

综 述

急性肾损伤早期生物学标志物的研究现状

周收平,王昌兵综述,顾 恒审校

【摘要】 急性肾损伤(AKI)是由各种原因引起的短时间内肾功能急剧下降而出现的临床综合征,其概念是由急性肾衰竭(ARF)演变而来。由于 AKI 的诊断标准缺乏特异性和敏感性,所以,许多新型的 AKI 早期标志物引起研究者的重视,如中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、肾损伤因子 1(KIM-1)、白细胞介素-18(IL-18)、肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)等。文章就几种标志物的生物学功能、研究现状及应用前景进行综述。

【关键词】 急性肾损伤;生物学标志物;诊断

【中图分类号】 R692 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2018)02-0168-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.02.014

0 引 言

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的诊断标准为肾功能在 48 h 内突然减退,血清肌酐绝对值升高 ≥ 0.3 mg/dL (26.5 μ mol/L),或 7 d 内血肌酐增至 ≥ 1.5 倍基础值,或尿量 <0.5 mL/(kg·h),持续时间 >6 h^[1-2]。AKI 在临床中具有发病率高、死亡率高和预后差等特点,据统计,AKI 的发病率高达 5%,住院患者中约 5%可发生 AKI,ICU 患者死于 AKI 达到 50%~80%,其中,重症患者预后往往较差,需要进行肾替代疗法治疗,而且容易进展为慢性肾病甚至终末期肾病^[3-4]。由于传统的 AKI 诊断指标缺乏特异性和敏感性,且易受到年龄、种族、药物等因素的影响,因此需要寻求更好的标志物来指导临床的诊治。现就几种标志物以不同的标准分类介绍如下。

1 蛋白类标志物

1.1 反映肾小管和集合管损伤的标志物

1.1.1 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL),属于 lipocalin 家族,是一种相对分子质量为 25000 的蛋白质。正常情况下,NGAL 在人体组织中浓度极低,在肾,主要分布于肾近曲小管上皮细胞中^[5]。有研

究表明,在肾受到炎症、缺血及肾毒物等因素刺激时,血液或尿液中的浓度会极度上升。Nickolas 等^[6]在一项前瞻性研究中纳入 1635 名住院患者,检测尿液中 NGAL、肾损伤因子 1(kidney injury molecule-1, KIM-1)、肝型脂肪酸结合蛋白(liver-type fatty acid-binding protein, L-FABP)、白细胞介素-18(interleukin 18, IL-18)、胱抑素 C(cystatin C)的浓度来预测 AKI 的发生,结果表明 NGAL 诊断 AKI 的价值最高,当截断值 104 ng/mL 时,其特异性和敏感性分别为 0.81 和 0.68,且肾损伤程度越重,NGAL 的浓度就越高。Cruz 等^[7]在对 ICU 301 例患者的研究当中,证实 NGAL 能够早期预测 AKI,且其浓度与 AKI 损伤程度相关。唐荣等^[8]研究发现,NGAL 在儿童心脏术后早期预测 AKI 中,尿 NGAL 2 h、6 h 明显升高,明显早于血肌酐,且单独预测术后 AKI 发生的 AUC 分别为 0.908 和 0.928,2 h 预测 AKI 的敏感性和特异性分别是 0.854 和 0.790,6 h 预测 AKI 的敏感性和特异性分别是 0.769 和 0.843。

1.1.2 KIM-1 KIM-1 是一种新型的 I 型跨膜蛋白,正常情况下在人体中极低微表达,在缺血或肾毒性肾损伤时,高表达于近曲小管上皮细胞中。石艳等^[9]在一项大鼠单侧输尿管结扎致 AKI 的研究中发现,在血肌酐、尿素氮等指标均无明显变化时,尿液中的 KIM-1 已经明显升高,并且呈时间依赖性。Sabbisetti 等^[10]研究表明,血液中的 KIM-1 也可作为 AKI 的早期标志物,他在小鼠缺血再灌注损伤致 AKI 实验中,通过检测血清中的 KIM-1 的浓度发现,在小鼠肾急性缺血后 10min,血清中 KIM-1 开始

作者单位:233000 蚌埠,蚌埠医学院附属解放军第一二五医院(非直属)泌尿外科(周收平、王昌兵、顾 恒)

通信作者:顾 恒, E-mail: laogergu@sina.com

升高,同样并指出,临床 AKI 患者血清中的 KIM-1 较正常人升高(AUC 为 0.96)。谷翠芝等^[11]在研究 AKI 患者 NGAL、KIM-1 与血肌酐的相关性中,监测不同程度下 AKI 患者 1 周内血肌酐、尿素氮、血清 NGAL 以及尿液中的 NGAL、KIM-1 的浓度,结果发现,这些指标均与血肌酐呈正相关,其相关系数(r)依次为血 NGAL(0.992)>尿 KIM-1(0.985)>尿 NGAL(0.876)>尿素氮(0.756),提出血清 NGAL 和尿 KIM-1 能够及时准确的反映肾功能的变化。罗亮等^[12]在一项临床研究中发现,急性呼吸窘迫综合征合并 AKI 患者中尿 KIM-1 的浓度明显高于非 AKI 患者,指出 KIM-1 可以作为 AKI 的诊断标志物。正是由于 KIM-1 在诊断 AKI 的重要性,KIM-1 得到了美国食品药品监督管理局和欧洲医药评价署的批准,认为可以用于药物致实验动物或人体肾损伤的评估^[13-14]。研究表明,KIM-1 虽不能鉴别 AKI 的病因,但可以在一定程度上反映 AKI 的严重程度,提示在今后的临床实验中,可以通过监测尿液中的 KIM-1 的浓度来预测 AKI 发生发展,从而积极采取干预措施^[15]。

1.1.3 IL-18 IL-18 是一种相对分子质量为 18 000 的促炎性细胞因子,在炎症、缺血再灌注损伤等导致的 AKI 时,IL-18 由受损的近端小管分泌,并随尿液排出,其尿液中的浓度不受泌尿系感染、慢性肾病等因素的影响^[16]。肖威等^[17]研究发现,在由药物致 AKI 的 57 名临床患者中,IL-18 的浓度较正常对照组明显升高,在诊断 AKI,其 AUC 为 0.81,且经过治疗后,IL-18 的浓度较之前明显降低,由此推断,IL-18 可以作为临床诊断 AKI 的有效标志物。然而 Lin 等^[18]在一项 Meta 分析中指出,尿 IL-18 在诊断 AKI 时的敏感性和特异性分别为 0.51 和 0.79,诊断 AKI 的 AUC 为 0.77,所以认为 IL-18 可以预测 AKI,但诊断价值有限。有研究表明,IL-18 在联合其他肾损伤标志物,其预测 AKI 的价值将更高^[19-20]。

1.1.4 L-FABP L-FABP 是一种相对分子质量为 14 000 的脂肪酸结合蛋白,常表达于肾、肝、小肠、肺等器官,在肾主要是分布在近曲小管,在缺血或药物致肾损伤时,L-FABP 的表达上升并随尿液排出体外。研究表明,相对于其他尿生物学标志物,尿 L-FABP 在早期肾损伤中也具有诊断价值^[21-24]。唐荣等^[8]在研究尿 L-FABP 对心脏术后 AKI 的早期诊断一文中指出,AKI 组患者在术后 2 h、6 h 尿液中的

L-FABP 明显高于非 AKI 组,且变化明显早于血肌酐,单独预测 AKI 发生的 AUC 分别是 0.921 和 0.896,联合尿 NGAL 时,其精确性会进一步提高。L-FABP 不仅可以作为 AKI 的早期诊断标志物,而且在肾缺血致 AKI 的过程中起到保护作用。其机制可能是在肾缺血缺氧的状态下,L-FABP 通过结合肾组织中不饱和脂肪酸和脂质过氧化产物(丙二醛和 4-羟基非烯醛),减少细胞的过氧化反应,使肾组织的损伤减轻^[25-26]。

1.1.5 钙卫蛋白 钙卫蛋白是由 S100A8 和 S100A9 2 个单体组成的相对分子质量为 24 000 的异构体,主要由中性粒细胞和单核细胞释放。钙卫蛋白已被证实与多种疾病相关,如溃疡性结肠炎、炎症性肠病、结直肠癌等。近年来钙卫蛋白被认为是 AKI 新型的诊断标志物,Fujiu 等^[27]在一项单侧输尿管结扎的小鼠实验中发现,S100A8、S100A9 表达于肾集合管上皮细胞中,其作用是诱导炎性细胞,促进肾损伤及炎症反应。在肾缺血再灌注损伤中,S100A8 和 S100A9 也发挥着重要的作用。Ebbing 等^[28]在对肾动脉结扎行肾癌切除术的研究中指出,尿钙卫蛋白浓度在术后 2 h 开始上升,48 h 达到高峰,增高了 69 倍,5d 后仍显著增高。不仅如此,尿钙卫蛋白还能够区分肾性 AKI 和肾前性 AKI。研究发现,肾性 AKI 尿钙卫蛋白浓度明显高于肾前性 AKI,其预测肾性 AKI 的准确性很高(AUC=0.97),当取截断值 300 ng/mL 时,其预测肾性 AKI 的敏感性和特异性分别是 0.923 和 0.971。且尿钙卫蛋白在鉴别肾性 AKI 和肾前性 AKI 比尿 NGAL、KIM-1 等更具有价值^[29-30]。

1.2 反映肾小球损伤的标志物

1.2.1 β_2 微球蛋白和尿总蛋白 正常生理状态下,肾小球毛细血管网只能滤过血浆中分子量很小的物质,当肾小球受到损伤时,尿液中可以出现蛋白质,其中包括 β_2 微球蛋白和尿总蛋白。在药物介导的肾损伤研究中发现,尿液中 β_2 微球蛋白和尿总蛋白在诊断肾损伤的 AUC 分别是 0.89 和 0.86,明显高于血清肌酐(0.53)和尿素氮(0.80)^[31]。

1.2.2 基质金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) 基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)是一种相对分子质量为 92 000 的 IV 型胶原蛋白酶,与肾小球损伤有关,MMP-9 能够破坏肾小球基底膜上的 IV 型胶原

蛋白,损伤血管内皮细胞。TIMP 是 MMP 的抑制剂,其中 TIMP-1 与 MMP-9 尤为突出,TIMP-1 不仅能结合无活性的 MMP-9,也能结合有活性的 MMP-9。在最新的一项研究中,Bojic 等^[32]对腹部外科手术后感染败血症并发 AKI 患者的研究表明,TIMP-1 的浓度明显升高,MMP-9/TIMP-1 比明显降低,提出了 TIMP-1 和 MMP-9/TIMP-1 是败血症并发 AKI 的早期诊断标志物。

2 核酸类标志物

MicroRNAs (miRNAs) 是一类由内源性基因编码的、长度约为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,近年来发现 miRNAs 在 AKI 中扮演着重要的角色。Lorenzen 等^[33]研究表明,miRNA-210 在 AKI 患者血清中升高,认为可以作为 AKI 的诊断标志物,且能够独立预测 AKI 患者 28d 内的死亡率。Zou 等^[34]用 miRNAs 微阵列分析法对小鼠肾缺血再灌注损伤后不同时间点尿液中的 miRNAs 进行了分析,结果表明多种 miRNAs 的表达发生了改变,其中 miRNA-30c-5p 和 miRNA-192-5p 的变化最显著,通过 PCR 技术发现 miRNA-192-5p 于 2h 后即达到高峰,miRNA-30c-5p 则于 2h 升高,6h 达到高峰。此外在心脏术后 AKI 患者的尿液中发现类似的结果,提示 miRNA-30c-5p 和 miRNA-192-5p 有望成为缺血再灌注型 AKI 早期诊断标志物。miRNAs 在 AKI 中的发现,有望从机制上解释 AKI,并为 AKI 患者提供个性化治疗。然而,miRNAs 种类繁多,在不同研究中,miRNAs 表达及变化趋势不尽相同,各种 miRNAs 之间是否存在相互联系,以及能否在不同病因致 AKI 中寻找特异性的 miRNA,将是关键。

3 其 他

除上述几种标志物外,Muramatsu 等^[35]在一项小鼠双侧肾缺血损伤研究中发现,损伤后 3h~6h 尿液中富含半胱氨酸蛋白 61 (cysteine-rich protein, cyr61) 出现升高,6h~9h 达高峰,但在 24h 后随时间推移迅速下降。然而,cyr61 受到特异性差、在检测样本中持续时间短、检测技术等因素的影响^[36]。类似的还有 Na⁺-H⁺交换体 3 (Na⁺-H⁺ exchanger isoform-3, NHE3)、视黄醇结合蛋白、胎球蛋白 A (Fetuin A)、神经轴突导向因子 (Netrin-1),但由于具体机制不明确、特异性不详等因素,其作用尚需

进一步研究^[37-39]。

4 结 语

由于目前临床上 AKI 的诊断标准有一定的缺陷,所以关于 AKI 的早期生物标志物的研究有很多,研究者们试图寻找一种合适的标志物能够及时诊断甚至预测 AKI 的发生,以期达到早预防、早诊断、早治疗的目的。理想的 AKI 标志物除了特异性高、敏感高之外,还应易于获得、便于检测,最好能具有反映 AKI 的部位以及预测 AKI 的预后等特点。然而目前并没有一种标志物满足以上条件,各种标志物有各自的优点,不同的标志物相互之间组合可能是提高诊断 AKI 的途径之一。另外,靶向治疗是近年来 AKI 研究的热点,随着不同蛋白和核酸类分子在 AKI 研究的深入,将来有望从机制上找到不同病因导致 AKI 的治疗方法。

【参考文献】

- [1] Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury[J]. *Nephron Clin Pract*, 2012, 120(4): c179-84.
- [2] 张凯悦,季大玺. 当代急性肾损伤诊断标准的沿革[J]. *医学研究生学报*, 2013, 26(1): 98-102.
- [3] Lameire NH, Bagga A, Cruz D, et al. Acute kidney injury: an increasing global concern[J]. *Lancet*, 2013, 382(9887): 170-179.
- [4] Coca SG, Yusuf B, Shlipak MG, et al. Long-term risk of mortality and other adverse outcomes after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis[J]. *Am J Kidney Dis*, 2009, 53(6): 961-973.
- [5] Singer E, Markó L, Paragas N, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2013, 207(4): 663-672.
- [6] Nickolas TL, Schmidt-Ott KM, Canetta P, et al. Diagnostic and prognostic stratification in the emergency department using urinary biomarkers of nephron damage: a multicenter prospective cohort study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(3): 246-255.
- [7] Cruz DN, de Cal M, Garzotto F, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population[J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(3): 444-451.
- [8] 唐荣,敖翔,钟永,等. 尿 L-FABP 与尿 NGAL 联合应用在儿童心脏术后急性肾损伤早期诊断中的价值[J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(7): 770-775.
- [9] 石艳,靳英丽,王艳晶,等. KIM-1 在 UUO 大鼠肾脏表达的研究[J]. *中国实验诊断学*, 2010, 14(10): 1545-1548.
- [10] Sabbisetti VS, Waikar SS, Antoine DJ, et al. Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(10): 2177-2186.

- [11] 谷翠芝,李清初,曾 凝,等.急性肾损伤患者 NGAL、KIM-1 与血肌酐的相关性[J].广东医学,2015,36(20):3179-3181.
- [12] 罗 亮,杨承健,陆肖娴,等.尿液中肾损伤标志物对急性呼吸窘迫综合征并发急性肾损伤的诊断预后价值[J].医学研究学报,2016,29(8):827-831.
- [13] Dieterle F, Sistare F, Goodsaid F, *et al.* Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMA and Predictive Safety Testing Consortium[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(5): 455-462.
- [14] Christopher D. FDA, European Medicines Agency to consider additional test results when assessing new drug safety collaborative effort by FDA and EMA expected to yield additional safety data [EB/OL]. FDA, (2008-07-12) [2009-06-18]. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2008/ucm116911.htm>.
- [15] 吴继明,刘 畅,安 成,等.急性肾损伤患者尿液中 KIM-1 及 NGAL 的变化[J].现代中西医结合杂志,2010,19(12):1431-1433.
- [16] Urbchat A, Obermüller N. Biomarkers of kidney injury[J]. *Biomarkers*, 2011, 16 Suppl 1: S22-30.
- [17] 肖 威,汪 杨.白细胞介素 18 在诊断急性肾损伤的应用价值探讨[J].临床荟萃,2013,28(12):1330-1332.
- [18] Lin X, Yuan J, Zhao Y. Urine interleukin-18 in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis[J]. *J Nephrol*, 2015, 28(1): 7-16.
- [19] 周明明,蒋正英,李 蕊,等.血清胱抑素 C 联合尿白介素 18 对脓毒症并发急性肾损伤的早期预测价值[J].中国全科医学,2016,19(8):898-902.
- [20] Arthur JM, Hill EG, Alge JL, *et al.* Evaluation of 32 urine biomarkers to predict the progression of acute kidney injury after cardiac surgery[J]. *Kidney Int*, 2014, 85(2): 431-438.
- [21] Smathers RL. The human fatty acid-binding protein family: evolutionary divergences and functions [J]. *Hum Genomics*, 2011, 5(3): 170-191.
- [22] Susantitaphong P, Siribamrungwong M, Doi K, *et al.* Performance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in acute kidney injury: a meta-analysis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2013, 61(3): 430-439.
- [23] Xie Y, Xue W, Shao X, *et al.* Analysis of a urinary biomarker panel for obstructive nephropathy and clinical outcomes[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112865.
- [24] Xie Y, Xu W, Wang Q, *et al.* Urinary excretion of liver-type FABP as a new clinical marker for the progression of obstructive nephropathy[J]. *Biomark Med*, 2014, 8(4): 543-556.
- [25] Yamamoto T, Noiri E, Ono Y, *et al.* Renal L-type fatty acid-binding protein in acute ischemic injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(11): 2894-2902.
- [26] Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, *et al.* Renal liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) attenuates acute kidney injury in aristolochic acid nephrotoxicity [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(3): 1021-1032.
- [27] Fujii K, Manabe I. Renal collecting duct epithelial cells regulate inflammation in tubulointerstitial damage in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3425-3441.
- [28] Ebbing J, Seibert FS, Pagonas N, *et al.* Dynamics of Urinary Calprotectin after Renal Ischaemia [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146395.
- [29] Heller F, Frischmann S, Grünbaum M, *et al.* Urinary calprotectin and the distinction between prerenal and intrinsic acute kidney injury[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(10): 2347-2355.
- [30] Westhoff JH, Fichtner A, Waldherr S, *et al.* Urinary biomarkers for the differentiation of prerenal and intrinsic pediatric acute kidney injury[J]. *Pediatr Nephrol*, 2016, 31(12): 2353-2363.
- [31] Dieterle F, Perentes E, Cordier A, *et al.* Urinary clusterin, cystatin C, beta2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(5): 463-469.
- [32] Bojic S, Kotur-Stevuljevic J, Kalezić N, *et al.* Diagnostic Value of Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 in Sepsis-Associated Acute Kidney Injury [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2015, 237(2): 103-109.
- [33] Lorenzen JM, Kielstein JT, Hafer C, *et al.* Circulating miR-210 predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(7): 1540-1546.
- [34] Zou YF, Wen D, Zhao Q, *et al.* Urinary MicroRNA-30c-5p and MicroRNA-192-5p as potential biomarkers of ischemia-reperfusion-induced kidney injury [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2017, 242(6): 657-667.
- [35] Muramatsu Y, Tsujie M, Kohda Y, *et al.* Early detection of cysteine rich protein 61 (CYR61, CCN1) in urine following renal ischemic reperfusion injury [J]. *Kidney Int*, 2002, 62(5): 1601-1610.
- [36] Mosa O, Skitek M, Jerin A. Validity of Klotho, CYR61 and YKL-40 as ideal predictive biomarkers for acute kidney injury: review study [J]. *Sao Paulo Med J*, 2017, 135(1): 57-65.
- [37] du Cheyron D, Daubin C, Poggioli J, *et al.* Urinary measurement of Na⁺/H⁺ exchanger isoform 3 (NHE3) protein as new marker of tubule injury in critically ill patients with ARF [J]. *Am J Kidney Dis*, 2003, 42(3): 497-506.
- [38] Girardi AC. Deciphering the mechanisms of the Na⁺/H⁺ exchanger-3 regulation in organ dysfunction [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(11): C1569-87.
- [39] Adiyanti SS. Acute Kidney Injury (AKI) biomarker [J]. *Acta Med Indones*, 2012, 44(3): 246-255.

(收稿日期:2017-08-06; 修回日期:2017-11-06)

(责任编辑:左 琦)