

C 肽与动脉粥样硬化的研究进展

刘谦 综述, 秦明照 审校

(首都医科大学附属北京同仁医院干部医疗科, 北京市 100730)

[关键词] C 肽; 动脉粥样硬化; 胰岛素抵抗; 心血管疾病

[摘要] 以胰岛素抵抗为特征的代谢综合征及 2 型糖尿病患者倾向于更早期发生弥漫性动脉粥样硬化, 甚至出现于高血糖之前, 动脉粥样硬化是糖尿病死亡的首要原因。除了传统危险因素外, 近年发现一直被认为无生物活性的 C 肽可能参与了动脉粥样硬化的关键发展步骤, 其参与了炎症反应、促进单核巨噬细胞迁移趋化及向泡沫细胞转化、促进血管平滑肌细胞的增殖, 几项队列研究提示血清 C 肽水平升高与全因死亡、心血管疾病、恶性肿瘤死亡相关。文章就 C 肽的生物学作用从基础研究到临床研究进展做一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Research Progress on C-peptide and Atherosclerosis

LIU Qian, and QIN Ming-Zhao

(Department of Geriatrics, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China)

[KEY WORDS] C-peptide; Atherosclerosis; Insulin Resistance; Cardiovascular Disease

[ABSTRACT] The patients with metabolic syndrome or type 2 diabetes mellitus are characterized by insulin resistance and have more risks to develop extensive atherosclerosis, even it occurs before hyperglycemia. Atherosclerosis is the leading cause of death in diabetic population. Thus it is important to explore the mechanisms of atherosclerosis. Besides the traditional risk factors, C-peptide which is considered no biological activity may play role in atherogenesis. It involves inflammation of artery and results in monocyte/macrophage accumulation as well as smooth muscle cell proliferation. Several cohort studies suggest that increased C-peptide levels relate to all-cause death, cardiovascular disease and cancer mortality. This review focuses on the new biological functions of C-peptide based on in vitro, vivo research and clinical studies.

我国 20 岁以上人群糖尿病患病率已达 9.7%^[1], 预计到 2025 年全世界糖尿病患者人数将达 3 亿之多, 糖尿病死亡的首要原因是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As), 因此研究糖尿病患者发生 As 的机制是非常有意义的。而 As 可发生于高血糖之前, 以胰岛素抵抗为特征的代谢综合征及早期 2 型糖尿病患者倾向于更早期发生弥漫性 As, 除了吸烟、活动减少、高血压、血脂异常等传统危险因素外, 近年发现 C 肽可能促进 As 的发展, 现就 C 肽的生物学作用从基础到临床研究进展做一综述。

1 C 肽的结构及传统临床作用

C 肽首先由 Steiner 于 1967 年发现, 是含 31 个

氨基酸的多肽, 它是胰岛素原分子中胰岛素 A 链和 B 链的连接肽, C 肽由胰岛素原裂解产生, 一分子胰岛素原合成一分子 C 肽和一分子的 A、B 链, 后两者合成胰岛素, 故 C 肽与胰岛素呈等分子从 β 细胞分泌^[2]。由于肝脏首过效应, 胰岛素约有 50% 被代谢, 经过外周清除的量亦因人而异, 同时胰岛素的半衰期仅 3~5 min, 因此外周血中胰岛素水平不能准确反应 β 细胞分泌胰岛素的功能。C 肽半衰期 20~30 min, 很少经肝脏代谢, 主要经肾脏清除, 而且不受血清中胰岛素抗体和外源性胰岛素的影响, 因此对于肾功能正常的患者, C 肽水平能够更加准确的判断 β 细胞功能。

目前正常生理性 C 肽水平没有公认的统一标准, 有研究^[3]认为 0.5~3 $\mu\text{g/L}$, 也有以 0.5~2.0 $\mu\text{g/L}$

[收稿日期] 2015-07-24

[修回日期] 2016-01-03

[基金项目] 北京市保健科研课题(京 13-09 号)资助

[作者简介] 刘谦, 博士, 副主任医师, 研究方向为老年医学, E-mail 为 liuqian760709@sina.com。秦明照, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管病何老年医学。

L 为标准,超过 2.0 $\mu\text{g/L}$ 提示胰岛素分泌过多^[4]。口服葡萄糖耐量检查 C 肽于 30~60 min 达高峰,峰值为基础值的 5~6 倍;空腹 C 肽小于 0.24 $\mu\text{g/L}$ 或混合餐耐量试验小于 0.6 $\mu\text{g/L}$ 被认为是胰岛素绝对缺乏^[5]。长期以来认为 C 肽无生物活性,在临床上仅作为判断 β 细胞功能的指标。它可以用来协助鉴别 1 型糖尿病和 2 型糖尿病,以及青年人中的成年发病型糖尿病^[6] (MODY),有研究^[7] 提示在 30 岁以前出现糖尿病且病程超过 3 年的患者中,随机血清 C 肽水平 $\geq 0.2 \text{ nmol/L}$ 可考虑作为诊断 MODY 的标准。

2 C 肽在 1 型糖尿病中的保护作用

1 型糖尿病以胰岛 β 细胞破坏,胰岛素绝对缺乏为主要特征,因此 C 肽水平减低。已有的动物及临床试验证实 C 肽可改善 1 型糖尿病的并发症如糖尿病肾病、糖尿病神经病变,因此 C 肽开始被认为是一种有活性的多肽,具有激素的特征^[8-9],近年来 C 肽的作用逐渐引起关注,传统认为的没有活性的 C 肽可能存在生物学作用。

3 C 肽对 As 促进作用研究的三个阶段

第一阶段多为离体细胞水平研究。目前 As 被认为是发生于血管壁的炎症反应过程^[10],单核巨噬细胞迁移趋化以及向泡沫细胞转化、血管平滑肌细胞的增殖是 As 发生的关键步骤。2004 年首次由 Marx 等^[11] 学者报道了 C 肽在血管壁的沉积,该研究在尸检时获取胸主动脉,根据糖化血红蛋白水平分为糖尿病组和非糖尿病组,糖尿病组病例大部分为 2 型糖尿病,糖尿病组和非糖尿病组胸主动脉内膜厚度无差异,经免疫组化和免疫荧光方法分析发现,糖尿病患者的血管内皮下及内膜存在 C 肽的明显沉积,而非糖尿病患者几乎没有这种现象,两组中均未见胰岛素及胰岛素原的沉积;同时离体研究证实了 C 肽对人单核细胞的趋化作用。从而使学者们认识到在 2 型糖尿病患者中 C 肽可能促进了早期 As 的发生,但这与 C 肽在 1 型糖尿病中的保护作用矛盾的。后来一系列的离体研究也证实了 C 肽的促 As 作用,C 肽以浓度依赖方式刺激 CD4^+ 淋巴细胞的迁移^[12]、促进单核细胞向泡沫细胞的分化^[13] 及血管中膜平滑肌细胞增殖^[14],C 肽通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI-3K)、增加过氧化体增殖物激活型受体 γ

(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR γ) 调节的 CD36 清道夫受体的表达、诱导细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2) 信号通路等作用机制起到以上作用^[14-15],这可以解释胰岛素抵抗及早期 2 型糖尿病患者倾向于早期发生弥漫广泛的 As,甚至在高血糖出现之前。因此,德国学者 Marx 和 Walcher^[16] 提出,如同甲状腺激素在甲状腺功能减退症及甲状腺功能亢进症中的作用,C 肽缺乏的 1 型糖尿病补充治疗可改善并发症,而胰岛素抵抗和早期 2 型糖尿病患者 C 肽水平升高可能促进了大血管并发症的发生发展,C 肽在 1 型糖尿病中的保护作用和 2 型糖尿病胰岛素抵抗阶段中的危害作用是不矛盾的。

第二阶段为在体研究阶段。在以上离体研究的基础上,为了证实 C 肽与 As 的因果关系,2012 年首次对 ApoE 基因敲除的非糖尿病小鼠为研究对象进行了在体研究^[17],经 12 周注射 C 肽的干预组与对照组比较,体重、血脂、血糖、血清胰岛素水平无差异,内皮细胞标志物 E 选择素、可溶性细胞间黏附分子 (soluble intercellular adhesion molecule, sICAM) 以及炎症因子肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 均无差异,血清 C 肽水平升高 4~5 倍,干预组主动脉弓有明显 C 肽沉积、单核巨噬细胞随 C 肽迁移及血管平滑肌细胞增殖。这项研究以非糖尿病小鼠为研究对象,给予高脂饮食 13 周,干预组注射 C 肽,类似于胰岛素抵抗及早期 2 型糖尿病状态,更进一步说明了 C 肽的促 As 作用。

第三阶段为临床研究阶段。离体研究和在体动物研究均证实了 C 肽的促 As 作用,我们课题小组进行了 C 肽与颈动脉内膜中膜厚度 (intima-media thickness, IMT) 的相关研究^[18],在正常糖代谢、糖尿病前期及 2 型糖尿病病程小于 5 年的患者中,随着 C 肽水平的升高 IMT 增加,推测 C 肽可能促进了 As 的发生发展,但此研究为横断面研究。同年来自韩国的研究^[19] 亦发现 C 肽与 IMT 正相关,但入选人群 2 型糖尿病平均病程为 8.22 年,部分患者可能处于胰岛功能减退阶段,不能完全反映早期胰岛素抵抗阶段 C 肽的水平与结局的关系。

近年进行了几项关于 C 肽与全因死亡和心脑血管病相关的大型临床研究。2012 年来自意大利的一项回顾性队列研究^[20] 包括 2 型糖尿病患者 2113 例,其中亚组 931 例进入研究时无糖尿病慢性并发症,平均随访 14 年,根据 C 肽三分位间距分为

$\leq 1.41 \mu\text{g/L}$ 组、 $1.41 \sim 2.4 \mu\text{g/L}$ 组和 $\geq 2.4 \mu\text{g/L}$ 组,调整其它混杂因素后,各组的全因死亡及因糖尿病、肿瘤及心血管疾病死亡并无明显差异。在亚组分析中,随 C 肽水平升高糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病神经病变发生风险降低,而心血管疾病无明显差异。此研究并未得出 C 肽水平升高带来危害的结果,分析其原因:①入选人群糖尿病病史较长,三组分别为 11 年、9 年和 7 年,因此可能已经处于胰岛功能减退阶段,因此不能完全反应早期胰岛素抵抗 C 肽升高与死亡及慢性并发症的关系。②此研究入选人群为 2 型糖尿病患者,因此是心血管疾病的高危人群,冠心病一、二级预防用药情况会影响死亡率及并发症的发生率,但此研究未分析用药情况的影响。③C 肽主要经肾脏代谢,肾功能不全患者 C 肽水平会升高,此研究未考虑肾功能的因素。

美国的一项队列研究^[21]提示 40 岁以上非糖尿病人群,C 肽比糖化血红蛋白和空腹血糖能够更好的预测全因死亡、心血管疾病和冠状动脉疾病相关的死亡风险,C 肽水平每增加 $1 \mu\text{g/L}$,死亡风险分别增加 1.41 倍、1.70 倍和 1.67 倍。德国一项队列研究^[22]提示 C 肽水平升高组内皮功能和 As 相关的生物学指标如细胞间黏附分子 1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、P 选择素、E 选择素和脂蛋白关联磷脂酶 A2(lipoprotein associated phospholipase A2, LpPLA2)的水平是升高的。C 肽水平与全因死亡和心血管死亡独立相关。一项横断面研究^[23]提示非糖尿病人群中 C 肽水平升高与卒中相关(OR:3.71,95%CI:1.78~7.75),但横断面研究不能肯定 C 肽与卒中的因果关系。来自日本的一项病例对照小样本研究^[24]显示冠心病组空腹和 2 h C 肽水平较非冠心病组升高($1.7 \pm 0.6 \mu\text{g/L}$ 比 $1.2 \pm 0.3 \mu\text{g/L}$, $5.6 \pm 1.9 \mu\text{g/L}$ 比 $4.2 \pm 1.0 \mu\text{g/L}$),推测在血糖异常之前,餐后高胰岛素血症可能是发生 As 的高危因素。西班牙的一项队列研究^[25]根据空腹 C 肽三分位间距和空腹血糖水平分为 3 组:无胰岛素抵抗组(空腹 C 肽 $< 2.26 \mu\text{g/L}$ 且空腹血糖 $< 100 \text{ mg/dL}$)、胰岛素抵抗早期组(空腹 C 肽 $\geq 2.26 \mu\text{g/L}$ 且空腹血糖 $< 100 \text{ mg/dL}$)和胰岛素抵抗进展期组(空腹 C 肽 $\geq 2.26 \mu\text{g/L}$ 且空腹血糖 $\geq 100 \text{ mg/dL}$),校正传统危险因素后,与无胰岛素抵抗组比较,胰岛素抵抗早期组和胰岛素抵抗进展期组发生心肌梗死和冠心病的风险均增加;但排除糖尿病后人群($n = 5471$),胰岛素抵抗早期组此效应仍存在,而胰岛素抵抗进展期组发生心肌

梗死和冠心病的风险与无胰岛素抵抗组比较无统计学差异。这项研究可以解释糖尿病作为冠心病的等危症的作用,也提示普通人群中 C 肽水平与冠心病的关系,在空腹血糖水平正常的人群中,C 肽水平升高发生冠心病的风险是 C 肽水平正常人群的 3 倍,其可作为临床潜在应用心血管疾病的早期预测因子。

以上几项研究多支持在糖尿病前期或无糖代谢异常阶段 C 肽水平升高与全因死亡、心脑血管疾病相关,但这些研究未考虑药物因素(如他汀、ARB/ACEI、 β 受体阻滞剂等)的影响,虽样本量大,但入选排除标准不十分严格,比如未行口服葡萄糖耐量检查排除糖尿病,部分研究未考虑肾功能对 C 肽水平的影响。

4 C 肽与其它疾病的关系

C 肽除了促进炎症反应和 As 外,对肾脏作用的研究结果尚不一致,有研究^[26-27]认为其可改善糖尿病大鼠肾小球增生、减轻肾小球高滤过状态、减少蛋白尿,但也有研究证实 C 肽通过激活下游 Src 激酶、ERK 和 PI-3K 途径诱导人肾脏系膜细胞增殖^[28]。此外,亦有研究提示 C 肽与肿瘤死亡相关。美国一项队列研究^[29]结果提示,在女性中 C 肽与恶性肿瘤相关死亡和肺癌死亡正相关,而男性中未见此现象。另一项多中心前瞻性队列研究^[30]入选人群为 604 例乳腺癌患者(包括 58 例 2 型糖尿病患者),随访 3 年,结果提示 C 肽每增加 $1 \mu\text{g/L}$,死亡风险增加 31%;非糖尿病患者中,C 肽 $> 2.5 \mu\text{g/L}$ 组的乳腺癌死亡风险是 $< 1.7 \mu\text{g/L}$ 组的 2 倍。另有研究^[31]提示 C 肽与骨密度呈负相关。

5 未来研究方向

由于 C 肽的相关临床研究还处于初步阶段,多根据研究人群的三分位间距或四分位间距进行分组观察结局^[20-22,25,30],仍缺乏 C 肽影响临床预后界值的循证学依据,需要进一步探讨。近年关于 C 肽虽进行了几项大样本研究,但设计严谨的前瞻性队列研究较少,尚无干预性研究。C 肽的受体目前尚未明确,其具体的作用机制亦是今后研究的方向。

[参考文献]

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1

- 090-101.
- [2] Wahren J, Ekberg K, Johansson J, et al. Role of C-peptide in human physiology [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2000, 278(5): E759-768.
- [3] Leberer C, Marx N. C-peptide and its career from innocent bystander to active player in diabetic atherogenesis [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2013, 15(7): 339.
- [4] Buse JB, Polonsky KS, Burant CF. Type 2 diabetes mellitus [M]// Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, et al. *Williams Textbook of Endocrinology* (11th ed). Philadelphia: PA, Saunders Elsevier, 2008; 363-390.
- [5] Besser RE, Jones AG, McDonald TJ, et al. The impact of insulin administration during the mixed meal tolerance test [J]. *Diabet Med*, 2012, 29(10): 1 279-284.
- [6] Jones AG, Hattersley AT. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes [J]. *Diabet Med*, 2013, 30(7): 803-817.
- [7] Thanabalasingham G, Pal A, Selwood MP, et al. Systematic assessment of etiology in adults with a clinical diagnosis of young-onset type 2 diabetes is a successful strategy for identifying maturity-onset diabetes of the young [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(6): 1 206-212.
- [8] Johansson BL, Borg K, Femqvist-Forbes E, et al. Beneficial effects of C-peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus [J]. *Diabet Med*, 2000, 17(3): 181-189.
- [9] Ekberg K, Brismar T, Johansson BL, et al. Amelioration of sensory nerve dysfunction by C-peptide in patients with type 1 diabetes [J]. *Diabetes*, 2003, 52(2): 536-541.
- [10] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126.
- [11] Marx N, Walcher D, Raichle C, et al. C-peptide colocalizes with macrophages in early arteriosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocyte chemotaxis in vitro [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(3): 540-545.
- [12] Walcher D, Aleksic M, Jerg V, et al. C-peptide induces chemotaxis of human CD4-positive cells: involvement of pertussis toxin-sensitive G-proteins and phosphoinositide 3-kinase [J]. *Diabetes*, 2004, 53(7): 1 664-670.
- [13] Al-Rasheed NM, Chana RS, Baines RJ, et al. Ligand-independent activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma by insulin and C-peptide in kidney proximal tubular cells: dependent on phosphatidylinositol 3-kinase activity [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(49): 747-754.
- [14] Walcher D, Babiak C, Polettek P, et al. C-peptide induces vascular smooth muscle cell proliferation: involvement of SRC-kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and extracellular signal-regulated kinase1/2 [J]. *Circ Res*, 2006, 99(11): 1 181-187.
- [15] Kitamura T, Kimura K, Jung BD, et al. Proinsulin C-peptide rapidly stimulates mitogen-activated protein kinases in swiss 3T3 fibroblasts: requirement of protein kinase C, phosphoinositide 3-kinase and pertussis toxin-sensitive G-protein [J]. *Biochem J*, 2001, 355(1): 123-129.
- [16] Walcher D, Marx N. Advanced glycation end products and C-peptide-modulators in diabetic vasculopathy and atherosclerosis [J]. *Semin Immunopathol*, 2009, 31(1): 103-111.
- [17] Vasic D, Marx N, Sukhova G, Bach H, et al. C-peptide promotes lesion development in a mouse model of arteriosclerosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(4): 927-935.
- [18] 刘谦, 秦明照, 王云, 等. C肽与颈动脉内膜中层厚度的相关研究 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2011, 19(7): 31-33.
- [19] Kim ST, Kim BJ, Lim DM, et al. Basal C-peptide level as a surrogate marker of subclinical atherosclerosis in type 2 diabetic patients [J]. *Diabetes Metab J*, 2011, 35(1): 41-49.
- [20] Bo S, Gentile L, Castiglione A, et al. C-peptide and the risk for incident complications and mortality in type 2 diabetic patients: a retrospective cohort study after a 14-year follow-up [J]. *Eur J Endocrinol*, 2012, 167(2): 173-180.
- [21] Min JY, Min KB. Serum C-peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus [J]. *CMAJ*, 2013, 185(9): E402-408.
- [22] Marx N, Silbernagel G, Brandenburg V, et al. C-peptide levels are associated with mortality and cardiovascular mortality in patients undergoing angiography: the LURIC study [J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(3): 708-714.
- [23] Li Y, Meng L, Li Y, et al. Associations of serum C-peptide level with body fat distribution and ever stroke in nondiabetic subjects [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(3): e163-169.
- [24] Nakamura A, Monma Y, Kajitani S, et al. Different postprandial lipid metabolism and insulin resistance between non-diabetic patients with and without coronary artery disease [J]. *J Cardiol*, 2015, [Epub ahead of print].
- [25] Cabrera de Leon A, Oliva Garcia JG, Marcelino Rodriguez I, et al. C-peptide as a risk factor of coronary artery disease in the general population [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2015, 12(3): 199-207.
- [26] Samnegard B, Jacobson SH, Jarenko G, et al. C-peptide prevents glomerular hypertrophy and mesangial matrix expansion in diabetic rats [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2005, 20(3): 528-538.
- [27] Stridh S, Sallstrom J, Friden M, et al. C-peptide normalizes glomerular filtration rate in hyperfiltrating conscious diabetic rats [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2009, 645: 219-225.
- [28] Vasic D, Spyrtanis A, Durst R, et al. C-peptide induces human renal mesangial cell proliferation in vitro, activating Src-kinase, PI-3 kinase and ERK1/2 [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 351(2): 337-341.
- [29] Hsu CN, Chang CH, Lin YS, et al. Association of serum C-peptide concentrations with cancer mortality risk in pre-diabetes or undiagnosed diabetes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55 625.
- [30] Irwin ML, Duggan C, Wang CY, et al. Fasting C-peptide levels and death resulting from all causes and breast cancer: the health, eating, activity, and lifestyle study [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(1): 47-53.
- [31] Li Y, Liu H, Sato Y. The association between the serum C-peptide level and bone mineral density [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83 107.