

单纯性 2 型糖尿病与糖尿病肾病患者 尿液中 $\alpha 1$ -微球蛋白和激肽原 1 的表达分析*

于菲菲, 庞白冰, 杨 华, 廖国玲 (宁夏医科大学临床医学院, 银川 750004)

摘要:目的 研究尿 $\alpha 1$ -微球蛋白($\alpha 1$ -MG)和尿激肽原 1(KNG1)水平在单纯性 2 型糖尿病与糖尿病肾病患者中的表达变化情况。方法 选取 2016 年 9 月~2017 年 3 月在宁夏医科大学总医院住院的糖尿病肾病患者 34 例作为实验组(DN 组)以及同时期单纯性 2 型糖尿病患者 32 例作为对照组(DM 组),其中,DN 组包括甲组($HbA_{1c} < 10\%$)19 例和乙组($HbA_{1c} \geq 10\%$)15 例。测定尿 $\alpha 1$ -MG 和尿 KNG1 及各项生化指标。结果 与 DM 组相比,尿 $\alpha 1$ -MG 在 DN 组下降($t=9.972, P < 0.01$),尿 KNG1 在 DN 组升高($t=-3.356, P < 0.01$),差异均具有统计学意义;DN 乙组尿 $\alpha 1$ -MG、血清 GLU 水平均高于 DN 甲组($t=-2.092, -3.464$, 均 $P < 0.05$),DN 乙组血清 Cr 水平低于 DN 甲组,差异具有统计学意义($t=2.181, P < 0.05$);此外,在 DN 组,根据 Pearson 相关分析显示,尿 $\alpha 1$ -MG 与 HbA_{1c} ,尿 KNG1 呈正相关($r=0.33$ 和 0.355 , 均 $P < 0.05$),其它未见明显相关。结论 尿 $\alpha 1$ -MG 和 KNG1 的表达在 DN 的发生发展中存在一定的变化规律,可为 DN 的临床诊断提供依据。

关键词:糖尿病肾病; $\alpha 1$ -微球蛋白;激肽原 1

中图分类号:R587;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)05-094-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.05.025

Expression Analysis of $\alpha 1$ -Microglobulin, Kininogen 1 in Urine of Simple Type 2 Diabetes and Diabetic Nephropathy Patients

YU Fei-fei, PANG Bai-bing, YANG Hua, LIAO Guo-ling

(School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

Abstract: Objective To explore the changes of detection of urine $\alpha 1$ -MG and KNG1 in simple type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy patients. **Methods** 66 cases of diabetic patients in General Hospital of Ningxia Medical University from September 2016 to March 2017 were recruited, and the patients were divided into two groups, as follows: the diabetic nephropathy (DN) group 34 cases as experimental group, and the simple type 2 diabetes mellitus (DM) group 32 cases as control group. Than DN group was divided into two groups according to HbA_{1c} , A groups 19 cases HbA_{1c} was less than 10%, B groups 15 cases HbA_{1c} was greater than or equal to 10%. The urine $\alpha 1$ -MG, urine KNG1 and other biochemical indicators were measured for all subjects. **Results** Compared with the DM group, the urine $\alpha 1$ -MG in DN group was significantly lower ($t=9.972, P < 0.01$), but the result of the urine KNG1 was the opposite ($t=-3.356, P < 0.01$). The urine $\alpha 1$ -MG and serum GLU in B group were significantly higher than those of the A group ($t=-2.092, -3.464$, all $P < 0.05$), but the result of the serum Cr was the opposite ($t=2.181, P < 0.05$). The level of urine $\alpha 1$ -MG in DN group were positively correlated with HbA_{1c} and urine KNG1 ($r=0.33, 0.355$, all $P < 0.05$). **Conclusion** There were some changes in the expression of urine $\alpha 1$ -MG and KNG1 in the occurrence and development of diabetic nephropathy, which provide the basis for the clinical diagnosis of diabetic nephropathy.

Keywords: diabetic nephropathy; $\alpha 1$ -microglobulin; kininogen-1

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病患者最常见的微血管并发症之一^[1],也是导致终末期肾衰的主要原因,据统计,糖尿病终末期肾病患者的 5 年生存率不到百分之二十^[2]。由于 DN 患者早期的临床表现不显著,且缺乏特异性的诊断指标,极易漏诊而使病程进入不可逆阶段。目

前公认的诊断 DN 的尿蛋白指标是尿微量清蛋白,但其灵敏度和特异性仍不够理想^[3,4]。相关研究发现,尿 $\alpha 1$ -微球蛋白($\alpha 1$ -microglobulin, $\alpha 1$ -MG)^[5]和尿激肽原 1(kininogen-1, KNG1)^[6]可以反映患者肾功能的损害。本研究通过分析尿 $\alpha 1$ -MG 和尿 KNG1 在单纯性 2 型糖尿病和 DN 中的表达,为临

* 基金项目:宁夏医科大学临床医学一流学科建设项目(First-class discipline construction of clinical medicine of Ningxia Medical University);2017 年宁夏“研究生教育创新计划”学位点建设项目[The plan of postgraduate Education Innovation, Discipline Construction project of Ningxia, China(2017)(YXW 2017014)];宁夏高等学校科学研究重点项目(NGY2013058)。

作者简介:于菲菲(1990—),女,硕士研究生,研究方向:临床检验诊断学,E-mail:m15769591302@163.com。

通讯作者:廖国玲(1967—),女,教授,硕士研究生导师,E-mail:guolingliao@163.com。

床寻找新的生物标记物提供相关实验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 一般资料:选取2016年9月~2017年3月在宁夏医科大学总院住院的DN患者34例作为实验组(DN组),其中男性19例,女性15例,年龄40~70岁,平均年龄 55.41 ± 8.26 岁。同时选取同期在该院进行治疗的单纯性2型糖尿病患者32例作为对照组(DM组),其中男性17例,女性15例,年龄40~70岁,平均年龄 58.63 ± 8.52 岁。上述两组研究对象年龄、性别等资料比较差异无统计学意义。

1.1.2 纳入标准和排除标准:

1.1.2.1 DM组,纳入标准:①符合2010年ADA糖尿病标准;②40岁 \leq 年龄 \leq 70岁。排除标准:①妊娠;②并发症;③泌尿系感染;④癌症。

1.1.2.2 DN组,纳入标准:①2型糖尿病史;②肾小球滤过率(GFR)低于60 ml/min/1.73 m²或尿清蛋白/肌酐比值(ACR)高于30 mg/mmol持续超过3个月;③40岁 \leq 年龄 \leq 70岁。排除标准:①妊娠;②由于肝脏、肾脏及其他全身疾病或应用影响肾功能药物引起蛋白尿者;③泌尿系感染;④癌症。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 尿 α 1-MG和尿KNG1检测:选用武汉基因美公司的尿 α 1-MG和尿KNG1 ELISA试剂盒,批内变异 $<9\%$,批间变异 $<15\%$,操作遵循试剂盒说明书。

1.2.2 血清肌酐(Cr)、血糖(GLU)的检测使用全自动生化分析仪检测(型号SIEMENS ADVIA2400),试剂由北京利得曼生化股份有限公司提供;糖化血红蛋白(HbA1c)的检测使用高效液相色谱仪(型号HLC-723G8)检测,高效液相色谱分析所用试剂均为色谱纯,由日本东曹株式会社提供;以上项目均在宁夏医科大学总医院医学实验中心完成。

1.3 方法 收集患者的清洁中段晨尿10 ml,2000 r/min离心20 min,收集上清,放在 -80°C 备用,所有的尿标本需在留取4 h内进行处理。采集患者空腹静脉血3 ml,3000 r/min离心10 min,分离血清后2 h内完成检测。尿 α 1-MG和尿KNG1检测使用ELISA检测法;血清肌酐(Cr)、血糖(GLU)的检测采用酶法;糖化血红蛋白(HbA1c)的检测采用高效液相色谱分析法。

1.4 统计学分析 用SPSS20.0软件进行处理。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,相关性用Pearson积差相关

系数分析,均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DM组和DN组患者尿 α 1-MG和KNG1检测结果 见表1。采用两独立样本 t 检验的统计学方法对DM组和DN组尿 α 1-MG、尿KNG1的实验数据进行分析。DN组患者尿KNG1水平明显高于DM组,DN组患者尿 α 1-MG水平明显低于DM组,差异均有统计学意义($t=9.972, -3.356; P < 0.01$)。

表1 DM组和DN组患者尿 α 1-MG和KNG1检测结果($\bar{x} \pm s$)

项目($\mu\text{g/L}$)	DM组(32例)	DN组(34例)	t 值	P 值
α 1-MG	0.166 ± 0.018	0.125 ± 0.014	9.972	0.00
KNG1	1.722 ± 0.165	1.867 ± 0.174	-3.356	0.000 4

2.2 DN甲组与乙组患者尿 α 1-MG、尿KNG1、血GLU、血Cr检测结果 在糖尿病肾病组(DN)中,根据HbA1c测定结果,将DN组分为两组,甲组HbA1c $<10\%$,乙组HbA1c $\geq 10\%$,对甲组和乙组患者尿 α 1-MG、尿KNG1、血GLU和血Cr检测结果采用两独立样本 t 检验的统计学方法进行分析,结果见表2。DN甲组患者尿 α 1-MG和血GLU水平低于乙组,血Cr水平高于乙组,差异有统计学意义($P < 0.05$);尿KNG1水平在甲乙两组中未见显著变化。

表2 DN甲组与乙组尿 α 1-MG、尿KNG1、血GLU和血Cr水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	甲组(19例)	乙组(15例)	t 值	P 值
α 1-MG($\mu\text{g/L}$)	0.120 ± 0.013	0.131 ± 0.017	-2.092	0.04
KNG1($\mu\text{g/L}$)	1.883 ± 0.207	1.883 ± 0.178	-0.686	0.497
GLU(mmol/L)	8.670 ± 2.873	12.760 ± 4.315	-3.464	0.01
Cr($\mu\text{mol/L}$)	164.13 ± 207.212	61.44 ± 32.282	2.181	0.041

2.3 DN组患者尿 α 1-MG、尿KNG1与血清HbA1c, GLU, Cr的相关性分析 见表3。

表3 DN组尿 α 1-MG, KNG1与HbA1c, 血清GLU, 血清Cr的相关性分析

项目	α 1-MG		KNG1	
	r	P	r	P
HbA1c	0.330	0.021	0.148	0.404
GLU	0.228	0.078	0.066	0.713
Cr	-0.250	0.190	-0.112	0.564
α 1-MG	—	—	0.335	0.020
KNG1	0.355	0.020	—	—

采用Pearson相关分析法对DN组尿 α 1-MG、尿KNG1分别与HbA1c、血清GLU和Cr的相关性进行了分析。结果表明,尿 α 1-MG与HbA1c呈

正相关($r=0.33$, $P=0.021$),与血清 GLU 和 Cr 无相关性;尿 KNG1 与 HbA1c、血清 GLU 和 Cr 均未见明显相关;尿 $\alpha 1$ -MG 与尿 KNG1 呈正相关($r=0.355$, $P=0.02$)。

3 讨论 近年来,随着糖尿病发病率在全球范围内的逐年增加,DN 的诊断与治疗也成为研究的热点。但是关于 DN 的发病机制还尚未完全明确,普遍的观点是糖尿病患者持续的高血糖导致肾脏病变^[7]。目前被广泛认可的 DN 的实验室诊断标准是持续性微量清蛋白(m-ALb)尿^[8],微量清蛋白(m-ALb)是由肝脏分泌的一种中分子蛋白质,分子量 69kD,分子半径 4.0 nm,正常情况下,绝大部分不能通过滤过膜,其少量滤过的 m-ALb 99%在近曲肾小管被完全重吸收,故健康人尿中几乎不含 m-ALb^[9,10],当肾小球滤过膜受到损害时,尿中 m-ALb 的含量会增高^[11]。但 2 型糖尿病患者大年龄较大,常伴有高血压、冠心病等,然而这些疾病也可引起 m-ALB,因而依靠监测 m-ALb 并不能及时准确地对 DN 做出诊断,因此,DN 的临床诊断迫切需要寻找新的特异性标志物。

$\alpha 1$ -微球蛋白($\alpha 1$ -microglobulin, $\alpha 1$ -MG)属于 Lipocalin 家族的成员^[12], $\alpha 1$ -MG 为肝细胞和淋巴细胞产生的糖蛋白,等电点(PI)为 4.3~4.8,分子量为 26~33kD^[13],其测定不受尿 pH 等因素的影响。 $\alpha 1$ -MG 广泛存在于体内各种组织中,除了中枢神经系统以外,包括血液系统在内的其他组织均存在这类蛋白,该蛋白的产生较恒定,较易透过肾小球滤过膜,原尿中的绝大部分被肾小管重吸收降解^[14]。本研究结果中,尿 $\alpha 1$ -MG 含量在 DM 组稍增加,在 DN 组含量却降低,其原因可能是,糖尿病患者长期处于持续的高血糖状态,导致肾小球毛细血管张力变大,引起肾脏血流量增加,肾小球滤过率增高,因此,尿中的 $\alpha 1$ -MG 含量增高。随着肾损害的进一步发生发展,肾脏血流量减少,肾小球滤过率降低,尿 $\alpha 1$ -MG 含量反而减少。此外,HbA1c 能反映糖尿病患者近 8~12 周的平均血糖水平,本研究结果发现尿 $\alpha 1$ -MG 与 HbA1c 呈正相关,表明 DN 患者尿中 $\alpha 1$ -MG 的表达水平与患者的血糖控制情况有关,当 HbA1c 升高时,DN 患者尿液中的 $\alpha 1$ -MG 含量也升高。

激肽原 1(Kininogen-1, KNG1)是一种高分子量的激肽原,分子量为 88~120kD,主要由肝脏产生,是激肽释放酶-激肽系统(KKS)的激肽前体^[15,16]。KNG1 是参与调节血压、肾功能、心功能及炎症等生理和病理的重要因子^[17],同时 KNG1 在凝血途径过程中也具有调控作用^[18]。由于 KNG1 的分子量较大,几乎不会通过肾小球滤过

膜,所以健康人尿液中不会有 KNG1 出现。因此,当尿液中出现 KNG1 时,表明肾小球已经受损,此外,实验结果表明 DN 患者尿液中的 KNG1 与 HbA1c、血清 GLU 和 Cr 无相关性,进一步说明尿液中 KNG1 的水平可能仅与肾小球受损程度有关,不受其他生化因子的影响。

综上所述,DN 患者尿液中的 $\alpha 1$ -MG, KNG1 的表达在 DN 的发生发展过程中存在一定的变化规律,且尿 $\alpha 1$ -MG 的表达水平与患者的血糖控制情况有关,但尿 $\alpha 1$ -MG, KNG1 是否能作为 DN 诊断和治疗监测的标志物,还需进一步的研究。

参考文献:

- [1] Bloomgarden ZT. Diabetes; East meets West. the joint American Association of Clinical Endocrinologists-Chinese Society of Endocrinology(AACE-CSE) Symposium[J]. Journal of Diabetes, 2012, 4(3): 221-226.
- [2] 黄俊,王永红,马华兰.血清胱抑素 C, $\beta 2$ 微球蛋白、尿微量白蛋白联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的临床价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(1): 54-56.
Huang J, Wang YH, Ma HL. The clinical value of combined detection of serum cystatin C, $\beta 2$ -microglobulin and urinary albumin in the early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2017, 27(1): 54-56.
- [3] Susztak K, Böttinger EP. Diabetic nephropathy: a frontier for personalized medicine[J]. Journal of the American Society of Nephrology: JASN, 2006, 17(2): 361-367.
- [4] 谭婷婷,程莉,魏红霞,等.尿 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白在早期糖尿病肾病诊断中的应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(1): 80-82.
Tan TT, Cheng L, Wei HX, et al. Value of urinary $\alpha 1$ -acid glycoprotein in early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(1): 80-82.
- [5] 向代军,张洪瑞,白洁,等.尿 $\alpha 1$ 微球蛋白和 $\beta 2$ 微球蛋白对 2~4 期慢性肾病患者的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(8): 1011-1012, 1015.
Xiang DJ, Zhang HR, Bai J, et al. Value of urine $\alpha 1$ -microglobulin and $\beta 2$ -microglobulin for the diagnosis of stage 2~4 chronic kidney disease[J]. Laboratory Medicine & Clinic, 2014, 11(8): 1011-1012, 1015.
- [6] Vitova L, Tuma Z, Moravec J, et al. Early urinary biomarkers of diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus show involvement of kallikrein-kinin system[J]. BMC Nephrology, 2017, 18(1): 112.
- [7] 朱伟,沈惠风.糖尿病肾病发病机制的研究进展[J]. 中国医师进修杂志, 2012, 35(10): 68-70.
Zhu Y, Shen HF. Update on the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. (下转 99 页)

- Chinese Journal of Postgraduates of Medicine, 2012, 35(10): 68-70.
- [8] Currie G, McKay G, Delles C. Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future[J]. World Journal of Diabetes, 2014, 5(6): 763-776.
- [9] 朱海兵. 尿微量白蛋白、胱抑素 C、 β_2 微球蛋白和尿微量白蛋白/肌酐比值检测在 2 型糖尿病早期肾损害诊断的临床意义[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(1): 84-86.
- Zhu HB. The clinical significance of urine microalbumin, cystatin C, β_2 -microglobulin and urine microalbumin /creatinine ratio detection early renal damage in type 2 diabetes diagnosis[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2016, 34(1): 84-86.
- [10] 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 nephrosis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(2): 117-120.
- [11] 姚碧婉. 多项生化检测指标对糖尿病肾病的早期诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(14): 1873-1874, 1877.
- Yao BW. Values of multiple biochemical indexes in diagnosis of early diabetic nephropathy[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(14): 1873-1874, 1877.
- [12] Akerstr MB, Lögberg L, Berggard T, et al. Alpha (1)-Microglobulin: a yellow-brown lipocalin[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2000, 1482(1/2): 172-184.
- [13] Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids [J]. Clinical Nephrology, 1992, 38(Suppl 1): S20-27.
- [14] 魏雁虹, 杨广民. α_1 微球蛋白的生物学特性及临床应用研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(17): 2111-2113.
- Wei YH, Yang GM. α_1 -Microglobulin biological characteristics and clinical application research progress [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2012, 33(17): 2111-2113.
- [15] Pompach P, Ashline DJ, Brnakova Z, et al. Protein and site specificity of fucosylation in liver-secreted glycoproteins[J]. Journal of Proteome Research, 2014, 13(12): 5561-5569.
- [16] Sharma JN, Narayanan P. The kallikrein-kinin pathways in hypertension and diabetes [J]. Prog Drug Res, 2014(69): 15-36.
- [17] Gonzalez Calero L, Martin-Lorenzo M, Ramos-Baron A, et al. Urinary kininogen-1 and retinol binding protein-4 respond to acute kidney injury: predictors of patient prognosis[J]. Sci Rep, 2016(6): 19667.
- [18] Katorl M, Majima M. A missing link between a high salt intake and blood pressure increase[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2006, 100(5): 370-390.

收稿日期: 2017-06-04

修回日期: 2017-07-31