

• 临床检验研究论著 •

CysC、SAA 和尿微量清蛋白在早期糖尿病肾病诊断中的应用

蒋 玲, 秦继宝, 冯小娟[△]

(连云港市东方医院检验科, 江苏连云港 222042)

摘要:目的 探讨血清胱抑素 C(CysC)、淀粉样蛋白 A(SAA)和尿微量清蛋白(malb)联合检测在糖尿病肾病(DN)早期肾损伤诊断中的应用价值。方法 收集 112 例糖尿病(DM)患者,根据尿微量清蛋白水平分为糖尿病无肾病组(malb<25 mg/L)、早期糖尿病肾病组(malb 25~300 mg/L),选取 50 例体检健康者作为对照组。采用免疫比浊法检测血清 CysC 和尿 malb 水平,酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 SAA 水平。同时检测血糖(GLU)、血肌酐(Cr)、糖化血红蛋白(HbA1C)等生化指标。结果 数据进行统计学分析,DM 患者 2 组 CysC、SAA、malb 水平均明显高于健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),且随着肾损伤的加重而升高;DM 患者两组 GLU、HbA1C 与健康对照组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 DM 患者血清 CysC 与 SAA 水平随着尿 malb 的增加而升高。血清 CysC、SAA 和 malb 联合检测可提高早期 DN 肾损伤的检出率。

关键词:糖尿病肾病; 血清胱抑素 C; 淀粉样蛋白 A; 尿微量清蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)24-3355-03

Application of serum CysC, SAA and urinary micro-albumin detection in early diagnosis of diabetic nephropathy

Jiang Ling, Qin Jibao, Feng Xiaojuan[△]

(Department of Clinical Laboratory, Lianyungang Municipal Oriental Hospital, Lianyungang, Jiangsu 222042, China)

Abstract: Objective To discuss the application value of the combination detection of serum cystatin C(CysC), serum amyloid A(SAA) and urinary microalbumin(malb) for the early diagnosis of diabetic nephropathy(DN). **Methods** 112 cases of diabetic mellitus(DM) were selected and divided into the non-DN group(malb<25 mg/L) and the early DN group(malb 30—299 mg/L) according to the urinary microalbumin level. 50 cases of healthy subjects were selected as the control group. The levels of serum CysC and malb were measured by immuno-scatter turbidimetry and SAA was measured by enzyme-linked immunosorbent assays(ELISA). At the same time, the biochemical indexes of GLU, Cr, HbA1C were detected too. **Results** The levels of CysC, SAA and malb in the DM two groups were significantly higher than those in the healthy control group with statistical differences($P<0.05$), moreover which were increased with the renal damage aggravation; the levels in the early DN group were significantly higher than those in the non-DN group with statistical differences($P<0.05$). The levels of GLU and HbA1C in the DM two groups had statistically significant differences compared with the healthy control group($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum CysC and SAA in the DM patients are increased with the urinary malb level increase. The combined detection of CysC, SAA and malb could increase the diagnostic rate of the renal damage in early DN.

Key words: diabetic nephropathy; cystatin C; serum amyloid A; urinary microalbumin

糖尿病(diabetic mellitus, DM)是一种常见的内分泌代谢性疾病,病因和发病机制目前尚未完全阐明,而糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病微血管病变的常见而严重的并发症之一,是导致 DM 患者死亡的主要原因之一^[1],其中早期肾损害占 18%。DN 早期尿常规蛋白多为阴性,待蛋白阳性时肾损伤大多已发展为不可逆性。近年来反映肾小球损伤较为敏感的标志物有血清胱抑素 C(cystatin C, CysC)和尿微量清蛋白(urinary microalbumin, malb),这 2 个指标在肾小球滤过膜通透性改变的早期即可发生变化,可提高 DN 患者的早期检出率。血清淀粉样蛋白 A(serum amyloid A, SAA)是一种急性时相反应蛋白,属于载脂蛋白家族中的异质类蛋白质,是炎症因素的标志物之一,与 DM 及其并发症的发生、发展和预后密切相关。现通过检测血清 CysC、SAA 和尿 malb 水平,评估三者在 DN 早期肾损害诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院内分泌科 2012 年 9 月至 2013 年 9 月住院 DM 患者 112 例,均符合 1999 年糖尿病诊断标准。根据尿 malb 水平分为糖尿病无肾病(malb<25 mg/L)55 例,男 28 例,女 27 例,年龄 48~62 岁,平均(54.2±8.0)岁;早期糖

尿病肾病组(malb 25~300 mg/L)57 例,男 29 例,女 28 例,年龄 51~63 岁,平均年龄(58.0±12.6)岁。选择本院同期 50 例体检健康者作为健康对照组,其中男 26 例,女 24 例,平均(51.0±6.0)岁。各组均无肝、肾及心血管等疾病,病程稳定,无急性代谢紊乱,无急、慢性肾脏疾病,近期末使用过影响肾功能的药物及降脂药物且多次尿常规检查尿蛋白为阴性。3 组在年龄、性别等方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 CysC、测定仪器采用西门子 Dimension RXL Max 全自动生化分析仪,试剂由北京九强生物技术有限公司提供的 CysC 试剂盒及其配套的定标液和质控品;SAA 测定采用 ELISA 法,试剂盒购于奥地利 BIMEDIOCA 公司;尿 malb 检测采用散射比浊法,仪器为 SIMENS BNProSpec 全自动蛋白分析仪及尿 malb 配套试剂。

1.3 方法 标本采集:采集所有研究对象空腹静脉血 5 mL,放置室温 20 min 待血液凝固,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清于-20℃低温冰箱保存,用于检测 CysC、SAA 水平。采集所有研究对象晨尿 5 mL,采用特种蛋白仪(BNP-100)及配套试剂检测尿 malb。

血清标本预处理:检测前将所有标本从-20℃低温冰箱

取出,置 37℃水浴箱快速复融,为避免其他蛋白的干扰,将所有标本于离心机 3 000 r/min 离心 10 min 后,吸取上清液检测血清 CysC 水平,检测前用定标液对仪器进行定标,检测质控品,将仪器调整至最佳状态。血清 SAA 水平检测采用 ELISA 方法,所有步骤均按说明书操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行处理,计量资料结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料比较采用 χ^2 检验,计量资料比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 糖尿病无肾病组与早期糖尿病肾病组血清 CysC,SAA 和尿 malb 水平与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且随着肾损伤的程度逐渐升高。早期糖尿病肾病组血清 CysC 水平、SAA 水平和尿 malb 水平与糖尿病无肾病组比较差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 两组研究对象各项指标检测结果比较(mg/L, $\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	CysC	SAA	malb
糖尿病无肾病组	55	1.23±0.14 [*]	16.43±2.73 [*]	19.26±5.46 [*]
早期糖尿病肾病组	57	2.63±0.69 ^{*#}	22.26±5.46 ^{*#}	33.65±10.23 ^{*#}
健康对照组	50	0.76±0.10	4.01±2.45	1.68±1.12

^{*}: $P<0.05$,与健康对照组比较;[#]: $P<0.05$,与糖尿病无肾病组比较。

2.2 糖尿病无肾病组与早期糖尿病肾病组以及健康对照组其他生化指标的结果见表 2。结果显示,早期糖尿病肾病组与糖尿病无肾病组 GLU、HbA1C 与健康对照组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),3 组 Cr 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 糖尿病无肾病组与早期糖尿病肾病组以及健康对照组其他指标的结果				
项目	健康对照组	糖尿病无肾病组	早期糖尿病肾病组	<i>P</i> 值
<i>n</i>	50	55	57	0.837
男/女	26/24	28/27	29/28	0.214
年龄(岁)	51.0±6.0	54.2±8.0	58.0±12.6	0.168
GLU(mmol/L)	5.2±0.4	10.0±3.9 [*]	11.6±6.3 [*]	0.000
HbA1C(%)	4.7±1.3	8.7±1.9 [*]	9.3±2.4 [*]	0.000
Cr(μmol/L)	69.0±13.2	71.2±16.8	73.5±27.3	0.152

^{*}: $P<0.05$,与健康对照组比较;[#]: $P<0.05$,与早期糖尿病肾病组比较。

3 讨 论

DM 我国的发病率日益升高,DM 是一种以高血糖为主要特征的代谢性疾病,胰岛素分泌不足或者胰岛素功能不足(胰岛素抵抗,敏感性下降)是 DM 的主要病理生理基础,其对人体的影响是引起糖、蛋白质、脂肪代谢的紊乱并继发水、电解质代谢失衡。DM 并发症可导致多器官功能的损害,包括对肾脏、眼睛、神经心血管的危害,对肾脏的损害可导致 DN,这是 DM 常见而严重的微血管并发症之一,是导致终末期肾病的重要原因。因此,早期实验室诊断和临床治疗对阻止 DN 的发展以及 DN 的预后具有重要意义。

CysC 是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,也被称为 γ -微量蛋白或 γ -后球蛋白,由 122 个氨基酸残基组成,是一种碱性的非糖化蛋白质,相对分子质量较小,为 13.3×10^3 。机体几乎所

有有核细胞均可产生 CysC,并且产生率恒定。体内产生的 CysC 广泛存在于各种组织的有核细胞和体液中,血液循环中的 CysC 经过肾小球滤过被清除,这是 CysC 被清除的唯一途径,并在肾近曲小管重吸收,重吸收后被完全代谢分解,不返回血液。因此,血中 CysC 浓度仅由一个因素——肾小球滤过率(GFR)来决定,而与其他因素如饮食、性别、年龄等无关。当肾小球出现损伤时,肾小球滤过功能降低,血中 CysC 浓度即可升高,并且升高的程度随着肾小球滤过功能损伤的程度而变化,所以 CysC 是反映肾小球滤过率变化的理想的内源性标志物^[2]。有研究表明,血中 CysC 的半衰期为 1.5 h,而血肌酐的半衰期较长,是 CysC 半衰期的 3 倍,故在反映肾损伤早期肾小球滤过率的变化方面,CysC 较血肌酐更为敏感。因此 CysC 可作为反映肾功能早期变化的非常有价值的指标之一^[3]。本文研究显示,糖尿病无肾病组与早期糖尿病肾病组血清 CysC 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),且早期糖尿病肾病组与糖尿病无肾病组血清 CysC 水平比较,差异也有统计学意义($P<0.05$)。说明糖尿病肾损伤早期 CysC 的变化就已经很明显,CysC 对反映早期肾损害有一定的临床价值。

血清 SAA 是一种急性时相反应蛋白,是一种多肽,包含 104 个氨基酸,相对分子质量约 12 000。健康人血清 SAA 浓度平均值为 2.33 mg/L,在急性时相反应时,经 IL-1、IL-6 和 TNF- α 刺激,其浓度可以增加 1 000 倍之多^[4],但半衰期只有 50 min 左右。SAA 的降解产物能以淀粉样蛋白 A(SAA)原纤维的方式沉积在不同的器官中,这是 SAA 一个特别重要的特性,而造成器官的一种严重的慢性炎性并发症。DN 早期存在慢性炎性反应时,肾小球毛细血管内皮损伤,基底膜和生理功能减弱,血清 SAA 水平也随着升高。本研究结果显示,糖尿病无肾病组与早期糖尿病肾病组血清 SAA 水平分别与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),表明 DM 组患者体内存在炎症反应,与相关报道一致^[5]。作为炎症因子,SAA 可激活中性粒细胞,增加中性粒细胞内活性氧(ROX)的产生^[6],使肾脏组织处于氧化应激状态,致肾实质和肾血管变性坏死;同时,中性粒细胞受到 SAA 刺激后,可分泌大量 TNF- α 、IL-6 和 IL-8^[7],形成复杂的细胞因子网络,通过自分泌或旁分泌的方式作用于肾脏,使炎症效应不断扩大,促进肾小球增生肥大,合成更多的胶原,最终可导致肾小球硬化,促进 DN 的发展。陈月梅等^[8]发现,随着 DN 患者肾功能的恶化,血清 SAA 水平逐步增高,并且和尿清蛋白呈显著正相关,同时随着病程的不断发展,血清 SAA 会逐渐增高,提示 SAA 与 DN 严重程度相关。SAA 可用做糖尿病肾病患者病情严重程度的评估指标,值得临床推广使用。

临床中,通常应用 malb 指标来监测肾病的发生,malb 的检测是早期发现肾病最敏感、最可靠的诊断指标。生理条件下尿液中仅出现极少量清蛋白,当肾脏血管发生病变,改变了肾脏滤过蛋白质(尤其是清蛋白)的功能时,蛋白质会渗漏到尿中,就形成蛋白尿。DN 的最初表现是出现 malb 尿,同时 malb 尿也作为临床诊断早期 DN 的主要依据。不仅如此,尿 malb 阳性是血管损伤的早期标志,也是 DM 合并血管疾病的危险因素,与 DN 的严重程度及病情进展密切相关。因此,在 DN 的诊断中,尿 malb 的检测显得尤其重要。在 DN 肾脏损伤早期,由于肾小球滤过膜上的负电荷减少和高压过滤的作用,使滤过孔径变大,排泄到尿中的蛋白量增加,并随着肾小球的损伤严重程度而加重。本研究结果表明,DM 组患者尿 malb 水平与健康对照组比较,差异有统计学意义(下转第 3359 页)

性, Jung 等^[12]研究显示尿 $\alpha 1$ -MG 检测有利于预防肾毒性药物使用时肾功能损害的发生和发展。潘涛和肖志辉^[13]研究显示尿 $\alpha 1$ -MG 可作为新生儿窒息肾功能损害早期的判断指标。本研究显示, 随着肾小管-间质积分增加和损害加重, 尿 $\alpha 1$ -MG 的浓度也相应显著地升高, 以此来反映肾脏损害严重和预后差效果; 而且每达到一定的浓度范围, 就可大致间接判断肾小管-间质积分情况, 具有重要的临床价值。肾小管细胞, 尤其是皮质近曲小管细胞内含有丰富的 NAG, 主要来自近球小管的溶酶体。当近曲肾小管受到损伤时, 尿中 NAG 的活性显著增高, 且这较其他酶的增高更早出现^[14]。因此, 测定 NAG 对肾小管损害的早期诊断有较大的价值^[15]。本研究显示, NAG 浓度虽然在肾小管-间质积分的 II、III 级没有统计学意义, 但达到 III 级浓度范围时可以反映肾小管损害已经严重。从 NAG 和 $\alpha 1$ -MG 的显著正相关性^[16] (在 I、II、IV 级都呈正相关, III 级呈负相关但 $P>0.05$) 及检测效能来看, 考虑到两者在肾小管诊断的灵敏度和特异性都很高, 以及酶和蛋白的稳定性, 可以在临床检验时选择 $\alpha 1$ -MG 来检测, 避免重复检查, 减轻医疗费用和患者的经济负担。

CysC、 $\alpha 1$ -MG、mAlb 是肾组织学病变的独立危险因素, 3 项指标联合诊断早期肾损害的阳性率 96.55%, 高于单独诊断阳性率 ($P<0.05$)^[17], CysC (40.63%), mAlb (87.5%), $\alpha 1$ -MG (69.23%)。综合 3 项指标的灵敏性、特异性和诊断效能特点, 通过各项指标的联合检测, 其各自检测结果会更加全面地反映出肾病的病变部位和严重程度, 从而更好地帮助医生指导治疗, 准确有效地判断预后, 临床实践上具有一定的应用价值, 适宜于临床推广应用。

参考文献

- [1] 葛均波, 徐永健. 内科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 459-488.
- [2] 李玉林. 病理学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 345-351.
- [3] Goldstein SL, Devarajan P. Acute kidney injury in childhood: should we be worried about progression to CKD[J]. *Pediatric Nephrology*, 2011, 23(12): 1200-1202.
- [4] 张海燕. 肾脏病学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1424-

1425.

- [5] Swiatlo E, King J, Nabors CS, et al. Pneumococcal surface protein A is expressed in vivo, and antibodies to PspA are effective for therapy in a murine model of pneumococcal sepsis[J]. *Infect Immun*, 2003, 12(71): 7149-7153.
- [6] Hollingshead SK, Becker R, Briles DE. Diversity of PspA: mosaic genes and evidence for past recombination in *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Infect Immun*, 2000, 68(10): 5889-5900.
- [7] 府伟灵, 徐克前. 临床生物化学检验[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 182-206.
- [8] 何小燕, 肖九长. 胱抑素 C 在 II 型糖尿病肾病早期诊断中的临床应用[J]. *实验与检验医学*, 2011, 29(3): 323-324.
- [9] 胡一平, 陈树芳, 吕良杰. 血清胱抑素 C、尿微量蛋白联合检测在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的临床价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2010(22): 1689-1690.
- [10] 熊建辉, 吴凯, 高龙. 辨析 CysC、RBP、MA、NAG、 $\beta 2$ -MG 对 2 型糖尿病肾脏早期损害的诊断价值[J]. *实验与检验医学*, 2010, 28(3): 243-244.
- [11] 沈霞. 现代生物化学检验与临床实践[M]. 上海: 科学技术文献出版社, 2009: 119-120.
- [12] Jung K, Pergande M, Graubaus HJ, et al. Urinary proteins and enzymes as early indicators of renal dysfunction in chronic exposure to cadmium [J]. *Clin Chem*, 1993, 39(5): 757-765.
- [13] 潘涛, 肖志辉. 窒息新生儿尿微量蛋白和血 BUN、Cr 的检测和临床意义[J]. *中华全科医学*, 2010, 8(10): 1232-1233.
- [14] Levey AS. National kidney foundation practice guide. lines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification [J]. *Ann Intern Med*, 2003, 39(1): 137-147.
- [15] Martin P, Hampton KK, Walton C, et al. Microproteinuria in type 2 diabetes mellitus from diagnosis [J]. *Diabet Med*, 1990, 7(2): 315-318.
- [16] 吴红梅, 乌云, 刘宇平. 四指标联合检测对慢性丙型肝炎患者早期肾损害诊断的价值[J]. *医学研究杂志*, 2008, 37(1): 77-80.
- [17] 陈燕, 赵敏, 张家红, 等. 尿微量蛋白检查对糖尿病早期肾损伤的诊断价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2003, 26(5): 562-564.

(收稿日期: 2014-06-28)

(上接第 3356 页)

($P<0.05$), DM 组中尿 malb 水平早期糖尿病肾病组与糖尿病无肾病组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 表明尿 malb 水平与肾损害程度密切相关, 与相关报道一致^[9], 在普通尿常规筛查蛋白阴性的患者, 尿中却已经出现 malb, 可以提前筛选出早期肾损伤, 及时进行有效治疗。所以尿 malb 作为敏感而重要的早期标志物来监测早期肾损伤, 具有极大的临床意义。

综上所述, CysC、SAA 和尿 malb 3 个标志物对于诊断早期肾损伤都具有敏感、可靠的特点, 利用 CysC、SAA 和尿 malb 3 个指标的联合检测可以提高 DN 早期肾损害的检出率。DM 患者可定期检测这几个指标, 监测 DN 早期肾损害, 以便临床早期进行干预治疗, 对于抑制 DN 的进展, 改善 DN 的预后都有重大意义。

参考文献

- [1] 郑新山. 血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白在糖尿病早期肾损害中的诊断价值[J]. *检验医学与临床*, 2009, 6(1): 34-36.
- [2] 李晓娟. 胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 的临床应用[J]. *国外医学临床生物化学与检验学分册*, 2004, 25(1): 9-10.
- [3] 孔岩, 杨建梅, 徐国宾, 等. 对 2 型糖尿病患者肾小球滤过功能的

评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(11): 1219-1222.

- [4] Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute phase reactant[J]. *Eur J Biochem*, 1999, 265(5): 501-523.
- [5] Leinonen E, Hurt CE, Wiklund O, et al. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2003, 166(2): 387-394.
- [6] Bjorkman L, Karlsson J, Karlsson A, et al. Serum amyloid A mediates human neutrophil production of reactive oxygen species through a receptor independent of formyl peptide receptor like-1 [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(2): 245-253.
- [7] Poitou C, Coussieu C, Rouault C, et al. Serum amyloid A: a marker of adiposity-induced low-grade inflammation but not of metabolic status[J]. *Obesity*, 2006, 14(3): 309-318.
- [8] 陈月梅, 蒋洪敏. 血清淀粉样蛋白 A 与肾脏相关疾病的研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(7): 1334-1336.
- [9] 崔剑, 周爱华, 管爱军, 等. 血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白联合检测在糖尿病早期肾损伤诊断中的意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 29(1): 131-132.

(收稿日期: 2014-04-16)