

IGF-1 在 2 型糖尿病肾病中的表达及作用

吴心语 张朝明 游小兰 张灵玲 葛一漫

作者单位: 611137 四川成都, 成都中医药大学医学技术学院(吴心语)
611137 四川成都, 成都中医药大学附属医院检验科(张朝明、张灵玲、葛一漫)
611137 四川成都, 成都中医药大学实验室建设与管理处(游小兰)

通讯作者: 张朝明, Email: 601587352@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.03.012

【摘要】目的 探讨胰岛素样生长因子-1(IGF-1)与2型糖尿病(DM)肾脏病变程度的关系及其临床诊断价值,为研究糖尿病肾病(DN)的发病机制提供参考依据。**方法** 选择2017年1月10日—2018年1月10日在成都中医药大学附属医院确诊的90例2型DN患者作为研究对象,根据临床分期标准分为正常白蛋白尿期组〔I期,尿微量白蛋白/尿肌酐(mALB/UCr) < 3.41 mg/mmol〕、微量白蛋白尿期组(II期, mALB/UCr 为 3.41 ~ 34.09 mg/mmol)和大量白蛋白尿期组(III期, mALB/UCr ≥ 34.09 mg/mmol),每组各30例;根据肾功能受损程度分为肾功能正常组〔30例,肾小球滤过率(eGFR) ≥ 90 mL·min⁻¹·1.73 m⁻²〕、肾功能轻度受损组(43例, eGFR 为 60 ~ 90 mL·min⁻¹·1.73 m⁻²)和慢性肾功能不全组(17例, eGFR < 60 mL·min⁻¹·1.73 m⁻²)。另选择20例健康体检者作为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定所有研究对象的血浆 IGF-1 水平,绘制受试者工作特征曲线(ROC),采用 ROC 曲线下面积(AUC)评估 mALB、胱抑素 C(Cys C)、IGF-1 对肾功能受损情况的诊断价值。**结果** 2型DN组患者的 IGF-1 水平均明显高于健康对照组(μg/L: 55.77 ± 7.23),其中2型DN患者 I ~ III期各组的 IGF-1 水平依次为 DN III期组 > DN II期组 > DN I期组(μg/L: 178.79 ± 10.03 > 118.62 ± 8.94 > 77.06 ± 7.54),组间两两比较差异均有统计学意义(均 P < 0.05);随肾脏损伤程度增加,IGF-1 水平逐渐升高,慢性肾功能不全组 > 肾功能轻度受损组 > 肾功能正常组(μg/L: 178.48 ± 9.61 > 131.52 ± 39.49 > 92.36 ± 8.24),组间两两比较差异均有统计学意义(均 P < 0.05)。ROC 曲线分析显示,IGF-1、mALB/UCr、Cys C 诊断2型DN患者肾功能受损的 AUC 分别为 0.81、0.93、0.69,当 83.56 μg/L 作为 IGF-1 诊断肾功能受损的临界值时,敏感度(81.50%)和特异度(83.00%)均达到最佳。**结论** IGF-1 在2型DN肾功能受损评价方面具有一定价值,并在疾病不同临床阶段有不同程度的升高,故在2型DN早期诊断、疾病评估方面具有较好的临床应用前景。

【关键词】 胰岛素样生长因子-1; 2型糖尿病肾病; 早期诊断

基金项目: 成都中医药大学科技发展基金项目(ZRQN1659)

Expression and application of insulin-like growth factor-1 in type 2 diabetic nephropathy

Wu Xinyu, Zhang Chaoming, You Xiaolan, Zhang Lingling, Ge Yiman. College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, Sichuan, China (Wu XY); Department of Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, Sichuan, China (Zhang CM, Zhang LL, Ge YM); Laboratory Construction and Management Office, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, Sichuan, China (You XL)

Corresponding author: Zhang Chaoming, Email: 601587352@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical diagnostic value of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in type 2 diabetes mellitus (DM) nephropathy (DN) and its relationship with the DN degree of severity in order to provide reference for studying the DN pathogenesis. **Methods** Ninety patients of type 2 DN definitely diagnosed in Chengdu University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital from January 10, 2017 to January 10, 2018 were selected as research subjects. According to the clinical staging criteria, they were divided into a normal albuminuria group [stage I, urine microalbumin/urine creatinine (mALB/UCr) < 3.41 mg/mmol], a microalbuminuria group (stage II, mALB/UCr was 3.41-34.09 mg/mmol) and a large amount of albuminuria group (stage III, mALB/UCr ≥ 34.09 mg/mmol), each group 30 cases. And then according to the degree of renal impairment, they were divided into normal renal function group [30 cases, renal glomerular filtration rate (eGFR) ≥ 90 mL·min⁻¹·1.73 m⁻²], mild impairment of renal function group (43 cases, eGFR was 60-90 mL·min⁻¹·1.73 m⁻²)

and chronic renal insufficiency group (17 cases, $eGFR < 60 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$). In addition, 20 healthy subjects were selected as the healthy control group. The plasma IGF-1 level of all the subjects was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn, and the areas under the curve (AUC) were used to evaluate the diagnostic values of mALB, cysteine C (Cys C) and IGF-1 for the damage severity of renal function in various stages. **Results** The level of IGF-1 in type 2 DN group was significantly higher than that in healthy control group ($\mu\text{g/L}$: 55.77 ± 7.23), among the DN patients, the levels of IGF-1 in the 3 groups were as follows: DN III group > DN II group > DN I group ($\mu\text{g/L}$: $178.79 \pm 10.03 > 118.62 \pm 8.94 > 77.06 \pm 7.54$), there were statistically significant differences in the comparisons between any two groups among the 3 groups (all $P < 0.05$); with the increase of kidney injury, the level of IGF-1 gradually increased, and chronic renal insufficiency group > mild renal impairment group > normal renal function group ($\mu\text{g/L}$: $178.48 \pm 9.61 > 131.52 \pm 39.49 > 92.36 \pm 8.24$), there were statistically significant differences in the comparisons between any two groups among the 3 groups (all $P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of IGF-1, mALB/UCr and Cys C was 0.81, 0.93 and 0.69 respectively for the diagnosis of type 2 DN patients with impaired renal function. When $83.56 \mu\text{g/L}$ IGF-1 as a diagnostic threshold for impaired renal function, its sensitivity (81.50%) and the specificity (83.00%) both reached the best. **Conclusions** IGF-1 has a certain value in evaluation of damage of renal function in DN of type 2 DM, and its level increases a certain degree under the progression of clinical stages of the disease. Therefore, IGF-1 as a new serum marker in the aspects of early diagnosis and assessment of DN disease situation has good clinical application prospects.

【Key words】 Insulin-like growth factor-1; Type 2 diabetic nephropathy; Early diagnosis

Fund Program: Science and Technology Development Fund of Chengdu University of TCM (ZRQN1659)

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是以损害肾脏微血管为主要特征的糖尿病(diabetes mellitus, DM)并发症^[1]。以往将 24 h 尿蛋白排泄率作为诊断蛋白尿的金标准,但由于门诊 DM 患者占大多数,留取 24 h 尿液标本非常繁琐,因此极不利于 DN 早期的筛查^[2-3]。同时 2 型 DN 患者的尿微量白蛋白(micro-albumin, mALB)与肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)不一定呈平行进行性发展^[4]。近年来有研究表明,胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor, IGF-1)在糖代谢和脂代谢中起一定作用,而目前的研究主要集中在细胞水平,有关不同临床阶段 2 型 DN 患者体内 IGF-1 水平变化及其临床意义的研究较少。IGF-1 由肝脏合成,属于肽类家族激素,其合成受胰岛素、生长激素(growth hormone, GH)、营养状况等的调节,影响细胞的生长和代谢^[5]。本研究采用国产酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测人体血浆 IGF-1 在 2 型 DN 不同临床分期中的表达情况,旨在初步探讨 IGF-1 在 2 型 DN 中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 病例选择 选择 2017 年 1 月 10 日—2018 年 1 月 10 日成都中医药大学附属医院内分泌科、肾脏内科和急诊科确诊的 2 型 DN 患者, DN 诊断标准参照中华医学会《临床诊疗指南肾脏病学分册》^[6]。

排除其他原因引起的肾脏损害患者、合并非 DN 和其他原发性疾病的患者、曾进行肾脏替代治疗者、各种急慢性感染患者、DM 酮症酸中毒及其他并发症患者。

1.2 分组 共有 90 例 2 型 DN 患者纳入本研究。根据临床分期标准将患者分为正常白蛋白尿期(I 期)组[mALB/尿肌酐(urine creatinine, UCr) < $3.41 \text{ mg}/\text{mmol}$]、微量白蛋白尿期(II 期)组(mALB/UCr 为 $3.41 \sim 34.09 \text{ mg}/\text{mmol}$)和大量白蛋白尿期(III 期)组(mALB/UCr $\geq 34.09 \text{ mg}/\text{mmol}$),每组各 30 例;根据肾功能受损情况将患者分为肾功能正常组(20 例, $eGFR \geq 90 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$)、肾功能轻度受损组(43 例, $eGFR$ 为 $60 \sim 90 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$)和慢性肾功能不全组(17 例, $eGFR < 60 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$)。另选择 20 例健康体检者作为健康对照组。

1.3 研究方法

1.3.1 常规数据的采集与处理 收集所有研究对象的身高、体质量、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、体重指数[body mass index, BMI, $\text{BMI} = \text{体质量}(\text{kg}) / \text{身高}(\text{m})^2$]、DM 病程等一般病史情况。 $eGFR$ 的计算方法参考 CKD-EPI 公式^[7]。

1.3.2 标本采集与检测

1.3.2.1 肝素抗凝静脉血浆标本获取及指标检测 于上午 08:00 抽取所有研究对象空腹 8 h 后静脉

血,离心 10 min (3 000 r/min,离心半径 10 cm),常规分离标本。使用 Beckman Coulter AU5400 全自动生化分析仪检测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、肝肾功能〔胱抑素 C(cystatin C, Cys C)、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)〕。采用 ELISA 法检测血浆 IGF-1 水平,试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司(试剂批号:IGF-1 ELISA KIT 201409-X42,精密度:批内差≤10%,批间差<12%,检测范围:3~900 μg/L)。

1.3.2.2 EDTA-K2 抗凝静脉全血标本的获取及指标检测 抽取所有研究对象外周静脉血 2 mL,置于真空采血管中颠倒混匀,使用 Bio-Rad D10 糖化血红蛋白分析仪检测糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)。

1.3.2.3 晨尿标本的获取及指标检测 收集所有研究对象晨尿 10 mL,离心 10 min (3 000 r/min,离心半径 10 cm),取上清液,使用 IMMAGE-800 特定蛋白分析仪测定 mALB,使用 Beckman Coulter AU5400 全自动生化分析仪检测 UCr,计算 mALB/UCr 的比值。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 进行统计学分析,呈正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;非正态分布的计量资料以中位数(四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示,采用非参数检验 Mann-Whitney *U* 检验。采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)下面积(area under curve, AUC)评估预测效果。

2 结果

2.1 一般资料 90 例 2 型 DN 患者和 20 例健康对照组入选本研究,所有研究对象的性别、年龄、ALT 和 LDL-C 比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。与健康对照组比较,2 型 DN I~III 期组患者的 BMI、SBP、DBP、FPG、HbA1c、TC、Cys C 均明显升高,eGFR 明显降低(均 $P < 0.05$)。与 DN I 期组比较, DN II 期组和 DN III 期组的病程、BMI、mALB/UCr、Cys C 均明显升高,eGFR 均明显降低(均 $P < 0.05$); DN III 期组的 TG 明显升高,TC 明显降低(均 $P < 0.05$)。与 DN II 期组比较, DN III 期组的 TG、Cys C、mALB/UCr 均明显升高,TC、eGFR 均明显降低(均 $P < 0.05$)。各组间其余指标比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 1。

2.2 不同临床分期 2 型 DN 组患者与健康对照组血浆 IGF-1 水平比较 IGF-1 水平依次为 DN III 期组 > DN II 期组 > DN I 期组 > 健康对照组,各组间两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 2。

表 2 不同临床分期 2 型 DN 组患者与健康对照组血浆 IGF-1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	IGF-1(μg/L)
健康对照组	20	55.77 ± 7.23
DN I 期组	30	77.06 ± 7.54 ^a
DN II 期组	30	118.62 ± 8.94 ^{ab}
DN III 期组	30	178.79 ± 10.03 ^{abc}

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与 DN I 期组比较,^b $P < 0.05$;与 DN II 期组比较,^c $P < 0.05$

2.3 不同肾功能受损情况 2 型 DN 组患者与健康对照组血浆 IGF-1 水平比较 4 组的性别、年龄和 BMI 比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。IGF-1 水平依次为慢性肾功能不全组 > 肾功能轻度受损组 > 肾功能正常组 > 健康对照组,各组间两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 3。

表 1 不同临床分期 2 型 DN 组与健康对照组各临床监测指标比较

组别	例数(例)	性别(例)		年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	病程[年, $M(Q_L, Q_U)$]	BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	SBP(mmHg, $\bar{x} \pm s$)	DBP(mmHg, $\bar{x} \pm s$)	FPG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	HbA1c(%, $\bar{x} \pm s$)
		男性	女性							
健康对照组	20	11	9	59.91 ± 8.86		21.32 ± 1.57	114 ± 10	78 ± 7	5.23 ± 0.42	4.49 ± 0.93
DN I 期组	30	14	16	55.21 ± 11.06	6(5, 9)	23.66 ± 2.89 ^a	121 ± 7 ^a	84 ± 5 ^a	7.05 ± 1.60 ^a	8.08 ± 0.71 ^a
DN II 期组	30	16	14	63.10 ± 13.40	10(6, 12) ^b	23.99 ± 2.96 ^{ab}	137 ± 13 ^a	84 ± 6 ^a	7.43 ± 2.01 ^a	8.39 ± 1.14 ^a
DN III 期组	30	15	15	62.97 ± 11.89	11(6, 16) ^b	24.83 ± 3.18 ^{ab}	143 ± 15 ^a	86 ± 6 ^a	7.54 ± 1.59 ^a	9.32 ± 1.82 ^a

组别	例数(例)	TC(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	TG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	LDL-C [mmol/L, $M(Q_L, Q_U)$]	HDL-C [mmol/L, $M(Q_L, Q_U)$]	Cys C(mg/L, $\bar{x} \pm s$)	ALT [U/L, $M(Q_L, Q_U)$]	mALB/UCr(mg/mmol, $\bar{x} \pm s$)	eGFR[mL·min ⁻¹ ·1.73 m ⁻² , $M(Q_L, Q_U)$]
健康对照组	20	1.43 ± 0.21	4.52 ± 0.29	2.51(2.01, 2.95)	1.53(1.24, 1.69)	0.67 ± 0.12	14.1(11.2, 19.5)	1.14 ± 0.27	118.0(105.5, 158.5)
DN I 期组	30	2.08 ± 0.27 ^a	4.43 ± 0.43	2.45(2.22, 2.89)	1.26(1.01, 1.45)	0.95 ± 0.34 ^a	15.6(12.0, 19.5)	2.05 ± 1.21	97.9(81.9, 110.7) ^a
DN II 期组	30	2.11 ± 0.25 ^a	4.38 ± 0.37	2.15(1.96, 2.51)	1.28(1.15, 1.56)	1.51 ± 0.17 ^{ab}	16.3(12.3, 19.8)	29.93 ± 1.73 ^{ab}	85.9(68.8, 103.3) ^{ab}
DN III 期组	30	1.89 ± 0.26 ^{abc}	4.85 ± 0.33 ^{abc}	1.96(1.84, 2.36)	1.13(1.11, 1.59) ^a	2.17 ± 0.28 ^{abc}	16.1(12.1, 20.3)	62.76 ± 1.42 ^{abc}	63.6(43.5, 86.1) ^{abc}

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与 DN I 期组比较,^b $P < 0.05$;与 DN II 期组比较,^c $P < 0.05$;1 mmHg=0.133 kPa;空白表示无此项

表 3 不同肾功能受损情况 2 型 DN 组患者与健康对照组血浆 IGF-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

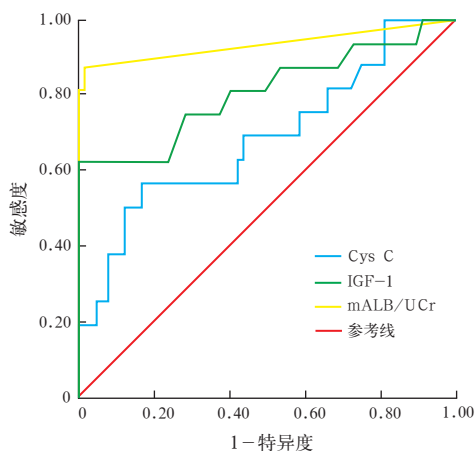
组别	例数(例)	IGF-1 ($\mu\text{g/L}$)
健康对照组	20	55.77 \pm 7.23
肾功能正常组	30	92.36 \pm 8.24 ^a
肾功能轻度受损组	43	131.52 \pm 39.49 ^{ab}
慢性肾功能不全组	17	178.48 \pm 9.61 ^{abc}

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与肾功能正常组比较,^b $P < 0.05$;与肾功能轻度受损组比较,^c $P < 0.05$

2.4 ROC 曲线分析 $e\text{GFR} < 90 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$ 作为肾功能受损的诊断标准,以敏感度为纵坐标,1-特异度为横坐标,在同一坐标轴上分别绘制 IGF-1、mALB/UCr、Cys C 的 ROC 曲线。结果显示,AUC 依次为 mALB/UCr (0.93)、IGF-1 (0.81)、Cys C (0.69)。当 83.56 $\mu\text{g/L}$ 作为 IGF-1 诊断肾功能损伤的临界值时,敏感度和特异度达到最佳,分别为 81.50% 和 83.00%。见表 4,图 1。

表 4 mALB/UCr、Cys C、IGF-1 的 ROC 曲线分析

变量	AUC	标准误	95% 可信区间
mALB/UCr	0.93	0.04	0.88 ~ 0.92
Cys C	0.69	0.05	0.77 ~ 0.86
IGF-1	0.81	0.03	0.81 ~ 0.95

**图 1** IGF-1、mALB/UCr、Cys C 的 ROC 曲线

3 讨论

IGF-1 为肽类家族激素,由 70 个氨基酸组成,相对分子质量 7 649^[8]。肾脏能够生成和释放 IGF-1,同时也是 GH/IGF-1 轴的靶器官。在高糖环境下,IGF-1 会升高以增加机体对糖和氨基酸的吸收^[9]。DM 患者 GH/IGF-1 轴异常,因胰岛素水平较低,导致患者血糖升高,而 GH 有胰岛素拮抗作用,导致 GH 分泌增加,IGF-1 明显升高。动物实验研究发现,敲除大鼠 GHR/GHBP 基因后,肾脏病理性进行性改变可明显好转;大鼠体内 GH 基因过表达则导致肾

脏体积增大,出现肾小球基底膜增厚以及肾动脉硬化、肾基质纤维化等病理性改变,与 DM 肾脏病变受损情况相似^[10]。目前已证实 GH/IGF-1 轴与 2 型 DM 肾脏的病理性改变有关,提示 IGF-1 可能在 DN 的早期阶段发挥作用^[11]。

本研究采用 ELISA 法检测 2 型 DN 不同临床阶段的血浆 IGF-1 水平,结果发现,在 DN 早期阶段 IGF-1 就已升高,并且随着 DN 病程进展 IGF-1 含量逐渐增加,与 Clemmons^[12]的研究结果一致。2014 年美国糖尿病协会(the American Diabetes Association, ADA)DM 诊疗指南指出,对于 2 型 DM 患者,不论其尿白蛋白程度如何,应每年至少进行 1 次血清肌酐测定以评价 eGFR,并进行分期^[13]。因此本研究还以 eGFR 水平进行分层,测得 IGF-1 水平依次为慢性肾功能不全组 > 肾功能轻度受损组 > 肾功能正常组 > 健康对照组,再一次证实 IGF-1 水平升高与 2 型 DM 患者肾脏病变损伤程度一致^[14]。IGF-1 水平升高可能与以下因素有关:① IGF-1 与胰岛素的同源性:IGF-1 具有胰岛素样代谢作用,通过 IGF-1 受体促进氨基酸和葡萄糖的吸收,同时增加胰岛素的敏感性以促进糖原合成,抑制糖原分解,从而调节葡萄糖的动态平衡^[15]。② IGF-1 参与 DN 的生理、病理过程:当患者发生 DN 时,肾脏自分泌或代偿性旁分泌合成 IGF-1 增加,多种因素导致肾脏病理性的形态改变^[16]。足细胞存在于肾小球的毛细血管基底膜外侧,是一种高度分化细胞,足细胞损伤可使足突回缩,从而形成蛋白尿。DN 患者持续高水平分泌 IGF-1,通过参与 GH/IGF-1 轴损害足突细胞,最终导致蛋白尿形成,引起肾脏病理性改变。不同诊断方法比较时,以 AUC 接近 1 为诊断准确性高,AUC 依次为 mALB/UCr (0.93) > IGF-1 (0.81) > Cys C (0.69),当 83.56 $\mu\text{g/L}$ 作为 IGF-1 诊断肾功能损伤的临界值时,敏感度 (81.50%) 和特异度 (83.00%) 达到最佳。

综上,IGF-1 可作为新的血浆标志物,在 2 型 DN 的早期诊断、病情预估方面具有良好的临床价值。

参考文献

- 1 Fernández FB, Elewa U, Sánchez-Niño MD, et al. 2012 update on diabetic kidney disease: the expanding spectrum, novel pathogenic insights and recent clinical trials [J]. Minerva Med, 2012, 103(4): 219-234.
- 2 刘蕊. 尿白蛋白检测的临床应用及注意的问题 [J]. 实用检验医师杂志, 2014, 6(3): 129-132.
- 3 Gruden G, Thomas S, Burt D, et al. Mechanical stretch induces