

merging application areas[J]. J Mol Recognit, 2004, 17(3): 151-161.

[16] McDonnell JM. Surface plasmon resonance: towards an understanding of the mechanisms of biological molecular recognition [J]. Curr Opin Chem Biol, 2001, 5(5): 572-577.

[17] Berthier A, Elie-Caille C, Lesniewska E, et al. Label-free sensing and atomic force spectroscopy for the characterization of protein-DNA and protein-protein interactions: application to estrogen receptors[J]. J Mol Recognit, 2011, 24(3): 429-435.

[18] Vinogradova T, Danaher M, Baxter A, et al. Rapid surface plasmon resonance immunobiosensor assay for microcystin toxins in blue-green algae food supplements[J]. Talanta, 2011, 84(3): 638-643.

[19] Milkani E, Lambert CR, McGimpsey WG. Direct detection of acetylcholinesterase inhibitor binding with an enzyme-based surface plasmon resonance sensor[J]. Anal Biochem, 2011, 408(2): 212-219.

[20] Nice EC, Catimel B. Instrumental biosensors: new perspectives for the analysis of biomolecular interactions[J]. Bioessays, 1999, 21(4): 339-352.

[21] Pei RJ, Yang XR, Wang EK. Enhanced surface plasmon resonance immunoassay for human complement factor 4[J]. Anal Chim Acta, 2002, 453(2): 173-179.

[22] Cui X, Yang F, Sha Y, et al. Real-time immunoassay of ferritin using surface plasmon resonance biosensor[J]. Talanta, 2003, 60(1): 53-61.

[23] Tanaka H, Hanasaki M, Isojima T, et al. Enhancement of sensitivity of SPR protein microarray using a novel 3D protein immobilization[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2009, 70(2): 259-265.

[24] Kim MG, Shin YB, Jung JM, et al. Enhanced sensitivity of surface plasmon resonance (SPR) immunoassays using a peroxidase-catalyzed precipitation reaction and its application to a protein microarray[J]. J Immunol Methods, 2005, 297(1-2): 125-132.

[25] Jungwoo M, Taewook K, Surin H, et al. Enhancement of surface plasmon resonance (SPR) signals using organic functionalized mesoporous silica on a Gold film[J]. Sens and Actuat B: Chem, 2006, 114(2): 1096-1099.

[26] Huang YY, Hsu HY, Huang CJ. A protein detection technique by using surface plasmon resonance (SPR) with rolling circle amplification (RCA) and nanogold-modified tags[J]. Biosens Bioelectron, 2007, 22(6): 980-985.

(收稿日期: 2012-12-28)

• 综 述 •

# 血管性血友病因子裂解蛋白酶活性检测方法的研究新进展\*

姚拾秀, 江 森 综述, 赵益明<sup>△</sup> 审校

(苏州大学附属第一医院江苏省血液研究所, 卫生部血栓与止血重点实验室, 江苏苏州 215006)

**关键词:** 血管性血友病因子裂解蛋白酶; 酶活性检测; 综述

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 15. 036 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2013)15-1995-04

血管性血友病因子裂解蛋白酶(vWF-cp)的活性与血栓形成及出血、微血管病变、弥散性血管内凝血(DIC)、肿瘤浸润与转移、肝脏疾病、自身免疫性疾病以及血栓性血小板减少性紫癜(TTP)等疾病的发病密切相关,检测 ADAMTS-13 活性水平对诊治这些疾病有着极其重要的意义,目前 ADAMTS-13 活性的检测方法繁多,而且检测技术不断改进。Furlan 等<sup>[1]</sup>和 Tsai<sup>[2]</sup>同时报道了健康人血浆中存在能够裂解超大血管性血友病因子多聚体蛋白酶-vWF-cp 的存在。vWF-cp 是具凝血酶敏感蛋白结构的去整合素域和金属蛋白酶域蛋白家族成员之一,被命名为 ADAMTS-13。Zheng 等<sup>[3]</sup>发现仅能在肝脏检出 ADAMTS-13,并对其 cDNA 进行测序,其序列长度为 4. 6 kb。Uemura 等<sup>[4]</sup>对肝脏内产生 ADAMTS-13 的细胞进行检测分析,用 ADAMTS-13 的两种单抗(A10 和 C7)对 C 型慢性肝炎冰冻肝组织切片行免疫组化染色,观察到杂交检出的树枝状 ADAMTS-13 mRNA 信号,并用共聚焦激光显微镜观察到 A10 单抗与标记活的肝星状细胞的  $\alpha$  肌动蛋白抗体二重染色结果,这些说明 ADAMTS-13 可能主要由肝星状细胞(HSC)产生。血小板、巨核细胞、肾脏的足细胞和血管内皮细胞等均可产生 ADAMTS-13。

ADAMTS-13 基因位于 9 号染色体长臂,全长 37 kb,由

29 个外显子组成,cDNA 含 4 597bp 以及 1 个多聚腺苷酸尾,开放阅读框为 4 284bp,由 1 427 个氨基酸残基组成。血浆中 ADAMTS-13 在一定剪切力条件下,作用于 vWF 分子 A2 区 842 位酪氨酸与 843 位蛋氨酸之间的肽键,将 vWF 裂解为不具有黏附活性的两个片段。研究发现,ADAMTS-13 的活性与血栓形成及出血、微血管病变、DIC、肿瘤浸润与转移、肝脏疾病、自身免疫性疾病以及 TTP 等疾病的发病密切相关<sup>[5-8]</sup>。这些疾病的共同特征是都涉及微血管改变,包括血管内皮改变,血小板活化等,这皆与血栓形成有关,而 ADAMTS-13 在这些疾病与血栓疾病之间起着桥梁性作用。此外,研究表明,内科危重症血小板减少相关性多器官功能衰竭(TAMOF)的发生主要是由于 ADAMTS-13 功能障碍所致<sup>[9]</sup>。因此,ADAMTS-13 活性的检测对上述疾病的诊断和治疗意义重大。目前 ADAMTS-13 活性检测尚无统一标准,实验室检测存在操作步骤繁琐,耗时长,检测技术要求高等缺点,现将近年来 ADAMTS-13 活性的检测方法进行综述。

## 1 ADAMTS-13 活性检测方法特点

ADAMTS-13 的检测方法包括直接检测法和间接检测法,直接检测法是通过检测 vWF 裂解产物来测定 ADAMTS-13 的活性,间接检测法是通过检测残余底物或被消耗的底物来测

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30971287,81100347);江苏省临床医学中心资助项目(ZX201102)。 作者简介:姚拾秀,女,硕士研究生在读,主要从事临床血液学与检验,血栓与止血方面的研究。 <sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:Zhaoyimingbox@163. com。

定 ADAMTS-13 的活性。具体的检测方法有:抗原检测(主要用于区分获得性 TTP 及遗传性 TTP),抗 ADAMTS-13 抗体检测(确定体内存在抑制 ADAMTS-13 的抗体及诊断获得性 TTP 并监测免疫抑制的治疗效果),(3)活性检测(主要用于确

诊 TTP 及监测治疗效果)。活性检测是各类文献中最常报道的检测方式,目前检测 ADAMTS-13 活性的方法均是通过检测 vWF 裂解的程度来予以判定。ADAMTS-13 活性检测的一些方法及其特点(表 1)。

表 1 各种 ADAMTS-13 活性检测方法及其特点

| 检测方式 | 检测方法                         | 特点                | 参考文献    |
|------|------------------------------|-------------------|---------|
| 直接检测 | 十二烷基磺酸钠-琼脂糖凝胶电泳法(SDS-AGE)    | 步骤多,耗时长。          | [1]     |
|      | 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE) | 差异性较大,变异系数较高。     | [2]     |
|      | 荧光共振能量转移法(FRETs)             | 操作简便,耗时短,小于 2 h。  | [10]    |
| 间接检测 | 免疫放射计量试验(IRMA)               | 耗时较长,检出率低。        | [11]    |
|      | 胶原结合实验(CBA)                  | 变异系数低,检出率低。       | [12]    |
|      | 瑞斯托霉素辅因子测定                   | 检出率高,稳定。          | [13]    |
|      | 流体剪切力下的检测法                   | 低估 ADAMTS-13 的活性。 | [14-15] |
|      | ELISA                        | 操作简便,耗时短,检出率稳定。   | [16-18] |

1.1 SDS-AGE 法 用 SDS-AGE 法测定 ADAMTS-13 活性最先由 Furlan 等<sup>[1]</sup>提出。先用 chloride/Tris 缓冲液稀释用枸橼酸钠抗凝的血浆样本,ADAMTS-13 蛋白酶通过 BaCl<sub>2</sub> 激活于 37 ℃ 反应 5 min,然后继续在纯化的 vWF 和变性剂尿素溶液中孵育 24 h,反应通过加入 EDTA 后得以终止。抗 vWF 抗体通过琼脂糖凝胶电泳及 Western blotting 法来检测纯化的 vWF 多聚体蛋白水解的下降速度,最后通过相关数据来计算 ADAMTS-13 的活性。

1.2 SDS-PAGE 法 Tsai<sup>[2]</sup>首先报道分离出 vWF-cp,将底物 vWF 预先用盐酸胍处理后,在样品-底物反应混合物中加入 Cacl<sub>2</sub> 激活 vWF 裂解酶,结束时加入 EDTA-SDS 上样缓冲液终止反应。Kokame 等<sup>[19]</sup>改良了这种方法,使用人重组的 vWF 片段(aa1596-1668)-仅有 73 个氨基酸的 A2 区片段,通过电泳检测裂解后的片段来判定酶的活性。

1.3 FRETs 法 Kokame 等<sup>[10]</sup>为解决使用 SDS-PAGE 法检测 ADAMTS-13 活性对技术层面要求高及耗时长,不利于临床应用的缺点,使用荧光共振能量转移法(FRET)检测底物被裂解的情况。实验利用 A2 区短片段(vWF-73aa),合成荧光标记的底物 vWF-73(FRETs-vWF 73),将底物与一定比例稀释的待测血浆加入 96 空板在检测仪上读数,ADAMTS-13 活性正常的样本荧光值随时间增加而增长,活性缺乏的患者荧光值无变化。整个实验耗时小于 2 h,是目前最快的检测方法。

1.4 IRMA 法 Veyradier 等<sup>[11]</sup>使用重组 WT-r vWF 作底物,避免了实验前底物中含有具有活性的 ADAMTS-13。用 Bacl<sub>2</sub> 激活 ADAMTS-13,待测血浆中加丝氨酸蛋白酶抑制剂,将待测血浆和底物混合在含尿素的缓冲液中室温透析 18 h,然后使用免疫放射计量试验检测残留 vWF 含量。

1.5 CBA 法 Rick 等<sup>[20]</sup>应用患者自身血浆中内源性 vWF,将患者血浆稀释后透析,检测透析前胶原结合能力和透析后胶原结合能力的差异,来计算 ADAMTS-13 活性。此方法一致性尚可,并且在所有胶原结合试验中,变异系数(CV)值最低,但该方法对低 ADAMTS-13 活性的标本检出率也低,容易漏检<sup>[21]</sup>。

1.6 瑞斯托霉素辅因子检测法 2002 年 Böhm 等<sup>[13]</sup>根据瑞斯托霉素辅因子含量与血浆中 vWF 多聚物的残留呈负相关这一理论基础,建立了检测 vWF 活性的方法。该方法与胶原结

合实验原理相似,不同的是其是通过瑞斯托霉素诱导的血小板聚集来检测残余的 VWF 活性<sup>[22]</sup>,其优点是少量的样本在任何时间都可以在血小板聚集仪上检测,该指标检测 ADAMTS-13 活性,在方法评估中该方法检测值和预期值的一致性最高,并且 CV 值低,对于 ADAMTS-13 活性缺陷检出率高,是最稳定的方法之一<sup>[21]</sup>。

1.7 流体剪切力下检测法 生理条件下高剪切力对于 ADAMTS-13 裂解超大 vWF 非常重要,Dong 等<sup>[14]</sup>与 Shenkman 等<sup>[15]</sup>验证了在流体剪切力下少于 2 min 的时间就能裂解超大 vWF,而在体外静止条件下则需要几个小时的时间。从这些基于流体剪切力的实验结果来看,体外静止条件下的检测有可能低估了 ADAMTS-13 的活性。

1.8 间接 ELISA 底物采用表位标记的重组片段(如重组的 vWF A2 区肽段或 vWF73),这些底物和抗体一起黏附于平板上,患者的血浆加入其中,经过孵育,抗体与残余底物相结合,检测出的残余底物水平与 ADAMTS-13 活性成反比,通过检测底物剩余量来计算 ADAMTS-13 的活性<sup>[16-18]</sup>。

既往用来检测 ADAMTS-13 活性的经典方法主要包括两个步骤,首先用患者血浆中 ADAMTS-13 裂解酶对底物 vWF 进行蛋白水解,然后对 vWF 裂解产物进行定量或功能测定,这些检测技术操作步骤繁琐,费时较长,检测技术要求高,而且需要使用变性剂如尿素和盐酸胍等。这些技术中有的是直接通过 vWF 多聚物分析来检测裂解产物,有的是使用残余胶原结合实验或瑞斯托霉素辅因子检测等间接检测技术。在过去几年里,这些检测方法都有较大的改进与提高,使得 ADAMTS-13 检测在一般实验室都能开展。最新的检测技术是利用 ADAMTS-13 在 vWF 的裂解位点裂解肽底物如重组的 vWF A2 区或 vWF 73,将患者的血浆与肽底物孵育,然后通过检测剩余 vWF 或裂解产物来计算 ADAMTS-13 的活性。FRETs 法与 ELISA 均是通过这种新的检测技术发展起来的,与传统方法相比,不仅缩短了检测时间,提高了检测的准确性和敏感性,而且不需要使用变性剂和二价金属离子来加速 ADAMTS-13 裂解 vWF。

2 ADAM TS-13 活性检验方法评估

近些年,有一些研究对 ADAMTS-13 活性检测方法进行了评估。2003 年 Studt 等<sup>[23]</sup>率先评估了不同实验室用 CBA

法、瑞斯托霉素辅因子测定、免疫印迹分析法、免疫放射分析法等来检测 ADAMTS-13 活性情况,文章最后并没有得出孰优孰劣的结论,作者认为,绝大部分的实验室及使用方法均能检测血清中 ADAMTS-13 活性低于 5% 的水平。虽然 ADAMTS-13 活性检测水平在各个实验室之间很少一致,但是这些结果均能对临床提供指导和帮助。Kremer Hovinga 等<sup>[24]</sup>则将 PRETS-vWF73 检测法和另外五种检测方法(IRMA 法,定量免疫印迹法,两种不同底物的胶原结合实验,瑞斯托霉素辅因子检测)做了比较,得出结论为 PRETS-vWF73 检测方法的相关系数最高。2004 年 Tripodi 等<sup>[21]</sup>组织了国际多中心研究来评价 11 种检测 ADAMTS-13 活性方法的特性,此次的研究结果与 Studt 等<sup>[23]</sup>的研究结果相类似,研究结果再次证实绝大部分实验方法均能检测出底物的严重缺失,但是正常的 ADAMTS-13 活性水平在各种方法检测很少有一致性的结果。2008 年 Tripodi 等<sup>[25]</sup>组织了第二次国际多中心研究,本次研究回顾了这 4 年中 ADAMTS-13 活性检测的重大变化,研究的目的是盲评新的方法及在检测 60 组冰冻血浆中的性能特性。研究认为,所有的检测方法都比第一次的评估结果更好,ADAMTS-13 活性的实测值与预期值检测线性度由(0.39~0.97)上升到(0.931~0.998),11 种检测方法中有 8 种方法的可重复性得到很好的提升。这些结果的取得归功于 vWF 肽特异性及多克隆/单克隆抗体的使用,从而保证了实验检测水平的提高以及结果的可靠。

ADAMTS-13 的活性检测方法种类多,不同的检测方法之间,检测结果也存在较大差异。此外,体外 ADAMTS-13 活性检测方法绝大部分是在静态条件下进行,而体内流体状态能发挥 ADAMTS-13 酶活性的最佳效能,体外的静态条件与体内的流体状态有较大差异,因而体外的 ADAMTS-13 活性检测并不能完全代表体内的 ADAMTS-13 活性状态水平。另外,变性剂(提高 ADAMTS-13 对 vWF 多聚体裂解水平)的使用也对检测 ADAMTS-13 活性有很大影响,这些变性剂不仅能影响 ADAMTS-13 活性,还能抑制 ADAMTS-13 与抗体之间的相互作用。此外还有一些研究显示,ADAMTS-13 活性检测还受内源性 vWF、高胆红素血症、血红蛋白水平、血型、血样本身等条件的影响<sup>[26-29]</sup>,血浆中蛋白酶的缺失也会影响到对 vWF 的清除<sup>[30]</sup>。

### 3 结 语

过去十年,ADAMTS-13 的活性测定取得了很大的进步,主要体现在检测的时间明显缩短,操作的可重复性明显提高,检测时间由过去的 24 h 缩短至现在的 1 h 以内。这些都为 TAMOF 等血小板相关的危重疾病的诊治提供了非常重要的临床依据。然而,ADAMTS-13 的活性测定目前尚无公认的国际标准,如何来合理评价每种检测方法的优劣,并选择出最合适的检测方法,是目前亟待解决的问题。

### 参考文献

- [1] Furlan M, Robles R, Lämmle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis[J]. Blood, 1996, 87(10):4223-4234.
- [2] Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires Calcium ion[J]. Blood, 1996, 87(10):4235-4244.
- [3] Zheng X, Chung D, Takayama TK, et al. Structure of von willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease

- involved in thrombotic thrombocytopenic purpura [J]. J Biol Chem, 2001, 276(44):41059-41063.
- [4] Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, et al. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver[J]. Blood, 2005, 106(3):922-924.
- [5] Mazetto BM, Orsi FL, Barnabé A, et al. Increased ADAMTS13 activity in patients with venous thromboembolism[J]. Thromb Res, 2012, 130(6):889-893.
- [6] Habe K, Wada H, Ito-Habe N, et al. Plasma ADAMTS13, von willebrand factor(VWF) and VWF propeptide profiles in patients with DIC and related diseases[J]. Thromb Res, 2012, 129(5):598-602.
- [7] Ohshiro M, Kuroda J, Kobayashi Y, et al. ADAMTS-13 activity can predict the outcome of disseminated intravascular coagulation in hematologic malignancies treated with recombinant human soluble thrombomodulin[J]. Am J Hematol, 2012, 87(1):116-119.
- [8] Bettoni G, Palla R, Valsecchi C, et al. ADAMTS-13 activity and autoantibodies classes and subclasses as prognostic predictors in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura [J]. J Thromb Haemost, 2012, 10(8):1556-1565.
- [9] Yoo JH, Lee J, Roh KH, et al. Rapid identification of thrombocytopenia-associated multiple organ failure using red blood cell parameters and a volume/hemoglobin concentration cytogram[J]. Yonsei Med J, 2011, 52(5):845-850.
- [10] Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, et al. FRETS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay [J]. Br J Haematol, 2005, 129(1):93-100.
- [11] Veyradier A, Girma JP. Assays of ADAMTS-13 activity[J]. Semin Hematol, 2004, 41(1):41-47.
- [12] Gerritsen HE, Turecek PL, Schwarz HP, et al. Assay of von willebrand factor(vWF)-cleaving protease based on decreased collagen binding affinity of degraded vWF: a tool for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura(TTP)[J]. Thromb Haemost, 1999, 82(5):1386-1389.
- [13] Böhm M, Vigh T, Scharrer I. Evaluation and clinical application of a new method for measuring activity of von Willebrand factor-cleaving metalloprotease(ADAMTS13) [J]. Ann Hematol, 2002, 81(8):430-435.
- [14] Dong JF, Moake JL, Nolasco L, et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions[J]. Blood, 2002, 100(12):4033-4039.
- [15] Shenkman B, Inbal A, Tamarin I, et al. Diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura based on modulation by patient plasma of normal platelet adhesion under flow condition[J]. Br J Haematol, 2003, 120(4):597-604.
- [16] Whitelock JL, Nolasco L, Bernardo A, et al. ADAMTS-13 activity in plasma is rapidly measured by a new ELISA method that uses recombinant VWF-A2 domain as substrate[J]. J Thromb Haemost, 2004, 2(3):485-491.
- [17] Zhou W, Tsai HM. An enzyme immunoassay of ADAMTS13 distinguishes patients with thrombotic thrombocytopenic purpura from normal individuals and carriers of ADAMTS13 mutations [J]. Thromb Haemost, 2004, 91(4):806-811.
- [18] Réti M, Farkas P, Csuka D, et al. Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. J Thromb Haemost, 2012, 10(5):791-798.
- [19] Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, et al. VWF73, a region

from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13[J]. Blood, 2004, 103(2): 607-612.

[20] Rick ME, Moll S, Taylor MA, et al. Clinical use of a rapid collagen binding assay for von Willebrand factor cleaving protease in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. Thromb Haemost, 2002, 88(4): 598-604.

[21] Tripodi A, Chantarangkul V, Böhm M, et al. Measurement of von willebrand factor cleaving protease(ADAMTS-13); results of an international collaborative study involving 11 methods testing the same set of coded plasmas[J]. J Thromb Haemost, 2004, 2(9): 1601-1609.

[22] Böhm M, Betz C, Miesbach W, et al. Br J haematol[J]. The course of ADAMTS-13 activity and inhibitor titre in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with plasma exchange and vincristine[J]. Br J Haematol, 2005, 129(5): 644-652.

[23] Studt JD, Böhm M, Budde U, et al. Measurement of von willebrand factor-cleaving protease(ADAMTS-13) activity in plasma; a multicenter comparison of different assay methods [J]. J Thromb Haemost, 2003, 1(9): 1882-1887.

[24] Kremer Hovinga JA, Mottini M, Lömmle B. Measurement of ADAMTS-13 activity in plasma by the FRET-S-VWF73 assay: comparison with other assay methods[J]. J Thromb Haemost, 2006, 4(5): 1146-1148.

[25] Tripodi A, Peyvandi F, Chantarangkul V, et al. Second international collaborative study evaluating performance characteristics of methods measuring the von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13)[J]. J Thromb Haemost, 2008, 6(9): 1534-1541.

[26] Cao W, Sabatino DE, Altynova E, et al. Light chain of factor VIII is sufficient for accelerating cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13 metalloprotease[J]. J Biol Chem, 2012, 287(39): 32459-32466.

[27] McDonald V, Liesner R, Grainger J, et al. Acquired, noncongenital thrombotic thrombocytopenic purpura in children and adolescents; clinical management and the use of ADAMTS 13 assays [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2010, 21(3): 245-250.

[28] Rios DR, Fernandes AP, Figueiredo RC, et al. Relationship between ABO blood groups and von Willebrand factor, ADAMTS13 and factor VIII in patients undergoing hemodialysis[J]. J Thromb Thrombolysis, 2012, 33(4): 416-421.

[29] Just S. Methodologies and clinical utility of ADAMTS-13 activity testing[J]. Semin Thromb Hemost, 2010, 36(1): 82-90.

[30] Hollestelle MJ, Lai KW, van Deuren M, et al. Cleavage of von willebrand factor by granzyme M destroys its factor VIII binding capacity[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24216.

(收稿日期: 2013-04-08)

• 综 述 •

## 肾小球滤过率估算方程应用中需注意的几个问题

李 冬 综述, 焦连亭 审校

(天津中医药大学第一附属医院检验科, 天津 300193)

**关键词:** 肾小球滤过率; 估算方程; 综述

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 15. 037

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2013)15-1998-03

肾小球滤过率(GFR)是指单位时间内两肾生成滤液的量,健康成人 为 125 mL/min 左右。GFR 常用的参考方法是 90mTc-二乙三胺五乙酸(<sup>90</sup>Tc<sup>m</sup>-DTPA)放射性核素作标记检测,其受到费用高、仪器昂贵、需静脉内注射同位素可能造成照影剂性肾损害、实时尿液采集等操作繁杂、放射性污染等限制<sup>[1-3]</sup>。目前,常用的以血清或血浆肌酐来估算肾小球滤过率(eGFR)。血肌酐(Scr)的检测简便易行,但受性别、年龄、膳食及肌肉含量等因素的影响,不能精确、真实地反映 GFR,尤其是不能发现 GFR 的早期下降。肌酐清除率(CCr)避免了肌肉容积变化及肌酐肾外清除的影响,是比单独使用 Scr 更准确反映 GFR 的方法。由于需要收集 24 h 尿量,且常因尿量记录不准确而导致较大偏差。为了弥补上述方法的缺陷,基于 Scr 的 eGFR 估算公式应运而生,为肾功能的评价提供了简便而可靠的估测手段<sup>[4]</sup>。关于 eGFR 估算公式临床应用的文章很多,不同的 eGFR 公式基本上是对照参考方法,通过大样本的相关试验推导得出的。这些公式包含有可能的临床预测变量包括:血清肌酐,年龄,种族(白人、黑人或其他)和性别。因此使用这些公式来预测肾小球滤过功能,常受这些因素的影响,现就影响 eGFR 临床应用的一些因素做一介绍。

### 1 不同推导公式的影响

目前临床上常用的 eGFR 公式分别采用 Cockcroft-Gault (C-G)公式<sup>[5]</sup>、肾脏病膳食改良试验(MDRD)MDRD 公式<sup>[6]</sup>、简化 MDRD 公式<sup>[7]</sup>、中国 MDRD 公式<sup>[8]</sup>、中国简化 MDRD 公式<sup>[8]</sup>和慢性肾脏病流行病学协作组 CKD-EPI 公式<sup>[9]</sup>进行 eGFR 的估算,然而,上述公式均由国外学者对欧美人群的回归分析得到,是否适用于中国人群尚未经大样本研究予以验证。

邱玲等<sup>[10]</sup>应用 Bland-Altman 图比较各 eGFR 与参比肾小球滤过率(rGFR)偏离程度: C-G 公式、MDRD 公式、简化 MDRD 公式、CKD-EPI 公式,在 GFR 高值区评估的 eGFR 均呈负偏倚。在基于 Scr 的公式估算得到的 eGFR 中, C-G 公式与 eGFR 的相关程度最高。当以酶法 Scr 测定结果作为数据源时, C-G 公式较适合中国 CKD 住院患者 eGFR 的估算<sup>[3]</sup>。黄一新等<sup>[11]</sup>研究认为,在酶法测定 Scr 的条件下,MDRD 公式临床适用性最佳;王文霞等<sup>[12]</sup>认为对于糖尿病肾病患者,简化 MDRD 公式优于 C-G 公式,但这两项研究的样本量都较小。

MDRD 方程的开发样本平均 GFR 在 (39. 8±21. 2) mL/min,因此,当该公式用于 GFR 水平较高的患者时可能出现低估真实值的倾向;相反,当该公式用于 GFR 水平较低患者时又可能出现高估真实值的倾向<sup>[3]</sup>。MDRD 方程的开发是以慢性肾脏疾病(CKD)患者作为纳入人群, GFR 均值为 39. 8mL/