

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.01032

## 糖尿病肾病患者尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的改变及其临床意义

吴 坚<sup>1\*</sup>, 丁亚琴<sup>1</sup>, 竺春玲<sup>1</sup>, 邵筱宏<sup>1</sup>, 邹大进<sup>2</sup>

1. 上海市中西医结合医院内分泌科, 上海 200082
2. 第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 探讨糖尿病肾病患者尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(uNGAL)的变化及其临床意义。**方法** 87例2型糖尿病(T2DM)患者根据尿微量白蛋白/尿肌酐比(uAlb/uCr)分为高白蛋白尿组(含大量和微量白蛋白尿患者:uAlb/uCr $\geq$ 30 mg/mmol)和正常白蛋白尿组(uAlb/uCr $<$ 30 mg/mmol);另选择40例正常健康者作为对照,测定其uNGAL水平、血脂及血糖水平等。**结果** uNGAL蛋白表达水平在对照组、正常白蛋白尿组和高白蛋白尿组中逐层递增,差异有统计学意义( $P<0.01$ );检测各指标和糖尿病肾病进展程度的相关性,发现uAlb/uCr、uNGAL、空腹血糖(FBG)、三酰甘油(TG)的表达水平和疾病发展呈正相关( $r_{uAlb/uCr}=0.16$ ,  $r_{uNGAL}=0.18$ ,  $r_{FBG}=0.41$ ,  $r_{TG}=0.72$ ,  $P$ 均 $<0.05$ ),而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和疾病发展呈负相关( $r_{HDL-C}=-2.19$ ,  $P<0.01$ )。**结论** 糖尿病肾病患者uNGAL水平增加,且与肾损伤程度相关,uNGAL可以作为糖尿病肾病早期诊断的指标;血糖及血脂控制不佳会加速糖尿病肾病的进程。

**[关键词]** 尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;糖尿病肾病;诊断**[中图分类号]** R 587.24 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)09-1032-03

### Changes of urine neutrophil gelatinase associated lipocalin in patients with diabetic nephropathy and the related clinical significance

WU Jian<sup>1\*</sup>, DING Ya-qin<sup>1</sup>, ZHU Chun-ling<sup>1</sup>, SHAO Xiao-hong<sup>1</sup>, ZOU Da-jin<sup>2</sup>

1. Department of Endocrinology, Shanghai TCM-integrated Hospital, Shanghai 200082, China
2. Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the changes of urine neutrophil gelatinase associated lipocalin (uNGAL) in patients with diabetic nephropathy (DN) and the related clinical significance. **Methods** Eighty-seven T2DM patients were divided into high albuminuria group (including both microalbuminuria [MA] and clinical nephropathy [CN] patients, uAlb/uCr $\geq$ 30 mg/mmol) and normal albuminuria (NA) group (uAlb/uCr $<$ 30 mg/mmol) according to the ratio of urinary albumin to urinary creatinine abundance. Forty normal subjects were recruited as control. The uNGAL level was measured by ELISA; plasma glucose, blood lipids (TC, TG, HDL-C, and LDL-C) abundance were also analyzed. **Results** The high albuminuria group had the highest uNGAL level, followed by normal albuminuria group and control group, and the former two groups had significantly higher uNGAL levels than the control group ( $P<0.01$ ). Logistic regression analysis showed that uAlb/uCr, uNGAL, FBG and TG levels were positively correlated with the progress of DN ( $r_{uAlb/uCr}=0.16$ ,  $r_{uNGAL}=0.18$ ,  $r_{FBG}=0.41$ , and  $r_{TG}=0.72$ ,  $P<0.05$ ); HDL-C was negatively correlated with the progress of DN ( $r_{HDL-C}=-2.19$ ,  $P<0.01$ ). **Conclusion** uNGAL level is significantly increased in DN patients and correlated with the degree of kidney damage. uNGAL may serve as an indicator for early diagnosis of DN. The elevated plasma glucose and blood lipids can accelerate the progress of DN.

**[Key words]** urine neutrophil gelatinase associated lipocalin; diabetic nephropathies; diagnosis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(9):1032-1034]

糖尿病肾病(DN)是由糖尿病本身引起的肾脏损伤,是糖尿病并发症致死的最主要原因之一,寻找有效的DN早期诊断指标及干预措施是当前临床研究的热点。中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)是目前被报道的,能灵敏

反映早期肾损伤的新型标志物之一<sup>[1-3]</sup>,且其在慢性肾病中的含量与疾病的相关性甚至超过胱抑素C(CysC)。因此,有必要对NGAL与DN的关系进行更深入的研究,为DN的预防、早期诊断和治疗提供有意义的指导<sup>[4-6]</sup>。

**[收稿日期]** 2012-05-01 **[接受日期]** 2012-06-11**[基金项目]** 上海市卫生局课题(2009221)。Supported by Funds of Shanghai Health Bureau (2009221)。**[作者简介]** 吴 坚, 硕士, 硕士生导师, 副主任医师。

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-65415910, E-mail: wuwujianj@126.com

## 1 材料和方法

1.1 病例选择 按世界卫生组织(1999)糖尿病诊断标准<sup>[7]</sup>,选择我院2011年2~5月住院的2型糖尿病(T2DM)患者约87例,采用散射免疫比浊法测定尿微量白蛋白/尿肌酐(uAlb/uCr),分为高白蛋白尿组,含大量和微量白蛋白尿患者(CN+MA: uAlb/uCr $\geq$ 30 mg/mmol)30例(男15例,女15例),年龄为(65.76 $\pm$ 14.72)岁,体质指数(BMI)为(23.60 $\pm$ 3.24) kg/m<sup>2</sup>,病程(7.32 $\pm$ 6.89)年;正常白蛋白尿组(NA: uAlb/uCr < 30 mg/mmol)57例(男30例,女27例),年龄为(61.19 $\pm$ 12.30)岁,BMI为(23.60 $\pm$ 3.82) kg/m<sup>2</sup>,病程(4.64 $\pm$ 6.38)年;所有患者入院后常规行尿尿常规、甲状腺功能、肝肾功能、腹部B超(肝、胆、胰、脾、双肾)、心电图、胸片等检查,以排除高血压、慢性肾炎、泌尿系感染、发热、心功能不全、结缔组织病、糖尿病急性并发症、应激及近期应用肾毒性药物史等其他原因所致的蛋白尿,并常规查眼底,排除无眼底视网膜病变者;确定患者采样前近1个月未使用过胰岛素治疗,2周内未使用过血管紧张素转换酶抑制剂;同时采集同期在医院门诊性别、年龄匹配的健康体检者-对照组40例(男19例,女21例),年龄为(61.78 $\pm$ 7.81)岁,经血尿常规、肝肾功能、胸片、心电图、腹部B超等检查均显示正常,且排除高血压、糖尿病、肾病、结缔组织病、周围血管疾病、心脑血管疾病。

1.2 研究方法 所有受试者均于前1 d禁食、禁饮10 h,次日早晨抽取空腹血。立即检测空腹血糖(FBG)、谷丙转氨酶(ALT)、血肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、血脂[总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等]。尿标本离心取上清液分装后贮于-70℃冰箱内待集中检测。用氧化酶法测定

FBG、TG,分别用胆固醇氧化酶法、酶比色法、速率法、动态紫外法、尿酸酶法、免疫比浊法测定 TC、血尿 Cr、ALT、BUN、UA,用清除法测定 HDL-C、LDL-C,均用型号为 HITACHI 7600-020 日立全自动生化仪检测;用散射比浊法测定 uAlb(BNProSPec 特定蛋白仪);同时采用典型的双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定样品中尿 NGAL(uNGAL)的水平,NGAL Human ELISA 试剂盒购自 abcam 公司,采用 Thermo Scientific HERA cell CO<sub>2</sub> 细胞培养箱温育,采用 Thermo Scientific Multiskan Spectrum 酶标仪检测信号。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 10.0 软件进行统计分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 *t* 检验比较组间差异;多因素 logistic 回归分析了解 uNGAL 是否为 uAlb/uCr 的独立影响因素;多因素累积 logistic 回归检测各指标和 DN 进展程度相关性。

## 2 结果

3 组的年龄、性别、病程、BMI 相比较差异无统计学意义。FBG、uNGAL 蛋白表达水平在对照组、NA 组和 CN+MA 组中逐层递增,3 组间差异有统计学意义( $P < 0.01$ );CN+MA 组和 NA 组的舒张压(DBP)及收缩压(SBP)、TG 均高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );CN+MA 组的 uAlb/uCr 高于 NA 组和对照组并差异有统计学意义( $P < 0.01$ );3 组的 TC、LDL-C、BUN、Cr、UA、ALT 相比较差异均无统计学意义(表 1)。uAlb/uCr 与 uNGAL、FBG、ALT、Cr、BUN、UA、TC、TG、LDL-C、HDL-C 多因素回归分析显示 uNGAL 与 uAlb/uCr 有弱正相关性( $r = 1.102, P > 0.05$ )。检测发现 uAlb/uCr、uNGAL、FBG、TG 的表达水平和疾病进展呈正相关( $r_{uAlb/uCr} = 0.16, r_{uNGAL} = 0.18, r_{FBG} = 0.41, r_{TG} = 0.72, P$  均  $< 0.05$ ),而 HDL-C 和疾病进展呈负相关( $r_{HDL-C} = -2.19; P < 0.01$ )。

表 1 三组间各项指标的比较

| 指标   | CN+MA (n=30)                          | NA (n=57)            | 对照组 (n=40)         |
|--|---------------------------------------|----------------------|--------------------|
| 年龄(岁)  | 65.76 $\pm$ 14.72                     | 61.19 $\pm$ 12.30    | 61.78 $\pm$ 7.81   |
| 收缩压 <i>p</i> /mmHg                                       | 133.10 $\pm$ 13.58**                  | 127.53 $\pm$ 16.41** | 117.37 $\pm$ 9.60  |
| 舒张压 <i>p</i> /mmHg                                       | 77.03 $\pm$ 9.78**                    | 77.46 $\pm$ 11.87**  | 70.25 $\pm$ 7.75   |
| uAlb/uCr <i>p</i> <sub>B</sub> /(mg·mmol <sup>-1</sup> ) | 778.89 $\pm$ 1557.66** $\Delta\Delta$ | 11.30 $\pm$ 6.45     | 11.08 $\pm$ 10.92  |
| uNGAL  | 200.80 $\pm$ 67.59** $\Delta\Delta$   | 108.49 $\pm$ 59.82** | 17.28 $\pm$ 6.33   |
| 空腹血糖 <i>c</i> <sub>B</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )      | 10.26 $\pm$ 6.59** $\Delta\Delta$     | 7.68 $\pm$ 2.48**    | 5.32 $\pm$ 0.43    |
| 总胆固醇 <i>c</i> <sub>B</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )      | 5.09 $\pm$ 1.62                       | 5.60 $\pm$ 7.62      | 4.87 $\pm$ 0.76    |
| 三酰甘油 <i>c</i> <sub>B</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )      | 1.74 $\pm$ 1.20**                     | 1.53 $\pm$ 0.84**    | 1.01 $\pm$ 0.41    |
| LDL-C <i>c</i> <sub>B</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )     | 3.08 $\pm$ 1.43                       | 2.68 $\pm$ 0.92      | 2.66 $\pm$ 0.92    |
| HDL-C <i>c</i> <sub>B</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )     | 1.24 $\pm$ 0.38**                     | 1.26 $\pm$ 0.41**    | 1.82 $\pm$ 0.43    |
| 尿素氮 <i>c</i> <sub>B</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )       | 10.31 $\pm$ 17.7                      | 5.88 $\pm$ 2.03      | 5.93 $\pm$ 1.48    |
| 血肌酐 <i>c</i> <sub>B</sub> /( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> ) | 70.46 $\pm$ 60.67                     | 57.94 $\pm$ 14.42    | 64.45 $\pm$ 14.10  |
| 尿酸 <i>c</i> <sub>B</sub> /( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> )  | 301.92 $\pm$ 138.29                   | 294.43 $\pm$ 66.27   | 276.55 $\pm$ 60.83 |
| 谷丙转氨酶 <i>z</i> <sub>B</sub> /(U·L <sup>-1</sup> )        | 19.60 $\pm$ 14.15                     | 21.12 $\pm$ 12.90    | 20.50 $\pm$ 7.20   |

CN+MA: 含大量和微量白蛋白尿患者组; NA: 正常白蛋白尿组; uAlb/uCr: 尿微量白蛋白/尿肌酐; uNGAL: 尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇。 \*\*  $P < 0.01$  与对照组比较;  $\Delta\Delta P < 0.01$  与 NA 组比较

## 3 讨论

DN 又称糖尿病肾小球硬化症,是 T2DM 最常见和最严重的微血管并发症,严重危害了人类的健康和生命<sup>[8]</sup>。目前

DN 最可靠的鉴别诊断方法是肾脏活组织病理检查,但肾活检取材不便,具有创伤性,且费用高昂;在 DN 早期阶段,肾活检更难开展。目前认为 DN 早期的肾脏病理改变大多是可逆的,如能早期诊断并及时进行治疗,可阻止病情向不可逆的

临床蛋白尿阶段发展,这对提高患者今后的生存质量和减轻医疗等社会经济负担具有重大意义<sup>[1,8]</sup>。早期诊断、早期介入可将肾脏合并症的发生推迟24年,减少透析、肾移植率60%,延长预期寿命(中位数)14年<sup>[9]</sup>。因此, DN的早期诊断和预后评估对患者的及时诊疗非常重要,非侵入性的、用于早期评价糖尿病肾脏损伤的生物标志物的研究也已逐渐受到重视<sup>[8]</sup>。

NGAL是脂质运载蛋白超家族的一员,可通过肠菌素与Fe<sup>2+</sup>形成复合物(NGAL/肠菌素/Fe<sup>2+</sup>)。该复合物可通过介导铁离子向细胞内的转运,诱导肾脏祖细胞向早期肾小管上皮细胞分化<sup>[2]</sup>。因此,NGAL被认为与胚胎肾的发育密切相关,是肾脏生长发育、基本结构得以形成的重要保障<sup>[3,10]</sup>。正常情况下NGAL表达水平较低,而在肾脏的各种急慢性病变过程中,NGAL蛋白还可诱导肾小管上皮细胞修复再生,是肾脏功能得以恢复的一种保护性因素<sup>[3,10-11]</sup>。在缺血再灌注诱导小鼠肾损伤模型中,NGAL是肾小管细胞最早表达的产物之一,也是尿液中最早测得和水平上升最快的标志物,在缺血再灌注后2h即可在尿中检测到,3h表达量即可增加4倍,远早于其他标志物<sup>[11]</sup>。有研究表明uNGAL(而非血)有可能成为具有极高特异性及敏感性的糖尿病导致的肾损伤的标志物<sup>[4,12]</sup>。

本研究结果表明,糖尿病患者uNGAL水平均较对照组升高,且uNGAL水平随uAlb/uCr的增加而逐渐升高,表明uNGAL水平与uAlb/uCr相关,与肾损害的严重程度相一致;NA组的uNGAL水平较对照组增高,说明uNGAL水平在病理性蛋白尿出现之前的阶段就开始升高,提示DN的肾小管受损早于其典型肾小球损伤,与uAlb/uCr相比,uNGAL水平可能是评估DN更早期的生物学指标;多因素回归分析表明uNGAL与uAlb/uCr有弱正相关性( $r = 1.102, P > 0.05$ ),说明uNGAL不能成为uAlb/uCr的独立影响因素。本研究例数少,未能将大量白蛋白尿组(CN: uAlb/uCr > 300 mg/mmol)及微量白蛋白尿组(MA: uAlb/uCr 30~300 mg/mmol)患者分开,可能会影响此结果。本研究还发现uAlb/uCr、uNGAL、FBG、TG的表达水平与疾病进展呈正相关,而HDL-C与疾病进展呈负相关,说明uAlb/uCr和uNGAL的水平与DN的进程密切相关,血糖、血脂控制不佳会加速DN的发生、发展。

综上所述,糖尿病患者的uNGAL水平升高,同时uNGAL水平与DN患者肾损害的严重程度相一致;另一方面在糖尿病患者正常白蛋白尿组的uNGAL水平就有所增高,提示uNGAL水平的升高是保护肾脏功能的一种代偿和防御性机制,这一点与既往的研究<sup>[3,9-10]</sup>相类似。本研究结果表明,uNGAL的检测可以作为DN早期诊断的非侵入性标志物,有利于糖尿病肾病的早期治疗和干预。我们下一步准备对受试患者进行随访,特别是对那些uNGAL增高、但尚未发生糖尿病肾损伤的患者进行密切的追踪,以期得到反映uNGAL检测对DN早期诊断及DN进展预测有应用价值的临床数据。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Lebkowska U, Malyszko J, Lebkowska A, Koc-Zorawska E, Lebkowski W, Malyszko J S, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C could predict renal outcome in patients undergoing kidney allograft transplantation: a prospective study[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41: 154-157.
- [2] Tuladhar S M, Püntmann V O, Soni M, Punjabi P P, Bogle R G. Rapid detection of acute kidney injury by plasma and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiopulmonary bypass[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2009, 53: 261-266.
- [3] Di Grande A, Giuffrida C, Carpinteri G, Narbone G, Pirrone G, Di Mauro A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel biomarker for the early diagnosis of acute kidney injury in the emergency department[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2009, 13: 197-200.
- [4] Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons[J]. *Kidney Int*, 2009, 75: 285-294.
- [5] Bolignano D, Coppolino G, Lacquaniti A, Nicocia G, Buemi M. Pathological and prognostic value of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in macroproteinuric patients with worsening renal function[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2008, 31: 274-279.
- [6] Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko J S, Poniatowski B, Pawlak K, et al. NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) and cystatin C: are they good predictors of contrast nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine? [J]. *Int J Cardiol*, 2008, 127: 290-291.
- [7] Alberti K G, Zimmet P Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation[J]. *Diabet Med*, 1998, 15: 539-553.
- [8] Jefferson J A, Shankland S J, Pichler R H. Proteinuria in diabetic kidney disease: a mechanistic viewpoint[J]. *Kidney Int*, 2008, 74: 22-36.
- [9] Kanauchi M, Nishioka H, Hashimoto T, Dohi K. Diagnostic significance of urinary transferrin in diabetic nephropathy[J]. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*, 1995, 37: 649-654.
- [10] Malyszko J, Malyszko J S, Mysliwiec M. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin correlates with kidney function in renal allograft recipients[J]. *Clin Transplant*, 2009, 23: 681-686.
- [11] Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Sitniewska E, Malyszko J S, Poniatowski B, Dobrzycki S. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in non-diabetic patients with stage 2-4 chronic kidney disease[J]. *Ren Fail*, 2008, 30: 625-628.
- [12] Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Fazio M R, Nicocia G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2009, 32: 91-98.

[本文编辑] 尹 茶