

尿胱抑素 C 作为糖尿病肾病早期诊断标准的评价

史喜苗 孟宪杰 张明月 黄燕如 陈好利 毛志敏 吴静珠

摘要 目的 评估尿胱抑素 C (urinary cystatin C, UCysC) 与尿白蛋白/肌酐 (urine albumin – creatinine ratio, UACR) 的相关性, 进而探讨 UCysC 作为糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 早期诊断标准的意义。**方法** 采取回顾性横断面研究方法, 将 100 例糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 患者依据 UACR 水平分为正常白蛋白尿组 ($n = 19$)、微量白蛋白尿组 ($n = 59$) 和大量白蛋白尿组 ($n = 22$)。常规记录查体结果和相关生化指标, 同时采用颗粒增强透射免疫比浊法 (particle – enhanced turbimetric assay method) 测定不同分组患者 UCysC 水平。**结果** 在正常白蛋白尿组、微量白蛋白尿组和大量白蛋白尿组, UCysC 随着 UACR 的增加而逐渐升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。UCysC 与 UACR 之间呈正相关 ($r = 0.766, P = 0.000$), 以 UACR 值 30mg/g 为切入点, 作 ROC 曲线, 得出曲线下面积为 0.915, 这说明 UCysC 对于早期 DN 来说, 具有很好的敏感度和特异性。**结论** UCysC 与 UACR 之间具有独立相关性, UCysC 可以作为 DN 早期诊断标准。

关键词 糖尿病肾病 尿胱抑素 C 尿白蛋白/肌酐 肾小管损伤

[中图分类号] R587

[文献标识码] A

Evaluation of Urinary Cystatin C as the Standard for Early Diagnosis of Diabetic Nephropathy. Shi Ximiao, Meng Xianjie, Zhang Mingyue, et al. The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu 210029, China

Abstract Objective This study aimed to evaluate the association between urinary cystatin C (UCysC) and urine albumin – creatinine ratio (UACR) and then to determine whether urinary cystatin C could be used as an early biomarker of renal dysfunction in diabetic patients. **Methods** Diabetic patients ($n = 100$) with normoalbuminuria ($n = 19$), microalbuminuria ($n = 59$) and macroalbuminuria ($n = 22$) were enrolled in the study. Urine cystatin C, serum creatinine (Scr), blood urine nitrogen (BUN), urine albumin – creatinine ratio (UACR) and other blood biochemical values were determined in all groups. Particle – enhanced turbimetric assay method was used to measure urinary cystatin C levels in different groups. **Results** In normoalbuminuria group, microalbuminuria group and macroalbuminuria group, the urine cystatin C levels increased with increasing degree of urine ACR, and the differences between the groups were statistically significant ($P < 0.05$). Urine cystatin C was positively corrected with urine ACR ($r = 0.766, P = 0.000$). Nonparametric ROC curve, using a cut of urine ACR of 30mg/g, was obtained for urine cystatin C. Area under the curve was 0.915 for urine cystatin C, which meant that urine cystatin C was sensitive and specific in the early stage of diabetic nephropathy. **Conclusion** There is an independent correlation between cystatin C and urine ACR. The results of this study suggest that urinary cystatin C could be a biomarker of incipient DN.

Key words Diabetic nephropathy; Urinary cystatin C; UACR; Penal tubular damage

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一个全球性的健康问题, 伴随着人口的增长、老龄化、肥胖及缺乏体力活动等因素, DM 患病人数正在逐年升高, 成为了世界各国沉重的医疗负担。糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 作为 DM 患者常见的微血管并发症, 其是继慢性肾炎 (chronic nephritis) 之后, 引起终末期肾病 (end stage renal disease, ESRD) 的主要原因^[1]。目前, 微量白蛋白尿 (microalbuminuria) 和血清肌酐 (serum creatinine Scr) 水平是评估 DN 的主要方法^[2]。然而, 研究表明, 血清肌酐水平依赖于肌酐的

产生, 易受性别、年龄、饮食肌肉量等因素影响, 更为重要的是, 当肾小球滤过率 (GFR) 下降 $1/3 \sim 1/2$ 时, 它才有明显的升高。此外, 微量白蛋白尿也是在显著的肾小球损伤之后才出现^[3~6]。因此, 血清肌酐和微量白蛋白尿对于 DN 的早期诊断均具有一定的不足。可矛盾的是, 对于 DN 患者来讲, 早期诊断、早期干预才是治疗的关键。因此, 探寻除了尿白蛋白 (urinary albumin, UAlb)、血清肌酐 (serum creatinine, Scr) 之外, 更敏感和特异的标志物用于早期诊断 DN 成为临床急需解决的问题。

传统意义上来说, 肾小球滤过功能障碍是糖尿病性肾损伤的发病机制, 包括 UAlb 和 Scr 等均属于肾小球滤过障碍的标志物。国内外研究表明, 肾小管的

作者单位:210029 南京中医药大学第一临床医学院(史喜苗、孟宪杰、黄燕如、陈好利、毛志敏);210029 南京中医药大学(张明月、吴静珠)

损伤在 DN 发病机制中亦占据重要地位,认为肾小管性尿蛋白标志物水平的升高可用于监测早期 DN 患者肾小管的损伤,其中包括 UCysC^[7~10]。故本研究的目的是评估 UCysC 与 UACR 之间的关系,进而探讨其在早期诊断 DN 中的实际价值。

对象与方法

1. 研究对象:在获得所有患者的知情同意前提下,选取从 2012 年 10 月~2013 年 12 月在南京大学附属鼓楼医院中医科和内分泌科住院的 DM 患者总共 100 例。所有入选患者具备下列条件:符合 DM 诊断标准;肾功能稳定,血清肌酐 < 106 μmol/L,至少在 5 个月内血清肌酐水平升高不超过基础值的 2 倍,且没有使用 RAS 抑制剂用药史。排除标准:不符合 DM 诊断标准首先排除,此外还包括急性尿路感染、甲状腺疾病、严重肝功能障碍、肿瘤性疾病、急慢性持续性炎症性疾病、急性心肌梗死和孕妇。根据患者尿白蛋白/肌酐(UACR)水平,将 100 例 DM 患者分为 3 组,即正常白蛋白尿组 19 例(UACR < 30 mg/g),微量白蛋白尿组 59 例(UACR 在 30~300 mg/g),大量白蛋白尿组 22 例(UACR ≥ 300 mg/g)。

2. 研究方法:患者病史和查体结果在同一天记录。收集受试者新鲜晨尿 10 ml,用离心机 3000 r/min 离心 10 min,获取上清液,在 2 h 内完成尿液样本的检测。采用颗粒增强透射免疫比浊法测定不同分组患者 UCysC 的水平,检测试剂由上海研谨生物科技有限公司提供。所有的操作程序严格按照厂家的说明书进行。

3. 统计学方法:本研究统计学处理均由 SPSS 13.0 统计软件完成。计数资料用频数表示;计量资料符合正态分布采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,偏态分布采用中位数(四分位间距)表示;计数资料组间比较采用 χ^2 检验;计量资料服从正态分布者采用 ANOVA 分析,偏态分布者采用 Kruskal-Wallis 秩和检验;两个变量之间关系符合正态分布,用 Pearson 相关系数描述,不符合正态分布,用 Spearman 相关系数描述。尿胱抑素 C 的敏感度和特异性用受试者操作特征曲线分析(ROC)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 不同分组患者基本特征比较:研究人群的基本情况见表 1。在正常白蛋白尿组、微量白蛋白尿组和大量白蛋白尿组患者性别、年龄、体重指数、收缩压、舒张压、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)、甘油三酯(triglyceride, TG)、血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN) 及尿酸(blood uric acid, BUA) 差异均无统计学意义($P > 0.05$);Scr 在大量白蛋白尿组与正常白蛋白尿组和微量白蛋白尿组相比,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),但在微量白蛋白尿组与正常白蛋白尿组相比,虽有所升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外血清总胆固醇(TC)在大量白蛋白尿组与正常白蛋白尿组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 基于 UACR 水平不同分组之间患者基本特征比较

项目	正常白蛋白尿组	微量白蛋白尿组	大量白蛋白尿组	P
n	19	59	22	
男性/女性	11/8	28/31	13/9	0.575
年龄(岁)	65.05 ± 14.23	62.10 ± 13.63	65.55 ± 11.33	0.491
体重指数(kg/m ²)	23.48 ± 2.29	25.01 ± 3.72	25.70 ± 4.38	0.309
收缩压(mmHg)	133.47 ± 15.89	136.66 ± 15.20	143.23 ± 17.10	0.121
舒张压(mmHg)	79.63 ± 11.24	78.76 ± 11.31	79.09 ± 12.57	0.960
空腹血糖(mmol/L)	8.76 ± 2.82	9.63 ± 2.65	8.43 ± 2.65	0.152
餐后 2 h 血糖(mmol/L)	16.28 ± 5.17	15.67 ± 5.83	15.44 ± 4.87	0.877
糖化血红蛋白(%)	8.76 ± 2.07	9.25 ± 2.10	8.53 ± 1.64	0.305
总胆固醇(mmol/L)	4.06(3.57~4.94)	4.46(3.80~5.37)	5.14(4.39~5.36)*	0.052
甘油三酯(mmol/L)	1.10(0.73~1.72)	1.56(0.94~2.12)	1.44(1.12~2.02)	0.102
血清尿素氮(mmol/L)	6.26 ± 1.54	5.89 ± 1.53	6.50 ± 2.09	0.306
血清肌酐(μmol/L)	66.45 ± 9.04	70.80 ± 15.89	82.00 ± 13.60**#	0.003
血清尿酸(μmol/L)	293.11 ± 66.09	315.17 ± 93.43	324.95 ± 81.89	0.484

与正常白蛋白尿组相比,* $P < 0.05$;与微量白蛋白尿组相比,** $P < 0.05$;1 mmHg = 0.133 kPa

2. 不同分组之间尿胱抑素 C 水平变化:正常白蛋白尿组、微量白蛋白尿组、大量白蛋白尿组的尿胱抑素 C 分别为 0.20 ± 0.08 、 0.45 ± 0.07 、 0.75 ± 0.13 mg/L。UCysC 随着尿白蛋白/肌酐水平的增加而逐渐升高,在大量白蛋白尿组明显高于微量白蛋白尿组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),微量白蛋白尿组和正常白蛋白尿组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3. 尿胱抑素 C 与尿白蛋白/肌酐的相关性:通过双变量相关分析,得出 UCysC 与 UACR 之间呈正相关($r = 0.766, P = 0.000$)。

4. 以尿白蛋白/肌酐为参照,作尿胱抑素 C 的 ROC 曲线分析:图 1 显示的是以 UACR 为参照所作的 UCysC 的 ROC 曲线。采用国际公认的 Mogensen 分期,以 UACR 值 30 mg/g 为切入点,作 ROC 曲线并

求曲线下面积,得出曲线下面积为 $0.915(P < 0.05)$,这说明对于DN早期来说,UCysC具有很好的敏感度和特异性。

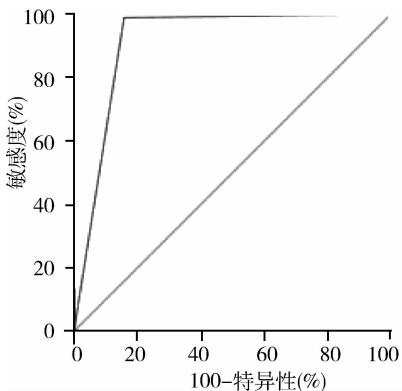


图1 以尿白蛋白/肌酐值30mg/g为切点作UCysC的ROC曲线

讨 论

DN是糖尿病患者最常见的并发症之一,其早期肾脏病理改变大多是可逆转的,但目前用于诊断DN的实验室指标敏感度和特异性存在一些缺陷,对于糖尿病患者出现的早期肾损伤较难发现,也因此错过了最佳的治疗窗口时期,导致大量DN患者最终进展至终末期肾病(ESRD)。尽管在DN的发生及发展过程中,肾小球的损伤是目前公认的一大主因,但是目前国内很多研究表明,肾小管的损伤在DN的发病机制中亦占据着重要地位^[7,8]。因此,如何更早地检测肾小管损伤,探寻出比尿白蛋白和血肌酐更敏感的用于更早地监测DN的标志物,成为临床研究的热点。

CysC是一种低分子质量的蛋白质,分子质量为13.36kDa,属于非糖基化的碱性蛋白质,能在人体几乎所有的有核细胞中稳定表达,且无组织学的特异性,故其产生率相当恒定,可经肾小球自由滤过,在近曲小管被重吸收并分解代谢,因肾小管不分泌UCysC,故在正常情况下CysC在尿中的浓度很低。但当肾小管功能出现损伤,尿中CysC含量则会明显升高。故UCysC可以较好地反映肾脏疾病时肾小管功能情况^[11,12]。本研究中笔者发现Scr在糖尿病微量白蛋白尿组和正常白蛋白尿组相比,略有升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),而UCysC则显著升高($P < 0.05$),故相比较而言,UCysC对于糖尿病引起的早期肾损伤诊断效能优于Scr。此外,笔者还以UACR值30mg/g为切点,通过ROC曲线,计算得出曲线下面积为0.915,这说明UCysC对于早期DN来说,具有很好的敏感度和特异性。此外,通过分析得出,UCysC

水平与UACR之间呈正相关,故UCysC可以作为早期预测糖尿病引起肾损伤的标志物。

研究证实,DNⅢ期属于早期DN,临床多表现为分子质量各异的中、低分子尿蛋白水平的升高,此期是临床防治DN最佳的窗口期。据报道,DNⅢ期出现的肾组织损伤,属于早期损伤,其存在多种可逆性因素,这些可逆性因素,可以被血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)、血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂(ARB),以及包括中药复方和单味中药在内的中医药所调控。笔者之前的研究已经证明,对于早期DN来说,中、低分子质量尿蛋白的产生,主要责之于脾肾功能的失调,引起精微下注所产生,且发现UCysC是中医证型肾气虚证的客观证素。故临幊上可以把UCysC水平作为早期DN肾气虚证诊断的客观参考指标,这对于客观化祖国医学对于早期DN的诊断与治疗具有重要的现实意义。

参 考 文 献

- 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): 1090–1101
- Hong CY, Chia KS. Markers of diabetic nephropathy [J]. J Diabetes Complications, 1998, 12(1): 43–60
- Stevens LA, Levey AS. Measurement of kidney function [J]. Med Clin North Am, 2005, 89(3): 457–473
- Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G, et al. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy among adults with type 2 diabetes mellitus [J]. JAMA, 2003, 289(24): 3273–3277
- Rigalleau V, Lasseur C, Raffaitin C, et al. Normoalbuminuric renal-insufficient diabetic patients: a lower-risk group [J]. Diabetes Care, 2007, 30(8): 2034–2039
- Kramer CK, Leitao CB, Pinto LC, et al. Clinical and laboratory profile of patients with type 2 diabetes with low glomerular filtration rate and normoalbuminuria [J]. Diabetes Care, 2007, 30(8): 1998–2000
- Bangstad HJ, Seljeflot I, Berg TJ, et al. Renal tubulointerstitial expansion is associated with endothelial dysfunction and inflammation in type 1 diabetes [J]. Scand J Clin Lab Invest, 2009, 69(1): 138–144
- Phillips AO, Steadman R. Diabetic nephropathy: the central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury [J]. Histol Histopathol, 2002, 17(1): 247–252
- Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy [J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2005, 12(2): 177–186
- Jeon YK, Kim MR, Huh JE, et al. Cystatin C as an early biomarker of nephropathy in patients with type 2 diabetes [J]. J Korean Med Sci, 2011, 26(2): 258–263
- Snell-Bergeon JK, Maahs DM, Ogden LG, et al. Evaluation of urinary biomarkers for coronary artery disease, diabetes, and diabetic kidney disease [J]. Diabetes Technol Ther, 2009, 11(1): 1–9
- Macisaac RJ, Premaratne E, Jerums G. Estimating glomerular filtration rate in diabetes using serum cystatin C [J]. Clin Biochem Rev, 2011, 32(2): 61–67

(收稿日期:2014-02-27)

(修回日期:2014-03-18)