

糖尿病肾病患者血清微小 RNA-193a 水平及其与预后的关系

潘志铤, 李董平, 饶杰

深圳市盐田区人民医院 肾内科, 广东 深圳 518083

摘要: 目的 探讨血清 miR-193a 在糖尿病肾病 (DN) 患者中的表达水平及在评估患者预后的临床价值。方法 以我院收治的 105 例 2 型糖尿病患者 (T2DM) 为研究对象, 根据尿蛋白排泄率 (UAER) 分为 DM 对照组 (59 例) 和 DN 组 (46 例), 并同期选择 105 例体检健康人群为对照组。比较三组临床资料、血清 miR-193a 水平。相关法分析 DN 患者 miR-193a 水平与各指标相关性; 对 DN 患者随访 3 年, 根据患者预后分为预后较好组 (31 例) 和预后较差组 (15 例), 比较两组 miR-193a 水平在评估患者预后中的临床价值。结果 相较于对照组和 DM 对照组, DN 组 UA、BUN、SCr、UAER、Cys-C、miR-193a 水平更高, 而 eGFR 水平更低 ($P < 0.05$); 相关性分析结果显示, DN 患者 miR-193a 水平与 UA、BUN、SCr、UAER、Cys-C 水平呈正相关, 而与 eGFR 呈负相关 ($P < 0.05$); 相较于预后较好组, 预后较差组 miR-193a 水平更高 ($P < 0.05$)。结论 DN 患者 miR-193a 水平显著上升, 与患者病情密切相关, miR-193a 检测可作为辅助指标用于评估患者预后。

关键词: miR-193a; 糖尿病肾病; 预后

Serum Minimal RNA-193a Levels and Their Relationship with Prognosis in Diabetic Nephropathy Patients

Pan Zhixian, Li Dongping, Rao Jie

Department of Nephrology, Yantian District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518083

Abstract: Objective To investigate the expression level of serum miR-193a in diabetic nephropathy (DN) patients and its clinical value in evaluating the prognosis of patients. Methods 105 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) in our hospital were divided into DM group (59 cases) and DN group (46 cases) according to urinary protein excretion rate (UAER), and 105 healthy subjects were selected as control group. Clinical data and serum miR-193a levels were compared among the three groups. Correlation method was used to analyze the correlation between miR-193a level and various indexes in DN patients. Patients with DN were followed up for 3 years and divided into a good prognosis group (31 cases) and a poor prognosis group (15 cases) according to their prognosis. miR-193a levels were compared between the two groups. Results Compared with the control group and DM control group, the levels of UA, BUN, SCr, UAER, Cys-C, and miR-193a in DN group were higher, while the levels of eGFR and IgG were lower ($P < 0.05$). Correlation analysis results showed that miR-193a levels in DN patients were positively correlated with UA, BUN, SCr, UAER, Cys-C. eGFR were negatively correlated ($P < 0.05$). Compared with the good prognosis group, the level of miR-193a in the poor prognosis group was higher ($P < 0.05$). Conclusion The level of miR-193a is significantly increased in patients with DN, which is closely related to the condition of patients. The detection of miR-193a can be used as an auxiliary indicator to evaluate the prognosis of patients.

Keywords: miR-193a; diabetic nephropathy; prognosis

引言

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是终末期肾病的主要病因之一^[1-2]它严重影响 DM 患者的生存质量, 也是糖尿病高致残率、致死率最重要的影响因素之一。随着发病率逐年增长、治疗手段的不尽理想, 糖尿病肾病已经成为全世界最为重要和棘手的公共卫生问题之一。然而就迄今为止, 糖尿病肾病的发病机制尚未完全清楚, 早期诊断上也无特异而敏感的生物标志物, 糖尿病肾病的治疗没有很好的靶目标, 导致治疗效果仍不尽如人意。因此探讨安全有效的生物标志物十分必要。既往研究表明, 微小 RNA (microRNA,

项目信息: 深圳市盐田区科创局 (20200207)。

作者简介: 潘志铤 (1972.02-), 男, 汉族, 湖南城步, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 糖尿病肾病的发病机制。

miRNA) miRNA与DN的发生发展密切相关^[3-4],如miR-21则可靶向调控内皮间质转化和肾脏纤维化,从而参与DN的发生发展^[7]。miR-193a作为miRNA家族成员之一,可参与多种细胞的生殖、凋亡、转化等过程^[8]。研究发现,miR-193a转基因小鼠在短时间内可出现局灶节段性肾小球硬化^[9],但尚无研究探讨miR-193a在DN中的表达的临床意义。基于此,本研究通过分析miR-193a在DN患者中的表达,旨在为DN的诊治提供参考。

一、资料与方法

(一) 一般资料

以2020年6月至2021年6月我院收治的105例2型糖尿病(Type 2 diabetes, T2DM)为研究对象,患者符合T2DM相关标准^[10],并根据肾小球滤过率(Glomerular filtration rate, eGFR)和尿微量白蛋白排泄率(The urine trace albumin excretion rate, UAER)进一步分为DM对照组(59例)和DN组(46例),其中DN组eGFR < 60 mL · min⁻¹ · 1.73m⁻²,和(或)UAER ≥ 30mg/min^[11]。同期选择105例体检健康人群为对照组。本研究通过医院伦理委员会批准。

(二) 纳入排除标准

- DM对照组和DN组纳入标准:(1)为2型糖尿病;(2)年龄≥18岁;(3)患者及其家属知情且同意。
- 对照组纳入标准:(1)近3个月内体检健康;(2)年龄≥18岁。排除标准:(1)妊娠期或哺乳期者;(2)具有家族糖尿病史者。
- DM对照组和DN组排除标准:(1)1型糖尿病或其他糖尿病患者;(2)妊娠期或哺乳期者;(3)合并其他肾脏疾病患者;(4)神经、精神障碍者;(5)依从性差者。

(三) 方法

1. 观察指标

收集所有研究对象一般资料、血糖、血脂[总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白(Low-density lipoprotein, LDL-C)、高密度脂蛋白(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、尿酸(Uric acid, UA)、尿素氮(Urea nitrogen, BUN)、血肌酐(Serum creatinine, SCr)、肾小球滤过率(eGFR)、UAER、胱抑素C(Cys-C)等指标水平。

2. 检测指标

所有研究对象于入组次日空腹抽取静脉血5 mL×2管,分离血清。一管采用反转录试剂盒(美国Abcam公司)进行反转录,随后进行RT-PCR实验(SYBR RT-PCR试剂盒,美国Abcam公司)检测miR-193a基因表达。反应体系为:95°C预变性30 s,95°C 5 s,62°C 30 s,循环35次。采用2^{-ΔΔCt}法来测定各组miR-193a相对表达量,内参为U6。引物由中国北京鼎国生物科技有限公司合成。

(四) 随访

DN患者均随访3年,采用电话或门诊形式定期随访,并根据是否出现死亡或终末期肾衰竭(End-stage renal failure, ESRD)分为预后较差组(15例)和预后较好组(31例)。ESRD定义为:进行维持性甚至替代诊治或eGFR ≤ 15 mL · min⁻¹ · 1.73m⁻²。

(五) 统计分析

采用SPSS22.0软件进行分析。计数资料用n(%)描述,采用χ²检验。计量资料以(̄x±s)表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用LSD-t检验。相关分析用Pearson或Spearman法,P<0.05为差异有统计学意义。

二、结果

(一) 三组临床资料比较

三组在年龄、性别、吸烟史、饮酒史、血脂水平上比较无统计学差异(P>0.05);相较于对照组,DM对照组和DN组空腹血糖、收缩压、舒张压、UA、BUN、SCr、UAER、Cys-C、sVCAM-1水平更高,而eGFR水平更低(P<0.05);相较于DM对照组,DN组UA、BUN、SCr、UAER、Cys-C水平更高,而eGFR水平更低(P<0.05)。见表1。

表1 三组临床资料比较

组别	年龄(岁)	性别(例)		BMI(kg/m ²)	T2DM病程(年)	吸烟史(例)	饮酒史(例)
		男	女				
DN组(n=46)	48.1±6.4	29	17	24.29±1.47	7.05±2.13	10	7
DM对照组(n=59)	47.6±8.2	37	22	24.31±1.59	6.84±2.09	13	8
对照组(n=105)	50.2±7.5	62	43	24.04±1.60	-	19	12
统计值	2.715	0.321		0.729	0.507	0.478	0.446
P	0.069	0.852		0.484	0.614	0.789	0.800

组别	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	空腹血糖(mmol/L)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
DN组(n=46)	4.17±1.29	2.30±0.71	1.12±0.31	2.51±0.84	7.66±0.90 ^a	129.69±12.41 ^a	99.38±8.41 ^a
DM对照组(n=59)	3.99±1.37	2.36±0.84	1.19±0.35	2.65±0.79	7.55±0.46 ^a	128.23±11.84 ^a	97.16±9.88 ^a
对照组(n=105)	4.04±0.98	2.18±0.63	1.24±0.28	2.50±0.86	5.13±0.44	118.35±10.27	78.43±8.73
统计值	0.322	1.316	2.475	0.657	481.207	23.320	126.562
P	0.725	0.270	0.087	0.520	<0.001	<0.001	<0.001

组别	UA (μmol/L)	BUN (mmol/L)	SCr (μmol/L)	eGFR (ml/min/1.73m ²)	UAER (μg/min)	Cys-C (mg/L)
DN组 (n=46)	411.07 ± 41.24 ^{ab}	8.63 ± 2.29 ^{ab}	124.69 ± 22.14 ^{ab}	52.49 ± 7.10 ^{ab}	413.10 ± 95.26 ^{ab}	1.82 ± 0.51 ^{ab}
DM对照组 (n=59)	308.22 ± 34.59 ^a	5.42 ± 1.84 ^a	83.08 ± 16.73 ^a	106.78 ± 11.35 ^a	13.94 ± 4.11 ^a	0.84 ± 0.22 ^a
对照组 (n=105)	203.16 ± 56.72	4.28 ± 1.24	51.14 ± 10.97	112.07 ± 14.52	7.29 ± 2.13	0.61 ± 0.14
统计值	313.729	106.028	360.348	394.050	1477.004	297.971
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注：与对照组比较，^a*P* < 0.05；与DM对照组比较，^b*P* < 0.05。

(二) 三组 miR-193a 水平比较

结果显示，对照组、DM对照组和DN组 miR-193a 水平分别为 2.09 ± 0.93、4.16 ± 1.71、7.97 ± 2.62，三组差异具有统计学意义 (*F*=201.962, *P* < 0.001)。

(三) 相关性分析结果

相关性分析结果显示，DN患者 miR-193a 水平与 UA、BUN、SCr、UAER、Cys-C 呈正相关，而与 eGFR 呈负相关 (*P* < 0.05)。见表4。

表4 相关性分析结果

统计值	收缩压	舒张压	UA (μmol/L)	BUN (mmol/L)	SCr (μmol/L)	eGFR (ml/min/1.73m ²)	UAER (μg/min)	Cys-C (mg/L)
<i>r</i>	0.117	0.156	0.351	0.393	0.419	-0.423	0.398	0.433
<i>P</i>	0.068	0.142	0.024	0.019	0.005	< 0.001	< 0.001	< 0.001

统计值	肾小球分级
<i>r</i>	0.458
<i>P</i>	< 0.001

(四) 预后较好组和预后较差组 miR-193a 水平比较

截至随访结束，共15例患者预后不佳，预后较好组和预后较差组 miR-193a 水平分别为 10.09 ± 2.23、6.94 ± 2.14，两组差异具有统计学意义 (*t*=4.616, *P* < 0.001)。

样本来源于单中心，导致样本量较小，可能存在偏倚。

综上所述，DN患者 miR-193a 水平显著上升，与患者病情密切相关，miR-193a 检测可作为辅助指标用于评估患者预后。

三、讨论

DN是导致糖尿病患者常见并发症之一，也是严重影响患者预后的危险因素之一。本研究结果显示，DN患者血压、UA、BUN、SCr、UAER、Cys-C等指标水平存在异常，这与既往研究结果较为一致^[10-11]。但上述指标在诊断DN及评估病情中存在特异度、灵敏度不高等缺点。

miRNA广泛存在于机体组织、且较容易检测，因此血清miRNA可能作为诊断和评估疾病的有效指标^[12]。既往已有大量研究证实，miRNA可通过多种信号通路参与DN的发生发展，并与DN的肾功能损伤、足细胞凋亡以及间质纤维化等过程有关^[13]。足细胞可与肾小球基底膜、毛细血管内皮细胞构成肾小球滤过屏障，壁层上皮细胞可替代或修复足细胞，而近年研究发现，miR-193a 表达被下调后可介导壁层上皮细胞高表达 WT1 等足细胞标志蛋白，进而促进壁层上皮细胞向足细胞转分化，提示 miR-193a 可能参与DN的发病进程。本研究结果显示，相较于正常人群及单纯糖尿病患者，DN患者 miR-193a 水平显著上升，并与患者肾损伤程度以及肾功能相关指标水平密切相关，这说明 miR-193a 与DN患者病情存在密切联系，可能参与DN的发生发展。

研究探讨了 miR-193a 在评估 DN 患者预后中的临床价值，结果显示，预后较差的患者表现出更高的 miR-193a 水平，这说明 miR-193a 评估 DN 患者预后中具有一定临床价值。

但本研究也存在以下不足：(1) 未进一步分析患者不同生物样本中 miR-193a 表达水平情况，难以获得指标的特异性；(2)

参考文献

- [1] 曾静怡, 鲍晓荣. 糖尿病肾病发病机制的研究进展 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2021, 22 (5): 461-463.
- [2] KATO M, NATARAJAN R. Epigenetics and epigenomics in diabetic kidney disease and metabolic memory [J]. Nat Rev Nephrol, 2019, 15(6):327-345.
- [3] 韩敏, 郭敬, 刘子云. 微小RNA-31水平在糖尿病肾病患者外周血中的表达及其与肾小球滤过功能的关系研究 [J]. 中国医刊, 2022, 57 (8): 789-792.
- [4] 祁桢楠, 胡江伟, 武亮, 等. 血清TLR-3, miR-181b及URBP联合检测在糖尿病肾病诊断及预后判断的价值研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37 (2): 37-41.
- [5] 秦凤, 张惠莉. 糖尿病肾病患者外周血微小RNA-21表达与肾实质损伤的关系及意义 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(14): 1743-1748.
- [6] CHEN R Q, NING Y C, ZENG G R, et al. The miR-193a-5p/NCX2/AKT axis promotes invasion and metastasis of osteosarcoma [J]. J Cancer, 2021, 12(19): 5903-5913.
- [7] Gebeshuber CA, Kornauth C, Dong L, et al. Focal segmental glomerulosclerosis is induced by microRNA-193a and its down regulation of WT1 [J]. Nat Med, 2013, 19(4):481-487.
- [8] 中国2型糖尿病防治指南(2017年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38 (4): 292-344.
- [9] Shao Y, Lv C, Yuan Q, Wang Q. Levels of serum 25(OH)VD3, HIF-1α, VEGF, vWf, and IGF-1 and their correlation in type 2 diabetes patients with different urine albumin creatinine ratio [J]. J Diabetes Res. 2016, 20(2016):1925424.
- [10] Cankurtaran V, Inanc M, Tekin K, et al. Retinal micro circulation in predicting diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients without retinopathy [J]. Ophthalmologica, 2020, 243(4):271-279.
- [11] LEE W C, L LC, NG H Y, et al. Urinary exosomal microRNA signatures in nephrotic, Biopsy-Prove ndiabetic nephropathy [J]. Journal of Clinical Medicine, 2020, 9(4):1220.
- [12] PETERS L J F, FLOEGE J, BIESSEN E A L, et al. MicroRNAs in chronic kidney disease: four candidates for clinical application [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(18): 6547.
- [13] Kietzmann L, Guhr SS, Meyer TN, et al. MicroRNA-193a Regulates the Transdifferentiation of Human Parietal Epithelial Cells toward a Podocyte Phenotype. J Am Soc Nephrol. 2015, 26(6):1389-1401.