

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.11.026

儿童肾小球疾病尿蛋白组分与其病理类型相关性分析

刘钧菲¹,王 华²

(1. 河南省郑州市儿童医院肾脏风湿科 450000;2. 郑州大学第一附属医院儿内科,郑州 450000)

[摘要] **目的** 探讨儿童不同病理类型肾小球疾病尿蛋白组分的差异及其对疾病诊治的意义。**方法** 2010 年 11 月至 2012 年 7 月郑州大学第一附属医院儿内科收治行肾穿刺活检明确病理类型的肾小球疾病患儿共 120 例,其中急性肾小球肾炎(AGN)6 例,微小病变型肾病(MCD)35 例,局灶性节段性肾小球硬化(FSGS)9 例,过敏性紫癜性肾炎(HSPN)44 例,IgA 肾病(IgAN)17 例,溶血尿毒综合征(HUS)9 例,全部病例同步行尿蛋白电泳检测,85 例同步行尿 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)检测。**结果** 不同病理类型之间比较 β_2 -MG、溶菌酶、视黄醇结合蛋白、游离轻链、 α_1 微球蛋白、轻链二聚体、清蛋白和转铁蛋白所占比例差异显著($P=0.016$ 、 $P=0.017$ 、 $P=0.017$ 、 $P=0.023$ 、 $P=0.004$ 、 $P=0.025$ 、 $P=0.049$ 、 $P<0.01$),小分子蛋白所占比例和尿 β_2 -MG 之间相关性良好($r=0.243$ $P=0.025$)。**结论** 尿蛋白电泳和肾组织病理相结合对肾小球疾病的诊治有重要的意义,不同的病理类型有不同的尿蛋白质图谱,尿蛋白质图谱的差异对肾小球疾病发病机制的意义有待进一步研究。

[关键词] 儿童;肾小球疾病;肾组织病理;尿蛋白电泳
[中图分类号] R725 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)11-1528-03

The correlation analysis of urinary protein electrophoresis and pathologic in children with glomerular diseases

Liu Junfei¹,Wang Hua²

(1. Department of Kidney Rheumatism, Children's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan 450000, China;

2. Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China)

[Abstract] **Objective** To understand the significance of urinary protein components in children with different pathological types of glomerular diseases, to explore the significance to diagnosis and treatment of disease. **Methods** Totally 120 children with glomerular diseases, from November 2010 to July 2012 in the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University were collected, in which 6 children with acute glomerulo nephritis(AGN), 35 children with minimal change disease(MCD), 9 children with focal segmental glomerulosclerosis(FSGS), 44 children with Nephritis of Schonlein-Henoch Purpura(HSPN), 17 children with IgA nephropathy(IgAN) and 9 children with hemolytic uremic syndrome(HUS). Urine protein electrophoresis and urine β_2 -microglobulin(β_2 -MG) levels were investigated in different glomerular diseases. **Results** Significant difference was detected in β_2 -microglobulin, lysozyme, retinol-binding protein, free light chain, α_1 -microglobulin, light chain dimmer, albumin and transferring levels in different glomerular diseases($P=0.016$, $P=0.017$, $P=0.017$, $P=0.023$, $P=0.004$, $P=0.025$, $P=0.049$, $P<0.01$). A significant correlation was detected between low molecular weight protein and urine β_2 -microglobulin levels($r=0.243$, $P=0.025$). **Conclusion** It is significant for diagnosis and treatment of glomerular diseases to the combination of urine protein electrophoresis and renal pathology. Urinary protein profiles are different in different pathological types. Proteomics may be significant for the mechanism of glomerular diseases.

[Key words] child; glomerular disease; renal pathology; urine protein electrophoresis

儿童时期常见的肾小球疾病有急性肾小球肾炎(AGN)、肾病综合征(NS)、过敏性紫癜性肾炎(HSPN)、IgA 肾病(IgAN)和溶血尿毒综合征(HUS),其中 NS 中常见的有微小病变型肾病(MCD)和局灶性节段性肾小球硬化(FSGS)。肾小球疾病的发病原因和机制不甚明确^[1],目前确诊依靠肾穿刺活检,治疗上主要是对症和经验治疗。肾穿刺活检为有创性检查,且在危重患儿受到一定的限制,复查肾组织病理同样受到一定的限制。尿蛋白是肾小球疾病的最常见临床表现,尿蛋白的组分研究目前临床上主要依靠尿蛋白电泳^[2-3],但患儿不同肾小球疾病的尿蛋白组分差异研究较少。尿蛋白组分的差异是否与肾组织病理存在一定的相关性,是否不同的病理类型有特定的尿蛋白质图谱,有待进一步研究。本文结合不同病理类型尿蛋白电泳资料分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 11 月至 2012 年 7 月郑州大学第一附属医院儿内科收治行肾穿刺活检明确病理类型的肾小球疾病患儿共 120 例,其中男 82 例,年龄 1.3~14.0 岁,平均(7.76±

3.36)岁;女 38 例,年龄 1~17 岁,平均(7.57±3.86)岁。其中 AGN 6 例,MCD 35 例,FSGS 9 例,HSPN 44 例,IgAN 17 例,HUS 9 例。全部病例同步行尿蛋白电泳检测,85 例同步行尿 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)检测。研究对象均为初治患儿,入院前 2 周无应用激素及免疫抑制剂史,所有病例均经病理确诊。检查及留取标本前均取得家长及医院伦理委员会的同意。

1.2 方法

1.2.1 标本的收集与保存 所有研究对象用尿杯留取清晨第 1 次尿,置于洁净塑料试管内待测。B 超定位下肾穿刺活检,每例肾穿刺活检组织取出后分成 3 份,分别在中性甲醛、戊二醛液中固定及低温保存送检。

1.2.2 主要试剂和仪器 (1)主要试剂: β_2 -MG 生化比浊检测试剂盒由西班牙 Biosystems S. A. 公司生产,法国 SEBIA 公司 HYDRASYS 全自动电泳仪配套试剂盒。(2)主要仪器:日本日立公司生产的 7600-020 全自动生化分析仪,法国 SEBIA 公司 HYDRASYS 全自动电泳仪。

1.2.3 检测方法 全自动生化比浊法测定尿 β_2 -MG,全自动

表 1 不同病理类型之间尿蛋白组分比较 M(25th-75th)

项目	AGN(n=6)	MCD(n=35)	FSGS(n=9)	HSPN(n=44)	IgAN(n=17)	HUS(n=9)	χ^2	P
β2-MG(%)	2.60(0.00~17.58)	0.00(0.00~0.10)	0.00(0.00~0.65)	0.00(0.00~0.20)	0.20(0.00~2.40)	0.20(0.05~1.10)	13.965	0.016
溶菌酶(%)	0.45(0.00~1.50)	0.00(0.00~0.10)	0.40(0.00~1.55)	0.00(0.00~0.70)	0.10(0.00~0.75)	2.50(0.05~7.95)	13.743	0.017
RBP(%)	0.00(0.00~0.93)	0.00(0.00~0.10)	0.70(0.00~3.45)	0.00(0.00~0.93)	0.40(0.00~1.35)	1.10(0.10~2.90)	13.722	0.017
free LC(%)	0.00(0.00~0.73)	0.00(0.00~0.10)	1.30(0.10~4.60)	0.00(0.00~1.75)	0.30(0.00~2.25)	0.50(0.15~2.40)	13.041	0.023
α1-MG(%)	0.00(0.00~0.73)	0.00(0.00~0.50)	1.80(0.25~2.35)	0.00(0.00~1.20)	1.10(0.00~2.00)	1.80(0.15~3.65)	17.262	0.004
dimmer LC(%)	0.00(0.00~0.63)	0.00(0.00~0.80)	1.30(0.35~2.35)	0.00(0.00~1.28)	1.50(0.00~1.90)	2.00(0.15~5.40)	12.882	0.025
ALB(%)	80.90(69.73~90.78)	79.20(68.90~87.70)	69.40(66.95~69.40)	87.75(72.43~92.98)	71.00(66.75~82.80)	81.40(55.20~89.35)	11.133	0.049
TRF(%)	5.00(2.95~8.60)	13.10(8.40~20.10)	12.10(3.10~4.00)	6.50(4.65~8.38)	9.60(5.00~14.90)	4.50(2.15~9.05)	26.771	<0.01
Ig 类 (%)	1.90(0.60~8.48)	2.90(1.30~5.40)	3.10(1.85~4.00)	1.25(0.00~4.20)	5.60(0.30~8.80)	3.20(0.90~11.35)	8.343	NS
结合珠(%)	0.05(0.00~2.70)	0.00(0.00~1.20)	0.00(0.00~1.50)	0.00(0.00~1.48)	0.80(0.00~2.55)	0.00(0.00~1.25)	1.380	NS

NS:无统计学意义。

电泳仪测定尿蛋白组分。肾活检病理检查:肾活检组织行石蜡包埋,切片厚度为 1 μm,分别行 HE、过碘酸雪夫反应(PAS)、六胺银(PASM)、MASSON 染色。肾组织冷冻切片以辣根过氧化物酶标记的兔抗人 IgG、A、M、C3、4 和 C1q 进行免疫荧光染色。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 进行统计学处理。计量资料呈非正态分布,用 M(25th-75th)表示,采用 Kruskal-Wallis 检验进行多个样本间的比较。两个变量间的相关关系分析,服从双变量正态分布,采用 Pearson 直线相关分析,检验标准 α=0.05,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同病理类型的特点 6 例 AGN 患者光镜均表现为弥漫性毛细血管内增生性肾小球肾炎,其中 1 例肾小管轻度损伤,免疫荧光均有免疫复合物沉积,IgG 沉积 6 例,C3 沉积 6 例,IgM 沉积 2 例,IgA 沉积 1 例,免疫复合物主要沿肾小球毛细血管袢及系膜区呈颗粒状沉积。35 例 MCD 患者光镜示肾小球基本正常,4 例系膜区系膜基质轻度增多,3 例肾小管上皮细胞发生玻璃样变性及脂肪变性,免疫荧光有 1 例 IgM 沉积,电镜下均为足突融合,无电子致密物沉积。9 例 FSGS 患者光镜表现为病变肾小球呈局灶节段性分布,毛细血管袢硬化、球囊粘连、基底膜断裂甚至消失,4 例病变发生于血管极附近,1 例发生于肾小球尿极,2 例肾小管有不同程度的萎缩、坏死,免疫荧光有 2 例 IgM 沉积及 C3 沉积,电镜下可见足细胞足突融合,重者可见足细胞与基膜分离。44 例 HSPN 患者中Ⅱa 型 11 例,Ⅲa 型 28 例,Ⅲb 型 4 例,Ⅳa 型 1 例,肾小管轻度损伤 3 例。17 例 IgAN 患者光镜示 4 例毛细血管内增生性 IgAN,12 例局灶增生性 IgAN,1 例轻度系膜增生性 IgAN,3 例肾小管轻度损伤。9 例 HUS 患者光镜下为微血管病变,可见内皮细胞肿胀、脱落、内皮细胞下间隙增宽,血管腔内纤维索性血栓堵塞,荧光下可见 IgG、IgM 及补体在血管壁沉积,2 例肾小管损伤严重。

2.2 各组指标的比较 不同病理类型之间比较 β2-MG、溶菌酶、视黄醇结合蛋白(RBP)、游离轻链(free LC)、α1 微球蛋白(α1-MG)、轻链二聚体(dimmer LC)、清蛋白(ALB)和转铁蛋白(TRF)所占比例差异有统计学意义(P=0.016、P=0.017、P=0.017、P=0.023、P=0.004、P=0.025、P=0.049、P<0.01),见表 1。

2.3 各个指标的相关关系 小分子蛋白所占比例和尿 β2-MG 之间相关性良好(r=0.243,P=0.025),其中小分子蛋白指相对分子质量小于清蛋白的蛋白组分百分比的和。

3 讨 论

肾小球疾病是指疾病起始于肾小球或主要病变位于肾小球的一组疾患,目前认为其主要为免疫介导性疾病^[1,4-5]。尿

蛋白是肾小球疾病主要的临床表现,尿蛋白的发生主要与肾小球滤过和肾小管的重吸收有关。正常情况下,肾小球基底膜可阻止高分子蛋白(指分子量大于 15 万,如 IgM、α2-糖蛋白)通过,上皮细胞裂孔膜^[6-7]可阻止中分子蛋白(分子量在 5 万~15 万,如 ALB、TRF)通过,对低分子蛋白二者均无屏障作用。漏出的低分子蛋白常由肾小管重吸收或分解,健康儿童由肾小球滤过的蛋白质 99%在近曲小管远端被重吸收。当肾小球滤过功能和肾小管的再吸收功能障碍时,便可产生尿蛋白。

本文结果提示,不同病理类型之间尿蛋白组分所占比例不同,尿蛋白的组分反映了肾小球或肾小管损伤的部位及程度,不同的病理类型免疫物质或补体的沉积部位不同,导致了尿蛋白的组分不同。

本研究 6 例 AGN 病理主要损伤部位在肾小球,为渗出性病变,可见内皮细胞和系膜细胞增殖及炎性细胞浸润,未见硬化坏死病变,基底膜受到不同程度的损害,其中 1 例肾小管轻度损伤;35 例 MCD 光镜及免疫荧光未见严重病变,3 例肾小管上皮细胞发生玻璃样变性及脂肪变性,未见肾小管萎缩、坏死等病变,电镜下均为足突融合,无电子致密物沉积,提示基底膜、裂孔膜及肾小管轻度损伤,与本次研究结果 AGN 及 MCD 尿蛋白电泳集中于 ALB 及 TRB 段(85.9%、92.3%),并可见少量小分子蛋白相符合。9 例 FSGS 光镜表现为病变肾小球呈局灶节段性分布,毛细血管袢硬化、球囊粘连、基底膜断裂甚至消失,2 例肾小管有不同程度的萎缩、坏死,电镜下可见足细胞足突融合,重者可见足细胞与基膜分离,提示基底膜、裂孔膜及肾小管损伤较重,与本次研究结果 FSGS 尿蛋白电泳小分子和大分子比例均较高相符合。

HSPN 与 IgAN^[8]病理类型轻重不一,本次研究收集的主要病例 24 h 尿蛋白定量位于中下等,光镜下 44 例 HSPN≤Ⅲa 型 39 例,肾小管轻度损伤 3 例;17 例 IgAN 中轻度系膜增生性及局灶增生性占 13 例,3 例肾小管轻度损伤,提示基底膜、裂孔膜及肾小管损害较轻,与本次研究结果尿蛋白电泳集中于 ALB 及 TRB 段(94.25%、80.6%),并可见少量小分子蛋白相符合。

HUS 为血栓性血管炎疾病,肾脏为主要受累器官。光镜下为微血管病变,可见内皮细胞肿胀、脱落、内皮细胞下间隙增宽,血管腔内纤维索性血栓堵塞,荧光下可见 IgG、IgM 及补体在血管壁沉积,提示基底膜损伤较重,9 例中有 2 例肾小管损伤严重,与本次研究结果提示尿蛋白电泳小分子和大分子比例均较高相符合。

尿蛋白电泳中小分子所占比例与传统的反应肾小管损伤的尿 β2-MG 存在良好的相关性,提示小分子反应肾小管的损伤与理论研究相符合。

3 例 MCD 伴有急性肾小管的损伤,2 例尿蛋白电泳出现

小分子组分,1 例未出现,可能与肾小管损伤程度有关。5 例尿蛋白电泳出现小分子组分,而肾组织病理未提示肾小管损伤,可能与肾穿刺活检的局限性有关。

尿蛋白电泳为一无创的检测方法,且复查较方便,其对肾脏损伤部位的意义报道较多。本文结果提示不同的病理类型有不同的尿蛋白质图谱,尿蛋白电泳和肾组织病理相结合对疾病的诊治有重要的意义。尿蛋白质组学在肾小球疾病中的应用是目前不成熟的一门新的学科,推测其对疾病的诊断、治疗及其发病机制的意义重大^[9-15]。那么,需要建立更多的健康人和患者的尿蛋白质图谱,将对肾小球疾病的发病机制做出巨大的贡献。

参考文献

- [1] 河内裕,万毅刚. 肾病综合征的发病机理——蛋白尿发病机制的最新认识[J]. 日本医学介绍,2005,26(9):385-387.
- [2] 张小玲,顾晓琼,徐家瑜,等. 小儿肾病尿液总蛋白、微量白蛋白及尿蛋白电泳联合检测的探讨[J]. 实用医学杂志,2006,22(3):296-298.
- [3] 张小玲,杨丽媛,谭晓明,等. 尿蛋白电泳在小儿肾病诊断中的应用价值[J]. 实用医学杂志,2010,26(2):279-281.
- [4] 王素霞,邹万忠,王海燕. 局灶节段性肾小球硬化症的病理诊断及分型[J]. 中华肾脏病杂志,2005,21(1):55-58.
- [5] 张昱. 紫癜性肾炎的发病机制及治疗进展[J]. 国外医学:泌尿系统分册,2004,24(3):423-427.
- [6] 达展云,范亚平. 足细胞抗原与肾小球疾病[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2009,25(6):562-564,567.
- [7] 张敏,姜华军,何艳,等. 足细胞的免疫功能[J]. 中国细胞生物学学报,2010,32(6):908-913.

- [8] Matousovici K, Novak J, Yanagihara T, et al. IgA-containing immune complexes in the urine of IgA nephropathy patients[J]. Nephrology Dialysis Transplantation September,2006,21(9):2478-2484.
- [9] Balog CI, Hensbergen PJ, Derks R, et al. Novel automated biomarker discovery work flow for urinary peptidomics [J]. Clin Chem,2009,55(1):117-125.
- [10] Candiano G, Musante L, Bruschi M, et al. Repetitive fragmentation products of albumin and alpha1-antitrypsin in glomerular diseases associated with nephrotic syndrome [J]. J Am Soc Nephrol,2006,17(11):3139-3148.
- [11] Magistroni R, Ligabue G, Lupo V, et al. Proteomic analysis of urine from proteinuric patients shows a proteolytic activity directed against albumin[J]. Nephrology Dialysis Transplantation May,2009,24(5):1672-1681.
- [12] Plymoth A, Hainaut P. Proteomics beyond proteomics: toward clinical applications [J]. Curr Opin Oncol Janu, 2011,23(1):77-82.
- [13] Wu J, Chen YD, Gu W. Urinary proteomics as a novel tool for biomarker discovery in kidney diseases[J]. J Zhejiang Univ Sci B,2010,11(4):227-237.
- [14] 吕杨,谢院生,陈香美. 蛋白质组学在肾小球疾病研究中的应用[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2010,11(4):357-359.
- [15] 马骏,沈汉超. 尿液蛋白质组学在泌尿系统疾病研究中的应用[J]. 国际泌尿系统杂志,2006,26(1):84-88.

(收稿日期:2015-10-23 修回日期:2016-01-04)

(上接第 1527 页)

- [4] Tateishi Y, Wisco D, Aoki J, et al. Large deep white matter lesions May predict futile recanalization in endovascular therapy for acute ischemic stroke[J]. Interv Neurol, 2015,3(1):48-55.
- [5] Ueda K, Watanabe Y, Katsumata T, et al. Carotid intima-media thickness and cerebral white matter lesions are more advanced in acute ischemic stroke patients with renal dysfunction[J]. Clin Nephrol,2011,76(4):290-295.
- [6] 芦林龙,冯涛,刘萍,等. 急性缺血性卒中患者脑白质病变与认知功能障碍的相关性研究[J]. 中国卒中杂志,2010,5(11):882-887.
- [7] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010[J]. 中国全科医学,2011,14(35):4013-4017.
- [8] Pflugrad H, Bronzlik P, Raab P, et al. Cerebral white matter lesions in patients with cirrhosis - causative for hepatic encephalopathy or bystanders? [J]. Liver Int, 2015,35(7):1816-1823.
- [9] Ai Q, Pu YH, Sy C, et al. Impact of regional white matter lesions on cognitive function in subcortical vascular cognitive impairment[J]. Neurol Res,2014,36(5):434-443.
- [10] Frisoni GB, Galluzzi S, Pantoni LA. The effect of white matter lesions on cognition in the elderly - small but de-

- tectable[J]. Nat Clin Pract Neurol,2007,3(11):620-627.
- [11] 魏娜,沈东超,张玉梅,等. 缺血性卒中合并脑白质病变的危险因素研究[J]. 中国卒中杂志,2011,6(12):960-966.
- [12] 秦琳,周其达,邹锡良,等. 急性缺血性脑卒中患者血管僵硬与脑白质病变的关系研究[J]. 临床神经病学杂志, 2015,28(2):103-106.
- [13] Chowdhury MH, Nagai A, Bokura H, et al. Age-related changes in white matter lesions, hippocampal atrophy, and cerebral microbleeds in healthy subjects without major cerebrovascular risk factors[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis,2011,20(4):302-309.
- [14] Sierra C. Essential hypertension, cerebral white matter pathology and ischemic stroke[J]. Curr Med Chem,2014,21(19):2156-2164.
- [15] Assareh AA, Mather KA, Crawford JD, et al. Renin-Angiotensin system genetic polymorphisms and brain white matter lesions in older australians[J]. Am J Hypertens, 2014,27(9):1191-1198.
- [16] Biessels GJ, Reijmer YD. Brain changes underlying cognitive dysfunction in diabetes: what can we learn from MRI? [J]. Diabetes,2014,63(7):2244-2252.

(收稿日期:2015-10-21 修回日期:2015-12-20)