· 医学检验 ·

TIMP-1、MMP-9、BGP 水平与糖尿病肾病的相关性研究

田春花

（曲阳仁济医院，河北 保定 073100）

摘 要：目的 探讨 IMP-1、MMP-9、BGP 水平与糖尿病肾病的相关性。**方法** 将糖尿病肾病患者 132 例，根据 24 h 尿微量白蛋白排泄率（UAER）将患者随机分为 A、B 和 C 3 组， 另外选取同期来我院健康体检者的 60 例作为对照组。连续 3 天收集患者 24h 的尿液，采用化学发光法检测白蛋白（UAE），并计算得出 UAER，求取平均值。应用全自动生化分析仪检测尿素氮（BUN）和血肌酐（Scr）。应用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血清中 TIMP-1 水平，采用酶联免疫吸附法检测血清中 MMP-9 水平，应用电化学发光法检测血清 BGP 水平，并分析血清 TIMP-1、MMP-9 和 BGP 与 BUN、Scr 和 UAE 相关性。**结果** 各组血清 TIMP-1 水平相比，B 组和 C 组较对照组和 A 组均明显升高（$P<0.05$），C 组升高水平较 B 组更加显著（$P<0.05$）。C 组患者血清 MMP-9 较对照组、A 组和 B 组明显下降（$P<0.05$）。各组血清 BGP 比较，糖尿病肾病各组较对照组均明显降低（$P<0.05$），B 组和 C 组下降水平较 A 组明显（$P<0.05$），C 组下降水平较 B 组更加明显（$P<0.05$）。TIMP-1 与 BUN、Scr 和 UAE 均呈正相关（$P<0.05$），MMP-9 与 BUN、Scr 和 UAE 均呈负相关（$P<0.05$），BGP 与 BUN、Scr 和 UAE 均呈负相关（r=$P<0.05$）。**结论** TIMP-1、MMP-9 和 BGP 可能参与了 DN 的发生与发展，通过对患者血清中 TIMP-1、MMP-9 和 BGP 的检测可作为 DN 早期诊断标准以及严重程度的重要敏感指标，为临床上 DN 的早期预防和诊断提供依据，减轻患者痛苦。

关键词：糖尿病肾病；金属蛋白酶组织抑制因子；基质金属蛋白酶；骨钙素；相关性

中图分类号：R692 **文献标识码：**B DOI：10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.70.127

本文引用格式：田春花.TIMP-1、MMP-9、BGP 水平与糖尿病肾病的相关性研究[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(70):160-161.

0 引言

糖尿病肾病（diabetic nephropathy, DN）是糖尿病常见的并发症且是最严重的并发症之一，糖尿病为常见的慢性疾病，严重威胁人类健康 [1]。DN 的主要发生机制是肾小球细胞外基质（extracellular matrixc, ECM）降解、合成和重塑的功能失调，致使肾小球发生硬化和肾小管间质发生纤维化。基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinases, MMPs）是属于 Zn2+ 依赖性蛋白酶家族，与 ECM 的降解密切相关。金属蛋白酶组织抑制因子（Tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs）是一种基质金属蛋白酶抑制剂，最具代表性的是 TIMP-1，具有平衡 ECM 合成与降解，对维持肾小球的正常生理功能发挥至关重要的作用。骨钙素（osteocalcin，BGP）是一种非胶原蛋白，沉积于骨基质中，可通过廋素的表达调节胰岛素的分泌和胰岛 β 细胞的增殖，因而参与机体内的糖代谢 [2]。本文旨研究血清中 TIMP-1、MMP-9 和 BGP 水平与 DN 的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料。选取我院 2016 年 6 月至 2018 年 1 月，我院收治的糖尿病肾病患者 138 例，所有患者均符合 WHO 中制定的有关糖尿病的诊断标准，其中男 71 例，女 67 例，年龄 47-78 岁；平均（63.31 ± 11.52）岁；平均病程（8.88 ± 3.44）年。根据 24 h 尿微量白蛋白排泄率（UAER）将患者随机分为 3 组，其中 A 组 46 例，UAER<20 μg/min，男 23 例，女 21 例，平均（61.48 ± 8.20）岁；B 组 46 例，UAER20-200 μg/min，男 22 例，女 22 例，平均年龄（63.39 ± 7.84）岁；C 组 46 例，UAER>200 μg/min，男 23 例，女 21 例；平均年龄（63.68 ± 9.90）岁。排除标准：近期有手术或者损伤者；严重心血管疾病者；严重心、肝等重要器官衰竭或者功能不全者；有系统性疾病或者自身免疫疾病者；恶性肿瘤患者等。选取同一时期来我院体检的健康人群 60 例作为对照组，其中男 30 例，女 30 例；年龄 45-78 岁，平均（64.11 ± 13.56）岁。所有研究对象在年龄、性别、病程等方面无统计学差异（$P>0.05$），具有可比性。

1.2 实验方法。连续 3 天收集患者 24 h 的尿液，采用化学发光法检测白蛋白（UAE），并计算得出 UAER，求取平均值。采集各组实验对象清晨的空腹静脉血，分离血清，应用全自动生化分析仪检测尿素氮（BUN）和血肌酐（Scr）。应用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血清中 TIMP-1 水平，采用酶联免疫吸附法检测血清中 MMP-9 水平，应用电化学发光法检测血清 BGP 水平，所有操作按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学分析。文中数据统计学处理采用 SPSS 19.0 软件，计数资料采用 χ^2 检验，计量资料采用（$\bar{x} \pm s$）表示，比较资料组间采用 t 检验，$P<0.05$ 时数据差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组研究对象实验室检查结果比较。B 组和 C 组肾功能相关指标 BUN、Scr 和 UAER 较对照组和 A 组比较均明显升高（$P<0.05$），C 组较 B 组升高水平更显著（$P<0.05$）。B 组和 C 组患者血清 TIMP-1 水平较对照组和 A 组明显升高（$P<0.05$），C 组升高水平较 B 组更加显著（$P<0.05$）。C 组患者血清 MMP-9 较对照组、A 组和 B 组明显下降（$P<0.05$）。各组血清 BGP 比较，糖尿病肾病各组较对照组均明显降低（$P<0.05$），B 组和 C 组下降水平较 A 组明显（$P<0.05$），C 组下降水平较 B 组更加明显（$P<0.05$），见表 1。

2.2 TIMP-1、MMP-9 和 BGP 与 BUN、Scr 和 UAE 相关性分析。TIMP-1 与 BUN、Scr 和 UAER 均呈正相关（r=0.461，0.470，0.643，$P<0.05$），MMP-9 与 BUN、Scr 和 UAER 均呈负相关（r= -0.596，-0.569，-0.724，$P<0.05$），BGP 与 BUN、Scr 和 UAER 均呈负相关（r= -0.386，-0.491，-0.652，$P<0.05$）。

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病患者中比较常见的微血管并发症之一，肾病终末期是糖尿病患者致死的主要原因 [3]。

MMP-9 是 ECM 的重要降解酶之一，主要降解明胶和多种类型的胶原。TIMP-1 能够选择性抑制 MMP-9，可直

表 1 各组研究对象实验室检查结果比较（$\bar{x} \pm s$）

项目	对照组	A 组	B 组	C 组
例数	60	46	46	46
BUN（mmol/L）	4.72±1.04	5.18±1.06	5.85±1.43*#	10.85±3.77*#▲
Scr（μmol/L）	72.96±13.85	75.78±12.97	83.58±14.56*#	187.46±47.95*#▲
UAER（μg/min）	6.46±2.14	14.96±5.28	94.39±39.84*#	587.97±181.69*#▲
TIMP-1（ng/mL）	3.29±0.52	3.59±0.48	4.22±0.48*#	5.48±0.80*#▲
MMP-9（ng/mL）	1.15±0.24	1.19±0.31	0.98±0.23	0.24±0.09*#▲
BGP（ng/mL）	9.66±1.71	5.28±1.06*	4.82±1.10*#	3.40±1.27*#▲

注：与对照组比较 *$P<0.05$，与 A 组比较 #$P<0.05$，与 B 组比较▲$P<0.05$

接与活化的 MMP-9 结合和阻止酶原与 MMP-9 结合而抑制 MMP-9 活性。大多数研究显示，BGP 和糖化血红蛋白呈负相关[4]，在研究瑞典老年人群时发现，人体内脂肪质量和血糖浓度与 BGP 水平呈显著负相关，糖尿病患者血清 BGP 水平明显低于非糖尿病者[5]。本研究结果显示，糖尿病肾病组患者 TIMP-1 较对照组显著升高（$P<0.05$），MMP-9 和 BGP 水平显著降低（$P<0.05$）。各组血清 TIMP-1 水平相比，B 组和 C 组较对照组和 A 组均明显升高（$P<0.05$），C 组升高水平较 B 组更加显著（$P<0.05$）。C 组患者血清 MMP-9 较对照组、A 组和 B 组明显下降（$P<0.05$）。各组血清 BGP 比较，糖尿病肾病各组较对照组均明显降低（$P<0.05$），B 组和 C 组下降水平较 A 组明显（$P<0.05$），C 组下降水平较 B 组更加明显（$P<0.05$）。TIMP-1 与 BUN、Scr 和 UAE 均呈正相关（$P<0.05$），MMP-9 与 BUN、Scr 和 UAE 均呈负相关（$P<0.05$），BGP 与 BUN、Scr 和 UAE 均呈负相关（r=$P<0.05$）。

综上所述，TIMP-1、MMP-9 和 BGP 与 DN 的发生和发展密切相关，可通过检测患者血清中 TIMP-1、MMP-9 和 BGP 水平作为早期 DN 疾病灵敏的诊断指标，为疾病的早期预防和治疗提供依据。因此，可通过对 TIMP-1、MMP-9 和 BGP 的变化规律进行总结，为阐明 DN 的发病机制和提供新的治疗方案提供依据。

参考文献

[1] Yang W,Lu J,Weng J,et al.Prevalence of Diabetes among Men and Women in China[J].The New England Journal of Medicine,2010,362(12):1091-1101.

[2] Lee NK, Sowa H, Hinoi E, et al.Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton[J].Cell,2007,130(3):456-469.

[3] Raij L.Rcomendations for the management of special popula- tions:renal disease in diabetes[J].AM Hypertens,2003,16:46-49.

[4] Iki M,Tamaki J,Fujita Y,et al.Serum undercarboxylated osteocalcin levels are inversely associated with glycemic status and insulin resistance in an elderly Japanese male population:Fujiwara-kyo Osteoporosis Risk in Men(FORMEN) Study[J].Osteoporosis Int,2012,23(2):761-770.

[5] Seo J,Fortuno E S,Suh J M,et al.Atf4 regulates obesity, glucose homeostasis,and energy expenditure[J]. Diabetes,2009,58(11):2565-2573.

（上接第 85 页）

溶液 6 份，分别测定。结果甘氨酸与盐酸半胱氨酸的含量分别为 104.3%，RSD 为 0.3% 与 97.2%，RSD 为 0.6%。

4.3 精密度试验。取供试品溶液 20 μl，连续进样 6 次，记录色谱图，结果甘氨酸与盐酸半胱氨酸峰面积 RSD 分别为 0.6% 与 0.7%。

4.4 稳定性考察。取供试品溶液每隔 2 小时进样 1 次，记录色谱图，甘氨酸和盐酸半胱氨酸峰面积 RSD 分别为 0.6% 与 0.7%（n=7），结果表明供试品溶液在 12 小时内稳定。

4.5 准确度试验。精密称取甘氨酸原料 160 mg、200 mg、240 mg 与盐酸半胱氨酸原料 8 mg、10 mg、12 mg，各三份，分别置已加入阴性对照的 100 mL 量瓶中，加水适量使溶解并稀释至刻度，滤过，精密量取续滤液 20 μl 分别注入液相色谱仪，计算回收率。甘氨酸回收率为 99.1%，RSD=0.3%（n=9）；盐酸半胱氨酸回收率为 98.7%，RSD=0.5%（n=9）。

4.6 样品测定。按上述方法测定 8 家企业样品中的甘氨酸和盐酸半胱酸的含量，结果甘氨酸与相邻辅料峰均能完全分离，两种氨基酸含量测定结果重现性好，专属性强。

5 讨论

5.1 检测波长确定。甘氨酸与盐酸半胱氨酸紫外均为末端吸收，故选择检测波长为 205 nm。

5.2 六家企业现行标准的甘氨酸与盐酸半胱氨酸含量测定采用容量分析法。该法测定甘氨酸终点突跃不明显，盐酸半胱氨酸的空白辅料使测定结果偏高约 4.5%，导致两成分的测定结果误差较大。

5.3 测定方法的选择 HPLC 法测定氨基酸多为柱前衍生化法[3]，该方法操作繁琐，且衍生化试剂毒性大；部分方法采用强酸性离子交换树脂为填充剂色谱柱测定[4]，该色谱柱成本高，耐用性差；及采用蒸发光检测器测定氨基酸的含量[5]，均不是最佳选择。故参考乙酰半胱氨酸颗粒中色谱条件[6]，通过试验建立上述测定方法，该法操作简便，重复性好，可作为该品种的含量测定方法。

参考文献

[1] 沈宝贤，曾运繁，林羽，等．复方甘草酸苷治疗慢性湿疹临床疗效观察[J]．中国社区医师(医学专业)，2011.13(36)：183-184.

[2] 王争胜．复方甘草酸苷治疗过敏性哮喘临床观察[J]．中国社区医师(医学专业)，2010.12(14)：52.

[3] 曹玲，张云楚．柱前衍生化 HPLC 法同时测定注射用复方甘草酸苷中盐酸半胱氨酸和甘氨酸的含量[J]．中国药品标准，2007,8(5)：31-33.

[4] 刘甲．李薇．HPLC 法测定复方甘草酸苷注射液中甘氨酸及盐酸半胱氨酸的含量[J]．亚太传统医药，2009,5(7)：23-24.

[5] 张建业．冯向东．HPLC-ELSD 测定复方甘草酸苷注射液中 2 种氨基酸的含量[J]．中国实验方剂学杂志，2013,19(14)：161-163.

[6] 中华人民共和国国家药典委员会．中华人民共和国药典[M]．北京：中国医药科技出版社，2015,7-8.