

• 论 著 •

胱抑素 C 和非浓缩尿蛋白电泳联合检测在诊断肿瘤患者化疗中早期肾损伤的应用

肖大平, 史惠强[△], 邵洁, 戚前明

(中国人民解放军第三五九医院检验病理科, 江苏镇江 212001)

摘要:目的 探讨血清胱抑素 C(Cystatin C)和尿蛋白电泳联合检测在诊断肿瘤患者化疗中早期肾损伤的临床应用价值。方法 健康对照组 36 例和肿瘤化疗组 82 例进行 Cystatin C 的免疫透射比浊法检测, 并采用十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶电泳法(SDS-AGE)对其新鲜晨尿进行尿蛋白电泳检测。结果 肿瘤化疗组的 Cystatin C 含量显著高于健康对照组($P < 0.01$), 肿瘤化疗组的 Cystatin C 检测阳性率为 47.6%, 尿蛋白电泳检测阳性率为 58.5%, 两者联合检测阳性率可达 68.3%。结论 血清 Cystatin C 和尿蛋白电泳联合检测, 可提高化疗患者早期肾功能损害的诊断敏感性和特异性, 并有助于判断肾脏损害部位, 对肾损害的早期诊断有较高价值。

关键词:血清; 蛋白尿; 电泳; 胱抑素 C

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.08.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)08-0847-02

Application of combined detection of cystatin C and non-concentrated urine protein electrophoresis in the diagnosis of early renal injury in patients with cancer and treated with chemotherapy

Xiao Daping, Shi Huiqiang[△], Shao Jie, Qi Qianming

(Pathology Inspection Division, 359 Hospital of PLA, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical application of combined detection of serum cystatin C and urine protein electrophoresis in the diagnosis of early renal injury in patients with cancer and treated with chemotherapy. **Methods** 36 healthy individuals (healthy group) and 82 cases of patients with cancer and treated with chemotherapy (experimental group) were enrolled. Immune turbidimetric assay and sodium dodecyl sulphate-agarose gel electrophoresis (SDS-AGE) were performed to detect cystatin C and urine protein respectively. **Results** The level of cystatin C in experimental group was significant higher than healthy group ($P < 0.01$). The positive rate of cystatin C, urine protein electrophoresis and combined detection in experimental group were 47.6%, 58.5% and 68.3% respectively. **Conclusion** Combined detection of serum cystatin C and urine protein electrophoresis could improve the diagnostic sensitivity and specificity of early renal injury in patients treated with chemotherapy and could be used for the judgment of lesion location, indicating application value of it on the early diagnosis of renal damage.

Key words: serum; proteinuria; electrophoresis; cystatin C

目前, 化疗仍是治疗肿瘤最有效和常用的方法之一, 但多种化疗药物都有较强的肾毒性, 大剂量或连续给药可致患者不可逆性的肾脏损伤, 甚至出现肾衰竭或死亡^[1]。因此, 对肿瘤患者化疗期间进行肾损伤的早期发现显得极其重要。血清肌酐、尿素等指标常用于患者肾功能的临床评价, 但其检测结果易受多种因素的影响, 且诊断敏感度有限, 难以成为肾损害的早期诊断指标^[2-4]。近年来, 血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C (Cystatin C) 作为肾损伤的早期监测指标逐渐引起研究者的广泛关注, 其敏感性和特异性均优于肌酐和尿素^[5-7]。十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶电泳(SDS-AGE)可将非浓缩尿蛋白成分按分子大小分离出各种蛋白成分, 具有较高的检测灵敏度, 因此将此方法联合 Cystatin C 检测能更准确地、较全面地判断肾损伤程度和部位, 本研究将探讨这种联合的检测方式对肿瘤化疗患者肾损伤早期监测的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集第三军医大学西南医院的 82 例患者为肿瘤化疗组, 其中男 53 例, 女 29 例; 年龄 24~77 岁, 平均 57

岁; 患者排除肾脏及泌尿系统疾病。健康对照组 36 例, 其中男 20 例, 女 16 例; 平均年龄 55 岁, 排除肾脏疾病、泌尿系统疾病、药物过敏史等。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 用无抗凝剂真空采血试管分别抽取健康受试者和肿瘤患者化疗后空腹静脉血 2 mL, 2 h 内分离血清检测 Cystatin C, 同时, 分别收集健康受试者和肿瘤患者化疗后 10 mL 晨尿进行尿蛋白电泳检测。

1.2.2 研究方法 严格按仪器和各项试剂盒说明书操作规程进行。尿蛋白电泳采用十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶及半干胶进行全自动电泳分析, 仪器为 HYDRASYS 全自动电泳仪(法国 Sebia 公司)。Cystatin C 采用免疫透射比浊法测定, 仪器为 P800 全自动生化分析仪(罗氏公司), 试剂和质控品由浙江宁波瑞源生物科技有限公司提供。各检测参数按试剂盒说明书设置。

1.3 统计学处理 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析, 组内均值比较采用配对 t 检验, 组间比

[△] 通讯作者, E-mail: 380420401@qq.com.

较采用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

肿瘤化疗组的 Cystatin C 含量显著高于健康对照组 ($P<0.01$) (表 1)。对两组尿液标本进行 SDS-AGE 电泳后,分为 5 种类型:未检出及生理性、肾小管性、肾小球性、混合性蛋白尿,健康对照组与肿瘤化疗组的尿蛋白阳性率分别为 11.1% 和 79.3% (表 2)。Cystatin C 的参考值为 $0.54\sim 1.25\text{ mg/L}$ [8],结合临床观察,将 Cystatin C $>1.25\text{ mg/L}$ 判断为阳性。结果显示,肿瘤化疗组的 Cystatin C 检测阳性率为 47.6%,尿蛋白

电泳检测阳性率为 58.5%,而两者联合检测阳性率可达到为 68.3%,见表 3。

表 1 两组的 Cystatin C 检测结果 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Cystatin C(mg/L)
健康对照组	36	0.90 ± 0.31
肿瘤化疗组	82	$1.59\pm 0.71^*$

* : $P<0.01$,与健康对照组比较。

表 2 两组的尿蛋白电泳检测结果比较 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	未检出	生理性蛋白尿	肾小管性蛋白尿	肾小球性蛋白尿	混合性蛋白尿	尿蛋白阳性率
健康对照组	36	32(88.9)	4(11.1)	—	—	—	4(11.1)
肿瘤化疗组	82	17(20.7)	17(20.7)	12(14.6)	7(8.5)	29(35.4)	65(79.3)

—:未检出。

表 3 肿瘤化疗组 Cystatin C 与尿蛋白电泳检测的阳性率

检测项目	阳性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)
Cystatin C	39	47.6
尿蛋白电泳	48	58.5
Cystatin C 和尿蛋白电泳	56	68.3

3 讨 论

目前,肿瘤发病率较高,化疗仍是肿瘤治疗的最常用方法之一。化疗药物大量应用于临床恶性肿瘤患者的非手术治疗或手术后的巩固治疗。在治疗恶性肿瘤的同时,抗肿瘤药物又通过多种作用机制导致肾脏损伤,可改变肾小球内血流动力学,也可通过产生结晶体损伤肾小管 [9-11]。肾脏功能评价作用的指标有尿素和肌酐,但他们都有各自的局限性。由于肾脏具有强大的代偿功能,在肾功能轻度受损时,尿素、肌酐则可无明显变化,导致其敏感性较差。为早期发现化疗药物引起的肾功能损害,并能及早延缓肾功能损伤,临床迫切需要找到一些特异性强、敏感度高的检测指标。因此,寻找一种早期肾功能损害的检测指标具有重要的临床意义。

Cystatin C 属半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白家族,是一种在所有有核细胞表达的非糖化低相对分子质量的碱性蛋白质,有 122 个氨基酸残基,相对分子质量为 13.5×10^3 。因表达 Cystatin C 的基因启动子为“管家基因”,故其生成量较恒定,不受个体肌肉量、性别、年龄、肾前因素和慢性炎症的影响 [12-13]。Cystatin C 几乎能完全地由肾小球滤过,在近曲小管上皮细胞重吸收降解,不会以原形回到血液循环。血浆或血清中的 Cystatin C 含量的多少就完全取决于肾小球的滤过率,因此 Cystatin C 是反映肾小球滤过率较为理想的内源性指标。本研究检测结果显示,肿瘤化疗组的 Cystatin C 显著高于健康对照组,表明化疗患者的肾小球滤过率已有改变,其检测阳性率达到 47.6%,与传统的尿素、肌酐测定比较均差异有统计学意义 ($P<0.05$),其能对肿瘤患者进行化疗时所造成的早期肾损伤进行监测。

SDS-AGE 非浓缩尿蛋白电泳利用琼脂糖凝胶的选择性及多孔性,且根据蛋白质的相对分子质量,可把尿液标本的电泳

区带分为生理性蛋白尿和肾小球性蛋白尿、肾小管性蛋白尿和混合性蛋白尿,具有操作简便、尿液无需浓缩、结果便于保存等优点,尤其是其有较高的检测敏感度,最小检出敏感度为 15 mg/L [14]。本组病例中肾小管性蛋白尿 12 例 (12/82)、肾小球性蛋白尿 7 例 (7/82)、混合性蛋白尿 29 例 (29/82),尿蛋白电泳检测阳性率为 58.5%。可见,选用 SDS-AGE 进行非浓缩尿蛋白电泳不仅敏感度高,还可直观地反映肾早期损伤的部位,对正确判断蛋白尿性质、来源和了解肾脏的损伤程度具有重要的意义。将 Cystatin C 检测和尿蛋白电泳检测联合时,检测阳性率可达到 68.3%。可见,联合检测血清 Cystatin C 和尿蛋白电泳,有助于提高化疗患者肾功能损害的诊断敏感性和特异性,并有助于临床初步、快速判断肾脏损害部位及病变严重程度,对早期肾损害的诊断、鉴别诊断、判断预后有较高临床价值。

参考文献

[1] 张宏,王星冀,段贵芬,等.血清胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 在评价肿瘤患者化疗中早期肾损伤的意义[J].河北医学,2010,32(13):1802.

[2] 朱新兴,王永文,郑红英,等.肾小管损害各种早期诊断指标的评价[J].检验医学,2005,20(3):271-273.

[3] 郑菲,韩波,石启洋.不同生化分析系统血清肌酐、尿素测定结果的倚倚评估[J].临床和实验医学杂志,2007,6(4):88-89.

[4] 郭蔚,王肖龙,王英杰,等.血清肌酐正常的慢性心力衰竭患者早期肾功能损害情况[J].上海医药,2010,33(4):360-362.

[5] 胡英华,胡红文,赵磊.尿微量清蛋白联合尿酶测定在诊断急性脑梗死早期肾损伤中的应用[J].河北医学,2010,32(14):1857-1858.

[6] 罗奇智,曾彩凤.血清胱抑素 C 对高血压早期肾损害的诊断价值[J].检验医学与临床,2010,7(2):101-105.

[7] 袁平宗,鄢志丽.血清胱抑素 C 测定对肾脏疾病的临床价值[J].检验医学与临床,2010,7(12):1184-1185.

[8] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:470.

[9] Pucci L, Triscornia S, Lucchesi D, et al. Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure(下转第 850 页)

体(ANA)。有学者认为,自身免疫性疾病的启动因子是病毒感染,靶细胞中的抗原成分发生改变或者由于病毒蛋白与正常组织成分间有同源性从而诱发自身免疫,并认为 HCV 感染可通过分子模拟现象激活自身反应性 CD8 T 细胞,从而诱发自身免疫^[7]。

本组研究结果显示,HCV RNA 阳性的丙型肝炎患者其抗肝抗原自身抗体谱的阳性率高于单纯抗 HCV 阳性丙型肝炎患者,这在一定程度上说明 HCV RNA 阳性的丙型肝炎患者发生的自身免疫性反应更为严重^[8]。

抗线粒体抗体是一个与多种疾病相关的自身抗体指标之一,高滴度的 AMA-M2 是原发性胆汁性肝硬化的特征,在丙型肝炎患者体内也有检出 AMA-M2 的报道,只是阳性率和抗体滴度相对于原发性胆汁性肝硬化都偏低^[7];在本研究中,HCV RNA 阳性组其阳性率为 6.8%,而 HCV RNA 阴性组其阳性率 2.6%,与美因兹大学 Lohse 教授报道的丙型肝炎患者抗线粒体抗体 M2 型阳性率为 0.0%相比偏高^[7]。SLA 抗体被认为是自身免疫性肝炎的主要标志性抗体,经研究证实它是相对分子质量为 50×10³ 的细胞溶质分子 UGA 抑制物 tRNA 相关蛋白,并参与细胞硒蛋白的生物合成与调节,推测抗 SLA 抗体可能对肝细胞有破坏作用^[9-10]。在本研究中,抗 SLA 抗体 HCV RNA 阳性率达到 9.9%,为一个较高的水平,因此怀疑该组部分丙型肝炎患者可能合并自身免疫性肝炎。LKM-1 的主要抗原成分是细胞色素 P450 2D6(CYP2D6),足量的 CYP2D6 表达是 LKM-1 产生的先决条件。有研究表明,识别 CYP2D6 的主要线性抗原决定簇是一个具有氨基酸 257~269 的肽段,只有 20%的 LKM-1 阳性丙型肝炎患者可被识别^[11],目前考虑 LKM-1 抗体可能通过直接和肝细胞表面结合而引起肝细胞损伤,或者由过滤性 T 淋巴细胞引起肝细胞损伤^[12-13]。在 4 项抗肝抗原自身抗体谱的检测中,显然丙型肝炎患者无论 HCV RNA 阳性或阴性,其 LKM-1 的阳性率是最高的,分别达到 17.9%和 12.8%,这说明 LKM-1 在 HCV 病毒对细胞的损害中发挥了一定的作用。LC-1 作为 2 型自身免疫性肝炎的诊断指标在 HCV 患者中阳性率最低,但在 HCV RNA 阳性与阴性患者间也存在差异^[14]。

参考文献

[1] 钟海军,唐孝亮,曾刚毅.核酸纯化柱提取核酸定量检测丙型肝炎

病毒 RNA 的临床应用[J]. 检验医学与临床,2008,7(13):783-784,798.

[2] Fanning L,Kenny E,Sheehan M,et al. Viral load and clinic pathological features of chronic hepatitis C(1b) in a homogeneous patient population[J]. Hepatology,1999,24(29):904-907.

[3] 雷秀霞,徐邦牢,明凯华,等. 两种荧光定量法检测 HCV RNA 结果的比较[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(9):777-779.

[4] 许爱萍,吴林,李俊,等. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 对环加氧酶 2 表达的影响[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(8):778-779.

[5] 王江滨,徐严,季尚玮. 自身免疫性肝炎病与合并自身免疫现象丙型肝炎的鉴别[J]. 临床消化病杂志,2008,20(6):334-338.

[6] 张春明,牛广华,钱铸山. 丙型肝炎病毒感染者血清中自身抗体检测结果分析[J]. 临床肝胆病杂志,2006,22(2):107-108.

[7] Obermayer-Straub P, Strassburg CP, Manns MP. Autoimmune hepatitis[J]. J Hepatology,2000,32 Suppl 1:181-197.

[8] Squadrito G,Previti M,Lenzi M,et al. High prevalence of non-organ-specific autoantibodies in hepatitis C virus-infected cirrhotic patients from southern Italy[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2003,48(2):349-353.

[9] 赵彦,张永宏,檀玉芬,等. 自身免疫性肝炎患者可溶性肝抗原特异性 T 淋巴细胞反应特点及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2010,33(8):723-727.

[10] Wies I,Brunner S,Henninger J,et al. Identification of target antigen for SLA/LP antoantibodies in autoimmune hepatitis[J]. Lancet,2000,355(9214):1510-1515.

[11] Desmet VJ,Gerber M,Hoofnagle JH,et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging [J]. Hepatology, 1994,19(6):1513-1520.

[12] Robin MA,Maratrat M,Loeper J,et al. Cytochrome P4502B follows a vesicular route to the plasma membrane in cultured rat hepatocytes [J]. Gastroenterology,1995,108(4):1110-1123.

[13] 檀玉芬,闫惠平,赵艳,等. 丙型肝炎和自身免疫性肝炎自身抗体的特点分析[J]. 中国实验诊断学,2007,11(5):622-625.

[14] 葛明广,陈洪才,杨希菊,等. 不同基因型丙型肝炎患者自身免疫抗体的研究[J]. 中国误诊学杂志,2006,6(16):3072-3074.

(收稿日期:2011-02-09)

(上接第 848 页)

of kidney function in diabetic patients[J]. Clin Chem,2007,53(3):480-488.

[10] 张彬,韩春,王澜. 三维适形放疗联合 NP 方案同期化疗治疗Ⅲ期非小细胞肺癌分析[J]. 中国临床医学,2010,17(3):373-375.

[11] 王美鉴,王雅琦,张宾,等. 核素肾动态显像对非小细胞肺癌化疗后早期肾损害的评价[J]. 实用癌症杂志,2009,24(6):624-626.

[12] 张婉华,何雅军,易向民,等. 血清胱抑素 C 在检测糖尿病肾病中

的价值[J]. 广州医药,2009,40(1):58.

[13] 段晓星,张国光,梦雅平. Cystatin C 评估慢性肾脏病肾功能的研究[J]. 内蒙古医学院学报,2010,32(2):87-91.

[14] 栗群英,徐万清,龚阳彬,等. 非浓缩尿蛋白电泳在肾脏疾病诊断中的临床应用[J]. 西南军医,2007,9(6):59.

(收稿日期:2011-02-03)