维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2001)01-0023-02

2型糖尿病患者尿Ⅳ型胶原与糖尿病肾病关系的研究

胡怀东，王玉君，庞久高

（重庆医科大学第二临床学院内分泌科　重庆　400010）

【摘　要】目的：研究2型糖尿病患者尿Ⅳ型胶原(CⅣ)的变化及其对糖尿病肾病（DN）的诊断意义。方法：用放免法测定了72例2型糖尿病（DM）患者及30例正常人尿CⅣ、UAE、α1-微球蛋白(α1-MG)水平。结果：72例患者尿CⅣ水平明显高于对照组；在正常白蛋白尿期2型DM病人尿CⅣ较对照组已明显升高（$P<0.05$），各组间尿CⅣ水平差异显著，随24h尿白蛋白排泄量(UAE)的增加而递增。尿CⅣ与UAE、α1-MG、收缩压(sBP)、病程、糖化血红蛋白(HbA1c)呈正相关。结论：提示尿CⅣ随DN的严重程度而明显增高，可用来早期诊断DN，监测DN的发生发展。

【关键词】2型糖尿病；Ⅳ型胶原；糖尿病肾病

【中国图书分类法分类号】R587.1　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2000-03-29

The relationship between urinary type Ⅳ collagen and diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus patients

HU Huaidong, et al

（Department of Endocrinology, Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University, 400010）

【Abstract】 *Objective*: To investigate the change of urinary type Ⅳ collagen(CⅣ)level in type 2 diabetes mellitus patients. *Methods*: The level of urinary CⅣ, UAE and α1-MG was measured by radioimmunoassay (RIA) in 72 diabetic patients and 30 controls. *Results*: Urinary CⅣ in 72 diabetic patients was significantly increased. As compared with controls, urinary CⅣ was markedly higher in type 2 diabetic patients with normal albuminuria. Urinary CⅣ level was different in three groups, and increased with UAE.There was positive correlation between urinary CⅣ level and UAE, α1-MG, duration, sBP, HbA1c. *Conclusion*: The present findings suggest that measurement of urinary CⅣ is useful for the detection of early diabetic nephropathy.

【Key words】Type 2 diabetes mellitus; Diabetic nephropathy; Type Ⅳ collagen

糖尿病肾病（Diabetic nephropathy, DN）以肾小球和肾小管结构与功能的改变为特征。CⅣ是肾基底膜以及肾小球系膜外基质的主要化学成分，临床研究表明，DM患者血清CⅣ水平均高于正常人，提示DM存在胶原代谢的异常。我们对72例2型DM病人尿CⅣ进行了测定，探讨尿CⅣ的临床意义。

1　对象与方法

1.1　研究对象

1.1.1　正常对照（NC）组　30例，男16例，女14例，年龄41～75岁。为我院门诊体检的正常人，其FBG、血压正常，无糖尿病、高血压及肾脏疾病。

1.1.2　2型糖尿病患者组　本院门诊及住院2型DM病人72例，年龄42～79岁，其中男性38例(42～78岁)，女性34例(41～79岁)。诊断依据按1999年WHO糖尿病诊断新标准。所有患者均排除心肝病史、感染、酮症酸中毒、肺间质纤维化、心肌与腹膜后纤维化以及胶原性疾病等。根据UAE将DM病人分为3组：A组为正常白蛋白尿期共22例，UAE<30mg/24h；B组为微量白蛋白尿期共35例，UAE(30-300) mg/24h；C组为大量白蛋白尿期共15例，UAE>300mg/24h。

1.2　研究方法

1.2.1　样本收集　糖尿病患者及正常对照者均在空腹8h采静脉血，采血当日测静息血压，量身高、体重，计算体重指数（BMI）。留取24h尿标本（甲苯防腐），准确记录尿量。由于尿CⅣ在尿中浓度较低，需对标本浓缩后再进行检测，其方法是在10ml标本中分别加入10g/L的牛γ-球蛋白0.8ml和5ml 450g/L的PEG-4000混合，在高速冷冻离心机下1800×30min离心，弃上清，再用生理盐水溶解至1ml以达到10倍浓缩。

1.2.2　测定方法　放射免疫法测尿白蛋白、α1-MG（试剂盒均由中国原子能科学研究院提供），据尿量分别计算24h排泄量。竞争性放射免疫法测尿CⅣ，试剂盒由上海海军医学

作者介绍：胡怀东（1970-　），男，硕士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1　糖尿病各组与正常对照组结果比较 (s)

项目	NC组	A组	B组	C组
例数	30	22	35	15
HbA1c(%)	5.21±0.61	7.74±2.25*	8.16±2.03**#	10.54±3.47**#
FBG(mmol/L)	5.00±0.75	8.05±2.92*	9.66±4.12**#	12.04±3.30**#
UAE(mg/24h)	5.01±2.22	14.37±7.92**	106.54±36.11**▲	397.15±66.78***★
α 1-MG(mg/24h)	4.81±1.63	17.40±7.92**	40.00±23.41**▲	74.24±43.02***☆
CIV(μg/24h)	60.87±12.90	97.99±28.29*	112.54±36.70**#	225.76±75.76***☆

注：与NC组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$、*** $P<0.001$；与A组比较# $P<0.05$，▲ $P<0.01$；与B组比较，★ $P<0.05$，☆ $P<0.01$

研究所生物技术中心提供。FBG用葡萄糖氧化酶法，HbA1c用亲和层析微柱法。

1.3　统计学处理

文中数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，统计学分析采用t检验、方差分析、相关性分析。$P<0.05$有统计学意义。

2　结　果

2.1　72例2型DM病人尿CIV水平为(131.68±59.46)μg/24h，显著高于30例NC组(60.87±12.90)μg/24h。表明糖尿病患者尿CIV水平较对照组显著升高。

2.2　糖尿病各组与正常对照组尿中UAE、α1-MG、CIV含量比较（表1），NC组、A组、B组、C组的尿CIV、α1-MG、UAE呈逐组增加，A组显著高于NC组($P<0.01$)，B组及C组显著高于NC组及A组($P<0.01$或$P<0.001$)。

2.3　相关性分析表明，尿CIV与UAE、α1-MG、呈显著正相关($r=0.56$，$P<0.01$；$r=0.42$，$P<0.01$)，与HbA1c、SBP、病程亦呈正相关（$r=0.21$，$P<0.05$；$r=0.19$，$P<0.05$；$r=0.32$，$P<0.01$）。

3　讨　论

CIV是基底膜的主要化学成分，其合成或降解的异常与DN的发展有关。我们的研究发现，2型DM病人尿CIV水平显著高于NC组($P<0.01$)，在正常白蛋白尿期2型DM病人尿CIV已开始增加，这与Iijima等[1]的研究结果相一致，表明尿CIV可以作为DN早期诊断的指标。

由于尿CIV含量较低，普通方法不易检测，为此，我们参照国外文献[2]，利用PEG-4000能沉淀大分子蛋白质的特性，对尿标本浓缩10倍后，再用放射免疫法进行测定。结果发现，随着UAE的增加，尿CIV逐组增加，组间比较差异具显著性，与Kotajima等[3]报道相符，表明尿CIV与DN的发展有关。相关分析表明，尿CIV与UAE、α1-MG呈显著正相关，UAE主要反映肾小球损害，α1-MG是肾小管损害较敏感的标志，提示尿CIV水平的增加与肾小球和肾小管的功能损害都有关。正常白蛋白尿组尿CIV也与α1-MG呈正相关，α1-MG增高者尿CIV高于α1-MG正常者，表明尿CIV的异常分泌反映了肾小管的功能损害，肾小管损害早于肾小球损害。

研究表明，糖尿病存在CIV代谢的异常。免疫组化及原位杂交实验表明，实验性DN首先出现肾小管间质损害，肾小管上皮细胞CIV合成增加，肾小管间质CIV表达增加[4]。Sumida等[5]研究发现，2型DM患者血清CIV显著高于健康对照组，与糖尿病视网膜以及肾脏病变有关。

本研究结果显示，2型DM病人尿CIV与HbA1c、SBP、病程也呈正相关。糖尿病控制与合并症临床研究组(DCCT)和英国糖尿病前瞻性研究(UKPDS)均证实，强化治疗使血糖血压维持在正常水平，能有效的降低DN发生并减慢其进展速度，肯定了高血糖、高血压在DN发生发展中的作用。流行病学研究表明，DN随病程的延长而发生发展。提示血糖控制水平、血压、病程可能影响CIV代谢。

DN时尿CIV增加机制尚不清楚，可能与以下因素有关：第一是糖代谢异常。(1) 高糖的作用。Jones等[6]在不同浓度的糖培养基中培养人肾小管间质细胞，发现高糖(25mmol/L)培养基中CIV合成增加，提示高糖促进细胞合成CIV。(2)PKC的作用。在DM高血糖状态下，葡萄糖引起二酯酰甘油(DAG)合成增加，导致细胞内DAG含量升高，进而激活PKC，PKC的活化继而激活细胞内一些转录因子(C-fos,C-jun)，启动和增强CIV mRNA转录水平，

（下转第28页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

级浓度可使CHO、FL、SCG-7901等细胞株克隆形成能力明显下降；PDD是一种广谱抗肿瘤药物，主要通过交叉连结与DNA紧密结合而抑制肿瘤细胞RNA及蛋白质合成，属细胞周期非特异药物。Ara-C为细胞周期特异性药物，作用于S期，并对G/S、S/G_2边界有延缓作用[7]。

晶体上皮细胞的指数生长期位于传代后的48h至6天，我们在实验中将兔晶体上皮细胞加入96孔板中培养24h后加药细胞不倍增，细胞浓度未变，实验的可比性好。研究结果显示，Mit对培养的兔晶体上皮细胞24h半效量为8.92 μg/ml，作用72h为2.04 μg/ml，PDD作用24h为38.92 μg/ml，72h为6.71 μg/ml，即作用时间越长，抑制作用越明显。电镜也观察到药物作用后细胞出现凋亡现象，流式细胞仪检查可见G_0-G_1期细胞明显增多，S期细胞明显减少，并出现凋亡峰，细胞周期的变化说明细胞活跃程度降低。而Ara-C对兔晶体上皮细胞无明显抑制作用，此情况与药物作用不同的细胞类型及作用细胞一、两个时间点有关，有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Harding JJ. Cataract :Biochemistry, Epidemiology and Pharmacology[M]. Chapman and Hall. London.1991;83-124.

[2] Apple DJ. Solomon KD. Tetz MR. et al. Posterior Capsule Opacification[J]. Surv Ophthalmol.1992;37:73-116.

[3] 郭海科、李绍珍，曹心媛，等. 人类晶体上皮细胞培养及其生长抑制的实验研究[J]. 中华眼科杂志，1995;31:102-104.

[4] Ohara k.Itakura k, Ibaraki N. Anterior Capsule Opacification :a cell culture model[J]. Acta Ophthalmol ,1992;(S) 205:29-33.

[5] Yamaoto T. Soong HK.Lichter PR. Effects of 5-fluorouracil on cultured rabbit lens epithelial cells[J]. Jpn J Ophthalmol. 1990;34:325-328.

[6] McDonndl PJ. Zarbin MA. Green WR. Posterior capsule opacification in pseudophakic eyes[J]. Ophthalmology. 1983;90:1548-1551.

[7] McDonndl PJ. Krause W. Glaser BM. In vitro inhibition of lens epithelial cell proliferation and migration[J]. Ophthalmic Surg. 1988;19:25-29.

（上接第24页）

使CⅣ合成增加。(3)糖基化终末产物(AGEs)的作用。DM时AGEs产生增加，与系膜细胞上特异性受体结合后，能增加细胞外基质的产生，还能与一些胶原蛋白发生交联，使胶原降解减慢。Striker等用PCR方法研究发现，正常成年鼠注射AGEs后，肾小球CⅣ及其基因表达增加，说明AGEs可诱导CⅣ合成[7]。第二是细胞因子的作用。以转化生长因子-β1（TGF-β1）的作用最为突出，研究表明DM状态肾基底膜TGF-β1表达增加，可刺激CⅣ合成，同时TGF-β1增加CⅣ降解酶抑制物活性，抑制CⅣ降解酶合成而减少细胞外CⅣ的降解[8]。

本研究认为，2型DM病人尿CⅣ水平可显示基底膜中生化成分及结构的变化，反映肾脏损害程度，可用来早期诊断DN，监测DN的发生发展。

参 考 文 献

[1] Iijima T. Suzuki S.Sekizuka K. Follow-up study on type Ⅳ collagen in patients with early stage diabetic nephropathy[J]. J Clin Lab Anal. 1998;12(6):378-382.

[2] Banu N. Hitoshi H. Kataoka S. et al. A novel method for concentration urinary type Ⅳ collagen based on precipitation with polyethylene glycol:Application to its measurement by enzyme immunoassay[J] . Ann Clin Biochem ,1994;31:485-491.

[3] Kotajima N. Fukumura Y. Obata K.et al . The significance of determination of urinary type Ⅳ collagen concentrations from a random urine collection in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus [J]. Rinsho Byori. 1998:46(930):277-282.

[4] Gilbert RE. Cox A.Leonard L.et al .Expression of transforming growth factor- β and type Ⅳ collagen in the tubulointerstitium in experimental diabetes[J]. Diabetes. 1998;47(3): 414-422.

[5] Sumida Y. Uqa H. Yano Y. Abnormal metabolism of tyep Ⅳ collagen in normotensive NIDDM patients[J].Hormone Research. 1997;48(1):23-28.

[6] Jones SC. Saunders HJ. Qi W. Intermittent high glucose enhances cell growth and collagen synthesis in cultured human tubuinterstitial calls[J]. Diabetologia. 1999;42 (9):1113-1119.

[7] Striker LJ. Striker GE. Administration of AGEs in vivo induces extracelular matrix gene experession[J] Nephrol Dial Transplant. 1996;15(s):52-65.

[8] Gambaro G. Baggio B. Growth factors and the kidney in diabetes mellitus[J].Critical Review in Clin Lab Sci. 1998;35(2):117-151.