床和基础研究均显示,血清OPG在T2DM中表达上升^[11-12]。一项包含490名老年白人女性的前瞻性研究发现,患有糖尿病的女性OPG水平比没有糖尿病的女性高出约30%^[13]。另一项研究同样发现,在患有T2DM的男性中,OPG水平较健康男性升高,并且与胰岛素、胰岛素抵抗、CRP和TNF- α



A: OPG and sRANKL evaluate the diagnostic values of LVDD in T2DM patients respectively, $n=68$; B: the combination of OPG and sRANKL to evaluate the diagnostic values of LVDD in T2DM patients, $n=68$.

图4 ROC 曲线分析评价血清 OPG 和 sRANKL 对 T2DM 患者 LVDD 的诊断价值

Fig. 4 ROC curve analysis to evaluate the diagnostic values of serum OPG and sRANKL for LVDD in T2DM patients

水平显著相关^[14]。这些数据与本研究的结果相符。然而,是血糖促进了 OPG 的分泌,还是 OPG 的升高导致血糖恶化?这一问题仍然存在争议。一方的观点认为,T2DM 患者的高血糖会升高 OPG 浓度,其支持证据来自链脲佐菌素诱导糖尿病后,小鼠体内 OPG 浓度升高^[15]。然而,他们认为促进 OPG 增加的因素来自于高血糖驱动的炎症反应,而不是血糖水平本身。此外,胰岛素抵抗与 OPG 表达升高亦存在关联,研究发现胰岛素干预可抑制 OPG 的表达^[16]。另一方观点则认为,OPG 的升高先于 T2DM 的发生,小鼠实验发现,外源性给予重组人 OPG 可显著增加血糖,同时降低血清胰岛素水平^[17]。由于 OPG 是由多种细胞类型产生的,因此很难确定糖尿病受试者血浆 OPG 水平升高的原因。研究认为它可能由血管细胞释放,包括内皮细胞和血管平滑肌细胞^[9]。对于 RANKL 而言,既往研究发现血清 sRANKL 水平下降与 T2DM 之间存在显著相关性,这与本研究的发现一致^[11,18]。此外,妊娠期糖尿病患者血清 sRANKL 水平也较低^[9]。然而,也有研究得出了相反的结论,一项大型前瞻性研究表明,sRANKL 在 T2DM 中的表达较高,可以作为 T2DM 表现的独立风险预测因子^[15]。而有的研究则发现,T2DM 患者血清 sRANKL 水平没有显著变化^[19]。我们推测,这种差异可能是由于研究对象不同造成的。

在症状性 HF 发生之前, LVDD 在无症状的 T2DM 患者中经常被发现,这是糖尿病心肌病和心肌重构的早期临床表现^[20]。在我们的研究中,近一

半左室大小正常的 T2DM 患者在超声心动图检查中发现 $E/A < 1$, 基于 $E/A < 1$ 是 LVDD 的一个重要指标,我们可以推测研究中 T2DM 患者的 LVDD 发生率可能高于 50%, 这与其他研究一致^[3]。与此同时,同无 LVDD 的 T2DM 患者相比,有 LVDD 的 T2DM 患者血清 OPG 升高, RANKL 降低。据我们所知,这是证明 OPG/RANKL 轴与 T2DM 患者 LVDD 之间相互关系的首次研究。事实上,在肥胖、心肌梗死和免疫炎症性心肌疾病引起的 HF 模型中, OPG 和 RANKL 的异常表达并不罕见。循环 RANKL 和 OPG 水平与超重/肥胖青年心脏形态的早期改变有关, OPG/RANKL 比值与左室肥大和左室结构重塑亦独立相关^[21]。在梗死后 HF 的大鼠模型中,左室缺血部分 OPG 和 RANKL 的基因表达持续增加,提示 OPG 和 RANKL 水平的升高主要来自于左室心肌细胞^[6]。此外,在免疫炎症性心肌疾病中, OPG/RANKL 轴被证实参与心脏重塑和慢性 HF 的进展^[22]。这些研究表明, OPG/RANKL 轴的激活可能导致心脏基质退变、不良的心室重构和心功能恶化。

OPG/RANKL 异常表达导致糖尿病患者心脏重塑和功能障碍的机制尚待明确。其可能机制包括以下几方面: 1、高血糖可诱导氧化应激,提高心肌中晚期糖基化终产物 (AGE)/AGE 受体 (RAGE)、半乳糖凝集素-3 和 TNF- α 的水平^[23]。AGE 和 RAGE 可以激活 OPG/RANKL 信号^[24]。2、高血糖及其驱动的炎症反应可损害血管内皮细胞和 T 细胞,导致 OPG 的释放。OPG 与靶细胞上的 RANKL 和 RANK 竞争性结合,继而激活 OPG/RANKL 信号通路传导。激活的 OPG/RANKL 通路进一步触发 NF- κ B 表达,导致其易位到细胞核,随后激活 Toll 样受体诱导心肌损伤,而 Toll 样受体正是糖尿病心肌病的主要下游机制之一^[25-26]。由于 OPG 是一种竞争性诱饵受体,可以抑制 RANKL 和 RANK 之间的相互作用,因此不难理解,在我们的研究中,当 OPG 表达上调时, RANKL 表达下调。基于此,我们推断 OPG/RANKL 轴可能在糖尿病的心肌病的发生发展中起着重要作用。

综上所述,我们的研究表明,与健康人群相比, T2DM 患者血清 OPG 水平升高,血清 sRANKL 水平降低,并可能与 T2DM 患者 LVDD 有关。未来的研究可进一步探讨 T2DM 患者心肌组织中 OPG/RANKL 的表达特征及其作用机制,为糖尿病心肌病的早期防治提供理论依据和新的靶点。

参考文献

- [1] Karwi QG, Ho KL, Pherwani S, et al. Concurrent diabetes and heart failure: interplay and novel therapeutic approaches [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(3):686–715.
- [2] Ritchie RH, Abel ED. Basic mechanisms of diabetic heart disease[J]. *Circ Res*, 2020, 126(11):1501–1525.
- [3] Kosmala W, Marwick TH. Asymptomatic left ventricular diastolic dysfunction: predicting progression to symptomatic heart failure [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2020, 13 (1Pt 2) : 215–227.
- [4] Kozakova M, Morizzo C, Fraser AG, et al. Impact of glycemic control on aortic stiffness, left ventricular mass and diastolic longitudinal function in type 2 diabetes mellitus[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2017, 16(1):78.
- [5] Dutka M, Bobiński R, Wojakowski W, et al. Osteoprotegerin and RANKL–RANK–OPG–TRAIL signalling axis in heart failure and other cardiovascular diseases [J]. *Heart Fail Rev*, 2022, 27(4):1395–1411.
- [6] Forde H, Davenport C, Harper E, et al. The role of OPG/RANKL in the pathogenesis of diabetic cardiovascular disease [J]. *Cardiovasc Endocrinol Metab*, 2018, 7(2):28–33.
- [7] Loncar G, Bozic B, Cvorovic V, et al. Relationship between RANKL and neuroendocrine activation in elderly males with heart failure[J]. *Endocrine*, 2010, 37(1):148–56.
- [8] Bourron O, Phan F, Diallo MH, et al. Circulating receptor activator of nuclear factor κ B ligand and triglycerides are associated with progression of lower limb arterial calcification in type 2 diabetes: a prospective, observational cohort study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2020, 19(1):140.
- [9] Maddaloni E, Coraggio L, Amendolara R, et al. Association of osteocalcin, osteoprotegerin, and osteopontin with cardiovascular disease and retinopathy in type 2 diabetes [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2023, 39(5):e3632.
- [10] Moh AMC, Pek SLT, Liu J, et al. Plasma osteoprotegerin as a biomarker of poor glycaemic control that predicts progression of albuminuria in type 2 diabetes mellitus: A 3-year longitudinal cohort study [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020, 161:107992.
- [11] Vachliotis ID, Polyzos SA. Osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- κ B ligand/receptor activator of nuclear factor- κ B axis in obesity, type 2 diabetes mellitus, and nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Curr Obes Rep*, 2023, 12 (2):147–162.
- [12] Pezhman L, Sheikhzadeh Hesari F, Ghiasi R, et al. The impact of forced swimming on expression of RANKL and OPG in a type 2 diabetes mellitus rat model [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2019, 125(3):195–200.
- [13] Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(2):631–637.
- [14] Yaturu S, Rains J, Jain SK. Relationship of elevated osteoprotegerin with insulin resistance, CRP, and TNF- α levels in men with type 2 diabetes[J]. *Cytokine*, 2008, 168–171.
- [15] Kiechl S, Wittmann J, Giaccari A, et al. Blockade of receptor activator of nuclear factor- κ B (RANKL) signaling improves hepatic insulin resistance and prevents development of diabetes mellitus[J]. *Nat Med*, 2013, 19(3):358–363.
- [16] 向光大, 孙慧伶, 赵林双, 等. 1型糖尿病患者胰岛素治疗前后血浆护骨素的变化[J]. *中华医学杂志*, 2007, 87 (18): 1234–1237.
Xiang GD, Sun HL, Zhao LS, et al. Changes of osteoprotegerin before and after insulin therapy in type 1 diabetic patients [J]. *Natl Med J Chin*, 2007, 87(18): 1234–1237.
- [17] Toffoli B, Pickering RJ, Tsorotes D, et al. Osteoprotegerin promotes vascular fibrosis via a TGF- β 1 autocrine loop [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 218(1):61–68.
- [18] Eschler DC, Kulina G, Garcia-Ocana A, et al. Circulating levels of bone and inflammatory markers in gestational diabetes mellitus[J]. *Biores Open Access*, 2018, 7(1):123–130.
- [19] O'Sullivan EP, Ashley DT, Davenport C, et al. Osteoprotegerin and biomarkers of vascular inflammation in type 2 diabetes[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2010, 26(6):496–502.
- [20] Grigorescu ED, Lacatusu CM, Floria M, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in type 2 diabetes—progress and perspectives[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2019, 9(3):121.
- [21] Zampetti S, Lucantoni F, Pacifico L, et al. Association of OPG–RANKL ratio with left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in male overweight/obese youths[J]. *J Endocrinol Invest*, 2019, 42(4):427–434.
- [22] Liu W, Feng W, Wang F, et al. Osteoprotegerin/RANK/RANKL axis in cardiac remodeling due to immuno-inflammatory myocardial disease [J]. *Exp Mol Pathol*, 2008, 84 (3) : 213–217.
- [23] Wang X, Liu J, Yang Y, et al. An update on the potential role of advanced glycation end products in glycolipid metabolism[J]. *Life Sci*, 2020, 245:117344.
- [24] Ndip A, Wilkinson FL, Jude EB, et al. RANKL–OPG and RAGE modulation in vascular calcification and diabetes: novel targets for therapy[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(11):2251–2260.
- [25] Galeone A, Grano M, Brunetti G. Tumor necrosis factor family members and myocardial ischemia–reperfusion injury: State of the art and therapeutic implications[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5):4606.
- [26] Marcadet L, Bouredji Z, Argaw A, et al. The roles of RANK/RANKL/OPG in cardiac, skeletal, and smooth muscles in health and disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 903657.