

血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea 联合检测 对早期糖尿病肾病诊断价值的研究*

苏 洋, 梅秋雁 (昆明医科大学第一附属医院检验科, 昆明 650032)

摘要:目的 探讨血浆中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys C)和尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶与肌酐的比值(NAG/Crea)联合检测对早期糖尿病肾病的诊断价值。方法 收集 2016 年 12 月~2017 年 2 月于昆明医科大学第一附属医院住院治疗的 67 例 2 型糖尿病患者,根据尿微量清蛋白与肌酐比(UALB/Crea)的值分为两组:糖尿病尿微量清蛋白正常组(UALB/Crea<30mg/gCrea)35 例与早期糖尿病肾病组(即微量清蛋白尿组,UALB/Crea 30~300mg/gCrea)32 例,另选择 20 例同期体检正常志愿者作为对照组,收集所有入组人员的临床资料,采用全自动生化分析仪检测其血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea,并采用受试者工作特征(ROC)曲线对各检测指标进行分析。结果 ①早期糖尿病肾病患者血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea 明显高于对照组,差异有统计学意义($Z=-5.740 \sim -5.386, P<0.05$);②患者血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea 的 ROC 曲线下面积较其他指标有明显优势,分别为 0.858, 0.911 和 0.714。结论 联合检测血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea 对于临床糖尿病肾病的早期诊断有较高价值。

关键词:中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C;尿微量清蛋白与肌酐比;尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶与肌酐比;早期糖尿病肾病

中图分类号:R587.2;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)01-099-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.01.024

Study on Combined Determination Plasma NGAL, Cys C and Urinary NAG/Crea for the Diagnosis of Early Diabetic Nephropathy

SU Yang, MEI Qiu-yan (Department of Clinical Laboratory,
the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

Abstract: Objective To investigate the value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), cystatin C (Cys C) and the ratio of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase to creatinine (NAG/Crea) combined determination in the diagnosis of early diabetic nephropathy. **Methods** Collected 67 cases of patients with type 2 diabetes hospitalized in the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from December 2016 to February 2017. According to the value of UALB/Crea was divided into two groups: Diabetic urinary microalbumin normal group (UALB/Crea<30 mg/gCrea) had 35 patients and early diabetic nephropathy group (namely the trace albuminuria group, UALB/Crea 30~300 mg/gCrea) had 32 patients. Other selected 20 normal volunteers as control group, compared with a medical group to gather all the staff of the clinical data, using automatic biochemical analyzer detected the plasma NGAL, Cys C and urine NAG/Crea, and adopted the receiver-operating characteristic (ROC) curve of the detection index was analyzed. **Results** ①Plasma NGAL, Cys C and urinary NAG/Crea of diabetic nephropathy patients was significantly higher than those of healthy control group ($Z=-5.740 \sim -5.386, P<0.05$). ②The area under receiver operating characteristic (ROC) curve of plasma NGAL, Cys C and urine NAG/Crea were 0.858, 0.911 and 0.714. **Conclusion** Plasma NGAL, Cys C and urinary NAG/Crea combined determination have a higher value for early diagnosis of diabetic nephropathy.

Keywords: neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL); cystatin C(CysC); the ratio of urinary microalbumin to creatinine(UALB/Crea); the ratio of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase to creatinine(NAG/Crea); early diabetic nephropathy

糖尿病在全球的发病率与日剧增,严重影响患者的生活及生存质量。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最严重的微血管并发症之一,约有 6.5%~42%的糖尿病患者可并发肾脏疾病,我国糖尿病患者约占总人口数的 2.6%~9.7%,据世界卫生组织(WHO)的报告,亚洲地区

的糖尿病患者具有早发和易并发糖尿病肾病的特点^[1]。糖尿病肾病的危害程度极大,是导致糖尿病患者发生心脑血管动脉粥样硬化甚至死亡的主要原因,因此早期诊断和及早治疗至关重要。近年来许多研究都指出血浆中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipoca-

* 基金项目:云南省卫生系统领军人才项目(L-201202)。

作者简介:苏 洋(1988-),女,本科,检验师,主要从事临床化学检验工作, E-mail:393381385@qq.com。

通讯作者:梅秋雁(1987-), E-mail:494897341@qq.com。

lin, NGAL)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cystatin C, Cys C)和尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶与尿肌酐的比值(NAG/Crea)均可作为早期肾损伤的敏感指标。本研究通过分析以上3个指标及3个指标之间的关系,评价它们在早期糖尿病肾病诊断中的价值,为临床诊断早期糖尿病肾病和干预早期糖尿病肾病进展提供更有力的依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选取2016年12月~2017年2月在昆明医科大学第一附属医院住院,符合1999

年世界卫生组织(WHO)糖尿病诊断和分型标准的2型糖尿病(T2DM)患者67例,根据糖尿病肾病 Mogensen 分期,将糖尿病组分为两组:糖尿病尿微量清蛋白正常组(UALB/Crea < 30 mg/gCrea)35例和糖尿病早期肾病组(UALB/Crea 30~300 mg/gCrea)32例。正常对照组20例,均为同期昆明医科大学第一附属医院健康体检人群。所有研究对象均为汉族,并排除溶血、黄疸、脂血标本,一般资料见表1。

表1 各组研究对象一般资料指标比较($\bar{x} \pm s$)

项目	正常对照组	尿微量清蛋白正常组	糖尿病早期肾病组	F	P
年龄(岁)	55.15±7.91	59.09±12.44	61.35±11.95	1.103	0.236
收缩压(mmHg)	123.56±16.89	135.48±14.27	139.64±17.56	7.337	0.013
舒张压(mmHg)	76.28±11.23	79.63±9.58	82.76±8.91	1.241	0.294
空腹血糖(mmol/L)	4.42±0.38	7.95±3.39	8.45±3.49	88.201	0.000
HbA1c(%)	5.21±1.02	9.07±2.30	10.19±1.72	75.614	0.000
三酰甘油(mmol/L)	1.13±0.43	1.39±0.45	1.26±0.49	0.569	0.583
总胆固醇(mmol/L)	4.23±0.6	74.11±0.81	4.15±0.62	0.713	0.429

1.2 试剂和仪器 NGAL测定(粒子增强免疫比浊法)试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供;肌酐测定(酶法)试剂由日本积水公司提供;UALB测定(免疫散射比浊法)试剂由芬兰 Orion 诊断公司提供;NAG测定(比色法)试剂由金斯尔北京九强生物技术有限公司提供;以上项目的测定仪器均为 OLYMPUS AU5400 全自动生化分析仪。Cys C测定(免疫比浊法)试剂由日本积水公司提供,其测定仪器为罗氏 Cobas8000 全自动生化分析仪。

1.3 方法

1.3.1 全部受试者前两天忌食油腻食品,前一天不喝茶及咖啡,20:00后开始禁食,次日清晨空腹采集静脉血,检测空腹血浆 NGAL, Cys C, Crea; 留取清晨晨尿检测 UALB, Crea, NAG。

1.3.2 计算公式:GFR采用适合中国人群的肾脏

病膳食改良试验(the Modification of diet in renal disease equation, MDRD)公式计算, $GFR (ml/min/1.73m^2) = 186 \times Scr^{-1.154} (mg/dl) \times 年龄^{-0.203} \times 0.742 (女性) \times 1.233 (中国人)$ 。

1.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析。数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验判断资料是否为正态分布。对于正态分布资料,多组间差异比较采用 F 检验;对于非正态分布资料,多组间差异比较采用 Mann-Whitney U 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析实验参数的诊断价值。

2 结果

2.1 两组 T2DM 患者及 NC 组各项指标的比较 见表2。

表2 NC组及两组T2DM患者各项指标比较

项目	正常对照组(n=20)	尿微量清蛋白正常组(n=35)	糖尿病早期肾病组(n=32)	Z值	P值
UALB/Crea(mg/gCrea)	12.95±5.85	15.07±5.11	88.84±54.14	-4.039	0.000
NAG/Crea(U/gCrea)	8.36±3.17	29.05±14.97	35.65±23.23	2.134	0.125
NGAL(μg/L)	113.06±26.10	146.84±54.76	202.43±53.31	-3.886	0.006
CysC(mg/L)	0.63±0.14	0.97±0.35	1.63±0.54	-4.922	0.000
GFR(ml/min/1.73 m ²)	122.82±29.22	116.10±29.50	88.06±14.20	1.572	0.184

尿微量清蛋白正常组尿 UALB/Crea, NAG/Crea, 血浆 NGAL, CysC 水平与正常对照组比较

差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 两组之间 GFR 差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。糖尿病早

期肾病组各项指标与正常对照组比较,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),尿 UALB/Crea, 血浆 NGAL, CysC, GFR 水平与尿微量清蛋白正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),尿 NAG/Crea 水平与尿微量清蛋白正常组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea 的 ROC 曲线 以 UALB/Crea 为 30 mg/g 作为临界值,绘制 ROC 曲线,见图 1。血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea ROC 曲线下面积与其他指标相比有明显优势,分别为 0.858, 0.911 和 0.714, 血浆 Cys C 曲线下面积最大,提示其在糖尿病早期肾病的诊断敏感度和特异度最高,其次为血浆 NGAL。

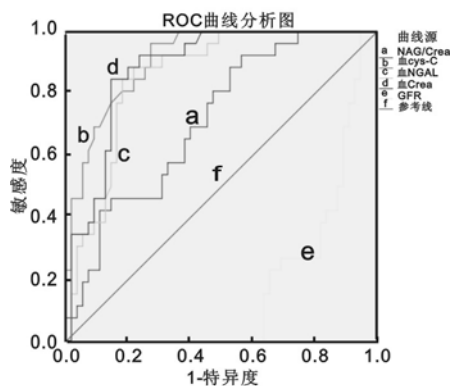


图1 尿 NAG/Crea, 血 CysC, NGAL, 血 Crea 和 GFR 的 ROC 曲线分析

3 讨论 糖尿病的病因及发病机制复杂,目前我国糖尿病发病率呈急剧上升趋势。肾脏是糖尿病最易受累的靶器官之一。在高血糖的长期作用下,肾脏微血管病变,血流动力学紊乱;肾小球毛细血管基底膜增厚,通透性下降,有效滤过面积减少,长期处于高滤过、高灌注状态,最终肾小球硬化。有学者研究还发现,糖尿病中肾小管上皮细胞持续暴露在代谢异常及血流动力学紊乱的损伤因素下,首先导致肾小管上皮细胞炎症反应,因此肾小管间质损伤比肾小球损伤出现早,并且其损伤严重程度对于反映糖尿病肾病预后具有较好的指导意义^[2]。肾脏损伤后,患者感染机会增加,肾外器官损害及慢性肾损伤进展等病理损伤的概率上升^[3]。目前认为糖尿病肾病早期肾脏病理改变大多可逆,若适时进行早期诊断及治疗,可有效防止、延缓甚至逆转糖尿病肾病的发展,改善患者的生存质量。

NGAL 是载脂蛋白家族的新成员,相对分子质量为 25 000,最初在人类中性粒细胞中发现,共价结合于中性粒细胞中,二聚体结构是中性粒细胞分泌的主要形式,单体结构则由受损的肾小管上皮细胞分泌^[4,5]。有研究还发现糖尿病患者的 NGAL 可能作为一种防御机制缓解肾小管的损伤^[6,7]。从本研究亦可以发现, T2DM 患者血浆

NGAL 水平明显比正常对照组高,在尿微量清蛋白正常组即可升高,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),血浆中的 NGAL 可预测慢性肾损伤急性变并与其呈正相关^[8]。

Cys C 是一种非糖基化的碱性蛋白,也是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,广泛存在于各种有核细胞中,生成速度稳定,且不受溶血、三酰甘油、炎症等因素影响,已被公认为是反映肾脏功能的敏感指标^[9,10]。有研究显示,当肾脏出现轻微损伤时,血 Cys C 水平即可升高,并随病情进展逐渐升高^[11,12]。本研究中发现,早期糖尿病肾病组血浆 Cys C 水平明显增高,与正常对照组血浆 Cys C 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。血浆 Cys C 在 ROC 曲线下面积最大,因此推断血浆 Cys C 用于监测早期糖尿病肾病最有效。

NAG 是一种重要的细胞内溶酶体酶,在近曲小管上皮细胞中含量较高。NAG 相对分子质量较大(130 000~140 000),不能从肾小球滤过,在尿中相对稳定。糖尿病肾病早期患者近曲小管上皮细胞受损时,尿 NAG 含量显著上升,且出现时间早, NAG 是反映肾小管损伤的敏感指标^[13,14]。本研究结果显示 T2DM 早期肾病患者尿 NAG/Crea 水平明显高于正常对照组,组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),且 NAG/Crea 水平随患者 UALB/Crea 的增高、GFR 的降低而逐渐增高,与糖尿病肾病的疾病进展一致。

综上所述, T2DM 患者联合检测血浆 NGAL, Cys C 和尿 NAG/Crea 可更早提示肾脏损伤,为临床提供敏感、可靠的早期肾脏损伤指标,在早期 DN 的诊断和干预治疗中具有重要的价值。

参考文献:

- [1] 朱宜临, 钱秋海, 张新颖. 糖尿病肾病中西医研究进展[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(1): 82-84, 88.
Zhu YL, Qian QH, Zhang XY. Research progress of Chinese and western medicine on diabetic nephropathy[J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 36(1): 82-84, 88.
- [2] Haase M, Haase-Fielitz A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury-the renal troponin[J]. J Lab Med, 2010, 165: 28-32.
- [3] 陈佳, 肖菲, 付碧琼, 等. 尿 NGAL 在 2 型糖尿病肾病肾小管间质损伤评价中的价值[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2016, 5(4): 163-167.
Chen J, Xiao F, Fu BQ, et al. Value of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in evaluation of renal tubulointerstitial injury of type 2 diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Kidney Disease Investigation (Electronic Edition), (下转 106 页)

- [4] 吴颖,何再明. NGAL 作为急性肾损伤生物标志物的研究现状[J]. 医学综述,2016,22(6):1058-1061.
Wu Y, He ZM. Current research about neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury[J]. Medical Recapitulate, 2016, 22(6): 1058-1061.
- [5] Martensson J, Xu S, Bell M, et al. Immunoassays distinguishing between HNL/NGAL released in urine from kidney epithelial cells and neutrophils[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(19/20):1661-1667.
- [6] Hafez MH, El-Mougy FA, Makar SH, et al. Detection of an earlier tubulopathy in diabetic nephropathy among children with normoalbuminuria[J]. Iran J Kidney Dis, 2015, 9(2):126-131.
- [7] 郝林涛, 韩凌, 邹作君. 尿 NGAL 和血、尿胱抑素 C 对早期糖尿病肾脏疾病诊断价值的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2016, 17(3):240-242.
Hao LT, Han L, Zou ZJ. The value of urine NGAL and urine cystatinC, serum cystatin C in the diagnosis of early diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2016, 17(3):240-242.
- [8] 张春雷, 曾学辉, 李忠新, 等. 尿 KIM-1 和 NGAL 在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(1):52-54.
Zhang CL, Zeng XH, Li ZX, et al. Value of urinary KIM-1 and NGAL in predicting the early diabetic nephropathy[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(1):52-54.
- [9] Levey AS, Becker C, Inker LA. Glomerular filtration rate and albuminuria for detection and staging of acute and chronic kidney disease in adults: a systematic review[J]. JAMA, 2015, 313(8):837-846.
- [10] 马钧, 金一, 王煜芳, 等. 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[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6):124-126, 129.

- Ma J, Jin Y, Wang YF, et al. Diagnosis value of urinary cystatin C in type 2 diabetic nephropathy renal tubular injury[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(6):124-126, 129.
- [11] 孙丽, 牛国平. 血浆 NGAL 和血清 Cys C 在糖尿病肾病早期诊断中的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(9):1182-1184, 1187.
Sun L, Niu GP. Clinical value of plasma NGAL and serum Cys C in early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2015, 36(9):1182-1184, 1187.
- [12] 高科, 陶娟, 范宁, 等. 联合检测三种生化指标对糖尿病肾病早期诊断的临床价值分析[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(4):117-120.
Gao K, Tao J, Fan N, et al. Analysis of combined detection of three kinds of biochemical indexes of clinical value for early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(4):117-120.
- [13] 王依屹, 张珏, 鲁传翠, 等. 血清 NGAL, Cys C 和尿 NAG 联合检测在糖尿病肾病诊断中的临床意义[J]. 检验医学, 2015, 30(11):1096-1099.
Wang YY, Zhang J, Lu CC, et al. Clinical significance on serum NGAL, Cys C and urinary NAG combined determination in the diagnosis of diabetic nephropathy[J]. Laboratory Medicine, 2015, 30(11):1096-1099.
- [14] 邵天波, 郭翀, 杨兰辉, 等. 24h 尿蛋白和尿 NAG 与尿蛋白/肌酐比值及尿 NAG/肌酐比值的相关性研究[J]. 检验医学, 2010, 25(5):385-386.
Shao TB, Guo C, Yang LH, et al. Research of the relativity of 24 h urinary protein and urinary NAG and urinary protein/creatinine ratio and urinary NAG/creatinine ratio[J]. Laboratory Medicine, 2010, 25(5):385-386.

收稿日期:2017-03-14

修回日期:2017-11-24