

糖尿病患者血清和尿液锌- α_2 -糖蛋白(ZAG)水平检测联合核素肾动态显像在早期肾功能损伤的诊断价值

董艳芳¹, 李华君¹, 王晓蕴¹, 王元松¹, 孙云川¹, 孔五宝¹, 金倩倩¹, 罗英², 牛跃龙¹, 赵红¹

(1. 沧州中西医结合医院内分泌科, 河北沧州 061001; 2. 华北石油管理局总医院核医学科, 河北沧州 062550)

摘要:目的 探讨糖尿病患者血清和尿液锌- α_2 -糖蛋白(zinc- α_2 -glycoprotein, ZAG)水平检测联合核素肾动态显像在早期肾功能损伤的诊断价值分析。方法 收集2016年3月~2017年3月河北省沧州中西医结合医院及华北石油管理局总医院的2型糖尿病患者120例,根据尿清蛋白排泄率(urinary albumin excretion rates, UAER)分为正常清蛋白尿组(I组)、微量清蛋白尿组(II组)及临床清蛋白尿组(III组),并选取同期进行体检的健康人群20例为对照组;四组患者行^{99m}Tc-二乙三胺五乙酸(^{99m}Tc^m-DTPA)检测肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)、肾有效血浆流量(effective renal plasma flow, ERPF),同时记录肾功能曲线峰时、半排时间($T_{1/2}$)、20min残留率(C_{20}),采用酶联免疫吸附法测定ZAG的血清和尿液浓度。结果 与对照组相比II组,III组Tp出现后延, $T_{1/2}$ 延长, C_{20} 显著升高,仅有III组相比于对照组差异具有统计学意义($t=3.851$, $P<0.05$)。与对照组比较,I组GFR,ERPF显著升高,III组显著降低;I,II,III组血、尿ZAG均较对照组显著升高,且尿液ZAG升高幅度显著高于血清ZAG,差异均具有统计学意义($t=2.125\sim 3.854$, 均 $P<0.05$)。结论 ^{99m}Tc^m-DTPA肾动态显像联合尿生物标志物ZAG可以检测糖尿病患者早期肾脏损伤程度,以便临床尽早进行医疗干预,改善患者不良预后。

关键词:糖尿病性肾病; 锌- α_2 -糖蛋白; 核素肾动态显像

中图分类号: R587.1; R446.112 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2021)01-014-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.01.004

Diagnostic Value of Serum and Urine Zinc- α_2 -Glycoprotein (ZAG) Levels in Diabetic Patients Combined with Radionuclide Renal Dynamic Imaging in the Diagnosis of Early Renal Impairment

DONG Yan-fang¹, LI Hua-jun¹, WANG Xiao-yun¹, WANG Yuan-song¹, SUN Yun-chuan¹, KONG Wu-bao¹, JIN Qian-qian¹, LUO Ying², NIU Yue-long¹, ZHAO Hong¹

(1. Department of Endocrinology, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hebei Cangzhou 061001, China; 2. Department of Nuclear Medicine, General Hospital of North China Petroleum Administration, Hebei Cangzhou 062550, China)

Abstract: Objective To explore the diagnostic value analysis of serum and urine zinc- α_2 -glycoprotein (zinc- α_2 -glycoprotein, ZAG) levels in diabetic patients combined with radionuclide renal dynamic imaging in the diagnosis of early renal damage. **Methods** A collection of 120 patients with type 2 diabetes from Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine and the General Hospital of North China Petroleum Administration in Hebei Province from March 2016 to March 2017. T2DM patients were classified according to urinary albumin excretion rates (UAER) divided into normal albuminuria group (group I), microalbuminuria group (group II) and clinical proteinuria group (group III), and selected 20 healthy people who went to the hospital for physical examination during the same period as the control Group: four groups of patients underwent ^{99m}Tc-diethylenetriaminepentaacetic acid (^{99m}Tc^m-DTPA) to detect glomerular filtration rate (GFR), effective renal plasma flow (ERPF), and record renal function curve peak time, half row time ($T_{1/2}$), 20min residual rate (C_{20}), enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine ZAG serum and urine concentration. **Results** Compared with the control group, Tp in group II and group III was delayed, $T_{1/2}$ was prolonged, and C_{20} was significantly increased, but only the difference between group III and control group was statistically significant ($t=3.851$, $P<0.05$). Compared with the control group, GFR and ERPF in group I increased significantly, and group III decreased significantly; blood and urine ZAG in groups I, II, and III

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目(编号: 20191276)。

作者简介: 董艳芳(1974-)女, 本科, 主治医师, 研究方向: 内分泌学, E-mail: 18031783390@163.com。

通讯作者: 李华君(1980-), 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 内分泌与代谢性疾病, E-mail: lihj 1980@163.com。

were significantly higher than those in control group, and urine ZAG increased significantly higher than serum ZAG. The differences were statistically significant ($t=2.125\sim3.854$, all $P<0.05$). **Conclusion** ^{99m}Tc -DTPA renal dynamic imaging combined with urine biomarker ZAG can detect the degree of early kidney injury in diabetic patients, so that clinical intervention can be carried out as soon as possible to improve the poor prognosis of patients, and it is worthy of clinical promotion and application.

Keywords: zinc- α_2 -glycoprotein; microalbuminuria; renal function; diabetic nephropathy; radionuclide renal dynamic imaging

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病的并发症之一, 据资料统计约 30% 的糖尿病患者会并发 DN^[1], 是导致终末期肾脏疾病的最主要原因, 占透析人群的 25%~45%^[2-3]。目前, 尿微量清蛋白被认为是检测糖尿病早期肾脏损伤的金标准, 然而, 糖尿病早期肾损失出现尿微量清蛋白异常, 导致早期诊断受限。锌- α_2 -糖蛋白 (zinc- α_2 -glycoprotein, ZAG) 是一种 41~43 kDa 的糖蛋白, 属于主要的组织相容性复合体 I 类蛋白质家族^[4-5]。国外研究发现, ZAG 的病理异常发生在尿微量清蛋白发作之前^[6], 且在糖尿病患者中特异度增加, 可以用作 DN 特异性和准确临床分析的生物标志物^[7]。故本研究将 ^{99m}Tc -二乙三胺五乙酸 (^{99m}Tc -DTPA) 联合 ZAG 应用于 2 型糖尿病患者, 探讨其在 DN 患者早期肾功能损伤中的诊断价值, 以便更早地指导临床进行治疗, 现报告如下。

1 材料与方法

表 1 各组研究对象一般资料 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 ($n=20$)	I 组 ($n=22$)	II 组 ($n=49$)	III 组 ($n=49$)	F	P
例数 (男/女)	11/9	12/10	25/24	27/22	1.126	3.425
年龄 (岁)	59.22 \pm 6.05	58.28 \pm 5.29	58.52 \pm 7.45	58.48 \pm 6.98	1.074	3.192
BMI (kg/m^2)	22.61 \pm 2.51	22.85 \pm 2.43	22.53 \pm 2.74	23.11 \pm 1.85	0.986	3.020
SBP (mmHg)	125.74 \pm 12.78	124.88 \pm 11.41	124.47 \pm 11.51	124.94 \pm 12.04	0.887	2.891
DBP (mmHg)	81.84 \pm 6.74	82.13 \pm 6.65	81.45 \pm 6.13	82.13 \pm 6.65	0.861	2.779

注: BMI: 体重指数; SBP: 舒张压; DBP: 收缩压。

1.2 试剂与仪器 自动生化分析仪采用 ADVIA[®]1800 Clinical Chemistry System。ZAG 的血清和尿液试剂盒购自美国 Adlitteram Diagnostic Laboratories 公司, 酶标仪为澳大利亚 anthos 2010 型。显像仪器采用美国 GE 公司单光子发射计算机断层成像 (SPECT), 型号 GE Millennium MPRSPECT, 配置低能通用准直器; ^{99m}Tc -DTPA 示踪剂由北京师宏药物研制中心提供。

1.3 方法 过夜禁食 12h 后, 抽取肘静脉血液 5ml。在离心机中以 3 000g 分离血清 20 min。过夜禁食 12 h 后, 于早晨收集尿液样本 10 ml。血清和尿液样品在 -80°C 下保存直至处理。使用自动生化分析仪分析尿液样本中的尿蛋白和尿肌酐。尿清蛋白肌酐比 (UACR) 用尿清蛋白浓度除以尿肌酐浓度来计算。采用酶联免疫吸附法测定 ZAG 的血清

1.1 研究对象 收集 2016 年 3 月 ~ 2017 年 3 月河北省沧州中西医结合医院及协作华北石油管理局总医院收治的 2 型糖尿病 (T2DM) 患者 120 例, 依据尿清蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rate, UAER) 将 T2DM 患者分为正常清蛋白尿组 ($n=22$, UAER $< 20 \mu\text{g}/\text{min}$), 微量清蛋白尿组 ($n=49$, UAER $20 \sim 200 \mu\text{g}/\text{min}$) 及临床蛋白尿组 ($n=49$, UAER $> 200 \mu\text{g}/\text{min}$), 并选取同期进行体检的健康人群 20 例为对照组。纳入标准: ①所有纳入患者均符合 1999 年 WHO 对糖尿病的诊断标准; ②对本次研究知情且同意。排除标准: ①患有肝病者; ②心力衰竭者; ③甲状腺疾病患者; ④自身免疫性疾病者; ⑤炎症疾病和败血症患者; ⑥恶性肿瘤者。两组性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。见表 1。本研究经医院伦理委员会批准同意进行。

和尿液浓度, 操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。采用 Toshiba GcA-901A 单探头 SPECT 肾动态显像仪器, 探头采用低能高分辨准直器。所有受试者均在检查前 30min 饮水 300ml, 并进行身高、体质量测量。线测量针筒内示踪剂放射计数, 受试者取坐位, 将探头放置于患者背部, 视野需涵盖双肾及膀胱。肘静脉“弹丸”式注射 ^{99m}Tc -DTPA 185MBq。显像后以每帧 10s, 连续采集 120 帧, 时间 20 min。采集后, 再次测量针筒内注射后示踪放射性计数及双肾深度, 完毕后得到肾动脉灌注显像、肾动态显像及肾功能曲线。通过图像及曲线分析得到左右双肾功能曲线半排时间 ($T_{1/2}$)、高峰时间 (TP) 及 20min 残留率 (C_{20})。计算获得左右肾脏及合计的肾小球滤过率 (GFR)、肾有效血浆流量 (effective renal plasma flow, ERPF) 等数据。

1.4 统计学分析 统计分析使用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析, 计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 t 检验, 计数资料采用频数和百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 多组间比较采用 F 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 各组研究对象肾功能曲线参数变化 ($\bar{x} \pm s$)

项目		对照组 ^a	I 组 ^b	II 组 ^c	III 组 ^d	a vs b		a vs c		a vs d	
						<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Tp (min)	左肾	3.43 ± 0.61	4.03 ± 1.24	4.11 ± 1.04	7.92 ± 3.40	0.745	0.985	0.942	0.641	2.855	0.030
	右肾	3.32 ± 0.73	3.44 ± 1.15	4.32 ± 1.00	9.87 ± 3.64	0.668	0.914	1.052	0.545	3.685	0.025
	总 Tp	3.22 ± 0.87	3.78 ± 0.95	4.33 ± 1.12	8.88 ± 3.63	0.832	0.571	1.542	0.341	3.851	0.028
T1/2(min)	左肾	10.78 ± 3.12	10.92 ± 2.88	14.47 ± 3.81	22.79 ± 12.75	0.615	0.985	0.845	0.752	3.312	0.031
	右肾	10.36 ± 2.63	12.88 ± 3.92	13.41 ± 3.57	23.79 ± 6.84	0.775	0.645	0.841	0.742	2.645	0.028
	总 T _{1/2}	10.21 ± 2.50	10.91 ± 2.77	14.23 ± 4.57	24.78 ± 5.72	0.597	0.885	1.095	0.445	2.742	0.023
C20 (%)	左肾	41.47 ± 9.83	43.27 ± 10.12	45.07 ± 9.59	67.85 ± 9.89	0.641	0.901	1.002	0.625	3.035	0.029
	右肾	43.56 ± 8.14	45.11 ± 8.89	49.67 ± 8.57	71.01 ± 9.20	0.821	0.723	1.103	0.323	3.255	0.026
	总 C ₂₀	42.34 ± 7.86	45.32 ± 8.88	52.76 ± 6.54	72.98 ± 8.78	0.851	0.716	1.712	0.168	3.518	0.022

2.2 四组研究对象肾血流动力学及血、尿 ZAG 水平比较 见表 3。I 组 GFR, ERPF 显著升高, III 组显著降低; I, II, III 组血、尿 ZAG 均较对照

2 结果

2.1 四组研究对象肾功能曲线参数变化比较 见表 2。与对照组相比, II 组、III 组 Tp 出现后延, T_{1/2} 延长, C₂₀ 显著升高, 仅有 III 组相比于对照组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

组显著升高, 且尿液 ZAG 升高幅度显著高于血清 ZAG, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3 各组研究对象肾血流动力学及血、尿 ZAG 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

参数	对照组 ^a	I 组 ^b	II 组 ^c	III 组 ^d	a vs b		a vs c		a vs d	
					<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
GFR[ml/(min·1.73m ²)]	101.11 \pm 8.78	162.45 \pm 10.39	102.67 \pm 27.83	79.55 \pm 19.65	3.654	0.024	0.522	0.821	3.854	0.024
ERPF[ml/(min·1.73m ²)]	468.4 \pm 68.6	616.4 \pm 18.9	433.3 \pm 77.9	271.8 \pm 31.5	3.545	0.025	0.665	0.562	3.545	0.025
血清 ZAG (mg/L)	22.26 \pm 8.83	34.79 \pm 9.36	40.12 \pm 12.75	57.41 \pm 20.12	2.125	0.037	2.351	0.033	2.858	0.029
尿液 ZAG (mg/L)	28.22 \pm 10.64	54.64 \pm 15.42	78.15 \pm 25.52	90.68 \pm 22.57	2.785	0.031	3.125	0.026	3.625	0.027

3 讨论

糖尿病仍为世界重要的临床问题, 糖尿病肾病是糖尿病患者的并发症之一。目前, 尿微量清蛋白被认为是检测糖尿病患者蛋白尿的金标准。然而, FIORETTO P 等^[8]人的研究报道, 糖尿病患者的早期肾功能损伤常发生在尿微量清蛋白出现异常表达之前。且由于“标本”收集较为麻烦, 患者的依从性较差, 临床中仍较少使用。

^{99m}Tc^m-DTPA 肾动态显像, 可以清晰显示双肾形态、大小及位置, 有助于查探双肾血流灌注状况以及上尿道的排泄状况^[9-10]。但单纯依据显像的 GFR 值对肾脏功能受损进行评估具有一定局限性。汤燕娟等^[11]人的研究提出, 目前临床中已经发现部分病例出现 GFR 值正常而肾脏血流灌注已经出现降低及半排时间延迟的现象, 池晓华等^[12]人的研究推测此现象与肾脏早期的损伤具有密切关联。

研究表明^[13-14] ZAG 与多种生物过程有关, 包括调节黑色素细胞, 影响细胞的增殖及抑制, 且与代谢综合征患者的葡萄糖、肌酐和尿酸存在相关性^[15-17]。国外研究发现, 尿 ZAG 在糖尿病患者中特异度增加, 可以用作糖尿病肾病特异性和准确临床分析的生物标志物^[7]。JAIN 等^[18]人的研究提出, ZAG 是在患有微蛋白尿症的糖尿病患者尿液样本中鉴定出的其他蛋白质之一。这些蛋白质有可能被用作糖尿病肾病特异性和准确临床分析的生物标志物^[3]。蛋白质组学研究推测, 尿 ZAG 浓度升高可能与糖尿病性肾病的非清蛋白尿变体的发病机理有关。由于 ZAG 主要表达在近端的曲折小管和直小管中, 本研究中观察到的尿 ZAG 浓度变化可能预示了糖尿病肾病早期阶段中的肾小管损害, 其结果可能导致糖尿病前期肾小管损害。因此, 将 ZAG 联合肾动态显像中的 GFR 值以及达峰时间进

行分析,可以尽早发现 T2DM 患者的肾功能损伤并尽早进行防范措施,以防止肾损伤发展进一步严重。

本次研究结果显示,四组研究对象肾功能曲线参数变化比较,与对照组相比,Ⅱ组、Ⅲ组 T_p 出现后延, $T_{1/2}$ 延长, C_{20} 显著升高,仅有Ⅲ组相比于对照组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。由此可说明在 DN 发生的早期,会呈现肾小球的高滤过状态,但随患者病程的发展程度,其肾功能将出现下降。与对照组相较,Ⅰ组 GFR,ERPF 显著升高,Ⅲ组显著降低,该结果说明了糖尿病患者肾功能的改变会出现在其 DN 之前,且 DN 患者肾血流动力学的异常也常常在其蛋白尿出现之前。Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ组血、尿 ZAG 均较对照组显著升高,且尿液 ZAG 升高幅度显著高于血清 ZAG,差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明尿液 ZAG 相较于血液具有更高的特异度表达,且其异常表达贯穿整个糖尿病患者发生 DN 的病程进展之中。

综上所述, $^{99m}\text{Tc}^m$ -DTPA 肾动态显像联合尿生物标志物 ZAG 在糖尿病患者肾功能损伤的检测中,可以做到早期了解糖尿病患者的肾脏损伤程度,具有安全性较好,灵敏度、特异度较高的特点,值得临床推广及应用。

参考文献:

- [1] 周蓓蓓,杨帆. 糖尿病肾病损伤标志物的研究进展[J]. 华夏医学, 2019, 32(1): 162-165.
ZHOU Beibei, YANG Fan. Reserch progress of damage markers of diabetic nephropathy [J]. Acta Medicinac Sinica, 2019, 32(1): 162-165.
- [2] 苏洋,梅秋雁. 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[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 99-101, 105.
SU Yang, MEI Qiuyan. Study on combined determination plasma NGAL, Cys C and urinary NAG/Crea for the diagnosis of early diabetic nephropathy [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(1): 99-101, 105.
- [3] 蒋松. 糖尿病肾病临床分子标志物研究进展[J]. 中国实用内科杂志, 2017, 37(003): 203-206.
JIANG Song. Research progress in molecular biomarkers of diabetic nephropathy [J]. Chinese Journal of practical internal medicine, 2017, 37(3): 203-206.
- [4] 李白洁,范志宏. 锌 α_2 糖蛋白与 2 型糖尿病关系的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 24(8): 757-759.
LI I Baijie, FAN Zhihong. Research progress in relationship between Zinc-alpha 2-glycoprotein and type 2 diabetes mellitus [J]. Chinese Journal of Diabetes, 2016, 24(8): 757-759.
- [5] 饶志坚,袁海平,史仍飞. 锌 α_2 糖蛋白生物学功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2014, 30(12): 1197-1201.
RAO Zhijian, YUAN Haiping, SHI Rengfei. Biological functions of Zinc alpha-2 glycoprotein[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 30(12): 1197-1201.
- [6] WANG Yuan, LI Yanmei, ZHANG Shu, et al. Adipokine zinc-alpha-2-glycoprotein as a novel urinary biomarker presents earlier than microalbuminuria in diabetic nephropathy[J]. The Journal of International Medical Research, 2016, 44(2): 278-286.
- [7] 高颖斐,王玉明,高颖雯,等. 血清锌 α 糖蛋白与 2 型糖尿病并发高尿酸血症的相关性研究[J]. 医学临床研究, 2018, 35(5): 926-928.
GAO Yingfei, WANG Yuming, GAO Yingwen, et al. The relationship between serum Zinc alpha glycoprotein and type 2 diabetes with hyperuricemia[J]. Journal of Clinical Research, 2018, 35(5): 926-928.
- [8] FIORETTO P, MAUER M. Histopathology of diabetic nephropathy[J]. Semin Nephrol, 2007, 27(2): 195-207.
- [9] 李晶,程文俊,郝永哲,等. $^{99m}\text{Tc}^m$ -DTPA 肾动态显像在老年高血压早期肾损害中的诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(8): 1372-1375.
LI Jing, CHENG Wenjun, HAO Yongzhe, et al. The diagnostic value of nuclide renal dynamic imaging in early renal damage in elderly essential hypertension [J]. the Journal of Practical Medicine, 2018, 34(8): 1372-1375.
- [10] 陆东燕,丁恩慈,王俊起,等. $^{99m}\text{Tc}^m$ -DTPA 肾动态显像对肝移植术前肾功能的评估及术后早期急性肾损伤的预测价值[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(4): 248-251.
LU Dongyan, DING Enci, WANG Junqi, et al. $^{99m}\text{Tc}^m$ -DTPA renal dynamic imaging for detecting renal function before liver transplantation and predicting early acute kidney injury postoperation[J]. Chinese Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2018, 38(4): 248-251.
- [11] 汤燕娟,洪理伟,许艺坤,等. 肾动态显像联合 uACR 在 2 型糖尿病肾功能损伤评价中的价值[J]. 医学理论与实践, 2017, 30(22): 3389-3391.
TANG Yanjuan, HONG Liwei, XU Yikun, et al. The value of renal dynamic imaging combined with uACR in the evaluation of renal damage in type 2 diabetes[J]. the Journal of Medical Theory and Practice, 2017, 30(22): 3389-3391.
- [12] 池晓华,李贵平,刘峰,等. GFR、血肌酐及 24 h 尿蛋白定量在评价糖尿病患者肾功能中的应用[J]. 核技术, 2013, 36(6): 29-32.
CHI Xiaohua, LI Guiping, LIU Feng, et al. GFR, serum creatinine and 24-hour urine protein in evaluating renal function of patients with diabetes mellitus [J]. Nuclear Techniques, 2013, 36(6): 29-32.
- [13] 张韶君,逆红燕,郭亚莉,等. 锌 α_2 糖蛋白通过调节脂肪细胞自噬增强胰岛素信号通路表达的作用及机制研究[J]. 中国药物与临床, 2018, 18(12): 2120-2122.
ZHANG Shaojun, TI Hongyan, GUO Yali, et al. Effect of Zinc α_2 glycoprotein in enhancing expression of insulin signaling pathway by regulating autophagy of adipocytes and its mechnism [J]. Chinese Remedies & Clinics, 2018, 18(12): 2120-2122.