

## · 临床论著 ·

## ANCA 相关性小血管炎肾损害患者尿液肾损伤生物标志物的检测及意义\*

彭卫华<sup>①△</sup> 陈凌舟<sup>①#</sup> 许敏敏<sup>①</sup> 彭 婷<sup>①</sup> 庄永泽<sup>①</sup> 王丽萍<sup>①</sup> 俞国庆<sup>①</sup> 李俊霞<sup>①</sup> 张 勇<sup>①</sup>

**摘要** 目的:探讨 ANCA 相关性小血管炎(AASV)肾损害患者尿液中肾损伤生物标志物的表达及变化特点,以探寻在 AASV 早期诊断及治疗的应用价值。方法:用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 AASV 组及对照组尿液  $\beta$  连环蛋白( $\beta$ -catenin)、尿海藻糖酶(trehalase)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白分子(Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin,NGAL),与血清 ANCA 及血肌酐(Scr)、胱抑素 C(Cys C)、C-反应蛋白(CRP)、尿微量白蛋白/肌酐比值(ACR)、 $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -M)等临床指标比较,建立患者的 ROC 曲线来评价尿液  $\beta$ -catenin、trehalase、NGAL 对 AASV 的诊断及疾病活动的预测价值。结果:(1) AASV 组患者尿液  $\beta$ -catenin( $P < 0.01$ )、trehalase( $P < 0.01$ )、NGAL( $P < 0.05$ )水平显著高于对照组,且尿液  $\beta$ -catenin、trehalase 在 AASV 活动期与缓解期之间差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。(2) 与治疗前相比,活动期治疗后尿液  $\beta$ -catenin、trehalase 水平明显下降( $P < 0.05$ )。(3) AASV 患者尿  $\beta$ -catenin 水平与 Scr、 $\beta_2$ -MG、ACR 呈正相关,与 GFR 呈负相关( $P < 0.05$ );尿 trehalase 水平与  $\beta_2$ -MG 呈正相关( $P < 0.05$ );尿 NGAL 水平与 BUN、CysC、ACR 呈正相关( $P < 0.05$ )。(4) 尿液  $\beta$ -catenin、trehalase、NGAL 诊断 AASV 肾损害的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.966( $P < 0.001$ )、0.903( $P < 0.001$ )、0.752( $P < 0.05$ );尿  $\beta$ -catenin、trehalase 判断 AASV 病情活动性的 AUC 均大于血清 ANCA 滴度( $P < 0.05$ )。结论:尿液  $\beta$ -catenin、trehalase、NGAL 可能是诊断 AASV 敏感性和特异性较高的生物学标志物。

**关键词** ANCA 相关性小血管炎  $\beta$  连环蛋白 尿海藻糖酶 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白分子 尿液生物标志物

### Detection and Significance of Urine Biomarkers of Renal Injury in Patients with ANCA Associated Small Vessel Vasculitis

PENG Weihua , CHEN Lingzhou , XU Minmin , et al

Department of Nephrology , Fuzhou General Hospital , Clinical Hospital of Second Military Medical University , Fuzhou ( 350025)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the expression and changes of urine biomarkers of renal injury in patients with ANCA associated small vessel vasculitis ( AASV) for the potential value of early diagnosis and treatment of AASV. **Methods:** Urine biomarkers including beta catenin ( $\beta$ -catenin) , urinary trehalase and neutrophil gelatinase associated lipocalin ( NGAL) were detected in AASV patients with enzyme-linked immunosorbent assay. The urine biomarkers were compared to serum ANCA and other clinical indicators. The ROC curve of the urine biomarkers was established to evaluate the predictive value of diagnosis and disease activity of AASV patients. **Results:** (1) The levels of urinary  $\beta$ -catenin , trehalase and NGAL in the AASV group were significantly higher than those in the normal control group. There was significant difference in urine  $\beta$ -catenin and trehalase between the active AASV group and the inactive AASV group. (2) Compared to non-treatment group , urine  $\beta$ -catenin and trehalase levels were significantly decreased in the treatment group ( $P < 0.05$ ) . (3) Urinary  $\beta$ -catenin in AASV patients was positively correlated with Scr ,  $\beta_2$ -MG and ACR , negatively correlated with GFR ( $P < 0.05$ ) . Urinary trehalase was positively associated with  $\beta_2$ -MG ( $P < 0.05$ ) . Urinary NGAL was positively correlated with BUN , CysC and ACR ( $P < 0.05$ ) . (4) ROC curve area of urine  $\beta$ -catenin , trehalase and NGAL in diagnosis of renal damage in AASV was 0.966 , 0.903 and 0.752 , respectively. Area under the curve ( AUC) of urine  $\beta$ -catenin , trehalase in judgment of AASV disease activity was higher than serum ANCA ( $P < 0.05$ ) . **Conclusion:** Urinary  $\beta$ -catenin , trehalase and NGAL may be biomarkers with high sensitivity and specificity for the diagnosis of AASV.

\* 本课题为福建省自然科学基金资助项目( No. 2014J01430)

① 福州总医院肾脏科,第二军医大学、厦门大学、福建医科大学、福建中医药大学福总临床医学院 (福州 350025)

△ 通讯作者

# 共同第一作者

**KEY WORDS** ANCA associated small vessel vasculitis  $\beta$  - catenin Urinary trehalase Neutrophil gelatinase associated lipocalin Urinary biomarkers

抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic autoantibody ,ANCA)相关性小血管炎(ANCA associated small vessel vasculitis ,AASV)常累及全身多部位器官<sup>[1]</sup>其中肾脏受累多进展迅速,临床出现肾损害表现时往往已是比较晚期,甚至是不可逆的终末期肾病(end-stage renal disease ,ESRD),故而提高早期明确诊断、及时监测病情活动并积极预防复发对提高AASV肾损害患者肾存活率、改善生存预后具有重要意义。近年来有研究报道,尿液 $\beta$ 连环蛋白( $\beta$ -catenin)、尿海藻糖酶(Trehalase)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白分子(neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin ,NGAL)作为肾损害的新型生物标志物,在急性肾损伤<sup>[2-4]</sup>等肾病中具有早期诊断及评估价值,但在AASV的早期诊断及病情监测是否也有同样意义,目前国内外相关的研究报道还较少。因此,本研究拟以血清抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)为对照,对尿液 $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL等反映早期肾小球/小管病变的指标进行检测,以探讨其在AASV应用中的可能价值。

#### 资料与方法

1 研究对象 选取2015年07月~2016年07月间于本单位住院、确诊为AASV肾损害的患者,AASV肾损害诊断参考Chapell Hill血管炎的诊断标准<sup>[5]</sup>和黎磊石、刘志红主编的《中国肾脏病学》2008年第1版第6篇的第二章的标准<sup>[6]</sup>。

(1) 纳入标准:①符合AASV肾损害的诊断标准;②除AASV外无其他原发性或继发性肾脏疾病;③患者同意参与本研究并签字。

(2) 排除标准:①不符合AASV肾损害的诊断标准;②除AASV外合并其他原发性或继发性肾脏疾病;③非原发性小血管炎,如狼疮性肾炎、过敏性紫癜肾损害等继发性血管炎,以及非血管炎表现为ANCA阳性的内科疾病,如炎症性肠病、其他急、慢性感染等;④患者依从性差,不愿意配合随访研究者。

对照组为性别和年龄相匹配的10例同期健康人,与AASV组在年龄、性别构成比上差异无统计学意义。

将入选患者采用伯明翰系统性血管炎活动度评分量表(BVAS2008)<sup>[7]</sup>对肾功能水平、蛋白尿、血尿等AASV活动性指标进行评分分组,分为活动组、缓解组,活动组予个体化诱导、维持免疫抑制治疗,缓解组予小剂量激素维持。根据欧洲血管炎小组(the European vasculitis study group ,EUVAS)制定的血管炎临床分级标准<sup>[8]</sup>对AASV肾损害患者进行临床分级。

2 研究方法 于不同时间段[确诊日,治疗后不同时间点(根据预研究及结果,选取治疗后1、2、6月)]采集患者血、尿样本,血常规、尿常规、尿 $\beta_2$ 微球蛋白、尿微量白蛋白/尿肌酐比值(ACR)、ANCA四项、肝功、肾功、D-二聚体(D-D)、补体C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C反应蛋白(CRP)等实验室指标送院临床检验中心检验。同时留取血尿样本以3 000 r/min离心10 min后取上清液置于Ependorf管,-80℃冰箱保存待检, $\beta$ -Catenin、NGAL、Trehalase等指标检测采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定,试剂盒购于上海西唐生物科技有限公司,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

血液、尿液 $\beta$ -Catenin、NGAL、Trehalase的ELISA检测方法:上述留取的血尿上清液待测样本-80℃冰箱取出、解冻, $\beta$ -Catenin血液待测样本用样本稀释液做200倍稀释、尿液样本用样本稀释液做20倍稀释,NGAL血液待测样本用样本稀释液做100倍稀释,Trehalase血液待测样本用样本稀释液做200倍稀释、尿液样本用样本稀释液做10倍稀释。按试剂盒说明书配制第一至第八管的标准品液。将标准品或待测样品每孔先后经加样、第一抗体工作液、酶标抗体工作液、底物工作液、终止液,酶标仪在450 nm处测吸光值。以标准品20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.312、0 ng/ml为横坐标,OD值为纵坐标,使用软件作图,画出标准曲线。根据样品OD值计算出相应 $\beta$ -Catenin、NGAL、Trehalase含量,再乘上稀释倍数即为待测样本 $\beta$ -Catenin、NGAL、Trehalase含量。

3 统计学方法 计量资料在数据正态分布时以( $\bar{x} \pm s$ )、非正态分布时以中位数(最小值,最大值)表示。多个独立样本均数比较符合正态分布时采用单因素方差分析,不符合时采用秩和检验。相关性分析根据资料是否正态性分布采用pearson或spearman相关分析。尿液 $\beta$ -catenin、NGAL、Trehalase诊断AASV的准确性评价选用ROC曲线。以上数据均以SPSS 20.0软件进行分析处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

#### 结果

1 各组患者一般情况与临床特征 最终入选32例AASV肾损害患者作为研究对象,其中男19例,女13例;年龄23岁~75岁,平均(54.4 ± 14.0)岁。根据BVAS2008活动度评分对入选病例进行分组,分为活动期22例,缓解期10例。如表1所示,活动期起病年龄较缓解组大( $P < 0.05$ )。活动期尿 $\beta_2$ -MG、ACR、血ANCA滴度、BVAS评分值均较缓解期明显升

高 ( $P < 0.05$ )。活动期 ALB、GFR 值较缓解期下降 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 AASV 各组患者一般情况与临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

时间	n	性别 (男/女)	起病年龄 (岁)	BUN (mmol/L)	Scr ( $\mu\text{mol/L}$ )	UA ( $\mu\text{mol/L}$ )	CysC (mg/L)	ALB (g/L)	24 h 尿蛋白 定量(g/d)
活动期	22	13/9	58 $\pm$ 12.86 <sup>#</sup>	21.14 $\pm$ 9.72	512.09 $\pm$ 268.07	467.14 $\pm$ 146.60	5.33 $\pm$ 2.77	32.72 $\pm$ 5.56 <sup>*</sup>	1.76 $\pm$ 1.46
缓解期	10	6/4	46.50 $\pm$ 13.65	14.90 $\pm$ 8.83	361.87 $\pm$ 302.17	465.55 $\pm$ 123.36	4.84 $\pm$ 3.96	38.40 $\pm$ 4.47	0.82 $\pm$ 1.46
时间	n	iPTH (pg/ml)	CRP (mg/L)	补体 C <sub>3</sub> (g/L)	$\beta_2$ -MG (mg/L)	ACR (mg/mmol)	GFR (ml/min)	ANCA 滴度 (RU/ml)	BVAS 评分值
活动期	22	200.16 $\pm$ 168.18	7.2 ~ 175	0.88 $\pm$ 0.23	25.38 $\pm$ 25.79 <sup>#</sup>	220.42 $\pm$ 150.29 <sup>#</sup>	21.43 $\pm$ 10.82 <sup>#</sup>	149.33 $\pm$ 53.22 <sup>#</sup>	15.73 $\pm$ 9.33 <sup>#</sup>
缓解期	10	97.61 $\pm$ 47.45	3.3 ~ 68.9	0.89 $\pm$ 0.29	7.97 $\pm$ 12.98	92.15 $\pm$ 98.36	49.72 $\pm$ 31.22	92.45 $\pm$ 39.17	4.20 $\pm$ 3.12

注:与缓解期比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$

2 AASV 组与对照组尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 表达情况 AASV 组与正常对照组比较尿  $\beta$ -catenin ( $P = 0.000$ ,  $P < 0.01$ )、Trehalase ( $P = 0.000$ ,  $P < 0.01$ )、NGAL ( $P = 0.027$ ,  $P < 0.05$ ) 水平均升高,差异有统计学意义。见表 2。

表 2 AASV 组与对照组尿  $\beta$ -Catenin、Trehalase、NGAL 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml)

组别	n	$\beta$ -Catenin	Trehalase	NGAL
对照组	10	9.89 $\pm$ 10.26	0.40 (0.13 ~ 4.46)	6.19 $\pm$ 2.68
AASV 组	32	145.01 $\pm$ 62.30 <sup>**</sup>	6.41 (0.2 ~ 202.22) <sup>**</sup>	8.95 $\pm$ 3.42 <sup>*</sup>

注:与对照组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

3 AASV 活动期与缓解期尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 表达情况 AASV 活动期与对照组比较尿  $\beta$ -catenin ( $P = 0.000$ ,  $P < 0.01$ )、Trehalase ( $P = 0.000$ ,  $P < 0.01$ ) 水平明显升高,而 NGAL ( $P = 0.083$ ,  $P > 0.05$ ) 差异无统计学意义;活动期较缓解期尿  $\beta$ -catenin ( $P = 0.006$ )、Trehalase ( $P = 0.001$ ) 水平也显著升高 ( $P < 0.01$ ),而尿 NGAL ( $P = 0.195$ ) 水平差异无统计学意义。AASV 缓解期与对照组比较尿  $\beta$ -catenin ( $P = 0.003$ ,  $P < 0.01$ )、NGAL ( $P = 0.012$ ,  $P < 0.05$ ) 水平明显升高,而 Trehalase ( $P = 0.102$ ,  $P > 0.05$ ) 水平差异无统计学意义。见表 3。

表 3 AASV 活动期与缓解期尿  $\beta$ -Catenin、Trehalase、NGAL 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml)

组别	n	$\beta$ -Catenin	Trehalase	NGAL
对照组	10	9.89 $\pm$ 10.26	0.98 $\pm$ 1.42	6.19 $\pm$ 2.68
活动期	22	163.09 $\pm$ 52.51 <sup>***</sup>	22.24 $\pm$ 43.31 <sup>***</sup>	8.42 $\pm$ 2.84
缓解期	10	104.81 $\pm$ 66.32 <sup>**</sup>	2.48 $\pm$ 2.48	10.13 $\pm$ 4.42 <sup>*</sup>

注:与对照组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与缓解组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

4 不同肾损害分级与尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平的关系 不同肾损害分级组尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平间差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

5 治疗前后尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平比较 活动期尿  $\beta$ -catenin 水平随着治疗时间延长而

表 4 不同肾损害分级的 AASV 患者尿  $\beta$ -Catenin、Trehalase、NGAL 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/ml)

级别	n	$\beta$ -Catenin	Trehalase	NGAL
1 级	5	117.08 $\pm$ 73.24	3.88 (0.2 ~ 25.94)	7.19 $\pm$ 4.02
2 级	12	143.18 $\pm$ 47.09	6.32 (0.33 ~ 202.22)	9.03 $\pm$ 3.91
3 级	13	152.64 $\pm$ 76.53	5.33 (1.28 ~ 29.29)	9.07 $\pm$ 3.14
4 级	2	136.66 $\pm$ 14.21	5.28 (1.88 ~ 8.69)	7.31 $\pm$ 1.39

递减,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );缓解期同期尿  $\beta$ -catenin 水平均低于活动组,但仅未治疗前及治疗 1 月后差异达到统计学意义,且随访期间变化不明显,治疗前后尿  $\beta$ -catenin 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 1。

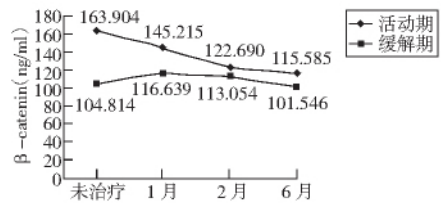


图 1 治疗前后尿  $\beta$ -catenin 变化

活动期治疗 1 月后尿 Trehalase 水平较未治疗时有一小幅度上升 ( $P > 0.05$ ),但随即呈明显下降趋势,治疗 2 月后、6 月后尿 Trehalase 水平与治疗前、治疗 1 月后比较明显下降,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );缓解期同期尿 Trehalase 水平均低于活动期,但仅未治疗前及治疗 1 月后差异达到统计学意义,其他期间无统计学意义。见图 2。

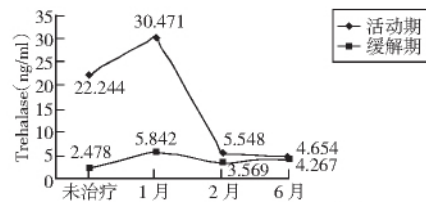


图 2 治疗前后尿 Trehalase 变化

活动期尿 NGAL 随着治疗时间延长,总体呈下降趋势,但治疗前后差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );缓解期同期尿 NGAL 水平均高于活动组,但差异无统计学意义,且随访期间变化不明显,治疗前后尿 NGAL 变

化差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 3。

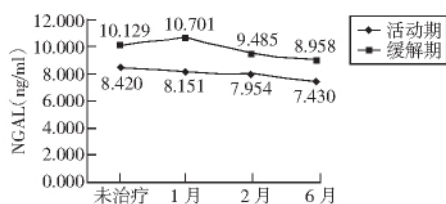


图 3 治疗前后尿 NGAL 变化

6 尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平与临床检测指标的相关因素分析 AASV 患者尿  $\beta$ -catenin 水平与 Scr、 $\beta_2$ -MG、ACR 呈正相关,与 GFR 呈负相关 ( $P < 0.05$ ); Trehalase 水平与  $\beta_2$ -MG 呈正相关 ( $P < 0.05$ ); 尿 NGAL 水平与 BUN、CysC、ACR 呈正相关 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 AASV 患者尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平与临床检测指标的相关因素分析

项目	$\beta$ -catenin		Trehalase		NGAL	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
BUN( mmol/L)	0.143	0.486	0.102	0.619	0.469	0.016*
Scr( $\mu$ mol/L)	0.391	0.048*	0.183	0.371	0.164	0.422
UA( $\mu$ mol/L)	-0.334	0.095	-0.215	0.291	0.210	0.302
CysC( mg/L)	0.360	0.130	0.112	0.647	0.540	0.017*
ALB( g/L)	-0.241	0.235	-0.183	0.371	-0.068	0.741
24 h 尿蛋白定量( g)	0.216	0.421	0.274	0.305	0.190	0.481
iPTH( pg/ml)	0.473	0.103	-0.005	0.986	0.324	0.280
补体 C <sub>3</sub> ( g/L)	0.141	0.520	0.347	0.105	-0.01	0.934
$\beta_2$ -MG( mg/L)	0.478	0.028*	0.500	0.021*	0.170	0.463
ACR( mg/mmol)	0.500	0.021*	0.265	0.246	0.543	0.011*
GFR( ml/min)	-0.499	0.025*	-0.392	0.087	-0.405	0.076
ANCA 滴度 ( RU/ml)	0.147	0.313	0.161	0.268	-0.181	0.212
BVAS 评分值	0.269	0.159	0.330	0.086	0.225	0.250

注:与临床检测指标比较, \*  $P < 0.05$

7 尿与血的  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平相关性分析 AASV 患者的尿  $\beta$ -catenin、NGAL 水平与血液中的相应指标呈正相关(分别为  $P = 0.000$ ,  $P = 0.039$ ) 血与尿 Trehalase 水平则无明显相关;活动期的尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平均与血液中水平呈正相关(分别为  $P = 0.046$ ,  $P = 0.036$ ,  $P = 0.049$ ) 而缓解期的尿与血  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 水平均无相关性。见表 6。

8 尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 对诊断 AASV 肾损害的准确性评价 ROC 曲线分析结果显示,尿  $\beta$ -catenin 诊断 AASV 肾损害的曲线下面积(AUC)为 0.966 ( $P < 0.001$ )。当检测的截点值为 14.999 ng/ml 时,其诊断的敏感度和特异度分别为 96.6% 和 90%。尿 Trehalase 诊断 AASV 肾损害的 AUC 为 0.903 ( $P < 0.001$ )。当检测的截点值为 0.675 ng/ml 时,其诊断的

敏感度和特异度分别为 93.1% 和 80%。尿 NGAL 诊断 AASV 肾损害的 AUC 为 0.752 ( $P < 0.05$ )。当检测的截点值为 5.759 ng/ml 时,其诊断的敏感度和特异度分别为 82.8% 和 40%。见图 4。

表 6 AASV 组血、尿  $\beta$ -Catenin、Trehalase、NGAL 水平相关性分析 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	$\beta$ -Catenin	Trehalase	NGAL
对照组尿	10	9.89 $\pm$ 10.26	0.40(0.13 ~ 4.46)	6.19 $\pm$ 2.68
AASV 血	32	1251.66 $\pm$ 1096.19	193.38(2.55 ~ 1499.90)	410.51 $\pm$ 228.64
AASV 尿	32	145.01 $\pm$ 62.30	6.41(0.2 ~ 202.22)	8.95 $\pm$ 3.42
r 值		0.511	0.148	0.305
P 值		0.000**	0.328	0.039*
活动期血	22	1609.78 $\pm$ 1207.62	394.46 $\pm$ 466.82	415.39 $\pm$ 208.21
活动期尿	22	163.09 $\pm$ 52.51	22.24 $\pm$ 43.31	8.42 $\pm$ 2.84
r 值		0.349	0.366	0.346
P 值		0.046*	0.036*	0.049*
缓解期血	10	586.57 $\pm$ 307.39	316.93 $\pm$ 214.41	460.56 $\pm$ 221.14
缓解期尿	10	104.81 $\pm$ 66.32	2.48 $\pm$ 2.48	10.13 $\pm$ 4.42
r 值		0.533	0.049	0.282
P 值		0.061	0.873	0.351

注:尿与血检测值比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

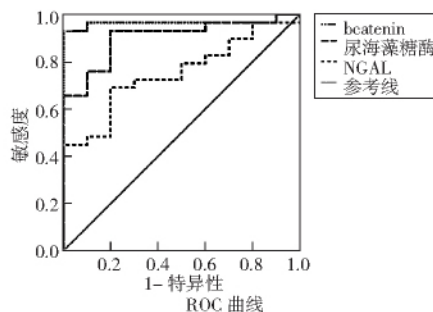


图 4 肾损害标志物诊断 AASV 的 ROC 曲线

9 尿  $\beta$ -catenin、Trehalase、NGAL 对 AASV 肾损害活动性的判断价值 ROC 曲线分析显示,尿  $\beta$ -catenin、尿 Trehalase 判断 AASV 活动性的 AUC 均大于血清 ANCA 滴度 ( $P < 0.05$ )。尿 NGAL 判断 AASV 活动性的 AUC 为 0.369,无判断价值。当尿  $\beta$ -catenin 检测的截点值为 126.176 ng/ml 时,其判断 AASV 活动性的敏感度为 85%;当尿 Trehalase 检测的截点值为 2.396 ng/ml 时,其判断病情活动性的敏感度达 95%。见图 5。

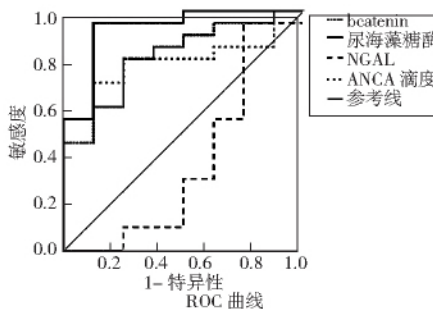


图 5 肾损害标志物判断 AASV 活动性的 ROC 曲线

## 讨 论

AASV 肾损害患者临床多表现为急进性肾炎综合征,进展迅速,短期内即可出现新月体大量生成伴不可逆的肾损害,而其发病机制尚不完全明确,目前发现除 ANCA 在发病中的作用外,还有抗人溶酶体相关膜蛋白 2 (h-LAMP2) 抗体与细菌粘附素 FimH 的高度同源性、中性粒细胞胞外补网 (NETs)、补体旁路途径等在 AASV 发病中的作用<sup>[9-11]</sup>。激素、MMF 和 FK506 的多靶点疗法等方案对病理为纤维素样坏死、细胞性新月体形成、小动脉炎等活动性病变治疗<sup>[12]</sup>,可将患者的 5 年存活率提高至 75%。但因患者多为中老年,免疫抑制治疗药物易致严重感染等副作用,且相当部分病例确诊时往往已为时已晚,大约有 25% 的 AASV 患者终将进入终末期肾病,而未经治疗的 AASV 患者死亡率高,80% 在 1 年内死亡<sup>[13]</sup>。故如何提高 AASV 的早诊早治水平、有无哪些指标及如何监测病情及评估治疗方案及治疗效果是决定 AASV 患者预后的关键,对临床医师尤为重要。目前研究较多的有 ANCA、BVAS 评分等。

ANCA 目前诊断 WG 和 MPA、新月体和坏死性肾小球肾炎的特异度可达到 99%,而敏感度分别 73%、67% 和 82%。ANCA 水平的变化与血管炎的活动有一定关系,诱导缓解后 ANCA 仍持续阳性的患者复发的风险增加<sup>[14]</sup>。但也有临床处于血管炎缓解期的患者血清 ANCA 仍保持较高的滴度,或临床确诊为 AASV 的患者血清 ANCA 却呈阴性。Roth 等<sup>[15]</sup>发现活动性血管炎患者的抗 MPO 抗体只与其中一个 MPO447-459 表位结合,说明可能只有这部分抗体是具有致病性的,这或许提示了并非所有的 ANCA 均具有致病性。

Kawai 等<sup>[16]</sup>发现, BVAS 评分高的 AASV 患者长期预后不良。但因 BVAS 评分敏感度低,在 AASV 预后判断上目前仍有争议。此外,研究提示血清 CRP 水平、内皮细胞损伤标记物、一些病理类型等可能与疾病的活动及预后相关<sup>[17,18]</sup>,但均存在各自局限性。那么,是否有可以方便、随时、重复采集尿液检测相关指标的手段,同尿液标志蛋白 Podocalyxin 在诊断肾脏足细胞疾病早期损害中的价值一样,既方便病人、又为临床医师提供疾病监测呢?

$\beta$ -catenin 在生理状态下参与壁层上皮细胞的发育<sup>[19]</sup>,是壁层上皮细胞的特异性标志物,检测  $\beta$ -catenin 的动态变化可监测 AASV 肾损害的肾脏病理改变。我们发现,AASV 活动及缓解期患者尿液  $\beta$ -catenin 水平明显高于正常对照组,活动组尿  $\beta$ -catenin 水平随着治疗时间延长而递减,与 Scr、 $\beta_2$ -MG、ACR 呈正相关,与 GFR 呈负相关,与血液中的

$\beta$ -catenin 水平显著正相关,提示可通过检测活动期患者尿液  $\beta$ -catenin 水平来衡量血液水平。尿  $\beta$ -catenin 诊断 AASV 肾损害的 AUC 为 0.966,敏感度和特异度分别为 96.6% 和 90% (截点值 14.999 ng/ml),判断 AASV 活动性的 AUC 大于血清 ANCA 滴度,提示尿液  $\beta$ -catenin 水平可能较好地评估 AASV 患者的病变及活动。

尿海藻糖酶 (Trehalase) 通过糖基化磷脂酰肌醇特异地位于近端肾小管上皮细胞,需特异的磷脂酶 C 水解才能将其完全从上皮细胞膜释放出来,故生理状态下在尿液中浓度极低,在肾小管上皮细胞受损时即发生改变,测定尿海藻糖酶可早期、敏感地发现肾小管损害<sup>[3]</sup>。我们检测 AASV 活动期尿液 Trehalase 水平显著高于缓解期和正常对照,与血 Trehalase 水平正相关,随治疗呈明显下降趋势。尿 Trehalase 诊断 AASV 肾损害的 AUC 为 0.903,敏感度和特异度分别为 93.1% 和 80% (截点值 0.675 ng/ml);判断 AASV 活动性的 AUC 大于血清 ANCA 滴度 ( $P < 0.05$ ),敏感度达 95% (截点值 2.396 ng/ml),提示尿 Trehalase 可能是诊断 AASV 和判断其活动性的较好指标。

NGAL 又称人脂质运载蛋白 2 (lipocalin2, Ln2) 或噬铁蛋白 (siderocalin),正常情况下在肾组织少量表达,尿中基本不可见,AKI 发生后 2 小时即明显升高,因此被认为 AKI 的早期诊断指标<sup>[20]</sup>。我们发现,AASV 患者尿 NGAL 高于正常对照组,治疗后呈下降趋势。活动期的尿与血液 NGAL 水平正相关,尿 NGAL 诊断 AASV 肾损害的 AUC 为 0.752,其敏感度和特异度分别为 82.8% 和 40% (截点值 5.759 ng/ml)。提示尿 NGAL 水平不仅可判断肾小管重吸收功能,而且可作为疾病活动和进展的预测因子<sup>[21]</sup>,对疾病进展的预测机制可能与 NGAL 机理中反式作用因子 cAMP 反应序列结合蛋白活化后可降低上皮细胞的黏附性能,引起 Ras 诱导的下游信号蛋白磷酸化消失,影响 Ras-MAPK 通路,促进肾脏纤维化等有关。

我们的检测结果,初步提示 AASV 尿液  $\beta$ -catenin、trehalase、NGAL 可能是诊断、监测 AASV 敏感性和特异性较高的尿液生物学标志物,为监测 AASV 病情活动、疗效观察等提供了相对方便的尿液检测思路,值得临床进一步探索。

## 参 考 文 献

1. 陈旻,于峰,张颖,等. 426 例抗中性粒细胞胞浆抗体相关性小血管炎患者多系统临床表现和肾脏病理分析. 中华内科杂志 2005 44(11): 828-831.
2. Achenbach J, Mengel M, Tossidou I et al. Parietal epithelia cells in the urine as a marker of disease activity in glomerular diseases. Nephrol Dial Transplant 2008 23(10): 3138-3145.

3. Ishihara R ,Taketani S ,Sasai - Takedatsu M ,et al. ELISA for urinary trehalase with monoclonal antibodies: a technique for assessment of renal tubular damage. Clin Chem 2000 ,46( 5) : 636 - 643.
4. 崔路可 ,龚蓉. NGAL 在肾脏病领域的研究新进展. 中国中西医结合肾病杂志 2014 ,15( 12) : 1123 - 1125.
5. Jennette JC ,Falk RJ ,Bacon PA ,et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. Arthritis Rheum 2013 ,65( 1) : 1 - 11.
6. 胡伟新 ,黎磊石. 系统性血管炎肾脏损害. 见: 黎磊石 ,刘志红主编. 中国肾脏病学. 北京: 人民军医出版社 ,2008. 523 - 554.
7. Mukhtyar C ,Lee R ,Brown D ,et al. Modification and validation of the Birmingham Vasculitis Activity Score( Version 3) . Ann Rheum Dis 2009 ,68( 12) : 1827 - 1832.
8. Hellmich B ,Flossmann O ,Gross WL ,et al. EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti - neutrophil cytoplasm antibody - associated vasculitis. Ann Rheum Dis ,2007 ,66( 5) : 605 - 617.
9. Peschel A ,Basu N ,Benharkou A ,et al. Autoantibodies to hLAMP - 2 in ANCA - negative pauci - immune focal necrotizing GN. J Am Soc Nephrol 2014 ,25( 3) : 455 - 463.
10. Sangaletti S ,Tripodo C ,Chiodoni C ,et al. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity. Blood 2012 ,120( 15) : 3007 - 3018.
11. Chen M ,Xing GQ ,Yu F ,et al. Complement deposition in renal histopathology of patients with ANCA - associated pauci - immune glomerulonephritis. Nephrol Dial Transplant ,2009 ,24( 4) : 1247 - 1252.
12. 曾玲玲 ,胡章学. ANCA 相关性小血管炎诱导缓解治疗进展. 中国中西医结合肾病杂志 2015 ,16( 1) : 85 - 87.
13. Syed R ,Rehman A ,Valecha G ,et al. Pauci - Immune Crescentic Glomerulonephritis: An ANCA - Associated Vasculitis. Bio Med Res Int 2015 ,2015( 3) : 1 - 8.
14. 胡伟新 ,刘春蓓 ,谢红浪 ,等. 霉酚酸酯与环磷酰胺治疗 ANCA 相关血管炎的临床对照研究. 肾脏病与透析肾移植杂志 2005 ,24( 6) : 501 - 507.
15. Roth AJ ,Ooi JD ,Hess JJ ,et al. Epitope specificity determines pathogenicity and detectability in ANCA - associated vasculitis. J Clin Invest 2013 ,123( 4) : 1773 - 1783.
16. Kawai H ,Banno S ,Kikuchi S ,et al. Retrospective analysis of factors predicting end - stage renal failure or death in patients with microscopic polyangiitis with mainly renal involvement. Clin Exp Nephrol 2014 ,18( 5) : 795 - 802.
17. 李毅 ,张燕 ,赵明 ,等. 抗中性粒细胞胞浆抗体相关性血管炎患者血清 C 反应蛋白水平及临床意义. 临床肾脏病杂志 ,2014 ,14( 4) : 226 - 229.
18. 刘霞 ,陈樱花 ,刘正钊 ,等. 抗中性粒细胞胞浆抗体相关性新月体肾炎治疗反应及远期预后的影响因素. 肾脏病与透析肾移植杂志 2016 ,25( 2) : 113 - 118.
19. Grouls S ,Iglesias DM ,Wentzensen N ,et al. Lineage specification of parietal epithelial cells requires beta - catenin/Wnt signaling. J Am Soc Nephrol 2012 ,23( 1) : 63 - 72.
20. Bennett M ,Dent CL ,Ma Q ,et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. Clin J Am Soc Nephrol 2008 ,3( 3) : 665 - 673.
21. Lieberthal JG ,Cuthbertson D ,Carette S ,et al. urinary biomarkers in relapsing antineutrophil cytoplasmic antibody - associated vasculitis. J Rheumatol 2013 ,40( 5) : 674 - 683.

( 收稿: 2017 - 04 - 05 修回: 2017 - 06 - 12)

\*\*\*\*\*

## 作者 · 编者 · 读者

### 本刊关于医学符号和医学名词英文缩写的使用

统计学符号不论用哪种字母 ,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母  $\bar{x}$  ,卡方的符号是希腊字母  $\chi^2$  ,自由度的符号是希腊文“ $\nu$ ” ,不是拉丁文“V”。相关系数是英文“ $r$ ” ,不能误为希腊文“ $\gamma$ ”。基因名称的英文缩写应采用斜体。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号 ,都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加“-”或“+”表示。例如  $\text{Na}^+$  , $\text{Ca}^{2+}$  , $\text{P}^{3-}$  等等 ,不采用  $\text{Ca}^{++}$  , $\text{P}^{---}$  , $\text{Al}^{+3}$  , $\text{O}^{-2}$  表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角 ,例如:  $^{131}\text{I}$  , $^{32}\text{P}$ 。表示激发状态的  $m$  ,写在右上角 ,例如:  $^{99}\text{Tc}^m$  , $^{133}\text{In}^m$ 。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称 ,即不能写成  $^{131}$ 碘、 $^{133m}$ 。

近几年分子生物学发展很快 ,并已渗透到许多学科 ,大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式;要对符号的来源及其内涵有深刻的了解 ,使用时不致发生错误 ,例如: RNA 有 rRNA( ribosomal RNA) ,tRNA( transfer RNA) ,mRNA( messenger RNA) 3 类。r ,t ,m 是表示类型的符号应小写 ,RNA 应大写。

医学名词英文缩略语 ,除常用缩写词外 ,应在首次出现时于中文全称后加括号注明英文全称和缩略语。如: 基质金属蛋白酶( matrixmetallo proteinases ,MMP) 。文中 ,应尽量少用英文缩写 ,一般不超过 5 种。3 个汉字以上并反复出现 3 次以上的医学名词方可用缩写。

本刊编辑部