

尿 KIM-1 和 NGAL 在糖尿病肾病早期诊断中的应用*

张春雷, 曾学辉, 李忠新, 宋林立, 张书楠, 陈桂冰

(深圳市中医院检验科, 广东深圳 518083)

摘要:目的 探讨肾脏损伤分子-1(KIM-1)和嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质转运蛋白(NGAL)在糖尿病肾病(DN)早期诊断中的应用。方法 选择1型和2型糖尿病患者132例,依据尿蛋白/血肌酐比(ACR)和血清肌酐水平分为正常蛋白尿组(45例)、微量蛋白尿组(36例)、临床蛋白尿组(30例)、肾功能衰竭组(21例),以65例健康体检者为对照组,酶联免疫吸附法(ELISA)测定尿 KIM-1 和 NGAL 含量。结果 随着 DN 的进展,尿 KIM-1/Ucr 和 NGAL/Ucr 水平逐渐增高,且各组间差异有统计学显著性意义($P<0.05$);尿 KIM-1/Ucr 水平与 ACR 呈正相关($r=0.822, P<0.01$),尿 NGAL/Ucr 水平与 ACR 呈正相关($r=0.842, P<0.01$)。结论 尿 KIM-1/Ucr 和 NGAL/Ucr 水平不但可以更早预测 DN 的发生,还可以监测 DN 的进展。

关键词:糖尿病肾病;肾脏损伤分子-1;嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质转运蛋白;生物标记

中图分类号:R587.2;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)01-052-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.01.014

Value of Urinary KIM-1 and NGAL in Predicting the Early Diabetic Nephropathy

ZHANG Chun-lei, ZENG Xue-hui, LI Zhong-xin, SONG Lin-li, ZHANG Shu-nan, CHEN Gui-bing

(Department of Clinical Laboratory,

Shenzhen Traditional Chinese Medicine, Guangdong Shenzhen 518033, China)

Abstract: **Objective** To investigate the value of KIM-1 and NGAL in predicting the early diabetes nephropathy(DN). **Methods** 132 cases of type 1 and type 2 diabetic patients were recruited in this study, patients were divided into four groups based on the urine albumin/creatinine and serum creatinine levels, as follows: normal albuminuria group (45 cases), microalbuminuria group (36 cases), clinical albuminuria group (30 cases), renal failure group (21 cases), 65 healthy subjects were recruited as control group. Urinary KIM-1 and NGAL levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** With the progress of DN, urinary KIM-1 and NGAL levels gradually increased ($P<0.05$), the urinary KIM-1/Ucr level was positively correlated with ACR ($r=0.822, P<0.01$), and the urinary NGAL/Ucr was positively correlated with ACR ($r=0.842, P<0.01$). **Conclusion** The urinary KIM-1 and NGAL level can predict the occurrence of early DN, and also monitor the progression of DN.

Keywords: diabetic nephropathy; KIM-1; NGAL; biomarkers

糖尿病肾病(diabetes nephropathy, DN)是糖尿病(DM)严重的微血管并发症之一,是糖尿病重要的死亡原因,20%~30%糖尿病患者将发生DN^[1]。DN早期无明显症状和体征,因此进行早期诊断较为困难。为探讨糖尿病肾损伤的实验诊断手段,本文通过对肾脏损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)和嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质转运蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)的检测,对其在DN早期诊断中的应用价值进行了探讨,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 对象 选取2012年6月~2013年11月期间,在我院诊治的132例糖尿病患者,年龄29~78岁,符合2007年ADA糖尿病指南制定的诊断标准。排除各种原发性及继发性肝脏、肾脏疾病、急

性肾功能衰竭和肾移植术后患者;依据尿蛋白/血肌酐比(ACR)和血清肌酐水平,将糖尿病确诊患者分为无蛋白尿组45例($ACR<30\text{ mg/g. cr}$)、微量蛋白尿组36例($ACR=30\sim300\text{ mg/g. cr}$)、临床蛋白尿组30例($ACR>300\text{ mg/g. cr}$)和肾功能衰竭组21例($Scr>176.8\text{ mmol/L}$)。同时选取65例健康人为对照组,年龄27~75岁,对照组与各组在性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 标本收集 留取清晨研究对象的新鲜尿液标本,以1000 g离心15 min,置于-80℃冰箱保存集中检测。

1.3 试剂 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测尿 KIM-1 和 NGAL 的浓度,ELISA试剂盒购于美国 R&D 公司,实验步骤严格按试剂盒说明书进行操作,同时用同步尿肌酐(Ucr)校正后表示。

* 基金项目:深圳市科技计划项目(201303086),深圳市卫生系统科研项目(201402076)。

作者简介:张春雷(1974-),男,硕士研究生,副主任医师,主要研究方向为自身免疫性疾病实验室诊断, Tel:13670092808, E-mail:47762746@qq.com。

1.4 其它指标检测 尿肌酐(Ucr)用酶法检测,尿清蛋白(uAlb)采用全自动生化分析仪(Roche-cobas6000,瑞士)检测。

1.5 统计学分析 计量资料以均数±标准差(\bar{x} ±s)表示,非正态分布的资料采用M(1/4~3/4)表示;组间比较采用t检验或秩和检验;相关性用Spearman相关分析。用SPSS 19.0软件包进行统计处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 尿 KIM-1 水平与 DN 进展关系

表 1

尿液 KIM-1/Ucr 在糖尿病各组的检测结果

项 目	对照组 (n=65)	糖尿病组(n=132)				组间比较
		正常清蛋白(n=45)	微量清蛋白(n=36)	临床清蛋白(n=30)	肾功能衰竭(n=21)	
男/女	40/25	29/16	24/12	21/9	15/6	NS
年龄(岁)	58(32~74)	61(35~78)	59(42~79)	62(39~81)	58(45~78)	NS
ACR(mg/g)	4.1(3.1~6.0)	12.2(9.4~19.4)	64.6(37.4~114.6)	543.3(352.3~1 044.5)	1 423(902.34~2 879.3)	$P<0.05$
KIM-1(pg/mg)	0.52±0.25	1.24±0.34	1.87±0.54	3.56±0.85	4.57±0.94	$P<0.05$
NGAL/Ucr(pg/mg)	6.3±1.9	10.5±2.5	16.8±3.9	22.4±4.45	31.6±6.34	$P<0.05$

2.2 尿 NGAL 水平与 DN 进展关系 随着 DN 病程进展,患者尿 NGAL/Ucr 水平逐渐上升,各组尿 NGAL/Ucr 水平见表 1,各组间尿 NGAL/Ucr 水平比较差异有统计学意义(F 值=61.21, $P<0.05$),各组比较正常清蛋白组尿 NGAL/Ucr 水平高于健康组,差异有统计学意义($t=3.032$, $P<0.05$),微量清蛋白尿组 NGAL/Ucr 水平高于正常清蛋白组,差异有统计学意义($t=2.471$, $P<0.05$),临床清蛋白尿组 NGAL/Ucr 水平高于微量清蛋白组,差异有统计学意义($t=2.193$, $P<0.05$),肾功能衰竭组尿 NGAL/Ucr 水平高于临床清蛋白组,差异有统计学意义($t=2.056$, $P<0.05$)。

2.3 尿 KIM-1 和 NGAL 水平与其它指标相关性分析 Pearson 相关性分析显示,尿 KIM-1/Ucr 水平与 ACR 呈正相关($r=0.822$, $P<0.01$)。尿 NGAL/Ucr 水平与 Scr 呈正相关($r=0.842$, $P<0.01$)。

3 讨论 目前,诊断 DN 主要依据肾活检和尿微量清蛋白,肾活检为一项有创性检查,重复肾活检患者较难接受,尿微量清蛋白是一个反应肾小球病变为主的,部分 DM 患者在发生肾功能损害前没有出现清蛋白尿,部分患者出现蛋白尿而没有出现肾功能损害^[2]。因此尿微量清蛋白检测早期糖尿病肾病期出现一些局限性,需要寻找并利用早期损害的标志物来弥补清蛋白尿的不足,以尽早发现和治疗。

KIM-1 是 I 型跨膜糖蛋白,人 KIM-1 编码基因定位于人染色体 5q33,其 cDNA 序列已经被测

定,由 334 个氨基酸残基构成。它可参与组织细胞信号转导、细胞分化、细胞凋亡等。人体多种脏器(肝、脾、肾)中都存在 KIM-1,它在正常肾组织中表达量甚微,但在损伤后,在金属基质蛋白酶(MMP)的作用下,KIM-1 的细胞外域可在跨膜区附近裂解为可溶性片段释放入细胞外并排入尿中,检测尿中的 KIM-1 水平即可反映肾小管损伤的程度。NGAL 又被称为脂质运载蛋白-2,为一种分泌性糖蛋白,NGAL 基因位于常染色体 9q34 上,全长 5 869 bp,NGAL 蛋白由一条多肽链构成,含有 178 个氨基酸残基,分子量为 25 kD。研究发现 NGAL 与肾脏关系密切,其主要表达于近端小管^[3]。在肾脏急、慢性病变过程中,NGAL 因肾小管上皮细胞受到损伤性刺激大量分泌,通过诱导肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡以保护肾组织免受炎症细胞的侵害,同时可诱导肾小管上皮细胞再生修复。

我们前期已建立好 DN 模型,并观察 KIM-1 和 IL-8 在 DN 模型中变化,结果显示 KIM-1 和 IL-8 在 DN 模型均有明显增高^[4,5]。有研究指出尿 KIM-1 在糖尿病各组中均高于健康正常组,但是糖尿病各组间差异无统计学意义^[6,7],另有研究结果显示,尿 KIM-1 在糖尿病微量蛋白尿组与糖尿病大量蛋白尿组中浓度明显高于正常对照组及糖尿病尿蛋白正常组,糖尿病尿蛋白正常组未高于正常对照组,且不随尿蛋白的增加而逐渐升高^[8,9]。本研究结果显示,尿 KIM-1 水平在病理性蛋白尿出现之前就开始升高,是出现于 DN 早期的标志物,KIM-1 随着 DN 的进展而逐步增加,组间差异

有显著意义。KIM-1 是肾小管损伤的敏感指标,长期蛋白尿可引起重吸收蛋白负荷过重以及毒性作用,可造成肾小管损伤,从而促进尿 KIM-1 的表达。

多项研究表明,NGAL 可以作为急性肾损伤早期可靠的诊断指标^[10~12],其正常情况下肾脏组织很少表达,在肾脏急性缺血再灌注后,肾小管上皮细胞产生并分泌一系列与免疫反应相关的物质,其中 NGAL 浓度迅速升高,可能与肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡有关^[13,14]。本研究结果显示,尿 NGAL 水平在病理性蛋白尿出现之前就开始升高,是出现于 DN 早期的标志物,NGAL 随着 DN 的进展而逐步增加,组间差异有显著意义。

综上所述,尿 KIM-1 和 NGAL 作为一种新型肾脏疾病生物标记物,与肾小管损伤有密切联系,在 DN 的早期诊断、监测进展等方面有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] Lysaght MJ. Maintenance dialysis population dynamics: current trends and long-term implications[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13(Suppl 1): S37-40.
- [2] Retnakaran R, Cull CA, Thorne KI, et al. Risk factors for renal dysfunction in type 2 diabetes: U. K. Prospective Diabetes Study 74[J]. Diabetes, 2006, 55(6): 1832-1839.
- [3] Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(10): 2534-2543.
- [4] 张春雷, 吕琪, 张书楠, 等. IL-18 在糖尿病中引起肾损伤的机制探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 573-575.
Zhang CL, Lü Q, Zhang SN, et al. Investigation of interleukin-18 on kidney injury mechanisms[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2011, 32(5): 573-575.
- [5] 孙惠力, 程小燕, 戈娜, 等. 两种糖尿病肾病大鼠模型的对比研究[J]. 中国医药指南, 2010, 8(20): 244-146.
- [6] Sun HL, Cheng XY, Ge N, et al. Study on two different diabetic nephropathy rat model[J]. Guide of China Medicine, 2010, 8(20): 244-146.
- [7] 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.
- [8] 袁朝伟, 杨茂君, 周雪琴, 等. 尿肾损伤分子-1 与血胱蛋白酶抑制剂 C 对早期糖尿病肾病诊断价值对比研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(12): 5323-5325.
- [9] Yuan CW, Yang MJ, Zhou XQ, et al. The value of urinary KIM-1, serum cystatin C in predicting the early diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2013, 7(12): 5323-5325.
- [10] 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.
- [11] Kim SS, Song SH, Kim IJ, et al. Clinical implication of urinary tubular markers in the early stage of nephropathy with type 2 diabetic patients[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 97(2): 251-257.
- [12] Parikh CR, Devarajan P, Zappitelli M, et al. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after pediatric cardiac surgery[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(9): 1737-1747.
- [13] Soni SS, Pophale R, Ronco C. New biomarkers for acute renal injury[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(8): 1257-1263.
- [14] Parikh CR, Coca SG, Thiessen-Philbrook H, et al. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(9): 1748-1757.
- [15] Clerico A, Galli C, Fortunato A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(9): 1505-1517.
- [16] Bagshaw SM, Bellomo R, Devarajan P, et al. Review article: acute kidney injury in critical illness[J]. Can J Anaesth, 2010, 57(11): 985-998.

收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-11-20

(上接 51 页) mechanisms[J]. J Parenter Enteral Nutr, 2013, 37(5 Suppl): 51S-65S.

- [4] Kivrak I, Kivrak S, Harmandar M. Free amino acid profiling in the giant puffball mushroom (*Calvatia gigantea*) using UPLC-MS/MS[J]. Food Chem, 2014 (158): 88-92.
- [5] Batch BC, Hyland K, Svetkey LP. Branch chain amino acids: biomarkers of health and disease[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2014, 17(1): 86-89.
- [6] Kui B, Balla Z, Végh ET, et al. Recent advances in the investigation of pancreatic inflammation induced by

large doses of basic amino acids in rodents[J]. Lab Invest: A Journal of Technical Methods and Pathology, 2014, 94(2): 138-149.

- [7] 何桂珍, 蒋朱明, 罗家骊, 等. 内标准的生理液分析法测定血浆和尿游离氨基酸[J]. 中国医学科学院学报, 1986, 8(5): 382-386.
- [8] He GZ, Jiang ZM, Luo JL, et al. Determination of amino acids in Plasma and urine by physiological fluid analysis and internal standard method[J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 1986, 8(5): 382-386.

收稿日期: 2014-07-11 修回日期: 2014-09-11