DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20210104

糖尿病肾病进展性生物标志物的研究现状与挑战

冯松涛，刘必成 *

（东南大学附属中大医院肾脏科，东南大学肾脏病研究所，江苏 南京 210009）

【摘要】糖尿病肾病（Diabetic Kidney Disease, DKD）是糖尿病（Diabetes Mellitus, DM）患者发生终末期肾病和死亡的主要原因。对 DKD 患者进行预后评估有助于降低疾病进展的风险及减少并发症和死亡的发生。本综述主要讨论 DKD 进展性生物标志物的现状和研究进展，包括常用的白蛋白尿和肾小球滤过率（Glomerular Filtration Rate, GFR），以及新型生物标志物如肿瘤坏死因子受体（Tumor Necrosis Factor Alpha Receptor, TNFR）和肾小管标志物等。同时，本文还对 DKD 进展性标志物的开发和应用存在的挑战进行了讨论。

【关键词】糖尿病肾病；生物标志物；预后；终末期肾病

中图分类号：R587.2，R-1　　**文献标识**：A　　**文章编号**：2096-8965（2021）01-0028-05

Current status and challenge of biomarker studies for progressive diabetic kidney disease

Feng Songtao, Liu Bicheng*

(Institute of Nephrology, Zhongda Hospital, Southeast University School of Medicine, Nanjing 210009, Jiangsu, China)

【**Abstract**】Diabetic kidney disease (DKD) is the main cause of end stage renal disease and death in patients with diabetic mellitus (DM). Prognostic assessment for patients with DKD is critical to reduce the risk of disease progression and incidence of complications or deaths. This review mainly discussed the current research status of biomarkers which might predict the progression of DKD, including the commonly used albuminuria and glomerular filtration rate (GFR), as well as novel biomarkers like tumor necrosis factor receptor (TNFR) and renal tubular markers. Meanwhile, we discussed the potential challenges in the development and application of these biomarkers in progressive DKD.

【**Keywords**】Diabetic nephropathy; Biomarkers; Prognosis; End stage renal disease

糖尿病肾病（Diabetic Kidney Disease, DKD）是糖尿病（Diabetes Mellitus，DM）常见的慢性并发症，是导致终末期肾脏病（End Stage Renal Disease, ESRD）的主要原因。多中心流行病学调查显示，我国成人中 DM 的患病率已高达 12.8%[1]。DM 基数增加必然导致 DKD 患病率升高，我国现约有 2 430 万 DKD 患者[2]，2015 年的 CK-NET（China Kidney Disease Network, CK-NET）年度报告显示，因肾脏疾病住院的患者中，DKD 的比例为 26.7%，在病因中位居第一位 [3]。DKD 总体预后较差，即使积极规范治疗，仍有 20%~30% 的患者肾功能进行性下降 [4]，最终发生 ESRD。

DKD 生物标志物的检测是预测疾病进展的重要方法，白蛋白尿和肾小球滤过率（Glomerular

基金项目：科技部国家重点研发计划（2018YFC1314000）；国家自然科学基金重点项目（8203000544）；国家自然科学基金重大国际合作项目（81720108007）

通讯作者：刘必成（1964-），男，江苏涟水人，博士生导师，主要从事糖尿病肾病诊断标志物及慢性肾脏病诊治新技术研究。E-mail: Liubc64@163.com

Filtration Rate, GFR）是目前最常用的生物标志物。然而，在临床研究和实践中，两者仍存在敏感性和特异性的不足。开发新型生物标志物有助于更好地对患者进行风险分层、分级管理和个体化治疗，对改善预后具有重要意义。本文对 DKD 进展性生物标志物的研究现状进行综述。

1 反映DKD进展的生物标志物研究现状

目前，临床上最常用的 DKD 风险分层和预后评估的指标依然是 GFR 和白蛋白尿，两者能够在一定程度上预测 ESRD、心血管事件及全因死亡的发生风险 [5]。

1.1 GFR

GFR 是预测 ESRD 发生最有价值的指标，且肾脏预后的结局终点也是基于 GFR 定义的。测定 GFR 的方法繁琐，不适合临床推广，一般采用估测的 GFR（estimated GFR, eGFR）来代替，CKD-EPI 和 MDRD 方程是准确性较高的计算公式。然而有研究报道，在 T2DM（Type 2 DM）患者中，CKD-EPI 或 MDRD 公式均可能低估 GFR[6]。即使如此，多项研究报道了 eGFR 预测 DKD 患者发生 ESRD、心血管疾病和全因死亡的重要价值 [7, 8]。一项在 2 420 例 T2DM 中随访 10.2 年的研究发现，eGFR 15~29 mL/min/1.73 m^2 的患者发生 ESRD 的风险是 eGFR 90 mL/min/1.73 m^2 以上患者的 81.9 倍 [9]。

除 eGFR 的基线值外，eGFR 的斜率（定义为 eGFR 每年平均变化值）逐渐受到关注。Joslin 研究中，作者评估了 T1DM（Type 1 DM）患者既往 8 年的 eGFR 变化轨迹，将患者分为肾功能快速下降、中度下降和最低下降 3 个亚组 [10]，发现快速下降组的 ESRD 和全因死亡的风险明显增加。ADVANCE-ON 研究中 [11]，8 879 名 T2DM 患者随访 7.6 年后发现，eGFR 的快速下降与发生 ESRD 的风险密切相关。本团队研究认为，eGFR 的斜率突出体现了 DKD 患者肾功能的变化而非基础肾功能水平，在由非 DKD 疾病本身造成的肾功能不同的患者中，具有较好的研究意义。

1.2 白蛋白尿

白蛋白尿是 DKD 的主要诊断依据，美国糖尿病学会（American Diabetes Association，ADA）糖尿病诊疗指南 [12] 和中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南 [5] 提出，尿白蛋白肌酐比值（urine Albumin Creatinine Ratio，uACR）≥ 30 mg/g 为尿白蛋白升高。在 GFR 正常的 T2DM 患者中，uACR 的增加能够反映肾小球的结构改变，包括基底膜增厚和系膜增宽等。DCCT/EDIC 研究发现，T1DM 患者中，白蛋白尿与发生心血管疾病及 eGFR 降低的风险有关 [13]。JDCS 研究 [14] 发现，日本 T2DM 患者中，微量白蛋白尿是发生肾脏终点事件的独立危险因素。但是，随着研究证据不断增加，uACR 的价值逐渐受到质疑。研究显示，仅 30% 左右的 DM 患者微量白蛋白尿呈持续进展；约 1/3 可以逆转为正常；正常白蛋白尿的 DM 患者也可出现 GFR 下降和肾脏结构异常 [15]。

1.3 与发病机制相关的DKD新型生物标志物

白蛋白尿和 eGFR 能够提供 DKD 患者的预后信息，有助于指导治疗，但仍存在不足。近年来，反映肾小球或肾小管损伤、慢性炎症、肾间质纤维化和氧化应激等 DKD 发病机制的多种新型生物标志物被报道。例如，反映慢性炎症的肿瘤坏死因子 α 受体（Tumor Necrosis Factor Alpha Receptor, TNFR）和单核细胞趋化蛋白 -1（Monocyte Chemoattractant Protein-1, MCP-1），以及肾小管损伤性标志物等，在预测 DKD 进展方面的证据相对充分，具有较好的临床转化和应用前景。

1.3.1 TNFR

TNF α 是一种与肾脏疾病进展有关的炎症因子，已知有两种不同的受体，TNFR1 和 TNFR2，胞外结构域能够被裂解进入血液循环，形成可溶性的 TNFR（soluble TNFR，sTNFR）。sTNFR 的发现是 DKD 进展性标志物中值得关注的重要进展。

2012 年，Niewczas 等 [17] 首次证明，sTNFR 可以预测不同疾病阶段的 T1DM 和 T2DM 患者的肾功能下降。在肾功能和尿白蛋白水平正常的 T1DM 患者中随访 12 年后发现，处于 sTNFR2 最高四分位数的患者的 CKD3 期的累积发生率为 60%，而其他患者 CKD3 期的发生率为 5%~19%[16]。该团队的另一项研究发现，在大量白蛋白尿和 eGFR 进展期的 DKD 患者中，sTNFR1 最高四分位数的患者 12 年的随访期间有近 54% 进展为 ESRD，而其他患者发生 ESRD 的比例仅为 3%[17]。之后，多项临床研究验证了这一发现。例如 ACCORD 和 VA NEPHRON-D 研究报道，在早期和进展期的 DKD 研究队列中，sTNFR 1 和 sTNFR 2 与肾脏预后风险之间显著相关 [18]。此外，在校正 eGFR 和白蛋

白尿的差异后，亦有多个研究发现 sTNFR 1 和/或 sTNFR 2 的浓度升高是 DKD 进展的危险因素，并能够优化 DKD 临床预测模型的效能 [19, 20]。笔者认为，TNFR 可能是 eGFR 和白蛋白尿之外最有应用前景的 DKD 进展性生物标志物。

1.3.2 MCP-1

MCP-1 是在炎症中具有招募 T 淋巴细胞和单核细胞作用的趋化因子。在 DKD 患者和实验性 DM 动物模型中，尿 MCP-1 表达升高，并与蛋白尿的水平存在相关性。前瞻性研究发现，T2DM 患者的尿 MCP-1 与大量蛋白尿的发生有关，并与 6 年随访期间的 eGFR 下降呈正相关 [21]。另有研究报道，T2DM 患者随访 30.7 个月后发现，校正 eGFR 和尿白蛋白后，尿 MCP-1 依然可以作为 ESRD 发生和全因死亡率增加的危险因素 [22]。然而，尿 MCP-1 与 DKD 进展关系的前瞻性研究相对较少，且多为小样本的单中心研究，目前尿 MCP-1 在 DKD 进展预测中的价值尚不能确定。

1.4 肾小管损伤性标志物

近年研究发现，在急性肾损伤（Acute Kidney Disease, AKI）中开发的肾小管损伤标志物在评估 DKD 进展中也具有作用，如肾损伤分子-1（Kidney Injury Molecule-1，KIM-1）、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白（Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin, NGAL）和肝型脂肪酸结合蛋白（Liver Fatty Acid Binding Protein, L-FABP）等，其中，KIM-1 的证据较为充分。在 T1DM 患者中，低水平的尿 KIM-1 与随访 2 年后微量白蛋白尿的消退有关 [23]。在 ACCORD 和 VA NEPHRON-D 研究队列中发现，进展期 DKD 患者的血浆 KIM-1 水平是早期 DKD 的 2 倍左右，是预测肾功能下降以及 ESRD 发生的独立危险因素 [18]。另有研究发现，尿 KIM-1 与心血管死亡风险有关 [24]。然而，在校正已知的危险因素如 eGFR 和 uACR 后，尿 KIM-1 不能作为 DKD 进展的独立危险因素 [25, 26]。病理研究表明，肾小管损伤是影响 DKD 进展和预后的重要因素，肾小管损伤标志物检测在 DKD 预后判断中的价值值得进一步深入研究。

1.5 基于组学技术发现的新型标志物

组学技术的优势是在无假设的前提下分析，减少了研究的选择性偏倚。借助于大数据平台，能够发现与 DKD 进展相关的单一分子标记或多个分子标记的组合。然而，由于检测费用较高，此类研究的样本量普遍较小；此外，组学标志物的重复性欠佳，目前在 DKD 进展中的价值尚不能明确，还有待进一步研究证实。

1.5.1 尿液蛋白质组学

尿液中含有可用于质谱分析和定量的多种蛋白质和多肽，蛋白组学分析已成为开发 DKD 生物标志物的理想方法。CKD273 分类器是一个 273 个多肽的组合，在早期诊断 DKD 方面具有重要价值 [27]。前瞻性研究发现，校正其他已知的危险因素后，CKD273 依然可以预测 DKD 患者的远期死亡风险 [28]。目前 CKD273 分类器已实现临床转化，但是，由于检测的费用较高、需要借助于特定的设备，且分析结果不易解读，目前尚未在 DKD 患者中广泛应用。

1.5.2 代谢组学

DM 为代谢性疾病，代谢组学分析在 DM 并发症的筛查中具有独特的价值。Niewczas 等 [29] 在 Joslin 研究队列中对 CKD3 期伴白蛋白尿的 T1DM 患者进行了血清代谢组学分析，发现有 7 种代谢物与 T1DM 的 eGFR 下降和 ESRD 终点之间存在密切关联。在 T2DM 患者中，CRIC 研究在平均 8 年的随访期间发现，代谢产物 3- 羟基异丁酸（3-hydroxyisobutyrate, 3-HIBA）和 3-methylcrotonyglycin 水平与 eGFR 的下降斜率密切相关，有助于发现高危的 DKD 患者 [30]。

1.5.3 mRNA与microRNA

尿液中有多种脱落细胞成分，如足细胞和肾小管上皮细胞等。研究证实，尿液足细胞标记和肾小管上皮细胞间质转化分子的 mRNA 可能能够作为 DKD 新型诊断性生物标志物 [31-33]。一项进行了 23 个月随访的前瞻性研究发现，尿脱落细胞 Nephrin 和 Podocin 等足细胞标记 mRNA 水平与肾功能下降的斜率相关 [34]。但亦有研究报道，足细胞标记分子 mRNA 虽然在 DKD 尿液中表达升高，却并不能独立预测 DKD 患者的 eGFR 下降 [35]。microRNA（miRNA）是长度为 20~22 bp 的参与转录后调控的非编码 RNA。Pezzolesi 等 [36] 对 T1DM 进行了 7-20 年的随访，发现循环中的 let-7b-5p 和 miR-21-5p 可能是 DKD 向 ESRD 进展的预测因子。

1.6 尿液外泌体来源的生物标志物

外泌体具有磷脂双分子层结构，包裹母细胞来源的 miRNA、mRNA、蛋白质和脂质等活性分

子。尿液外泌体内的多种组分能够参与肾脏疾病的发生和进展，并可作为潜在的生物标志物 [37]。Lv 等 [38] 在经肾活检证实 DKD 患者中发现，尿外泌体 miR-19b-3p 的表达显著增高，并与肾间质损害程度呈正相关。前瞻性研究发现，尿外泌体中足细胞标记分子 WT-1 mRNA 的水平能够预测 DKD 患者 eGFR 的下降 [39]。

2 挑战和展望

综上，尽管 eGFR 和白蛋白尿在评估 DKD 疾病进展方面存在不足，但目前仍未出现可取代 eGFR 或白蛋白尿的新型生物标志物。DKD 进展性生物标志物的研究面临诸多挑战，原因在于：多数生物标志物的研究基于 DKD 的发病机制，证据主要来源于体外实验和动物模型；大多临床研究为单中心的横断面研究，单纯描述 DKD 中生物标志物的变化或与 eGFR、白蛋白尿的相关性不能作为预测 DKD 进展的证据；DKD 疾病进展的原因非常复杂，多种因素可以影响疾病的预后；此外，基因组学和表观遗传学研究发现，DM 患者对 DKD 的易感性和疾病进展的风险存在遗传学的差异。

未来，应更加注重系统生物学的思想，借助人工智能技术，依托多中心的大样本临床随访队列，开发综合性、多维度的 DKD 进展临床预测模型，这是提高 DKD 患者预后评估的有效途径。多组学平台和高通量筛选技术为 DKD 生物标志物的研究提供了更多的思路 [40]。首先，基于组学平台筛选出候选的标志物，进一步在前瞻性多中心队列中进行验证，根据随访周期设置适宜的临床观察终点，评估其在疾病进展和预后评估中的价值。同时，构建和优化 DKD 疾病进展的预测模型，对于开发 DKD 新型进展性生物标志物具有重要意义，并能够为 DKD 的发病机制和治疗靶点提供新的线索，更有助于 DKD 分层管理和个体化治疗的实现。

参 考 文 献

[1] LI Y, TENG D, SHI X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study[J]. BMJ, 2020, 369: m997.

[2] ZHANG L, LONG J, JIANG W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. N Engl J Med, 2016, 375(9): 905-906.

[3] ZHANG L, ZHAO M H, ZUO L, et al. China Kidney Disease Network (CK-NET) 2015 annual data report[J]. Kidney Int Suppl (2011), 2019, 9(1): e1-e81.

[4] ZHANG W R, PARIKH C R. Biomarkers of acute and chronic kidney disease[J]. Annu Rev Physiol, 2019, 81(1): 309-333.

[5] 中华医学会糖尿病分会微血管并发症学组 . 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南 [J]. 中华糖尿病杂志 , 2019, 11(1): 15-28.

[6] SILVEIRO S P, ARAÚJO G N, FERREIRA M N, et al. Chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2011, 34(11): 2353-2355.

[7] LU J, MU Y, SU Q, et al. Reduced kidney function is associated with cardiometabolic risk factors, prevalent and predicted risk of cardiovascular disease in Chinese adults: results from the REACTION study[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(7) : e003328.

[8] LAMBERS HEERSPINK H J, WELDEGIORGIS M, INKER L A, et al. Estimated GFR decline as a surrogate end point for kidney failure: a post hoc analysis from the reduction of end points in Non-Insulin-Dependent diabetes with the angiotensin II antagonist losartan（RENAAL) study and irbesartan diabetic nephropathy trial（IDNT)[J]. Am J Kidney Dis, 2014, 632(2): 244-250.

[9] BERHANE A M, WEIL E J, KNOWLER W C, et al. Albuminuria and estimated glomerular filtration rate as predictors of diabetic end-stage renal disease and death[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2011, 6(10): 2444-2451.

[10] KROLEWSKI A S. Progressive renal decline: the new paradigm of diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. Diabetes Care, 2015, 38(6): 954-962.

[11] OSHIMA M, JUN M, OHKUMA T, et al. The relationship between eGFR slope and subsequent risk of vascular outcomes and all-cause mortality in type 2 diabetes: the ADVANCE-ON study[J]. Diabetologia, 2019, 62(11): 1988-1997.

[12] American Diabetes Association. 11. Microvascular complications and foot care: standards of medical care in diabetes-2019[J]. Diabetes Care, 2019, 42(Suppl 1): S124-S138.

[13] DE BOER I H, GAO X, CLEARY P A, et al. Albuminuria

changes and cardiovascular and renal outcomes in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC study[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2016, 11(11): 1969-1977.

[14] MORIYA T, TANAKA S, KAWASAKI R, et al. Diabetic retinopathy and microalbuminuria can predict macroalbuminuria and renal function decline in Japanese type 2 diabetic patients: Japan diabetes complications study[J]. Diabetes Care, 2013, 36(9): 2803-2809.

[15] 汪志红 , 何慈江 . 糖尿病肾病早期生物标志物预测疾病进展的可能性 [J]. 中华糖尿病杂志 , 2018, 10(4): 251-255.

[16] GOHDA T, NIEWCZAS M A, FICOCIELLO L H, et al. Circulating TNF receptors 1 and 2 predict stage 3 CKD in type 1 diabetes[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(3): 516-524.

[17] NIEWCZAS M A, GOHDA T, SKUPIEN J, et al. Circulating TNF receptors 1 and 2 predict ESRD in type 2 diabetes[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(3): 507-515.

[18] COCA S G, NADKARNI G N, HUANG Y, et al. Plasma biomarkers and kidney function decline in early and established diabetic kidney disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(9): 2786-2793.

[19] BARR E, BARZI F, HUGHES J T, et al. High baseline levels of tumor necrosis factor receptor 1 are associated with progression of kidney disease in Indigenous Australians with diabetes: the eGFR follow-up study[J]. Diabetes Care, 2018, 41(4): 739-747.

[20] NOWAK N, SKUPIEN J, SMILES A M, et al. Markers of early progressive renal decline in type 2 diabetes suggest different implications for etiological studies and prognostic tests development[J]. Kidney Int, 2018, 93(5): 1198-1206.

[21] TAM F W, RISER B L, MEERAN K, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and connective tissue growth factor (CCN2) as prognostic markers for progression of diabetic nephropathy[J]. Cytokine, 2009, 47(1): 37-42.

[22] TITAN S M, VIEIRA J M, DOMINGUEZ W V, et al. Urinary MCP-1 and RBP: independent predictors of renal outcome in macroalbuminuric diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Complications, 2012, 26(6): 546-553.

[23] VAIDYA V S, NIEWCZAS M A, FICOCIELLO L H, et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1, and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase[J]. Kidney Int, 2011, 79(4): 464-470.

[24] CHEN Y H, CHEN H S, TARNG D C. More impact of microalbuminuria on retinopathy than moderately reduced GFR among type 2 diabetic patients[J]. Diabetes Care, 2012, 354(4): 803-808.

[25] FUFAA G D, WEIL E J, NELSON R G, et al. Association of urinary KIM-1, L-FABP, NAG and NGAL with incident end-stage renal disease and mortality in American Indians with type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetologia, 2015, 58(1): 188-198.

[26] PANDURU N M, SANDHOLM N, FORSBLOM C, et al. Kidney injury molecule-1 and the loss of kidney function in diabetic nephropathy: a likely causal link in patients with type 1 diabetes[J]. Diabetes Care, 2015, 38(6): 1130-1137.

[27] ZURBIG P, MISCHAK H, MENNE J, et al. CKD273 enables efficient prediction of diabetic nephropathy in nonalbuminuric patients[J]. Diabetes Care, 2019, 42(1): e4-e5.

[28] CURRIE G E, VON SCHOLTEN B J, MARY S, et al. Urinary proteomics for prediction of mortality in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria[J]. Cardiovasc Diabetol, 2018, 17(1): 50.

[29] NIEWCZAS M A, MATHEW A V, CROALL S, et al. Circulating modified metabolites and a risk of ESRD in patients with type 1 diabetes and chronic kidney disease[J]. Diabetes Care, 2017, 40(3): 383-390.

[30] KWAN B, FUHRER T, ZHANG J, et al. Metabolomic markers of kidney function decline in patients with diabetes: evidence from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) study[J]. Am J Kidney Dis, 2020, 76(4): 511-520.

[31] ZHENG M, LV L L, NI J, et al. Urinary podocyte-associated mRNA profile in various stages of diabetic nephropathy[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e20431.

[32] ZHENG M, LV L L, CAO Y H, et al. A pilot trial assessing urinary gene expression profiling with an mRNA array for diabetic nephropathy[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e34824.

（下转第 38 页）