

NGAL 和 KIM-1 在重症监护室危重患者早期急性肾损伤中的诊断价值*

彭兰芬, 邓任堂[△], 张少丰, 付文金, 陈载鑫, 陈梅莲, 刘 亮, 章小东, 黄文彩(广东医学院附属厚街医院检验医学中心, 广东东莞 523945)

【摘要】 目的 探讨尿液、血清中性粒细胞明胶酶转运蛋白(NGAL)和尿肾损伤分子-1(KIM-1)在重症监护室(ICU)危重症患者急性肾损伤(AKI)中的早期诊断价值。**方法** 选取 2010 年 6 月至 2011 年 5 月本院以各种原发病于 ICU 病房治疗, 且继发 AKI 的危重症患者 23 例, 同期于 ICU 治疗的非 AKI 患者 24 例和健康者 21 例, 用定量酶联免疫吸附试验(ELISA)检测尿液、血清 NGAL 和尿 KIM-1 水平, 用常规生化方法检测血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr), 用乳胶增强免疫比浊法检测血清胱抑素 C(Cys C)。健康对照组、AKI 患者入院时、AKI 患者组、ICU 非 AKI 患者组组间比较采用两独立样本 *t* 检验; 应用受试者操作特征曲线(ROC 曲线)评价各指标对 AKI 的诊断价值。**结果** AKI 患者组血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1、BUN、Cr 和 Cys C 水平显著高于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); AKI 患者组与其入院时各研究指标比较, 血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1、BUN 和 Cr 水平差异有统计学意义($P < 0.01$); AKI 患者组与非 AKI 患者组间血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1 和 Cr 水平差异有统计学意义($P < 0.01$); 血清 NGAL、尿液 NGAL、尿液 KIM-1、Cr、Cys C、BUN 的 ROC 曲线下面积依次为 1.00、0.97、1.00、0.98、0.98、0.99。**结论** AKI 患者组与其他各研究组间血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1 水平差异有统计学意义, 血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1 作为新的肾损伤标志物, 对 AKI 具有早期诊断价值。

【关键词】 急性肾损伤; 血清中性粒细胞明胶酶转运蛋白; 尿液肾损伤分子-1

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.18.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)18-2356-03

Early diagnostic value of NGAL and KIM-1 in ICU patients with acute kidney injury* PENG Lan-fen, DENG Ren-tang, ZHANG Shao-feng, FU Wen-jin, CHEN Zai-xin, CHEN Mei-lian, LIU Liang, ZHANG Xiao-dong, HUANG Wen-cai (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Houjie Hospital, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523945, China)

【Abstract】 Objective To explore the early diagnostic significance of serum and urine neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) and urine kidney injury molecule -1 (KIM-1) in ICU patients with acute kidney injury (AKI). **Methods** A total of 23 AKI patients and 24 non-AKI patients, hospitalized in ICU of this hospital from Jun. 2010 to May. 2011, and 21 healthy subjects were enrolled and detected for serum and urine NGAL and KIM-1, and serum urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr) and cystatin C (Cys C). All data were statistically analyzed. **Results** Serum levels of NGAL, BUN, Cr and Cys C, and urinary levels of NGAL and KIM in AKI group were higher than healthy group ($P < 0.01$). The differences of serum levels of NGAL, BUN and Cr, and urinary levels of NGAL and KIM-1 between detection before and after therapy were significant ($P < 0.01$). The differences of serum levels of NGAL and Cr, and urinary levels of NGAL and KIM-1 between AKI group and non-AKI group were significant ($P < 0.01$). Area under receiver operating characteristic curve of serum NGAL, urinary NGAL, urinary KIM-1, serum Cr, Cys C and BUN was 1.00, 0.97, 1.00, 0.98, 0.98 and 0.99 respectively. **Conclusion** The level of serum NGAL, urine NGAL and KIM-1 could be increased significantly in AKI patients, which might be with early diagnostic value in AKI.

【Key words】 acute kidney injury; serum neutrophil gelatinase associated lipocalin; urine kidney injury molecule -1

急性肾损伤(AKI)是重症监护室(ICU)危重症患者常见临床并发症。迄今,急性肾功能衰竭(ARF)的防治形势依然十分严峻,其中缺乏有效的 ARF 预测和早期诊断指标而错失最佳干预时机是一大突出问题。因此寻求新的肾损伤早期标志物是目前研究的热点^[1]。

目前,临床诊断 AKI 最可靠的指标仍为血肌酐(Cr)和尿量,尚不能满足肾损伤早期诊断的要求^[2]。本研究选取反映肾

损伤的分子标志物中性粒细胞明胶酶转运蛋白(NGAL)和肾损伤分子-1(KIM-1)作为主要研究指标,探讨其对 ICU 重症患者发生 AKI 的早期诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1)健康对照组:健康体检者 21 例,其中男 13 例,女 8 例,年龄 19~76 岁,平均年龄为(46±15)岁。(2) AKI 患者组:发生 AKI 的 ICU 患者 23 例,其中男 16 例,女 7

例,年龄 26~79 岁,平均年龄为(45±17)岁。病因包括:多处复合伤、失血性休克、感染、心力衰竭、糖尿病酮症酸中毒、胆囊炎、胰腺炎和毒品中毒。AKI 诊断标准:根据 KDIGO 指南对 AKI 的定义,符合以下 3 个条件之一即可诊断 AKI:(1)48 h 内 Cr 升高超过 26.5 μmol/L(0.3 mg/dL);(2)Cr 升高超过基线 1.5 倍;(3)尿量小于 0.5 mL/(kg·h),且持续 6 h 以上。(3)非 AKI 患者组:同期入住 ICU 病区,未发生 AKI 的患者 24 例,其中男 14 例,女 10 例,年龄 28~85 岁,平均年龄为(49±17)岁。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 每天记录 ICU 患者相关临床资料与检验结果,包括年龄、性别、病因、血压、体温、ICU 住院时间及常规肾功能指标检测结果,如血液尿素氮(BUN)、Cr、胱抑素 C(Cys C)、尿常规生化、24 h 尿量等。

1.2.2 标本留取 留取患者入院时血液、尿液标本各 1 份;随后每 24 h 留取血液、尿液标本各 1 份;或于尿量小于 0.5 mL/(kg·h),且持续 6 h 以上时,即刻留取血液和尿液标本各 1 份。所有标本于 3 000 r/min 离心 10 min,先检测常规生化等项目,剩余标本保存于一80 ℃,用于检测 NGAL 和 KIM-1。

1.3 仪器与试剂 常规生化指标检测用美国贝克曼 DXC800

全自动生化仪,除 Cys C 检测试剂为北京利德曼产品外,其他检测试剂均为原装配套试剂;尿液生化用德国拜耳泰利特 500 尿液分析仪检测,试剂为原装配套试剂;NGAL 和 KIM-1 用定量酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,试剂为美国 R&D 公司产品。

1.4 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。各项研究检测数据呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;各指标敏感度和特异度采用受试者操作特征(ROC)曲线分析。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AKI 组与各组间指标比较

2.1.1 AKI 组与健康对照组间血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1、BUN、Cr 和 Cys C 水平差异有统计学意义(*P*<0.01)。

2.1.2 AKI 组与其入院时各研究指标比较,血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1、BUN 和 Cr 水平差异有统计学意义(*P*<0.01),Cys C 水平差异无统计学意义(*P*>0.05)。

2.1.3 AKI 组与非 AKI 组间血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1 和 Cr 水平差异有统计学意义(*P*<0.01),BUN、Cys C 水平差异无统计学意义(*P*>0.05)。各组间血清 NGAL、尿 NGAL、尿 KIM-1、BUN、Cr 和 Cys C 水平比较见表 1。

表 1 各组间检测指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	血清 NGAL(μg/L)	尿 NGAL(μg/L)	尿 KIM-1(μg/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μmol/L)	Cys C(mg/L)
健康对照组	21	28.27±7.28	0.39±0.17	715.00±123.00	5.17±1.79	72.47±18.35	0.80±0.09
AKI 患者入院时	23	45.56±11.51	0.46±0.19	833.00±278.00	7.99±2.36	123.83±46.88	1.39±0.53
非 AKI 组	23	32.64±12.01	0.37±0.14	1 061.00±362.00	7.71±4.75	91.74±32.65	1.25±0.47
AKI 组	23	250.13±68.06 ^{abc}	1.42±0.53 ^{ab}	4 389.00±720.00 ^{abc}	19.88±5.31 ^{ab}	323.78±113.94 ^{abc}	3.07±0.68 ^a

注:与健康对照组比较,^a*P*<0.01;与 AKI 患者入院时比较,^b*P*<0.01;与非 AKI 组比较,^c*P*<0.01。

2.2 AKI 患者血清 NGAL、尿液 NGAL、尿液 KIM-1、Cr、Cys C、BUN 的 ROC 曲线分析 研究血清 NGAL、尿液 NGAL、尿液 KIM-1、Cr、Cys C、BUN 对 ICU 患者继发 AKI 的早期诊断价值,各指标的 ROC 曲线下面积依次分别为 1.00、0.97、1.00、0.98、0.98、0.99。其中血清 NGAL 和尿 KIM-1 的 ROC 曲线下面积大于其他指标的 ROC 曲线下面积,说明血清 NGAL 和尿 KIM-1 诊断 AKI 的敏感性和特异性均较高。

3 讨 论

AKI 既往被称为 ARF,是一种由不同病因所致、具有不同临床表现并以肾小球滤过率迅速下降为主要特点的临床综合征,多见于失血性休克、感染、多器官功能衰竭、败血症、胰腺炎等严重疾病,也常见于各类肾脏疾病的不同阶段^[3-6]。

AKI 的病因按病变部位分为肾前性、肾性、肾后性。80% 的 ICU 患者继发 AKI 由肾性原因引起的急性肾小管损伤所致,少峰由肾小球或间质性病变所致。肾小管损伤最常见的原因是缺血和毒性作用。本课题选取 NGAL 和 KIM-1,同时结合反映肾小球滤过率变化的理想内源性标志物 Cys C,探讨其预测 AKI 的临床诊断价值,并研究其水平变化对 AKI 的预后判断价值。

NGAL 存在于中性粒细胞中,相对分子质量为 25×10³,以共价键与中性粒细胞中的明胶酶相连。通常 NGAL 在人类的一些组织(肾、肺、胃和结肠)中以很低的水平表达,在受损的上皮细胞中显著表达。最初的研究发现,在缺血再灌注损伤后

的小鼠肾脏和顺铂诱导的中毒性肾损伤中,小鼠尿液中 NGAL 升高^[7]。这为后续 NGAL 诊断 AKI 的相关研究奠定了基础。如儿童心脏手术后,28% 的患儿发生 AKI,但是使用 Cr 在术后 1~3 d 才能作出诊断。与之对比鲜明的是,AKI 患者的血液和尿液 NGAL 在术后 2~6 h 内即升高 10 倍或更多。血液和尿液 NGAL 都可以独立、有效地预测 AKI^[8]。本研究表明,继发 AKI 的 ICU 患者血清和尿液 NGAL 水平与健康对照组、入院时和未发生 AKI 患者组比较显著升高,其 ROC 曲线下面积分别为 1.00、0.97,表明其在诊断 AKI 方面有较强的敏感性与特异性,是一个较好的反映肾脏损伤的指标。在国外,NGAL 的研究主要在于 IgA 肾炎、狼疮性肾炎、AKI、肾脏急性缺血再灌注损伤、儿童心脏手术后继发 ARF 等疾病中。在上述疾病中,血、尿 NGAL 浓度明显升高,可作为相应疾病的早期诊断指标。在国内,童俊容等^[7]研究认为,在糖尿病肾病患者出现微量尿蛋白前,其血清 NGAL 水平已升高,认为 NGAL 可反映肾脏早期损伤,与本研究具有一致性。

Cys C 是反映肾小球滤过率的一种理想的内源性指标,被公认为反映早期肾损伤的敏感标志物之一。Cys C 诊断肾功能异常的敏感性为 88.2%。Herget-Rosenthal 等^[8]对 85 例 ARF 高危患者的研究发现 Cys C 水平增高诊断 ARF 早于 Cr 增高诊断 ARF 1~3 d,Cys C 检测能够为 ARF 的早期干预赢得时间。国内梁馨苓等^[9]发现血 Cys C 在 ARF 患者体内明显升高,并与 ARF 病情严重程度密切相关;Cys C 可以作为 ARF

的诊断指标之一。本研究表明,AKI 患者组 Cys C 水平显著高于其他组,说明在 AKI 发生过程中伴随着肾小球滤过率的变化及其他病理过程,Cys C 联合 NGAL 共同诊断 AKI 起着重要作用。

KIM-1 是受损近曲小管上皮细胞表达的黏附分子,是由 334 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白,在正常的肾组织中几乎不表达,但是在缺血及肾毒性损伤后,近曲小管上皮细胞中却是呈高表达状态。有关 KIM-1 表达与肾脏病关系的研究还较少,现有研究也多为体外实验或动物模型研究,临床研究样本量较少,缺乏大规模临床研究数据。在多种肾脏疾病以及动物模型中肾组织和尿液 KIM-1 水平都明显升高,尿 KIM-1 水平与肾组织 KIM-1 表达水平一致^[10-11],并明显早于其他传统的生物标志物(如 Cr、BUN、尿 NAG 酶、尿糖、尿蛋白)的异常,有望成为诊断早期肾损伤的理想标志物,有助于临床早期干预治疗^[12-13]。本研究发现,AKI 患者组尿液 KIM-1 水平较其他研究组显著升高,说明尿液 KIM-1 为诊断 AKI 的理想指标。

综上所述,血清 NGAL、尿液 NGAL 和尿液 KIM-1 在 AKI 患者体内时显著升高,有早期诊断价值。目前其检测方法多用酶联免疫吸附法,对需及时检测以进行早期诊断的患者具有较大局限性,因此研究快速检测方法具有更大的临床应用价值。

参考文献

[1] 吴昱,李晓玫. 急性肾损伤相关生物标志物的研究进展[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(8):1650-1653.
[2] 魏学全,年小燕. 急性肾损伤的概念及诊治进展[J]. 中国社区医师:医学专业,2010,12(9):12-13.
[3] Ding H, He Y, Li K, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy[J]. Clin Immunol, 2007, 123(2): 227-234.
[4] Michiko SW. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis[J]. Pediatr Nephrol, 2008, 23(3): 403-412.

[5] Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(10): 2534-2543.
[6] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil elatinase-associated lipocalin(NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery[J]. Lancet, 2005, 365(9466): 1231-1238.
[7] 童俊容,何凤,罗正茂,等. 血清 NGAL 和 Cystatin C 对糖尿病肾病早期诊断的意义研究[J]. 中国全科医学, 2010, 13(8): 810-812.
[8] Herget-Rosenthal S, Marggrat G, Husing J, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C[J]. Kidney Int, 2004, 66(3): 1115-1122.
[9] 梁馨苓,史伟,叶智明,等. 血清半胱氨酸蛋白抑制剂 C 与急性肾衰竭预后关系的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(1): 177-181.
[10] 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]. J Biol Chem, 1998, 273(7): 4135-4142.
[11] Han WK, Bailly V, Abichandani R, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury[J]. Kidney Int, 2002, 62(1): 237-244.
[12] Han WK, Bonventre JV. Biologic markers for the early detection of acute kidney injury[J]. Curr Opin Crit Care, 2004, 10(6): 476-482.
[13] Hewitt SM, Dear J, Star RA. Discovery of protein biomarkers for renal diseases[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15(7): 1677-1689.

(收稿日期:2013-01-03 修回日期:2013-03-22)

(上接第 2355 页)

predict cerebral vasospasm[J]. Metallomics, 2010, 2(9): 628-637.
[4] Vergouwen MD, Ilodigwe D, Macdonald RL. Cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage contributes to poor outcome by vasospasm-dependent and -independent effects[J]. Stroke, 2011, 42(4): 924-929.
[5] Shahlaie K, Keachie K, Hutchins IM, et al. Risk factors for posttraumatic vasospasm[J]. J Neurosurg, 2011, 115(3): 602-611.
[6] McGirt MJ, Mavropoulos JC, McGirt LY, et al. Leukocytosis as an Independent risk factor for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. J Neurosurg, 2003, 98(6): 1222-1226.
[7] 吴弟梅,贺祖伟,向小俐,等. C-反应蛋白及白细胞的临床应用价值[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(4): 260-261.

[8] Yano Y, Hatakeyama K. Inflammation and hypertension: new clinical information on pentraxin-3 [J]. Anadolu Kardiyol Derg, 2012, 12(4): 305-306.
[9] Zanier ER, Brandi G, Peri G, et al. Cerebrospinal fluid pentraxin 3 early after subarachnoid hemorrhage is associated with vasospasm[J]. Intensive Care Med, 2011, 37(2): 302-309.
[10] Muller B, Peri G, Doni A, et al. Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients[J]. Crit Care Med, 2001, 29(7): 1404-1407.
[11] Garlanda C, Bottazzi B, Moalli F, et al. Pentraxins and atherosclerosis: the role of PTX3[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(1): 38-46.

(收稿日期:2012-12-12 修回日期:2013-02-12)