

- [16] Denève E, Riethdorf S, Ramos J, et al. Capture of viable circulating tumor cells in the liver of colorectal cancer patients[J]. Clin Chem, 2013, 59(9):1384-1392.
- [17] Zhang L, Riethdorf S, Wu G, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(20):5701-5710.
- [18] Su PJ, Wu MH, Wang HM, et al. Circulating Tumour Cells as an Independent Prognostic Factor in Patients with Advanced Oesophageal Squamous Cell Carcinoma Undergoing Chemoradiotherapy [J]. Sci Rep, 2016, 6: 31423.
- [19] Sastre J, Maestro ML, Puente J, et al. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables[J]. Ann Oncol, 2008, 19(5):935-938.
- [20] Martin OA, Anderson RL, Narayan K, et al. Does the mobilization of circulating tumour cells during cancer therapy cause metastasis[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2016, 14(1): 32-44.
- [21] Alix-Panabieres C, Pantel K. The circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer[J]. Clin Lab Diagn, 2014, (4):60-64.
- [22] Hepp P, Andergassen U, Jäger B, et al. Association of CA27.29 and Circulating Tumor Cells Before and at Different Times After Adjuvant Chemotherapy in Patients with Early-stage Breast Cancer-The SUCCESS Trial[J]. Anticancer Res, 2016, 36(9):4771-4776.
- [23] Vogelzang NJ, Fizazi K, Burke JM, et al. Circulating Tumor Cells in a Phase 3 Study of Docetaxel and Prednisone with or without Lenalidomide in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer[J]. Eur Urol, 2016, 71(2):168-171.
- [24] Alix-Panabieres C, Pantel K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy[J]. Cancer Discov, 2016, 6(5):479-491.
- [25] Wang H, Stoecklein NH, Lin PP, et al. Circulating and disseminated tumor cells: diagnostic tools and therapeutic targets in motion[J]. Oncotarget, 2017, 8(1):1884-1912.

(收稿日期:2016-09-17 修回日期:2016-11-18)

• 综 述 •

急性肾损伤生物标志物的研究进展

宋 琼¹, 李 侃², 吴 蓉², 苏筠霞²综述, 李建华^{2△}审校

(1. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院肾病科, 兰州 730000)

关键词: 急性肾损伤; 生物标志物; 早期诊断与预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)08-1087-03

急性肾损伤(AKI)指在多种病因引起的肾功能快速下降而出现的临床综合征,包括尚无肾衰竭和已有肾衰竭的不同损伤阶段,其诊断标准为:肾功能在48 h内突然降低,至少2次血清肌酐(Scr)升高的绝对值 ≥ 0.3 mg/dL ($26.5 \mu\text{mol/L}$);或Scr较前一次升高50%;或持续6 h以上尿量 < 0.5 mL/(kg·h)。近年来AKI的发病率逐年升高^[1],约5%的住院患者可发生AKI,在重症监护室其发生率高达30%,是危重症患者常见并发症,是导致病死率升高、住院周期延长和医疗费用增加的重要原因^[2]。AKI的病死率已高于乳腺癌、前列腺癌、心力衰竭^[3]。因此,早期诊断、早期治疗可逆转AKI,对于降低病死率具有积极意义^[4]。近年来国内外学者对于AKI早期诊断的生物标志物的研究取得了一些重要进展。

1 AKI的常用实验室检查

1.1 肌酐 肌酐(Cr)因其具有化学性质稳定,检测方法方便经济的优点在临床实践中广泛应用于检测肾功能损害^[5]。但是,Scr作为肾功能的参考指标具有一定的局限性。因为肾脏具有很强的储备能力和代偿能力,肾脏损害早期或轻度损害时,血中肌酐浓度多正常,Scr的升高常表示肾功能受损较严重,既往研究表明只有当肾小球滤过率(GFR)下降至健康人的1/3时,Scr才明显升高;此外,肌肉损伤、心功能不全、肌炎、肝功能障碍及肌肉萎缩等均不同程度的影响Scr水平^[6-7]。因

此,Scr测定并非反应肾损伤的敏感指标。

1.2 GFR GFR是公认的能够反映肾脏整体功能的最佳指标。但GFR不能直接测定,主要通过测定某物质清除率的方法间接反映。目前,临床上常应用依据患者Scr浓度开发的Cockcroft-Gault公式来估算成人GFR^[8]。从本质上来看,此公式是肌酐清除率(Ccr)的估算公式,通过Ccr间接反映GFR的水平。公式的准确性不可避免的受到Ccr的限制,系统的高估了GFR。尽管如此,与单纯测定Scr相比,该公式仍可显著改善临床肾功能的评价。

1.3 钠排泄分数(FENa) FENa能精确地区分肾前性与肾性因素导致的AKI^[9]。当FENa(%) < 1 时,提示肾前性氮质血症,而FENa(%) > 2 时提示急性肾小管坏死(ATN)^[10]。FENa能比较准确的反映肾小管功能,在鉴别肾前性氮质血症与ATN上有较高价值。但是需要指出的是,因利尿剂可导致药源性尿钠增多,故FENa的测定受到利尿剂类药物的干扰。此外,对于早期慢性肾脏病(CKD)基础上的AKI,检测FENa意义不大。

1.4 尿液检查 尿液是血液经过肾小球滤过、肾小管和集合管重吸收和排泄而产生的终末代谢产物,其组成和性质与肾脏关系密切。因此尿液检查在肾脏疾病诊疗中有重要价值。97%的AKI患者尿常规检查异常。尿渗透压与尿比重用以检

△ 通信作者, E-mail: ldylijianhua@163.com。

测远端小管浓缩功能。AKI 所致肾小管损伤时,尿液浓缩功能损伤,导致尿渗透压与尿比重降低,但是需要说明的是尿比重的高低取决于单位容积尿中溶质质量,易受尿中大分子溶质,如蛋白、糖类的干扰^[11]。ATN 及间质性肾炎时可以有少量尿蛋白,若尿蛋白 $>2\text{ g/d}$ 时,则提示肾小球肾炎或血管炎的可能。因此,蛋白尿很少用于监测 AKI 时肾功能的变化。

2 AKI 早期诊断的新型生物标志物

由于常用的传统的实验室检查方法不能早期诊断 AKI。因此,近年来有关 AKI 早期诊断的生物标志物研究备受重视。不少学者认为,理想的 AKI 早期诊断的生物标志物应具有如下特点:(1)能区分 AKI 和其他急性肾脏病(如泌尿道感染、肾小球肾炎等);(2)能区分 AKI 亚型(肾前性、肾性或肾后性);(3)能帮助鉴别 AKI 病因(缺血、毒素、败血症等);(4)能预测 AKI 严重性;(5)能监测 AKI 疾病过程及干预治疗反应^[12]。

2.1 肾损伤因子-1(KIM-1) KIM-1 是由 334 个氨基酸残基组成的 1 型跨膜糖蛋白,其表达具有极高的组织特异性。KIM-1 在胚胎期肝、胎肾中不表达,在健康成人肝、肾、脾中微弱表达,而在缺血损伤后的肾组织中表达显著增加。既往研究证实,KIM-1 在鉴别缺血性 ATN 与肾前性氮质血症方面具有一定价值,在大鼠肾缺血-再灌注动物模型中发现术后 24 h 尿素氮(BUN)、Ccr 等检测指标无明显改变时,尿中 KIM-1 已高出基线水平数倍^[13]。流行病学研究发现,由败血症所导致的 AKI 的病死率较高。败血症时持续的内毒素血症会通过减少肾血流量而造成肾脏损伤。已有研究证实,败血症患者的 AKI 中,尿和肾组织 KIM-1 有不同程度的升高。大量研究证实,在 AKI 患者肾组织及尿液中可检测到 KIM-1 表达水平明显升高^[14],其中以缺血性因素导致的 AKI 表达水平最高。因此尿 KIM-1 可用于鉴别 AKI 的病因。此外,KIM-1 的表达水平与肾损伤的严重程度呈正相关^[15],KIM-1 水平有望成为 AKI 早期诊断敏感及特异的生物学标志物。

2.2 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL) NGAL 是脂质转运超家族中的相对分子质量为 25×10^3 的蛋白,主要负责转运小疏水性配体。它具有体积小、自然分泌及相对稳定的特性,使其成为多种疾病诊断及判断预后的生物学标志物。NGAL 是一种调控肾小管上皮细胞凋亡的蛋白分子,主要表达远曲小管上皮。正常情况下 NGAL 在肾组织少量表达,肾小管损伤导致 ATN 时,血、尿 NGAL 水平分别上升 300 倍和 1 000 倍。大量研究表明 AKI 时 NGAL 的增加早于 Scr 开始上升的时间,尿 NGAL 的表达与 Scr 水平呈正相关,与残存肾单位的滤过功能成负相关^[16]。研究显示在外科手术并发的 AKI 患者中,术后 2 h 尿 NGAL 浓度明显升高^[17],早于 1~3 d 后才出现改变的血清肌酐,并且发现术后 12 h 尿 NGAL 水平与 AKI 的病死率明显相关。

2.3 肝脏脂肪酸结合蛋白 肝脏脂肪酸结合蛋白(L-FABP)是表达在肾脏近端小管的和肝脏的细胞内载体蛋白。Nakamura 等^[18]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有关。通过对肾组织活检标本进行免疫组织化学法染色已经证实尿 L-FABP 排泄增加与小管间质的损害有关。因此,尿 L-FABP 的水平可大致反映肾小管间质的损害。也有研究比较了重症医学科危重患者中发生 AKI 时尿 L-FABP 与 SCr 的变化,结果显示当天研究发现尿液 L-FABP 在术后 4 h 明显升高(ROC 曲线下面积为 0.81),而血清 L-FABP 则在术后 12 h 开始升高,SCr 无明显变化,术后 4 h 尿液 L-FABP 是 AKI 的独立预测因子,说明尿 L-FABP 可作

为急性肾小管损伤的敏感指标^[19]。尿 L-FABP 作为一种内源性抗氧化抑制剂可以预测肾小管间质的损害,Matsui 等^[20]通过研究马兜铃酸肾病模型证明,L-FABP 可减少马兜铃酸诱导的肾毒性和降低肾小管间质损害的氧化应激,提示 L-FABP 可通过抑制氧化应激水平从而减轻马兜铃酸肾病导致的 AKI。所以,L-FABP 可能会成为早期诊断 AKI 的敏感指标。

2.4 白细胞介素-18(IL-18) IL-18 是表达于近端小管相对分子质量为 18×10^3 的促炎性细胞因子,AKI 时近端小管缺血坏死导致 IL-18 分泌增多,尿 IL-18 水平升高。最新对不同肾脏疾病患者的研究结果表明尿 IL-18 在 AKI 时升高,而在 CKD、泌尿道感染、肾病综合征及肾前性氮质血症中并不升高^[21],说明 IL-18 在区分不同因素导致的 AKI 中具有高度的敏感性和特异性。心脏手术致 AKI 发生时,尿 IL-18 在 12 h 达高峰,早于 48 h 后才开始升高的 Scr^[22]。因此 IL-18 有助于 AKI 的早期诊断。然而,IL-18 作为炎症网络系统中的一员,其测量结果受很多因素影响,如在系统性红斑狼疮、多发性小血管炎、干燥综合征、类风湿性关节炎等病理状态下血 IL-18 会增高^[23],通过肾小球滤过影响尿中 IL-18 的水平。因此,由于 IL-18 水平在自身免疫疾病中的表达变化,IL-18 作为 AKI 患者肾功能的生物学标记还需进一步的研究。

2.5 胰岛素样生长因子结合蛋白-7(IGFBP-7)及金属蛋白酶抑制剂-2(TIM-2) IGFBP-7 及 TIM-2 是诱导 G1 期停滞的重要因子。TIM-2 和 IGFBP-7 是可溶性蛋白,表达在肾脏损伤早期可逆性阶段,可提高肾小管细胞应激反应^[24]。Chindarkar 等^[25]研究证明这两个标志物升高可能与肾脏受损时试图产生保护性信号有关,预示着 AKI 高风险状态的存在。有学者研究发现显示危重患者尿中 IGFBP-7、TIM-2 水平 $>0.3\text{ (ng/mL)}^2/1\text{ 000}$ 较测试结果低于 $0.3\text{ (ng/mL)}^2/1\text{ 000}$,其发生 AKI 的风险增加 7 倍^[26]。近期研究显示在缺血或败血症 AKI 时,IGFBP-7、TIM-2 参与肾小管上皮细胞的损伤,并高表达至损伤修复^[27]。一项观察性研究发现,心脏手术相关性 AKI,IGFBP-7、TIM-2 术后 4 h 开始上升,24 h 达到峰值,同时指出,尿 IGFBP-7 及 TIM-2 的下降可以更好预测肾脏恢复状况^[26]。因此推测 IGFBP-7、TIM-2 能够更好地预测严重 AKI 的发生,而且与 AKI 长期不良预后密切相关。然而,因为检测尿中细胞内 IGFBP-7、TIM-2 技术要求复杂,目前并没有广泛的开展。

2.6 microRNAs(miRNAs) miRNAs 是人体内源性、非编码的小 RNA(18~22 个核酸分子),在体液中稳定存在,作为基因表达的细胞内调节,可调节近 30% 蛋白质编码基因,参与疾病、肿瘤发展的几乎各个方面。越来越多的证据表明在各种体液循环 miRNAs 表达的变化可作为各种疾病和器官损伤的分子水平的变化指标。Wang 等^[28]采用小鼠肾缺血再灌注和链脲佐菌素(STZ)诱导急性肾损伤模型,通过 PCR 的方法评估了小鼠尿液、血液、肾组织中 miRNA 的变化,结果证实了小鼠尿液中检测出肾脏富集的 microRNA-10a(miR-10a)和 microRNA-30d(miR-30d),并且二者与肾缺血再灌注和 STZ 诱导的肾损伤严重程度有关。相比之下,在肾损伤小鼠血清中没有观察到 miR-10a 和 miR-30d 这种变化水平。因此,尿中 miR-10a 和 miR-30d 代表了一种新的非侵入性的,敏感的检测肾功能损伤的方法,而且不同病因导致 miRNA 变化不同,所以 miRNA 将来可能用来进行 AKI 病因的判断。

3 小 结

近年来有关 AKI 早期诊断的新型生物标志物的研究逐渐增多,其在 AKI 中的变化都早于传统的实验室检查的变化。

上述肾损伤的生物学标志物都有一定的优缺点,所提供的临床意义仍相当有限,近来虽有联合应用这些标志物监测早期肾功能损伤的报道,但此类研究没有统一的诊断阈值,研究数量不多且暂无多中心大规模的临床研究,今后还需要大量前瞻性、对照临床研究进行评估,并在实践中进一步改进和完善,发掘其临床诊断及预测的能力,才能提高在其早期诊断 AKI 的灵敏性和特异性。

参考文献

- [1] Lameire NH, Bagga A, Cruz D, et al. Acute kidney injury: an increasing global concern [J]. *Lancet*, 2013, 382 (9887):170-179.
- [2] Terada Y, Inoshita S, Yoshimura K, et al. Discussion meeting on diagnosis and treatment of acute kidney injury (AKI)[J]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*, 2014, 103(5):1170-1176.
- [3] Lewington AJ, Cerda J, Mehta RL. Raising awareness of acute kidney injury: a global perspective of a silent killer [J]. *Kidney Int*, 2013, 84(3):457-467.
- [4] Dieterle F, Marrer E, Suzuki E, et al. Monitoring kidney safety in drug development: Emerging technologies and their implications [J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2008, 11(1):60-71.
- [5] Koyner JL, Shaw AD, Chawla LS, et al. Tissue Inhibitor Metalloproteinase-2 (TIMP-2) IGF-Binding Protein-7 (IGFBP7) Levels Are Associated with Adverse Long-Term Outcomes in Patients with AKI [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 26(7):1747-54.
- [6] Metra M, Cotter G, Gheorghiade M, et al. The role of the kidney in heart failure [J]. *Eur Heart J*, 2012, 33 (17): 2135-2142.
- [7] Benedetto U, Angeloni E, Luciani R, et al. Acute kidney injury after coronary artery bypass grafting: does rhabdomyolysis play a role? [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 140(2):464-470.
- [8] Czyzewski L, Wyzgal J, Czyzewska E, et al. Performance of the MDRD, CKD-EPI, and Cockcroft-Gault Formulas in Relation to Nutritional Status in Stable Renal Transplant Recipients [J]. *Transplant Proc*, 2016, 48(5):1494-1497.
- [9] Belcher JM, Sanyal AJ, Peixoto AJ, et al. Kidney biomarkers and differential diagnosis of patients with cirrhosis and acute kidney injury [J]. *Hepatology*, 2014, 60 (2): 622-632.
- [10] Rahman M, Shad F, Smith MC. Acute kidney injury: a guide to diagnosis and management [J]. *Am Fam Physician*, 2012, 86(7):631-639.
- [11] Manz F, Wentz A. 24 h hydration status: parameters, epidemiology and recommendations [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2003, 57(2):S10-18.
- [12] 侯玲. 早期诊断急性肾损伤的生物学标志物研究现状 [J]. *中国小儿急救医学*, 2010, 17(5):454-456.
- [13] 纪翔, 马潞林, 卢剑, 等. 肾缺血后处理对大鼠 Kim-1 表达的影响及对缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2012, 44(4):511-517.
- [14] 许琛, 王丽姝, 许碧华, 等. AKI 生物学标志物新进展 [J]. *中国医学创新*, 2013, 10(28):162-164.
- [15] Vaidya VS, Bonventre JV. Mechanistic biomarkers for cytotoxic acute kidney injury [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2006, 2(5):697-713.
- [16] Sanjeevani S, Pruthi S, Kalra S, et al. Role of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for early detection of acute kidney injury [J]. *Int J Crit Illn Inj Sci*, 2014, 4(3):223-228.
- [17] 张璐, 张文, 瞿晓红, 等. 生物标志物组联合检测对心脏手术后急性肾损伤早期诊断检验效能研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2013, 33(3):210-213.
- [18] Nakamura K, Ito K, Kato Y, et al. L-Type fatty acid binding protein transgenic mouse as a novel Tool to explore cytotoxicity to renal proximal tubules [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2008, 23(4):271-278.
- [19] Doi K, Noiri E, Sugaya T. Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new renal biomarker in critical care [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2010, 16(6):545-549.
- [20] Matsui K, Kamijo-Lemorif A, Sugaya T, et al. Renal liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) attenuates acute kidney injury in aristolochic acid nephrotoxicity [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(3):1021-1032.
- [21] Urbchat A, Obermüller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury [J]. *Biomarkers*, 2011, 16 Suppl 1:S22-30.
- [22] 陈鸿伟. 体外循环心脏术后急性肾损伤患者血清胱抑素 C、尿白细胞介素 18 和肌酐的变化及其临床意义 [J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(5):122-124.
- [23] Favilli F, Anzilotti C, Martinelli L, et al. IL-18 activity in systemic lupus erythematosus [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1173(1):301-309.
- [24] Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury [J]. *Crit Care*, 2013, 17(1):R25.
- [25] Chindarkar NS, Chawla LS, Straseski JA, et al. Reference intervals of urinary acute kidney injury (AKI) markers [IGFBP7] [TIMP2] in apparently healthy subjects and chronic comorbid subjects without AKI [J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 452:32-37.
- [26] Bihorac A, Chawla LS, Shaw AD, et al. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(8):932-939.
- [27] Uettwiller-Geiger DL, Vijayendran R, Kellum JA, et al. Analytical characteristics of a biomarker-based risk assessment test for acute kidney injury (AKI) [J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 455(1):93-98.
- [28] Wang N, Zhou Y, Jiang L, et al. Urinary MicroRNA-10a and MicroRNA-30d serve as novel, sensitive and specific biomarkers for kidney injury [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12):e51140.