

糖尿病肾病患者胰岛素治疗后血清色素上皮衍生因子的变化

杨静静, 卢家忠

(阜阳市第二人民医院 内分泌科, 安徽 阜阳 236000)

【摘要】目的: 探讨糖尿病肾病患者不同时期血清色素上皮衍生因子(PEDF)的表达意义,以及胰岛素治疗对PEDF的影响。**方法:** 将研究对象95例分为正常对照组(normal control group, NC组)20例,2型糖尿病组(type 2 diabetes mellitus, T2DM组)75例,2型糖尿病组中分为各亚组,即单纯糖尿病组(single diabetes, SD)18例,糖尿病肾病II期患者组(diabetic nephropathy, DN II)22例、III期患者组(diabetic nephropathy, DN III)19例、IV期患者组(diabetic nephropathy IV, DNIV)16例,给予糖尿病组14 d的胰岛素治疗,采用ELISA测定所有入选对象第1日血清PEDF水平,以及第15天的所有糖尿病组血清PEDF水平。**结果:** T2DM组血清PEDF高于NC组($P < 0.01$); T2DM各亚组中, PEDF水平SD组 < DN II组 < DN III组 < DN IV组(P 均 < 0.01)。T2DM组经胰岛素治疗后, PEDF表达降低; 各亚组较治疗前PEDF均降低($P < 0.01$)。**结论:** 糖尿病肾病患者胰岛素治疗后,血清PEDF水平下降,血清PEDF具有保护意义,对糖尿病肾病的发展起预警作用。

【关键词】色素上皮衍生因子; 糖尿病肾病; 胰岛素

【中图分类号】R 587.2; R 446.11 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2018.02.012

Changes of serum pigment epithelium-derived factor in patients with diabetic nephropathy following insulin treatment

YANG Jingjing, LU Jiazhong

Department of Endocrinology, Fuyang Second People's Hospital, Fuyang 236000, China

【Abstract】Objective: To assess the significance of determining the expression of serum pigment epithelium-derived factor (PEDF) in diabetic nephropathy patients at different disease stages, and investigate the effects of insulin treatment on PEDF changes. **Methods:** Ninety-five patients were divided into normal control group (NC group, $n = 20$) and type 2 diabetes mellitus group (T2DM group, $n = 75$). Then patients in T2DM group were sub-grouped into simple diabetes(SD, $n = 18$), stage 2 of diabetic nephropathy(DN II, $n = 22$), stage 3 of diabetic nephropathy 3(DN III, $n = 19$) and stage 4 of diabetic nephropathy(DN IV, $n = 16$). All patients in the diabetic group received insulin treatment for 14 days, and ELISA was performed to measure the PEDF levels in all included subjects on the first day, and in those in diabetic groups on the fifteenth day. **Results:** Patient in the T2DM group had higher serum PEDF level than those in the NC group($P < 0.01$). Patients in the subgroup of T2DM group, PEDF level in each was: group SD group < DN II group < DN III group < DN IV group (all $P < 0.01$); After insulin medication, patients in the T2DM group had significantly down-regulated PEDF expression, and such decrease was also seen in patients in each subgroup (all $P < 0.01$). **Conclusion:** Significantly decreased serum PEDF level following insulin medication is helpful to guide the treatment of diabetic nephropathy; The serum PEDF can be protective implications in patients with diabetic nephropathy, and play an early warning role in the development of diabetic nephropathy.

【Key words】pigment epithelium-derived factor; diabetic nephropathy; insulin

色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)是一种含有418个氨基酸分泌型糖蛋白,相对分子质量为50,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族(丝氨酸蛋白酶抑制剂)。PEDF首次发现于视网膜细胞中,血液循环PEDF的主要来源是肝脏

和脂肪组织^[1],肾脏亦可分泌。PEDF具有强效的抗血管生成、抗炎、抗氧化、营养神经作用,可改善胰岛素抵抗,延缓糖尿病肾病的进展。PEDF在糖尿病肾病中主要作用是抑制血管生成和促纤维化因子的分泌^[2],并抑制血管内皮细胞的增殖、微血管细胞凋亡和肾纤维化^[3]。PEDF可作为检测糖尿病微

收稿日期: 2017-05-21

作者简介: 杨静静(1985-),女,主治医师,(电话)18226377597,(电子信箱)317846779@qq.com;

卢家忠,男,主任医师,(电子信箱)tlclhy@163.com,通信作者。

血管病变以及糖尿病肾病的新的生物标志物,本研究旨在研究糖尿病肾病患者血清 PEDF 表达意义,以及糖尿病肾病患者经过胰岛素治疗后血清 PEDF 变化的意义。

1 资料和方法

1.1 研究对象 选取 2014 年 8 月~2016 年 10 月在我院内分泌科门诊检查排除糖尿病的健康者 20 例作为正常对照组(normal control group, NC 组), 内分泌科、肾病科诊断糖尿病、糖尿病肾病的住院患者共 75 例作为 2 型糖尿病组(type 2 diabetes mellitus, T2DM 组), 2 型糖尿病组中分为各亚组: 单纯糖尿病组(single diabetes, SD) 18 例, 糖尿病肾病 II 期患者组(diabetic nephropathy, DN II) 22 例、III 期患者组(diabetic nephropathy, DN III) 19 例、IV 期患者组(diabetic nephropathy IV, DNIV) 16 例, 由于糖尿病肾病 I 期(Diabetic nephropathy I, DN I) 诊断不敏感, 糖尿病肾病 V 期(Diabetic nephropathy V, DN V) 需要透析治疗而影响 PEDF 的检测诊断, 故而本研究没有将 DN I、DN V 列入研究。所有研究对象均记录以下资料: 性别、年龄、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、体质指数(BMI) 等。所有糖尿病患者组均给予 14 d 的单独胰岛素强化降糖治疗。所有糖尿病患者均无冠心病、高血压、心力衰竭等并发症, 排除其他原因导致的血糖升高及糖尿病肾病之外的其他肾病。

1.2 检测指标及方法 对照组患者于清晨空腹抽取静脉血检测 PEDF, 所有 2 型糖尿病患者均于住院后次日清晨空腹抽取静脉血检测 PEDF, 并于住院次日开始接受 14 d 的单独胰岛素强化降糖治疗: 使用胰岛素泵持续皮下注射(门冬胰岛素), 并行动态血糖监测, 记录餐前、餐后 2 h、睡前血糖, 根据血糖监测结果适时调节胰岛素泵用量及泵入速度, 血糖

控制基本平稳后, 于住院后第 15 天清晨空腹抽取静脉血检测 PEDF; 治疗组均于第 1 天、第 15 天检测糖化血红蛋白; 所有糖尿病患者均收集 24 h 尿量, 检测 24 h 尿蛋白。糖尿病肾病的诊断标准依据中国 2 型糖尿病防治指南, 依据随机留取患者尿液及抽血检测肌酐、随机尿蛋白/肌酐(ACR) 的比值划分及分型糖尿病肾病分期。所有检测血液标本均离心后取血清 5 mL 置于标记后的 EP 管中, 密封保存 -80 °C 冰箱中, 检测时充分解冻后采用 ELSIA 法同一批次测定 PEDF。PEDF 试剂盒由上海钰博生物科技有限公司提供, 严格按照试剂盒操作说明书执行检测步骤。

1.3 统计学方法 数据分析采用 SPSS 19.0 统计, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 两两比较采用方差分析事后 LSD 检验; 同一组内治疗前后比较采用配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 正常组和 2 型糖尿病组一般资料比较 所有研究对象的正常组和 2 型糖尿病组在性别、年龄、TC、TG、LDL-C、体质指数等指标方面差异均无统计学意义, 见表 1。

2.2 2 型糖尿病各亚组治疗前后相关指标比较 经过胰岛素强化治疗后, 2 型糖尿病各亚组餐前、餐后 2 h、睡前血糖, 尿蛋白均较前减少, 差异有统计学意义, 糖化血红蛋白差异无统计学意义, 见表 2。

2.3 正常组和 2 型糖尿病组治疗前后 PEDF 比较 T2DM 组血清 PEDF 高于 NC 组($P < 0.01$); T2DM 各亚组中, PEDF 水平 SD 组 < DN II 组 < DN III 组 < DNIV 组($P < 0.01$), T2DM 组经胰岛素强化治疗后, PEDF 表达降低; 且各亚组较治疗前 PEDF 均降低($P < 0.01$), 见表 3。

表 1 正常组和 2 型糖尿病组一般资料比较

组别	性别 男/女	年龄 /岁	BMI /(kg/m ²)	TC /(mmol/L)	TG /(mmol/L)	LDL-C /(mmol/L)
NC 组(<i>n</i> = 20)	11/9	59.64 ± 10.21	20.23 ± 3.69	4.29 ± 1.23	1.81 ± 1.02	2.21 ± 1.25
SD 组(<i>n</i> = 18)	10/8	60.28 ± 9.37	20.38 ± 6.35	4.61 ± 0.42	1.52 ± 1.12	2.52 ± 1.23
DN II 组(<i>n</i> = 22)	11/11	62.86 ± 12.66	21.27 ± 4.84	4.86 ± 1.02	2.08 ± 1.34	2.68 ± 1.02
DN III 组(<i>n</i> = 19)	9/10	58.98 ± 9.64	20.58 ± 6.37	5.01 ± 1.26	2.22 ± 1.26	2.72 ± 1.25
DNIV 组(<i>n</i> = 16)	9/7	59.32 ± 8.68	19.32 ± 2.64	5.12 ± 0.81	2.37 ± 1.28	2.89 ± 1.08
χ^2/F	0.46	0.47	0.36	2.03	1.38	0.90
<i>P</i>	0.977	0.758	0.835	0.097	0.246	0.468

表2 2型糖尿病各亚组治疗前后相关指标比较

组别	餐前血糖 /(mmol/L)	餐后 2 h 血糖 /(mmol/L)	睡前血糖 /(mmol/L)	糖化血红蛋白 / %	尿蛋白 /(mg/24 h)
SD 组(n = 18)					
治疗前	8.62 ± 1.23	12.25 ± 5.62	8.25 ± 1.26	6.8 ± 0.8	76 ± 18
治疗后	5.53 ± 1.34	6.23 ± 3.2	5.31 ± 1.35	6.5 ± 0.9	50 ± 12
$\bar{d} \pm s_d$	3.09 ± 1.14	6.02 ± 2.31	2.94 ± 0.65	0.3 ± 0.7	26 ± 9
配对 <i>t</i>	11.50	11.06	19.19	1.87	12.26
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.078	<0.001
DN II 组(n = 22)					
治疗前	9.23 ± 3.22	15.67 ± 3.51	9.23 ± 1.29	7.6 ± 1.2	129 ± 20
治疗后	5.38 ± 2.37	7.23 ± 1.25	7.24 ± 2.01	7.3 ± 1.4	101 ± 25
$\bar{d} \pm s_d$	3.85 ± 2.32	8.44 ± 2.14	1.99 ± 0.98	0.3 ± 0.8	28 ± 11
配对 <i>t</i>	7.78	18.50	9.52	1.61	11.94
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.124	<0.001
DN III 组(n = 19)					
治疗前	11.12 ± 2.04	17.88 ± 3.86	15.66 ± 2.34	7.9 ± 1.6	173 ± 28
治疗后	5.21 ± 1.39	8.35 ± 2.98	7.32 ± 2.36	7.6 ± 1.9	142 ± 19
$\bar{d} \pm s_d$	5.91 ± 1.44	9.53 ± 2.21	8.34 ± 2.10	0.3 ± 1.2	31 ± 14
配对 <i>t</i>	17.89	18.80	17.31	0.99	9.65
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.337	<0.001
DNIV 组(n = 16)					
治疗前	13.91 ± 3.36	20.88 ± 2.67	16.66 ± 2.33	8.2 ± 1.5	198 ± 32
治疗后	5.76 ± 2.12	8.66 ± 2.11	7.14 ± 1.98	7.9 ± 1.3	156 ± 26
$\bar{d} \pm s_d$	8.15 ± 1.93	12.22 ± 2.15	9.52 ± 1.94	0.3 ± 1.1	42 ± 18
配对 <i>t</i>	16.89	22.73	19.63	1.11	9.33
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.284	<0.001

表3 正常组和2型糖尿病组治疗前后 PEDF 比较

组别	例数	治疗前 PEDF	治疗后 PEDF	$\bar{d} \pm s_d$	配对 <i>t</i>	<i>P</i>
NC 组	20	4.1 ± 0.9	4.0 ± 1.2	0.1 ± 0.7	0.64	0.531
SD 组	18	6.8 ± 1.1*	5.2 ± 1.0 [§]	1.6 ± 0.8	8.49	<0.001
DN II 组	22	8.5 ± 1.2* [#]	6.2 ± 0.9 [§]	2.3 ± 0.7	15.41	<0.001
DN III 组	19	10.7 ± 1.5* ^{#&}	5.8 ± 1.1 [§]	4.9 ± 1.0	21.36	<0.001
DNIV 组	16	13.6 ± 1.3* ^{#&@}	7.3 ± 1.2 [§]	6.3 ± 1.1	22.91	<0.001

注: 与 NC 组相比,* *P* < 0.01; 与 SD 组相比,#*P* < 0.01; 与 DN II 组相比,&*P* < 0.01; 与 DN III 组相比,@*P* < 0.01; 与治疗前相比,§*P* < 0.01。

3 讨论

PEDF 在糖尿病肾病患者的肾组织中可以预防炎症反应(通过抑制 NF-κB 信号通路),减少肾脏组织纤维化(通过抑制 TGF-β 和结缔组织生长因子),减少血管渗漏和蛋白尿的发生(部分通过抑制 VEGF),防止肾脏细胞凋亡和损伤^[4]。PEDF 在糖尿病和终末期肾病患者血清中的表达与肾功能密切相关,具有明确的肾脏保护机制^[5]:可以改善肾小球损伤,改善肾小球压力,促进足细胞再生^[6],通过抑制酪氨酸激酶 JAK-转录因子 STAT(JAK-STAT) 磷酸化,降低转化生长因子(TGF-β1) 和纤维连接蛋白

(FN) 的表达^[7]。亦有研究表明,PEDF 可阻止高糖诱导的 TGF-β 过度表达,是糖尿病肾病的主要致病因子,提示 PEDF 在肾小球中可能作为 TGF-β 的内源性表达抑制剂,进而导致 PEDF 水平在糖尿病患者肾组织中的水平下降,起着一种代偿性保护作用^[8]。

血清 PEDF 水平在 2 型糖尿病患者的表达增加,与糖尿病肾病的严重程度相关,尿白蛋白排泄率(UAE) 是血清 PEDF 显著的独立影响因素,与 PEDF 呈现正相关性^[9]。国内有研究将糖尿病组分为正常蛋白尿组 30 例,微量蛋白尿组 28 例,大量蛋白尿组

27 例,给予胰岛素强化治疗,结果表明糖尿病肾病患者的 PEDF、血管内皮生长因子(VEGF) 明显高于正常对照组;对糖尿病患者胰岛素治疗后,在改善血糖的同时,血清 PEDF、VEGF 水平明显降低^[10]。本研究结果显示:糖尿病组 PEDF 高于正常组,糖尿病肾病分期越高(DN II ~ DN IV), PEDF 水平表达越高,单独检测各组治疗前后的血清 PEDF 水平,结果表明胰岛素治疗后,各组 PEDF 水平降低,其机制可能是胰岛素平稳降糖的同时,改善糖尿病肾病的氧化应激,血管增生在一定程度上得到抑制,故而 PEDF 水平降低。

有研究表明 PEDF 在糖尿病患者经二甲双胍治疗后升高,但 PEDF 和胰岛素抵抗、脂肪或血糖控制等似乎不相关^[11]。本研究结果显示:使用胰岛素强化治疗后,糖尿病肾病组的 PEDF 降低,由于本研究单一研究糖尿病肾病,未加入脂肪细胞的因素,故而胰岛素对 PEDF 的具体干预机制尚需进一步研究。

一项前瞻性研究测量糖尿病患者血液循环中 PEDF,预测未来 4 年的 DN 进展,后续结果显示,慢性肾衰竭逐渐加重的患者 PEDF 水平明显高于无明显进展的患者, PEDF 与慢性肾衰竭进展具有独立相关性。PEDF 的水平升高可能是 2 型糖尿病患者肾脏疾病的代偿性改变,似乎可作为 DN 进展的血清标记物^[12]。血浆 PEDF 浓度在糖尿病视网膜病变和糖尿病肾病进展过程中表达升高,可以预测糖尿病肾病的发生发展^[13]。糖尿病肾损伤早期或后期给予 PEDF 治疗均可导致蛋白尿减少、肾组织巨噬细胞浸润减少、炎性细胞因子和纤维化标志物的减少,进而延缓肾损伤的进展,显示出 PEDF 在糖尿病肾损伤进展的治疗重要性^[14]。

综上所述,血清 PEDF 在糖尿病肾病进展中扮演重要角色, PEDF 升高可预测糖尿病肾病的进展, PEDF 具有潜在的治疗效用。胰岛素治疗糖尿病肾病后,血清 PEDF 水平下降有助于指导糖尿病肾病的监测治疗。PEDF 可以调节糖尿病微血管的结构和功能,对于糖尿病肾病的发展起到预警作用, PEDF 在糖尿病并发症中可能存在的治疗效果及其具体机制,仍需进一步探索。

【参考文献】

[1] FAMULLA S, LAMERS D, HARTWIG S, *et al.* Pigment epithelium-

derived factor (PEDF) is one of the most abundant proteins secreted by human adipocytes and induces insulin resistance and inflammatory signaling in muscle and fat cells [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2011, 35(6): 762 - 772.

- [2] WANG JJ, ZHANG SX, LU K, *et al.* Decreased expression of pigment epithelium-derived factor is involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2005, 54(1): 243 - 250.
- [3] MAO T, GAO L, LI H, *et al.* Pigment epithelium-derived factor inhibits high glucose induced oxidative stress and fibrosis of cultured human glomerular mesangial cells [J]. *Saudi Med J*, 2011, 32(8): 769, 777.
- [4] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版) [J]. *中华糖尿病杂志*, 2014, 6(7): 447 - 498.
- [5] ISHIBASHI Y, MATSUI T, OHTA K, *et al.* PEDF inhibits AGE-induced podocyte apoptosis via PPAR- γ activation [J]. *Microvascular Res*, 2013, 85(1): 54 - 88.
- [6] JENKINS AJ, FU D, AZAR M, *et al.* Clinical correlates of serum pigment epithelium-derived factor in type 2 diabetes patients [J]. *J Diabetes Complications*, 2014, 28(3): 353 - 359.
- [7] TAN H, YI H, ZHAO W, *et al.* Intraglomerular crosstalk elaborately regulates podocyte injury and repair in diabetic patients: insights from a 3D multiscale modeling study [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45): 73130 - 73146.
- [8] MAO T, CHEN H, HONG L, *et al.* Pigment epithelium-derived factor inhibits high glucose-induced JAK/STAT signalling pathway activation in human glomerular mesangial cells [J]. *Saudi Med J*, 2013, 34(8): 793 - 800.
- [9] 陈海冰, 贾伟平, 陆俊茜, 等. 2 型糖尿病肾病患者血清色素上皮源因子水平的变化及意义 [J]. *中华医学杂志*, 2007, 87(18): 1230 - 1233.
- [10] 许秀萍, 程千鹏, 吕肖锋. 胰岛素强化治疗对糖尿病肾病患者色素上皮衍生因子及血管内皮生长因子水平的影响 [J]. *中国医药导报*, 2015, 12(12): 83 - 85.
- [11] AKN S, AKSOY DY, CNAR N, *et al.* Pigment epithelium-derived factor increases in type 2 diabetes after treatment with metformin [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012, 77(6): 852 - 856.
- [12] HUI E, YEUNG CY, LEE PC, *et al.* Elevated circulating pigment epithelium-derived factor predicts the progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(11): E2169 - 2177.
- [13] MATSUYAMA K, OGATA N, MATSUOKA M, *et al.* Relationship between pigment epithelium-derived factor (PEDF) and renal function in patients with diabetic retinopathy [J]. *Mol Vis*, 2008, 28(14): 992 - 996.
- [14] AWAD AS, YOU H, GAO T, *et al.* Delayed Treatment with a Small Pigment Epithelium Derived Factor (PEDF) Peptide Prevents the Progression of Diabetic Renal Injury [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133777.