

急性肾损伤标志物及其在心血管相关肾病中应用的研究进展

李永姝 贾克刚

作者单位:300457 天津市,泰达国际心血管病医院检验科

【摘要】 急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是指各种原因引起肾脏功能损害,以致肾小球滤过率在短时间迅速下降,引起氮质代谢产物积聚,水、电解质及酸碱平衡失调及全身并发症的一种严重的临床综合征。心血管相关手术后发生急性、相对轻度的肾脏损伤或肾功能受损,常提示预后不良,及时诊断对指导治疗和预防急性肾损伤进展是非常必要的。越来越多的研究表明,中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、肝型脂肪酸结合蛋白、肾损伤分子-1、MicroRNAs、胱抑素 C 等可作为诊断 AKI 的早期标志物。本文就 AKI 的早期诊断标志物的致病机理、检测方法及在心血管手术相关肾损伤中的临床应用进行综述。

【关键词】 急性肾损伤;中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;肝型脂肪酸结合蛋白;肾损伤分子-1;微小 RNA;胱抑素 C

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.013

近几十年来,急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)已经成为令人关注的公共健康问题,影响全球数以百万患者的健康。最近美国肾脏病学学会临床杂志^[1]发布了一项对全球近 5 千万住院患者的超大规模的 AKI 发病率研究,成年人合并 AKI 的发病率为 21.6%,儿童为 33.7%,成年人 AKI 相关的病死率为 23.9%,儿童为 13.8%。国内的研究^[2]表明,AKI 的发病率为 16.3%,医院中获得性 AKI,特别是在重症监护病房的病死率高达 60.6%。心脏手术相关性急性肾损伤(cardiac surgery associated acute kidney injury, CSA-AKI)是心脏手术后常见的显著增加病死率及医疗费用的严重并发症,是影响术后患者长期生存的独立危险因素^[3]。心脏手术后 AKI 的可能机制包括肾缺血、炎性反应、动脉粥样硬化栓塞等^[4]。组织的缺血再灌注损伤、内毒素血症、手术的创伤、非搏动性血流及术前可能就存在的左心室功能不全都是术中炎症反应的触发因素,炎症介质、黏附分子及促炎因子的产生,又进一步导致了细胞损伤,并最终引起肾脏的损伤。

AKI 的发生常提示预后不良,及时诊断和危险分层对指导治疗和预防 AKI 进展有重要的临床意义,但目前可用的诊断方法大部分对 AKI 的早期诊断不敏感^[5]。因此,人们将更多的目光投向肾损伤生物标志物的研究,其对肾脏疾病的诊断特异性强,又属于非侵入性检查,因此受到越来越多研究者的重视。本文对 AKI 及其相关诊断标志物做一综述。

1 AKI 的定义及其诊断标准

AKI 是指各种原因引起肾脏功能损害,以致肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)在短时间迅速下降,引起氮质代谢产物积聚,水、电解质及酸碱平衡失调及全身并发症的一种严重的临床综合征。2012 年全球肾脏病改善预后工作组(KDIGO)发布了新版 AKI 临床实践指南。新版指南融合了 2002 年急性透析质量倡议组制定的 RIFLE 分级诊断标准和 2005 年急性肾损伤网络制定的 AKI 诊断标准各自的优点,提出了 AKI 诊断的新标准,患者符合以下情况之一者即可被诊断 AKI:(1)48 h 内血肌酐(serum creatinine, SCr)升高超过 26.5 $\mu\text{mol/L}$ (0.3 mg/dL);(2)SCr 升高超过基础 1.5 倍(确认或推测在 7 d 内发生);(3)尿量 < 0.5 ml/(kg·h),且持续 6 h 以上(单用尿量改变作为判断标准时,需除外尿路梗阻或其他原因导致的尿量减少),其中 SCr 的升高率是确证 AKI 发生的金标准^[6]。

SCr 作为经典的反映肾小球滤过功能的指标,为临床广泛使用,然而 SCr 对 AKI 的早期诊断有局限性。SCr 的浓度不仅受肾脏清除能力的影响,还受个体间差异及某些药物的影响。此外,由于正常肾脏的储备功能存在很大的个体差异,储备功能好的患者即使在 AKI 早期出现了显著的肾组织破坏,SCr 水平仍可能正常或仅轻度升高,因此 SCr 不一定能及时准确反映肾脏功能水平,从而可能延迟 AKI 的诊断^[7]。通常在

肾脏受损 48-72 h 后,SCr 才明显升高,因此,SCr 多用于 AKI 晚期预后判断^[8]。为此,寻找一种新的敏感性高、特异性好的早期诊断 AKI 的标志物成为研究的热点。

2 CSA-AKI 早期诊断标志物

2.1 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) NGAL 是脂质运载蛋白家族的一员,又称脂质运载蛋白 2 或 24p3,最初是从中性粒细胞内的过氧化物酶颗粒中分离出来的一种能与明胶酶共价结合的蛋白^[9]。NGAL 分子内含花萼状结构,该结构具有结合低分子量铁载体的特性。Vaidya 等^[10]发现正常机体状态下 NGAL 仅在骨髓中性粒细胞成熟期间一个很窄的窗口期(中幼及晚幼期)合成,但在发生炎症和恶性肿瘤时,人体的多种组织(如子宫、前列腺、唾液腺、肺、肾、气道及消化道上皮等)均可以诱导产生 NGAL。NGAL 是机体天然免疫针对细菌感染的一个关键组分,其主要配体是铁载体。NGAL 与铁载体结合的特性,表现为一种抑菌剂,因此,机体炎症反应时可导致血清 NGAL 水平升高^[7]。

Srisawat 等^[11]的研究发现,对于社区获得性肺炎的患者来说 NGAL 的升高提示肾功能的减退,AKI 组的 NGAL 水平远高于对照组,这提示 NGAL 对 AKI 的发生具有很好的提示作用。而对于发生 AKI 的患者,较高水平的 NGAL 则提示病死率的上升,死亡组的 NGAL 水平为生存组的 2 倍以上。Parikh 等^[12]发现 NGAL 对于诊断多囊肾患者肾损伤有很好的效果,NGAL 的上升水平与肾脏体积增大的水平有显著相关性,并与 GFR 有显著的关联,对肾功能损伤有极好的评价效果。Gabbard 等^[13]的研究结果显示,在接受心肺转流术(cardiopulmonary bypass, CPB)后 NGAL 相较于 SCr 能更早的诊断 AKI,将检测时限由 48-72 h 缩短至 2 h,同时 NGAL 升高的幅度也比 SCr 更高,在诊断 AKI 的特异性、敏感性上 NGAL 与公认的金标准 SCr 相似。而且 CPB 术后 2 h NGAL 水平与病情严重程度及 AKI 持续时间有关。众多研究显示,NGAL 是早期诊断 AKI 的优秀的标志物,其预测 AKI 发生远早于 SCr。NGAL 将成为临床诊断 AKI 的一个极为重要的指标。

2.2 肝型脂肪酸结合蛋白(liver fatty acid-binding protein, L-FABP) L-FABP 又称 FABP1 或 Z-蛋白,是脂肪酸结合蛋白家族的一员,相对分子质量为 14.4×10^3 ,含有 127 个氨基酸残基和 2 个脂肪酸结合位点,广泛分布于哺乳动物的肝脏、小肠、肾脏、心、脑、脂肪等处。L-FABP 是肝脏内唯一表达的脂肪酸结合蛋白,占肝脏内总胞质蛋白的 2%~5%^[14]。L-FABP 可与经转运蛋白介导进入细胞内的长链脂肪酸结合,将其运送到内质网、线粒体、细胞核等处,与脂类转运及脂蛋白的代谢有密切联系,同时 L-FABP 可调节胆固醇的吸收和代谢,并在胆汁酸的合成及胆汁酸在肝脏储存的过程中起关键作用^[15]。Yan 等^[16]通过体外研究证实 L-FABP 有极强的抗氧化

活性,可通过与活性氧反应阻止膜磷脂的过氧化,保护细胞免受氧化应激。L-FABP 可与游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)结合,防止 FFAs 激活过氧化物酶体增生物激活受体- γ 介导的细胞凋亡,减轻肾小管细胞内氧化应激并抑制炎症因子及脂质过氧化物产生,减轻肾小管损伤,保护肾小管^[17]。

在 AKI 时,L-FABP 不仅具有肾保护作用,而且对于反映肾小管的急性损伤也十分敏感,且先于 SCr 升高^[18]。谢园园等^[19]研究尿液 L-FABP 诊断梗阻性肾病所致 AKI 及预测预后的价值,发现 L-FABP 的升高提示肾功能的下降及肾损伤的不良预后。Parikh 等^[20]进行的多中心队列研究显示,AKI 组 L-FABP 在 6 h 达到峰值,且上升幅度较 SCr 更高,将 L-FABP 与肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)、NGAL 等指标联合评估患者肾脏损伤程度可大大缩短 AKI 检测时限。同时发现术后 L-FABP 高水平与预后不良有关。众多研究表明,L-FABP 的升高与 AKI 的发生及不良预后密切相关,通过测定 L-FABP 可以早期发现 AKI,并预测肾脏疾病的进展,L-FABP 将是近端肾小管损伤的一个优秀的预测指标。

2.3 KIM-1 KIM-1 是 I 型跨膜糖蛋白的一种,其由 Ichimura 等^[21]于 1998 年在研究大鼠缺血-再灌注肾损伤再生修复时发现,存在于肾脏、肝脏并低水平表达于 Th2 细胞中。KIM-1 相对分子质量为 10.4×10^3 ,由 334 个氨基酸序列组成,内含免疫球蛋白样结合域和黏蛋白样结构域。Ichimura 等^[22]研究显示,KIM-1 在正常肾组织及胚胎肾组织中几乎不表达,而在多种急慢性肾脏疾病发生时,KIM-1 表达显著增强。当发生急性肾小管损伤时,KIM-1 大量表达于再生的肾小管上皮,介导肾小管上皮细胞吞噬凋亡细胞和细胞碎片,从而使非专职吞噬细胞在急性炎症过程中发挥清道夫作用,同时改变吞噬细胞的免疫状态,调节免疫及炎症反应。KIM-1 除了清除及免疫调节作用外,可能还具有再生功能,促进损伤细胞的替代或修复。

研究^[23]表明,AKI 时,肾小管上皮细胞表达的 KIM-1 的胞外功能区可在金属蛋白酶作用下裂解脱落到细胞外释放入尿,从而在尿液中检测出来,且尿 KIM-1 水平和组织 KIM-1 水平呈正相关,表明 KIM-1 能反应近端肾小管的损伤情况,进而反映 AKI 严重程度。罗群等^[24]在研究经皮冠状动脉介入术后发生造影剂肾损伤的患者时发现,KIM-1 在术后 6 h 为术前基础水平的 1.6 倍,在术后 24 h 达峰值,为术前水平的 3.5 倍,至术后 48 h KIM-1 仍维持较高水平。而诊断肾损伤的金标准—SCr 至术后 48 h 才显著升高,KIM-1 对肾损伤的诊断效能优于 SCr,若将 KIM-1、NGAL 及 IL-18 联合检测其诊断 AKI 的效能将显著优于 SCr。

2.4 MicroRNAs MicroRNAs 是内源性产生的 21~25 个核苷酸的短链、非编码 mRNAs。MicroRNAs 广泛存在于病毒、动植

物及人体内,具有保守性、基因簇现象和特异性表达的特性^[25]。

MicroRNAs 在 AKI 中作用的证据是用近端肾小管条件性 Dicer 敲除的小鼠模型证实的^[26]。Dicer 是 MicroRNAs 生成过程中的关键酶。在这个模型中,实验小鼠的肾脏发育、组织学、功能正常。然而,在经历双侧缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)后,与同窝的野生小鼠相比,条件性 Dicer 敲除的小鼠肾脏对 IRI 的抵抗能力明显增强。这为 Dicer 及 MicroRNAs 在缺血性 AKI 中的病理生理作用提供了重要依据。

Shapiro 等^[27]的实验数据证明:IRI 导致 MicroRNAs 表达的不同,而这种表达的不同可以作为肾脏 IRI 的一种生物学标志物。此外,Liu 等^[28]的研究进一步证实:与对照组相比,IRI 小鼠的肾脏中 76 种 MicroRNAs 的表达水平发生了 2 倍及以上的改变,其中 36 种 MicroRNAs 的表达水平升高,40 种 MicroRNAs 的表达水平下降。这进一步证实 MicroRNAs 表达种类及水平的变化可能是肾脏 IRI 的生物学标志物。

2.5 胱抑素 C (Cystatin C, CysC) CysC 为内源性半胱氨酸蛋白酶抑制剂,由人体所有有核细胞合成并在肾脏分解代谢,血浆清除半衰期较短,能从肾小球自由滤过,在肾小管被摄取并分解,但不能被肾小管重吸收与排泄。CysC 不受炎症反应、恶性肿瘤的影响,受年龄、性别、肌肉容积、饮食等因素影响小。与 SCr 相比,血清 CysC 对早期 AKI 更敏感。也有研究^[29]显示,CysC 是预测 ICU 患者发生 AKI 的良好生物标志物。另外在 AKI 患者尿液中亦可检测到 CysC,并且被推荐作为定量肾小管损害程度的附加指标^[30]。但最近的一项研究^[31]显示,血清 CysC 预测体外循环手术后 AKI 的发生时,仅为中等预测能力的生物标志物,而在术中则具有极为有限的诊断和预测价值。血清 CysC 检测目前已建立了可用于临床常规的快速标准化的分析方法;尿 CysC 检测虽然受干扰因素小,但由于检测成本高,尚未普及,但其对临床的诊断意义值得进一步探讨。

3 结语

目前,对于肾损伤标志物的研究已取得了较大的进展,上述 AKI 诊断标志物,可以在肾损伤发生后很短时间内被检测到,有利于 CSA-AKI 的早期诊断,有助于提高临床治疗效果、准确判断预后、监测病情发展,并对急性肾衰竭和肾脏替代治疗等不良预后进行预测。生物标志物在 AKI 中的临床应用还存在着相当大的发展前景,有待于检验医学及肾脏病学领域的深入研究。

4 参考文献

- 1 Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, et al. World incidence of AKI: A meta-analysis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8: 71-113.
- 2 王海霞,郑瑞强,林华,等.基于 RIFLE 标准急性肾损伤患者发病

- 率及病死率的研究. *中华急诊医学杂志*, 2013, 22: 276-279.
- 3 Brown JR, Kramer RS, Coca SG, et al. Duration of acute kidney injury impacts long-term survival after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*, 2010, 90: 1142-1148.
- 4 Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*, 2004, 66: 1115-1122.
- 5 李顺君,黄文方,饶绍琴.急性肾损伤早期监测的生物标志. *国际检验医学杂志*, 2008, 7: 614-616.
- 6 KDIGO AKI Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Official Journal of the International Society of Nephrology*, 2012, 2: 1-138.
- 7 俸家富.急性肾损伤的实验室检测标志物. *中华检验医学杂志*, 2014, 6: 410-414.
- 8 Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. *Lancet*, 2012, 380: 756-766.
- 9 Makris K, Kafkas N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury. *Adv Clin Chem*, 2012, 58: 141-191.
- 10 Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008, 48: 463-493.
- 11 Srisawat N, Murugan R, Lee M, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts recovery from acute kidney injury following community-acquired pneumonia. *Kidney Int*, 2011, 80: 545-552.
- 12 Parikh CR, Dahl NK, Chapman AB, et al. Evaluation of urine biomarkers of kidney injury in polycystic kidney disease. *Kidney Int*, 2012, 81: 784-790.
- 13 Gabbard W, Milbrandt EB, Kellum JA. NGAL: an emerging tool for predicting severity of AKI is easily detected by a clinical assay. *Crit Care*, 2010, 14: 318.
- 14 He Y, Yang X, Wang H, et al. Solution-state molecular structure of apo and oleate-liganded liver fatty acid-binding protein. *Biochemistry*, 2007, 46: 12543-12556.
- 15 Storch J, McDermott L. Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins. *J Lipid Res*, 2009, 50: S126-S131.
- 16 Yan J, Gong Y, She YM, et al. Molecular mechanism of recombinant liver fatty acid binding protein's antioxidant activity. *J Lipid Res*, 2009, 50: 2445-2454.
- 17 孙祥雷,许冬梅.肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)与肾脏疾病. *国际泌尿系统杂志*, 2008, 28: 517-519.
- 18 Susantitaphong P, Siribamrungwong M, Doi K, et al. Performance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in acute kidney injury: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*, 2013, 61: 430-439.
- 19 谢园园,倪兆慧,薛蔚,等.尿 L-FABP 和 NGAL 在梗阻性肾病所致急性肾损伤诊断及其肾脏预后预测中的价值. *中华肾脏病杂志*,

2013, 29: 21-26.

20 Parikh CR, Thiessen-Philbrook H, Garg AX, et al. Performance of Kidney Injury Molecule-1 and Liver Fatty Acid-Binding Protein and Combined Biomarkers of AKI after Cardiac Surger. Clin J Am Soc Nephrol, 2013, 8: 1079-1088.

21 Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. J Biol Chem, 1998, 273: 4135-4142.

22 Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. J Clin Invest, 2008, 118: 1657-1668.

23 Nejat M, Pickering JW, Devarajan P, et al. Some biomarkers of acute kidney injury are increased in pre-renal acute injury. Kidney Int, 2012, 81: 1254-1262.

24 罗群, 周芳芳, 兰凯, 等. 肾损伤分子 1、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白和白细胞介素 18 联合检测在造影剂肾损伤早期诊断中的作用. 中华肾脏病杂志, 2011, 27: 57-58.

25 Reinhart BJ, Bartel DP. Small RNAs correspond to centromere heterochromatic repeats. Science, 2002, 297: 1831.

26 Wei Q, Bhatt K, He HZ, et al. Targeted deletion of Dicer from proximal tubules protects against renal ischemia-reperfusion injury. J Am Soc Nephrol, 2010, 21: 756-761.

27 Shapiro MD, Bagley J, Latz J, et al. MicroRNA expression data reveals a signature of kidney damage following ischemia reperfusion injury. PLoS ONE, 2011, 6: e23011.

28 Liu F, Lou YL, Wu J, et al. Upregulation of microRNA-210 regulates renal angiogenesis mediated by activation of VEGF signaling pathway under ischemia/perfusion injury in vivo and in vitro. Kidney Blood Press Res, 2012, 35: 182-191.

29 Zhang Z, Lu B, Sheng X, et al. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis. Am J Kidney Dis, 2011, 58: 356-365.

30 Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, et al. Serum cystatin C: a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. Clin Nephrol, 2005, 64: 41-46.

31 Kiessling AH, Dietz J, Reyher C, et al. Early postoperative serum cystatin C predicts severe acute kidney injury following cardiac surgery: a post-hoc analysis of a randomized controlled trial. J Cardiothorac Surg, 2014, 9: 10.

(收稿日期: 2015-05-06)

(本文编辑: 张志成)

消 息

美国第 67 届 AACC 年会临床实验室医疗设备博览会

美国临床化学年会(AACC 年会)和临床实验室医疗设备博览会(CLE)是世界临床检验领域内的一个非常重要的国际学术会议和医疗设备博览会。CLE 博览会每年有 800 多家参展商及 2000 多个展位, CLE 博览会每年展示了大量最新的世界临床实验室检验科技设备和体外诊断产品。CLE 具有极大的国际影响力, CLE 每年吸引了来自 110 个国家的 20 000 多名国际医学界的专业人员。80% 的观众是具有采购权的领导和决策者。

展出范围: 体外诊断仪器、体外诊断试剂、生化仪器、化学试剂、色谱仪、食品安全检测仪、氨基酸测序仪、DNA 合成仪、酶标仪、发酵设备、提取设备、分离设备、纯化设备、生物制药用仪器、诊断仪器、药剂和诊断、电子及光学显微镜、注射分析仪器、内分泌检验、癌症检验、血糖检验、DNA 分析酶学、分子诊断学、血液学与止血法、心脏病检验、传染病检验、

医药基因体学、信息学等。

第 67 届 AACC 年会和 CLE 将同期举办。AACC 年会将举办 200 多场专题研讨会及短期教育课程。

1 会议时间与地点

会议日期: 2015 年 7 月 26 日至 2015 年 7 月 30 日

会议地点: 亚特兰大市乔治亚世界会议中心

2 联系方式

联系人: 蒙小姐

地 址: 深圳市罗湖区深南东路 5016 号京基 100 大厦 A 座 54 楼 5406

邮 编: 518008

电 话: 0755-82478491

E-mail: 362059017@qq.com