

· 论 著 ·

糖尿病肾病不同阶段与胎球蛋白 A 水平的相关性分析

李静娜^{1,2}, 向晨昱², 尹建红², 滕云², 章毅³, 刘云峰²

1. 山西医科大学第一临床医学院, 山西太原 030001; 2. 山西医科大学第一医院内分泌科, 山西太原 030001;
3. 山西医科大学基础医学院药理教研室, 山西太原 030001

摘要: **目的** 探讨 2 型糖尿病(T2DM)患者血清胎球蛋白 A 水平与糖尿病肾病(DN)不同阶段的相关性。**方法** 选取 2017 年 8 月至 2018 年 8 月接受治疗的 T2DM 患者 188 例,根据其尿蛋白情况分为正常白蛋白尿(NA)组 84 例、微量白蛋白尿(MA)组 74 例和大量白蛋白尿(OA)组 30 例,另选同期健康体检者 124 例为正常对照(NC)组。检测计算四组对象的尿蛋白与尿肌酐比值(ACR),血糖、血脂指标,以及血清胎球蛋白 A、脂联素(ADP)、白细胞介素(IL)-1 β 水平,并进行比较分析。**结果** 依 NC 组 \rightarrow NA 组 \rightarrow MA 组 \rightarrow OA 组之序,研究对象胎球蛋白 A、IL-1 β 水平和 ACR 依次递升,ADP 水平依次递降,组间总体比较和两两比较差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。T2DM 患者的胎球蛋白 A 水平与 ACR、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、IL-1 β 水平及病程分别呈正相关(P 均 < 0.01),与脂联素水平呈负相关($P < 0.01$);多元逐步回归分析显示,胎球蛋白 A、IL-1 β 、ADP 及病程是 ACR 的独立影响因素(P 均 < 0.01)。**结论** 胎球蛋白 A 水平与 DN 发展阶段之间存在关联;DN 发展的风险随着胎球蛋白 A 水平的升高而升高;胎球蛋白 A 可能在 DN 发展的病理生理过程中扮演了重要角色。

关键词: 2 型糖尿病; 糖尿病肾病; 血清胎球蛋白 A; 尿微量白蛋白与尿肌酐比值; 白细胞介素 1 β ; 脂联素

中图分类号: R 587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)10-1319-04

Correlation between different stages of diabetic nephropathy and fetuin A levels

LI Jing-na*, XIANG Chen-yu, YIN Jian-hong, TENG Yun, ZHANG Yi, LIU Yun-feng

* First Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

Corresponding author: LIU Yun-feng, E-mail: nectarliu@163.com

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum fetuin A level and different stages of diabetic nephropathy (DN) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** A total of 188 patients with T2DM receiving treatment from August 2017 to August 2018 were enrolled and divided into normal albuminuria group (NA group, $n = 84$), microalbuminuria group (MA group, $n = 74$), and over albuminuria group (OA group, $n = 30$) according to their urinary protein levels. During the same period, 124 healthy persons were served as normal control group (NC group). The levels of urinary albumin-to-creatinine ratio (ACR), blood glucose, lipid profiles, fetuin A, adiponectin (ADP) and interleukin-1 β (IL-1 β) were measured and compared among four groups. **Results** In the order of NC group, NA group, MA group and OA group, the levels of serum fetuin A, IL-1 β and urinary ACR increased in turn, and ADP level decreased in turn, and there were statistical differences in overall comparison and each pairwise comparison among four groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The level of fetuin A was positively correlated with ACR, fasting blood glucose, 2 h postprandial blood glucose, IL-1 β and disease course (all $P < 0.01$), respectively, while negatively correlated with ADP level in T2DM patients ($P < 0.01$). Multivariate stepwise regression analysis showed that fetuin A, IL-1 β , ADP and disease course were the independent influencing factors of ACR (all $P < 0.01$). **Conclusions** There is a correlation between Fetuin-A level and DN development stage. The risk of DN development increases with Fetuin-A level increasing. Fetuin-A may play an important role in the pathophysiological process of DN.

Key words: Type 2 diabetes mellitus; Diabetic nephropathy; Serum fetuin A; Urinary microalbumin-to-creatinine ratio; Interleukin-1 β ; Adiponectin

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81770776, 81670710)

糖尿病肾病(DN)是 2 型糖尿病(T2DM)最常见和最严重的微血管病变并发症之一。有研究认为, T2DM 患者机体长期处于高血糖负荷下,在遗传、环境、慢性炎症及细胞因子的共同作用下,逐渐形成以肾小球硬化为主要病理特征的肾功能损伤^[1]。胎球蛋白 A(Fetuin-A)是一种肝脏来源的血清中含量丰富的糖蛋白,在脂肪代谢过程中起着非常重要的作用,并具有促炎症的效应,可引起组织器官发生慢性炎症。且已被证实与糖尿病及其并发症如心血管疾病、冠状动脉疾病、肥胖等炎症性疾病密切相关^[2-3]。但 DN 与胎球蛋白 A 的关系研究较少,且结果存在分歧,本研究主要调查 T2DM 患者血清胎球蛋白 A 水平,并分析胎球蛋白 A 水平与 DN 的关系,进而探讨其参与 DN 发展过程的可能机制,为临床应用及治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 8 月至 2018 年 8 月在我院接受治疗的 T2DM 患者 188 例。其中男性 93 例,女性 95 例,年龄(58.29 ± 8.83)岁,所有患者均符合 1999 年世界卫生组织(WHO)制定的糖尿病诊断标准,排除 T2DM 合并非酒精性脂肪肝或恶性肿瘤者、肝功能异常者、患有急慢性肾病者、有免疫系统或内分泌系统疾病者,以及其他遗传性疾病者。依据尿白蛋白/肌酐比值(albumin-to-creatinine ratio, ACR)将 T2DM 患者分成三组:ACR < 3 mg/mmol 的正常白蛋白尿(normal proteinuria, NA)组;3 ≤ ACR < 30 mg/mmol 的微量白蛋白尿(microalbuminuria, MA)组;ACR ≥ 30 mg/mmol 的大量白蛋白尿(over albuminuria, OA)组。另选择同期本院的健康体检者 124 例作为正常对照组(NC 组),男性 64 例,女性 60 例,年龄(56.55 ± 8.25)岁。所有入选的健康体检者均排除非酒精性脂肪肝、急慢性感染、肝、肾功能不全及其它内分泌系统疾病等。四组对象对研究均知情同意,研究获医院伦理委员会批准。

1.2 方法 所有研究对象均按照统一标准完成身高、体重、腰围、臀围等数据,计算体质指数(BMI)和腰臀比:连续收集 T2DM 患者 3 d 的晨尿标本,测定尿白蛋白及尿肌酐,计算 3 次尿 ACR 的平均值;空腹血糖(FBG)、餐后 2h 血糖(2hPG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、肌酐采用贝克曼库尔特 AU5800 及配套试剂测定;糖化血红蛋白(HbA1c)采用罗氏 501 生化分析仪及配套试剂测定;血清胎球蛋白 A、脂联素(ADP)及白介素 1β(IL-1β)采用 ELISA

法测定,试剂均购自武汉华联科公司,所有步骤依据试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。服从正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料采用例数描述,组间比较采用 χ^2 检验;相关性采用 Pearson 相关分析;影响因素采用多元逐步线性回归分析。 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 各组研究对象一般资料比较 四组研究对象性别和年龄差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);OA 组患者病程长于 MA 组,MA 组患者病程长于 NA 组(P 均 < 0.05);NA 组、MA 组、OA 组患者 BMI 和腰臀比均大于 NC 组(P 均 < 0.05)。见表 1。

2.2 临床生理指标比较 依 NC 组 → NA 组 → MA 组 → OA 组之序,研究对象血清胎球蛋白 A、IL-1β 水平和尿 ACR 依次递升,血清 ADP 水平依次递降,组间总体比较和两两比较差异均有统计学意义(P < 0.01, P < 0.05)。见表 2。

2.3 血糖指标比较 依 NA 组 → MA 组 → OA 组之序,研究对象 2 hPG 血糖逐步上升,组间总体比较和两两比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),NA 组、MA 组和 OA 组患者 FBG 和 HbA1c 均高于 NC 组(P 均 < 0.05)。见表 3。

2.4 血脂指标比较 NA 组、MA 组和 OA 组患者 TC、TG、LDL-C 含量均高于 NC 组,而 HDL-C 含量则低于 NC 组(P 均 < 0.05);TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 含量在 NA 组、MA 组和 OA 组患者中差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表 4。

2.5 Pearson 相关分析 T2DM 患者的胎球蛋白 A 水平与 ADP 呈负相关,与 ACR、IL-1β、FBG、2hPG、病程呈正相关(P 均 < 0.01)。见表 5。

2.6 多元逐步回归分析 T2DM 组中,以 ln(ACR) 为因变量,以年龄、病程、BMI、腰臀比、胎球蛋白 A、ADP、IL-1β、FBG、2hPG、TC、TG、HDL-C、LDL-C、HbA1c 等为自变量,进行多元逐步回归分析,结果显示,胎球蛋白 A、ADP、IL-1β 水平及病程均是 ACR 的独立影响因素(P 均 < 0.01)。见表 6。

3 讨论

DN 是糖尿病的主要慢性并发症之一,是导致糖尿病及慢性肾衰竭(CRF)的重要死亡原因之一,其发病机制复杂,由多种因素共同作用所致,危险因素包括表观遗传因素、糖代谢紊乱、肾脏血流动力学改变、

表 1 四组研究对象一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	男/女(例)	年龄(岁)	病程(年)	BMI(kg/m ²)	腰臀比
NC 组	124	64/60	56.55 ± 8.22	-	23.27 ± 1.39	0.82 ± 0.22
NA 组	84	42/42	57.29 ± 7.60	4.62 ± 1.96	26.45 ± 1.86 ^a	0.86 ± 0.24 ^a
MA 组	74	36/38	58.08 ± 11.14	8.41 ± 2.20 ^b	26.84 ± 1.28 ^a	0.86 ± 0.22 ^a
OA 组	30	15/15	59.97 ± 6.89	13.93 ± 4.13 ^{bc}	26.89 ± 1.10 ^a	0.86 ± 0.19 ^a
χ^2/F 值		0.170	1.408	158.379	131.856	68.471
P 值		0.982	0.241	0.000	0.000	0.000

注:与 NC 组相比,^a $P < 0.05$;与 NA 组相比,^b $P < 0.05$;与 MA 组相比,^c $P < 0.05$ 。

表 2 四组研究对象临床生理指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	胎球蛋白 A(ng/ml)	ADP(ng/ml)	IL-1 β (pg/ml)	ACR(g/mol)
NC 组	124	74.35 ± 10.79	127.84 ± 15.35	159.41 ± 17.45	-
NA 组	84	85.74 ± 23.54 ^a	82.79 ± 9.80 ^a	307.83 ± 48.35 ^a	1.75 ± 0.44 ^a
MA 组	74	104.90 ± 22.98 ^{ab}	57.97 ± 10.55 ^{ab}	342.92 ± 42.15 ^{ab}	10.73 ± 7.30 ^{ab}
OA 组	30	146.42 ± 35.74 ^{abc}	29.30 ± 9.26 ^{abc}	556.53 ± 73.09 ^{abc}	62.51 ± 13.78 ^{abc}
F 值		108.051	795.149	886.147	823.563
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 NC 组相比,^a $P < 0.05$;与 NA 组相比,^b $P < 0.05$;与 MA 组相比,^c $P < 0.05$ 。

表 3 四组研究对象血糖相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FBG(mmol/L)	2hPG(mmol/L)	HbA1c(%)
NC 组	124	4.90 ± 0.41	-	5.35 ± 0.37
NA 组	84	7.86 ± 0.46 ^a	12.04 ± 1.60	7.96 ± 0.34 ^a
MA 组	74	7.94 ± 0.49 ^a	13.21 ± 1.31 ^b	8.01 ± 0.46 ^a
OA 组	30	8.08 ± 0.65 ^a	14.58 ± 1.71 ^{bc}	8.11 ± 0.35 ^a
F 值		1025.890	33.681	1192.967
P 值		0.000	0.000	0.000

注:与 NC 组比,^a $P < 0.05$;与 NA 组比,^b $P < 0.05$;与 MA 组比,^c $P < 0.05$ 。

表 4 四组研究对象血脂相关指标比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TC	TG	HDL-C	LDL-C
NC 组	124	4.10 ± 0.65	1.37 ± 0.90	1.38 ± 0.20	2.81 ± 0.17
NA 组	84	4.65 ± 0.56 ^a	1.83 ± 0.24 ^a	1.07 ± 0.13 ^a	3.43 ± 0.29 ^a
MA 组	74	4.59 ± 0.48 ^a	1.88 ± 0.25 ^a	1.15 ± 0.27 ^a	3.36 ± 0.37 ^a
OA 组	30	4.74 ± 0.23 ^a	1.93 ± 0.38 ^a	1.13 ± 0.23 ^a	3.46 ± 0.20 ^a
F 值		24.201	133.827	21.580	129.167
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 NC 组比,^a $P < 0.05$;与 NA 组比,^b $P < 0.05$;与 MA 组比,^c $P < 0.05$ 。

表 5 T2DM 患者胎球蛋白 A 与其他指标的相关性分析

指标	ACR	ADP	IL-1 β	FBG	2hPG	病程
胎球蛋白 A						
r 值	0.617	-0.609	0.612	0.455	0.458	0.543
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 6 各临床特征对 ln(ACR)影响的多元逐步回归分析

自变量	回归系数	标准误	标准化回归系数	t 值	P 值
ADP	-0.025	0.003	-0.393	-7.550	<0.01
IL-1 β	0.004	0.001	0.326	6.608	<0.01
胎球蛋白 A	0.006	0.002	0.144	3.439	<0.01
病程	0.054	0.018	0.162	3.011	<0.01

胰岛素抵抗、炎症反应、细胞因子等。随着研究的深入,慢性炎症及细胞因子在 DN 发病中的作用越发被重视^[4]。胎球蛋白 A 可以降低肌肉和肝脏中酪氨酸

激酶的活性,抑制胰岛素信号传导并引起胰岛素抵抗,导致胰岛素分泌功能减退和葡萄糖稳态失代偿^[5]。胎球蛋白 A 与脂代谢关系十分密切,且非酒精性脂肪肝患者血清中胎球蛋白 A 水平明显升高^[6]。本研究为避免非酒精性脂肪肝对研究结果的影响,在纳入标准中,参照 2003 年中华医学会的临床诊断标准对非酒精性脂肪肝进行了排除。

本研究按照 ACR 对 T2DM 患者进行分组,结果提示 T2DM 病程越长,ACR 值越高,其合并 DN 的风险就越大。与 NC 组相比,NA 组、MA 组和 OA 组患者血清胎球蛋白 A 水平逐渐升高;Pearson 相关分析显示,患者血清胎球蛋白 A 水平与 ACR 呈正相关,这与居会祥等^[7]研究结果相似,且 Mehrotra 等^[8]也发现在晚期 DN 患者中观察到血清胎球蛋白 A 水平高于无肾脏疾病的糖尿病患者。但胎球蛋白 A 水平由于受很多混杂因素的影响,结果也有不一致的情况发生。Kettler 等^[9]发现在罹患糖尿病的终末期肾病(ESRD)个体中血清胎球蛋白 A 水平较低。这种差异可能由慢性肾脏病(CKD)分期及并发症的严重程度不同引起,而本研究未选取接受透析治疗的患者,因此并未对更严重的 DN 患者进行胎球蛋白 A 水平的检测,所以未来需要更详实的研究来进行进一步的探讨。有研究指出,在不同的 CKD 阶段,血清胎球蛋白 A 水平在不断变化,在 DN 早期,其水平的升高是由于对血管钙化防御机制的反馈而导致的过量分泌,血脂的代谢紊乱、胰岛素抵抗均可诱导其释放,但在疾病晚期,也就是 ESRD 时,其反馈机制并不如之前明显,这导致血清胎球蛋白 A 水平下降^[8]。

本研究还观察到在 DN 患者中,随着尿白蛋白排

泄量的增加,IL-1 β 也明显增高,IL-1 β 作为各种组织中炎症的主要调节因子^[10],在 DN 模型的肾脏足细胞中也广泛存在,显示 DN 的发生发展过程中有炎症参与。Shahzad 等^[11]研究发现, DN 小鼠血清中 IL-1 β 水平高于无肾脏疾病的糖尿病小鼠,而重组人 IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)可预防甚至逆转不同小鼠模型中的 DN。Orellana 等^[12]的结果同样表明胎球蛋白 A 可导致足细胞的炎症反应,并加剧棕榈酸诱导的足细胞死亡。本研究还观察到,血清胎球蛋白 A 水平与 IL-1 β 呈正相关,其可能机制如下: Toll 样受体(TLRs)被认为在糖尿病及其并发症的炎症反应中起到了关键作用^[13]; Pal 等^[14]提出胎球蛋白 A 可作为内源性配体,即游离脂肪酸与 TLR4 的分子连接子,携带着游离脂肪酸的胎球蛋白 A 可通过激活 TLR4 和/或 TLR2,诱导体内单核/巨噬细胞系统活化,进而产生促炎细胞因子,如 IL-1 β 和单核细胞趋化蛋白-1 等,大量的炎症细胞因子可导致肾脏足细胞及血管内皮细胞的慢性损伤^[15-16]。因此,胎球蛋白 A 与 IL-1 β 的正相关关系可以得到解释。

本研究亦对血脂和血糖指标进行比较,结果显示,相对于 NC 组, T2DM 患者血脂和血糖指标均发生改变,且随着尿蛋白的增多,即 DN 的进展, 2 hPG 水平逐渐上升。与 NC 组相比, NA 组、MA 组和 OA 组患者 ADP 水平逐渐降低;多元逐步回归分析亦显示, ADP 与 ln(ACR)呈负相关,说明 ADP 可能作为一种保护因子而存在,胎球蛋白 A、ADP 调节着脂肪组织之间的相互干扰,如肝脏和肾脏。有试验表明胎球蛋白 A 可抑制培养的人脂肪细胞中 ADP mRNA 的表达,在野生型小鼠细胞中,胎球蛋白 A 可降低血清 ADP 水平^[17],高胎球蛋白 A 和低 ADP 水平可能造成胰岛素抵抗、糖尿病以及后来的与肥胖相关的慢性肾病和 DN^[4]。

为了明确 ACR 的影响因素,本研究将所有可能影响 ACR 的自变量均纳入多元回归方程后分析,发现胎球蛋白 A、ADP、IL-1 β 水平和病程是 ACR 的独立影响因素。综合前述,本研究认为,胎球蛋白 A 可能通过其促炎性效应及抑制 ADP 表达从而参与 DN 的发生和发展。

参考文献

- [1] Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Clin Sci, 2013, 124(3): 139-152.
- [2] Lorant DP, Grujicic M, Hoebaus C, et al. Fetuin-A levels are in-

creased in patients with type 2 diabetes and peripheral arterial disease[J]. Diabetes Care, 2011, 34(1): 156-161.

- [3] Zhao ZW, Lin CG, Wu LZ, et al. Serum fetuin-A levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes[J]. Biomarkers, 2013, 18(2): 160-164.
- [4] 姜群, 陈兆杰, 姜琦, 等. 老年糖尿病肾病发病机制、诊断及治疗的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(1): 244-247.
- [5] Mathews S. Alpha2-HSG, a specific inhibitor of insulin receptor autophosphorylation, interacts with the insulin receptor[J]. Mol Cell Endocrinol, 2000, 164(1/2): 87-98.
- [6] Sato M, Kamada Y, Takeda Y, et al. Fetuin-A negatively correlates with liver and vascular fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease subjects[J]. Liver Int, 2015, 35(3): 925-935.
- [7] 居会祥, 周中卫, 孙明忠. 2 型糖尿病患者血清胎球蛋白 A 水平与糖尿病肾病的相关性[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(7): 592-594.
- [8] Mehrotra R, Westenfled R, Christenson P, et al. Serum fetuin-A in nondialyzed patients with diabetic nephropathy: relationship with coronary artery calcification[J]. Kidney Int, 2005, 67(3): 1070-1077.
- [9] Ketteler M, Bongartz P, Westenfled R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study[J]. Lancet, 2003, 361(9360): 827-833.
- [10] Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27: 519-550.
- [11] Shahzad K, Bock F, Dong W, et al. Nlrp3-inflammasome activation in non-myeloid-derived cells aggravates diabetic nephropathy[J]. Kidney Int, 2015, 87(1): 74-84.
- [12] Orellana JM, Kampe K, Schulze F, et al. Fetuin-A aggravates lipotoxicity in podocytes via interleukin-1 signaling[J]. Physiol Rep, 2017, 5(10): e13287.
- [13] Lin M, Tang SC. Toll-like receptors: sensing and reacting to diabetic injury in the kidney[J]. Nephrol Dial Transplant, 2014, 29(4): 746-754.
- [14] Pal D, Dasgupta S, Kundu R, et al. Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance[J]. Nat Med, 2012, 18(8): 1279-1285.
- [15] Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance[J]. J Clin Invest, 2006, 116(16): 3015-3025.
- [16] Böni-Schnetzler M, Boller S, Debray S, et al. Free fatty acids induce a proinflammatory response in islets via the abundantly expressed interleukin-1 receptor I[J]. Endocrinology, 2009, 150(12): 5218-5229.
- [17] Hennige AM, Staiger H, Wicke C, et al. Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production[J]. PLoS One, 2008, 3(3): e1765.

收稿日期: 2019-01-07 修回日期: 2019-03-19 编辑: 石嘉莹