

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.16.015

尿液标志物联合检测对狼疮肾炎小管间质损伤的预测价值

李 鑫¹, 陈雪雯²

1. 天津市南开区三潭医院检验科, 天津 300193; 2. 天津市中医药研究院附属医院检验科, 天津 300120

摘要:目的 评估尿液肾损伤因子 1(KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)对狼疮肾炎(LN),特别是肾小管间质损伤的临床价值。方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 LN 患者尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平,评估其与临床及病理特征的相关性,采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析其诊断效能。结果 活动期 LN 患者 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平显著高于恢复期患者及健康对照组($P < 0.05$);尿液 KIM、NGAL 与 eGFR、血清肌酐、尿蛋白呈正相关(均 $P < 0.05$);患者的临床表现不同,尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平的升高程度不同;尿液 KIM 水平与活动性指数 AI、细胞性新月体、毛细血管内细胞增生、小管萎缩呈正相关($P < 0.05$);尿液 NGAL/MCP-1 水平与细胞性新月体呈正相关($P < 0.05$);活动性肾小管间质损伤患者的尿液 KIM-1、MCP-1 水平显著高于慢性肾间质损伤患者($P < 0.05$);同时伴有活动性与慢性肾小管间质损伤的患者尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平显著高于仅有慢性肾小管间质损伤的患者($P < 0.05$)。ROC 曲线分析表明,3 种指标联合检测可较好地预测活动性肾小管间质损伤。结论 尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 联合检测在预测肾间质损伤方面有较好的临床价值。

关键词:狼疮肾炎; 尿肾损伤因子 1; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 单核细胞趋化蛋白 1; 肾小管间质损伤

中图法分类号:R593.24;R692.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)16-2358-04

Predictive value of combined detection of urine markers for tubulointerstitial injury in lupus nephritis

LI Xin¹, CHEN Xuewen²

1. Department of Clinical Laboratory, Santan Hospital of Nankai District, Tianjin 300193, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300120, China

Abstract: Objective To evaluate the clinical value of urinary renal injury factor-1 (KIM-1), neutrophil gelatinase related lipid delivery protein (NGAL), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in lupus nephritis (LN), especially tubules interstitial injury. **Methods** The levels of KIM-1, NGAL and MCP-1 in urine of LN patients were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The correlation with clinical and pathological features was evaluated, and the diagnostic efficacy was evaluated by receiver operating characteristic curve (ROC curve). **Results** The levels of KIM-1, NGAL and MCP-1 in active LN patients were significantly higher than those in convalescent LN patients and healthy controls ($P < 0.05$). The levels of urine KIM-1, NGAL and MCP-1 were positively correlated with eGFR, SCr and urine protein ($P < 0.05$). Urine KIM level was significantly correlated with AI score, cellular crescents, endocapillary hypercellularity, tubular atrophy ($P < 0.05$), urine NGAL and MCP-1 level were significantly correlated with cellular crescents ($P < 0.05$). The levels of KIM-1 and MCP-1 in urine of patients with active tubulointerstitial injury were significantly higher than those of patients with chronic tubulointerstitial injury ($P < 0.05$). The levels of KIM-1, NGAL and MCP-1 in urine of patients with both active and chronic tubulointerstitial lesions were significantly higher than those with only chronic tubulointerstitial lesions ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the combined detection of the three indicators can better predict active tubulointerstitial injury. **Conclusion** Urine KIM-1, NGAL, MCP-1 combined detection has good clinical value in predicting renal interstitial injury.

Key words: lupus nephritis; urine kidney injury factor-1; neutrophil gelatinase-associated lipocalin; monocyte chemoattractant protein-1; tubular interstitial injury

作者简介:李鑫,女,主管技师,主要从事临床检验研究。

本文引用格式:李鑫,陈雪雯.尿液标志物联合检测对狼疮肾炎小管间质损伤的预测价值[J].检验医学与临床,2021,18(16):2358-2361.

系统性红斑狼疮(SLE)是全身多个脏器系统受累的自身免疫性疾病,病因复杂,临床表现多样,狼疮肾炎(LN)是 SLE 最常见且严重的临床表现之一,25%的 SLE 患者以肾脏受累为首发症状,肾脏受累及进行性肾损伤仍是 SLE 患者死亡的主要原因^[1]。目前,肾活检是诊断 LN、判断疾病活动度和严重程度的重要手段,但该方法具有创伤性,不可在临床上进行连续性及重复性检测。若能通过尿液无创检测生物标志物,将有利于患者临床药物的治疗。近年来,LN 患者的肾小管间质损伤备受关注,其发生率在 LN 患者中非常高,同时,肾小管极有可能是 LN 的病理损伤原始组织,是 LN 重要的独立参与者^[2]。因此,寻找反映 LN 患者疾病状态,特别是肾小管损伤的指标意义重大,本文对 LN 患者尿液中的肾损伤因子 1(KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关性脂质运载蛋白(NGAL)、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)进行检测,分析 3 种指标与肾小管间质损伤的相关性,评估其对 LN,特别是肾小管间质损伤的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择天津市南开区三潭区医院 2014 年 6 月至 2019 年 8 月门诊和住院活动期 LN 患者 56 例为研究对象(活动期组),均符合 SLE 国际合作临床组织提出的分类标准^[3]。LN 诊断标准:确诊为 SLE 的患者,经肾活检病理证实。LN 患者男性 7 例,女性 49 例;平均年龄(36.0±7.3)岁。选择同期天津市南开区三潭区医院体检健康者 30 例为健康对照组,男性 3 例,女性 27 例;平均年龄(35.1±7.24)岁。恢复期组患者 30 例,男性 2 例,女性 28 例;平均年龄(39.1±9.44)岁,纳入标准:确诊为 LN,治疗后尿蛋白正常(尿蛋白定量<0.5 g/24 h 或尿蛋白/肌酐比值<500 mg/g 或<50 mg/mmol),无活动性尿沉渣,血清清蛋白≥35 g/L,血清肌酐正常或不高于基础值的 10%。活动期组、健康对照组、恢复期组研究对象在年龄、性别上,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 清晨取中段尿于无菌管,2 500 r/min 离心 10 min,取上清液分装于 EP 管中,于-80℃冻存待测。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1(安迪生物,美国)水平。

1.3 仪器与试剂 空腹采静脉血 3 mL,1 500 r/min 离心 15 min,血清于-80℃放置待测。采用间接免疫荧光法检测血清抗核抗体(ANA),抗双链 DNA 抗体(抗 dsDNA)IgG 抗体(欧蒙实验诊断试剂公司,德国)。采用免疫散射比浊法检测补体 C3 水平(西门子股份公司,德国),采用苦味酸法检测肌酐水平(北京万泰德瑞诊断技术有限公司),并估算肾小球滤过率(eGFR)。活动期 LN 患者采取俯卧位,在超声引导

下进行经皮肾穿刺活检,进行光镜及免疫荧光检查,同时完善电镜检查。肾小管间质病变严格按照国际肾脏病协会及肾脏病理学会(2003 年修订)的评分标准^[4]进行以下 4 个项目的评分:间质炎细胞浸润;肾小管萎缩;间质纤维化;肾小管上皮细胞变性程度(包括上皮细胞颗粒变性及空泡变性)。狼疮肾炎的病理活动采用 Austin 评分,主要包括肾小球病变慢性病变指数:纤维性新月体、肾小球球性硬化、肾小管萎缩、间质纤维化;活动性指数:毛细血管内细胞增生、细胞性新月体形成、核碎裂/纤维素样坏死等。

1.4 统计学处理 采用 SPSS12.0 统计软件对检测数据进行统计学分析,计量资料符合正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,两变量间的相关性研究采用 Spearman 相关分析,诊断效能评价采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 活动期患者临床表现与实验室指标结果 56 例患者中,急性肾衰竭患者 14(25.0%)例,肾病综合征 33(58.9%)例,血尿患者 48(85.7%)例,非感染性蛋白尿患者 31(55.4%)例。抗 dsDNA 阳性 41(73.2%)例,ANA 阳性为 55(98.2%)例。尿蛋白水平为(10.22±3.13)g/24 h,血红蛋白水平为(100.59±26.39)g/L,血清肌酐水平为(301±41) μ mol/L,补体 C3 水平为(0.46±0.12)g/L。

2.2 3 组尿液 KIM、NGAL、MCP-1 水平比较 活动期组 LN 患者尿液 KIM、NGAL、MCP-1 水平显著高于恢复期组患者及健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);恢复期组患者与健康对照组比较,3 种指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 3 组尿液 KIM、NGAL、MCP-1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	KIM-1 (ng/mg Cr)	NGAL (ng/mg Cr)	MCP-1 (pg/mg Cr)
活动期组	56	0.97±0.32	2.36±1.02	0.43±0.17
恢复期组	30	0.44±0.18	1.66±0.80	0.18±0.01
健康对照组	30	0.40±0.15	1.58±0.81	0.16±0.01

2.3 活动期组患者尿液指标与临床相关特征及其他指标的相关性 活动期组患者尿液 KIM、NGAL、MCP-1 与 eGFR 及血清肌酐呈正相关($P<0.05$),尿液 KIM、NGAL 与尿蛋白呈正相关($P<0.05$)。见表 2。

2.4 不同临床表现患者 3 种尿液指标的水平比较 急性肾衰竭、肾病综合征及血尿患者尿 KIM-1 水平高于无上述症状患者($P<0.05$);肾病综合征、非感染性蛋白尿患者的尿 NGAL 高于无该症状患者($P<$

0.05);急性肾衰竭、非感染性蛋白尿患者的尿 MCP-1 高于无该症状患者($P<0.05$)。见表 3。

表 2 活动期组患者尿液指标与临床相关特征及其他指标的相关系数(r)

指标	KIM-1	NGAL	MCP-1
年龄	-0.048	-0.105	-0.057
性别	0.087	0.112	0.044
血肌酐	0.291 ^a	0.251 ^a	0.322 ^a
尿蛋白	0.439 ^a	0.322 ^a	0.191
eGFR	-0.300 ^a	-0.266 ^a	-0.323 ^a

注:^a $P<0.05$ 。

表 3 不同临床表现患者 3 种尿液指标的水平比较($\bar{x}\pm s$)

临床表现	项目	KIM-1 (ng/mg Cr)	NGAL (ng/mg Cr)	MCP-1 (pg/mg Cr)
急性肾衰竭	是	1.02±0.46 ^a	2.36±1.11	0.42±0.12 ^a
	否	0.51±0.18	1.69±0.77	0.19±0.06
肾病综合征	是	0.89±0.37 ^a	2.45±1.03 ^a	0.25±0.03
	否	0.30±0.05	0.91±0.40	0.13±0.05
血尿	是	0.59±0.19 ^a	1.90±0.67	0.22±0.03
	否	0.24±0.11	1.91±0.57	0.16±0.06
非感染性蛋白尿	是	0.61±0.21	2.44±1.09 ^a	0.29±0.05 ^a
	否	0.58±0.19	1.23±0.56	0.19±0.07

注:与对应项目比较,^a $P<0.05$ 。

2.5 活动期组患者尿液指标与病理特征的相关性
尿液 KIM-1 与活动性指数、细胞性新月体、毛细血管内细胞增生、小管萎缩呈正相关($P<0.05$);尿液 NGAL 与 MCP-1 水平、细胞性新月体呈正相关($P<0.05$)。见表 4。

表 4 活动期组患者尿液指标与病理特征的相关系数(r)

指标	KIM-1	NGAL	MCP-1
活动性指数	0.227 ^a	0.134	0.144
慢性化指数	0.104	0.131	0.044
细胞性新月体	0.356 ^a	0.268 ^a	0.254 ^a
纤维性新月体	0.019	0.033	0.031
毛细血管内细胞增生	0.238 ^a	0.113	0.109
核碎裂/纤维素样坏死	-0.033	-0.104	-0.122
间质炎症细胞浸润	0.167	0.183	0.151
小管萎缩	0.208 ^a	0.160	0.112
间质纤维化	0.155	0.126	0.103
肾小球硬化	-0.050	0.000	0.124

注:^a $P<0.05$ 。

2.6 具有活动性或慢性肾小管间质损伤的 LN 患者 3 种尿液指标水平比较 根据活动期患者的病理特点,将患者分为 3 组。具有活动性肾小管间质损伤的

患者,其尿液 KIM-1、MCP-1 高于仅有慢性肾小管间质损伤的患者($P<0.05$);同时伴有活动性与慢性肾小管间质损伤的患者,其尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平显著高于仅有慢性肾小管间质损伤的患者($P<0.05$)。同时伴有活动性与慢性肾小管间质损伤的患者与仅有活动性肾小管间质损伤的患者之间未见显著性差异($P>0.05$)。见表 5。

表 5 具有活动性或慢性肾小管间质损伤的 LN 患者的 3 种尿液指标水平比较($\bar{x}\pm s$)

病理特征	n	KIM-1 (ng/mg Cr)	NGAL (ng/mg Cr)	MCP-1 (pg/mg Cr)
活动性肾小管间质损伤	30	0.89±0.31 ^a	2.21±1.02	0.42±0.14 ^a
活动性与慢性肾小管间质损伤并存	16	1.17±0.59 ^a	2.66±1.09	0.51±0.14 ^a
慢性肾小管间质损伤	10	0.45±0.18	1.67±0.57	0.17±0.07

注:与慢性肾小管间质损伤患者比较,^a $P<0.05$ 。

2.7 3 种尿液指标区分活动性与慢性肾小管间质损伤患者的 ROC 曲线分析 3 种指标单独或联合应用均可在一定程度上区分活动性和慢性肾小管间质损伤($P<0.05$),3 种指标联合具有较好的诊断效能,曲线下面积(AUC) >0.700 。见表 6。

表 6 3 种尿液指标区分活动性与慢性肾小管间质损伤患者的 AUC

指标	活动性肾小管间质损伤	慢性肾小管间质损伤
KIM	0.628	0.565
NGAL	0.619	0.544
MCP-1	0.647	0.521
KIM+NGAL	0.659	0.632
KIM+MCP-1	0.681	0.651
MCP-1+NGAL	0.667	0.611
KIM+MCP-1+NGAL	0.796	0.738

3 讨论

肾小管间质损伤在 LN 患者中很常见,而且是 LN 患者肾脏疾病转归的独立危险因素。血清肌酐、补体、尿蛋白等传统实验室指标对该损伤缺乏灵敏度及特异度。本研究探讨了各尿液指标单独及联合检测评估肾小管间质损伤的诊断价值。

KIM-1 是一种在肾小管上皮细胞表达的受体膜蛋白,在正常肾组织不表达,但是当肾小管上皮细胞发生损伤,如肾毒性急性肾损伤或急性缺血、再灌注损伤,KIM-1 早期就会出现明显的表达增强。而且,KIM-1 水平的检测针对急性肾损伤具有一定的诊断和辅助判断预后的价值^[5]。NGAL 是脂蛋白家族的成员,在肾组织损伤中发挥一定作用,其在中性粒细

胞、肾小管上皮细胞、支气管上皮黏液细胞等中低表达,但在受损上皮细胞中表达显著升高。有研究表明,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症细胞的侵害,同时,NGAL 可诱导肾间充质细胞向肾小管上皮细胞转化,从而诱导肾小管上皮细胞再生^[6]。MCP-1 是单核-吞噬细胞趋化因子,主要由浸润的单核-吞噬细胞、血管平滑肌细胞等在各种细胞因子、理化作用下合成和分泌,是肾脏表达最广泛的趋化因子,研究表明,MCP-1 在系统性红斑狼疮肾损伤中起重要作用^[7]。

本研究结果显示,活动性 LN 患者 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平显著升高,恢复期降低,与蛋白尿、血尿、非感染性蛋白尿、血清肌酐等相关。虽然尿蛋白目前仍是评估 LN 治疗的主要尿液指标,但 KIM-1、NGAL、MCP-1 可能更有效,因为其能更直接地反映原位损伤。且有研究表明,KIM-1、NGAL、MCP-1 在 LN 活动期增高,有效免疫抑制治疗后会降低,且早于传统的尿蛋白、血清肌酐等指标,能够更及时地监测 LN 活动度。

间质纤维化、小管萎缩、间质炎症细胞浸润严重的 LN 患者,其尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 水平增高,故上述尿液指标在一定程度上与 LN 肾间质损伤相关。本研究中,尿液 KIM-1 水平与肾小管萎缩显著相关,并在间质炎症患者中显著升高,这与 NOZAKI 等^[8]研究结果一致。尿液 KIM-1、MCP-1 水平在活动性肾小管间质损伤患者中升高,在只有慢性肾小管间质损伤患者中降低。ROC 曲线分析表明,3 种指标单独诊断肾小管间质损伤的 AUC 低于 0.700,但 3 种指标联合检测可将 AUC 提升至 0.700 以上。因不同指标反应不同的损伤机制,且多种组织特征共存于同一患者的病理标本中,故联合检测可提高诊断效能。不同指标的诱导机制不同,且升高的时间段不同。有研究表明,急性肾衰竭患者尿液 NGAL 最早升高,其次是 KIM-1,故联合检测可使 3 种指标在时间上互补^[9]。

综上所述,尿液 KIM-1、NGAL、MCP-1 与 LN 肾损伤指标相关,其联合检测在预测肾间质损伤方面有

较好的临床价值。

参考文献

- [1] MENEZ S P, EL ESSAWY B, ATTA M G. Lupus nephritis: current treatment paradigm and unmet needs[J]. Rev Recent Clin Trials, 2018, 13(2): 105-113.
- [2] PETRI M, ORBAI A M, ALARCÓN G S, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(8): 2677-2686.
- [3] YANG N, LI L. Tubulointerstitial lesions converted into lupus nephritis[J]. Clin Case Rep, 2019, 8(3): 411-415.
- [4] YU F, WU L, TAN Y, et al. Tubulointerstitial lesions of patients with lupus nephritis classified by the 2003 international society of nephrology and renal pathology society system[J]. Kidney Int, 2010, 77(9): 820-829.
- [5] ZHAO W T, HUANG J W, SUN P P, et al. Diagnostic roles of urinary kidney injury molecule 1 and soluble C5b-9 in acute tubulointerstitial nephritis[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2019, 317(3): 584-592.
- [6] KANCHI M, MANJUNATH R, MASSEN J, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for predicting acute kidney injury during off-pump coronary artery bypass grafting[J]. Ann Card Anaesth, 2017, 20(3): 297-302.
- [7] GUPTA R, YADAV A, AGGARWAL A. Longitudinal assessment of monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis as a biomarker of disease activity[J]. Clin Rheumatol, 2016, 35(11): 2707-2714.
- [8] NOZAKI Y, KINOSHITA K, YANO T, et al. Estimation of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in patients with lupus nephritis[J]. Lupus, 2014, 23(8): 769-777.
- [9] BELLOS I, FITROU G, DASKALAKIS G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as predictor of acute kidney injury in neonates with perinatal asphyxia: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Pediatr, 2018, 177(10): 1425-1434.

(收稿日期:2020-09-16 修回日期:2021-04-10)