

• 论 著 •

儿童血浆和尿液中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白正常参考值的建立*

赵琦¹, 黄松², 叶辉¹, 葛青玮¹, 张泓^{1△}

(1. 上海交通大学附属儿童医院检验科, 上海 200062; 2. 上海科华生物工程股份有限公司, 上海 200233)

摘要:目的 建立上海某儿童医院血浆和尿液中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)正常参考值。方法 选取 2014 年 5—10 月上海交通大学附属儿童医院健康儿童新鲜 EDTA 抗凝血浆 183 份和新鲜尿液 125 份, 检测 NGAL 水平。根据 CLSI C28-A2 按年龄分组, 取 $\bar{x} \pm 1.96s$ 建立正常参考值。结果 各年龄组之间正常参考值范围间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。健康儿童血浆 NGAL 正常参考值: 0~<7 个月, <291.28 $\mu\text{g/L}$; 7 个月至 <5 岁, <150.87 $\mu\text{g/L}$; 5~<9 岁, <127.93 $\mu\text{g/L}$; 9~<16 岁, <161.74 $\mu\text{g/L}$; 健康儿童尿液 NGAL 正常参考值: 0~<7 个月, <257.31 $\mu\text{g/L}$; 7 个月至 <5 岁, <201.55 $\mu\text{g/L}$; 5~<9 岁, <197.69 $\mu\text{g/L}$; 9~<16 岁, <151.46 $\mu\text{g/L}$ 。0~<7 个月组血浆和尿液 NGAL 结果较其他 3 组高。结论 建立儿童医院血浆和尿液 NGAL 的正常参考值, 为儿科急性肾功能损伤的诊断和治疗提供临床依据。

关键词: 儿童; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 参考值范围

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)08-1032-03

Establishment of normal reference intervals of plasma and urine neutrophil gelatinase associated lipocalin in children*

ZHAO Qi¹, HUANG Song², YE Hui¹, GE Qingwei¹, ZHANG Hong^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200062, China; 2. Shanghai Kehua Bio-Engineering Co., Ltd, Shanghai 200233, China)

Abstract: Objective To establish normal reference intervals of plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in children's hospital. **Methods** A total of 183 fresh EDTA anticoagulant samples and 125 fresh urine in healthy children were collected from May 2014 to October 2014. According to the CLSI C28-A2, the unilateral upper limit 95% was established the normal reference value in different age group. **Results** There was significant difference in four groups ($P < 0.05$). The normal reference intervals of plasma NGAL in healthy children: 0 to <7 months; <291.28 $\mu\text{g/L}$; 7 months to <5 years old; <150.87 $\mu\text{g/L}$; 5 years old to <9 years old; <127.93 $\mu\text{g/L}$; 9 years old to <16 years old; <161.74 $\mu\text{g/L}$; the normal reference intervals of healthy children urine NGAL: 0 to <7 months; <257.31 $\mu\text{g/L}$; 7 months to <5 years old; <201.55 $\mu\text{g/L}$; 5 years old to <9 years old; <197.69 $\mu\text{g/L}$; 9 years old to <16 years old; <151.46 $\mu\text{g/L}$. Plasma and urine NGAL results in neonatal group were higher than the other three groups. **Conclusion** The normal reference intervals of plasma and urine NGAL in children's hospital is established. this could provide clinical evidence for the diagnosis and treatment of acute renal injury in pediatric patients.

Key words: children; neutrophil gelatinase-associated lipocalin; reference intervals

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL), 也称为脂质运载蛋白-2(Lipocalin-2), 是脂质运载蛋白家族的一个成员, 它是肾功能损伤的早期标志物^[1]。在肾损伤的早期过程, 存在于肾小管的上皮细胞和中性粒细胞的 NGAL, 在肾小管上皮细胞受到损伤时大量分泌, 可诱导肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡, 以保护肾组织免受炎症细胞的损害。如果急性肾功能损伤(AKI)过程中 NGAL 水平偏高, 预后会有更大几率发展成为急性肾功能衰竭, 因此通过检测 NGAL 水平有助于在 AKI 发生后立即对肾功能进行评估并做适当的处理^[2]。正常情况下, 血液和尿液中的 NGAL 维持在一个较低水平。在肾损伤早期, 血液和尿液中的 NGAL 可因大量分泌短时间内急速升高^[3], 为及早发现肾损伤提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2014 年 5—10 月在上海市儿童医院健康体检和住院的非肾源性疾病 0~16 周岁儿童 EDTA 血浆 183 份和新鲜尿液 125 份。排除标准: 1 个月内发热、炎症、尿路感染、服用抗菌药物及非甾体抗炎药等任何肾毒性药物、以及既往肾病。根据 CLSI C28-A2 年龄分组: 0~<7 个月(血 35

份, 尿 31 份); 7 个月至 <5 岁(血 78 份, 尿 34 份); 5~<9 岁(血 40 份, 尿 30 份); 9~<16 岁(血 30 份, 尿 30 份)。

1.2 试剂和方法 NGAL 试剂(胶乳增强免疫比浊法)由上海科华生物工程股份有限公司提供, 由贝克曼 AU5800 型全自动生化分析仪检测血浆和尿液中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的含量, 检测批次室内质控在控。试剂精密性: 重复性 $\leq 8\%$, 批间差 $\leq 15\%$ 。

1.3 标本处理 静脉血液在 1 h 内 3 000 r/min 离心 10 min, 吸取血浆储存在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 备用; 清晨中段尿液采集后 3 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液储存在 $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 备用。

1.4 统计学处理 运用 SPSS19.0 统计学软件对数据进行分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。运用统计学软件对每组数据进行正态分布检验, 各组数据间若满足方差齐性则组间均数差异比较采用方差分析, 以 95% 的可信区间作为参考值的范围, 取 $\bar{x} \pm 1.96s$ 为正常参考值范围, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

实验结果显示健康儿童血液与尿液 NGAL 水平呈近似正

* 基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会重要薄弱学科建设项目(2015ZB0203)。

作者简介: 赵琦, 男, 技师, 主要从事生物化学方向的研究。△ 通信作者, E-mail: zhangh@shchildren.com.cn。

态分布,以 95%的可信区间作为参考值的范围,取 $\bar{x} \pm 1.96s$ 为正常参考值范围。健康儿童血浆 NGAL 正常参考值为 0~<7 个月, <291.28 $\mu\text{g/L}$; 7 个月至 <5 岁, <150.87 $\mu\text{g/L}$; 5~<9 岁, <127.93 $\mu\text{g/L}$; 9~<16 岁, <161.74 $\mu\text{g/L}$ 。健康儿童尿液 NGAL 正常参考值为 0~<7 个月, <257.31 $\mu\text{g/L}$; 7 个月至 <5 岁, <201.55 $\mu\text{g/L}$; 5~<9 岁, <197.69 $\mu\text{g/L}$; 9~<16 岁, <151.46 $\mu\text{g/L}$ 。各年龄组间正常参考值范围差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。0~<7 个月组血浆和尿液 NGAL 结果较其他 3 组高,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、2。

表 1 各年龄组 EDTA 血浆 NGAL 正常参考值 ($\mu\text{g/L}$)

年龄分组	n	均值($\bar{x} \pm s$)	正常参考值
0~<7 个月	35	133.34 \pm 80.58	<291.28
7 个月至 <5 岁	78	86.03 \pm 33.08*	<150.87
5~<9 岁	40	80.75 \pm 24.07*	<127.93
9~<16 岁	30	101.71 \pm 30.63*	<161.74

注:与 0~<7 个月相比, * $P < 0.05$ 。

表 2 各年龄组新鲜尿液 NGAL 正常参考值 ($\mu\text{g/L}$)

年龄分组	n	均值($\bar{x} \pm s$)	正常参考值
0~<7 个月	31	131.67 \pm 64.1	<257.31
7 个月至 <5 岁	34	63.26 \pm 70.55*	<201.55
5~<9 岁	30	66.43 \pm 66.97*	<197.69
9~<16 岁	30	56.46 \pm 48.47*	<151.46

注:与 0~<7 个月相比, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

AKI 是由各种原因引起的肾功能在短时间内(几小时至几天)内突然下降而出现的临床综合征。肾功能下降可发生在原来无肾功能不全的患者,也可发生在原已稳定的慢性肾病(CKD)患者。其主要发病原因就是肾灌注量减少导致血流动力学介导的肾小球滤过率降低引起肾脏局部缺血和再灌注损伤,但不存在肾实质损伤。如果能及时纠正肾灌注量减少,则能逆转血流动力学损伤,使肾功能迅速恢复,否则可发生细胞明显损伤而导致急性肾小管坏死^[4]。AKI 是目前医院常见的临床综合征之一,同时也是危重患者高发病率和高病死率的主要原因之一。大量临床研究表明,肾功能轻度损伤就可导致 AKI 发病率和病死率明显增加^[5]。目前临床仍用肌酐作为辅助诊断 AKI 的主要指标,但肌酐要在肾小球滤过率丢失 50% 以上才发生变化,并且受到个体差异、药物作用等非肾性因素的影响,不能及时确切地评估肾脏功能^[6]。随着科技的发展,临床的治疗及监护水平均有了很大提高,但 AKI 及其由此引发的并发症发病率仍居高不下,主要原因就是缺乏早期就能对其作出及时反应的特异性生物指标。大量研究表明 NGAL 可以较好地解决这一难题。

NGAL 又称人脂质运载蛋白-2 或噬铁蛋白,是人脂质运载蛋白家族的一个新成员。人类 NGAL 基因定位与第 9 号染色体长臂(9q34),全长 5 869 bp,包括 1 695 bp 的 5' 端非转录区、178 bp 的 3' 端非转录区及由 7 个外显子和 6 个内含子构成的 3 696 bp 的原初转录区;其相对分子质量为 25 000 bp。血小板活化因子(PAF)、白三烯-B4(LT-B4)和 N-甲酸基-甲硫氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸(N-formyl-Met-Leu-Phe)等是 NGAL 的配体。在生理状态下,中性粒细胞、肾小管上皮细胞、肺泡巨噬细胞、支气管上皮黏液细胞等分泌少量 NGAL,而脑和周围

神经、结肠、子宫和卵巢、胎盘、甲状腺等组织细胞中 NGAL 的表达呈阴性。NGAL 的生理功能尚不完全清楚,可能参与不同的生理、病理过程,涉及胚胎发育、细胞分化、肿瘤的发生发展、细胞凋亡、炎症免疫应答、脂质代谢等。

早期诊断 AKI 时,血、尿 NGAL 浓度通常会迅速升高,2 h 最为明显(比临界值升高几十至几百倍),而血清肌酐、尿酶等传统指标往往要在 24~72 h 后才会明显升高,因而 NGAL 可作为一种 AKI 早期诊断的标志物^[7],大量研究表明尿 NGAL 对于诊断 AKI 的敏感性和特异性分别为 77.8% 和 78.4%^[8];而血清 NGAL 对于诊断过 AKI 的敏感性和特异性分别为 81.8%、76.2%^[9]。NGAL 能够在肾脏损伤早期就被发现,而且与现在常用的肌酐和胱抑素 C 等肾功能指标相比,在诊断 AKI 的敏感性最高^[10],同时可作为 AKI 病情监测和预后判断的敏感指标^[11]。

成人 NGAL 参考值范围在之前相关实验研究数据中多有描述^[12],但对于儿童 NGAL 正常参考范围的讨论并不多。儿童与成人存在显著的个体差异,而且各年龄段儿童的个体发育、生理机能也存在明显不同。由于小儿饮食、体质量、肌肉含量、运动量、代偿机制等差异^[13],建立与之年龄段相关的正常参考值,对于临床筛查和鉴别诊断儿童 AKI 有重要价值。本文意在探讨和建立本地区不同年龄段的儿童血液和尿液中 NGAL 的正常参考值,为儿科 AKI 的诊断和治疗提供临床依据。

研究数据表明,儿童血浆和新鲜尿液 NGAL 正常参考范围与成人确实存在差异,因此以成人的正常参考值来评判儿童 NGAL 水平以及肾功能情况是不切实际的。儿童各年龄段身体发育和生理机能存在较大差异,病情发展变化快,机体对于药物干预反应波动较大,因此本文通过试验建立儿童不同年龄段的正常参考范围,与成人有所区别。0~16 周岁儿童血浆和新鲜尿液 NGAL 正常参考范围可分为 4 个年龄段,各年龄组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),而各年龄组内性别差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。其中 0~<7 个月组血浆和尿液 NGAL 结果较其他 3 个组更高。可能是由于 7 个月以内的婴幼儿由于其肾脏组织正处于生长发育阶段,肝肾代谢功能不完全,血浆和尿液中 NGAL 水平普遍高于其他年龄段儿童。血浆和尿液中 NGAL 升高对于 AKI 有诊断意义,建立以年龄分类为基础 97.5% 位数为参考值上限。同时,NGAL 水平与 AKI 严重程度呈正相关^[14],对了解病情变化及判断预后也具有一定的临床价值。另外 NGAL 水平偏高通常还出现在以下情况:心血管手术患者、病危人员、脓血性或出血性休克、肾移植、静脉 X 线造影剂的反应和肾毒性治疗反应等,需结合其他临床症状鉴别诊断^[15]。

综上所述,本研究探讨并建立本院儿童不同年龄段 NGAL 正常参考值,明确了儿童与成人 NGAL 参考值的差异问题,为保证儿童 AKI 及时发现提供重要的参考依据。

参考文献

- [1] 徐兴凯,李岩,林兆奋,等. NGAL 在急性肾损伤早期临床诊断中的意义[J]. 中国急救医学,2013,33(5):474-477.
- [2] 赵元明. 血清和尿液 NGAL 在急、慢性肾损伤中的变化及临床价值[J]. 中国实验诊断学,2013,17(3):484-486.
- [3] 张小佛. 急性肾损伤患儿血抗增殖蛋白联合尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、肾损伤分子-1 检测的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志,2014,29(10):769-771.
- [4] 张燕,许清玉,刘向东,等. NGAL 在大(下转第 1037 页)

因 LOH 的发生是频繁事件。进一步分析 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 低表达与其基因 LOH 相关性,发现 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 与 LOH 呈负相关。提示启动子甲基化、LOH 均造成 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 表达下调,但 FHIT 和 WWOX 基因 mRNA 表达下调、缺失机制主要与其启动子区甲基化有关,LOH 参与了部分 FHIT 和 WWOX 基因的失活过程。

总而言之,FHIT 和 WWOX 基因的表达下调及下调程度与 NPC 的发生、发展相关,而启动子甲基化和基因 LOH 是引起 FHIT 和 WWOX 表达下调的因素,但启动子甲基化可能是导致 FHIT 和 WWOX 基因表达下调的主要原因。MDR1 基因的过度表达与 NPC 的分化程度密切相关,也影响着 NPC 的治疗和预后。

参考文献

[1] Wang HL,Zhou PY,Liu P,et al. Abnormal FHIT protein expression May be correlated with poor prognosis in gastric cancer:a meta-analysis[J]. Tumour Biol,2014,35(7):6815-6821.
 [2] Jeong YJ,Jeong HY,Lee SM,et al. Promoter methylation status of the FHIT gene and Fhit expression: association with HER2/neustatus in breast cancer patients[J]. Oncol Rep,2013,30(5):2270-2278.
 [3] Du CX,Li SQ,Wang AH,et al. Significance of combined detection of p53 and FHIT in cervical carcinoma diagnosis [J]. Eur J Gynaecol Oncol,2014,35(3):298-300.
 [4] Göthlin Eremo A,Wegman P. Wwox expression May predict benefit from adjuvant tamoxifen in randomized breast cancer patients[J]. Oncol Rep,2013,29(4):1467-1474.
 [5] Aqeilan RI,Kuroki T,Pekarsky Y,et al. Loss of WWOX expression in gastric carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2004,10(9):3053-3058.
 [6] Zucchini C,Concu A,Martini F,et al. FHIT oncosuppressor gene expression profile in human anal cancers[J]. Int J Biol Markers,2007,22(1):39-42.

[7] Kaghad M,Bonnet H,Yang A,et al. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers [J]. Cell,1997,90(4):809-819.
 [8] 罗海清,黄静,杨东红,等. FHIT 基因和蛋白在鼻咽癌组织及正常鼻咽组织中的表达 [J]. 海南医学,2014,25(24):3640-3642.
 [9] Yendamuri S,Kuroki T,Trapasso F,et al. WW domain containing oxidoreductase gene expression is altered in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res,2003,63(4):878-881.
 [10] Park SW,Ludes-Meyers J,Zimonjic DB,et al. Frequent downregulation and loss of WWOX gene expression in human hepatocellular carcinoma[J]. Br J Cancer,2004,91(4):753-759.
 [11] 马俊,李博,王丽萍,等. 消化道肿瘤 MDR1 基因和 P-糖蛋白的表达与化疗药物耐药的关系[J]. 广东医学,2013,34(20):3120-3123.
 [12] 李屏,莫武宁,陈旭,等. FHIT 基因与 MDR1 基因 mRNA 在鼻咽癌组织中的表达的临床意义及关系[J]. 中国临床新医学,2013,6(3):215-218.
 [13] Yan J,Zhang M,Zhang J,et al. Helicobacter pylori infection promotes methylation of WWOX gene in human gastric cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun,2011,408(1):99-102.
 [14] 邓燕飞,田芳,杨新明,等. 鼻咽癌染色体 3p14 的精细等位基因缺失研究[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志,2000,35(5):70-72.

(收稿日期:2016-11-12 修回日期:2017-01-17)



(上接第 1033 页)

鼠肾脏缺血再灌注损伤不同时段中的表达及意义[J]. 临床和实验医学杂志,2014,13(3):165-168.
 [5] 严洁,臧芝栋. sTREM-1 和 NGAL 对脓毒血症并发急性肾损伤早期诊断的预测价值[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(6):423-428.
 [6] 张颖,唐敏,施婧,等. 原发性肾病综合征患者中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的变化及意义[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(7):493-497.
 [7] 张群妹,郭庆合,鲁广建,等. 尿 NGAL 和血 Cys C 在百草枯中毒患者急性早期肾损伤中的变化及意义[J]. 检验医学,2012,27(11):940-943.
 [8] 徐兴凯,李岩,余猛进,等. 尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白在危重病患者急性肾损伤早期诊断中的意义[J]. 中华急诊医学杂志,2013,22(5):505-510.
 [9] 刘新龙,岳锦熙,苏美仙. 血 NGAL、Cys C 检测对外科重症急性肾损伤患者的早期诊断价值[J]. 重庆医学,2015,44(18):2506-2508.

[10] 张石珠,杨敬伟,陈宪典,等. 急性肾损伤患者血清胱抑素 C 及尿 NGAL 水平的变化及其临床意义[J]. 现代生物医学进展,2012,12(15):2943-2945.
 [11] 陈佩. 急性肾功能衰竭患者血清 NGAL 测定的临床意义 [J]. 中外医疗,2011,30(14):55.
 [12] 刘梦婕,蒋洪敏. 血清中性粒细胞明胶酶相关性脂质运载蛋白在健康成年人中的参考值范围调查[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(6):689-690.
 [13] 王卫平. 儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2013.
 [14] 吴家玉,熊冠泽,丁福全,等. 血清胱抑素 C 和尿 NGAL 联合检测在急性肾损伤病情评估及预后中的价值[J]. 中山大学学报(医学科学版),2013,35(1):153-155.
 [15] 刘美描,邱文冰,吴召熙,等. 血浆中性粒细胞明胶蛋白酶相关载脂蛋白在危重患者中的应用性研究[J]. 中国急救医学,2013,33(8):715-718.

(收稿日期:2016-10-12 修回日期:2017-01-13)