

血、尿中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白在慢性肾脏病 3 期中的变化及意义

倪佳宁 蔡旭东 魏 升 邢 洁 伍云洲

摘 要 **目的** 探讨血、尿中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)在慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)3 期患者中的变化及意义。**方法** 选择 CKD3 期患者 80 例,采用 ELISA 法测定随访者的血、尿 NGAL 水平,同时检测患者尿蛋白、尿 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(NAG)、肾小球滤过率(GFR)、血清白蛋白等指标,并与 30 例体检健康者作比较,分析血清和尿液中 NGAL 的变化以及与其他肾脏指标的相关性。**结果** CKD3 期组血、尿 NGAL 与健康对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$); CKD3 期患者血清 NGAL 与 GFR 呈负相关,线性方程为 $y = -0.204x + 26.869$, $r = -0.204$, $P < 0.05$; 尿液 NGAL 与 GFR 亦呈负相关,线性方程为 $y = -0.072x + 7.615$, $r = -0.072$, $P < 0.05$ 。CKD3 期患者血清 NGAL 与血清白蛋白呈负相关,线性方程为 $y = -0.071x + 8.065$, $r = -0.071$, $P < 0.05$ 。此外,CKD3 期患者中 2 型糖尿病肾病患者的尿 NGAL 与其尿总蛋白/尿肌酐呈正相关,线性方程为 $y = 0.005x - 0.783$, $r = 0.005$, $P < 0.05$; 痛风性肾病患者的尿 NGAL 与尿 NAG 呈正相关,线性方程为 $y = 0.426x - 11.32$, $r = 0.426$, $P < 0.05$ 。**结论** 血、尿 NGAL 能够有效评价慢性肾脏病的肾损伤程度及其进展预后。

关键词 中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白 慢性肾脏病 3 期 2 型糖尿病肾病 痛风性肾病

中图分类号 R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.10.023

Expression and Significance of Serum and Urine NGAL in Chronic Kidney Disease 3 Period. Ni Jianing, Cai Xudong, Wei Sheng, et al. Department of Nephrology, Ningbo Municipal Hospital of TCM, Zhejiang 315000, China

Abstract **Objective** To explore the expression and significance of serum and urine neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in chronic kidney disease (CKD) 3 period. **Methods** Eighty cases of patients with CKD 3 period were selected and 30 healthy subjects were as control. NGAL in serum and urine was detected by ELISA. The level of urinary protein, urinary N-acetyl- β -D-grape glycosides (NAG), glomerular filtration rate (GFR), and serum albumin was also detected. Change in serum NGAL and urine NGAL between two groups was observed, and relevance with other kidney indicators was analyzed. **Results** Serum NGAL and urine NGAL in CKD 3 period both were higher than those in healthy group, and the difference was significant ($P < 0.05$). In CKD 3 period group, level of serum NGAL was negatively correlated with GFR (linear equation: $y = -0.204x + 26.869$, $r = -0.204$, $P < 0.05$), level of urinary NGAL was also negatively correlated with GFR (linear equation: $y = -0.072x + 7.615$, $r = -0.072$, $P < 0.05$). Besides, in CKD 3 period patients with type 2 diabetic nephropathy, level of urinary NGAL was positively correlated with urinary protein/creatinine ratio (linear equation: $y = 0.005x - 0.783$, $r = 0.005$, $P < 0.05$). While in CKD 3 period patients with gout nephropathy, level of urinary NGAL was positively correlated with urinary NAG (linear equation: $y = 0.426x - 11.32$, $r = 0.426$, $P < 0.05$). **Conclusion** Serum NGAL and urinary NGAL could be used to effectively evaluate chronic kidney injury and progress.

Key words Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Chronic kidney disease 3 period; Type 2 diabetic nephropathy; Gout nephropathy

据中国首次大型慢性肾脏病(CKD)流行病学调查表明,截至 2012 年 3 月中国 18 岁以上的成年人人群中 CKD 的发生率为 10.8%,而现有 CKD 患者已超过 1.2 亿例。调查结果同时显示,与罹患 CKD 的独立

相关因素包括高血压、糖尿病、高尿酸血症等多数为与不良生活方式有关的代谢性疾病,而往往在未得到及时诊疗的情况下最终发展至终末期肾病^[1]。因此 CKD 的筛查及早期诊疗已成为全球特别是发展中国家面临的公共卫生挑战。目前,传统的如血肌酐、尿素氮、尿蛋白等实验室指标已不能完全满足。NGAL 作为更为灵敏及有效反映急慢性肾病进展的可靠指标在国内外已渐渐被应用^[2]。本研究通过对健康人

基金项目:宁波市自然科学基金资助项目(2014A610207)

作者单位:315010 宁波市中医院肾内科

通讯作者:蔡旭东,电子邮箱:13777124877@163.com

群及 CKD3 期患者血、尿 NGAL 水平的观察,以及及尿蛋白、尿 NAG、GFR、血清白蛋白等多项临床指标的比较,来探讨血、尿 NGAL 在慢性肾脏病 3 期患者中的变化及意义。

对象与方法

1. 对象:选择笔者医院 2014 年 3 月~2015 年 9 月门诊及病房慢性肾脏疾病 CKD3 期患者 80 例,诊断标准符合美国 K/DOQI 指南制订的临床诊断标准^[3]。其中 2 型糖尿病肾病 26 例,痛风性肾病 25 例,慢性肾小球肾炎 29 例,男性 44 例,女性 36 例,患者年龄 25~75 岁,平均年龄 49.5 ± 10.4 岁。患有肿瘤、感染、严重心脑血管和肝脏等重大疾病的排除列入标准。选择 2014 年 3 月~2015 年 9 月来笔者医院行体检的健康人群 30 例,其中男性 16 例,女性 14 例,患者年龄 22~68 岁,平均年龄 46.2 ± 11.1 岁。无感染、无肿瘤、无肾脏相关疾病、无心力衰竭、无代谢性疾病、无结缔组织病及近 3 个月内无药物使用史。两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

2. 方法:(1)标本收集:空腹抽取受试者静脉血,室温放置 0.5h, 2000r/min 离心 5min,取血清于干净无菌 EP 管中, -20°C 冰箱低温保存。同时收集清晨清洁中段尿 5ml,置于无菌试管中,静置 10min 后取上层尿液置于干净无菌 EP 管中, -20°C 低温保存。(2)检测方法:血、尿 NGAL 检测均采用 ELISA 法,该试剂盒购自于美国 TSZ 公司。实验步骤严格按照试剂盒说明书操作。根据所得标准吸光度值,按标准曲线($y = 0.119x + 0.301, r^2 = 0.930$)得出各标本相对应的 NGAL 浓度。肾小球滤过率计算采用标准 MDRD 公式。

3. 统计学方法:应用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理,数值以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间的关系用线性相关分析,组间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

CKD3 期组血、尿 NGAL 水平与健康对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。CKD3 期

患者中 GFR 的水平为 $42.2 \pm 5.1\text{ml/min}$,将其与该组中血清及尿液 NGAL 水平进行相关性分析发现,血清 NGAL 与 GFR 呈负相关,线性方程为 $y = -0.204x + 26.869, r = -0.204, P < 0.05$;尿液 NGAL 与 GFR 亦呈负相关,线性方程为 $y = -0.072x + 7.615, r = -0.072, P < 0.05$ 。CKD3 期患者中血清白蛋白为 $39.02 \pm 2.89\text{g/L}$,将其与该组中血清 NGAL 水平进行相关性分析,得出:血清 NGAL 与血清白蛋白呈负相关,线性方程为 $y = -0.071x + 8.065, r = -0.071, P < 0.05$ 。

将 CKD3 期患者中 2 型糖尿病肾病患者及痛风性肾病患者的尿 NGAL 与其相应的尿总蛋白/尿肌酐及尿 NAG 做相关性分析。分析表明:CKD3 期患者中 2 型糖尿病肾病患者的尿 NGAL 与其尿总蛋白/尿肌酐呈正相关,线性方程为 $y = 0.005x - 0.783, r = 0.005, P < 0.05$;与尿 NAG 无明显相关性。痛风性肾病患者的尿 NGAL 与尿 NAG 呈正相关,线性方程为 $y = 0.426x - 11.32, r = 0.426, P < 0.05$;与尿总蛋白/尿肌酐无明显相关性。慢性肾小球肾炎患者的尿 NGAL 与尿 NAG、尿总蛋白/尿肌酐均无明显相关性。

讨 论

近年来,国内外多项研究表明,NGAL 可作为有效精准的反映慢性肾病进展的独立可靠指标,血清及尿液 NGAL 的水平均与 GFR 存在显著的负相关,且效果优于检测血清肌酐的水平。NGAL 是 lipocalin 家族的成员,是 Kjeldsen 等^[4]1993 年在激活中性粒细胞 s 胞中发现的一种低分子质量分泌性蛋白。既往有研究者将肾功能及各项相关指标均稳定的尚未进展至终末期的 96 例符合纳入标准的患者作为观察对象,随访 20 个月后将慢性肾病进展者和非进展者的血、尿 NGAL 进行比较,发现存在显著差异,同时经过 Kaplan - Meier 生存曲线分析得出血 NGAL 水平达到 435ng/ml,尿 NGAL 水平达到 231ng/ml 时,其患者进展至终末期肾病的速度更有显著意义,证实血尿 NGAL 水平可作为预测慢性肾脏疾病进展的独立可靠指标之一^[5]。

本实验通过对 CKD3 期患者的血清、尿 NGAL 的测定,以及证实其较健康对照组存在明显差异,从而证明血、尿 NGAL 水平能够有效灵敏地反映出患者肾脏功能的损伤。而在进一步的相关性比较中,笔者发现其与 GFR 水平呈负相关,该结果也是对同类型研究的样本量的补充,更有效证明血、尿 NGAL 与 GFR

表 1 CKD3 期组与健康对照组血、尿 NGAL 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	血清 NGAL($\mu\text{g/L}$)	尿 NGAL($\mu\text{g/L}$)
健康对照组	5.33 ± 0.62	0.52 ± 0.08
CKD3 期组	$18.25 \pm 1.23^*$	$5.10 \pm 0.52^*$

与健康对照组比较, $^*P < 0.05$

一样能准确判断检测出慢性肾脏病患者肾脏功能丢失的程度。

此外,本实验还将血 NGAL 与血清白蛋白进行相关性分析,得出二者具有负相关性。大量研究证实血清白蛋白水平即便是轻微降低,也会显著增加 CKD 患者的死亡风险,更低的血清白蛋白预示着更高的病死率^[6]。2008 年国际肾脏营养与代谢学会专家组提出采用“蛋白质-能量消耗 (protein-energy wasting, PEW)”来命名 CKD 伴随的机体蛋白质能量储备降低的“营养不良”状态,并制定了相关诊断标准,包括从生化指标(如白蛋白、胆固醇等)、非预期的身体质量降低(如 BMI)、肌肉量丢失、饮食蛋白质和(或)热量摄入不足等来进行评估判断^[7]。引起 PEW 的病理生理机制尚未十分明确,初步认为与 CKD 伴随的厌食、胃肠道功能障碍、代谢性酸中毒、胰岛素抵抗、高血管紧张素 II 水平、神经内分泌系统紊乱、系统性微炎性状态等相关,尤其在 CKD 患者肾功能进展性下降中所继发的蛋白质异常分解代谢是机体表现为 PEW 的主因^[8,9]。因此当国内外专家意识到 PEW 的发生与慢性肾脏病患者的预后密切相关时,近年来其放宽了 PEW 的诊断标准,提出满足上述 4 项中的任何 1 项,即考虑有 PEW。而血清白蛋白作为便捷稳定的生化指标无疑是最直接的评价方式。本研究中证实血 NGAL 与血清白蛋白存在负相关,则间接反映出血 NGAL 对慢性肾脏病患者的预后存在有效的意义,也从另一角度证明既往研究指出的血 NGAL 水平可作为预测慢性肾脏疾病进展的独立可靠指标。

蛋白尿是多种肾脏疾病共同的临床表现,是肾小球损伤传统的标志物,是判断慢性肾脏疾病进展和预后的重要指标^[10]。2 型糖尿病肾病患者一旦进展至临床蛋白尿期,其尿蛋白水平是肾病进展的较为直接的独立危险因素^[11]。既往研究表明,尿 NGAL 随着尿蛋白水平的升高而增加,且尿蛋白量与尿 NGAL 之间存在相关性,在糖尿病肾病组患者中,尿蛋白水平亦是尿 NGAL 的相关因素^[12]。因此本实验还对 2 型糖尿病肾病患者的尿 NGAL 水平与其尿总蛋白/尿肌酐进行相关性分析,结果表明二者存在正相关,因此笔者考虑尿 NGAL 亦可预示 2 型糖尿病肾病的进展情况。而 2 型糖尿病肾病患者的尿 NGAL 水平与尿 NAG 无明显相关性,该结果有待于进一步开展针对性的研究。

痛风性肾病现普遍认为其对肾脏的损伤主要存

在于小管间质。其致病的一般机制被认为是高尿酸盐沉积肾小管上皮细胞内,通过经典或旁路途径,致肾脏纤维化,引起肾衰竭。而近来又有研究指出,高尿酸可通过抑制 NO 产生和刺激内皮细胞增生以导致肾血管内皮细胞损伤,此外高尿酸可刺激肾素-血管紧张素(RAS)系统和环氧合酶-2(COX-2)系统诱导高血压和肾小球肥厚,产生严重的肾小球血管病变,最终导致更严重的肾小管间质损害。而尿 NAG 酶主要分布在肾皮质近曲小管上皮细胞中,大量研究公认其在临床上可作为诊断早期肾损伤尤其是肾小管损伤的敏感、可靠的指标^[13]。另一方面,NGAL 是肾小管损伤后早期出现的敏感指标,肾小管上皮细胞受到损伤性刺激后会大量分泌 NGAL,可诱导肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡以保护肾组织免受炎细胞的侵害。因此本实验将尿 NGAL 水平与其尿 NAG 进行相关性分析,结果表明二者存在正相关,说明尿 NGAL 与尿 NAG 一样可作为在诊断痛风肾损伤中敏感、可靠的指标。而 CKD3 期痛风肾患者早期肾小球损伤较轻,尿蛋白多为阴性或轻度蛋白尿,故该类患者的尿 NGAL 与尿总蛋白/尿肌酐无明显相关性。

综上所述,血、尿 NGAL 作为新型的指标,不仅可作为慢性肾脏损伤程度的评估指标,同时也能有效精准预测慢性肾脏疾病的进展。因此针对该指标开展进一步的临床研究及应用对于 CKD 的早期诊断及预后具有重要的意义。

参考文献

- 1 张路霞,王海燕.中国慢性肾脏病的现状及挑战——来自中国慢性肾脏病流行病学调查的启示[J].中华内科杂志,2012,51(7):497-498
- 2 薛志强,童俊容.慢性肾脏疾病血清和尿液 NGAL 的改变及其临床意义[J].中国中西医结合肾病杂志,2010,11(5):440-441
- 3 王海燕.慢性肾脏病及透析的临床实践指南[M].北京:人民卫生出版社,2003:13
- 4 Kjeldsen L, Johnsen A H, Sengulov H, *et al.* Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase [J]. J Biol Chem, 1993,268(14):10425-10432
- 5 Davide Bolignano, Antonio Lacquaniti, G Coppolino, *et al.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009,4(2):337-344
- 6 Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, Kuwae N, *et al.* Revisiting mortality predictability of serum albumin in the dialysis population: time dependency, longitudinal changes and population-attributable fraction [J]. Nephrol Dial Transplant, 2005,20(9):1880-1888

(转第 94 页)

儿的低补体血症^[13]。此外,高黏滞血症也可能是导致过敏性紫癜合并心脏损害的原因之一^[14,15]。

本组 141 例合并心脏损害的患儿中,单纯皮肤型 10 例(7.1%),混合型 131(92.9%),其中又以腹型紫癜合并心肌损害最常见(61.1%)。可见受累脏器越多,异常变态反应越广,累及心脏损害的机会越大。严重的消化道出血、肾炎氮质血症等,可引起机体的代谢紊乱,从而出现酸碱平衡失调,电解质紊乱,代谢产物潴留等,这些因素亦可加重心脏损害^[16]。有研究表明,过敏性紫癜患儿心电图异常改变与受累脏器多少有较明显的关系,但心肌酶谱异常,与受累脏器多少无明显关联^[17]。本研究结果显示,单纯型与混合型两组心肌酶谱比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),与上述研究相符合(表 2)。

表 2 两组患儿心肌酶谱比较 [$n(\%)$]

分型	心肌酶谱正常	心肌酶谱异常
单纯型	10	0
混合型	122	9

$$\chi^2 = 0.734, P = 0.392$$

根据相关文献报道,过敏性紫癜合并心脏损害的发生率为 13%~45%。本组病例心肌损害的发生率为 39.4%。141 例患儿中 86 例(61%)心电图异常发生于过敏性紫癜发病 2 周内,121 例(85.8%)经治疗 2 周后心电图恢复正常。可见心肌损害多发生于过敏性紫癜病变早期,且经积极治疗后心脏病变恢复较快,仅少数病例需短时间使用抗心律失常药物治疗。

总之,小儿过敏性紫癜合并心肌损害临床常见,心脏症状轻微,以心电图异常为心肌受损主要证据。经积极治疗后,短期内多可恢复,严重心肌病变少见,预后好,故过敏性紫癜患儿应注意动态观察心电图变化,及时发现并给予有效治疗。

参考文献

- 胡海玉,鹿玲. 过敏性紫癜患儿与反复的危险因素分析[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(1):1663-1665
- 赵雪然,董凤群. 小儿过敏性紫癜的心电图改变及其临床意义[J]. 临床荟萃,2014,29(9):1042-1043
- Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, *et al.* EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood takayasu arteritis; Ankara 2008. Part II: final classification criteria[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(5):798-806
- 赵翠霞. 36 例儿童过敏性紫癜并发心肌损害的临床观察[J]. 中国实用医药,2011,6(34):71-72
- 梁翊常. 实用小儿心电图学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1998:20-55
- 袁芳,金燕樑. 儿童过敏性紫癜研究进展[J]. 临床儿科杂志,2013,31(3):287-287
- 唐雪梅. 过敏性紫癜病因及免疫发病机制[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(21):1634-1636
- 曾萍,曾华松. 过敏性紫癜的诊断与治疗[J]. 实用儿科临床杂志,2010,25(9):625-625
- 刘红芳,谢良琴,阳亮,等. 41 例过敏性紫癜伴心脏受累患儿的心电图表现[J]. 赣南医学院学报,2013,33(6):888-889
- 李刚,张贺,张彦. 儿童过敏性紫癜罕见症状 110 例临床分析[J]. 中国医药指南,2010,8(7):5-6
- 陈辉. 儿童过敏性紫癜合并心肌损害 76 例分析[J]. 当代医学,2012,18(13):103-104
- 王玉芬,董伟民. 过敏性紫癜患儿血小板参数和免疫球蛋白测定结果分析[J]. 现代医学,2009,37(2):143-144
- Polizzotto MN, Gibbs SD, Beswich W, *et al.* Cardiac involvement in Henoch-Schönlein purpura[J]. Inter Med J, 2006,36(5):328-328
- 郭山春,王亚利,丁晓辉. 小儿过敏性紫癜心脏损害的研究进展[J]. 现代医学,2011,39(2):251-253
- 赵红立,秦立波. 儿童过敏性紫癜合并心肌损害 46 例临床分析[J]. 中国医疗前沿,2010,5(21):60
- 冯玉丽,王晓忠,李秀玉,等. 心肌酶谱分析对小儿过敏性紫癜的临床意义[J]. 检验医学与临床,2011,8(3):264-266
- 陈果. 对 80 例过敏性紫癜患儿心电图及心肌酶检测指标的分析[J]. 当代医药论丛,2014,12(7):152-153

(收稿日期:2015-07-10)

(修回日期:2015-07-20)

(上接第 91 页)

- Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J, *et al.* A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease[J]. Kidney Int, 2008,73(4):391-398
- Bonanni A, Mannucci I, Verzola D, *et al.* Protein-energy wasting and mortality in chronic kidney disease[J]. Int J Environ Res Public Health, 2011,8(5):1631-1654
- Mitch WE. Malnutrition is an unusual cause of decreased muscle mass in chronic kidney disease[J]. J Ren Nutr, 2007,17(1):66-69
- Abbate M, Zoja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage[J]. J Am Soc Nephrol, 2006,17(11):2974-

2984

- Keane WF, Brenner BM, Dick DZ, *et al.* The risk of developing end stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy: the RENAAL study[J]. Kidney Int, 2003,63(4):1499-1506
- 施璇. NGAL 与 CKD 患者肾功能和蛋白尿相关关系研究[D]. 南京:东南大学,2011
- 刘涛,田少江,沈建明,等. 联合尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶和血半胱氨酸蛋白酶抑制 c 检测在糖尿病肾病早期诊断中的意义[J]. 中国医师进修杂志,2010,33(7):22-24

(收稿日期:2016-03-17)

(修回日期:2016-04-01)