

泌尿生殖医学基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002144

梗阻性肾病患者血清中Ⅲ型前胶原及Ⅲ型前胶原氨基末端肽与肾脏纤维化的相关性

刘 珊, 张明霞, 刘伦志, 向海燕

(湖北民族大学附属民大医院肾内科, 恩施 445000)

【摘要】目的:探讨梗阻性肾病患者血清中 PCⅢ 及 PCⅢ 氨基末端肽浓度的变化与肾组织纤维化的相关性。**方法:**选取 2012 年 1 月至 2017 年 12 月在我院就诊的 78 例梗阻性肾病患者和 30 名健康体检者对照进行研究。采用放射免疫法测定血清Ⅲ型前胶原(PCⅢ)及Ⅲ型前胶原氨基末端肽(PⅢNP)水平,取得肾组织标本进行 HE 和 Masson 染色,光镜下观察肾纤维化程度;Spearman 分析 PCⅢ 及 PⅢNP 与肾组织纤维化的相关性;建立 logistic 回归模型根据 PCⅢ 和 PⅢNP 水平探讨肾纤维化的危险因素。ROC 曲线预测 PCⅢ 及 PⅢNP 在Ⅱ度肾纤维化的诊断灵敏度和特异度。**结果:**随着肾纤维化程度的升高,患者 PCⅢ 和 PⅢNP 的水平逐渐升高($P<0.01$)。PCⅢ 和 PⅢNP 水平与肾纤维化程度均有良好的相关性($r_s=0.820, P=0.000; r_s=0.806, P=0.000$)。PCⅢ 对Ⅱ度肾纤维化预测的灵敏度和特异性分别为 95.45%、83.93%,ROC 曲线下面积 0.96,95%CI=0.890~0.991;PⅢNP 预测的灵敏度和特异性分别为 86.36%、92.86%,ROC 曲线下面积 0.93,95%CI=0.849~0.976;两者均有较高的预测价值。PCⅢ:OR 值为 1.151 (95%CI=1.035~1.280, $P=0.009$);PⅢNP:OR 值为 1.198 (95%CI=1.039~1.380, $P=0.013$)。**结论:**血清中 PCⅢ 及 PⅢNP 水平与肾脏纤维化程度呈正相关,两者对重度肾纤维化有良好的预测价值,具有临床推广价值。

【关键词】肾纤维化;Ⅲ型前胶原;Ⅲ型前胶原氨基末端肽

【中图分类号】R691.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-05-23

Association of procollagen type Ⅲ and N-terminal peptide of procollagen type Ⅲ in serum with renal fibrosis in patients with obstructive nephropathy

Liu Shan, Zhang Mingxia, Liu Lunzhi, Xiang Haiyan

(Department of Nephrology, University Hospital of Hubei University for Nationalities)

【Abstract】Objective: To investigate the changes in serum levels of procollagen type Ⅲ (PCⅢ) and N-terminal peptide of PCⅢ (PⅢNP) and their association with renal fibrosis in patients with obstructive nephropathy. **Methods:** A total of 78 patients with obstructive nephropathy who were treated in our hospital from January 2012 to December 2017 and 30 individuals who underwent physical examination were enrolled. Radioimmunoassay was used to measure the serum levels of PCⅢ and PⅢNP. Renal tissue samples were collected for HE and Masson staining. The degrees of renal fibrosis were observed under a light microscope. The Spearman analysis was used to investigate the association of PCⅢ and PⅢNP with renal fibrosis. A logistic regression model was used to analyze the risk factors for renal fibrosis based on the levels of PCⅢ and PⅢNP. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to predict the sensitivity and specificity of PCⅢ and PⅢNP in the diagnosis of degree Ⅱ renal fibrosis. **Results:** The levels of PCⅢ and PⅢNP gradually increased with the increase in the degree of renal fibrosis ($P<0.01$). The levels of PCⅢ and PⅢNP were positively correlated with the degree of renal fibrosis ($r_s=0.820$ and $0.806, P=0.000$ and 0.000). PCⅢ had a sensitivity of 95.45%, a specificity of 83.93%, and an area under the ROC curve (AUC) of 0.96 (95%CI=0.890 to 0.991) in predicting degree Ⅱ renal fibrosis; PⅢNP had a sensitivity of 86.36%, a specificity of 92.86%, and an area under the ROC curve (AUC) of 0.93 (95%CI=0.849 to 0.976) in predicting degree Ⅱ renal fibrosis; both of them had a high predictive value. PCⅢ (OR=1.151, 95%CI=1.035 to 1.280, $P=0.009$) and PⅢNP (OR=1.198, 95%CI=1.039 to 1.380, $P=0.013$) were risk factors for renal fibrosis. **Conclusion:** The serum levels of PCⅢ and PⅢNP

are positively correlated with the degree of renal fibrosis, and both of them have a good value in predicting severe renal fibrosis and thus hold promise for clinical application.

【Key words】 renal fibrosis; procollagen type Ⅲ; N-terminal peptide of procollagen type Ⅲ

作者介绍: 刘 珊, Email: 1021352602@qq.com,

研究方向: 慢性肾脏病。

基金项目: 湖北省恩施州科技局资助项目 (编号: D20170017); 湖北省教育厅指导性资助项目 (编号: B2018086)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190510.1517.052.html>

(2019-05-13)

肾纤维化包括肾小球硬化、肾小管间质纤维化和血管硬化等病理改变,是多种肾病进展到终末期的共同病理表现^[1]。梗阻性肾病患者肾盂内压力升高、肾脏的血流动力学改变是导致肾纤维化的重要因素之一^[2]。具有肾组织纤维化的梗阻性肾病患者即使去除梗阻因素,肾功能也不能恢复正常,部分患者肾功能呈持续恶化,影响了梗阻性肾病的治疗及预后^[3]。因此,早期诊断并及时进行抗炎、抗氧化、抗凋亡、细胞因子抗体及抑制剂等综合措施采用多靶点的综合治疗,是改善临床治疗效果的基础^[4]。肾纤维化诊断的金标准为肾穿刺活检,但肾穿刺为有创检查,部分患者知情不同意,因此寻求客观反映肾纤维化程度的实验室检查指标有重要临床意义。PCⅢ是Ⅲ型胶原纤维的前体,PⅢNP是Ⅲ型胶原纤维的代谢产物,是临床上重要的检查肝纤维化的指标^[5]。卫小红等^[6]研究显示,PⅢNP水平除可监测肝纤维化水平外,对肺气肿合并肺纤维化也有良好的预测作用。目前PCⅢ与PⅢNP与肾纤维化的关系研究较少,本研究通过对梗阻性肾病血清PCⅢ与PⅢNP与病理结果进行比较,分析梗阻性肾病血清PCⅢ与PⅢNP水平与肾纤维化的相关性,以更好地指导临床工作,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究选取2012年1月至2017年12月在我院就诊的78例梗阻性肾病患者进行研究,78例患者中男54例,女24例,患者年龄为19~68岁,平均年龄(36.60±11.97)岁;另选取30例年龄、性别匹配的健康体检者为正常对照组。所有受检者均签署知情同意书,研究经医院伦理委员会批准。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准:①经彩色多普勒超声和静脉尿路造影检查,存在梗阻性肾积水,符合梗阻性肾病的诊断标准;②患者肝功能无异常;③患者无近期手术外伤史;④年龄≥18岁,性别不限;⑤单侧肾梗阻性病变;⑥患者对研究知情愿意配合

研究,并签署知情同意书。排除标准:①肾外器官恶性肿瘤及肾透明细胞癌患者;②肾外器官纤维化患者;③伴随糖尿病、高血压等内科疾病患者;④精神疾病患者,不能配合研究者;⑤拟纳入其他临床研究患者。

1.3 研究方法

患者入院后次日晨抽取静脉血5 mL,分离血清后置于-20℃保存,PCⅢ和PⅢNP均采用放射免疫法检测,试剂盒均购自泉州蓝图生物科技有限公司,严格按试剂盒操作。

1.4 肾组织纤维化判定

本研究78例患者中,9例患者因重度肾积水通过肾切除取得残存肾皮质,21例通过内镜取石术获得肾组织标本,15例通过切开取石术获得肾组织标本,5例通过输尿管根治术获得肾组织标本,28例患者通过肾穿刺获得肾组织标本。所有标本均制作石蜡切片,进行HE和Masson染色,光镜下观察,参照有关文献^[7]对肾组织纤维化程度分为0~Ⅱ级,分级标准见表1。

1.5 统计学处理

本研究所有数据均输入Epidata 3.0建立数据库,数据采用SPSS 23.0进行统计学处理分析,计数资料采用率或百分比表示和采用卡方检验,计量资料采用单因素方差检验,采用LSD-*t*法进行组间两两比较,78例患者相关性分析采用Spearman及logistic回归分析。以Masson染色是否发生Ⅱ级肾组织纤维化为金标准,绘制ROC曲线,计算PCⅢ和PⅢNP的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值、最佳截断值(cut-off)和曲线下面积(AUC),检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般情况

30例健康体检者和78例患者性别及年龄均无统计学差异(表2)。

2.2 不同肾组织纤维程度患者PCⅢ和PⅢNP水平

随着肾纤维化程度的升高,患者PCⅢ和PⅢNP的水平逐渐升高,差异有统计学意义($P<0.01$),结果见图1、表3。

2.3 血清PCⅢ和PⅢNP水平与肾纤维化程度的相关性

Spearman相关显示,PCⅢ和PⅢNP水平与肾纤维程度均有良好的相关性($r_s=0.820, P=0.000$; $r_s=0.806, P=0.000$)。78例患者肾纤维化影响因素的变量与赋值说明如下:肾脏纤维化(Y, 0级=1、Ⅰ级=2、Ⅱ级=3)。据变量选择有序分类logistic

表1 肾组织纤维化程度分级

观察项目	0级	Ⅰ级	Ⅱ级
肾小管	无明显病变	上皮萎缩、变性、坏死轻,灶状分布	萎缩、变性、坏死重
间质	无或极少见炎症细胞	少量炎症细胞	弥散或聚集成灶的炎症细胞浸润
纤维组织增生	无	增生呈小灶状	束状、多灶或网状成片
病变	<20%	20%≤病变<50%	≥50%

回归分析结果显示,血清 PCⅢ和 PⅢNP 的 OR 值均大于 1,是肾脏纤维化患者的风险影响因素 ($P<0.05$),见表 4。

表 2 30 例健康体检者与 78 例患者一般情况

组别	性别(男/女)	年龄(岁)
正常对照 ($n=30$)	17/13	37.23 ± 11.25
肾纤维化患者 ($n=78$)	54/24	36.60 ± 11.97
χ^2/t 值	2.176	-0.990
P 值	0.098	0.324

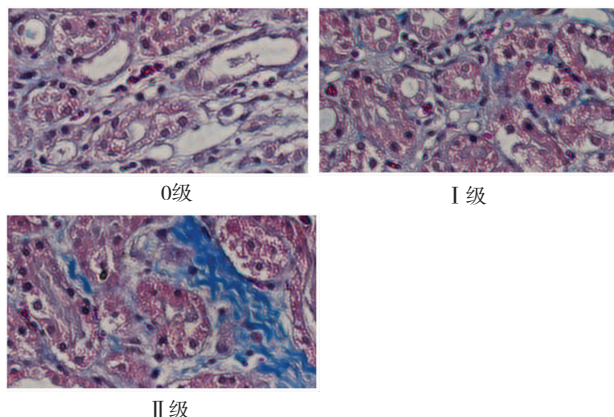


图 1 各级肾组织 Masson 染色 (200 ×)

表 3 不同肾组织纤维程度患者 PCⅢ和 PⅢNP 水平($\mu\text{g/L}$)

肾纤维化程度	PCⅢ	PⅢNP
正常对照 ($n=30$)	79.30 ± 14.30	94.16 ± 14.34
0 级 ($n=17$)	77.88 ± 17.66	101.42 ± 12.70
I 级 ($n=39$)	115.65 ± 25.02^a	143.93 ± 24.58^a
II 级 ($n=22$)	178.08 ± 28.53^{ab}	208.30 ± 41.39^{ab}
F 值	84.322	70.535
P 值	0.000	0.000

注:a:和 0 级比, $P<0.01$;b:和 I 级比, $P<0.01$

表 4 78 例患者肾纤维化影响因素的有序分类 logistic 回归分析

因素	B	SE	P	OR 值 (95%CI)
PCⅢ	0.141	0.054	0.009	1.151 (1.035~1.280)
PⅢNP	0.180	0.073	0.013	1.198 (1.039~1.380)
年龄	-0.069	0.057	0.226	0.933 (0.834~1.044)

2.4 血清 PCⅢ和 PⅢNP 水平对 II 度肾纤维化的诊断价值

PCⅢ对 II 度肾纤维化预测的灵敏度、特异性和 ROC 曲线下面积分别为 95.45%、83.93%和 0.96(表 5,图 2);PⅢNP 预测的灵敏度、特异性和 ROC 曲线下面积分别为 86.36%、92.86%和 0.93(表 5,图 3),两者均有较高的预测价值。

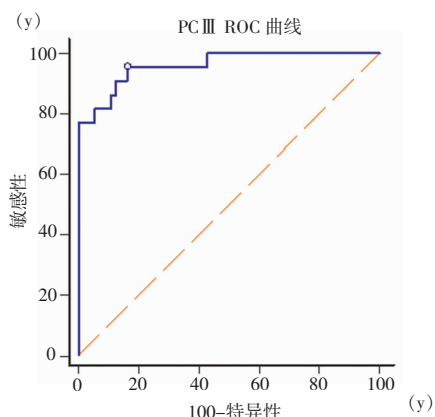


图 2 PCⅢ在 II 度肾纤维化的 ROC 曲线

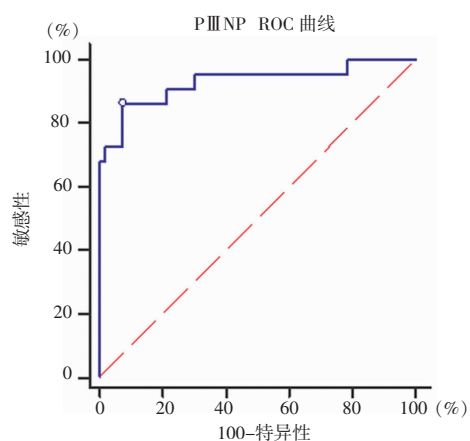


图 3 PCⅢNP 在 II 度肾纤维化的 ROC 曲线

3 讨论

肾小管间质纤维化的进展决定着残余肾功能的多少,而肾脏纤维化至少由一个外因如梗阻、感染、过敏、中毒等导致,这些因素启动肾组织缺氧,从而激发各级信号的级联反应,最终导致肾组织损伤并失功。其中在梗阻性肾病中,上下尿路梗阻均可增加肾盂内压力,肾血流动力学发生改变,肾脏血液供应减少,肾小管缺血缺氧,出现坏死和凋亡,缺氧也会诱导氧自由基的大量释放,加重了肾小管的损伤^[8]。上述恶性循环继而影响肾小球滤过功能,激活肾素-血管紧张素系统,肾素-血管紧张素系统的激活也会生成大量氧自由基,还会激活核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB),其可促使巨噬细胞

表 5 78 例患者血清 PCⅢ和 PⅢNP 水平对 II 度肾纤维化的诊断价值

因子	灵敏度(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	cut-off($\mu\text{g/L}$)	AUC	95%CI
PCⅢ	95.45	83.93	70.00	97.915	133.269	0.960	0.890~0.991
PⅢNP	86.36	92.86	82.697	94.563	168.835	0.930	0.849~0.976

释放 TNF- α 、TGF- β 1 等细胞因子,TNF- α 可介导肾小管上皮细胞凋亡,而 TGF- β 1 则可促进上皮-间充质细胞转化,异常细胞外基质沉积,出现肾纤维化,上皮-间充质细胞转化会导致肾小管上皮细胞减少,肾脏的血流进一步减少,增加肾缺氧,加速肾纤维化的进程^[9]。肾纤维化过程中,异常细胞外基质的主要成分之一即是Ⅲ型胶原^[10]。梗阻性肾病肾纤维化模型研究显示,在梗阻模型建立成功后 7 d 和 14 d,肾间质内Ⅲ型胶原的含量明显增加^[11]。这些研究结果提示,监测Ⅲ型胶原的合成状态有助于肾纤维化的预测,PCⅢ是Ⅲ型胶原合成的前体,而 PCⅢ氨基末端肽是Ⅲ型胶原的代谢产物,监测两者有助于了解体内Ⅲ型胶原的合成情况。

Iwano 和 Neilson^[12]研究显示,血清 PⅢNP 含量与肾纤维化过程中Ⅲ型胶原的合成密切相关,可用来监测体内Ⅲ型胶原的合成状态。张亮等^[13]对梗阻性肾病动物模型进行研究,结果显示,梗阻性肾病动物肾纤维化程度与血清 PCⅢ及 PⅢNP 含量呈正比,提示Ⅲ型胶原合成时 PCⅢ及 PⅢNP 均可进入血液,可反映患者肾脏Ⅲ型胶原的合成和肾纤维化程度;该研究结果还发现,PCⅢ在血清中含量升高较 PⅢNP 早 1~2 周,作为诊断肾纤维化的指标更具优势。但这些研究多集中于基础研究,临床上 PCⅢ和 PⅢNP 对梗阻性肾病肾纤维化的预测效果研究较少。本研究在梗阻性肾病患者中,随着肾纤维化程度的增加,PCⅢ和 PⅢNP 水平逐渐增加,说明随着纤维化程度的增加,Ⅲ型胶原合成增加,作为Ⅲ型胶原前体和代谢产物,血清 PCⅢ和 PⅢNP 水平升高。相关性研究显示,两者均与肾纤维化程度呈显著正相关,与基础研究^[12-13]一致。另外,有序分类 logistic 回归分析结果表明,血清 PCⅢ和 PⅢNP 是肾脏纤维化的独立影响因素。受试者工作曲线显示,PCⅢ和 PⅢNP 预测 II 度肾纤维化预测的灵敏度分别为 95.45%、86.36%,特异性分别为 83.93%、92.86%,提示两者均对重度肾纤维化有良好的预测价值。AUC 是评价诊断方法价值的重要指标,AUC 高于 0.9 为诊断价值高,0.7~0.9 为诊断价值中等,低于 0.7 则诊断价值低^[14]。本研究显示,PCⅢ和 PⅢNP 的 AUC 分别为 0.960、0.930,说明两者对重度肾纤维化诊断价值较高。

综上所述,血清中 PCⅢ及 PCⅢNP 水平与梗阻性肾病肾纤维化的程度呈正相关,两者对重度肾纤维化有良好的预测价值,具有临床推广价值。考虑

到有关文献报道,血清 PCⅢ水平升高时间较 PⅢNP 早 1~2 周,本研究认为监测血清 PCⅢ水平对肾脏纤维化患者更具临床意义。本实验由于病种受限,未搜集到非梗阻性肾病的其他慢性肾脏病患者作为对比研究。下一步将搜集引起肾脏纤维化的相关启动因素并纳入进一步分析,以验证 PCⅢ和 PⅢNP 与肾纤维化分级的相关性,可更有力地体现 PCⅢ及 PCⅢNP 在肾脏纤维化的地位,为早期延缓肾脏恶性进展提供治疗时机。

参 考 文 献

- [1] Meng XM,David NP,Lan HY. Inflammatory processes in renal fibrosis[J]. *Nature Reviews Nephrology*,2014,10(9):493-503.
- [2] O'Connell W,Shah J,Mitchell J,et al. Obstruction of the biliary and urinary system[J]. *Tech Vasc Interv Radiol*,2017,20(4):288-293.
- [3] Muka T,Imo D,Jaspers L,et al. The global impact of non-communicable diseases on healthcare spending and national income:a systematic review[J]. *Eur J Epidemiol*,2015,30(4):251-277.
- [4] 孙亭如,姚源璋. 肾纤维化中西医结合治疗进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*,2014,15(12):1126-1128.
- [5] 刘明飞,余建华,汪洁,等. 血、尿、腹水 PCⅢ肽联合检测在肝脏疾病中的应用价值[J]. *海南医学院学报*,2015,21(10):1335-1339.
- [6] 卫小红,吴小燕,王军辉,等. 淋巴细胞和Ⅲ型胶原氨基末端肽与肺气肿合并肺纤维化的关系[J]. *细胞与分子免疫学杂志*,2010,26(7):675-678.
- [7] 高慧敏. 巨噬细胞浸润在肾小管间质纤维化和上皮间质转化中的作用及意义[D]. 合肥:安徽医科大学,2016.
- [8] Ow C,Ngo J P,Ullah M M,et al. Renal hypoxia in kidney disease: Cause or consequence?[J]. *Acta Physiol (Oxf)*,2018,222(4):e12999.
- [9] Cruz-Solbes AS,Youker K. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) and endothelial to mesenchymal transition (EndMT):role and implications in kidney fibrosis[J]. *Results Probl Cell Differ*,2017,60:345-372.
- [10] Sulikowska B,Rutkowski B,Marszalek A,et al. The role of interstitial changes in the progression of chronic kidney disease[J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*,2015,69:830-837.
- [11] Wang B,Liu D,Zhu Q H,et al. Rutin ameliorates kidney interstitial fibrosis in rats with obstructive nephropathy[J]. *Int Immunopharmacol*,2016,35:77-84.
- [12] Iwano M,Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*,2004,13(3):279-284.
- [13] 张亮,刘玉强,李远,等. 梗阻性肾病肾纤维化与血清中Ⅲ型胶原变化的相关性研究[J]. *山东大学学报(医学版)*,2009,47(12):29-32.
- [14] 宋花玲,贺佳,黄品贤,等. ROC 曲线下面积估计的参数法与非参数法的应用研究[J]. *第二军医大学学报*,2006,27(7):726-728.

(责任编辑:冉明会)