

2型糖尿病肾病患者血清代谢组学分析构建 预后预测模型研究

陈筱涛, 刘 韵, 龙碧莹, 郭皖北 (湘南学院附属医院内分泌科, 湖南郴州 423000)

摘要: **目的** 探讨代谢组学分析构建风险预测模型对预测2型糖尿病肾病(type 2 diabetic nephropathy, T2DN)患者预后的应用价值。**方法** 选取2014年9月~2017年9月于湘南学院附属医院接受治疗的282例T2DN患者,按照预后情况将患者分为预后良好组($n=199$)和预后不良组($n=83$)。采用超高效液相色谱系统分析测试样品,并运用Markview软件进行判别分析,寻找出特征差异性代谢物。采用向前逐步法明确最终纳入预测模型的变量,根据各变量对应的偏回归系数(β)构建方程,建立T2DN患者预后预测模型。利用Hosmer-Lemeshow检验和受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评价预测模型的拟合优度以及预测能力。**结果** 与预后良好组比较,预后不良组患者血清空腹血糖(fasting blood sugar, FBG) (7.96 ± 1.67 mmol/L vs 5.03 ± 0.69 mmol/L)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c) ($8.01\% \pm 2.66\%$ vs $5.96\% \pm 2.57\%$)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN) (6.31 ± 0.88 mol/L vs 4.51 ± 0.91 mol/L)、血尿酸(uric acid, UA) (411.25 ± 79.61 μ mol/L vs 331.21 ± 91.36 μ mol/L)、三酰甘油(triacylglycerol, TG) (2.18 ± 0.33 mmol/L vs 1.75 ± 0.63 mmol/L)水平升高,低密度脂蛋白-胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C) (2.53 ± 0.19 mmol/L vs 2.60 ± 0.21 mmol/L)、高密度脂蛋白-胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C) (0.95 ± 0.11 mmol/L vs 1.14 ± 0.12 mmol/L)水平降低,差异均有统计学意义($t=10.998, 6.042, 9.644, 4.796, 4.101, 1.676, 7.916$, 均 $P<0.01$)。代谢组学检验结果显示,预后良好组和预后不良组的代谢状态可明显区分,与预后良好组比较,预后不良组上调的代谢产物有溶血磷脂酰胆碱($t=1.362, P<0.01$)、谷氨酰胺-精氨酸($t=2.302, P<0.01$)、半乳糖羟赖氨酸($t=1.036, P<0.01$)、鹅去氧胆酸($t=5.261, P<0.01$);下调的代谢产物有溶血磷脂酰乙醇胺($t=2.321, P<0.01$)、磷脂酰乙醇胺($t=5.261, P=0.001$)、磷脂酰胆碱($t=2.528, P=0.001$)、磷脂酰甘油($t=3.624, P<0.01$)、鞘磷脂($t=2.591, P<0.01$)、心磷脂($t=1.362, P<0.01$)、二酰甘油($t=5.623, P<0.01$)、三酰甘油($t=4.115, P<0.01$)、苯丙胺酰-丙氨酸($t=2.361, P<0.01$)、神经节苷脂($t=3.334, P<0.01$)、透明质酸($t=2.924, P<0.01$)和磷酸二氢丙酮($t=1.623, P=0.001$),差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。根据潜在标志物测定结果建立的预测模型如下: $\text{Logit}(P) = -5.319 + 0.172(\text{溶血磷脂酰乙醇胺}) + 0.669(\text{磷脂酰乙醇胺}) + 0.624(\text{溶血磷脂酰胆碱}) + 1.149(\text{磷脂酰胆碱}) + 0.841(\text{磷脂酰甘油}) + 0.271(\text{鞘磷脂}) + 0.744(\text{心磷脂}) + 0.102(\text{二酰甘油}) + 0.667(\text{三酰甘油}) + 0.676(\text{谷氨酰胺-精氨酸}) + 1.067(\text{半乳糖羟赖氨酸}) + 0.802(\text{苯丙胺酰-丙氨酸}) + 0.203(\text{鹅去氧胆酸}) + 0.711(\text{神经节苷脂}) + 0.034(\text{透明质酸}) + 0.494(\text{磷酸二氢丙酮})$ 。T2DN患者预后的Kaplan-Meier生存分析中位生存时间预后不良组为19个月,预后良好组为25个月。采用ROC曲线分析模型AUC为0.853(95%CI: 0.759~0.909, 均 $P<0.001$),敏感度、特异度和约登指数分别为85.26%, 82.84%和0.681,模型预测T2DN患者预后的水平较高,校准曲线和标准曲线结果无明显偏离,一致性良好。**结论** 基于代谢组学分析构建风险预测模型预测T2DN患者预后具有一定的预测价值。

关键词: 代谢组学; 2型糖尿病肾病; 预测模型

中图分类号: R587.2; R446.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414(2023)03-097-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.03.017

Analysis of Serum Metabolomics Model in Type 2 Diabetic Nephropathy

CHEN Xiao-tao, LIU Yun, LONG Bi-ying, GUO Wan-bei

(Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Xiangnan University, Hunan Chenzhou 423000, China)

Abstract: Objective To explore the application value of metabolomics analysis and constructing a risk prediction model in predicting the prognosis of patients with type 2 diabetic nephropathy (T2DN). **Methods** The 282 patients with type 2 diabetic nephropathy who were treated in the Affiliated Hospital of Xiangnan University from September 2014 to September 2017 were divided into good prognosis group ($n=199$) and poor prognosis group ($n=83$) according to their prognosis. Test samples were analyzed by uHPLC system and analyzed by Markview software to find the characteristic differential metabolites.

基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目(项目编号: 20A466): 糖尿病肾病发病的相关危险因素及代谢组学分析研究。

作者简介: 陈筱涛(1974-), 女, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 糖尿病肾病、慢性肾脏病。

通讯作者: 郭皖北(1962-), 男, 博士研究生, 主任医师, 研究方向: 糖尿病、骨代谢疾病。

The forward stepwise method was used to clarify the variables finally included in the prediction model, and the equation was constructed according to the corresponding partial regression coefficient (β) of each variable to establish the prognosis prediction model of patients with type 2 diabetic nephropathy. The goodness-of-fit and prediction ability of the prediction model were evaluated by Hosmer-Lemeshow test and subject operating characteristic curve. **Results** Compared with the good-prognosis group, patients in the poor prognosis group had serum fasting blood glucose (FBG) (7.96 ± 1.67 mmol/L vs 5.03 ± 0.69 mmol/L), glycosylated hemoglobin(HbA1c) ($8.01\% \pm 2.66\%$ vs $5.96\% \pm 2.57\%$), blood urea nitrogen(BUN) (6.31 ± 0.88 mol/L vs 4.51 ± 0.91 mol/L), Blood uric acid (UA) (411.25 ± 79.61 μ mol/L vs 331.21 ± 91.36 μ mol/L), Triacylglycerol (2.18 ± 0.33 mmol/L vs 1.75 ± 0.63 mmol/L) increased, low density lipoprotein-cholesterol(LDL-C) (2.53 ± 0.19 mmol/L vs 2.60 ± 0.21 mmol/L), high density lipoprotein-cholesterol(HDL-C) (0.95 ± 0.11 mmol/L vs 1.14 ± 0.12 mmol/L) decreased, and the differences were statistically significant ($t=10.998, 6.042, 9.644, 4.796, 4.101, 1.676, 7.916$, all $P<0.01$). The results of the metabolomics test showed that the metabolic status was clearly distinguished between the good and poor prognosis groups. In comparison with the well-prognosis group, the upregulated metabolites in the poor prognosis group were lysophosphatidylcholine ($t=1.362, P=0.000$), glutamine-arginine ($t=2.302, P=0.000$), galactose hydroxylysine ($t=1.036, P=0.000$) and goose deoxycholic acid ($t=5.261, P=0.006$). The downregulated metabolites were lysophosphatidylethanolamine ($t=2.321, P=0.000$), phosphatidylethanolamine ($t=5.261, P=0.001$), phosphatidylcholine ($t=2.528, P=0.001$), phosphatidyl glycerol ($t=3.624, P=0.000$), sphingingipid ($t=2.591, P=0.000$), cardiolipin ($t=1.362, P=0.000$), glycerol difat ($t=5.623, P=0.000$), triglycerides ($t=4.115, P=0.000$), phenylalanide-alanine ($t=2.361, P=0.000$), ganglioside ($t=3.334, P=0.000$), hyaluronic acid ($t=2.924, P=0.000$) and dihydroacetone phosphate ($t=1.623, P=0.001$), and the differences were statistically significant (all $P<0.05$). Based on the determination of potential markers, $\text{Logit}(P)=-5.319+0.172(\text{lysophosphatidylethanolamine})+0.669(\text{phosphatidylethanolamine})+0.624(\text{lyso-phosphatidylcholine})+1.149(\text{phosphatidylcholine})+0.841(\text{phosphatidylglycerol})+0.27(\text{sphingomyelin})+0.744(\text{cardiolipin})+0.102(\text{glycer})+0.667(\text{triglyceride})+0.676(\text{glutamine-arginine})+1.067(\text{galactose hydroxylysine})+0.802(\text{phenylalanide-alanine})+0.203(\text{goose deoxycholic acid})+0.711(\text{ganglioside})+0.034(\text{hyaluronic acid})+0.494(\text{dihydroacetone phosphate})$. The median survival time of Kaplan-Meier survival analysis of patients with T2DN was 19 months in the group with poor survival time and 25 months in the group with good prognosis. The ROC curve analysis model AUC was $0.853(95\%CI:0.759 \sim 0.909, P<0.001)$, sensitivity, specificity and yoden index were 85.26%, 82.84% and 0.681, respectively. The model predicted high levels of prognosis of T2DN patients, and the calibration curve and standard curve results showed no obvious bias, and good consistency. **Conclusion** Building a risk prediction model based on metabolomic analysis to predict the prognosis of T2DN patients has certain predictive value.

Keywords: metabolomics; type 2 diabetic nephropathy; predictive model

2型糖尿病肾病(type 2 diabetic nephropathy, T2DN)在世界范围内较为常见,临床特点为蛋白尿、水肿、高血压等,有学者认为^[1], T2DN常与糖尿病微血管病变密切相关,严重影响患者预后情况,因此准确的判断患者预后水平尤为重要^[2-4]。代谢组学具有高通量、操作简便、定量分析的优点,可对疾病进行早期诊断及机制探讨,是目前应用最为广泛的医学技术之一^[5-7]。由于患者发生低水平慢性炎症可导致胰岛素抵抗、T2DN及其他并发症,依赖代谢组学技术可监测机体内部已经发生的炎症代谢产物的变化,发现疾病早期敏感生物标志物、判断疾病预后^[8]。本文将统计学模型与代谢组学相结合探究T2DN患者预后情况,采用数学模型公式和代谢组学参与研究,对生物体内所有代谢物进行定量分析,并寻找代谢物与生理病理变化的相对关系的研究方式,为患者的早期预后提供科学支持。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择2014年9月~2017年9月于

湘南学院附属医院接受治疗的282例T2DN患者为研究对象。纳入标准:年龄 ≥ 18 岁;符合T2DN诊断标准^[9]。排除标准:①排除肝炎、肝硬化、肾脏严重器质性病变患者;②尿路感染;③药物过敏史;④贫血、重度肥胖等患者;⑤精神病史;预后观察期内,以患者死亡为研究终点,随访时间由2017年10月起始,随访时间50个月。按照本研究中预后情况的判断标准,将患者分为预后良好组($n=199$)和预后不良组($n=83$)。预后良好组:年龄45~72(50.67 ± 12.85)岁;男性103例,女性96例;平均病程 7.55 ± 2.34 年;体温 36.11 ± 1.02 ℃;发热2例,疼痛5例,脑卒中史2例,高血压史37例,药物过敏史26例,吸烟史18例,饮酒史106例,贫血38例,心力衰竭3例,呼吸机使用2例,抗生素使用史136例。预后不良组:年龄45~73(51.03 ± 11.29)岁;男性44例,女性39例;平均病程 7.06 ± 2.25 年;发热1例,疼痛2例,脑卒中史1例,高血压史18例,药物过敏史14例,

吸烟史 8 例, 饮酒史 52 例, 贫血 20 例, 心力衰竭 1 例, 呼吸机使用 1 例, 抗生素使用史 66 例。两组患者一般资料比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 具有可比性。本研究经伦理委员会批准, 患者及家属知情同意。

T2DN 预后不良定义: ①肾小球滤过率下降 (肾小球滤过率分级下降或基线下降 $> 25\%$); ②血肌酐 (Scr) \geq 基线 Scr 的 2 倍, 本研究中出现以上情况即为 T2DN 预后不良。

1.2 仪器与试剂 贝克曼库尔特-AU5800 全自动生化分析仪 [贝克曼库尔特商贸 (中国) 有限公司]。Waters UPLC 超高效液相色谱系统 (沃特世科技有限公司, 型号: Waters ACQUITY UPLC 系统)。乙腈 (生产厂家: 德国 CNW 科技公司)。

1.3 方法

1.3.1 观察指标: 记录患者一般资料, 包括症状体征以及实验室检查等临床信息采集。其中一般情况主要包括年龄、性别、体重指数、血压、病程、既往史等。记录实验室指标, 包括血糖项目: 空腹血糖 (fasting blood sugar, FBG)、糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin, HbA1c); 血脂项目: 三酰甘油 (triacylglycerol, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白-胆固醇 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C); 肾功能项目: 血尿酸 (uric acid, UA)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐 (serum creatinine, Scr)。

1.3.2 代谢组学分析: 患者空腹抽取静脉血 5ml, 以 3 000r/min 的转速离心 20 min 后分离血清, 置于 -80°C 中; 待测时, 温度升至 4°C 中, 振荡混合均匀, 取 $200\mu\text{l}$ 加入 $500\mu\text{l}$ 乙腈中, 涡旋 40min, 4°C 下 12 000 r/min 离心 20 min, 取上清液 $90\mu\text{l}$ 于 96 孔接收板中, 采用 Waters UPLC 超高效液相色谱系统, 配备自动进样分析^[10]。应用 Markerview 软件, 将相关积分值进行中心化和比例换算, 同时进行正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA) 寻找出特征差异性代谢物。OPLS-DA 样品分布得分图用于展示不同组间差异。根据多元统计分析中变量的载荷大小, 筛选出组间具有显著性差异的化合物作为潜在生物标志物, 再根据质谱同位素匹配结果和数据库的检索结果及对照品及串联质谱的鉴别结果, 对潜在的生物标志物进行鉴定。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验进行比较; 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检

验进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用向前逐步法明确最终纳入预测模型的变量, 根据各变量对应的偏回归系数 (β) 构建方程, 建立 T2DN 患者预后预测模型。利用 Hosmer-Lemeshow 检验和受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve) 评价预测模型的拟合优度以及预测能力。

2 结果

2.1 不同预后组间实验室指标比较 见表 1。实验室指标结果显示, 预后不良组的 FBG, BUN, UA, TG, HbA1c 高于预后良好组, 预后不良组的 LDL-C, HDL-C 低于预后良好组, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$); Scr, TC 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 实验室指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	预后良好组 ($n=199$)	预后不良组 ($n=83$)	t 值	P 值
FBG (mmol/L)	5.03 ± 0.69	7.96 ± 1.67	10.998	0.000
HbA1c (%)	5.96 ± 2.57	8.01 ± 2.66	6.042	0.000
BUN (mol/L)	4.51 ± 0.91	6.31 ± 0.88	9.644	0.000
UA ($\mu\text{mol/L}$)	331.21 ± 81.36	411.25 ± 79.61	4.796	0.000
Scr ($\mu\text{mol/L}$)	71.65 ± 15.29	70.96 ± 15.44	0.215	0.415
LDL-C (mmol/L)	2.60 ± 0.21	2.53 ± 0.19	1.676	0.048
HDL-C (mmol/L)	1.14 ± 0.12	0.95 ± 0.11	7.916	0.000
TG (mmol/L)	1.75 ± 0.63	2.18 ± 0.33	4.101	0.000
TC (mmol/L)	5.06 ± 1.31	4.98 ± 1.22	0.303	0.381

2.2 代谢组学研究结果 OLPS-DA 分析中的值越大对分组的贡献也越大, 一般认为 VIP 值 > 1 具有统计学意义, 这些成分可被认为是干扰正常生理代谢的潜在生物标记物, 再结合 t 检验, 筛选出组间具有显著性差异 ($P < 0.05$) 的化合物。OLPS-DA 差异图结果显示, 预后良好组和预后不良组的代谢状态可明显区分, 见图 1。

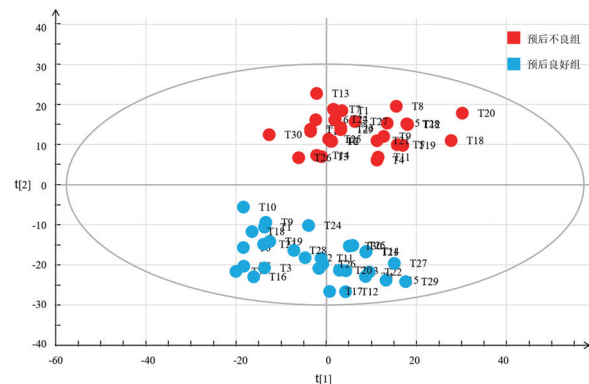


图 1 预后良好组和预后不良组代谢状态 OPLS-DA 差异图

2.3 潜在标志物测定结果及相关代谢途径 见表2。鉴定出差异性代谢产物,与预后良好组比较,预后不良组上调的代谢产物有溶血磷脂酰胆碱,谷氨酰胺-精氨酸,半乳糖羟赖氨酸和鹅去氧胆酸;下调的代谢产物有溶血磷脂酰乙醇胺、磷脂酰乙醇

胺、磷脂酰胆碱、磷脂酰甘油、鞘磷脂、心磷脂、二酰甘油、TG,苯丙胺酰-丙氨酸、神经节苷脂,透明质酸和磷酸二氢丙酮,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),以上代谢产物途径有脂类,氨基酸,糖类代谢。

表2 预后良好组和预后不良组比较差异标志物测定结果

序号	标志物	保留时间	m/z	分子式	变化趋势	HMDB ID	Adduct	代谢途径	t 值	P 值
1	溶血磷脂酰乙醇胺	9.12	930.16	C21H42N07P	↓	HMDB11474	2M+3H2O+2H	脂类	2.321	0.000
2	磷脂酰乙醇胺	9.09	763.12	C43H74N08P	↓	HMDB09166	M+H	脂类	5.261	0.001
3	溶血磷脂酰胆碱	12.49	517.21	C26H48N07P	↑	HMDB10388	M+H	脂类	1.362	0.000
4	磷脂酰胆碱	22.88	785.16	C44H84N08P	↓	HMDB07920	M+H	脂类	2.528	0.001
5	磷脂酰甘油	22.71	777.33	C42H81O10P	↓	HMDB10632	M+H	脂类	3.624	0.000
6	鞘磷脂	16.34	650.23	C35H75N2O6P	↓	HMDB12084	M+H	脂类	2.591	0.000
7	心磷脂	9.04	881.16	C97H142O17P2	↓	HMDB59569	2M+3ACN+2H	脂类	1.362	0.000
8	二酰甘油	8.93	664.31	C43H64O5	↓	HMDB56376	M+H	脂类	5.623	0.000
9	TG	9.11	994.61	C61H90O5	↓	HMDB55515	M+2K+H	脂类	4.115	0.000
10	谷氨酰胺-精氨酸	22.31	644.28	C11H22N6O4	↑	HMDB28791	2M+K	氨基酸	2.302	0.001
11	半乳糖羟赖氨酸	17.29	324.61	C12H24N2O8	↑	HMDB00600	M+H	氨基酸	1.036	0.000
12	苯丙胺酰-丙氨酸	14.52	510.26	C12H16N2O3	↓	HMDB28988	2M+K	氨基酸	2.361	0.001
13	鹅去氧胆酸	22.16	392.64	C22H40O4	↑	HMDB00518	M+H	脂肪胆酸	5.261	0.006
14	神经节苷脂	9.06	640.64	C64H113N3O29	↓	HMDB04851	M+H+NH4	脂类	3.334	0.000
15	透明质酸	9.01	872.47	C16H27N012	↓	HMDB02061	2M+Na	糖	2.924	0.000
16	磷酸二氢丙酮	9.05	882.64	C21H43O6P	↓	HMDB11142	2M+K	糖	1.623	0.001

2.4 生存曲线分析 T2DN 患者预后的 Kaplan-Meier 生存分析中,对 282 例患者以纳入研究后至研究终点的时间为生存时间,以进入研究终点事件与否为因变量,比较预后良好组和预后不良组的生存差异,得出生存曲线,见图 2。中位生存时间预后不良组为 19 个月,预后良好组为 25 个月。

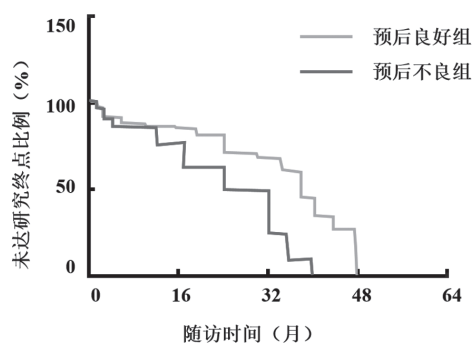


图2 T2DN 患者预后的生存曲线

2.5 基于代谢组学分析构建风险预测模型对 T2DN 患者预后的 ROC 曲线及一致性评价 根据潜在标志物测定结果构建 T2DN 患者预后水平的风险预测模型, P 为模型预测概率,取值 0~1。建立的预测模型如下: $\text{Logit}(P) = -5.319 + 0.172(\text{溶血磷脂}$

酰乙醇胺) + 0.669(磷脂酰乙醇胺) + 0.624(溶血磷脂酰胆碱) + 1.149(磷脂酰胆碱) + 0.841(磷脂酰甘油) + 0.271(鞘磷脂) + 0.744(心磷脂) + 0.102(二酰甘油) + 0.667(TG) + 0.676(谷氨酰胺-精氨酸) + 1.067(半乳糖羟赖氨酸) + 0.802(苯丙胺酰-丙氨酸) + 0.203(鹅去氧胆酸) + 0.711(神经节苷脂) + 0.034(透明质酸) + 0.494(磷酸二氢丙酮)。

根据预测概率 P 与 T2DN 患者预后水平的 ROC 曲线,见图 3。曲线下面积 AUC 为 0.853 (95%CI: 0.759 ~ 0.909, $P < 0.001$), 敏感度、特异度和约登指数分别为 85.26%, 82.84% 和 0.681, 约登指数衡量了模型预测的真实性,表明该模型预测 T2DN 患者预后的水平较高;校准度评价图线结果显示,校准曲线和标准曲线结果无明显偏倚,一致性较好。

3 讨论

T2DN 在患者治疗后常出现一系列的并发症,预后效果不佳的情况时有发生,且无明显症状而不易被察觉^[12]。据调查^[13],目前此病发病年龄在 40 岁以上,但近年来,发病年龄有年轻化趋势,严重危害人类健康,提出一种能够及时预测患者预后情

况的医学技术尤为重要。另有研究表明^[12], T2DN 可能导致机体神经病变、心脑血管疾病等病症, 最终影响患者预后水平^[13]。患者在实际生活中, 很有可能从蛋白尿的出现到肾功能严重恶化, 病程间隔时间较长, 目前现有的检测技术不能及时检测患者病情的恶化程度, 从而使患者错过最佳治疗时机, 而病情如果长期控制不当, 最后发展为尿毒症。代谢组学技术的出现为预测患者预后提供了新的思路, 此项技术涉及领域广泛, 在细胞生物学、组织学等领域均有涉及^[14]。其优点在于可定性、定量地鉴定样本的差异代谢物, 通过差异代谢物反映疾病预后等关键信息, 为临床提供相应的数据支持^[15-16]。另外, 将 T2DN 和代谢组学分析结合预测患者预后的情况, 通过比较不同代谢产物的质谱峰, 了解不同化合物的结构, 找出相应的代谢产物, 从而以此

建立一套完备且能够用于此类疾病预测的分析方法。目前关于此类研究鲜有报道, 对此进行更深入研究具有一定的可行性。而对于代谢产物来说, 相应的质谱峰和代谢途径均可以通过代谢组学的方式加以了解, 并结合使用可获得的大量数据进行分析。研究认为^[17], T2DN 的发生机制较为复杂, 涉及到糖、脂、氨基酸等多种代谢方式、且基因易感化, 患者预后水平判别较为困难, 代谢组学以其高通量、覆盖面广的优势, 成功解决了这一难题^[15-16]。具体表现为基因易感化, 预后水平判别难的问题均得到有效解决, 在实际的操作过程中, 差异性代谢物的各变量间相关性较高, 而目前运用传统的单变量分析挖掘数据内潜在的信息又不能达到准确和快速的要求。

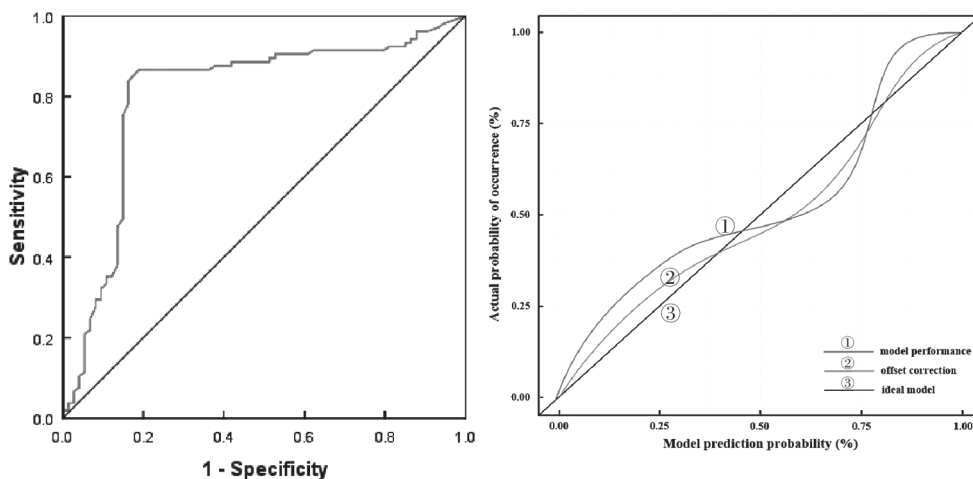


图3 基于代谢组学分析构建风险预测模型对 T2DM 患者预后的 ROC 曲线及一致性评价

本研究基于代谢组学, 运用多元统计分析方法, 可较大程度保留原始信息的基础上将高维复杂的数据进行对研究对象的代谢谱特点进行归纳和总结, 并选择 P 值小于 0.05 与 VIP 值大于 1 作为常见的差异代谢物筛选标准, 构建风险预测模型对 T2DN 患者的预后情况进行预测。此前, 基于代谢组学研究, 学术界亦有相关报道, 赵黎君等^[18]提出代谢组学的高通量、覆盖面广的优势, 适合类似于糖尿病肾病的研究, 可能与患者机体糖、蛋白质及脂质代谢紊乱有关。而本研究中通过代谢组学研究, 发现两组的代谢状态可明显区分, 代谢产物途径有脂类、氨基酸、糖类代谢, 证实了糖尿病肾病与机体内部代谢紊乱有关。同时, 王美杰等^[19]指出, 患者内部存在亚油酸等氨基酸代谢发生改变的可能, 而本研究中发现, 谷氨酰胺-精氨酸、半乳糖赖氨酸均为上调趋势产物, 说明血清支链氨基酸水平的升高能预测胰岛素抵抗水平, 氨基酸代谢水平异常, 胰岛素抵抗严重, 上述指标均可对患者的预后

加以预测, 与王美杰等^[19]研究存在相似性。T2DN 主要引起微血管病症, 代谢组学的引入目的为结合使用临床信息获得的大量数据进行分析, 有效证实糖尿病肾病与机体内部代谢间的关联, 本研究在代谢组学保留原始信息的基础上将高维复杂的数据进行对研究对象的代谢谱特点进行归纳和总结, 筛选出差异性代谢产物, 相应氨基酸上调和下降趋势说明机体内部代谢水平异常, 能够对患者的预后水平进行有效预测, 及时在治疗方法层面做出调整。本研究鉴定出差异性代谢产物中, 上调的代谢产物中, 溶血磷脂酰胆碱在体内是氧化型低密度脂蛋白的主要活性成分, 参与动脉粥样硬化发生发展的各个环节, 参与溶血机制的调节, 而溶血磷脂酰胆碱上调则表明 T2DN 患者血脂调节机制出现异常; 谷氨酰胺-精氨酸上调, 由于精氨酸是谷氨酰胺的前体, 机体内精氨酸可合成谷氨酰胺而更利于人体吸收, T2DN 患者的谷氨酰胺-精氨酸上调说明患者营养物质缺乏较多, 导致精氨酸可合成谷氨酰胺过程加

快以补充机内因代谢水平异常而缺乏的营养物质；半乳糖羟赖氨酸是由羟赖氨酸翻译后糖基化产生的骨胶原蛋白，在骨吸收过程中释放，并在代谢性骨丢失中升高，半乳糖羟赖氨酸上调说明代谢性骨丢失过程加强，骨蛋白代谢活动增多，有可能出现代谢水平异常等症状。下调的代谢产物中，溶血磷脂酰乙醇胺在脑组织中居多，与溶血磷脂酰胆碱类似，但是不同的是溶血磷脂酰乙醇胺下调则表示 β 位脂肪酰基水解脱落异常，从而出现T2DN的血脂水平下降或上升；磷脂酰胆碱是细胞膜、肺泡表面活性物质、脂蛋白和胆汁的重要成分，对维持肝和脑功能、脂质代谢和运输、细胞膜信号传递、细胞组成和修复都有至关重要的作用。磷脂酰甘油是构成生物膜的主要物质，且是胆汁和膜表面活性物质的主要成分之一，T2DN患者血脂水平异常很可能由于细胞膜对蛋白质的识别和信号传导阻碍所致，表现在代谢组学上磷脂酰甘油水平下调。鞘磷脂、心磷脂、二酰甘油、TG，神经节苷脂等脂类物质均是主要存在于脑、骨髓、神经组织，以及心、肝、肾等器官中的脂质代谢物，其水平下调可能由于代谢活动过程中脂质水解过程加强，溶酶体中神经磷脂酶催化的水解产物增多，从而使得各种产物在组织内严重堆积，可造成T2DN的一系列并发症，严重者影响中枢神经系统，甚至危及生命。苯丙胺酰-丙氨酸、透明质酸、磷酸二氢丙酮等物质均参与机体内部糖酵解的过程，准确联络甘油和葡萄糖的中间体化学物质，T2DN患者由于胰岛素抵抗严重，糖酵解途径放缓，导致苯丙胺酰-丙氨酸、透明质酸、磷酸二氢丙酮等中间产物消耗速率加快，表现在代谢组学上为下调趋势。另外，建立预测模型的约登指数衡量了模型预测的真实性，且校准曲线和标准曲线结果无明显偏倚，一致性评价结果良好。本研究的局限性在于对代谢物进行定量分析，深层机理和生化的理解复杂，在确定代谢物结构和功能的过程中，识别力较为分散。

综上所述，基于代谢组学分析构建风险预测模型对预测T2DN患者预后的情况可明显区分，本研究提出的具有差异性的代谢物均对患者预后有预测价值。

参考文献：

- [1] CHENG Yuliang, LIU Chang, CUI Yan, et al. Sporidobolus pararoseus wall-broken powder ameliorates oxidative stress in diabetic nephropathy in type-2 diabetic mice by activating the Nrf2/ARE pathway[J]. RSC Advances, 2019, 9(15): 8394-8403.
- [2] 闫妮, 刘玲娇, 余湘尤, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值在2型糖尿病合并糖尿病肾病患者中的变化及检测价值研究[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(6): 673-677. YAN Ni, LIU Lingjiao, YU Xiangyou, et al. Change and detection value of NLR in T2DM patients with DKD[J]. Shaanxi Medical Journal, 2021, 50(6): 673-677.
- [3] 王凤艳, 张勤聪, 乔德红. 三维一体延续性干预对2型糖尿病肾病患者营养结构与心理状态的影响[J]. 齐鲁护理杂志, 2021, 27(7): 90-92. WANG Fengyan, ZHANG Qincong, QIAO Dehong. Effect of three-dimensional integrated continuation intervention on nutritional structure and mental status in patients with type 2 diabetic nephropathy[J]. Journal of Qilu Nursing, 2021, 27(7): 90-92.
- [4] NAGIB A M, ELSAYED MATTER Y, GHEITH O A, et al. Diabetic nephropathy following posttransplant diabetes mellitus[J]. Experimental and Clinical Transplantation, 2019, 17(2): 138-146.
- [5] GUAN Hui, XIA Mengdi, WANG Miao, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(35): e21558.
- [6] YAO Hong, YU Pengcheng, JIANG Chunming. Metabolomics-driven identification of perturbations in amino acid and sphingolipid metabolism as therapeutic targets in a rat model of anorexia nervosa disease using chemometric analysis and a multivariate analysis platform[J]. RSC Advances, 2020, 10(9): 4928-4941.
- [7] XIE Peisi, LIANG Xiaoping, SONG Yuanyuan, et al. Mass spectrometry imaging combined with metabolomics revealing the proliferative effect of environmental pollutants on multicellular tumor spheroids[J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(16): 11341-11348.
- [8] WANG Songyan, NIE Ping, LU Xiaodan, et al. Nrf2 participates in the anti-apoptotic role of Zinc in type 2 diabetic nephropathy through Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2020, 84: 108451.
- [9] 中华医学会临床药学分会. 2型糖尿病合并慢性肾脏病患者多重用药安全中国专家共识[J]. 中国全科医学, 2022, 25(23): 2819-2835. Chinese Medical Association Clinical Pharmacy Branch. Chinese expert consensus on medication safety in polypharmacy in type 2 diabetics with chronic kidney disease[J]. Chinese General Practice, 2022, 25(23): 2819-2835.
- [10] RAYEGO-MATEOS S, MORGADO-PASCUAL J L, OPAZO-RÍOS L, et al. Pathogenic pathways and therapeutic approaches targeting inflammation in diabetic nephropathy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(11): 3798.
- [11] 方芳. 尿液分析仪与镜检法在尿液检测中的相关性分析[J]. 质量与安全检验检测, 2021, 31(1): 56-57. FANG Fang. Correlation analysis between urine analyzer and microscopy method in urine testing[J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2021, 31(1): 56-57.
- [12] YU Dahai, WANG Zheng, ZHANG Xiaoxue, et al. Remnant cholesterol and cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes and incident diabetic nephropathy[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2021, 106(12): 3546-3554.

- disease in children[J]. Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2019, 34(19): 1458-1461.
- [12] YOUNOSSE Z M. Non-alcoholic fatty liver disease – A global public health perspective[J]. Journal of Hepatology, 2019, 70(3): 531-544.
- [13] 韩静, 苏胜偶, 李亚伟, 等. 老年2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝血清 nesfatin-1 变化及其影响因素[J]. 临床输血与检验, 2017, 19(2): 158-162.
- HAN Jing, SU Shengou, LI Yawei, et al. The relationship between serum nesfatin-1 level and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2017, 19(2): 158-162.
- [14] 路晓茅, 张洁, 邸阜生. 2型糖尿病单纯性脂肪肝与非酒精性脂肪性肝炎患者血清脂质组学的变化[J]. 中华糖尿病杂志, 2020, 12(1): 41-47.
- LU Xiaomao, ZHANG Jie, DI Fusheng. Serum lipidomics in type 2 diabetes mellitus patients with simple fatty liver or nonalcoholic steatohepatitis[J]. Chinese Journal of Diabetes Mellitus, 2020, 12(1): 41-47.
- [15] 李昊翔, 徐梦娇, 袁婧, 等. 2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者血清白脂素浓度变化及其影响因素[J]. 江苏大学学报(医学版), 2019, 29(1): 62-66.
- LI Haoxiang, XU Mengjiao, YUAN Jing, et al. Changes of serum leucolipin concentration and its influencing factors in patients with type 2 diabetes mellitus complicated with nonalcoholic fatty liver[J]. Journal of Jiangsu University(Medicine Edition), 2019, 29(1): 62-66.
- [16] 阮雄中, 陈压西. 代谢性炎症与非酒精性脂肪性肝病的发生与发展[J]. 中华消化杂志, 2020, 40(9): 581-584.
- RUAN Xiongzhong, CHEN Yaxi. Metabolic inflammation and the development of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Chinese Journal of Digestion, 2020, 40(9): 581-584.
- [17] 陈冲, 丁世华, 吴东海, 等. 塞来昔布对非酒精性脂肪肝小鼠模型的肝脏脂质堆积及 Akt 磷酸化水平的影响[J]. 现代消化及介入诊疗, 2019, 24(12): 1412-1416.
- CHEN Chong, DING Shihua, WU Donghai, et al. Effect of Celecoxib on lipid accumulation and Akt phosphorylation in non-alcoholic fatty liver of mice[J]. Modern Digestion & Intervention, 2019, 24(12): 1412-1416.
- [18] 曾钊明, 陈建康, 李兴华, 等. 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪肝的临床和实验室特征[J]. 中国医学创新, 2019, 16(35): 136-141.
- ZENG Chaiming, CHEN Jiankang, LI Xinghua, et al. Clinical and laboratory characteristics of chronic hepatitis B complicated with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Medical Innovation of China, 2019, 16(35): 136-141.
- [19] 关阳, 陈金军, 邓红. 非酒精性脂肪性肝病患者人体脂肪成分指标的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(2): 229-232.
- GUAN Yang, CHEN Jinjun, DENG Hong. Body compositions in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Journal of Practical Hepatology, 2018, 21(2): 229-232.
- [20] 杨蕊旭, 胡春秀, 宓余强, 等. 非酒精性脂肪性肝病患者血清脂质组学研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25(2): 122-127.
- YANG Ruixu, HU Chunxiu, MI Yuqiang, et al. A serum lipidomic study of patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2017, 25(2): 122-127.

收稿日期: 2022-04-12

修回日期: 2023-01-31

(上接第102页)

- [13] ISMAIL I T, SHOWALTER M R, FIEHN O. Inborn errors of metabolism in the era of untargeted metabolomics and lipidomics[J]. Metabolites, 2019, 9(10): 242.
- [14] TAN Yanming, GAO Yan, TEO Guoshou, et al. Plasma metabolome and lipidome associations with type 2 diabetes and diabetic nephropathy[J]. Metabolites, 2021, 11(4): 228.
- [15] ARAÚJO A M, CARVALHO M, COSTA V M, et al. In vivo toxicometabolomics reveals multi-organ and urine metabolic changes in mice upon acute exposure to human-relevant doses of 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV)[J]. Archives of Toxicology, 2021, 95(2): 509-527.
- [16] ZHANG Chongzhi, SUN Haizhou, SANG Dan, et al. A blood metabolomics study of metabolic variations in Inner Mongolia white cashmere goats under shortened and natural photoperiod conditions[J]. Canadian Journal of Animal Science, 2019, 99(1). <https://doi.org/10.1139/cjas-2019-000>
- [17] 王欣俞, 赵晋文, 蔡立文, 等. 基于核磁共振氢谱筛选隐性梅毒患者血清代谢组学生物标志物的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(5): 46-50, 72.
- WANG Xinyu, ZHAO Jinwen, CAI Liwen, et al. Study on screening of metabolomic biomarkers in recessive syphilis patients based on ¹H NMR[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(5): 46-50, 72.
- [18] 赵黎君. 代谢组学在糖尿病肾病研究中的应用进展[J]. 重庆医学, 2019, 48(17): 2996-3000.
- ZHAO Lijun. Advances of metabolomics in diabetic nephropathy[J]. Chongqing Medicine, 2019, 48(17): 2996-3000.
- [19] 王美杰, 李雨泽, 肖瑶, 等. 糖尿病与糖尿病并发肺结核患者的血浆代谢组学对比研究[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(1): 36-41.
- WANG Meijie, LI Yuze, XIAO Yao, et al. A comparative study of plasma metabolomics between diabetes and diabetes complicated with pulmonary tuberculosis[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2021, 43(1): 36-41.

收稿日期: 2022-04-24

修回日期: 2023-01-05