

尿肝型脂肪酸结合蛋白预测慢性肾小球肾炎进展的价值

徐维佳 李佳琳 王琴 施蓓莉 牟姗 倪兆慧

【摘要】 目的 评估尿肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)预测慢性肾小球肾炎(CGN)病情进展的临床价值。方法 前瞻性入选 2004 年 1 月至 2005 年 12 月期间在我院行肾穿刺活检明确病理诊断的原发性 CGN 患者 123 例为对象,另选 28 例年龄、性别匹配的健康志愿者为对照。用酶联免疫吸附法检测肾穿刺前新鲜尿液 L-FABP 含量,同时常规检测各项血液及尿液指标。对所有患者进行 5 年随访,每 3 个月随访 1 次,在随访结束时分为疾病进展组和非进展组,评估影响 CGN 进展的危险因素。结果 与对照组相比,CGN 患者尿 L-FABP 均值明显升高($P < 0.01$)。尿 L-FABP 与估计肾小球滤过率(eGFR)呈负相关($r = -0.565, P < 0.01$);与尿蛋白量($r = 0.501, P < 0.01$)和 Ser($r = 0.601, P < 0.01$)呈正相关。Kaplan-Meier 分析显示,尿 L-FABP $>76.58 \mu\text{g/g}\cdot\text{cr}$ 的 CGN 患者的预后显著变差。尿 L-FABP 预测 CGN 进展的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.95。尿 L-FABP 为 $119.8 \mu\text{g/g}\cdot\text{cr}$ 时,其敏感性为 87.5%,特异性为 90.5%。结论 尿 L-FABP 可作为监测慢性肾小球肾炎疾病进展的新生物学标记物。

【关键词】 脂肪酸结合蛋白质类; 肾小球肾炎; 生物学标记

Value of urinary liver-type fatty acid binding protein in prediction of renal function progression in patients with chronic glomerulonephritis XU Wei-jia, LI Jia-lin, WANG Qin, SHI Bei-li, MOU Shan, NI Zhao-hui. Renal Division, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

Corresponding author: MOU Shan, Email: shan_mou@126.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the value of urinary liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) as a biomarker in prediction of renal function progression in patients with chronic glomerulonephritis (CGN). **Methods** A total of 123 patients with newly diagnosed CGN by renal biopsy in Shanghai Renji Hospital between 2004 January and 2005 December were enrolled in the study. Twenty-eight healthy subjects were used as control group. Urine samples were collected before biopsy and treatment, and urinary L-FABP was measured by ELISA. The patients with follow-up every three months for 5 years were divided into progressive group and non-progressive group. The progression of kidney function impairment was defined as a reduction of $\text{GFR} \geq 5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (1.73 \text{ m}^2)^{-1} \cdot \text{year}^{-1}$ during follow-up. The risk factors of progressive renal function were evaluated and the Spearman correlation analysis was performed to find out the prognostic indicator of renal function deterioration. **Results** Urinary L-FABP level of CGN patients was significantly higher than that of healthy control group ($P < 0.01$). Urinary L-FABP in CGN patients was negatively correlated with eGFR ($r = -0.565, P < 0.01$) and positively correlated

DOI: 10.3760/ema.j.issn.1001-7097.2012.04.005

基金项目:国家自然科学基金(81102700);教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留【2010】1174号);973课题(2012CB517602);上海市科委中医药现代化专项资金(09dZ1973600);上海市科委基础重点项目(10JC1410100);上海市卫生局科研基金(2010L063A)

作者单位:200127 上海交通大学医学院附属仁济医院肾内科

通信作者:牟姗,Email:shan_mou@126.com

with proteinuria ($r=0.501$, $P<0.01$) and Scr ($r=0.601$, $P<0.01$). Kaplan-Meier analysis showed that urinary L-FABP excretion $>76.58 \mu\text{g/g}\cdot\text{cr}$ predicted progression of renal function. The AUC of urinary L-FABP for prognosis of CGN progression was 0.95, with 87.5% of sensitivity and 90.5% of specificity at the cutoff value of $119.8 \mu\text{g/g}\cdot\text{cr}$, which revealed its great value of predicting the prognosis of CGN patients. **Conclusion** Urinary L-FABP can be a novel biomarker of evaluation for renal injury and early progressive renal function deterioration in patients with CGN.

【Key words】 Fatty acid-binding proteins; Glomerulonephritis; Biomarker

慢性肾小球肾炎(CGN)是常见的慢性肾脏病(CKD),常可发展为终末期肾病(ESRD)。早期干预有助于延缓肾功能下降,改善预后。然而,目前极少可用于监测CKD并预测其进展的临床标志物。肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)对急性肾损伤(AKI)的早期诊断有潜在价值,而L-FABP对CKD病情进展的预测价值却罕有报道。本研究探讨尿L-FABP在评估CGN进展中的临床意义。

对象与方法

1. 对象:选取2004年1月至2005年12月期间,在我院行肾穿刺活检,明确病理类型的原发性CGN患者123例为对象,男48例,女75例,平均年龄(51.59 ± 7.52)岁;排除有并发症、近期感染史、其他继发性肾病的患者。同时选取28例健康人为对照组,对照组的性别、年龄与CGN组差异无统计学意义。

2. 尿L-FABP测定:留取研究对象的新鲜尿液标本,尿液采集于肾活检前(治疗开始前)的清晨,以1000 r/min离心5 min,置于 -80°C 冰箱保存待测。用酶联免疫吸附法(ELISA)检测尿液标本的L-FABP排泄量,以 $\mu\text{g/g}\cdot\text{cr}$ 为单位。

3. 其他指标:包括血脂四项、全血细胞测定、血浆白蛋白(Alb)、Scr、血尿酸(UA)、BUN、24 h尿蛋白量、尿N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG),使用标准实验室程序测定。

4. 估计肾小球滤过率(eGFR):用MDRD公式计算,并以人体表面积校正。按KDIGO(2009)CKD分期标准,30例为CKD1期,36例为2期,21例为3期,6例为4期,30例为5期。

5. 随访:所有CGN患者均随访5年,期间每3个月在肾脏病门诊部随访1次,观察患者血、尿指标变化,计算eGFR值。将每年eGFR值下降 $\geq 5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot(1.73 \text{ m}^2)^{-1}$ 或在随访期间开始接受肾脏替代治疗定义为疾病进展组,而eGFR稳定或

下降未达上述标准者定义为非进展组。

6. 药物干预情况:74例高血压患者(血压 $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ 或使用抗高血压药物)研究期间使用抗高血压药物(利尿剂、钙通道阻滞剂),目标血压 $<130/80 \text{ mmHg}$;当尿蛋白量 $>1.0 \text{ g}/24 \text{ h}$ 时,则 $<125/75 \text{ mmHg}$ 。25例患者接受他汀类药物治疗。

7. 统计分析:计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示;计数资料用中位数或百分比。两组患者人口学统计、化验指标值差异用 t 检验;两组数据百分比的比较用 χ^2 检验;相关性用Spearman相关分析。用Cox分析检验与eGFR下降相关的危险因素。绘制尿L-FABP对诊断预测CGN进展的ROC曲线,计算ROC曲线下面积(AUC)。患者存活率使用Kaplan-Meier生存曲线分析。用SPSS 13.0软件包进行统计处理,以双侧 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义。

结 果

1. 生化指标:123例平均Scr(200.18 ± 138.69) $\mu\text{mol/L}$,血UA(413.48 ± 65.41) $\mu\text{mol/L}$,Hb(113.19 ± 27.18) g/L ,Alb(34.51 ± 3.63) g/L ,三酰甘油(TG)(2.08 ± 0.79) mmol/L ,总胆固醇(TC)(5.57 ± 1.04) mmol/L ,高密度脂蛋白(1.35 ± 0.19) mmol/L ,低密度脂蛋白(3.57 ± 0.78) mmol/L ,血清铁蛋白(226.47 ± 90.22) $\mu\text{g/L}$,尿蛋白量(2.24 ± 2.71) $\text{g}/24 \text{ h}$,C反应蛋白(CRP)(13.16 ± 6.71) mg/L ,eGFR(61.17 ± 21.96) $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot(1.73 \text{ m}^2)^{-1}$,尿NAG(4.2 ± 1.7) $\text{U}/\text{g}\cdot\text{cr}$,尿L-FABP(76.58 ± 34.61) $\mu\text{g/g}\cdot\text{cr}$ 。其中Scr、白蛋白、铁蛋白、尿蛋白量、CRP、eGFR、L-FABP与健康对照组差异有统计学意义。

2. 肾脏病理:IgA肾病36例,系膜增生性肾小球肾炎12例,局灶节段性肾小球硬化9例,微小病变24例,膜性肾病9例,肾小球硬化症33

例。

3. 尿 L-FABP 水平及相关分析:与健康对照组比较,CGN 患者入选时的尿 L-FABP 量均显著升高 [(76.58±34.61) 比 (20.12±3.69) μg/g·cr, $P < 0.01$]。进展组为 (159.41±9.16) μg/g·cr,非进展组为 (41.71±11.07) μg/g·cr,两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。Spearman 相关分析显示,尿 L-FABP 和 eGFR 呈负相关 ($r = -0.565, P < 0.01$);与尿蛋白 ($r = 0.501, P = 0.018$)和 Scr ($r = 0.601, P = 0.001$)均呈正相关。

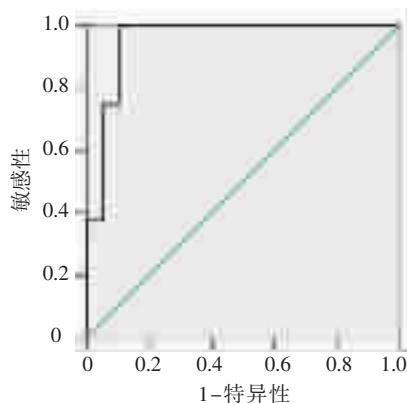
4. CGN 进展的危险因素分析及尿 L-FABP 的预测价值:随访结束时,CGN 患者中 36 例符合疾病进展的诊断标准,余 87 例为非进展组。进展组和非进展组间差异有统计学意义的危险因素包括男、高 Scr、高 UA、低 Hb、低 TG、高血清铁蛋白、高尿蛋白、低 eGFR、高尿 L-FABP,而其他指标的差异无统计学意义,见表 1。

表 1 CGN 进展组和非进展组的疾病进展危险因素比较

项目	进展组(n=36)	非进展组(n=87)	P 值
男/女(男%)	27/9(75.0)	21/66(24.1)	<0.05
Scr(μmol/L)	623.91±126.69	113.60±26.23	<0.01
UA(μmol/L)	521.03±30.12	371.23±22.00	<0.01
Hb(g/L)	90.25±7.25	122.68±4.10	<0.01
TG(mmol/L)	1.30±0.22	2.42±0.32	<0.01
血铁蛋白(μg/L)	323.07±70.99	173.35±26.31	<0.01
尿蛋白量(g/24 h)	4.00±1.17	1.36±0.17	<0.01
eGFR	18.81±8.04	79.33±6.89	<0.01
L-FABP(μg/g·cr)	159.41±9.16	41.71±11.07	<0.01

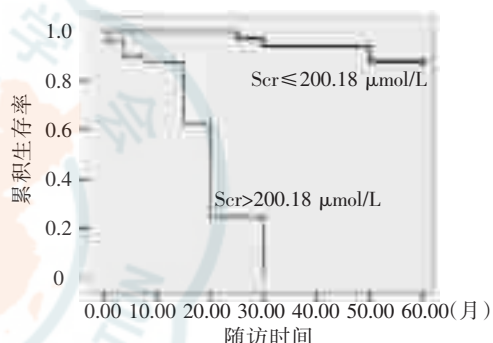
注:eGFR 单位:ml·min⁻¹·(1.73 m²)⁻¹

以上危险因素与疾病进展行 Spearman 相关分析结果显示,疾病进展与研究初始的 Scr ($r = 0.59, P < 0.01$)、血 UA ($r = 0.46, P < 0.019$)、24 h 尿蛋白量 ($r = 0.47, P < 0.022$)、尿 L-FABP ($r = 0.43, P < 0.01$) 呈正相关;与 eGFR ($r = -0.52, P < 0.01$) 呈负相关。多元回归分析表明,初始尿 L-FABP [Exp (B)8.044, $P = 0.039, 5\% \sim 95\%$ 置信区间 (CI)1.105~58.549]和 Scr 值 [Exp (B)1.005, $P = 0.016, 5\% \sim 95\% CI 1.001 \sim 1.009$]的升高,可以预测疾病进展。绘制尿 L-FABP 对预测 CGN 进展的 ROC 曲线,AUC 为 0.95;尿 L-FABP 为 119.8 μg/g·cr 时,其敏感性为 87.5%,特异性为 90.5%,见图 1。生存曲线显示,当 Scr>200.18 μmol/L,尿



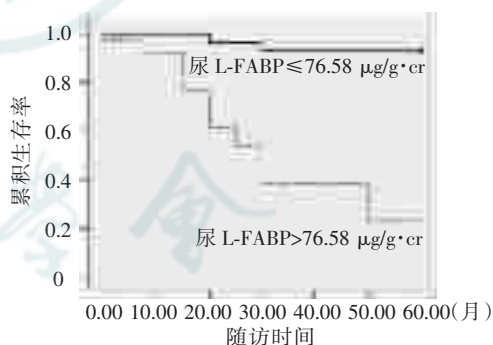
注:AUC 为 0.95;以 119.8 μg/g·cr 为临界点,敏感性为 87.5%,特异性为 90.5%

图 1 尿 L-FABP 预测 CGN 疾病进展的 ROC 曲线



注:提示 Scr>200.18 μmol/L 与不良预后相关

图 2 CGN 患者的初始 Scr 与累积生存率



注:提示尿 L-FABP>76.58 μg/g·cr 与不良预后相关

图 3 CGN 患者初始尿 L-FABP 水平与累积生存率

L-FABP> 76.58 μg/g·cr 时,患者生存率显著降低,预后较差,见图 2,图 3。

讨论

研究表明,慢性肾小球疾病的进展很大程度上取决于肾小管间质的损伤^[1]。游离脂肪酸来源于白蛋白,可能是大量蛋白尿导致肾小管间质损

伤的关键机制^[2]。在大量蛋白尿的情况下,游离脂肪酸在近端小管呈超负荷,并诱导炎性细胞因子表达,从而加重肾小管间质的损伤^[3]。L-FABP 是一种细胞内游离脂肪酸的小分子携带蛋白,主要由肝脏表达,在肾脏近端小管也有表达。近端小管负荷的游离脂肪酸与细胞质中的脂肪酸结合蛋白(FABP)相结合,转运至线粒体或过氧化物酶^[4]。由此,L-FABP 可调节游离脂肪酸代谢,并可能是维持游离脂肪酸在胞质内环境稳定的一个关键的调节因子。

L-FABP 最早发现于肝细胞,肾脏近曲小管上皮细胞亦表达^[5]。临床研究证实,L-FABP 是预测 AKI 的有效生物标志物^[6-7]。Nakamura 等^[8]报道,尿 L-FABP 水平在过敏性休克患者中显著升高,认为可能与肾小管损伤反应有关。Kamijo 等^[9]发现,尿 L-FABP 与肾小管间质损伤的严重程度相关。肾功能恶化患者的尿 L-FABP 水平显著升高,提示尿 L-FABP 可能也是预测 CKD 进展的生物学指标^[10]。野生小鼠近端肾小管不表达 L-FABP。

Kamijo 等^[9]以人类 L-FABP 基因转染小鼠,结果显示近端小管压力超负荷,导致小管间质损伤,诱导 L-FABP 基因的表达上调,并加速近端小管对 L-FABP 的排泄。因此,在肾功能恶化患者的近端肾小管中,L-FABP 基因表达和尿 L-FABP 排泄量均随着肾功能不全的进展而升高。

本研究结果表明,CGN 患者的尿 L-FABP 排泄量显著高于健康人群,表明尿 L-FABP 是反映肾脏疾病的参数之一,而肾功能恶化进展患者的尿 L-FABP 又显著高于无进展的患者。在本研究中,随着肾功能不全的进展,尿 L-FABP、尿蛋白、Scr 水平明显升高,eGFR 下降,而尿 NAG 水平却仍保持恒定。研究证明尿蛋白或尿白蛋白水平在肾小球结构损伤后升高,尿 NAG 则在近端小管发生结构性损伤后升高^[11]。由于肾脏疾病时近端小管的 L-FABP 表达上调,尿 L-FABP 可能在细胞结构发生改变时就开始升高,因此,尿 L-FABP 可更早期预测慢性肾脏疾病的进展。

本研究 ROC 曲线结果显示,当尿 L-FABP 为 119.8 $\mu\text{g}/\text{g}\cdot\text{cr}$ 时,尿 L-FABP 比目前普遍应用的尿蛋白更敏感。多元回归分析亦提示 L-FABP 和 eGFR 呈负相关。Oyama 等^[12]研究发现,CKD 患者血 L-FABP 与尿 L-FABP 水平无相关^[13],提示尿液水平不会受血液水平明显影响。

综上所述,尿 L-FABP 将会成为早期判定 CGN 病情进展、评估 CGN 预后的有效生物标志物,当然,有待更大规模的临床研究进一步证实。

参 考 文 献

- [1] Eddy AA. Experimental insights into the tubulointerstitial disease accompanying primary glomerular lesions. *J Am Soc Nephrol*, 1994, 5: 1273-1287.
- [2] Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, et al. Urinary free fatty acids bound to albumin aggravate tubulointerstitial damage. *Kidney Int*, 2002, 62: 1628-1637.
- [3] Arici M, Chana R, Lewington A, et al. Stimulation of proximal tubular cell apoptosis by albumin-bound fatty acids mediated by peroxisome proliferator activated receptor gamma. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14: 17-27.
- [4] Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest*, 1988, 81: 334-341.
- [5] Pelsers MM, Hermens WT, Glatz JF. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. *Clin Chim Acta*, 2005, 352: 15-35.
- [6] Portilla D, Dent C, Sugaya T, et al. Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int*, 2007, 73: 465-472.
- [7] Ferguson MA, Vaidya VS, Walker SS, et al. Urinary liver-type fatty acid-binding protein predicts adverse outcomes in acute kidney injury. *Kidney Int*, 2010, 77: 708-714.
- [8] Nakamura T, Sugaya T, Koide H. Urinary liver-type fatty acid-binding protein in septic shock: effect of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion. *Shock*, 2009, 31: 454-459.
- [9] Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, et al. Urinary excretion of fatty acid-binding protein reflects stress overload on the proximal tubules. *Am J Pathol*, 2004, 165: 1243-1255.
- [10] Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, et al. Urinary fatty acid binding protein as a new clinical marker for the progression of chronic renal disease. *J Lab Clin Med*, 2004, 143: 23-30.
- [11] Kamijo A, Sugaya T, Kimura K. Urinary fatty acid binding protein in renal disease. *Clinica Chimica Acta*, 2006, 374: 1-7.
- [12] Oyama Y, Takeda T, Hama H, et al. Evidence for megalin-mediated proximal tubular uptake of L-FABP, a carrier of potentially nephrotoxic molecules. *Lab Invest*, 2005, 85: 522-531.
- [13] Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, et al. Urinary liver-type fatty acid binding protein as a useful biomarker in chronic kidney disease. *Mol Cell Biochem*, 2006, 284: 175-182.

(收稿日期:2011-09-26)

(本文编辑:李耀荣)