

# 血清胱抑素 C、尿酶以及 $\beta_2$ -微球蛋白在早期诊断 2 型糖尿病肾损伤中的临床意义

潘美秋, 王锴佳(湖南省岳阳市第二人民医院检验科 414000)

**【摘要】** 目的 调查血清胱抑素 C(Cys-C)、尿液 N-乙酰基- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)以及  $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -MG)在 2 型糖尿病肾损伤早期诊断中的临床意义。方法 检测 55 例 2 型糖尿病患者与 30 例健康对照体检者血清 Cys-C、尿液 NAG、 $\beta_2$ -MG 以及传统检测指标血清肌酐(Cr)的水平。55 例 2 型糖尿病患者中 16 例为正常蛋白尿(NA)患者, 18 例为微量白蛋白尿(MIA)患者, 21 例为大量蛋白尿(MAA)患者。结果 与健康对照组相比, 2 型糖尿病患者组血清 Cys-C、Cr、尿液 NAG、 $\beta_2$ -MG 都有升高。然而, 在 NA 组中, 与健康对照组相比, 只有血清 Cys-C 水平与尿液 NAG 活性出现升高。而在 MIA 组与 MAA 组中, 与健康对照组相比, 血清 Cys-C 与尿液 NAG、 $\beta_2$ -MG 都有升高。传统指标血清 Cr 只有到了 MAA 阶段才出现升高。此外, 血清 Cys-C、尿液 NAG、尿液  $\beta_2$ -MG 与传统的检测指标血清 Cr 都呈正相关。结论 在 2 型糖尿病肾损伤中, 血清 Cys-C、尿液 NAG 与尿液  $\beta_2$ -MG 是辅助检测糖尿病肾损伤的有效指标。

**【关键词】** 血清胱抑素 C; 尿酶;  $\beta_2$ -微球蛋白; 2 型糖尿病肾损伤

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)23-2941-02

**The clinical significance of Cys-C, urinary enzymes and  $\beta_2$ -MG for early diagnosis of type 2 diabetic nephropathy** PAN Mei-qi, WANG Kai-jia (Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of YueYang, Hunan 414000, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the clinical significance of cystatin C(Cys C), N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) and beta<sub>2</sub>-microglobulin( $\beta_2$ -MG) for early diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. **Methods** Serum Cys C levels, urinary activities of NAG, urinary  $\beta_2$ -MG and creatinine levels were measured in 55 type 2 diabetic patients (16 normoalbuminuric, 18 microalbuminuric, and 21 macroalbuminuric diabetic patients) and 30 healthy controls. **Results** Serum Cys C and creatinine levels and activities of NAG,  $\beta_2$ -MG were increased in type 2 diabetic groups as compared to controls. However, in normoalbuminurics, only serum Cys C and urinary NAG activity were elevated as compared to controls. In addition to the elevation of serum Cys C levels and urinary activities of NAG, urinary  $\beta_2$ -MG was also increased in microalbuminurics and macroalbuminurics. Serum creatinine(Cr) levels wasn't elevated until diabetic patients in macroalbuminuric stage. There was a significant positive correlation between serum Cys C, urinary activities of NAG, urinary  $\beta_2$ -MG and serum Cr levels. **Conclusion** Our results suggest that serum Cys C, urinary NAG and urinary  $\beta_2$ -MG allow diagnosis of type 2 diabetic nephropathy earlier than a rise in serum Cr. They were confirmed as useful markers to detect diabetic nephropathy.

**【Key words】** cystatin C; N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase; beta<sub>2</sub>-microglobulin; diabetic nephropathy

糖尿病患者直到疾病晚期才会出现一些肾功能受损的症状,甚至大约有至少 30% 的糖尿病患者没有被诊断出来患有肾脏疾病<sup>[1-3]</sup>。现阶段,通过早期治疗可以减缓疾病的进展,因此疾病的早期诊断显得极为重要。血清中的 Cys-C 作为反映肾功能的一个内源性指标,评估肾小球滤过率较血清 Cr 更为敏感<sup>[4]</sup>。糖尿病肾病中,慢性肾功能疾病的严重程度不但与肾小球的受损程度相关,还与肾小管间质受损程度相关。尿液 NAG 酶是近端肾小管上皮细胞溶酶体内最具活性的葡糖苷酶,不能被肾小球滤过,被认为是肾小管细胞特异性的尿液标志物,能够敏感地反映肾小管受损情况<sup>[5]</sup>。同时,尿液  $\beta_2$ -MG 也被认为是近端肾小管蛋白质重吸收的评估指标,尿液中  $\beta_2$ -MG 的增加可以反映肾小管细胞的受损与功能障碍<sup>[6]</sup>。本研究通过检测糖尿病患者血清 Cys-C 以及尿液 NAG 与  $\beta_2$ -MG, 观测血清 Cys-C 以及尿液 NAG 与  $\beta_2$ -MG 是否能够作为 2 型糖尿病患者肾功能障碍的有效早期诊断标志物,以便临床上对患者的及时干预、治疗,避免患者进入终末期肾病。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2009 年 6 月至 2012 年 6 月本院 55 例住院 2 型糖尿病患者,其诊断均符合世界卫生组织糖尿病诊断标准,

其中男 32 例,女 23 例,年龄 43~79 岁,病程 1~18 年。根据尿白蛋白排泄率(UAER)将 2 型糖尿病患者分为 3 个组,分别为正常蛋白尿组 16 例(NA, UAER < 30 mg/d),微量蛋白尿组 18 例(MIA, 30 mg/day ≤ UAER < 300 mg/d)以及大量蛋白尿组 2 例(MAA, UAER > 300 mg/d)。健康对照组 30 例,均为年龄、性别构成相匹配的健康体检正常者,其中男 17 例,女 13 例,年龄 41~80 岁。记录 2 型糖尿病患者组与健康对照组所有人员的年龄、病程、糖尿病用药史以及吸烟饮酒情况。2 型糖尿病患者均排除心脑血管、肝脏以及肾脏等器官疾病。受检期间,患者均无使用抗生素以及维生素情况。

**1.2 方法** 所有研究对象清晨空腹抽取静脉血。应用日立 TOSHIBA TBA-120FR 全自动生化分析仪检测血糖、糖化血红蛋白(HbA1C)、血清 Cr 以及 Cys-C。血糖以及血清 Cr 采用酶法测定,试剂购自北京利德曼生化技术有限公司。糖化血红蛋白与 Cys-C 检测采用颗粒增强散射免疫比浊法,试剂购自北京利德曼生化技术有限公司。收集 24 h 尿液标本,利用全自动生化分析仪检测 UAER。收集清晨第 2 次清洁中段尿液用以检测 NAG 以及  $\beta_2$ -MG。采用酶法检测 NAG 活性,试剂购自浙江新昌夸克生物公司。以 NAG/Cr 表示,即以同时测定

的 NAG 酶单位(U/L)以及 Cr 值(g/L)计算,单位为 U/g Cr。采用放射免疫法测定尿液  $\beta_2$ -MG 水平。

**1.3 统计学分析** 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理。符合正态分布的数据资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间数据比较采用方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验;不符合正态分布的数据资料采用中位数(M)及其范围表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,两两比较采用 Nemeny 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 2 型糖尿病患者组与健康对照组的临床特征以及各项生化指标** 见表 1。从表中可以看出 2 型糖尿病患者组的血清 Cys-C、尿液 NAG 与尿液  $\beta_2$ -MG 值明显高于健康对照组。

**2.2 血清 Cr, CysC, 尿液 NAG 以及  $\beta_2$ -MG 在健康对照组、**

NA 组、MIA 组、MAA 组间的比较 与健康对照组相比, NA 组中只有血清 CysC 水平与尿液 NAG 活性明显升高( $P < 0.05$ )。而在 MIA 组与 MAA 组中,血清 CysC 与尿液 NAG、 $\beta_2$ -MG 都呈上升趋势(分别  $P < 0.05, P < 0.05, P < 0.05$ )。而传统的肾功能损伤指标血清 Cr 只有到了大量蛋白尿阶段才出现升高趋势( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

**2.3 2 型糖尿病组血清 CysC、尿液 NAG、尿液  $\beta_2$ -MG 与血清 Cr 水平之间的相关性分析** 通过 Pearson 相关分析,得到各组中血清 CysC、尿液 NAG、尿液  $\beta_2$ -MG 与血清 Cr 之间的相关系数。2 型糖尿病组血清 CysC 与血清 Cr 呈中等正相关( $r = 0.774, P < 0.05$ ),尿液 NAG 与血清 Cr 呈中等正相关( $r = 0.656, P < 0.05$ ),尿液  $\beta_2$ -MG 与血清 Cr 呈中等正相关( $r = 0.632, P < 0.05$ )。

表 1 各组生化指标比较

组别	n	UAER(mg/d)	Cr( $\mu$ mol/L)	CysC(mg/L)	NAG(U/g Cr)	$\beta_2$ -MG(mg/L)
健康对照组	30	8.15(3.42~24.38)	71.60 $\pm$ 21.62	0.90 $\pm$ 0.16	4.31 $\pm$ 1.43	1.21 $\pm$ 0.32
2 型糖尿病组	55	102.69(5.41~2257.81) <sup>a</sup>	115.00 $\pm$ 78.99 <sup>a</sup>	1.55 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	19.04 $\pm$ 12.39 <sup>a</sup>	3.33 $\pm$ 1.93 <sup>a</sup>
MA 组	16	—	73.63 $\pm$ 23.04 <sup>c</sup>	1.20 $\pm$ 0.21 <sup>ac</sup>	9.42 $\pm$ 4.50 <sup>ac</sup>	1.50 $\pm$ 0.51 <sup>c</sup>
MIA 组	18	—	89.85 $\pm$ 25.10 <sup>c</sup>	1.51 $\pm$ 0.46 <sup>abc</sup>	17.12 $\pm$ 7.89 <sup>abc</sup>	3.23 $\pm$ 1.11 <sup>abc</sup>
MAA 组	21	—	195.58 $\pm$ 105.32 <sup>ab</sup>	2.02 $\pm$ 0.43 <sup>ab</sup>	32.86 $\pm$ 11.11 <sup>ab</sup>	5.62 $\pm$ 1.33 <sup>ab</sup>

注:—表示无数据。与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 NA 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 MAA 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

**3 讨 论**

血清 Cys-C 属于非糖基化蛋白质,由所有的有核细胞产生并以恒定的速率释放入血,其在血清中的水平不受年龄、性别、种族、肌量的影响。因其相对分子质量低( $13.3 \times 10^3$ ),所以能够自由滤过肾小球进入原尿,并在近端肾小管被完全重吸收以及分解代谢。由于 Cys-C 产量恒定且较血清 Cr 更为敏感,所以被认为是肾小球滤过的较为理想的标志物<sup>[7]</sup>。从表 2 所见,随着糖尿病患者肾脏病变严重程度的增加,血清 Cys-C 的含量也呈现上升趋势,这与已有报道相符<sup>[8-10]</sup>。NA 组和健康对照相比,血清 CysC 已有上升,而血清 Cr 的含量在 2 组之间没有统计学差异。随着蛋白尿严重程度的增加,到了 MAA 组,血清 Cr 才出现明显升高。可见血清 Cr 在糖尿病肾脏损害的早期阶段的诊断价值受限。而血清 Cys-C 水平的变化也与 Cr 含量的变化呈现正相关且较 Cr 更为敏感,所以现被认为是反映糖尿病肾小球功能更加适宜的标志物。

糖尿病肾病中,慢性肾功能疾病的严重程度不但与肾小球的受损相关,还与肾小管间质受损相关。有研究就发现 MIA 的糖尿病患者与健康对照组相比其近端肾小管基底膜已出现增厚<sup>[11]</sup>。近端肾小管顶端的微绒毛包含许多酶,在正常情况下,尿液中的酶通过胞吐作用少量分泌,活性非常低,当肾小管细胞受损时酶便释放进入尿液中<sup>[5,12-13]</sup>。尿酶主要指 NAG、丙氨酸氨基酶(AAP)、碱性磷酸酶(ALP)。尿液 NAG 是近端肾小管上皮细胞溶酶体内最具活性的葡糖苷酶,其相对分子质量大( $>130 \times 10^3$ ),不能被肾小球滤过,因此被认为是肾小管细胞特异性的尿液标志物,能够敏感地反映肾小管受损情况<sup>[6]</sup>。当尿液中 NAG 活性增加可提示肾小管细胞的受损。本研究中,2 型糖尿病患者 NA 组尿液 NAG 活性较健康对照组有一定的增加,这与其他研究得到的结果相符<sup>[9,15]</sup>,说明尿液 NAG 是一个较为敏感的肾脏受损的标志物,当其他肾功能指标如血清 Cr 还处于正常值内时,NAG 活性已经呈现上升。而 MIA 组和 NA 组相比,NAG 活性明显增加,此时的血清 Cr 仍然处于正常参考值内。随着糖尿病患者肾脏病变程度的增加,尿液 NAG 活性呈上升趋势。此外,尿液 NAG 活性与血清

Cr 含量的变化也呈正相关。然而尿液 NAG 活性可被内源性尿素和重金属等抑制,并且有研究发现在某些非肾脏损伤疾病中尿液 NAG 可出现上升,如甲状腺功能亢进和风湿性关节炎<sup>[15]</sup>。所以不能单一用尿液 NAG 作为评估肾脏肾小管损伤的指标。

尿液中  $\beta_2$ -MG 也可反映早期肾脏损害以及肾脏位点特异性的损伤。在正常情况下,自由滤过的  $\beta_2$ -MG 最后只有 0.3% 存在于尿液中<sup>[16]</sup>。尿液中这类蛋白质的增加可以提示肾小管细胞的蛋白质的超负荷,肾小管细胞受损并发生功能障碍。其常常作为近端肾小管蛋白质重吸收的评估指标被广泛应用于肾毒性的研究中。之前有研究发现尿液  $\beta_2$ -MG 的分泌常常伴随 MIA。从表 2 可以看出,和健康对照相比,糖尿病患者尿液 NAG 与  $\beta_2$ -MG 在 MIA 出现以前就已经出现升高, $\beta_2$ -MG 同 NAG 一样与血清 Cr 之间也呈正相关,说明二者在诊断 2 型糖尿病上都具有一定的优势。

现阶段还没有找到单一的标志物用于诊断肾脏不同位点的受损情况并评估疾病的严重程度,所以临床上更倾向于使用一组生物标志物用于评估肾脏病变。血清 Cys-C 在诊断糖尿病肾小球病变与血清 Cr 相比,是一个更加优良有效的生物标志物。尿液中低分子量蛋白质如  $\beta_2$ -MG 以及 NAG 酶这类反映早期肾小管受损情况的标志物的不断上升在早期一定程度上提示了 2 型糖尿病患者出现了肾损伤。作者通过同时检测糖尿病患者血清 Cys-C 以及尿液  $\beta_2$ -MG 与 NAG 酶,能早期检测到患者是否出现肾功能损伤,有利于临床上对患者的及时治疗,避免患者进入终末期肾病。

**参考文献**

[1] Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, et al. Collaborative Study Group. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2001, 345(12): 851-860.  
 [2] Watanabe S, Okura T, Kurata M, et al. (下转第 2944 页)

疗,有效地控制医院感染。

使用青霉素和头孢菌素类抗菌药物诱导肠杆菌科细菌产生是 ESBLs 常见的情况,其是由  $\beta$ -内酰胺酶个别氨基酸突变形成<sup>[2]</sup>。抗菌药物耐药菌的广泛传播是由于质粒携带 ESBLs 容易在细菌间传递。因此,临床上通过选取适当的检测方法对产 ESBLs 菌株进行检测,可正确合理地指导临床用药,可从根本上控制耐药菌和耐药质粒的传播。本研究结果表明,肠杆菌科菌感染以大肠埃希菌(56.78%)和肺炎克雷伯菌(25.42%)为主。ESBLs 检出率大肠埃希菌达 37.31%,肺炎克雷伯菌达 33.33%。产 ESBLs 菌的严重危害性在于它的多重耐药性、流行菌株的扩散以及质粒和耐药基因的转移<sup>[3]</sup>。研究发现,产 ESBLs 的菌株容易导致多重耐药菌株的产生,其带有的耐药基因有氨基糖苷类、喹诺酮类和磺胺类抗菌药物,同时也能通过耐药质粒传递给其他细菌,易引起区域性暴发流行<sup>[3]</sup>。治疗的难点可表现在第 3 代头孢菌素体外试验敏感出现的临床耐药。无论根据美国临床实验室标准化委员会(2001)要求确证是 ESBLs 阳性的菌株的体外药敏试验是否敏感,均按照对所有头孢菌素和氨基耐耐药菌进行处理。对于碳青霉烯类亚胺培南及 4 代头孢菌素头孢吡肟,产 ESBLs 菌的耐药率均不高,本次研究中没有发现对亚胺培南产生耐药性的产酶株。亚胺培南的抗菌能力很强,主要原因是对  $\beta$ -内酰胺酶亚胺培南的稳定性较高,对所有革兰阴性菌的青霉素结合蛋白产生高度亲和力,并且进入细菌微孔蛋白 D2 通道较为容易。临床上可以采用联合用药即氨基糖苷类结合含有酶抑制剂的  $\beta_2$  内酰胺抗菌药物。本研究中肠杆菌科菌株对氨基苄西林的耐药率高于 85%;对头孢菌素类耐药性呈明显上升趋势;氟喹诺酮类耐药率高于欧亚等其他国家<sup>[4]</sup>;对氨基糖苷类、磺胺类等耐药性均有上升;对碳青霉烯类、头霉素类的耐药率分别为 0% 和小于 30%,呈现出良好的敏感性。目前认为可用于治疗产 ESBLs 菌株引起感染的药物有碳青霉烯类,如亚胺培南,头霉

素类抗生素,如头孢西丁,氨基糖类抗生素,如阿米卡星,及酶抑制剂复合抗生素等敏感抗菌药物。另外对于尿路感染者可选用体外高度敏感的头孢他啶或头孢吡肟进行治疗。

抗菌药物对感染性疾病的治疗和控制起到了极大的作用,但随着这些药物的广泛应用和不合理滥用,使细菌耐药已成为当前世界性的严重问题,因此对于临床上指导合理使用抗菌药物,准确地检出产 ESBLs 菌株具有必要性<sup>[5-6]</sup>。本次研究药敏结果显示,科学地使用抗菌药物不但能够减少细菌耐药性的产生,而且还能减少产 ESBLs 菌株的流行,从而避免发生医源性感染。

### 参考文献

- [1] 章泽豹,陶映,陈文光,等.手术切口感染与术中切缘拭子培养细菌学分析[J].中华医院感染学杂志,2007,17(5):541-543.
- [2] 徐英春,王贺,孙宏莉,等.细菌耐药监测让我们走近临床[J].中华检验医学杂志,2007,30(5):485-488.
- [3] 沈定霞,罗燕萍,曹敬荣,等.大肠埃希菌质粒介导 CMY-2 型 AmpC 酶基因的研究[J].中华检验医学杂志,2007,30(8):914-918.
- [4] 张文利,沈定霞,李星萍,等.产酸克雷伯菌超广谱  $\beta$ -内酰胺酶与 AmpC 酶耐药表型及基因型分析[J].中华检验医学杂志,2007,30(6):621-624.
- [5] 陈彩贞.肠杆菌科细菌产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶的检测及耐药性分析[J].临床和实验医学杂志,2010,9(18):1383-1384.
- [6] 谷巍,尚峨,张晓静,等.497 株肠杆菌科细菌耐药性分析[J].中国实验诊断学,2011,15(10):1749-1750.

(收稿日期:2012-05-19)

(上接第 2942 页)

Valsartan reduces serum cystatin C and the renal vascular resistance in patients with essential hypertension[J]. Clin Exp Hypertens, 2006, 28(5):451-461.

- [3] Matheson A, Willcox MD, Flanagan J, et al. Urinary biomarkers involved in type 2 diabetes: a review[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2010, 26(3):150-171.
- [4] Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, et al. Cystatin C as a marker of GFR-history, indication, and future research [J]. Clin Biochem, 2005, 38(1):1-8.
- [5] Skälövä S. The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment[J]. Acta Medica (Hradec Kralove), 2005, 48(2):75-80.
- [6] Haring N, Mahr HS, Mündle M, et al. Early detection of renal damage caused by fumaric acid ester therapy by determination of urinary  $\beta_2$ -microglobulin[J]. Br J Dermatol, 2011, 164(3):648-651.
- [7] Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury[J]. Blood Purif, 2010, 29(4):357-365.
- [8] Uslu S, Efe B, Alata O, et al. Serum cystatin C and urinary enzymes as screening markers of renal dysfunction in diabetic patients[J]. J Nephrol, 2005, 18(5):559-567.
- [9] Aksun SA, Ozmen D, Ozmen B, et al.  $\beta_2$ -Microglobulin and cystatin C in type 2 diabetes: assessment of diabetic nephropathy

- [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2004, 112(4):195-200.
- [10] 孙原,魏剑芬,王亚冰,等.胱抑素 C 与糖尿病肾病的相关性研究[J].中国医科大学学报,2009,38(8):635-636.
- [11] Brito PL, Fioletto P, Drummond K, et al. Proximal tubular basement membrane width in insulin-dependent diabetes mellitus[J]. Kidney Int, 1998, 53(3):754-761.
- [12] D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2003, 12(6):639-643.
- [13] Price RG. The role of NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) in the diagnosis of kidney disease including the monitoring of nephrotoxicity[J]. Clin Nephrol, 1992, 38(1):S14-S19.
- [14] Vaidya VS, Niewczas MA, Ficociello LH, et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1, and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase[J]. Kidney Int, 2011, 79(4):464-470.
- [15] Barrera-Chimal J, Bobadilla NA. Are recently reported biomarkers helpful for early and accurate diagnosis of acute kidney injury? [J]. Biomarkers, 2012, 17(5):385-393.
- [16] Ferguson MA, Waikar SS. Established and Emerging Markers of Kidney Function[J]. Clin Chem, 2012, 58(4):680-689.

(收稿日期:2012-05-15)