

## 尿胱抑素 C 在 2 型糖尿病 肾病肾小管损伤早期诊断中的价值\*

马 钧, 金 一, 王煜芳, 许华英, 沙 敏

(南京医科大学附属苏州市立医院本部检验科, 江苏苏州 215002)

**摘要:**目的 探讨尿胱抑素 C(Cys C)在 2 型糖尿病肾病(DN)肾小管损伤早期诊断中的价值。方法 2 型糖尿病(T2DM)确诊病例 72 例,并按 1989 年 Mogensen 提出的方法,根据尿清蛋白排泄率(UAER)分为三组:T2DM 正常清蛋白尿组(UAER<30 mg/24h)26 例,T2DM 微量清蛋白尿组(UAER 30~300 mg/24h)28 例,T2DM 大量清蛋白尿组(UAER>300 mg/24h)18 例,同时测定尿 Cys C, $\alpha$ 1 微球蛋白( $\alpha$ 1MU)和  $\beta$ 2 微球蛋白( $\beta$ 2MU)进行比较。结果 T2DM 组尿 Cys C 为  $0.106 \pm 0.076$  mg/L,明显高于对照组  $0.032 \pm 0.013$  mg/L( $t$  值为 27.8,  $P=0.000$ );T2DM 正常清蛋白尿组与对照组比较,尿 Cys C 与  $\beta$ 2MU,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),而  $\alpha$ 1MU,差异无统计学意义( $P>0.05$ );T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha$ 1MU, $\beta$ 2MU 的相关性分析,尿 Cys C 与  $\alpha$ 1MU 呈现明显的正相关( $r=0.88$ ,  $P=0.000$ ),与  $\beta$ 2MU 也呈明显正相关( $r=0.92$ ,  $P=0.000$ );以 UAER>30 mg/24h 为截点作 T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha$ 1MU, $\beta$ 2MU 的 ROC 曲线,其曲线下分布面积(AUC)分别为 0.911,0.806,0.899,经比较尿 Cys C 与  $\alpha$ 1MU 的  $AUC^{ROC}$  的差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),尿 Cys C 与  $\beta$ 2MU 的  $AUC^{ROC}$  差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 尿 Cys C 的灵敏度和特异度与  $\beta$ 2MU 相当,要优于  $\alpha$ 1MU,且干扰因素少,是一种诊断 DN 早期肾小管损伤的敏感指标。

**关键词:**尿胱抑素 C;糖尿病肾病;肾小管损伤

中图分类号:R587.2;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)06-124-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.06.036

## Diagnosis Value of Urinary Cystatin C in Type 2 Diabetic Nephropathy Renal Tubular Injury

MA Jun, JIN Yi, WANG Yu-fang, XU Hua-ying, SHA Min

(Department of Clinical Laboratory, Suzhou Municipal Hospital Affiliated  
to Nanjing Medical University, Jiangsu Suzhou 215002, China)

**Abstract:** Objective To study the diagnosis value of urinary cystatin C (Cys C) in type 2 diabetic nephropathy (DN) renal tubular injury. Methods 72 cases of type 2 diabetes mellitus (T2DM) were divided into three groups using urinary albumin excretion rate (UAER) according to the method proposed by Mogensen in 1989, T2DM normal albumin urine group (UAER<30 mg/24h) 26 cases, T2DM Microalbuminuria urine group (UAER 30~300 mg/24h) 28 cases, T2DM Macroalbuminuria urine group (UAER>300 mg/24h) 18 cases, urinary Cys C,  $\alpha$ 1MU and  $\beta$ 2MU were compared. Results T2DM urinary Cys C was  $0.106 \pm 0.076$  mg/L, significantly higher than the control group of  $0.032 \pm 0.013$  mg/L ( $t=27.8$ ,  $P=0.000$ ). Urinary Cys C and  $\beta$ 2MU ( $P<0.05$ ) both, while the  $\alpha$ 1MU  $P>0.05$  in T2DM group compared with the control group. Urinary Cys C and  $\alpha$ 1MU showed a significant positive correlation ( $r=0.88$ ,  $P=0.000$ ), and  $\beta$ 2MU also showed a significant positive correlation with Urinary Cys C in T2DM patients correlation analysis ( $r=0.92$ ,  $P=0.000$ ). Using UAER>30 mg/24h as cut-off points made urinary Cys C,  $\alpha$ 1MU,  $\beta$ 2MU ROC curve in T2DM patients, the area under the curve (AUC) were 0.911, 0.806, 0.899 respectively, urinary Cys C and  $\alpha$ 1MU has the statistically significant ( $P<0.05$ ) and no difference between urinary Cys C with  $\beta$ 2MU ( $P>0.05$ ) in  $AUC^{ROC}$ . Conclusion The sensitivity and specificity of urinary Cys C was comparable to  $\beta$ 2MU, which was better than  $\alpha$ 1MU. It is a sensitive indicator of early renal tubular injury in DN.

**Keywords:** urinary cystatin C; diabetic nephropathy; renal tubular injury

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是由 2 型糖尿病(type 2 diabetic mellitus, T2DM)引起的肾脏微血管并发症,是导致慢性肾功能衰竭的主要原因之一。临床上约 15% 的 T2DM 患者最终发展为 DN<sup>[1]</sup>。有效控制 DN 的发病率和疾病的进展,早期诊断、早期治疗可以延缓病情的进展,但依

靠常规的实验项目作出诊断时,肾脏病程已发展到不可逆程度,寻求一个早期诊断指标刻不容缓。长期以来对早期糖尿病的研究多重于肾小球的病变方面,而忽略肾小管病变。随着研究的深入,目前人们认为糖尿病不仅累及肾小球,而且累及肾小管间质结构。更为重要的是,肾功能恶化的程度主要

\* 作者简介:马 钧(1974—),男,本科,副主任技师,研究方向:2 型糖尿病肾病、妊娠期糖尿病等, Tel:18061995028, E-mail: martell\_74@163.com。

与肾小管、间质纤维化程度密切相关,其最终结果取决于肾间质改变的程度<sup>[2]</sup>。所以对肾小管早期损害的标志物检测无疑对早期诊断 DN 有重要意义。尿 Cystatin C(Cys C)作为较新的肾小管标记物,随着方法学的不断完善,已被众多学者认可。本文通过检测尿 Cys C,同时对肾小管常用诊断指标尿  $\alpha_1$  微球蛋白( $\alpha_1$ MU), $\beta_2$  微球蛋白( $\beta_2$ MU)进行比较,探讨尿 Cys C 作为肾小管早期损伤监测指标的价值。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 2015 年 3 月~2016 年 1 月我院内分泌科门诊和住院的 T2DM 患者 72 例(男 34 例,女 38 例),符合 2015 美国糖尿病协会(ADA)发布的诊断及分型标准<sup>[3]</sup>,并按 Mogensen 提出的标准,按尿清蛋白排泄率(UAER)分为三组。T2DM 正常清蛋白尿组(UAER<30 mg/24h)26 例,男性 14 例,女性 12 例,平均年龄  $58.03 \pm 5.66$  岁;T2DM 微量清蛋白尿组(UAER 30~300 mg/24h)28 例,男性 13 例,女性 15 例,平均年龄  $63.05 \pm 6.79$  岁;T2DM 大量清蛋白尿组(UAER>300 mg/24h)18 例,男性 7 例,女性 11 例,平均年龄  $65.14 \pm 8.51$  岁。设对照组 30 例,排除 T2DM、高血压等肾微血管损伤性疾病,男性 15 例,女性 15 例,平均年龄  $49.52 \pm 5.11$  岁,同时测定尿 Cys C, $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 进行比较。

**1.2 试剂和仪器** Cys C 检测试剂盒购自北京九强公司,采用免疫比浊法,仪器为日立 7600-020 全

自动生化分析仪;尿微量清蛋白(UmAlb), $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 检测仪器为西门子 BN-II 全自动特定蛋白分析仪及配套试剂。

**1.3 方法** 测试对象均留取当日 6 时~次日 6 时 24 h 尿液,加入甲苯 15 ml,充分混匀,记录尿量,计算 UAER(UmAlb $\times$ 24 h 尿量);并留取新鲜晨尿 10 ml,1 500 r/min 离心 5 min,取上清液保存于一 80℃ 低温冰箱。成批检测尿 Cys C, $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU,所有检测项目均附带室内质控。

**1.4 统计学分析** 应用 spss13.0 统计软件进行数据处理,所有统计数据均经正态分布验证,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学显著性意义,变量间的相关性采用 Pearson 直线相关分析。

## 2 结果

### 2.1 T2DM 组与对照组尿 Cys C 检测结果

T2DM 组尿 Cys C 水平为  $0.106 \pm 0.076$  mg/L,明显高于对照组( $0.032 \pm 0.013$  mg/L),差异有统计学显著性意义( $t = 27.8, P = 0.000$ )。

**2.2 T2DM 各组及对照组尿 Cys C, $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 检测结果** 见表 1。各组均数两两比较中发现,正常清蛋白尿组与对照组比较,尿 Cys C 与  $\beta_2$ MU 差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ), $\alpha_1$ MU 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。其余各组均数两两比较差异均有统计学显著性意义( $P < 0.01$ )。

表 1 T2DM 各组尿 Cys C, $\beta_2$ MU, $\alpha_1$ MU 检测结果( $\bar{x} \pm s$ ,mg/L)

项 目	正常清蛋白尿组 ( <i>n</i> =26)	微量清蛋白尿组 ( <i>n</i> =28)	大量清蛋白尿组 ( <i>n</i> =18)	对照组 ( <i>n</i> =30)	F 值	P 值
Cys C	$0.053 \pm 0.025$	$0.099 \pm 0.046$	$0.193 \pm 0.087$	$0.032 \pm 0.013$	51.5	0.000
$\beta_2$ MU	$0.164 \pm 0.062$	$0.221 \pm 0.070$	$0.468 \pm 0.243$	$0.117 \pm 0.032$	46.4	0.000
$\alpha_1$ MU	$5.70 \pm 2.19$	$10.44 \pm 4.09$	$16.27 \pm 6.62$	$5.30 \pm 1.69$	39.6	0.000

**2.3 T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 的相关性分析** T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha_1$ MU 呈现明显的正相关( $r = 0.88, P = 0.000$ ),与  $\beta_2$ MU 也呈明显正相关( $r = 0.92, P = 0.000$ )。

**2.4 T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 的受试者工作曲线(ROC)** 以 UAER>30 mg/24 h 为截点作 T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 的 ROC 曲线,见图 1。其曲线下分布面积(AUC)分别为 0.911,0.806,0.899,经计算 *z* 值比较,尿 Cys C 与  $\alpha_1$ MU 的 AUC<sup>ROC</sup> 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),尿 Cys C 与  $\beta_2$ MU 的 AUC<sup>ROC</sup> 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。尿 Cys C, $\alpha_1$ MU 及  $\beta_2$ MU 分别以 0.073,12.45,0.342 mg/L 为 cutoff 值,所得的敏感度和特异度分别为 0.85 和 0.83,0.73 和

0.60,0.82 和 0.83。

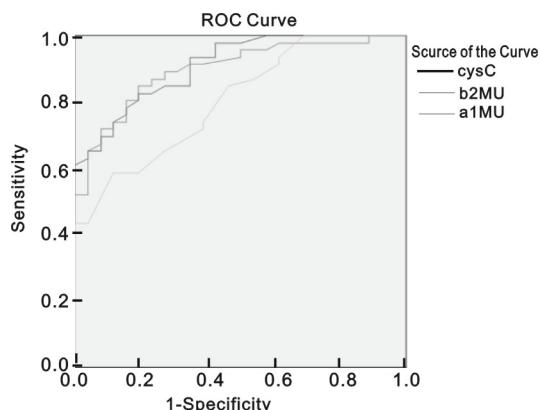


图 1 以 UAER>30 mg/24h 为截点 T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha_1$ MU, $\beta_2$ MU 的 ROC 曲线

3 讨论 DN 是 T2DM 主要慢性并发症之一,以往认为 DN 的病变主要在肾小球,由于高滤过,滤过膜负电荷减少,孔径增大,清蛋白滤出增加,尿中清蛋白含量增加。但近来研究发现 DN 的病变除肾小球外,肾小管病变一样常见,而且在 DN 早期,从肾小球滤出的微量清蛋白可从肾小管重吸收<sup>[4]</sup>,尿清蛋白可不发生改变,故肾小管的早期损伤指标就显得格外重要,如肾小管损伤的常用诊断指标  $\alpha 1$ MU 和  $\beta 2$ MU。 $\beta 2$ MU 主要通过肾脏排泄,分子量相对较小,可自由通过肾小球滤过膜,99%以上在近曲小管重吸收,故尿中含量甚微。当近曲小管受损时, $\beta 2$ MU 重吸收减弱,尿中的含量增高,故  $\beta 2$ MU 是反映肾小管功能的敏感指标。血清中的  $\alpha 1$  微球蛋白主要由肝细胞及淋巴细胞产生,广泛分布于包括血液、尿液、唾液等在内的各种体液中,正常情况下,能自由通过肾小球滤过膜,但大部分被肾近曲小管重吸收,故正常尿液中  $\alpha 1$ MU 含量甚微,当近曲小管受损时,因重吸收下降, $\alpha 1$ MU 含量增高。两者都是诊断 T2DM 肾小管病变的较佳指标<sup>[5]</sup>。在此次试验中也发现 T2DM 患者尿  $\alpha 1$ MU 和  $\beta 2$ MU 明显高于正常人群,与文献报道较为一致。而 Cys C 属于限制性超家族蛋白质,是一种低分子量非糖基化的碱性蛋白质,在组织中产生的速度恒定。由于其分子量小,在生理 pH 环境中带正电荷,因此能够自由通过肾小球滤过膜,并在近曲小管中几乎完全被重吸收和降解,不再重新回到循环中。同时,肾小管也不分泌 Cys C。Cys C 在尿中的浓度很低,是血中浓度的 0.05%~0.1%,当肾近曲小管功能障碍时,尿中 Cys C 浓度增高<sup>[6~8]</sup>。

在本次试验中 T2DM 患者与正常人尿中 Cys C 含量差距显著,具有统计学差异( $P=0.000$ ),提示 T2DM 患者存在肾小管的损伤。在分组比较中,尿 Cys C,  $\alpha 1$ MU,  $\beta 2$ MU 在对照组,正常清蛋白尿组,微量清蛋白尿组及大量清蛋白尿组间均存在明显的差异,均  $P=0.000$ ,3 种物质在不同组间浓度差异明显,提示尿 Cys C,  $\alpha 1$ MU,  $\beta 2$ MU 均可用于 T2DM 肾小管损伤的诊断,随着病情的加重不断升高,都有着较高的敏感度。在各组均数两两比较中发现,尿 Cys C 与  $\beta 2$ MU 在 T2DM 正常清蛋白尿组与对照组均具有统计学意义( $P<0.05$ ),而  $\alpha 1$ MU 差异无统计学意义( $P>0.05$ ),表明尿 Cys C 与  $\beta 2$ MU 在肾脏轻微损伤,尚未发生尿微量清蛋白升高时就已经开始升高,推测 T2DM 患者由于高血糖的毒性作用以及高灌注使肾小管重吸收负担加重,尚未出现肾小球损伤性指标升高时肾小管功能监测指标已升高,而且尿 Cys C 与  $\beta 2$ MU 具

有较  $\alpha 1$ MU 更高的敏感度。

在尿 Cys C 与肾小管损伤的传统指标  $\alpha 1$ MU,  $\beta 2$ MU 相关性研究中, T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha 1$ MU 与  $\beta 2$ MU 都呈现明显正相关,尿 Cys C 与  $\alpha 1$ MU,  $\beta 2$ MU 有较明显的一致性,是诊断 DN 肾小管损伤的优良指标。

以  $UAER>30\text{ mg}/24\text{h}$  为截点作 T2DM 患者尿 Cys C 与  $\alpha 1$ MU,  $\beta 2$ MU 的 ROC 曲线,经比较尿 Cys C,  $\beta 2$ MU 与  $\alpha 1$ MU 的  $AUC^{ROC}$  差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),尿 Cys C 与  $\beta 2$ MU 的  $AUC^{ROC}$  差异无统计学意义( $P>0.05$ ),尿 Cys C,  $\alpha 1$ MU 及  $\beta 2$ MU 虽然都具有较高的灵敏度和特异度,但尿 Cys C 与  $\beta 2$ MU 要优于  $\alpha 1$ MU, 是 T2DM 肾小管早期损伤的敏感指标。

有文献报道,在患者存在微血管病变、肿瘤等疾病时,  $\beta 2$ MU 会假性升高,影响  $\beta 2$ MU 对肾小管病变诊断的准确率,故其特异度不高。而血清中的  $\alpha 1$  微球蛋白是由肝细胞及淋巴细胞产生,一部分与 IgG 和清蛋白结合,一部分以游离的形式存在,只有游离的  $\alpha 1$  微球蛋白才能通过肾小球滤过,所以容易受到 IgG 和清蛋白的影响,造成尿中  $\alpha 1$  微球蛋白含量的波动,对 DN 肾小管损伤的早期诊断产生一定影响。尿 Cys C 由于其代谢特点,受这方面的影响因素较小,所以有着更高的特异度<sup>[5,8]</sup>。

通过本次实验表明尿 Cys C 的灵敏度和特异度同  $\beta 2$ MU 相当,要优于  $\alpha 1$ MU,且干扰因素少,是一种诊断 DN 早期肾小管损伤的敏感指标,可用于 DN 肾小管损伤的进展监测和疗效观察。不过也存在一定的局限性,如临床应用还较少,尿 Cys C 检测的标准化,统一的参考区间的确立等都有待解决,是否能取代  $\alpha 1$ MU,  $\beta 2$ MU 作为 T2DM 肾小管损伤的有效指标,还需做进一步实验研究。

#### 参考文献:

- [1] Raj R, Bhatti JS, Badada SK, et al. Genetic basis of dyslipidemia in disease precipitation of coronary artery disease (CAD) associated type 2 diabetes mellitus (T2DM) [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2015, 31 (7):663-671.
- [2] Tryggstad JB, Willi SM. Complications and comorbidities of T2DM in adolescents: findings from the TODAY clinical trial [J]. Journal of Diabetes and Its Complications, 2015, 29(2):307-312.
- [3] American Diabetes Association. 2 Classification and diagnosis of diabetes [J]. Diabetes Care, 2015, 38 (suppl 1):s8-s16.

程度与外周血中T细胞亚群有一定相关性。

本文研究的EB病毒感染的147例患儿中,肝损害48例,占32.65%;肾损害14例,占9.52%。肝、肾损害的发生率与EB病毒DNA载量有关,并随着DNA载量的升高而升高。结合已有的研究推测可能与Th1/Th2比例失衡及细胞毒性T淋巴细胞过度激活有关。提示高EB病毒DNA载量阳性的患儿,有发生肝肾损害的风险;而低DNA载量时若有肝损害应首先考虑由其他因素造成,这对于疾病的诊断具有指导意义。EB病毒DNA载量随着年龄的升高而降低,差异具有统计学意义,表明随着机体的发育和免疫系统的不断完善,其抵抗外来病原体的能力明显增强。而4~8岁组与9~12岁组相比DNA载量差异无统计学意义,提示一次感染可获得较强免疫力。不同性别对EB病毒的抵抗力不同,男患儿感染EB病毒时其DNA载量比女患儿高,差异具有统计学意义。提示男性儿童对EB病毒的抵抗力更低,病毒复制更活跃,该原因有待进一步研究。与对照组相比,患儿的清蛋白显著下降,这可能与EB病毒相关肝损害和(或)发病后患儿饮食不规律有关;而尿素、肌酐、尿酸与对照组相比差异无统计学意义,可能与肾的代偿有关,侧面反映出 $\beta_2$ -微球蛋白是反映肾功能的灵敏指标。个别患儿尿素、肌酐、 $\beta_2$ -微球蛋白正常,而尿酸轻度升高,可能与高嘌呤饮食有关。

小儿EB病毒感染,症状缺乏特异性,给疾病的诊断带来很大难度。患儿感染EB病毒可引起肝炎,甚至暴发性肝衰竭;也可引起间质性肾炎、IgA肾病、肾病综合征,甚至参与了肾衰竭的进展。临床上应高度重视EB病毒相关性肝肾损害,特别是对病因未知的肝或(和)肾功能异常,诊断时应将EB病毒感染纳入考虑对象,避免漏诊、误诊。

#### 参考文献:

- [1] 李鑫静,曲利娟,郑雄伟,等.慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征[J].世界华人消化杂志,2013,21(23):2325-2330.

Li XJ, Qu LJ, Zheng XW, et al. Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2013, 21(23):2325-2330.

- [2] Ali A, Al-Shraim M, Al-Hakami AM, et al. Epstein-Barr virus: clinical and epidemiological revisits and genetic basis of oncogenesis [J]. The Open Virology Journal, 2015, 9(1):7-28.
- [3] 肖波,毛金娥,陈万新.外周血细胞形态学检查与EBV-DNA定量分析在小儿传染性单核细胞增多症早期诊断中的价值[J].现代检验医学杂志,2016,31(3):114-116,120.
- Xiao B, Mao JE, Chen WX. Value of detecting peripheral blood cell morphology combined with EBV-DNA quantity in the initial diagnosis for infants patients with infectious mononucleosis [J]. J Mod Lab Med, 2016, 31(3):114-116, 120.
- [4] 曲熙波,王永梅.EB病毒感染所致肝损伤105例临床特征分析[J].肝脏,2015,20(5):423-424.
- Qu XB, Wang YM. Clinical analysis of 105 cases of liver damage caused by EB virus [J]. Chinese Hepatology, 2015, 20(5):423-424.
- [5] Becker JL, Miller F, Nuovo GJ, et al. Epstein-Barr virus infection of renal proximal tubule cells; possible role in chronic interstitial nephritis [J]. J Clin Invest, 1999, 104(12):1673-1681.
- [6] 张曙冬,张欧,杨洁,等.儿童EB病毒感染肝损伤与外周血淋巴细胞亚群的相关性[J].世界临床医学,2016,10(10):153.
- Zhang SD, Zhang O, Yang J, et al. Relationship between liver damage and lymphocyte subsets in peripheral blood of children with EB virus infection [J]. The World Clinical Medicine, 2016, 10(10):153.

收稿日期:2016-08-11

修回日期:2016-09-29

(上接126页)

- [4] Rigalleau V, Beauvieux MC, Gonzalez C, et al. Estimation of renal function in patients with diabetes [J]. Diabetes Metab, 2011, 37(5):359-366.
- [5] Jim B, Santos J, Spath F, et al. Biomarkers of diabetic nephropathy, the present and the future [J]. Curr Diabetes Rev, 2012, 8(5):317-328.
- [6] Asefy Z, Mirinejad M, Amirasooli H, et al. Assessing validity of serum cystatin C for predicting metabolic syndrome [J]. Pak J Biol Sci, 2014, 17(4):582-585.

- [7] Huh JH, Choi E, Lim JS, et al. Serum cystatin C levels are associated with asymptomatic peripheral arterial disease in type 2 diabetes mellitus patients without overt nephropathy [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2015, 108(2):258-264.
- [8] Fiseha T. Urinary biomarkers for early diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients [J]. Biomark Res, 2015(3):16.

收稿日期:2016-06-15

修回日期:2016-09-12