

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.032

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.032>

糖尿病肾病相关生物学标志物的研究进展

吴琦, 吕慧妍 综述 郝丽荣 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院肾内科, 哈尔滨 150001)

[摘要] 糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是引起糖尿病相关性死亡的主要原因之一。尿微量白蛋白是目前诊断DN最常用的临床指标, 然而部分DN患者虽然已经有了晚期肾组织病理上的改变, 但尿微量白蛋白仍然处于正常范围内。因此, 寻找新的灵敏、特异的生物学指标对于DN的诊断及判断疾病进程有重要意义。近年来, 肾损伤相关标志物、与DN发病机制相关的生物标志物等已经逐渐成为临床研究的热点, 而蛋白质组学技术的发展也为寻找DN相关的生物标志物提供了新的指导方向。

[关键词] 糖尿病肾病; 生物学标志物; 肾损伤; 发病机制; 蛋白质组学

Advances of biological markers related to diabetic nephropathy

WU Qi, LÜ Huiyan, HAO Lirong

(Department of Nephropathy, First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract Diabetic nephropathy (DN) is one of the main causes of diabetes-related death. Urinary microalbumin is the most commonly used clinical indicator for the diagnosis of DN. However, some DN patients have advanced renal pathological changes, but urinary microalbumin is still in the normal range. Therefore, the search for new sensitive and specific biological indicators is of great significance for the diagnosis of DN and for judging disease progression. In recent years, markers related to kidney injury and biomarkers related to the pathogenesis of DN have gradually become hotspots in clinical research, and the development of proteomics technology has provided a new direction for the search for DN-related biomarkers.

Keywords diabetic nephropathy; biological markers; kidney injury; pathogenesis; proteomics

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)引起糖尿病相关性死亡的主要原因之一^[1]。既往研究^[2]表明: 原发性肾小球肾炎是我国慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)发生最主要的病因。DN已超过肾小

球肾炎居于首位, 随着糖尿病患病率的日益提高, DN可能将成为终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD)的首位病因^[2]。

病理活检是目前国际上诊断DN的金标准, 但

收稿日期 (Date of reception): 2019-06-13

通信作者 (Corresponding author): 郝丽荣, Email: hao_lirong@163.com

其是一种有创性检查,对临床诊断明确的DN意义不大。尿微量白蛋白是目前诊断及评估DN进展最常用的指标,然而它不能直接测量肾组织损伤,而且对肾功能的微小变化相对不敏感^[3]。因此,很多学者通过大量研究寻找新的用于检测的DN标志物,希望其能够用于诊断DN、检测肾损伤或用于评估病情严重性等。

1 肾损伤相关标志物

1.1 肾小球损伤相关标志物——Podocalyxin

足细胞是位于肾小球基底膜外的脏层上皮细胞,其与内皮细胞、肾小球基底膜共同构成肾小球滤过屏障。DN早期就会出现肾小球足细胞的损伤,而足细胞的损伤进一步加速肾小球滤过屏障的破坏,并对蛋白尿的产生和肾损伤的进展起重要作用^[4]。

Podocalyxin是一种带有负电荷的唾液黏蛋白,主要位于足细胞顶膜区,对于维持足细胞的正常结构和滤过屏障功能有重要作用。Shoji等^[5]通过测量240名2型糖尿病患者尿液Podocalyxin的水平发现:其与糖尿病患者尿微量白蛋白水平呈正相关。Lin等^[6]招募了36名2型糖尿病患者,在常规治疗的基础上用 α -硫辛酸治疗6个月后,发现 α -硫辛酸能够通过抑制体内的氧化应激降低2型糖尿病患者尿液中的Podocalyxin水平,这表明尿液中的Podocalyxin不仅是DN早期的标志物,也可能是DN的一个潜在的治疗靶点。为探索肾纤维化标志物与足细胞损伤的关系,Lopes等^[7]通过检测患有包括DN在内的肾小球疾病患者肾脏Podocalyxin等相关标志物的表达发现:与对照组相比,Podocalyxin mRNA在肾中的表达下调,说明肾组织的Podocalyxin表达水平可能提示包括DN在内的肾小球疾病的肾纤维化程度。

1.2 肾小管损伤相关标志物——Periostin

除肾小球损伤外,肾小管损伤在DN的发生、发展中也具有重要意义^[8]。DN发生时,肾小管上皮细胞在高糖诱导下可产生多种细胞因子,并释放多种氧化应激产物,导致肾小管上皮细胞损伤^[9]。

Periostin即成骨细胞特异性因子2(osteoblast-specific factor 2),是一种可溶性的细胞外基质蛋白,主要在骨骼中表达,近年来被认为与肾损伤有关^[10]。Wantanasiri等^[11]通过对狼疮性肾炎患者的42个肾组织进行染色发现:肾小管是Periostin染色的主要位置,推测Periostin可能是肾小管损伤的一种标志物。Satirapoj等^[12]研究发现:DN患者

尿液中的Periostin水平明显高于健康对照组,且尿Periostin的水平与蛋白尿水平呈正相关,而与肾小球滤过率呈负相关。最近的研究^[13]发现:DN患者血清中Periostin水平亦与患者尿微量白蛋白排泄量呈正相关,并且在上皮-间充质转化期间增多,说明其可能作为与DN发病有关的一种生物标志物,并与DN的分期有关。

2 与发病机制相关的生物标志物

2.1 炎症因子

炎症反应在DN的进展中具有关键作用^[14],许多炎症细胞因子与DN的发病机制有关,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)等。

2.1.1 TNF- α

TNF- α 是一种具有广泛生物活性的多肽,由血液中活化的单核细胞和组织中活化的巨噬细胞产生^[15],TNF- α 通过磷酸二酯酶依赖性机制导致局部产生活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)^[16],而这种氧化应激可以改变肾小球毛细血管壁的通透性,从而破坏肾小球的屏障功能,最终出现蛋白尿^[17]。Navarro等^[18]报道:糖尿病患者TNF- α 的mRNA水平明显高于对照组,与正常蛋白尿组相比,大量蛋白尿患者的TNF- α mRNA表达高84.8%,而相对于微量蛋白尿患者则高29%,表明TNF- α 作为DN的一种新型标志物可用作预测DN的病情进展。

2.1.2 IL

IL是由多种细胞释放的一组炎症因子,IL-1, IL-6等与DN的发病机制存在关联^[18],其参与了肾小球血流动力学损害的过程。研究^[19]表明:这些细胞因子在DN患者中表达增加,从而导致细胞间黏附分子-1表达上调,进而引起DN的发生。IL-1有2种具有代表性的主要配体:IL-1 α 和IL-1 β ,IL-1 β 是最有效的促炎细胞因子之一,可引起肾细胞合成和表达其他炎症介质^[20]。近年来的研究^[21]发现:IL-1 β 与肾纤维化起始和进展中代谢转换存在联系,表明IL-1 β 可能作为肾小管间质疾病的潜在治疗靶点。Mir等^[22]通过测量32名2型DN患者血清IL-18含量,与37名年龄、性别相匹配的2型糖尿病无肾损害的患者比较,发现2型DN患者血清IL-18水平显著升高,且病例组所有患者血清IL-18含量均高于对照组。因此,血清IL-18可能作为诊断DN的一种新型生物学标志物,并可预测DN患者肾损伤进展程度,对于指导临床诊治以及预后

的判断具有重要意义。

2.2 氧化应激相关生物学标志物

DN的发生与氧化应激密切相关,高糖可诱导ROS产生过多,通过影响肾素-血管紧张素系统和TGF- β 信号通路,引发肾损伤,从而导致蛋白尿的产生^[23]。

2.2.1 p66Shc

p66Shc是衔接蛋白家族的成员,由4个基因位点编码,其与线粒体内ROS的产生及氧化应激反应有关^[24]。为探讨p66Shc相关通路在DN中的作用,Cheng等^[25]通过建立DN大鼠模型及体外高糖环境下培养人肾近端小管上皮细胞发现:当细胞被高糖刺激时,体内外p66Shc和p-p66Shc的表达均上调,此过程伴随着氧化应激反应的增强和肾功能的受损,而p66Shc可以通过调节NADPH氧化酶的活性,进一步促进氧化应激的发生。Xu等^[24]测量了32名DN患者外周血单核细胞和肾活检组织中p66Shc的表达,结果显示:与对照组相比,DN患者的外周血单核细胞和肾组织中p66Shc和p-p66Shc表达均显著增加,且其表达水平与氧化应激程度呈正相关,这表明p66Shc可能成为一种DN相关的新型生物标志物。

2.2.2 C-型钠尿肽

C-型钠尿肽(C-type natriuretic peptide, CNP)主要由血管内皮细胞分泌,参与调节血管活性等多种生理作用^[26],肾小球的内皮细胞、系膜细胞、足细胞均有CNP mRNA的表达。Chen等^[27]对失血性休克大鼠输注CNP后,其肾损伤较未输注CNP的对照组减轻,进一步研究发现:CNP可降低髓过氧化物酶活性,并减少包括TNF- α , IL-1 β , IL-6等在内的炎症因子的表达,表明CNP治疗可以缓解体内的氧化应激及炎症反应,从而减轻急性肾损伤。Hu等^[28]在随后的研究中发现:在单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)模型小鼠的尿液中,CNP的排泄与肾小管间质纤维化具有明显相关性,表明CNP对于包括DN在内的CKD可能具有一定的监测意义。然而有关人类DN患者血、尿CNP含量与DN病情进展程度的关系尚未被证实。近年来,朱易华等^[29]通过检测2型糖尿病无肾病组、早期肾病组和明显肾病组患者循环系统中CNP含量,发现CNP浓度随着2型DN病情的加重而降低,这表明CNP对于2型DN的诊断也有一定的价值,其组间差异提示CNP可作为判断DN患者肾损害进展程度的潜在指标,CNP作为DN的一种新型标志物可能用于监测临床DN

患者病情并判断其预后,然而CNP在此领域的研究甚少,其相关性有待进一步的实验研究证实。

3 蛋白质组学

随着糖尿病发病率的逐年增加, DN等相关并发症越来越引起全球重视,但DN进展的确切机制尚不清楚,而蛋白质组学的最新进展为该病的发生、发展、治疗、预后评估等提供了新的方向^[30]。

3.1 尿液蛋白质组学——CKD273

Good等^[31]使用毛细管电泳结合质谱比较CKD患者与正常对照组患者的尿肽成分,鉴定出273种不同的尿肽,将这273种潜在的生物标志物组合成一种分类器,称为CKD273,CKD273分类器最初应用于CKD的诊断,近年来也越来越多应用于DN的研究。Zürbig等^[32]通过CKD273分类器检测1 014名糖尿病患者的尿液,发现其尿白蛋白排泄的基线水平 <20 mg/min, eGFR的基线水平 ≥ 70 mL/(min $\cdot 1.73$ m 2),随后进行了6年的随访,其中204名参与者eGFR <60 mL/(min $\cdot 1.73$ m 2),CKD273的阳性预测值在整个糖尿病患者队列中为34%,而在2型糖尿病患者中可达47%,这表明CKD273对于尿蛋白正常的糖尿病患者发展为DN有一定的预测价值,可能用于DN的早期诊断。

3.2 血液蛋白质组学

为预测1型DN患者的疾病进展,Colombo等^[33]利用Luminex平台和LC电喷雾串联质谱测定了1 174名患者血清中的297种标志物,通过随访患者eGFR的下降程度,发现CD27抗原及肾损伤分子1(kidney injury molecule 1, KIM-1)与1型糖尿病患者的肾功进展关系密切。相似地,Niewczas等^[34]通过SOMAscan平台测定了1型和2型糖尿病患者血清中194种炎症蛋白,确定了17种富含肿瘤坏死因子受体超家族成员的蛋白质,称为KRIS蛋白,其与10年内进展为ESRD的风险相关,这些蛋白质可能成为监测DN患者预后的新型生物标志物,但仍需要进行大量的前瞻性实验研究。

4 结语

目前临床尚无及时监测DN进展的理想指标,新型生物学标志物的研究进展有望为DN提供新的指导方向。

参考文献

- Korish AA, Abdel Gader AG, Korashy HM, et al. Camel milk attenuates the biochemical and morphological features of diabetic nephropathy: inhibition of Smad1 and collagen type IV synthesis[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 229: 100-108.
- Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9): 905-906.
- Satirapoj B. Tubulointerstitial biomarkers for diabetic nephropathy[J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018(2): 2852398.
- Staruschenko A, Spires D, Palygin O. Role of TRPC6 in progression of diabetic kidney disease[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2019, 21(7): 48.
- Shoji M, Kobayashi K, Takemoto M, et al. Urinary podocalyxin levels were associated with urinary albumin levels among patients with diabetes[J]. *Biomarkers*, 2016, 21(2), 164-167.
- Lin H, Ye S, Xu J, et al. The alpha-lipoic acid decreases urinary Podocalyxin excretion in type 2 diabetics by inhibiting oxidative stress in vivo[J]. *J Diabetes Complications*, 2015, 29(1): 64-67.
- Lopes TG, de Souza ML, da Silva VD, et al. Markers of renal fibrosis: how do they correlate with podocyte damage in glomerular diseases?[J]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0217585.
- Najafian B, Fogo AB, Lusko MA, et al. *AJKD atlas of renal pathology: diabetic nephropathy*[J]. *Am J Kidney Dis*, 2015, 66(5): e37-e38.
- Vallon V, Thomson SC. Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney[J]. *Annu Rev Physiol*, 2012, 74(10): 351-375.
- Chijimatsu R, Kunugiza Y, Taniyama Y, et al. Expression and pathological effects of Periostin in human osteoarthritis cartilage[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16(8): 215.
- Wantanasiri P, Satirapoj B, Charoenpitakchai M, et al. Periostin: a novel tissue biomarker correlates with chronicity index and renal function in lupus nephritis patients[J]. *Lupus*, 2015, 24(8): 835-845.
- Satirapoj B, Tassanasorn S, Charoenpitakchai M, et al. Periostin as a tissue and urinary biomarker of renal injury in type 2 diabetes mellitus[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124055.
- El-Dawla NMQ, Sallam AM, El-Hefnawy MH, et al. E-cadherin and Periostin in early detection and progression of diabetic nephropathy: epithelial to mesenchymal transition[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2019, 23(8): 1050-1057.
- Hu ZB, Ma KL, Zhang Y, et al. Inflammation activates the CXCL16 pathway to contribute to tubulointerstitial injury in diabetic nephropathy[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2018, 39(6): 1022-1033.
- 毛志敏, 孟宪杰. 生物学标志物在糖尿病肾病中的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2014, 43(11): 180-182.
- MAO Zhimin, MENG Xianjie. Research progress of biological markers in diabetic nephropathy[J]. *Journal of Medical Research*, 2014, 43(11): 180-182.
- Sun L, Kanwar YS. Relevance of TNF- α in the context of other inflammatory cytokines in the progression of diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2015, 88(4): 662-665.
- Sindhughosa DA, Pranamartha AGMK. The involvement of proinflammatory cytokines in diabetic nephropathy: focus on interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) signaling mechanism[J]. *Bali Med J*, 2017, 6(2): 44-51.
- Navarro JF, Mora C, Gomez M, et al. Influence of renal involvement on peripheral blood mononuclear cell expression behaviour of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in type 2 diabetic patients[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(3): 919-926.
- Uwaezuoke SN. The role of novel biomarkers in predicting diabetic nephropathy: a review[J]. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 2017, 10(8): 221-231.
- Moreno JA, Gomez-Guerrero C, Mas S, et al. Targeting inflammation in diabetic nephropathy: a tale of hope[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(11): 917-930.
- Lemos DR, McMurdo M, Karaca G, et al. Interleukin-1 β activates a MYC-dependent metabolic switch in kidney stromal cells necessary for progressive tubulointerstitial fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(6): 1690-1705.
- Mir M, Rostami A, Hormozi M. Comparison of serum levels of IL-18 in peripheral blood of patients with type II diabetes with nephropathy clinical protests and patients with type II diabetes without nephropathy clinical protests[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2017, 11(4): 245-250.
- Manda G, Checherita AI, Comanescu MV, et al. Redox signaling in diabetic nephropathy: hypertrophy versus death choices in mesangial cells and podocytes[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015(9): 604208.
- Xu X, Zhu X, Ma M, et al. p66Shc: A novel biomarker of tubular oxidative injury in patients with diabetic nephropathy[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(7): 29302.
- Cheng YS, Chao J, Chen C, et al. The PKC β -p66Shc-NADPH oxidase pathway plays a crucial role in diabetic nephropathy[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71(3): 338-347.
- Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions[J]. *Endocr Rev*, 2006, 27(1): 47-72.
- Chen G, Song X, Yin Y, et al. C-type natriuretic peptide prevents kidney injury and attenuates oxidative and inflammatory responses in hemorrhagic shock[J]. *Amino Acids*, 2017, 49(2): 347-354.
- Hu P, Wang J, Hu B, et al. Increased urinary C-type natriuretic peptide excretion may be an early marker of renal tubulointerstitial fibrosis[J]. *Peptides*, 2012, 37(1): 98-105.
- 朱易华, 杨屹, 陈宇翔, 等. 钠尿肽系列在2型糖尿病肾病中的变化及意义[J]. *标记免疫分析与临床*, 2014, 21(2): 151-154.

- ZHU Yihua, YANG Yi, CHEN Yuxiang, et al. Changes and significance of natriuretic peptide series in type 2 diabetic nephropathy[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2014, 21(2): 151-154.
30. Sohail W, Majeed F, Afroz A. Differential proteome analysis of diabetes mellitus type 2 and its pathophysiological complications[J]. Diabetes Metab Syndr, 2018, 12(6): 1125-1131.
31. Good DM, Zürbig P, Argiles A et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease[J]. Mol Cell Proteomics, 2010, 9(11): 2424-2437.
32. Zürbig P, Mischak H, Menne J, et al. CKD273 enables efficient prediction of diabetic nephropathy in non-albuminuric patients[J]. Diabetes Care, 2019, 42(1): e4-e5.
33. Colombo M, Valo E, Mcgurnaghan SJ, et al. Biomarker panels associated with progression of renal disease in type 1 diabetes[J]. Diabetologia, 2019, 62(9): 1616-1627.
34. Niewczas MA, Pavkov ME, Skupien J, et al. A signature of circulating inflammatory proteins and development of end-stage renal disease in diabetes[J]. Nat Med, 2019, 25(5): 805-813.

本文引用: 吴琦, 吕慧妍, 郝丽荣. 糖尿病肾病相关生物学标志物的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(4): 1001-1005. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.032

Cite this article as: WU Qi, LÜ Huiyan, HAO Lirong. Advances of biological markers related to diabetic nephropathy[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(4): 1001-1005. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.032