

• 临床论著 •

血清骨形态发生蛋白-7与2型糖尿病肾病病变程度的临床研究

朱虹 赵贵辛 刘铁奇 陈智明 孙朝庆

【摘要】 目的 探讨血清骨形态发生蛋白-7(BMP-7)水平与2型糖尿病肾病(DN)病变程度的关系,检测BMP-7能否作为反映DN早期的预测指标。方法 选择2型糖尿病患者207例,根据尿白蛋白排泄率(UAER)水平,将其分为非DN组56例(A组),UAER<20 μg/min;早期DN 55例(B组),UAER:20~200 μg/min;临床期DN肾功能正常组52例(C组),UAER>200 μg/min;临床期DN肾功能异常组44例(D组),UAER>200 μg/min,肾功能为慢性肾衰竭代偿期(血清肌酐Cr:133~177 μmol/L);另选55例健康体检者作为对照组。采用酶联免疫吸附法测定BMP-7水平;采用电化学发光法测定尿白蛋白的值,再根据UAER(μg/min)=(尿白蛋白浓度μg/ml×尿量ml)/1440 min;采用常规方法检测空腹血糖(FPG)、餐后2h血糖(2h PG)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)及糖化血红蛋白(HbA1c);并做相关分析及使用Stepwise行多因素逐步回归分析。结果 各组BMP-7的值分别为:(326.49±30.46) pg/ml, (400.06±39.37) pg/ml, (289.48±37.66) pg/ml, (167.37±29.53) pg/ml, (69.76±30.2) pg/ml, 差异有统计学意义;各组BMP-7与UAER的相关系数分别为:-0.274, 0.316, 0.771, 0.723, 0.512;各组UAER与BMP-7、FPG、2h PG及HbA1c的回归方程分别为:UAER=9.197+0.015×BMP-7, UAER=3.563+0.756×HbA1c, UAER=34.208+0.488×BMP-7, UAER=112.305+0.555×BMP-7, UAER=254.321+0.415×BMP-7。结论 血清BMP-7在DN的不同病变阶段水平不同,BMP-7与UAER具有相关性,BMP-7比FPG、2h PG及HbA1c对UAER的影响更显著。

【关键词】 骨形态发生蛋白质类; 糖尿病, 2型; 糖尿病肾病; 尿白蛋白排泄率

The clinical research of serum bone morphogenetic protein-7 and different stage of type 2 diabetic nephropathy Zhu Hong, Zhao Guixin, Liu Tiejqi, Chen Zhiming, Sun Chaoqing. Department of Internal Medicine, the Second Hospital of Chaoyang City, Chaoyang 122000, China

Corresponding author: Zhu Hong, Email: elase1985@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the association between serum bone morphogenetic protein-7(BMP-7) level and different stage of diabetic nephropathy(DN), whether as a reflection of the early predictors of type 2 DN. **Methods** 207 cases with type 2 diabetes, according to the level of urinary albumin excretion rate(UAER), were divided into non-DN group of 56 patients(group A), UAER <20 μg/min; early the DN 55 cases(group B), UAER: 20-200 μg/min; clinical stage DN with normal renal function 52 patients(group C), UAER>200 μg/min; DN in clinical renal dysfunction in 44 patients(group D), UAER>200 μg/min, renal decompensated chronic renal failure(serum creatinine Cr: 133-177 μmol/L); elect 55 healthy subjects as controls. Serum BMP-7 was measured by enzyme-linked immunosorbent; The numerical of urinary albumin was measured by the electrochemical luminescence; UAER was calculated by the formula: UAER(μg/min)=[albuminuria concentration(μg/ml)×urine volume (ml)]/1440 min; fasting plasma glucose(FPG), 2 h postprandial plasma glucose(2 h PG), blood urea nitrogen(BUN), creatinine(Cr) and glycosylated hemoglobin(HbA1c) was measured by conventional methods, the above

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.09.007

作者单位: 122000 辽宁省, 朝阳市第二医院内科(朱虹、赵贵辛、陈智明), 检验科(孙朝庆); 朝阳县医院外科(刘铁奇)

通讯作者: 朱虹, Email: elase1985@163.com

numerical were analyzed by correlation analysis and use Stepwise for multiple stepwise regression analysis.

Results Each group BMP-7 value respectively, (326.49±30.46)pg/ml, (400.06±39.37)pg/ml, (289.48±37.66)pg/ml, (167.37±29.53)pg/ml, (69.76±30.2)pg/ml, the different between each group had statistically significant. The correlation coefficient of BMP-7 with UAER respectively: -0.274, 0.316, 0.771, 0.723, 0.512; Each groups' regression equation of UAER and BMP-7, FPG, 2 h PG, HbA1c respectively: the control group: UAER=9.197+0.015×BMP-7, group A: UAER=3.563+0.756×HbA1c, group B: UAER=34.208+0.488×BMP-7, group C: UAER=112.305+0.555×BMP-7, group D: UAER=254.321+0.415×BMP-7. **Conclusion** The numerical of BMP-7 is different in different stage of DN. BMP-7 is correlated with UAER, and the effect of BMP-7 on UAER is more significant than FPG, 2 h PG, HbA1c.

【key words】 Bone morphogenetic proteins; Diabetes mellitus, type 2; Diabetic nephropathies; Urinary albumin excretion rate

2型糖尿病和糖尿病并发症已经成为全球范围内主要的公共健康问题^[1]。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是终末期肾脏疾病最常见的病因^[2]。DN的临床特征为蛋白尿、高血压、水肿,肾功能逐渐损害,晚期出现严重肾衰竭^[3]。其病理学改变早期主要表现为肾小球系膜的损伤、肾小球超滤过,基底膜(GBM)增厚,肾小球滤过率(GFR)逐渐降低,微量白蛋白尿,然而此时病情尚可逆^[4],因此寻求早期诊断和有效的治疗是目前迫不及待要解决的问题。近年来人们发现细胞因子与DN的关系密切,其中BMP-7较受关注。

资料与方法

一、研究对象

选择2011年1月至2012年10月在我院住院的2型糖尿病患者207例[(53.41±6.44)岁],另选同期55例,男28例,女27例,年龄(52.44±5.65)岁健康体检者作为对照组。根据Mogensen提出的DN诊断标准^[5]及患者尿白蛋白排泄率(UAER)的水平将其分为四组,非DN 56例(A组),男29例,女27例,年龄(52.67±6.92)岁,UAER<20 μg/min;早期DN 55例(B组),男27例,女28例,年龄(52.76±6.42)岁,UAER 20~200 μg/min,肾功能正常;临床期DN肾功能正常52例(C组),男26例,女26例,年龄(53.37±6.21)岁,UAER>200 μg/min,肾功能正常;临床期DN肾功能异常44例(D组),男24例,女20例,年龄(55.19±5.94)岁,UAER>200 μg/min,肾功能为慢性肾衰竭代偿期。纳入标准:2型糖尿病患者的选择按照1999年WHO糖尿病专家委员会提出的诊断标准:症状+随机血糖≥11.1 mmol/L,或FPG≥7.0 mmol/L,或OGTT 2 h PG≥11.1 mmol/L。需重

复一次确认,诊断才能成立。排除标准:排除1型糖尿病、其他特殊类型糖尿病及妊娠期糖尿病。除外可能引起肾功能异常的因素:伴发原发性高血压、泌尿系结石、急慢性肾小球肾炎或肾盂肾炎及各种原因导致的肾灌注不足、各种感染、肾毒性药物的使用、尿路梗阻及原发肾脏病等。除外可能影响BMP-7水平的因素:肿瘤、结核、肝损害、糖尿病足、其他内分泌代谢疾病、肾小球疾病、原发性肾病等肾脏疾病、手术、外伤或其他应激情况等。除外可能引起UAER增加的原因:酮症酸中毒、泌尿系感染、运动、原发性高血压和心力衰竭等。

二、方法

1. 主要试剂:见表1。

表1 主要试剂

试剂名称	来源
BMP-7 试剂盒	德国罗氏诊断有限公司
尿白蛋白试剂盒	德国罗氏诊断有限公司
血糖试剂盒	德国罗氏诊断有限公司
糖化血红蛋白试剂盒	德国罗氏诊断有限公司
尿素氮试剂盒	德国罗氏诊断有限公司
肌酐试剂盒	德国罗氏诊断有限公司

2. 主要仪器:见表2。

表2 主要仪器

仪器名称	型号与产地
生化仪	罗氏 P800,日本
洗板机	ST-36WT,上海科华实验系统有限公司
离心机	白洋医用低速离心机 B320A,安新县白洋离心机厂
酶标仪	美国雷杜 RT-6100,深圳雷杜生命科学股份有限公司
恒温箱	环天 BD-SPXD,天津环天科技发展有限公司
医用-20℃冰箱	福意联 FYL-YS-128,北京福意电器有限公司
医用-80℃冰箱	天寒 TH-86-500-LA,北京天地精仪科技有限公司
化学发光测定仪	迈格鲁米(MAGLUMI)2000Plus 全自动化学发光仪

表3 各组患者一般情况、FPG、PBG、HbA1c、UAER、BUN、Cr比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	男/女	年龄(岁)	FPG(mmol/L)	PBG(mmol/L)	HbA1c(%)	UAER($\mu\text{g}/\text{min}$)	BUN(mmol/L)	Cr($\mu\text{mol}/\text{L}$)
对照组	55	28/27	52.44 \pm 5.65	4.91 \pm 0.47	7.21 \pm 0.37	4.77 \pm 0.49	7.42 \pm 1.22	5.31 \pm 0.96	93.87 \pm 15.93
A组	56	29/27	52.67 \pm 6.92	7.62 \pm 0.70 ^a	11.77 \pm 1.55 ^a	7.26 \pm 0.79 ^a	12.98 \pm 3.71 ^a	5.94 \pm 0.93	99.57 \pm 9.49 ^a
B组	55	27/28	52.76 \pm 6.42	7.52 \pm 0.62 ^a	11.92 \pm 1.45 ^a	6.92 \pm 0.71 ^a	161.28 \pm 29.29 ^a	6.54 \pm 0.54 ^a	103.57 \pm 9.22 ^a
C组	52	26/26	53.37 \pm 6.21	7.62 \pm 0.57 ^a	11.76 \pm 1.03 ^a	7.14 \pm 0.80 ^a	310.35 \pm 62.16 ^a	6.64 \pm 0.31 ^a	106.39 \pm 10.35 ^a
D组	44	24/20	55.19 \pm 5.94	7.69 \pm 0.38 ^a	12.07 \pm 0.97 ^a	7.08 \pm 0.79 ^a	394.41 \pm 23.29 ^a	9.03 \pm 0.86 ^a	149.13 \pm 12.02 ^a

注: 各组性别卡方检验结果: $\chi^2=0.334$, $P=0.988>0.05$, 表明各组间性别无显著性差异; 各组年龄方差分析结果: $F=1.480$, $P=0.209>0.05$, 表明各组间年龄无统计学差异; 与对照组比较, ^a $P<0.01$

3. 其他器材: 吸管、移液管、离心管、滤膜 (0.22 μm 、0.45 μm), 高精度加样器及枪头 (0.5~10 μl 、2~20 μl 、20~200 μl 、200~1 000 μl), 一次性圆底透明聚苯乙烯试管 (12 \times 55 mm), 量筒和浓缩洗液, (37 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水浴箱, 计时钟等。

4. 检测方法: (1) BMP-7: 抽取各组空腹静脉血 5 ml, 采用酶联免疫吸附法及配套试剂检测血清 BMP-7。(2) 采用电化学发光法测定尿白蛋白, 再根据 UAER ($\mu\text{g}/\text{min}$) = (尿白蛋白浓度 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \times 尿量 ml) / 1 440 min; 采用常规方法检测空腹血糖 (FPG)、餐后 2 h 血糖 (2 h PG)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr) 及糖化血红蛋白 (HbA1c) 的值。

三、统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件, 数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组比较使用单因素方差分析, 多组间两两比较采用 SNK 检验。同时采用相关分析及使用 Stepwise 行多因素逐步回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般临床资料: 数值见表 3。

2. 各组 BMP-7 的值有显著性差异(表 4, 图 1): 各 DN 组较对照组和 A 组 BMP-7 水平明显降低, 差异有统计学意义; 其中 DN 三组中 BMP-7 随病情进展逐渐下降, 差异有统计学意义; A 组 BMP-7 比对照组高, 差异有统计学意义。

表4 各组 BMP-7 的值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	BMP-7(pg/ml)
对照组	55	326.49 \pm 30.46
A组	56	400.06 \pm 39.37 ^a
B组	55	289.48 \pm 37.66 ^{ab}
C组	52	167.37 \pm 29.53 ^{abc}
D组	44	69.76 \pm 30.21 ^{abcd}

注: 与对照组比较, ^a $P<0.01$; 与 A 组比较, ^b $P<0.01$; 与 B 组比较, ^c $P<0.01$; 与 C 组比较, ^d $P<0.01$

3. 各组 UAER、BMP-7、FPG、2 h PG 及 HbA1c

之间的相关分析: 对照组: UAER 与 BMP-7 呈负相关 ($r=-0.274$)。A 组: UAER 与 BMP-7、HbA1c 呈正相关 (r 分别为 0.316、0.386); BMP-7 与 FPG、2 h PG、HbA1c 呈正相关 (r 分别为 0.577、0.421、0.289)。B 组: UAER 与 BMP-7 呈正相关 ($r=0.771$)。C 组: UAER 与 BMP-7、HbA1c 呈正相关 (r 分别为 0.723、0.281); BMP-7 与 HbA1c 呈正相关 ($r=0.279$)。D 组: UAER 与 BMP-7、FPG、2 h PG 及 HbA1c 呈正相关 (r 分别为 0.512、0.337、0.344、0.351), BMP-7 与 HbA1c 呈正相关 ($r=0.285$) (表 5, 6)。

表5 各组 UAER 与 BMP-7、FPG、2 h PG 及 HbA1c 的相关系数 (r) 值

组别	BMP-7	FPG	2 h PG	HbA1c
对照组	-0.274 ^a	0.103	0.156	0.116
A组	0.316 ^b	0.169	0.237	0.386 ^b
B组	0.771 ^b	0.205	0.217	0.224
C组	0.723 ^b	0.111	0.121	0.281 ^a
D组	0.512 ^b	0.337 ^a	0.344 ^a	0.351 ^a

注: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$

表6 各组 BMP-7 与 FPG、2 h PG 及 HbA1c 的相关系数 (r) 值

组别	FPG	2 h PG	HbA1c
对照组	-0.123	-0.131	-0.110
A组	0.577 ^b	0.421 ^b	0.289 ^a
B组	0.136	0.119	0.187
C组	0.262	0.241	0.279 ^a
D组	0.232	0.217	0.285 ^a

注: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$

4. 各组 UAER 与 BMP-7、FPG、2 h PG 及 HbA1c 的回归方程: 各组以 UAER 为因变量, BMP-7、FPG、2 h PG 及 HbA1c 四个因素为自变量, 求得回归方程 (表 7)。

讨 论

BMP 是美国 Marshall R. Urist 教授在 1963 年发现的, 有 4 个亚组。它是正常肾脏发育中的一个关

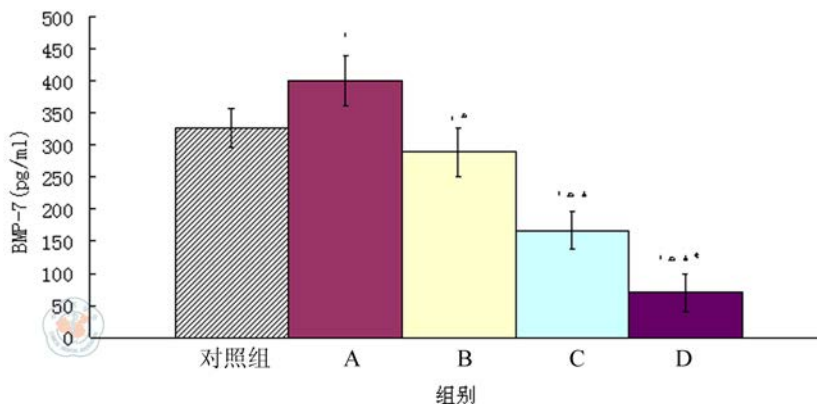


图1 各组BMP-7值的比较。与对照组比较, * $P < 0.01$; 与A组比较, $\Delta P < 0.01$; 与B组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与C组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

表7 各组 UAER 与 BMP-7、FPG、2 h PG 及 HbA1c 的回归方程

组别	回归方程
对照组	$UAER = 9.197 + 0.015 \times BMP-7$
A 组	$UAER = 3.563 + 0.756 \times HbA1c$
B 组	$UAER = 34.208 + 0.488 \times BMP-7$
C 组	$UAER = 112.305 + 0.555 \times BMP-7$
D 组	$UAER = 254.321 + 0.415 \times BMP-7$

键成员,每个 BMP 都具有独特的结构特征: BMP-2 抑制输尿管芽分支形成; BMP-4 参与肾脏间充质细胞的调节;而 BMP-7 在肾脏的发育中起至关重要的作用。目前对 BMP-7 的研究较多,它是一种内分泌性多功能蛋白,是 TGF- β 超家族中的一员,与许多肾脏疾病及 DN 关系密切。BMP-7 主要在肾小管和肾小球表达。Michos 等^[6]研究表明:在糖尿病大鼠发生肾脏纤维化过程中有内源性 BMP-7 表达的亏损。Wang 等^[7]研究表明: BMP-7 在 STZ 诱导的 DN 的大鼠中,15 周时 BMP-7 较对照组下降约 50%,30 周时下降约 90%。Cunko 等^[8]研究表明: BMP-7 在 DN 的肾组织中表达降低并可以防止肾脏的缺血-再灌注损伤。Yeh 等^[9]研究也表明: BMP-7 可以降低肾小球和肾小管间质纤维化过程,并可改善高血糖诱导的氧化应激对肾功能的损害,内源性的 BMP-7 在 DN 保护时有重要的作用,可以防止 DN 的发病。而杨勤等^[10]研究显示: BMP-7 蛋白在 DN 大鼠肾小管和集合管中的表达较正常对照组明显增多 ($P < 0.05$)。由上面的这些研究可以看出 BMP-7 在 DN 的终末期减少是已经明确的,但在 DN 的其他阶段 BMP-7 是增加还降低尚无统一结

论,因目前关于 BMP-7 与 DN 的研究多基于基础研究,临床研究较少,所以,本研究在对 DN 患者明确分组后进行了 BMP-7 的检测,结果显示:各 DN 组较对照组和非 DN 组 BMP-7 水平明显降低 ($P < 0.05$);其中 DN 三组中 BMP-7 随病情进展逐渐下降 ($P < 0.05$);非 DN 组 BMP-7 比对照组高 ($P < 0.05$)。与 Michos 及 Wang 等研究有相似之处。说明在 DN 早期发生肾小球基底膜增厚、系膜基质增多更加明显时就已经有 BMP-7 的不足了,而非 DN 组的 BMP-7 值升高考虑与此时机体的自我保护有关。

肾间质纤维化是一种普遍的渐进的慢性肾衰竭的标志。不同的机制调节细胞外基质蛋白的积累,在肾脏的不同部位形成间质性瘢痕。Wang 等研究表明:当 BMP-7 与 Alk6/Fc 嵌合蛋白中和活性减少时,纤维连接蛋白及 III 型胶原蛋白的表达增高,它们可促进 DN 间质细胞外基质的积聚加重肾间质纤维化。肾脏中 BMP-7 的水平是与 TGF- β 相关的,TGF- β 的下降引起 BMP-7 的变化。TGF- β 的表达增加引起 BMP-7 的消耗,加重 DN 的进展,而加重的 DN 又进一步消耗 BMP-7。因此 BMP-7 随着 DN 加重逐渐降低,形成恶性循环。Xu 等^[11]研究表明:在建立的小鼠模型中,外源性 BMP-7 能够扭转肾脏纤维化,主要是通过抵消了 TGF- β 1 介导的上皮细胞间质转化过程。Hruska 等^[12]研究也表明:外源性 BMP-7 减少各种大鼠模型慢性进行性间质纤维化和降低肾衰竭的进展速度。由此看出,外源性 BMP-7 可逆转 DN 的进展。

本研究相关及回归分析发现:在对照组中 BMP-7 与 UAER 呈负相关,因为此组为健康人群,

在健康人群中 BMP-7 受年龄的影响较大。在 A 组中, BMP-7 与 UAER 的相关程度 ($r=0.316$) 没有 HbA1c 与 UAER ($r=0.386$) 的大, 原因在结果中可以发现: 因为此期 BMP-7 与 FPG、2 h PG 的相关程度更大 (r 分别为 0.577、0.421), 说明在非 DN 时 BMP-7 主要受血糖的影响比较大, 在 B、C、D 组中 BMP-7 与 UAER 均表现出显著的相关, 但进一步行多元逐步回归分析表明: 在有 BMP-7 的参与下, BMP-7 比 FPG、2 h PG 及 HbA1c 对 UAER 的影响更显著。

综上所述, BMP-7 在 DN 的发生发展过程中扮演了重要角色, BMP-7 与 2 型 DN 病变程度具有相关性, 可以作为反映 DN 病情严重程度的参考指标, 但能否作为筛查早期 DN 的诊断标准还有待于进一步的临床研究。然而在 DN 的发生发展过程中是否还有其他细胞因子的参与, 它们彼此之间是否具有协同作用, 是否可以共同作为预测 DN 的指标, 以及外源性 BMP-7 能否作为延缓 DN 发展的药物还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Ma L, Murea M, Snipes JA, et al. An ACACB Variant Implicated in Diabetic Nephropathy Associates with Body Mass Index and Gene Expression in Obese Subjects[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56193.
- [2] Levin-Iaina N, Iaina A, Raz I. The emerging role of NO and IGF-1 in Early renal hypertrophy in STZ-induced diabetic rats[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2011, 27(3): 235-243.
- [3] Jefferson JA, Shankland SJ, Pichler RH. Proteinuria in diabetic kidney disease: a mechanistic viewpoint[J]. Kidney Int, 2008, 74(1): 22-36.
- [4] Nakhoul F, Nakhoul N, Asleh R, et al. Is the Hp 2-2 diabetic mouse model a good model to study diabetic nephropathy? [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2013, 168(13): 73-79.
- [5] 王海燕. 肾脏病临床概览[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 292-293.
- [6] Michos O, Goncalves A, Lopez-Rios J, et al. Reduction of BMP-4 activity by gremlin 1 enables ureteric bud outgrowth and GDNF/WNT11 feedback signalling during kidney branching morphogenesis[J]. Development, 2007, 134(13): 2397-2405.
- [7] Wang SN, Lapage J, Hirschberg R. Loss of tubular bone morphogenetic protein-7 in diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2001, 12(11): 2392-2399.
- [8] Cunko VF, Kes P, Jukić NB. Expression of bone morphogenetic proteins in kidneys[J]. Acta Med Croatica, 2012, 66(3): 207-213.
- [9] Yeh CH, Chang CK, Cheng MF, et al. Decrease of bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) and its type II receptor (BMP-RII) in kidney of type 1-like diabetic rats[J]. Hormone and Metabolic Research, 2009, 41(8): 605-611.
- [10] 杨勤, 韩冰, 谢汝佳, 等. BMP-7 在糖尿病肾病发生发展中表达的变化[J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31(6): 495-498.
- [11] Xu Y, Wan J, Jiang D, et al. BMP-7 counteracts TGF-beta1 induced epithelial-to-mesenchymal transition in human renal proximal tubular epithelial cells[J]. J Nephrol, 2009, 22(3): 403-410.
- [12] Hruska KA, Guo G, Wozniak M, et al. Osteogenic protein-1 prevents renal fibrogenesis associated with ureteral obstruction[J]. Am J Physiol, 2009, 279(1): 130-143.

(收稿日期: 2013-11-13)
(本文编辑: 戚红丹)

朱虹, 赵贵辛, 刘铁奇, 等. 血清骨形态发生蛋白-7 与 2 型糖尿病肾病病变程度的临床研究 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8(9): 1615-1619.

中 华 临 床 医 师 杂 志