

尿 α 1-酸性糖蛋白在早期糖尿病肾病诊断中的应用价值*

谭婷婷,程 莉,魏红霞,张 葵 (南京大学医学院附属鼓楼医院检验科,南京 210008)

摘要:目的 探讨尿 α 1-酸性糖蛋白(AAG)在早期糖尿病肾病(DN)诊断中的应用价值。方法 选取2013年5月~2014年10月南京大学医学院附属鼓楼医院诊治的2型糖尿病(T2DM)患者266例,根据尿微量清蛋白/肌酐(ACR)水平,将患者分为单纯糖尿病组(Non-DN)152例和糖尿病肾病组(DN)114例,其中DN组包括低尿微量清蛋白/肌酐组(LUA)49例,高尿微量清蛋白/肌酐组(HUA)32例和极高尿微量清蛋白/肌酐组(VHUA)33例。选取健康体检者63例为正常对照组(NC),骨折患者66例为应激对照组。测定尿AAG及各项生化指标。结果 DN组尿AAG水平明显高于应激对照组、Non-DN组和NC组,差异具有统计学意义($t=7.951, 7.985$ 和 $8.021, P$ 均 <0.05);随DN病程进展,尿AAG水平从LUA组、HUA组到VHUA组呈依次递增趋势,各组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。尿AAG与血尿酸、血肌酐、C-反应蛋白和ACR均呈正相关($r=0.169, 0.286, 0.373$ 和 $0.606, P$ 均 <0.01)。逐步Logistic回归分析表明尿AAG是DN的独立危险因素($P<0.05$)。结论 尿AAG在早期DN诊断和监测病程进展等方面具有良好的应用前景。

关键词:糖尿病; α 1-酸性糖蛋白;糖尿病肾病

中图分类号:R587.2;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)01-080-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.01.023

Value of Urinary α 1-Acid Glycoprotein in Early Diagnosis of Diabetic Nephropathy

TAN Ting-ting, CHENG Li, WEI Hong-xia, ZHANG Kui

(Department of Medical Laboratory, Drum Tower Hospital Affiliated
to Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical value of urinary α 1-acid glycoprotein (AAG) in the early diagnosis of diabetic nephropathy (DN). **Methods** 266 cases of diabetic patients in Drum Tower Hospital Affiliated to Medical School of Nanjing University from May 2013 to October 2014 were recruited, and patients were divided into four groups based on the urine albumin/creatinine (ACR) levels, as follows: non-diabetic nephropathy group (Non-DN) 152 cases, low urinary albumin/creatinine group (LUA) 49 cases, high urinary albumin/creatinine group (HUA) 32 cases, and very high urinary albumin/creatinine group (VHUA) 33 cases. 63 cases of healthy subjects (NC group) and 66 cases of fracture patients (stress group) were recruited as control group. The urinary AAG and other biochemical indicators were measured for all subjects. **Results** The level of urinary AAG in DN group was significantly higher than that in stress group, Non-DN group and NC group ($t=7.951, 7.985, 8.021, P<0.05$), and gradually increased from LUA, HUA to VHUA group ($P<0.05$). The urinary AAG level was positively correlated with UA, Cr, CRP and ACR ($r=0.169, 0.286, 0.373, 0.606, P<0.01$). Stepwise logistic regression analysis showed that the urinary AAG was the independent risk factor of DN ($P<0.05$). **Conclusion** The level of urinary AAG has good application value in the early diagnosis and monitoring progression of DN.

Keywords: diabetes; α 1-acid glycoprotein; diabetic nephropathy

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病的主要微血管并发症之一,是威胁糖尿病患者生命安全的主要原因之一^[1]。DN早期多无明显肾损伤症状,一旦病程发展进入临床蛋白尿期,肾损伤难以逆转,因此DN控制重点在于早期诊断及防治^[2]。

尿微量清蛋白检测一直被认为是诊断DN的最佳非侵入性指标,但近年来研究表明,尿微量清蛋白检测对DN早期诊断的灵敏性存在争议^[3]。

利用蛋白质组学等研究发现尿 α 1-酸性糖蛋白(α 1-acid glycoprotein, AAG)与DN存在相关性^[4,5],为此我们将在本文探讨尿AAG在DN早期诊断中的应用价值报告如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2013年5月~2014年10月本院诊治的2型糖尿病患者266例,其中男性172例,女性94例,年龄 56.19 ± 12.86 岁。所有糖尿病病例入选均符合2010年ADA指南的糖尿

* 基金项目:南京市科技发展重点项目(ZKX09030)。

作者简介:谭婷婷(1986—),女,硕士,技师,主要从事临床生化检验, E-mail: trxtt@126.com。

通讯作者:张 葵(1961—),女,硕士,主任技师, E-mail: 13505151066@163.com。

病诊断标准:糖化血红蛋白 $\geq 6.5\%$;空腹血糖 ≥ 126 mg/dl(7.0 mmol/L);口服糖耐量试验 2 h 血糖 ≥ 200 mg/dl(11.1 mmol/L)^[6]。其中早期糖尿病肾病病例入选均符合 2009 年肾脏基金会(NFK)和美国食品和药品管理局(FDA)制定的诊断标准:确诊为 2 型糖尿病,病程超过 5 年,有肾脏病理改变,排除其他原因引起的尿蛋白升高,尿微量清蛋白/肌酐(ACR)为 10~29 mg/g 等^[7]。按照 2009 年 NFK 和 FDA 制定的尿清蛋白分级系统^[7],将糖尿病患者分为单纯糖尿病组(Non-DN) 152 例(男性 107/女性 45)和糖尿病肾病组(DN) 114 例(男性 65/女性 49)。其中 DN 组又分为:低尿微量清蛋白/肌酐组(LUA,即早期糖尿病肾病组)49 例(男性 31/女性 18),ACR 为 10~29 mg/g;高尿微量清蛋白/肌酐组(HUA)32 例(男性 16/女性 16),ACR 为 30~300 mg/g;极高尿微量清蛋白/肌酐组(VHUA)33 例(男性 18/女性 15),ACR 为 >300 mg/g。选取健康体检者 63 例为正常对照组(NC),其中男性 42 例,女性 21 例,年龄 45.03 \pm 11.43 岁。选取新入院单纯骨折患者 66 例为应激对照组,其中男性 48 例,女性 18 例,年龄 50.15 \pm 16.32 岁。

病例排除标准:①所有入选糖尿病病例均应排除其他肾脏疾病、肿瘤、怀孕、心脏病、泌尿系统疾病、血液系统疾病、内分泌疾病、肝脏疾病等;②健康对照组和骨折应激对照组还需排除糖尿病及糖

耐量受损等。

1.2 试剂和仪器 尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)试剂由日本协和株式会社提供;葡萄糖(GLU)和尿酸(UA)试剂由宁波美康生物科技有限公司提供;C-反应蛋白(CRP)试剂由四川迈克生物科技有限公司提供;AAG 试剂由上海景源医疗有限公司提供。所有项目均采用 OLYMPUS AU5421 全自动生化分析仪检测。

1.3 方法 所有研究对象均在禁食 12 h 后,次日清晨空腹抽取肘静脉血 4 ml,留取晨尿 10 ml。GLU,BUN,Cr 和 UA 采用酶法检测;CRP 和 AAG 采用免疫比浊法检测。

1.4 统计学分析 应用统计软件 SPSS17.0 进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,相关性分析用 Pearson 相关性分析,用 Binary Logistic 过程进行逐步 Logistic 回归分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组间检测结果比较 见表 1。应激对照组尿 AAG 水平与 Non-DN 组及 NC 组的差异均无统计学意义($t=0.343,0.706,P$ 均 >0.05)。DN 组尿 AAG 明显高于应激对照组、Non-DN 组和 NC 组,差异具有统计学意义($t=7.951,7.985,8.021,P$ 均 <0.05)。

表 1 各组间检测结果比较($\bar{x}\pm s$)				
项 目	NC 组($n=63$)	应激对照组($n=66$)	Non-DN 组($n=152$)	DN 组($n=114$)
GLU(mmol/L)	4.78 \pm 0.36	5.38 \pm 1.51 ^a	7.77 \pm 2.93	8.58 \pm 4.16
BUN(mmol/L)	5.12 \pm 0.99	5.67 \pm 1.70	5.78 \pm 4.86	7.26 \pm 5.91 ^{c,d}
Cr(μ mol/L)	67.90 \pm 15.33	66.6 \pm 16.81	64.58 \pm 16.51	93.52 \pm 104.37 ^{c,d}
UA(μ mol/L)	313.44 \pm 60.18	302.00 \pm 103.51	321.62 \pm 80.75	344.34 \pm 128.79 ^c
ACR(mg/g)	3.58 \pm 1.50	4.55 \pm 2.01	4.90 \pm 2.12 ^b	409.01 \pm 786.22 ^{c,d,e}
CRP(mg/L)	3.51 \pm 4.02	17.81 \pm 24.39 ^a	4.77 \pm 4.09	7.62 \pm 10.12 ^{c,d}
AAG(mg/L)	1.30 \pm 1.33	1.48 \pm 1.50	1.38 \pm 1.91	7.67 \pm 6.21 ^{c,d,e}

注:^a:NC 组与应激对照组比较 $P<0.05$; ^b:NC 组与 Non-DN 组比较 $P<0.05$; ^c:NC 组与 DN 组比较 $P<0.05$; ^d:Non-DN 组与 DN 组比较 $P<0.05$; ^e:应激对照组与 DN 组比较 $P<0.05$ 。

2.2 Non-DN 组与 DN 各组间尿 AAG 水平的比较 LUA 组(3.42 \pm 4.33 mg/L)高于 Non-DN 组(1.38 \pm 1.91 mg/L),差异具有统计学意义($t=4.826,P<0.05$);HUA 组(8.34 \pm 5.10 mg/L)高于 LUA 组,差异具有统计学意义($t=4.498,P<0.05$);VHAU 组(13.33 \pm 4.69 mg/L)高于 HUA 组,差异具有统计学意义($t=4.102,P<0.05$)。

2.3 尿 AAG 与其他指标的相关性分析 经 Pearson 相关性分析,尿 AAG 与 UA,Cr,CRP 和 ACR 均呈正相关($r=0.169,0.286,0.373,0.606$,

P 均 <0.01)。以 ACR 分组为因变量,以 DN 相关危险因素 AAG,UA,Cr 和 CRP 为协变量,用 Binary Logistic 过程进行逐步 Logistic 回归分析(选入标准为: $\alpha=0.05$,剔除标准 $\alpha=0.1$),结果显示只有 AAG 进入逐步回归模型,偏回归系数为 0.404,95%可信区间为 1.34~1.68,优势比 OR 为 1.501, $P<0.05$,表明尿 AAG 是 DN 的独立危险因素。

3 讨论 目前,糖尿病肾病(DN)的早期无创诊断主要依靠尿微量清蛋白检测,但研究表明当尿微量

清蛋白低于 30 mg/g 时,肾小球滤过率已经开始下降,肾损伤的风险也已经增加,这表明尿微量清蛋白检测对 DN 早期诊断的灵敏性存在争议^[3,8]。因此,需要研究更有效的早期肾损伤标志物来作为 DN 早期诊断指标。

α 1-酸性糖蛋白(AAG)是人类血清中含糖量最多,酸性最强的糖蛋白,分子量约为 41~43 kD,主要由肝脏合成。AAG 是一种急性时相反应蛋白,一般情况下处于结合状态,不表现出生物学活性;在炎症等因素的刺激下,其血浆浓度升高^[9]。由于正常情况下尿 AAG 含量很低,所以尿 AAG 检测在临床上所受关注一直较少。本研究中,NC 组、应激对照组和 Non-DN 组间尿 AAG 水平差异均无统计学意义^[10],DN 组尿 AAG 水平明显高于 NC 组、应激对照组和 Non-DN 组,表明尿 AAG 的升高并非由机体应激状态导致;尿 AAG 水平从 LUA 组(即早期糖尿病肾病组)、HUA 组到 VHUA 组呈依次递增趋势,表明尿 AAG 在 DN 早期阶段就开始升高,并随着病程进展而逐步增加,其对 DN 的早期诊断和严重程度分级均具有一定的临床意义。本研究还发现 AAG 与 UA, Cr, CRP 及 ACR 具有很好的正相关性,这与 Jiang 等^[11]的研究成果相一致。同时,应用逐步 Logistic 回归分析得出尿 AAG 是 DN 的独立危险因素,提示定期监测尿 AAG 有助于早期发现 DN。关于 DN 患者尿 AAG 浓度升高的原因目前还不是很明确,可能有以下几种机制:①肾小球滤过率的增加导致 DN 患者尿 AAG 的增加,尿 AAG 与肾小球通透性密切相关;②由于 DN 的进展是一个炎症过程^[12],AAG 作为低炎症标志物,其增加可能与 DN 的炎症反应有关^[13];③已证实肾小球上皮细胞可以分泌 AAG^[14],但 DN 患者的肾小球上皮细胞能否分泌如此大量的 AAG 还未得到证实。目前这几种机制还不确定,关于 DN 患者尿 AAG 增加的原因还有待进一步研究。

综上所述,尿 AAG 与 DN 的发生和发展有着密切联系,其对早期 DN 的诊断具有较好的临床应用价值,对 DN 的严重程度分级也具有较高的临床意义。

参考文献:

[1] Shomali M. Add-on therapies to metformin for type 2 diabetes[J]. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2011,12(1):47-62.

[2] 赵建军,朱武.血清胱抑素 C,同型半胱氨酸及尿微量清蛋白/肌酐比值在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J]. 现代检验医学杂志,2014,29(2):117-120.

Zhao JJ, Zhu W. Application of serum cystatin C, homocysteine the ratio between microalbuminuria and creatinine in the early diagnosis of the diabetic ne-

phrosis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014,29(2):117-120.

[3] Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients an indicator of more advanced glomerular lesions[J]. Diabetes, 2003,52(4):1036-1040.

[4] Sharma K, Lee SH, Han S, et al. Two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis analysis of the urine proteome in human diabetic nephropathy[J]. Proteomics, 2005,5(10):2648-2655.

[5] Varghese SA, Powell TB, Budisavljevic MN, et al. Urine biomarkers predict the cause of glomerular disease[J]. Journal of the American Society of Nephrology, 2007,18(3):913-922.

[6] 美国糖尿病协会,张琳译.2010 年 ADA 糖尿病诊疗指南[J]. 糖尿病天地:临床,2010,4(4):253-263.

ADA, Zhang L, translaed. 2010 ADA diabetes treatment guidelines[J]. Diabetes World: Clinical, 2010,4(4):253-263.

[7] Levey AS, Cattran DA, Friedman A, et al. Proteinuria as a surrogate outcome in CKD: report of a scientific workshop sponsored by the National Kidney Foundation and the US Food and Drug Administration[J]. American Journal of Kidney Diseases, 2009,54(2):205-226.

[8] Sarnak MJ, Levey CAS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease[J]. Hypertension, 2003,42(17):2154-2169.

[9] 张延青.肝癌患者血清淀粉样蛋白 A 和 α 1 酸性糖蛋白检测的意义[J]. 基础医学论坛,2015,19(5):667-668.

Zhang YQ. Significance of liver cancer patients serum amyloid A and α 1-acid glycoprotein detection[J]. The Medical Forum, 2015,19(5):667-668.

[10] 方乐,姜碧霞,黄自坤,等. T2DM 患者尿 α 1 酸性糖蛋白水平变化及与糖尿病肾病的关系[J]. 山东医药,2012,52(27):17-19.

Fang L, Jiang BX, Huang ZK, et al. Urinary α 1 acid glycoprotein levels and its relationship with diabetic nephropathy in T2DM patients[J]. Shandong Medical Journal, 2012,52(27):17-19.

[11] Jiang H, Guan G, Zhang R, et al. Increased urinary excretion of orosomucoid is a risk predictor of diabetic nephropathy[J]. Nephrology (Carlton), 2009,14(3):332-337.

[12] 赵龙,关广聚.糖尿病肾病发病机制研究进展[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(7):554-558.

Zhao L, Guan GJ. Research progress in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Nephrology, 2013,29(7):554-558.

[13] Magid E, Guldager H, Hesse D, et al. Monitoring urinary orosomucoid in acute inflammation: observations on urinary excretion of orosomucoid, albumin, alpha1-microglobulin, and IgG[J]. Clinical Chemistry, 2005,51(11):2052-2058.

[14] Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy[J]. Journal of the American Society of Nephrology, 2008,19(3):433-442.