

多囊卵巢综合征患者胰岛素抵抗与血清中脑星形胶质细胞源性神经营养因子水平的关系

俞淑君^{1,2,3}, 魏兆莲^{1,2,3}

摘要 目的 探究多囊卵巢综合征(PCOS)患者胰岛素抵抗与血清中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(MANF)水平之间的关系。方法 招募120例PCOS患者和40例健康女性分别作为实验组和对照组。比较两组血清中的性激素、空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)和MANF水平。同时比较实验组中胰岛素抵抗患者与非胰岛素抵抗患者的血清MANF水平,分析稳态模型评估胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)与血清MANF水平的关系。结果 与对照组比较,实验组PCOS患者血清中的黄体生成素、睾酮、雄烯二酮、硫酸脱氢表雄酮、FBG、FINS水平和HOMA-IR均显著升高($P < 0.05$),而其血清中的卵泡刺激素、性激素结合球蛋白和MANF水平均显著降低($P < 0.05$)。与非胰岛素抵抗患者比较,实验组中胰岛素抵抗患者的血清MANF水平显著降低($P < 0.05$),并且实验组中PCOS患者的血清MANF水平与HOMA-IR呈负相关($P < 0.05$)。结论 MANF在PCOS患者胰岛素抵抗的发生及进展过程中扮演重要角色,为PCOS疾病的诊断和治疗提供了新的思路。

关键词 多囊卵巢综合征;胰岛素抵抗;中脑星形胶质细胞源性神经营养因子

中图分类号 R 711.75

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)05-0850-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.05.024

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)多发生于育龄期女性,是一种常见的生殖内分泌疾病和代谢紊乱疾病,以无排卵或少排卵、高雄激素血症、卵巢多囊样改变为主要特征,多表现为月经稀发、不孕、多毛、痤疮等,通常还伴有许多代谢异

常,如胰岛素抵抗、2型糖尿病、肥胖和心血管疾病等^[1]。越来越多的研究^[2-3]表明PCOS及胰岛素抵抗的发生与全身性慢性低度炎症相关。中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)是新型神经营养因子家族的成员之一,是一种内质网应激诱导表达蛋白,它在体内多种器官和组织中广泛表达。多项研究^[4-5]表明MANF不仅可以抑制内质网应激介导的细胞凋亡,还可通过抑制NF- κ B通路的激活对抗炎症损伤。此外,MANF在代谢性疾病中的保护作用也被广泛报道,MANF可通过促进胰岛 β 细胞的增殖,抑制其凋亡,在糖尿病的发生及进展中发挥重要的保护作用^[4-6]。鉴于胰岛素抵抗是PCOS常见的代谢异常,该研究对PCOS患者胰岛素抵抗与血清MANF水平的关系作一探讨。

1 材料与方法

1.1 资料来源 招募2020年11月—2021年12月就诊于安徽医科大学第一附属医院的120例PCOS患者作为实验组,40例健康女性作为对照组。实验组纳入标准:①20~35岁的女性;②符合2003年PCOS鹿特丹诊断标准^[7];③就诊前3个月未使用任何影响体内激素和炎症因子的药物,包括雌孕激素、抗生素、免疫抑制剂等。对照组纳入标准:①20~35岁的女性;②非PCOS患者;③就诊前3个月未使用任何影响体内激素和炎症因子的药物,包括雌孕激素、抗生素、免疫抑制剂等。排除标准:①年龄 <20 岁或 >35 岁;②合并子宫肌瘤、子宫内膜异位症、子宫腺肌病、盆腔炎、卵巢囊肿、卵巢肿瘤等妇科疾病及手术史;③合并肝脏、肾脏、心血管、内分泌、造血系统等原发病及精神性疾病;④就诊前3个月使用了影响体内激素和炎症因子的药物,包括雌孕激素、抗生素、免疫抑制剂等。稳态模型评估胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR) = 空腹血糖(fasting blood

2022-12-25 接收

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(编号:202104j07020036)

作者单位:¹ 安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230022

² 国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室,合肥 230032

³ 出生人口健康教育重点实验室,合肥 230032

作者简介:俞淑君,女,硕士研究生;

魏兆莲,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: weizhaolian@ahmu.edu.cn

glucose, FBG) $\times$ 空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) / 22.5, HOMA-IR ≥ 2.69 认为存在胰岛素抵抗。根据 HOMA-IR 将实验组分为胰岛素抵抗患者 61 例及非胰岛素抵抗患者 59 例。实验组研究对象的年龄为 20 ~ 35 (28.18 $\pm$ 3.51) 岁, 对照组研究对象的年龄为 23 ~ 34 (29.18 $\pm$ 3.04) 岁, 差异无统计学意义。所有参与本研究的受试者均知情同意, 此项研究已通过安徽医科大学第一附属医院伦理委员会的审查, 可正常开展。

1.2 方法

1.2.1 性激素检测 月经规律和月经紊乱的研究对象分别在月经经期第 2 天或随机日早晨空腹采集 5 ml 静脉血, 通过全自动化学发光仪测定血清中的黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH)、雌二醇 (estradiol, E₂)、睾酮 (testosterone, T)、雄烯二酮 (androstenedione, A₂)、硫酸脱氢表雄酮 (dehydroepiandrosterone sulfate, DHEA-S) 和性激素结合蛋白 (sex hormone binding globulin, SHBG) 水平。

1.2.2 FBG 和 FINS 检测 月经规律和月经紊乱的研究对象分别在月经经期第 2 天或随机日早晨空腹采集 5 ml 静脉血, 通过全自动生化分析仪测定血清中的 FBS 水平, 通过全自动电化学发光仪测定血清中的 FINS 水平。

1.2.3 血清 MANF 检测 月经规律和月经紊乱的研究对象分别在月经经期第 2 天或随机日早晨空腹采集 5 ml 静脉血, 在 3 000 r/min 的转速下离心 10 min, 离心后收集上层血清, 于 -80 ℃ 条件下保存。通过酶联免疫吸附试验对所采集样本进行血清 MANF 水平的检测。

1.3 研究指标 比较实验组与对照组血清中的性激素、FBS、FINS 及 MANF 水平的差异, 比较实验组中胰岛素抵抗患者及非胰岛素抵抗患者血清 MANF 水平的差异, 并对血清 MANF 水平与 HOMA-IR 之间的相关性进行分析。

1.4 统计学处理 采用统计软件 GraphPad Prism 9 分析所获取的数据。所有的数据结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 Shapiro-Wilk 检验分析数据的正态性, 采用 *t* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验分析两组数据水平差异的统计显著性, 采用 Spearman Correlation 对两组数据的相关性进行分析, $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组性激素水平比较 与对照组比较, 实验组 PCOS 患者血清中的 LH、T、A₂ 和 DHEA-S 水平均显著升高, 血清中的 FSH 和 SHBG 水平显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组与实验组血清中的 E₂ 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组性激素水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	实验组 ($n=120$)	对照组 ($n=40$)	统计量值	<i>P</i> 值
LH (IU/L)	9.56 $\pm$ 5.25	5.65 $\pm$ 2.75	-4.656	<0.001
FSH (IU/L)	6.48 $\pm$ 2.08	6.95 $\pm$ 1.26	2.154	<0.05
E ₂ ($\times 10^{-12}$ mol/L)	177.27 $\pm$ 100.43	146.73 $\pm$ 75.28	-1.586	>0.05
T ($\times 10^{-9}$ mol/L)	1.76 $\pm$ 0.75	1.31 $\pm$ 0.49	-3.115	<0.001
A ₂ ($\times 10^{-3}$ mg/L)	4.01 $\pm$ 1.45	2.87 $\pm$ 0.62	-4.760	<0.001
DHEA-S (mg/L)	3.22 $\pm$ 1.22	2.82 $\pm$ 1.24	-2.221	<0.05
SHBG ($\times 10^{-9}$ mol/L)	36.69 $\pm$ 30.16	45.08 $\pm$ 20.24	3.271	<0.001

2.2 两组 FBG、FINS 水平比较 与对照组比较, 实验组 PCOS 患者血清中的 FBG、FINS 水平和 HOMA-IR 水平均显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 FBG、FINS 及 HOMA-IR 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	实验组 ($n=120$)	对照组 ($n=40$)	统计量值	<i>P</i> 值
FBS ($\times 10^{-3}$ mol/L)	5.60 $\pm$ 1.16	5.10 $\pm$ 0.39	-4.091	<0.001
FINS (mU/L)	13.26 $\pm$ 8.64	8.29 $\pm$ 2.81	-3.661	<0.001
HOMA-IR	3.41 $\pm$ 2.54	1.89 $\pm$ 0.69	-4.035	<0.001

2.3 两组血清 MANF 水平比较 对照组的血清 MANF 水平为 (415.13 $\pm$ 105.00) $\times 10^{-6}$ mg/L, 实验组的血清 MANF 水平为 (295.48 $\pm$ 78.27) $\times 10^{-6}$ mg/L。与对照组比较, 实验组中 PCOS 患者的血清 MANF 水平显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 实验组中胰岛素抵抗患者与非胰岛素抵抗患者的血清 MANF 水平比较 实验组中胰岛素抵抗患者 61 例, 血清 MANF 水平为 (270.28 $\pm$ 61.92) $\times 10^{-6}$ mg/L; 非胰岛素抵抗患者 59 例, 血清 MANF 水平为 (321.54 $\pm$ 85.12) $\times 10^{-6}$ mg/L。胰岛素抵抗患者的血清 MANF 水平显著低于非胰岛素抵抗患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 实验组中血清 MANF 水平与 HOMA-IR 的相关性 实验组中 PCOS 患者的血清 MANF 水平和

HOMA-IR 呈负相关($r_s = -0.642, P < 0.05$)。

3 讨论

PCOS 是一种常见的生殖内分泌紊乱的临床疾病,常伴有多种代谢障碍,多篇研究报道 PCOS 的发病病因复杂,具体机制尚不明确,遗传、神经内分泌、环境及心理等多种因素共同参与 PCOS 的发生及发展过程^[8]。研究^[9]显示,PCOS 是一种全身性慢性低度炎症。PCOS 患者外周血及卵巢组织中的炎症因子水平均显著上调,如白细胞介素(interleukin-1 beta, IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等。在这种慢性低度炎症环境的刺激下,卵巢和肾上腺合成和分泌的雄激素显著增多,活性显著增强,并且肝脏合成的性激素结合球蛋白明显减少,导致血清中游离睾酮的水平明显上升,从而形成高雄激素血症。反之,升高的雄激素可促进 NF- κ B 等信号通路的激活进一步诱导相关炎症因子的表达进而加重全身和卵巢等组织局部的炎症反应^[10]。

胰岛素抵抗常伴发于 PCOS 是 PCOS 发生及进展的重要机制之一。胰岛素抵抗是一种机体对胰岛素敏感性下降的病理状态。当肝脏和骨骼肌等组织中的细胞对胰岛素的敏感性降低时,胰岛素促进这些细胞摄取并利用葡萄糖的能力降低,进而刺激机体代偿性合成并分泌胰岛素,以维持机体的代谢平衡。已有研究证实^[11-12] IRS-1/PI3K/AKT 信号通路是重要的胰岛素信号传导通路之一。当游离的胰岛素与细胞表面受体结合后,胰岛素受体底物被活化,可激活下游 PI3K/AKT 信号通路,促进组织细胞吸收和利用葡萄糖。有研究^[11]显示,炎症反应会抑制 IRS-1/PI3K/AKT 信号通路的激活。在慢性低度炎症环境下,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 C 反应蛋白等多种促炎因子的水平显著升高,这使得 IRS-1 的丝氨酸磷酸化水平明显升高,酪氨酸磷酸化水平明显降低,继而引起 IRS-1 相关的 PI3K 活性下降,导致胰岛素信号通路的传导受阻,最终出现胰岛素抵抗和 2 型糖尿病等代谢异常^[11]。另有研究^[12]结果表明,多种药物如葛根素、染料木黄酮等,可通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活,下调其下游促炎因子的表达,从而有效抑制 IRS-1 的丝氨酸磷酸化,促进胰岛素信号通路的传导,最终使胰岛素抵抗得到缓解。

MANF 是一种分泌型小分子蛋白质,可在体内

广泛表达,对于神经元和非神经元细胞都具有一定的保护作用^[5,13]。有研究^[14]表明,MANF 可以通过抑制细胞内内质网应激的过度激活,进而抑制细胞的凋亡。MANF 还可以结合 NF- κ B 通路的关键亚基 p65,抑制其下游靶基因的转录激活,从而发挥对抗炎症的作用。此外,MANF 可在多种代谢性疾病中发挥关键的保护作用。MANF 可通过抑制肝细胞的凋亡,促进脂肪分解相关基因的表达^[15]。MANF 还可以抑制胰岛 β 细胞的凋亡,促进其功能的恢复,进而对抗糖尿病的发生及病程进展^[4,6]。

所以课题组推测,MANF 可能是通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活以调节炎症反应,进而影响 IRS-1/PI3K/AKT 胰岛素信号通路的传导,最终参与 PCOS 患者胰岛素抵抗的发生和进展过程。本研究通过比较 PCOS 患者及健康女性血清中性激素、FBS、FINS 及 MANF 的水平,发现 PCOS 患者表现出明显的内分泌紊乱及胰岛素抵抗等异常($P < 0.05$)。PCOS 患者血清中的 MANF 水平较健康女性明显下降($P < 0.05$)。重要的是,与未患有胰岛素抵抗的 PCOS 患者比较,患有胰岛素抵抗的 PCOS 患者血清中的 MANF 水平显著下降($P < 0.05$),并且实验组 PCOS 患者血清中的 MANF 水平与 HOMA-IR 呈负相关($P < 0.05$)。

综上所述,MANF 可能参与了 PCOS 患者胰岛素抵抗发生及进展的过程,其发挥作用的具体机制还需要进一步深入研究,以期为临床上 PCOS 的诊断和治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] 赵晓苗,杨冬梓.多囊卵巢综合征的临床症状及远期影响[J].实用妇产科杂志,2018,34(8):566-70.
- [2] 魏伊秋,李满,余佳.慢性炎症与胰岛素抵抗机制关系的研究进展[J].临床与病理杂志,2019,39(3):640-5.
- [3] Zhai Y, Pang Y. Systemic and ovarian inflammation in women with polycystic ovary syndrome [J]. J Reprod Immunol, 2022, 151: 103628.
- [4] Montaser H, Patel K A, Balboa D, et al. Loss of MANF causes childhood-onset syndromic diabetes due to increased endoplasmic reticulum stress [J]. Diabetes, 2021, 70(4):1006-18.
- [5] 周兼,吴桐,何金汗.中脑星形胶质细胞源性神经营养因子在代谢性疾病中的作用[J].生理科学进展,2019,50(4):263-6.
- [6] Danilova T, Lindahl M. Emerging roles for mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) in pancreatic beta cells and diabetes [J]. Front Physiol, 2018, 9:1457.

- [7] Belenkaia L V, Lazareva L M, Walker W, et al. Criteria, phenotypes and prevalence of polycystic ovary syndrome[J]. *Minerva Ginecol*, 2019, 71(3):211–23.
- [8] 忽欣怡, 安利峰. 多囊卵巢综合征病因学研究进展[J]. *中国当代医药*, 2021, 28(8):30–3.
- [9] 张杏, 连方. 炎症细胞因子白介素-6、肿瘤坏死因子- α 、转化生长因子- β 1 在多囊卵巢综合征中作用机制及临床意义的研究进展[J]. *中国性科学*, 2022, 31(1):47–50.
- [10] 吕镁, 徐泽均, 孙任任, 等. 高雄激素相关的慢性炎症与多囊卵巢综合征的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(4):767–74.
- [11] 肖娟, 任伟. 胰岛素抵抗与胰岛素信号通路异常研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2020, 36(21):3463–6.
- [12] 魏颖, 张嘉诚, 李晓娟, 等. 基于经典胰岛素传导及炎症信号通路的相互作用中药改善胰岛素抵抗作用研究进展[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2022, 24(5):2026–34.
- [13] 柳胤, 卢祖能. 新型神经营养因子 CDNF/MANF 家族与神经系统疾病[J]. *医学综述*, 2018, 24(11):2124–8.
- [14] Yu Y, Liu D Y, Chen X S, et al. MANF: a novel endoplasmic reticulum stress response protein-the role in neurological and metabolic disorders[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:6467679.
- [15] Sousa-Victor P, Neves J, Cedron-Craft W, et al. MANF regulates metabolic and immune homeostasis in ageing and protects against liver damage[J]. *Nat Metab*, 2019, 1(2):276–90.

Research progress on the relationship between insulin resistance and the serum level of mesencephalic astrocyte derived neurotrophic factor in patients with polycystic ovary syndrome

Yu Shujun^{1,2,3}, Wei Zhaolian^{1,2,3}

(¹Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²NHC Key Laboratory of Study on Abnormal Gametes and Reproductive Tract, Anhui Medical University,

Hefei 230032; ³Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle, Anhui Medical University,

Ministry of Education of the People's Republic of China, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the relationship between insulin resistance and the serum level of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods**

There were 120 patients with PCOS and 40 healthy women recruited as the experimental group and the control group respectively. The serum levels of sex hormones, fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), and MANF in the experimental group and the control group were compared. The serum MANF level of patients with or without insulin resistance in the experimental group was also compared and the relationship between homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) and the serum MANF level was analyzed. **Results** Compared to the control group, the serum levels of luteinizing hormone, testosterone, androstenedione, dehydroepiandrosterone sulfate, FBG, FINS, and HOMA-IR in the experimental group were significantly higher ($P < 0.05$), whereas the serum levels of follicle stimulating hormone, sex hormone binding globulin, and MANF were significantly lower ($P < 0.05$). Compared to patients without insulin resistance (59 cases), the serum MANF level of patients with insulin resistance in the experimental group (61 cases) was significantly lower ($P < 0.05$), and there was a negative correlation between the serum MANF level and HOMA-IR of PCOS patients in the experimental group ($P < 0.05$).

Conclusion MANF possibly plays an important role in the occurrence and progression of insulin resistance in PCOS patients, which will be able to provide new approaches to the diagnosis and treatment of PCOS.

Key words polycystic ovary syndrome; insulin resistance; mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor