

生物学标志物在糖尿病肾病中的研究进展

毛志敏 孟宪杰

摘要 糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病主要的微血管并发症之一,是终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)的主要原因。目前,尿白蛋白水平变化被认为是 DN 发生与进展的标志。然而,一些糖尿病患者尿白蛋白水平在正常范围内时,已经有了晚期肾脏病理上的改变,这表明尿白蛋白不是早期检测 DN 理想的标志物。因此,探寻早期诊断 DN 新的生物学标志物已经成为临床研究的热点。目前已经探索出一些 DN 相关的生物学标志物,包括肾损伤标志物(如肾损伤分子-1)、炎症标志物(如肿瘤坏死因子- α)和氧化应激标志物(如8-羟基脱氧鸟苷)等,这些标志物的发现对于 DN 的早期诊断和监测进展具有重要意义。

关键词 糖尿病肾病 生物学标志物 炎症 氧化应激

[中图分类号] R587 [文献标识码] A

糖尿病肾病是糖尿病主要微血管并发症之一,在欧美国家是终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)最常见的原因,也是 DN 患者主要的死亡原因之一^[1,2]。目前, DN 已经严重影响公众的健康和社会经济的发展。DN 起病过程相对隐匿,根据丹麦 Mogensen 分期, I ~ II 期缺乏显性的临床表现,直到 III 期才开始出现尿白蛋白排泄率的增加,到目前为止,微量白蛋白尿是用于检测 DN 最佳的无创伤性的标志物^[3]。然而,一些糖尿病患者尿白蛋白水平在正常范围内时,已经有了晚期肾脏病理上的改变,相比于疾病的早期阶段来说,治疗缺乏有效性,这表明尿白蛋白不是早期检测 DN 理想的标志物^[4]。因此,探索除尿白蛋白之外早期检测、诊断 DN 标志物成为研究的热点。据国内外相关研究报道,一些生物学标志物与 DN 密切相关,这些标志物可潜在的用于早期诊断 DN、监测 DN 的进展,尤其是其中的肾损伤标志物、炎症标志物、氧化应激标志物备受青睐^[5]。

一、糖尿病肾病肾损伤生物学标志物

1. 肾损伤分子-1:肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)是肾脏近曲小管上皮细胞一种新的跨膜蛋白——磷脂酰丝氨酸受体,属免疫球蛋白基因超家族中的一员,相对分子质量 50 ~ 80kDa,其胞外含有免疫球蛋白和多个糖基化位点及高度糖基化的黏蛋白子域,胞内部分则相对较短,在正常肾脏组织中不表达,但其大量表达于缺血再灌注损伤后再

生的近曲小管上皮细胞,从而导致 Kim-1 在尿液中的含量显著升高^[6]。Kim 等^[7]研究发现 Kim-1 在糖尿病大量白蛋白尿组表达水平明显高于正常白蛋白尿组和微量白蛋白尿组,且 Kim-1 在微量白蛋白尿组亦高于正常白蛋白尿组,差异均有统计学意义,认为尿 Kim-1 可以早期监测 DN 肾小管损伤。田荣华^[8]亦有类似的结论,得出糖尿病肾病组尿 Kim-1 水平明显高于糖尿病无肾损害组和正常对照组,且糖尿病无肾损害组尿 Kim-1 高于正常对照组,认为尿 Kim-1 可以作为 2 型糖尿病肾病患者肾损害早期诊断的生物学标志物。

2. 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白:中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)存在于中性粒细胞过氧化物酶阴性颗粒中,是一种调控肾小管上皮细胞凋亡的蛋白分子,属于脂质运载蛋白家族的一员,相对分子质量为 25kDa,正常情况下在肾组织呈低表达,但在受到有害刺激(如缺血性再灌注损伤)之后,NGAL 在肾小管中的表达就会显著增强。NGAL 作为肾小管损伤标志物,被认为是监测肾损伤敏感而特异的生物学标志物。研究证明,在慢性肾损伤中,血清或血浆 NGAL 是肾小管损伤的一个潜在的生物学标志物^[9]。Nielsen 等^[10]研究表明尿 NGAL 在无白蛋白尿的 1 型糖尿病患者中已经有明显升高,可以作为预测糖尿病患者早期出现肾损伤的一个生物学标志物。Fu 等^[11]证明尿 NGAL 在 2 型糖尿病患者肾损伤中表达水平的升高早于尿白蛋白,认为尿 NGAL 可以更早地监测糖尿病患者出现的肾损伤。这些研究结果

作者单位:210008 南京中医药大学中西医结合鼓楼临床医学院(毛志敏);210009 南京中医药大学第一临床医学院(孟宪杰)

表明,尿 NGAL 水平可以早期监测糖尿病引起的肾小管损伤,对于早期诊断 DN 具有重大的临床价值。

3. IV 型胶原蛋白:IV 型胶原蛋白是基膜的主要结构蛋白,在肾小球、肾小管基膜和系膜基质中广泛表达,由相对分子质量为 180kDa 的 α 链相连接而构成,有 6 种不同基因编码的异构链,即 $\alpha 1 \sim \alpha 6$,其中 $\alpha 1 \sim \alpha 5$ 链是维持基膜通透功能的主要成分,正常情况下尿液中含量甚少,但当出现肾损伤时,尿液 IV 型胶原蛋白水平明显升高,是 DN 早期的一个生物学标志物^[12]。Morita 等^[13]研究证明尿 IV 型胶原蛋白水平与 1 型糖尿病患者肾功能下降程度密切相关,认为尿 IV 型胶原蛋白可以作为评估 DN 病程进展的生物学标志物。Banu 等研究表明尿 IV 型胶原蛋白/尿白蛋白比率可以用于鉴别诊断糖尿病引起的肾损伤与非糖尿病引起的肾损伤。此外,对于 DN 早期出现的肾损伤,尿 IV 型胶原蛋白在尿白蛋白水平升高之前就已经明显升高,能更早的反映 DN 患者出现的肾小球损伤^[14]。因此,尿 IV 型胶原蛋白可以作为 DN 患者早期肾小球损伤的一个潜在的生物学标志物。

二、糖尿病肾病炎症标志物

1. 肿瘤坏死因子 - α : 肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor - α , TNF - α) 是一种具有广泛生物活性的多肽,由血液中活化的单核细胞和组织中活化的巨噬细胞产生,可刺激肾小球系膜细胞产生氧自由基 (ROS),从而使过氧化脂质代谢产物增多,使细胞内膜出现损伤。TNF - α 在巨噬细胞、系膜细胞以及血管内皮细胞中可诱导前列腺素和血小板活化因子,其对于肾脏细胞来说是细胞毒素,可直接诱导肾损伤和破坏肾小球渗透性屏障,最终导致 DN 的出现^[15]。Navarro 等^[16]报道糖尿病患者血清和尿液 TNF - α 水平明显高于无糖尿病患者,尿 TNF - α 排泄率在 2 型糖尿病伴微量白蛋白尿组或大量白蛋白尿组明显高于糖尿病正常白蛋白尿组,得出尿 TNF - α 排泄率与糖尿病肾损伤程度呈正相关,据此,作者认为 TNF - α 作为一个致病因素,是 DN 早期阶段肾损伤的生物学标志物。郭开军等^[15]亦报道, DN 患者血清 TNF - α 水平的升高与尿白蛋白排泄率呈正相关,血清 TNF - α 可以作为监测 2 型糖尿病肾病肾损伤程度及预后的一个生物学标志物。

2. 白细胞介素 - 6: 白介素 6 (Interleukine - 6, IL - 6) 是一个促炎细胞因子,主要由人体中活化的单核细胞产生,其主要的生理功能是调节免疫应答和参与炎症反应,IL - 6 通过调节肾小球系膜细胞的有丝

分裂,促进该细胞增殖并产生和释放前列腺素,从而引起肾小球微血管改变^[15]。Sekizuka 等于 1994 年提出 IL - 6 可能参与 DN 的病理机制过程,其研究发现血清 IL - 6 水平在 2 型糖尿病肾病患者中明显高于 2 型糖尿病无肾病患者。DallaVestra 等^[17]报道血清 IL - 6 在糖尿病大量白蛋白尿组明显高于正常白蛋白尿组和微量白蛋白尿组,在微量白蛋白尿组亦高于正常白蛋白尿组,且研究还发现 2 型糖尿病患者 IL - 6 与肾小球基膜增厚密切相关,据此,作者认为血清 IL - 6 可以作为 DN 患者早期诊断的生物学标志物,可预测 DN 患者肾损伤进展程度。杨浩等^[18]观察在 141 例 2 型糖尿病患者和 54 例正常对照组中血清 IL - 6 水平变化,结果得出在 2 型糖尿病患者中血清 IL - 6 与尿白蛋白排泄率呈正相关,认为血清 IL - 6 水平有助于评估糖尿病患者肾脏损伤程度,对于指导临床诊治以及预后的判断具有重要意义。

三、糖尿病肾病氧化应激标志物

1. 8 - 羟基脱氧鸟苷: 8 - 羟基脱氧鸟苷 (8 - hydroxy - 2' - deoxyguanosine, 8 - OHdG) 作为 DNA 氧化损伤的标志物,是 8 位碳原子氧化后形成的,它可以反映机体的 DNA 氧化损伤程度,但 8 - OHdG 不能由细胞内外的脱氧鸟苷通过非 DNA 氧化途径形成,且尿 8 - OHdG 水平不受饮食影响,故其是目前国际上公认的用于评价机体氧化损伤和机体氧化应激 (oxidative stress, OS) 状态的敏感的生物标志物。高血糖诱发的反应性活性氧 (ROS) 参与糖尿病微血管并发症的发生,包括 DM 最常见的微血管并发症 DN,因此,评价糖尿病患者氧化应激状态对于预测糖尿病微血管并发症有重要意义^[19,20]。张哲梅等^[20]观察 80 例 2 型糖尿病患者和 30 例健康对照者 24h 尿 8 - OHdG 水平,结果得出糖尿病无肾病组、早期糖尿病肾病组和临床糖尿病肾病组 24h 尿 8 - 羟基脱氧鸟苷水平明显高于健康对照组,且尿 8 - OHdG 与尿白蛋白排泄率呈正相关,此外,作者得出尿 8 - OHdG 在尿白蛋白尚未出现升高时已经高于正常,认为尿 8 - OHdG 比尿白蛋白能更早检测糖尿病患者出现的肾损伤。

2. 戊糖素: 高血糖是糖尿病患者一个重要特征,持续高血糖时,葡萄糖与蛋白质、脂肪等发生非酶糖基化反应,生成晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs)。AGEs 在组织中蓄积,产生活性氧,且通过不同的机制参与肾脏损伤。AGEs 主要的分子结构,包括 N - 羧甲基 - 赖氨酸 (N - car-

boxymethyl - lysine) 和戊糖素 (pentosidine) 等。一些研究者已经提出戊糖素在糖尿病患者中是可信赖的氧化应激标志物,也是糖尿病相关并发症的一个标志物,包括糖尿病肾病^[21]。Calabrese 等证明尿液和血浆戊糖素水平在 2 型糖尿病肾病患者中相比于健康对照组有显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Piarulli 等^[22]报道血清戊糖素在糖尿病微量白蛋白尿组明显高于糖尿病正常白蛋白尿组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Kerkeni 等^[23]观察 100 例糖尿病肾病患者、100 例糖尿病视网膜病变患者和 30 例健康对照者血清戊糖素水平,得出血清戊糖素在 DN 组、糖尿病视网膜病变组明显高于正常对照组,据此,作者推断戊糖素可以作为 2 型糖尿病微血管并发症的一个生物学标志物。

综上所述,防治 DN 刻不容缓。然而,DN 起病隐匿,在疾病早期无明显的显性临床特征,这给早期诊断及治疗带来很大困难。目前,尿白蛋白被认为是早期诊断 DN 的金指标。然而,有研究表明,尿白蛋白不是早期诊断 DN 敏感且特异的生物学标志物。因此,探寻新的无创伤的早期诊断 DN 的生物学标志物成为必然。据报道,DN 的发生、发展与氧化应激、炎症以及肾损伤(包括肾小球和肾小管损伤)密切相关,氧化应激、炎症以及肾损伤生物学标志物,如 Kim - 1、TNF - α 、8 - OHdG 等,具有潜在的用于早期诊断 DN 的临床价值,但由于研究样本量较小且多采用横断面设计研究的局限,其研究结论尚不能证明这些生物学标志物优于尿白蛋白而成为早期诊断 DN 的新标准。因此,在以后 DN 相关生物学标志物研究中,需要大样本、前瞻性、多中心试验研究,有利于尽早地探寻出用于早期诊断 DN 理想的生物学标志物。

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
- America Diabetes Association. Standard of medical care in diabetes - 2011 [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(Suppl 1): 11 - 61
- Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. The need for early predictors of diabetic nephropathy risk: is albumin excretion rate sufficient? [J]. *Diabetes*, 2000, 49(9): 1399 - 1408
- Matheson A, Willcox MD, Flanagan J, *et al.* Urinary biomarkers involved in type 2 diabetes: a review [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2010, 26(3): 150 - 171
- Moresco RN, Sangoi MB, De Carvalho JA, *et al.* Diabetic nephropathy: Traditional to proteomic markers [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 421: 17 - 30
- 霍文谦. 肾损伤分子 - 1 与肾小管损伤研究进展 [J]. *重庆医学*, 2010, 39(19): 2665 - 2667
- Kim SS, Song SH, Kimn IJ, *et al.* Clinical implication of urinary tubular markers in the early stage of nephropathy with type 2 diabetic patients [J]. *Diab Res Clin Pract*, 2012, 19: 251 - 257
- 田荣华. 肾损伤分子 - 1 和血清胱抑素 C 在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的意义 [J]. *北方药学*, 2012, 9(8): 57 - 58
- Bolignano D, Donato V, Coppolino G, *et al.* Neutrophil gelatinase - associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage [J]. *Am J Kidney Dis*, 2008, 52(3): 595 - 605
- Nielsen SE, Schjoedt KJ, Astrup AS, *et al.* Neutrophil Gelatinase - Associated Lipocalin (NGAL) and Kidney Injury Molecule 1 (KIM1) in patients with diabetic nephropathy: a cross - sectional study and the effects of lisinopril [J]. *Diabet Med*, 2010, 27(10): 1144 - 1150
- Fu WJ, Xiong SL, Fang YG, *et al.* Urinary tubular biomarkers in short - term type 2 diabetes mellitus patients: a cross - sectional study [J]. *Endocrine*, 2012, 41(1): 82 - 88
- Yagame M, Kim Y, Zhu D, *et al.* Differential distribution of type IV collagen chains in patients with diabetic nephropathy in non - insulin - dependent diabetes mellitus [J]. *Nephron*, 1995, 70(1): 42 - 48
- Morita M, Uchigata Y, Hanai K, *et al.* Association of urinary type IV collagen with GFR decline in young patients with type 1 diabetes [J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58(6): 915 - 920
- Cohen - Bucay A, Viswanathan G. Urinary markers of glomerular injury in diabetic nephropathy [J]. *Int J Nephrol*, 2012, 2012: 146987
- 郭开军, 周贤会, 马韬. C - 反应蛋白与白细胞介素 - 6 和肿瘤坏死因子 - α 在 2 型糖尿病肾病中的变化 [J]. *检验医学与临床*, 2007, 4(7): 586 - 589
- Navarro JF, Mora C, Gomez M, *et al.* Influence of renal involvement on peripheral blood mononuclear cell expression behaviour of tumour necrosis factor - alpha and interleukin - 6 in type 2 diabetic patients [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(3): 919 - 926
- Dalla Vestra M, Mussap M, Gallina P, *et al.* Acute - phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(Suppl 1): 78 - 82
- 杨浩, 姜涛, 宋秀霞. CRP、IL - 6 和 TNF - α 与糖尿病肾病关系研究 [J]. *北京医学*, 2011, 33(4): 289 - 291
- 宿世霞, 邢冬杰. 氧化应激与糖尿病肾病 [J]. *中国实用医药*, 2008, 3(3): 138 - 139
- 张哲梅, 张兴旺, 周淑红, 等. 2 型糖尿病肾病患者 8 - 羟基脱氧鸟苷水平检测的意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(13): 1463 - 1465
- Moresco RN, Sangoi MB, De Carvalho JA, *et al.* Diabetic nephropathy: Traditional to proteomic markers [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 421: 17 - 30
- Piarulli F, Sartore G, Ceriallo A, *et al.* Relationship between glyco - oxidation, anti - oxidant status and microalbuminuria in type 2 diabetic patients [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(7): 1419 - 1425
- Kerkeni M, Saidi A, Bouzidi H, *et al.* Pentosidine as a biomarker for microvascular complications in type 2 diabetic patients [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2013, 10(3): 239 - 245

(收稿日期:2014 - 06 - 03)

(修回日期:2014 - 06 - 16)