

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.23.009

信号蛋白 Smad1 在 2 型糖尿病肾病中的诊断价值

吕倩颖

天津市中医药研究院附属医院临床检验科,天津 300120

摘要:目的 分析尿 Smad1 蛋白水平在 2 型糖尿病(T2DM)肾病中的诊断价值。方法 随机选取 T2DM 患者 128 例,根据尿清蛋白/尿肌酐比值(ACR)进行分组:A 组($ACR < 30 \text{ mg/g}$)39 例,B 组($30 \text{ mg/g} \leq ACR \leq 300 \text{ mg/g}$)56 例,C 组($ACR > 300 \text{ mg/g}$)33 例。另设健康对照组(NC 组)20 例。采用 ELISA 法检测各组受试者尿 Smad1 蛋白水平,并通过测得的血肌酐值进行肾小球滤过率(GFR)计算。综合分析组间、组内各项指标的关系。结果 随着 ACR 比值升高,受试者尿 Smad1 蛋白水平有明显改变(均 $P < 0.05$),且各组内与相应的 GFR 均呈正相关(均 $P < 0.05$)。尿 Smad1 蛋白诊断糖尿病肾病(DN)的受试者工作特征曲线(ROC)下面积 AUC 为 0.911(95%CI:0.847~0.975),灵敏度为 0.836,特异度为 0.866。结论 尿 Smad1 蛋白可较好地反映 T2DM 肾脏损伤程度,对 DN 具有一定的诊断价值。

关键词:2 型糖尿病; 糖尿病肾病; 尿 Smad1 蛋白

中图分类号:R587.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)23-3424-03

Diagnostic value of signal protein Smad1 in type 2 diabetes mellitus nephropathy

LYU Qianying

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital, Tianjin Municipal Academy of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300120, China

Abstract: Objective To analyze the diagnostic value of urinary Smad1 protein in type 2 diabetes mellitus (T2DM) nephropathy(DM). **Methods** A total of 128 patients with T2DM was randomly selected and grouped according to the urinary albumin to urinary creatinine ratio (ACR): 39 cases in the group A ($ACR < 30 \text{ mg/g}$), 56 cases in the group B ($30 \text{ mg/g} \leq ACR \leq 300 \text{ mg/g}$) and 33 cases in the group C ($ACR > 300 \text{ mg/g}$). And the healthy control group (NC, 20 cases) was set. The level of urinary Smad1 protein in each group was tested by adopting ELISA, and the glomerular filtration rate (GFR) was calculated by the tested serum creatinine level. Then the intra-group and inter-group relationships of the various indexes were comprehensively analyzed. **Results** The urinary Smad1 protein level in the subjects had significant change with the ACR ratio increase ($P < 0.05$), which in each group had a positive correlation with corresponding GFR($P < 0.05$). The area (AUC) under the receiver operating characteristic (ROC) curve of urinary Smad1 for diagnosing DM was 0.911 (95%CI:0.847-0.975), with the sensitivity of 0.936 and the specificity of 0.866. **Conclusion** The urinary Smad1 protein can better reflect the damage degree of kidney in T2DM, and has a certain guidance value for diagnosing DN.

Key words: type 2 diabetes mellitus; diabetic nephropathy; urinary Smad1 protein

在糖尿病病程中,肾脏累及已成为该病发展期间最为重要的合并症之一。而糖尿病肾病(DN)在我国终末期肾脏疾病发生、发展的主因中已高居第二位,因此,如何早期准确诊断 DN,已成为众多学者关注的焦点。在肾脏病理发展过程中发挥信号传导作用的 Smad1 蛋白被认为是 DN 肾损伤的标志物^[1],但后续相关临床研究较少且结果并不十分明确,更多研究仍主要集中在动物模型中。因此,本研究旨在进一步探讨 Smad1 蛋白在 2 型糖尿病(T2DM)肾病患者中的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2013 年 5 月至 2015 年 10 月收治的 T2DM 患者共计 128 例,均符合 2018 年美国糖尿病学会(ADA)指南的糖尿病诊断标准^[2],均排除其他肾脏疾病、急性感染、心脏病、高血压及恶性肿瘤病史。根据尿清蛋白/尿肌酐比值(ACR)对该人群进行分组^[3]:A 组,正常清蛋白尿组($ACR < 30 \text{ mg/g}$)39 例,男 20 例、女 19 例,平均年龄(68.25 ± 20.65)岁,平均体质量指数(BMI)(26.35 ± 3.25) kg/m^2 ;B 组,微量清蛋白尿组($30 \text{ mg/g} \leq ACR \leq 300 \text{ mg/g}$)56

例,男 29 例、女 27 例,平均年龄(66.12±19.35)岁,平均 BMI(28.62±2.58)kg/m²;C 组,大量清蛋白尿组(ACR>300 mg/g)33 例,男 15 例、女 18 例,平均年龄(67.56±19.63)岁,平均 BMI(26.22±3.05)kg/m²。另选取同期于本院健康体检者 20 例作为健康对照组(NC 组),男、女各 10 例,平均年龄(65.23±18.55)岁,平均 BMI(27.35±2.96)kg/m²。各组一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 美国 GLAMOUR 6000 生化分析仪及配套试剂(批号:153201);尿 Smad1 蛋白检测 ELISA 试剂盒(上海沪鼎生物科技有限公司提供);Uranus AE 120 全自动酶免仪(深圳市爱康生物科技有限公司提供)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集和处理 纳入对象(禁食 10 h)均于清晨空腹采集肘静脉血 5 mL,经 3 000 r/min 离心 5 min,用于肌酐(Cr)检测,以计算肾小球滤过率(GFR);同时留取清洁中段尿 5 mL 用于尿 Smad1 蛋白检测。

1.3.2 GFR 计算 应用美国 GLAMOUR 6000 生化分析仪进行 Cr 苦味酸法检测后,通过 MDRD 简化公式中国改良版公式计算出受试者 GFR。

1.3.3 尿 Smad1 蛋白检测 应用相关 ELISA 试剂盒,严格按照试剂盒说明书通过 Uranus AE 120 全自动酶免仪对尿 Smad1 蛋白进行检测,并通过标准品绘制的线性回归直线方程式计算出受试者的尿 Smad1 蛋白水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间两两比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义;相关性分析采用 Spearman 分析法;以 GFR 为金标准建立受试者工作特征曲线(ROC 曲线),分析尿 Smad1 蛋白对 DN 的诊断效能。

2 结 果

2.1 DN 各组与 NC 组尿 Smad1 蛋白水平及 GFR 比较 随着 ACR 比值的升高,各组 GFR 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);而尿 Smad1 蛋白水平 A 组虽较 NC 组有所升高,但差异无统计学意义($P>0.05$),B 组与 A 组、C 组与 B 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同程度肾损伤尿 Smad1 蛋白水平与 GFR 的相关性分析 DN A、B、C 组尿 Smad1 蛋白水平均与其相对应的 GFR 呈正相关($r=0.901,0.912,0.908, P<0.05$)。

2.3 尿 Smad1 蛋白的 ROC 曲线分析 以计算得到的 GFR 为金标准作尿 Smad1 蛋白的 ROC 曲线图,

结果显示,该蛋白检测的灵敏度为 0.836,特异度为 0.866,ROC 的曲线下面积(AUC)为 0.911(95%CI: 0.847~0.975),见图 1。

表 1 两组间 GFR 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	GFR [mL/(min·1.732 m ²)]	尿 Smad1 蛋白 (ng/L)
NC 组	20	133.26±15.88	6.25±1.31
A 组	39	107.35±14.25*	8.26±1.21
B 组	56	83.68±6.50*	14.55±1.33*
C 组	33	61.33±8.34*	20.65±1.28*

注:与前一组比较,* $P<0.05$

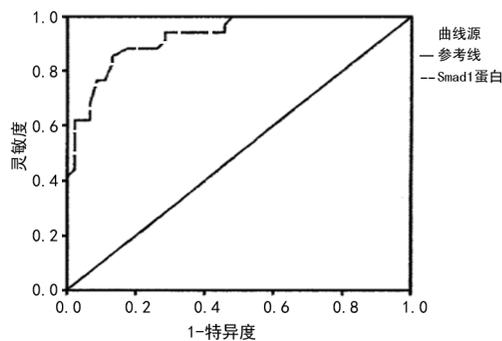


图 1 尿 Smad1 蛋白的 ROC 曲线

3 讨 论

DN 的病理形态学改变主要为累及肾小球基底膜的增厚及系膜基质的扩增,而 IV 型胶原在该过程早期信号蛋白的调控下发挥主要作用。其中,作为 Smad 基因家族中重要一员的 Smad1,经研究表明其翻译后形成的蛋白在肾脏中主要定位于肾小球系膜区,可直接上调肾小球基底膜 IV 型胶原纤维化因子的转录活性,进而活化诸如胶原特异性热休克蛋白 47 等蛋白质分子导致肾小球硬化症,这一研究成果已在相关临床试验研究中得到证实^[1-4]。

本研究中,随着 DN 患者 ACR 比值的升高,Smad1 蛋白水平表现出统计学差异,且与相对应的 GFR 呈现较好的相关性,表明尿 Smad1 蛋白可较好反映肾脏受累情况。而 A 组尿 Smad1 蛋白较 NC 组排泄量虽有一定升高,但差异无统计学意义($P>0.05$),考虑可能与其分解代谢途径有关,即该蛋白既可由肾脏原位细胞分泌或坏死分解而来,亦可源于身体其他组织细胞表达分解并释放入血液循环,通过肾脏滤过功能进入尿液,最终形成尿 Smad1 蛋白。A 组患者肾脏受累程度较轻,加之 NC 组人群亦可分泌测得该蛋白,考虑个体差异等因素影响,导致该蛋白水平的改变并不显著。从这一结果看,尿 Smad1 蛋白似乎不适用于 DN 的早期诊断。周淑红^[5]认为,信号蛋白 Smad1 可能不是 T2DM 肾病早期诊断有意义的指标。相反,师萍^[6]在研究中通过 Logistic 回归分析指出,尿 Smad1 蛋白水平是 DN 患者的独立危险因素,

可成为 T2DM 肾病的早期诊断指标之一,这与 DOI 等^[7]的研究成果相符,与本研究结果却有相悖之处。然而,纵观该蛋白在 DN 中的代谢变化,以及通过 ROC 曲线分析得出的较高灵敏度及特异度,本实验室认为,尿 Smad1 蛋白至少在 DN 的肾脏受损程度及预后的诊断上可发挥重要作用,即尿 Smad1 蛋白水平可有效提示临床患者肾脏损伤及诊疗恢复效果。李巧等^[8]在研究中同样提供了充足的理论依据加以佐证。

综上所述,尿 Smad1 蛋白可较好反映肾脏受累情况,为 T2DM 肾病的发展进度提供理论依据。同时,据相关文献报道,尿 Smad1 蛋白可作为 DN 早期诊断的新型生物指标^[9]。若联合血清 miRNA-21、Smad1 蛋白及尿液中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)检测,可更有效提高早期 DN 诊断质量^[10],然而该蛋白在 DN 病程诊断中的临床应用及临床临界值的设定,仍需研究人员进行多中心、大样本研究与探索。

参考文献

[1] MATSUBARA T, ABE H, MIMA A, et al. Expression of Smad1 is directly associated with Mesangial matrix expansion in rat diabetic nephropathy[J]. Lab Invest, 2006, 86:357-368.

[2] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2018[J]. Diabetes Care, 2018, 41 (Suppl 1): S1-S155.

[3] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 15 版. 北京:人民卫生出版社, 2017:22.

[4] 周颖,陈纤纤,冯烈,等. Smad1 与糖尿病肾病的研究进展[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(5):468-470.

[5] 周淑红. 信号蛋白 Smad1 对 2 型糖尿病肾病诊断的初步研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(10):1127-1129.

[6] 师萍. 2 型糖尿病肾病患者血尿酸水平与微量白蛋白尿及 Smad1 蛋白表达的相关性研究[D]. 石家庄:河北医科大学, 2014.

[7] DOI T, MIMA A, MATSUBARA T, et al. The current clinical problems for early phase of diabetic nephropathy and approach for pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 82(Suppl 1):S21-S24.

[8] 李巧,李佳紫,冯烈,等. 尿 Smad1 与 2 型糖尿病肾病早期诊断及病情进展关系的探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(22):34-37.

[9] 李莉,万青松. 尿信号蛋白 Smad1 对 2 型糖尿病肾病诊断价值的评估[J]. 实用医药杂志, 2015, 32(9):800-802.

[10] 王钱虎,陈锂,彭亮. 血清 miRNA-21、Smad1 联合尿 NGAL 检测对早期糖尿病肾病的诊断价值[J]. 浙江实用医学, 2018, 23(5):321-323.

(收稿日期:2019-03-12 修回日期:2019-06-04)

(上接第 3423 页)

and Crohn's disease[J]. Gut, 2017, 66(5):839-851.

[2] LIGHTNER A L, MATHIS K L, DOZOIS E J, et al. Results at up to 30 years after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2017, 23, 10(5):781-790.

[3] PARAMSOTHY S, KAMM M A, KAAKOUSH N O, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2017, 38, 9(10075):1218-1221.

[4] 陈璐,周中银. 溃疡性结肠炎发病机制的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(6):650-654.

[5] 张静,吕毅. 肠道菌群失调诱发 2 型糖尿病的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(1):113-116.

[6] 赵娜,邓旻. 肠道菌群移位对多脏器功能障碍综合征发生发展的影响及其防治[J]. 浙江中西医结合杂志, 2017, 27(2):165-168.

[7] 张焯杰. MODS 患者肠道菌群紊乱与机体免疫应答、炎症反应的相关性分析[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(13):1780-1782.

[8] 李闯,郝同琴,刘建萍,等. 百草枯中毒患者血清肿瘤坏死因子- α 白细胞介素-6 及百草枯浓度变化的分析[J]. 中国急救医学, 2010, 30(8):739-741.

[9] 瞿庆红,陈霞. 经腹彩色多普勒超声检查在溃疡性结肠炎早期诊断和活性评估中的应用价值[J]. 中国现代医

生, 2019, 57(8):122-125.

[10] 马晨,张和平. 粪便菌群移植的研究与应用[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(3):364-368.

[11] 李贞贞,王影,唐立. 肠道菌群在炎症性肠病发病中的作用[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(11):1350-1354.

[12] 杨泽冉,辛毅,侯洁,等. 肠道菌群失调及其相关疾病研究进展[J]. 山东医药, 2016, 56(1):99-101.

[13] 刘志威,王学群,李甜甜. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化的临床意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(5):554-556.

[14] 刘萍,郭珍红,董丽娜,等. 实时荧光定量 PCR 法研究不同年龄段健康人群肠道菌群特点[J]. 中国临床实用医学, 2016, 10(1):24-27.

[15] 辛群,孙擎,葛现才,等. IL-6 和 IL-23 在溃疡性结肠炎患者肠黏膜中的表达及意义[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(8):1471-1473.

[16] 毛靖伟,唐海英,王英德. MMP-1、TIMP-1 和 TNF- α 在溃疡性结肠炎中表达的意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2009, 18(8):738-740.

[17] 崔路佳,王裕宣. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群改变与炎症指标的相关性研究[J]. 海南医学, 2018, 25(20):3014-3016.

(收稿日期:2019-03-30 修回日期:2019-06-22)