

# 脓毒症急性肾损伤早期生物标志物的新进展

王敏<sup>1</sup>, 刘虹<sup>2</sup>, 程威<sup>1</sup>

1. 山西医科大学, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学第一临床医学院重症医学科, 山西 太原 030001

**关键词:** 脓毒症; 急性肾损伤; 生物标志物; 肾损伤分子-1; 嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 血清胱抑素 C; 肝型脂脂肪酸结合蛋白; 基质金属蛋白酶组织抑制剂-2; 胰岛素样生长因子结合蛋白-7; 转化生长因子  $\beta$ 1

**中图分类号:** R 692.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)03-0424-03

脓毒症 (sepsis) 是一种由感染引起的全身炎症反应综合征 (SIRS), 可引起多器官的损伤, 严重时可引起多脏器功能障碍综合征 (MODS)。脓毒症相关器官功能障碍是重症监护室 (ICU) 中最常见的死因<sup>[1]</sup>。其中死亡风险最高的是急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI)<sup>[2]</sup>。而 AKI 是指各种原因引起的急性肾脏功能损害及减退, 导致血中氮质代谢产物积聚, 水电解质、酸碱平衡紊乱及由此引起全身并发症的一种严重的临床综合征。关于其发病机制目前尚不完全清楚, 除了脓毒症引起全身体液重新分布, 肾血流动力学改变、肾灌注不足导致肾损伤之外, 近年来研究发现炎症因子风暴、氧化应激及细胞凋亡也可能参与了脓毒性 AKI 的发病过程<sup>[3]</sup>。随着近几年的液体管理、内环境监控、感染控制及肾脏替代治疗的水平不断提高, 在脓毒性 AKI 的治疗方面有所进展, 但其病死率仍居高不下, 高达 70%<sup>[4]</sup>; 国内的研究亦表明, 医院获得性 AKI, 特别是在 ICU 的病死率可高达 60.6%<sup>[5]</sup>。而目前尚无有效的治疗手段, 因此早期诊断及干预治疗是防治的最佳策略。本文就近年来脓毒症时 AKI 早期生物标志物的新进展作一综述, 以期对脓毒症时 AKI 的临床诊断治疗提供新思路。

## 1 肾损伤分子-1 (KIM-1)

KIM-1 相对分子质量为 10 kD, 由 334 个氨基酸组成, 是一种跨膜蛋白, 胞外段含有免疫球蛋白、多个糖基化位点和高度糖基化的粘蛋白子域, 而胞内部分则相对较短, 属于免疫球蛋白基因超家族, 存在于近端肾小管上皮细胞<sup>[6]</sup>。在正常肾组织中微量表达<sup>[7]</sup>, 但发生感染性 AKI 时, 在近端肾小管上皮细胞表达显著增强<sup>[8]</sup>, 其胞外段可在金属蛋白酶 (MMP) 作用下裂解, 脱落到细胞外释放入尿, 因此尿中可检测到其可溶性片段<sup>[9]</sup>, 且尿 KIM-1 水平与肾组织 KIM-1 水平呈正相关, 能迅速、灵敏、特异地反映肾损伤的严重程度及恢复过程<sup>[10]</sup>, 故可作为一种检测脓毒性 AKI 的早期生物学指标。此外, 研究发现在 AKI 修复期, KIM-1 还能促进肾小管上皮细胞增殖<sup>[7]</sup>, 目前认为可能是通过 p38 MAPK 信号转导通路促进生长因子产生, 来参与细胞的增殖和修复, 修复在发生损伤的 2~3 d 启动, 可持续 1 周左右。

## 2 嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (NGAL)

NGAL 相对分子质量为 25 kD, 属于脂质运载蛋白超家族的新成员, 又称为脂质运载蛋白 2 或 24p3, 最初从中性粒细胞内过氧化物酶颗粒中分离出来, 是一种可与明胶酶共价结合的蛋白<sup>[11]</sup>, 亦是一种载铁蛋白, 主要与嗜铁载体结合, 形成 NGAL-铁载体-铁的复合物, 参与细胞内的铁转运, 来调控肾脏细胞的再生、修复和凋亡。Vaidya 等<sup>[12]</sup>研究发现, 正常情况下 NGAL 仅能在骨髓中性粒细胞成熟期间的一个很窄的窗口期 (中晚幼期) 合成, 但机体发生炎症反应时, 多种组织包括肾脏均可诱导产生 NGAL, 其与铁载体的结合表现为一种抑菌剂, 阻止细菌对铁的吸收来抑制细菌的生长。因此, 机体发生炎症反应时血清 NGAL 水平升高。Han 等<sup>[13]</sup>对脓毒症 AKI 大鼠的研究中发现, 诱导 AKI 后的 3~12 h NGAL 基因表达显著上升, 且血 NGAL 与尿 NGAL 的上升水平是平行的。此外, Wheeler 等<sup>[14]</sup>在临床观察中证实脓毒症时, NGAL 比血清肌酐可以更早的发现 AKI, 可作为脓毒症 AKI 的早期生物标志物。

## 3 血清胱抑素 C (Cys C)

Cys C 相对分子质量为 13 kD, 为内源性半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 在人体所有有核细胞中合成, 释放进入血, 正常情况下能从肾小球完全滤出, 在近端肾小管被摄取, 于细胞内降解, 但肾小管不会分泌, 也不进入管周循环<sup>[15]</sup>; 因此, 其血清浓度基本上由肾小球滤过率决定, 且不受传染病、恶性肿瘤、炎症性疾病等影响, 而受种族、性别、年龄、饮食、肌肉质量等因素影响极小<sup>[16]</sup>, 又容易测量, 与内生肌酐清除率负相关, 比血清肌酐能更早更敏感的反映肾小球滤过率及肾功能的变化趋势, 故与血清肌酐相比是更理想的生物标志物。由于 Cys C 能在 AKI 患者的尿液中检测到, 被推荐可作为判断肾小管损害程度的附加指标<sup>[17]</sup>。Ortuño 等<sup>[18]</sup>对 ICU 的 50 名脓毒性休克患者前瞻性研究发现, 脓毒性肾损伤患者的血浆 CysC 水平在其他经典的肾损伤标志物之前升高。而它的早期出现可能用于机体启动保护机制, 阻止肾功能的恶化。亦有研究显示, Cys C 是预测重症监护室患者发生 AKI 的良好标志物<sup>[19]</sup>。此外, Asilioglu 等<sup>[20]</sup>对儿科 ICU 的研究发现, 血清 Cys C 对早期 AKI 更敏感, 在其检测方面明显优于血肌酐。

#### 4 肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)

L-FABP 相对分子质量为 14 kD,属于脂肪酸结合蛋白家族,含 127 个氨基酸残基,有 2 个脂肪酸结合位点,可结合长链脂肪酸,是一种高保守性胞质蛋白,可在近端肾小管上皮细胞表达,是肾保护性蛋白。生理状态下,L-FABP 从肝脏释放入血,经肾小球滤过,在肾小管处重吸收<sup>[21]</sup>。大量研究表明,脓毒症所致的 AKI 中,尿 L-FABP 在短时间内可显著升高<sup>[22]</sup>,且先于 SCr 升高,对于肾小管的急性损伤反映十分敏感,具有肾保护作用,同时有助于判断是否行血液净化治疗<sup>[23]</sup>。国外学者对 ICU 患者的研究发现,尿 L-FABP 可以预测 1 周内 AKI 的发生,曲线下面积(AUC)可高达 0.7<sup>[24]</sup>。Parikh 等<sup>[6]</sup>所进行的多中心队列研究亦显示,AKI 组 L-FABP 在 6 h 即达到峰值,较 SCr 的上升幅度高,且将 L-FABP 与 KIM-1、NGAL 等指标联合起来评估患者肾脏损伤的程度可大大缩短 AKI 的检测时限。此外,Yan 等<sup>[25]</sup>研究证实 L-FABP 具有极强的抗氧化活性,通过与活性氧反应来阻止膜磷脂的过氧化,从而保护细胞免受氧化应激的损伤。而国内学者研究发现 L-FABP 与游离脂肪酸结合,可防止细胞凋亡,并能减轻肾小管细胞的氧化应激及抑制炎症因子、脂质过氧化物产生,从而减轻肾小管损伤,说明其具有肾保护作用<sup>[26]</sup>。

#### 5 基质金属蛋白酶组织抑制剂-2(TIMP-2)

TIMP-2 相对分子质量为 21 kD,是一种有 194 个氨基酸残基的非糖基化蛋白,也是基质金属蛋白酶 2(MMP-2)特异的天然抑制剂,可参与调节细胞的生长和凋亡<sup>[27]</sup>。正常情况下基质金属蛋白酶(MMP)与基质金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)在体内保持相对平衡,它们的平衡决定着细胞外基质(ECM)的降解速率,因而在组织的修复、重塑中具有重要的意义。当发生脓毒性 AKI 时,肾小管上皮细胞分泌 TIMP-2,它可不依赖 MMP-2,诱导细胞周期短时间的停止在 G1 期,避免发生可能的细胞损伤,与 IGFBP-7 相似,因而成为新的 AKI 标记物。Sulikowski 等<sup>[28]</sup>研究发现,大鼠肾脏缺血 12 min 后,检测到 TIMP-2 基因表达明显升高。在一项多中心研究中,Kashani 等<sup>[29]</sup>发现,TIMP-2 可有效预测中度-重度 AKI(KDIGO 标准 2~3 期)的发生(TIMP-2 的 AUC 为 0.79),并且在 12 h 内,尿 TIMP-2 比其他生物标志物(如 NGAL 等)更敏感。此外研究发现,在 AKI 的修复期,TIMP-2 还可能促进促进肾小管上皮细胞的增殖,重建具有生理功能的细胞,有保护和促进组织修复的作用。

#### 6 胰岛素样生长因子结合蛋白-7(IGFBP-7)

IGFBP-7 相对分子质量为 29 kD,是 IGFs 超家族的新成员,是一种分泌性糖蛋白,在体内广泛表达,主要作为细胞衰老调节因子和肿瘤抑制因子,能独立调控细胞的增殖、迁移和凋亡<sup>[30]</sup>。脓毒症肾损伤中,IGFBP-7 可诱导肾小管上皮细胞阻滞在细胞周期的 G1 期<sup>[31]</sup>,可阻滞 DNA 分裂进程,防止细胞在其受损的情况下分裂,直到 DNA 损伤被修复,这可能是对 AKI 的一种早期应答机制,从而减轻肾损伤<sup>[32]</sup>。Aregger

等<sup>[33]</sup>研究指出,IGFBP-7 可能是一个比 NGAL 更加准确的 AKI 预测值(IGFBP7 的 AUC 为 0.74,NGAL 的 AUC 为 0.70),对预后的评估亦优于 NAGL。且 Kashani 等<sup>[29]</sup>研究表明尿 IGFBP-7 的升高可预测中-重度 AKI(KDIGO 标准 2~3 期)的发生。一项大样本多中心研究结果显示,将尿 TIMP-2 和 IGFBP-7 相结合来预测 AKI 的发生和预后,比单用其中一种或其他生物标志物(如 KIM-1、NGAL 等)更敏感<sup>[34]</sup>。

#### 7 转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)

TGF- $\beta$ 1 相对分子质量为 25 kD,属于新近发现的调节细胞生长和分化的转化生长因子  $\beta$  超家族。成熟的 TGF- $\beta$  是由二硫键连接而成的同质二聚体,是一种多效性的细胞因子,常以自分泌或旁分泌方式通过细胞表面受体信号转导途径来调节细胞增殖、分化、凋亡,对细胞外基质(ECM)的合成、创伤修复、免疫功能等有重要的调节作用。TGF- $\beta$  有三种同分异构体,其中 TGF- $\beta$ 1 在肾脏表达最多,主要分布在肾小球、肾小管,且活性最强。近年来大量实验证实 TGF- $\beta$ 1 在肾小管间质纤维化中起重要作用,是最关键的致纤维化因子之一<sup>[35]</sup>。另有研究表明,TGF- $\beta$ 1 还可激活肾组织的炎症信号通路,产生炎症因子,促进炎症细胞浸润<sup>[36]</sup>。此外研究发现 TGF- $\beta$ 1 不仅能促进 ECM 的合成和沉积,还可激活 TIMP 来抑制 MMP 的降解,表明 TGF- $\beta$ 1 与 TIMP 的表达上调是一致的<sup>[37]</sup>。有学者研究发现感染性 AKI 大鼠肾组织中 TGF- $\beta$ 1 水平升高,HE 染色观察到肾小管扩张、上皮细胞萎缩、肾间质炎性细胞浸润、纤维组织增生等变化,表明脓毒性 AKI 时 TGF- $\beta$ 1 可作为早期生物标志物<sup>[38]</sup>。关于 TGF- $\beta$ 1 作为脓毒性 AKI 早期生物标志物的研究不多,其具体作用机制还有待进一步研究。

#### 8 结 语

脓毒性 AKI 作为 ICU 患者的主要死因之一,早期诊断、早期干预可改善患者的预后,降低病死率。近年来随着对其发病机制的不断深入研究,许多新的生物标志物被发掘,与传统的 BUN 及肌酐相比,确实在早期诊断中具有明显的优势。如果能尝试采用几种生物标志物相结合来预测脓毒性 AKI,效果可能会更好。同时,这些生物标志物的详细作用机制还有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] Galley HF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis [J]. Br J Anaesth, 2011, 107(1): 57-64.
- [2] 刘冲,林瑾,李昂,等. ICU 严重脓毒症患者死亡原因分析 [J]. 山东医药, 2014, 54(24): 78-80.
- [3] Jörres A. Acute kidney injury in sepsis: transient or intrinsic? [J]. Crit Care, 2013, 17(6): 1014.
- [4] Holthoff JH, Wang Z, Patil NK, et al. Rolipram improves renal perfusion and function during sepsis in the mouse [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2013, 347(2): 357-364.
- [5] 王海霞,郑瑞强,林华,等. 基于 RIFLE 标准急性肾损伤患者发病率及病死率的研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22(3): 276

- 279.
- [6] Parikh CR, Thiessen-Philbrook H, Garg AX, et al. Performance of kidney injury molecule -1 and liver fatty acid -binding protein and combined biomarkers of AKI after cardiac surgery[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8(7): 1079 - 1088.
- [7] Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells [ J ]. *J Clin Invest*, 2008, 118 ( 5 ) : 1657 - 1668.
- [8] Sabbiseti VS, Ito K, Wang C, Yang L, et al. Novel assays for detection of urinary KIM -1 in mouse models of kidney injury[J]. *Toxicol Sci*, 2013, 131 ( 1 ) : 13 - 25.
- [9] Huo W, Zhang K, Nie Z, et al. Kidney injury molecule-1 ( KIM-1 ) : a novel kidney-specific injury molecule playing potential double-edged functions in kidney injury[J]. *Transplant Rev ( Orlando )*, 2010, 24 ( 3 ) : 143 - 146.
- [10] Nejat M, Pickering JW, Devarajan P, et al. Some biomarkers of acute kidney injury are increased in pre-renal acute injury[J]. *Kidney Int*, 2012, 81 ( 12 ) : 1254 - 1262.
- [11] Makris K, Kafkas N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury[J]. *Adv Clin Chem*, 2012, 58: 141 - 191.
- [12] Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008, 48: 463 - 493.
- [13] Han M, Li Y, Liu M, et al. Renal neutrophil gelatinase associated lipocalin expression in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in the rat [ J ]. *BMC Nephrol*, 2012, 13: 25.
- [14] Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin ( NGAL ) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock[J]. *Crit Care Med*, 2008, 36 ( 4 ) : 1297 - 1303.
- [15] Westhuyzen J. Cystatin C: a promising marker and predictor of impaired renal function [ J ]. *Ann Clin Lab Sci*, 2006, 36 ( 4 ) : 387 - 394.
- [16] Koyner JL, Bennett MR, Worcester EM, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery[J]. *Kidney Int*, 2008, 74 ( 8 ) : 1059 - 1069.
- [17] Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, et al. Serum cystatin C: a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine[J]. *Clin Nephrol*, 2005, 64(1): 41 - 46.
- [18] Ortuño-Andériz F, Cabello-Clotet N, Vidart-Simón N, et al. Cystatin C as an early marker of acute kidney injury in septic shock [ J ]. *Rev Clin Esp*, 2015, 215(2): 83 - 90.
- [19] Zhang Z, Lu B, Sheng X, et al. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: a systemic review and meta-analysis[J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58(3): 356 - 365.
- [20] Asiluglu N, Acikgoz Y, Paksu MS, et al. Is serum cystatin C a better marker than serum creatinine for monitoring renal function in pediatric intensive care unit? [ J ]. *J Trop Pediatr*, 2012, 58 ( 6 ) : 429.
- [21] Manabe K, Kamihata H, Motohiro M, et al. Urinary liver-type fatty acid-binding protein level as a predictive biomarker of contrast-induced acute kidney injury [ J ]. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42 ( 5 ) : 557 - 563.
- [22] Cho E, Yang HN, Jo SK, et al. The role of urinary liver-type fatty acid-binding protein in critically ill patients[J]. *J Korean Med Sci*, 2013, 28 ( 1 ) : 100 - 105.
- [23] Susantitaphong P, Siribamrungwong M, Doi K, et al. Performance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in acute kidney injury: a meta-analysis[J]. *Am J Kidney Dis*, 2013, 61 ( 3 ) : 430 - 439.
- [24] Doi K, Negishi K, Ishizu T, et al. Evaluation of new acute kidney injury biomarkers in a mixed intensive care unit[J]. *Crit Care Med*, 2011, 39(11): 2464 - 2469.
- [25] Yan J, Gong Y, She YM, et al. Molecular mechanism of recombinant liver fatty acid binding protein's antioxidant activity[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(12): 2445 - 2454.
- [26] 孙祥雷, 许冬梅. 肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)与肾脏疾病[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2008, 28(4): 517 - 520.
- [27] Stetler-Stevenson WG. Tissue inhibitors of metalloproteinases in cell signaling: metalloproteinase-independent biological activities[J]. *Sci Signal*, 2008, 1 ( 27 ) : re6.
- [28] Sulikowski T, Domanski L, Zietek Z, et al. Effect of preservation solutions UW and EC on the expression of matrix metalloproteinase II and tissue inhibitor of metalloproteinase II genes in rat kidney [ J ]. *Postepy Hig Med Dosw ( Online )*, 2012, 66: 45 - 50.
- [29] 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.
- [30] Zhu S, Xu F, Zhang J, et al. Insulin-like growth factor binding protein-related protein 1 and cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 431: 23 - 32.
- [31] Yang QH, Liu DW, Long Y, et al. Acute renal failure during sepsis: potential role of cell cycle regulation[J]. *J Infect*, 2009, 58 ( 6 ) : 459 - 464.
- [32] Rodier F, Campisi J, Bhaumik D. Two faces of p53: aging and tumor suppression [ J ]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35 ( 22 ) : 7475 - 7484.
- [33] Aregger F, Uehlinger DE, Witowski J, et al. Identification of IGFBP-7 by urinary proteomics as a novel prognostic marker in early acute kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2014, 85 ( 4 ) : 909 - 919.
- [34] Meersch M, Schmidt C, Van Aken H, et al. Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as early biomarkers of acute kidney injury and renal recovery following cardiac surgery[J]. *PLoS One*, 2014, 9 ( 3 ) : e93460.
- [35] Xiong J, Sun Q, Ji K, Wang Y, et al. Epidermal growth factor promotes transforming growth factor- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition in HK-2 cells through a synergistic effect on Snail[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(1): 241 - 250.
- [36] Meng XM, Huang XR, Xiao J, et al. Diverse roles of TGF $\beta$ 2 receptor in renal fibrosis and inflammation in vivo and in vitro[J]. *J Pathol*, 2012, 227(2): 175 - 188.
- [37] Krag S, Nyengaard J R, Wogensen L. Combined effects of moderately elevated blood glucose and locally produced TGF- $\beta$ 1 on glomerular morphology and renal collagen production [ J ]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22(9): 2485 - 2496.
- [38] Jiang GT, Chen X, Li D, et al. Ulinastatin attenuates renal interstitial inflammation and inhibits fibrosis progression in rats under unilateral ureteral obstruction[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(3): 1501 - 1508.