狼疮性肾炎相关的生物标记物

蔡 辉, 常文静(南京军区南京总医院中西医结合科 210002)

【关键词】 狼疮性肾炎; 生物标志物; 疾病活动度

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.047 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)13-1848-03

狼疮性肾炎(LN)是系统性红斑狼疮(SLE)最常见的脏器损害和死亡原因之一,肾脏受损程度直接影响 SLE 的疗效及预后。因此,正确评价肾脏受损程度和病情活动度对制订治疗方案具有重要的临床价值。至今,肾组织活检仍是诊断 LN 及 LN 病理分型的金标准,对治疗具有重要的指导意义,但肾组织活检是一项损伤性检查,操作具有风险,不易重复。传统上对 LN 的临床诊断和治疗监测最为重要的抗 dsDNA 抗体和抗 Sm 抗体,由于其敏感性和特异性等原因,仍具有一定的缺陷。随着技术的进步和研究的深入,大量新的 LN 相关的生物标志物出现。本文就 LN 相关的生物标志物综述如下。

1 抗核小体抗体(AnuA)

核小体是染色体的基本结构单位,体内的凋亡细胞是其惟一来源。实验证实 SLE 患者的淋巴细胞凋亡加速,并且由于免疫异常又不能有效地清除核小体,遂使核小体在体内堆积,刺激机体产生 AnuA。在狼疮鼠模型中,核小体能诱导抗 dsDNA 抗体和组蛋白抗体产生,且 AnuA 又先于后两种抗体产生。核小体可作为靶抗原诱导自身抗体介导的组织损伤,特别是肾脏的损伤。Amoura 等^[1]发现在肾脏沉积的免疫复合物中存在核小体和 AnuA,核小体中带阳离子的组蛋白与肾小球基底膜上带阴离子的硫酸肝素结合,介导了 LN 的免疫损失。AnuA 在 LN 患者中更容易检测,可能作为诊断 LN 的一项有用标志物。AnuA 在抗 dsDNA 抗体阴性患者中也可呈阳性表达,并且这些患者确实有肾脏疾病,由此提示 AnuA 可作为抗 dsDNA 抗体阴性患者肾脏受累的敏感标志物。Grootscholten 等^[2]对 52 例增生性 LN 患者进行了研究,发现高滴度 AnuA 患者有较高的疾病活动度,经治疗后 AnuA 水平迅速下降。Manson 等对 16 例初发 LN 患者进行了 2 年随访,发现 AnuA 水平与肾功能尿蛋白/肌酐比值、血清清蛋白水平下降呈正相关, LN 缓解时 AnuA 水平显著下降。

2 抗 C1q 抗体

抗 C1q 抗体是 IgG 亚型的主要成分,与 C1q 胶原样区域的表位反应。虽然抗 C1q 抗体在 3%~5% 的健康人中可检测到,但在常见的自身免疫性疾病,如低补体血症的荨麻疹性血管炎和 SLE 中检测率分别为 100% 和 17%~63%。抗 C1q 抗体与 LN 疾病活动性显著相关,可作为 LN 诊断、疾病活动性评价及肾脏损害预警的特异性工具。抗 C1q 抗体诊断活动性 LN 的敏感性和特异性分别为 44%~100% 和 70%~92%,阳性预测值和阴性预测值分别为 58% 和 100%^[3]。罗静等^[4]研究显示,抗 C1q 抗体在 LN 患者血清中高表达;而与患者性别、年龄无相关;在疾病发展早期即可出现,与病程呈明显负相关;浓度高低与 SLE 疾病活动指数(SLEDAI)评分呈正相关;与疾病活动性指标,如白细胞计数、血清清蛋白和补体的降低显著相关;浓度与尿蛋白含量呈正相关;提示抗 C1q 抗体可能参与 LN 的发病机制,可能作为 LN 疾病活动程度的指标。抗 C1q

抗体水平检测可用于 LN 复发的评估。Moroni 等^[5]随访 228 例 LN 患者 6 年发现,抗 C1q 抗体水平预测增生性 LN 患者肾病复发的敏感性和特异性分别为 81% 和 71%。研究发现抗 C1q 抗体联合抗 dsDNA 检测的敏感性和特异性分别达 97% 和 85%,并且 LN 患者经成功治疗后抗 C1q 抗体滴度水平显著下降。这些研究表明,抗 C1q 抗体与 LN 之间存在较强相关性,可作为监测肾脏受累和肾病复发的非损伤性标志物。

3 补体 C4d

大量研究已证实肾组织管周毛细血管补体裂解成分 C4d 沉积已被作为移植肾排斥反应的标志,并与补体经典途径激活有关。来自荷兰的研究者已证实肾小球 C4d 染色的密度与 LN 患者微血栓的存在呈较强相关性^[6]。Batal 等^[7]对 15 例 LN 患者和 239 例非肾炎 SLE 患者和 13 例非 LN 患者进行了研究,应用流式细胞仪检测所有患者循环红细胞 C4d、网状细胞 C4d 和血小板 C4d 水平,应用免疫过氧化物酶染色半定量检测 LN 患者和非肾炎 SLE 患者肾组织 C4d 沉积情况,结果显示,与非肾炎 SLE 患者和非 LN 相比, LN 患者肾小球 C4d 评分显著增高,循环红细胞 C4d 和网状细胞 C4d 水平显著增加,与非肾炎 SLE 患者相比, LN 患者血小板 C4d 水平显著增加,循环红细胞 C4d 水平与国立卫生研究院活性指数显著相关。研究表明循环细胞结合 C4d 可作为 LN 潜在的非损伤性标志物。Sahin 等进行了一项回顾性研究,对 29 例 LN 患者中的 24 例患者进行了肾组织活检,58% 的患者肾小球 C4d+ 和 42% 的患者肾小球 C4d-;尿蛋白水平在 C4d+ 患者中显著升高;肾组织活检显示活性指数评分大于 12 分在 C4d+ 患者中所占比例更高,这些患者随访 3.5 年,其中 4 例 C4d+ 患者演变为终末期肾疾病,而 C4d- 患者中无一例。由此提示肾小球 C4d 染色与 LN 疾病活动相关,肾小球 C4d 染色可能作为判断 LN 预后的有用标志物。

4 尿液趋化因子和细胞因子标记物

4.1 单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)

MCP-1 参与 LN 的发病机制。大量研究显示,尿液 MCP-1 在活动性 LN 患者中升高,经免疫抑制剂治疗后下降。Marks 等^[8]将 25 例儿童和青少年 SLE 患者分成 13 例 LN 患者和 12 例狼疮非肾炎患者,检测尿液和尿液 MCP-1 水平,发现 LN 患者尿液 MCP-1 水平较狼疮非肾炎患者明显升高,且与总狼疮评定组指数评分相关,但血液 MCP-1 水平在二者中无差异。Rovin 等^[9]研究发现,在肾炎复发时, LN 患者尿液 MCP-1 较疾病对照组明显升高,且与肾外疾病活动无关。尿液 MCP-1 水平在肾炎复发前 2~4 个月明显升高,提示尿液 MCP-1 可作为预测 LN 复发的标志物。尿液 MCP-1 水平已被证实在儿童 LN 患者中升高,并能鉴别有无活动性^[10]。这些研究表明,尿液 MCP-1 水平对肾病活动性具有特异性,对预测肾病复发具有敏感性,可反映肾病复发的严重程度和组织增生的特征,可能成为 LN 潜在的标志物。

4.2 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL) NGAL 又称脂质运载蛋白-2,是一种小糖蛋白,在细胞铁运输、诱导细胞凋亡和组织分化方面起重要作用。NGAL 在正常肾脏组织中呈低水平状态,在炎症、缺血和感染时显著上调。近年国内外学者报道, LN 患者尿液 NGAL 水平较非 LN 患者明显增高。Hammad 等^[11]对 22 例儿童 LN 患者、11 例非肾炎 SLE 患者和 15 例健康对照者血清和尿液 NGAL 水平进行了研究,结果显示 SLE 患者尿液 NGAL 水平较健康对照者明显升高, LN 患者尿液 NGAL 水平较非肾炎 SLE 患者明显升高,而 LN 患者血清 NGAL 水平较健康对照者无显著差异,且尿液 NGAL 与肾脏 SLEDAI 评分相关,而血清 NGAL 与肾脏 SLEDAI 评分无相关性。研究提示尿液 NGAL 可能是反映 LN 疾病活动的标志物。石鑫岳等对 36 例 LN 患者和 20 例无肾损害 SLE 患者、37 例非 LN 肾小球疾病患者和 10 例健康对照者进行了研究,结果发现 LN 患者与非肾损害 SLE 患者和健康对照者相比,尿液 NGAL 水平差异有统计学意义($P < 0.05$);而非 LN 肾小球疾病患者相比,尿液 NGAL 水平差异无统计学意义($P < 0.05$)。LN 患者尿液 NGAL 水平在局灶性节段性肾小球肾炎、弥漫性膜增殖性肾小球肾炎、新月体性肾小球肾炎中均较高,在局灶性节段性肾小球肾炎中升高更加明显,而尿液 NGAL 水平在非 LN 肾小球疾病患者与 LN 患者结果相似,两组在同型病理分型中差异无统计学意义($P < 0.05$)。LN 患者尿液 NGAL 与组织病理半定量评分相关性分析结果显示,尿液 NGAL 与内皮细胞增生指数、活动性新月体及节段性坏死和系膜基质增生指数有明显相关性。提示 LN 患者尿液 NGAL 与肾脏活动病变相关。Rubinstein 等^[12]研究发现,尿液 NGAL 不仅可作为所有 SLE 患者肾炎活动性的预测因子,还可作为 LN 复发的预测指标。在预测 LN 复发时,尿液 NGAL 优于抗 dsDNA 抗体滴度。

4.3 肿瘤坏死因子相关弱凋亡诱导因子(TWEAK) TWEAK 属于肿瘤坏死因子超家族的多效细胞因子之一,与其惟一受体 Fn14 结合发挥生物效应。TWEAK 可引起系膜细胞、足细胞和内皮细胞分泌促炎细胞因子和趋化因子,引起细胞增殖、凋亡和诱导肾脏 IgG 沉积。Gao 等^[13]证实 TWEAK 诱导内皮细胞增殖,这在 LN 进展中发挥重要致病作用,通过抑制 TWEAK/Fn14 的相互作用,可为免疫介导性肾炎提供新的治疗方法。Schwartz 等^[14]对 SLE 患者进行了横向研究,结果显示, LN 活动期患者尿液 TWEAK 水平显著升高, LN 活动期患者尿液 TWEAK 水平较 LN 慢性稳定期患者升高,且尿液 TWEAK 与抗 dsDNA 抗体、血清补体 C3、C4 和肾脏 SLEDAI 评分密切相关。此后 Schwartz 等又进行了一项多中心的长期研究,进一步证实尿液 TWEAK 比抗 dsDNA 抗体和血清补体水平能更好地鉴别 LN 和非 LN 的 SLE 患者,并可作为 LN 的活动性指标。而血清 TWEAK 水平与 LN 的发生和活性无关。最近有学者对 46 例 LN 患者进行研究,发现,活动性 LN 患者尿液 TWEAK 水平较非活动性 LN 患者明显升高,尿液 TWEAK 水平与活动指数、肾小球活动指数和肾小管间质定性活动指数显著相关,与慢性毒性指数无关。尿液 TWEAK 联合尿液 MCP-1 检测能提高反映 LN 的活动性。这些研究提示尿液 TWEAK 与 LN 的发生、病情复发和活性相关,可能作为 LN 潜在的标记物。

5 生物标志物可预测 LN 的组织病理学特征

肾组织穿刺活检是目前 LN 诊断、分类和指导治疗的金标

准。它标准化 LN 的组织分类,直接评估活动性 LN 的存在和严重程度的评估,提供 LN 慢性期信息。然而肾组织穿刺的创伤性限制了它监测疾病的进展和治疗反应的使用频率。因此,能反映 LN 组织病理特征的无创性敏感的生物标志物是十分需要的。有关血清 AnuA 和抗 C1q 水平与肾组织病理特征已有报道。Hung 等^[15]对 36 例增生性 LN 患者和 14 例非肾炎性狼疮患者和 10 例健康志愿者进行了横向研究,36 例 LN 患者均接受肾组织活检,结果发现,血清 AnuA 水平在 LN 患者中显著升高,且与狼疮疾病活动相关;血清 AnuA 水平与 LN 组织活动指数呈正相关($P < 0.05$),但与慢性期指数无关。Chen 等^[16]对 52 例经活检证实的 LN 患者也进行了横向研究,发现血清抗 C1q 水平与 SLEDAI 评分、抗 dsDNA 抗体、AnuA 抗体呈正相关;血清抗 C1q 水平在Ⅲ级和Ⅳ级增生性 LN 患者中升高,与Ⅱ级系膜性肾炎患者相关,差异无统计学意义($P > 0.05$);血清 C1q 水平Ⅳ级 LN 患者最高;血清 C1q 水平与肾脏活动指数呈正相关,与慢性指数呈负相关。研究提示血清 C1q 抗体可能成为预测 LN 组织病理特征有价值的无创性标志物。

鉴于尿液生物标志物可用于 LN 的诊断和鉴别 LN 的活动性和非活动性,因此,研究者对 LN 的尿液标志物和组织病理特征进行了研究。Brunner 等^[17]检测了 76 例 SLE 患者传统标志物(抗 dsDNA 抗体,血清补体 C3、C4,肌酐,尿蛋白与肌酐比值等)和尿液标志物(尿液 MCP-1、NGAL、脂质运载蛋白型前列腺素 D 合成酶、 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白、转铁蛋白、铜蓝蛋白),并收集 2 个月内的肾组织活检标本。这些尿液标志物与肾组织活检病理特征进行了比较,如系膜扩张、毛细血管增生、新月体形成、线圈征、纤维化等。应用非参数分析和接受者操作特征曲线下面积(AUC)评估。结果表明活动性 LN 患者的尿液标志物与特定的肾组织病理特征呈微分递增,即尿液 MCP-1、 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白、铜蓝蛋白水平联合蛋白与肌酐比值可很好地预测 LN 的活动度($AUC = 0.85$);而 NGAL、MCP-1 联合肌酐清除率对 LN 慢性稳定期具有预测价值($AUC = 0.83$);尿液 MCP-1、 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白、转铁蛋白、肌酐清除率和血清补体 C4 可作为膜性肾炎的潜在标志物($AUC = 0.75$)。提示血清和尿液联合检测可成为监测 LN 的活动性、慢性稳定期和类型的潜在无创标志物。

综上所述,大量的研究筛选出了许多生物标志物有望成为对 LN 疾病活动性、病情严重程度和预后的监测指标。这对以后研究 LN 的发病机制、病情监测和临床治疗有很大启示。但由于 LN 病程复杂,各种生物标志物在其中的作用机制尚不清楚,大多仍处于评估阶段,确切临床价值仍有待于大规模、多中心、随机对照临床研究验证。

参考文献

- [1] Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(1): 76-84.
- [2] Grootsholten C, Dieker JW, Mcgrath FD, et al. A prospective study of anti-chromatin and anti-C1q autoantibodies in patients with proliferative lupus nephritis treat-

- ted with cyclophosphamide pulses or azathioprine/methylprednisolone[J]. *Ann Rheum Dis*, 2007, 66(5): 693-696.
- [3] Liu CC, Kao AH, Manzi S, et al. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future[J]. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2013, 5(4): 210-233.
- [4] 罗静, 郭琿, 王彩虹, 等. 抗 C1q 抗体与系统性红斑狼疮疾病活动及狼疮肾炎的关系[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2011, 5(2): 102-108.
- [5] Moroni G, Radice A, Giammarresi G, et al. Are laboratory tests useful for monitoring the activity of lupus nephritis? A 6-year prospective study in a cohort of 228 patients with lupus nephritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2009, 68(2): 234-237.
- [6] Cohen D, Koopmans M, Kremer Hovinga IC, et al. Potential for glomerular C4d as an indicator of thrombotic microangiopathy in lupus nephritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2460-2469.
- [7] Batal I, Liang K, Bastacky S, et al. Prospective assessment of C4d deposits on circulating cells and renal tissues in lupus nephritis: a pilot study[J]. *Lupus*, 2012, 21(1): 13-26.
- [8] Marks SD, Shah V, Pilkington C, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 correlates with disease activity in lupus nephritis[J]. *Pediatr Nephrol*, 2010, 25(11): 2283-2288.
- [9] Rovin BH, Song H, Birmingham DJ, et al. Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(2): 467-473.
- [10] Watson L, Midgley A, Pilkington C, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein 1 and alpha 1 acid glycoprotein as biomarkers of renal disease activity in juvenile-onset systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2012, 21(5): 496-501.
- [11] Hammad A, Mosaad Y, Elhanbly S, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of severe lupus nephritis in children[J]. *Lupus*, 2013, 22(5): 486-491.
- [12] Rubinstein T, Pitashny M, Levine B, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel biomarker for disease activity in lupus nephritis[J]. *Rheumatology(Oxford)*, 2010, 49(5): 960-971.
- [13] Gao HX, Campbell SR, Burkly LC, et al. TNF-like weak inducer of apoptosis(TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells[J]. *Cytokine*, 2009, 46(1): 24-35.
- [14] Schwartz N, Su L, Burkly LC, et al. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis[J]. *J Autoimmun*, 2006, 27(4): 242-250.
- [15] Hung WT, Chen YM, Lan JL, et al. Antinucleosome antibodies as a potential biomarker for the evaluation of renal pathological activity in patients with proliferative lupus nephritis[J]. *Lupus*, 2011, 20(13): 1404-1410.
- [16] Chen Z, Wang GS, Wang GH, et al. Anti-C1q antibody is a valuable biological marker for prediction of renal pathological characteristics in lupus nephritis[J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31(9): 1323-1329.
- [17] Brunner HI, Bennett MR, Mina R, et al. Association of noninvasively measured renal protein biomarkers with histologic features of lupus nephritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(8): 2687-2697.

(收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2014-02-20)

(上接第 1847 页)

有很强的抗炎、镇痛、分离粘连的作用^[8]。

该方法操作简单, 患者痛苦小, 费用低, 疗效高, 无明显并发症。结合治疗效果分析发现, 早期治疗效果优于中期, 中期治疗效果优于晚期, 因此, 患病后应及时就诊, 接受治疗。

膝关节骨性关节炎患者临床症状缓解明显, 因关节腔内臭氧注射, 消除无菌性炎症相对彻底, 疼痛缓解持续时间长, 对晚期关节间隙消失, 骨赘形成伴有膝内、外翻, 有游离体者效果较差, 应采用手术治疗。

参考文献

- [1] 林志雄, 余南生, 卢伟杰. 关节镜诊断和治疗膝关节骨性关节炎[J]. *广州医学院学报*, 1998, 18(5): 69.
- [2] 陈百成, 张静. 骨关节炎[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 18-25.
- [3] 王亦聰. 膝关节外科的基础和临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 552.

- [4] 刘春永. 膝关节骨性关节炎非手术治疗进展[J]. *中国社区医师: 医学专业*, 2010, 12(11): 13.
- [5] 黄其方, 孔晖. 透明质酸关节腔内注射治疗膝关节骨性关节炎的疗效及安全性[J]. *中国基层医药*, 2011, 18(18): 2530-2531.
- [6] 阿布都艾尼·阿布都瓦依提, 玉素甫卡地·阿提汗, 多力昆·阿布都热西提. 玻璃酸钠注射液关节腔内治疗膝关节骨性关节炎 151 例临床观察[J]. *中国社区医师*, 2010, 10(19): 49.
- [7] Larini A, Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2005, 19(1): 55-61.
- [8] 汪贵生, 郭俊英, 张泽国. 医用臭氧联合得宝松椎旁注射治疗腰椎间盘突出症 100 例效果观察[J]. *山东医药*, 2009, 49(31): 69-70.

(收稿日期: 2013-10-16 修回日期: 2014-02-10)