

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.06.007

ALR 在急性肾损伤早期诊断中的价值评估及临床意义*

田媛¹,张玲¹,苏圆圆²,张安³,钟玲¹,谢树钦¹,廖晓辉^{1△}

(1. 重庆医科大学附属第二医院肾内科 400010; 2. 重庆医科大学附属大学城医院肾内科 401331;
3. 重庆医科大学附属第二医院中心 ICU 400010)

[摘要] **目的** 本研究拟探讨肝再生增强因子(ALR)是否可作为急性肾损伤(AKI)患者的早期诊断生物标志物。**方法** 将2014年10月至2015年10月在重庆医科大学附属第二医院中心ICU住院且有发展为AKI可能的患者收集入组,按照美国肾脏病基金会(KDIGO)指南将患者分为AKI组及非AKI组,检测入组后0、6、12、24、48、72 h患者的血、尿ALR及血肌酐水平。**结果** 所有患者中,40例患者发展成AKI。AKI组患者血ALR和尿ALR水平在入组后6 h开始较非AKI组均有明显上升($P<0.05$),血、尿ALR水平分别在入组后12、24 h达到峰值;AKI组患者血肌酐水平在入组后12 h开始较非AKI组明显上升($P<0.05$),血肌酐于入组后72 h仍缓慢进行性升高。**结论** 血、尿ALR水平在AKI早期就明显上升,提示ALR有可能是一种诊断AKI的新型生物标志物。

[关键词] 肝再生增强因子;急性肾损伤;生物标志物

[中图分类号] R692.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)06-0744-04

Value assessment and clinical significance of ALR in early diagnosis of acute kidney injury*

TIAN Yuan¹, ZHANG Ling¹, SU Yuanyuan², ZHANG An³, ZHONG Ling¹, XIE Shuqin¹, LIAO Xiaohui^{1△}

(1. Department of Nephrology, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China;
2. Department of Nephrology, Affiliated University Town Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; 3. Central ICU, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] **Objective** To explore whether augmenter of liver regeneration (ALR) can serve as early diagnostic biomarker in the patients with acute kidney injury (AKI). **Methods** The inpatients with possibility to AKI in the central ICU of Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from October 2014 to October 2015 were recruited and assigned to the AKI group and non-AKI group according to the KDIGO guidance. Blood and urine ALR and blood creatinine were detected at 0, 6, 12, 24, 48, 72 h after entering the group. **Results** Among all cases, 40 cases (62.5%) developed to AKI. Blood ALR and urine ALR at 6h after entering the group in the AKI group began to significantly increase compared with the non-AKI group ($P<0.05$), the blood and urine ALR levels reached to the peak value at 12, 24 h after entering the group; the blood creatinine level at 12 h after entering the group in the AKI group began to significantly increase compared with the non-AKI group ($P<0.05$), blood creatinine level was still slowly and progressively elevated at 72 h after entering the group. **Conclusion** Serum and urine ALR levels are significantly increased in the early stage of AKI, which indicates that ALR may be a new type biomarker for diagnosing AKI.

[Key words] augmenter of liver regeneration; acute kidney injury; biomarker

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是临床工作中常见的急重症,AKI发病率高、病情进展快,病死率高,同时是慢性肾脏病的重要危险因素^[1]。烧伤、出血、脓毒血症、心力衰竭、肾毒性药物使用、心血管手术等因素均可引起AKI,其预后与早期诊断、早期治疗密切相关。临床常应用尿量及血肌酐作为AKI的诊断标准,但血肌酐诊断AKI时间滞后,而尿量的评估受利尿剂使用、容量不足等因素影响。因此,寻找在肾小球滤过率轻度下降或仅有组织学改变时即有升高的敏感度且特异度高的生物标志物是目前AKI研究的热点和重点^[2-3]。

肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)是HAGIYA等^[4]从新生大鼠肝脏组织中克隆出的一种细胞因子,目前对它的研究多聚焦在肝脏,大量研究发现它能促进

肝细胞增殖而对急性肝衰竭大鼠具有保护作用^[5]。但ALR并非肝脏特异性因子,它在肾脏组织也有较高表达,笔者前期动物实验研究发现ALR对AKI具有保护作用,在AKI损伤早期时,ALR在肾组织中的表达量就开始明显增加,表达部位主要在损伤和再生的肾小管上皮细胞,提示ALR可能是一种肾小管损伤的标志物^[6]。因此,本研究拟检测AKI患者与非AKI患者血中及尿中ALR的水平,并将它们进行数据分析,以此评估ALR在诊断早期AKI的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以2014年10月至2015年10月在重庆医科大学附属第二医院中心ICU住院曾行心脏手术、心肺复苏或诊断脓毒血症等有潜在发生AKI的患者64例,其中男34例、

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81000299;30971364);国家临床重点专科建设项目经费资助(卫生办医政[2012]649);重庆市科委基础与前沿一般项目(cstc2015jcyjA10069);重庆市卫生计生委医学科研计划面上项目(20142031);重庆医科大学科研培育基金项目(201404)。

作者简介:田媛(1990—),住院医师,硕士,主要从事急性肾损伤发病机制研究。△ 通信作者,E-mail:lxheducation@163.com。

女 30 例。入选标准:(1)心脏手术术后患者;(2)脓毒血症患者;(3)使用造影剂后的老年患者(年龄大于 65 岁);(4)急性心肌梗死后患者;(5)心肺复苏后患者;(6)休克患者。排除标准:(1)既往慢性肾脏病史患者;(2)入组时查血肌酐已较基线水平升高 1.5 倍患者;(3)不愿配合患者;(4)既往慢性肝脏病病史患者;(5)入组后 24 h 内死亡患者。入选患者随访 72 h 后,根据 KDIGO 指南将患者分为 AKI 组及非 AKI 组进行分析和比较。本研究通过重庆医科大学附属第二医院伦理委员会批准,患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 留取患者入组后 0、6、12、24、48、72 h 的血液和尿液各 2 mL,将血液、尿液进行离心,并分别收集离心后的血清和上清液,将二者置-80 °C 冰箱保存待检。

1.2.2 血、尿 ALR 检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血、尿 ALR 水平,ELISA 试剂盒购于上海纪宁有限公司,所有实验操作过程严格按说明书执行。

1.2.3 血肌酐检测 血肌酐的测定采用碱性苦味酸法,并以日立 HITACHI 7180 分析仪测定。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。计数资料用百分比表示,采用 Fisher 或者 χ^2 精确概率法检验;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对于符合正态分布的计量资料,组间比较采

用两独立样本 *t* 检验,对于非正态分布计量资料,组间比较采用秩和检验。采用 ROC 曲线和 AUC 评估血肌酐及血、尿 ALR。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较 本研究纳入患者 64 例,包括脓毒血症 26 例,心肺复苏 9 例,造影剂患者 14 例,急性心肌梗死 15 例。64 例患者中发生 AKI 40 例(62.5%),其中有 2 例患者进行肾脏替代治疗。非 AKI 组患者均治愈或好转出院。两组患者的年龄、性别、糖尿病和高血压的患病率进行比较,两组差异均无统计学意义($P > 0.05$);入组时 AKI 组和非 AKI 组的血、尿 ALR 及血肌酐水平相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 血 ALR 早期预测 AKI 的诊断价值 AKI 组和非 AKI 组入组后 6、12、24、48、72 h 血 ALR 水平差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2;AKI 组患者血 ALR 的水平于入组 6 h 时即快速升高,于入组后 12 h 达到峰值,随后血 ALR 水平开始下降;血 ALR 水平在入组后 12 h 灵敏度和特异度分别为 0.975 和 0.985,AUC 达到最大值为 0.993($P < 0.05$),提示血 ALR 为 AKI 组入组后 12 h 诊断价值较好的标志物,其余时间点血 ALR 诊断的特异度、灵敏度及 AUC 均较高。见表 3。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女, <i>n/n</i>)	高血压 (<i>n</i>)	糖尿病 (<i>n</i>)	血肌酐 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	血 ALR ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	尿 ALR ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)
AKI 组	40	43.4 \pm 10.9	23/17	15	13	64.3 \pm 7.3	399.4 \pm 51.4	349.9 \pm 32.2
非 AKI 组	24	48.1 \pm 5.3	11/13	12	10	61.5 \pm 6.6	397.3 \pm 74.1	348.1 \pm 39.5
<i>P</i>		0.089	0.365	0.472	0.459	0.097	0.803	0.814

表 2 各时间点血、尿 ALR 及血肌酐的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
血 ALR(pg/mL)						
非 AKI 组	397.3 \pm 74.1	440.5 \pm 84.1	520.2 \pm 149.2	432.2 \pm 77.6	409.1 \pm 71.0	313.9 \pm 62.2
AKI 组	399.4 \pm 51.4	609.8 \pm 71.8*	990.3 \pm 90.1*	678.5 \pm 87.6*	615.9 \pm 69.8*	372.2 \pm 57.5*
尿 ALR(pg/mL)						
非 AKI 组	348.1 \pm 39.5	347.74 \pm 36.3	418.5 \pm 59.4	496.7 \pm 141.5	208.0 \pm 84.8	246.5 \pm 132.9
AKI 组	349.9 \pm 32.2	399.30 \pm 44.4*	580.0 \pm 43.4*	876.5 \pm 74.6*	295.3 \pm 74.2*	245.5 \pm 102.7
血肌酐($\mu\text{mol/L}$)						
非 AKI 组	65.9 \pm 8.3	70.5 \pm 11.4	74.2 \pm 10.5	78.1 \pm 17.9	81.9 \pm 16.8	77.4 \pm 11.5
AKI 组	64.3 \pm 7.3	81.2 \pm 15.4	103.9 \pm 9.3*	131.9 \pm 19.9*	295.3 \pm 74.2*	445.5 \pm 102.7*

*: $P < 0.05$, 与同时间点非 AKI 组比较

表 3 各时间点血、尿 ALR 及血肌酐诊断 AKI 的灵敏度、特异度

项目	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
血 ALR						
灵敏度	0.775	0.975	0.975	0.975	0.950	0.763
特异度	0.292	0.750	0.958	0.917	0.875	0.792
AUC	0.519	0.914*	0.993*	0.978*	0.956*	0.861*

95%可信区间 (0.367,0.670) (0.831,0.996) (0.977,1) (0.942,1) (0.898,1) (0.642,0.883)

续表 3 各时间点血、尿 ALR 及血肌酐诊断 AKI 的灵敏度、特异度

项目	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
尿 ALR						
灵敏度	0.950	0.675	0.975	0.975	0.910	0.315
特异度	0.250	0.875	0.958	0.917	0.958	0.875
AUC	0.518	0.799*	0.981*	0.984*	0.973*	0.571
95%可信区间	(0.361,0.674)	(0.691,0.908)	(0.953,1)	(0.960,1)	(0.943,1)	(0.427,0.715)
血肌酐						
灵敏度	0.614	0.825	0.854	0.922	0.935	0.953
特异度	0.232	0.426	0.653	0.792	0.859	0.927
AUC	0.427	0.537	0.614*	0.721*	0.826*	0.953*
95%可信区间	(0.284,0.636)	(0.371,0.725)	(0.442,0.816)	(0.518,0.911)	(0.661,0.927)	(0.913,1)

* : $P<0.05$

2.3 尿 ALR 早期预测 AKI 的诊断价值 AKI 组和非 AKI 组入组后 6、12、24、48 h 的尿 ALR 水平差异均有统计学意义 ($P<0.05$),见表 2。AKI 组患者尿 ALR 水平入组后 6 h 即有升高,但升高速度明显慢于血 ALR;尿 ALR 在 AKI 组患者入组后 24 h 达到峰值,随后缓慢下降;24 h 尿 ALR 灵敏度和特异度分别为 0.975 和 0.917,AUC 为 0.984($P<0.05$),其余时间点灵敏度、特异度见表 3。

2.4 血肌酐早期预测 AKI 的诊断价值 入组后各时间点的血肌酐检测值见表 2;其中 AKI 组入组后 12、24、48、72 h 的血肌酐水平与非 AKI 组的差异有统计学意义 ($P<0.05$);AKI 组患者血肌酐入组后呈缓慢上升;血肌酐于入组后 72 h 有较好的灵敏度、特异度,且 AUC 达到较大值 ($P<0.05$),见表 3。

3 讨 论

AKI 早期诊断困难,从而使得早期干预措施明显滞后,并造成不良预后,给社会及患者带来了大量的经济负担^[2-3]。因此,积极寻求 AKI 的早期生物标志物是近年来 AKI 的一个重要研究方向。目前报道较多的是中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophilgelatinase associated lipocalin,NGAL)、白细胞介素-18(interleukin-18,IL-18)、肾损伤分子-1(kidney injury molecule 1,KIM-1)等新型 AKI 标志物。NGAL 是在激活中性粒细胞中被发现的一种相对分子质量小的分泌型蛋白,目前研究发现在 AKI 早期患者血、尿 NGAL 均显著升高,但当非 AKI 患者发生感染、脓毒血症时,NGAL 也会同样升高,因此 NGAL 虽然能够及早诊断 AKI,但会受到外界因素的影响^[7-8]。IL-18 是一种作用强大的前炎症细胞因子,近来研究发现缺血再灌注的 AKI 动物模型中发现尿 IL-18 的增高早于血肌酐,但由于 IL-18 同 NGAL 一样在感染、脓毒血症的非 AKI 患者中也有明显上升^[7,9],因此 IL-18 诊断 AKI 的效果欠佳。AKI 患者中 KIM-1 可较快升高,但 KIM-1 在慢性肾脏病中患者血中也会上升,对于慢性肾脏病合并 AKI 的诊断有困难^[7]。总之,这些新型标志物的出现为诊断 AKI 提供了新的选择,但是 SIEW 等^[10-11]对 451 例危重患者的研究发现,IL-18 在 24 h 内预测 AKI 的 AUC 为 0.62,NGAL 的 AUC 为 0.71,KIM-1 联合 IL-18 的 AUC 才达到 0.92,因此它们的临床应用尚存争

议,单用 NGAL、IL-18、KIM-1 的诊断效果不尽理想^[7,10-12],而且受肝功能、感染、慢性肾脏病等方面的影响。因此,仍需积极探寻敏感的新型 AKI 标志物。

AKI 的主要病理改变是肾小管损伤及肾小管间质区炎症细胞浸润。在 AKI 生物标志物的寻找过程中,发现参与该病理改变过程的特异度表达增加的物质或许能够成为 AKI 的生物标志物。笔者前期研究发现无论在中毒性 AKI 动物模型还是在缺血性 AKI 动物模型中,损伤和再生的肾小管上皮细胞中 ALR 的表达都明显增加,采用 Western blot 检测结果证实,肾组织中 ALR 总蛋白在 AKI 早期就表达增加,在 AKI 损伤严重时 ALR 蛋白表达最高,随着肾小管的恢复和肾功能改善,ALR 在肾组织中的表达逐渐下降直至恢复正常^[6,13-14]。在进一步的体内外实验中,证实 ALR 能够促进肾小管上皮细胞增殖、抑制肾小管上皮细胞凋亡、抑制肾小管上皮细胞表达炎症介质及肾小管间质区炎症细胞浸润^[6,15-16]。这些结果均证实 ALR 参与了 AKI 的病理改变过程,ALR 的生物学作用与肾小管密切相关,提示 ALR 有可能成为 AKI 的诊断标志物。本研究中发现 AKI 组的血 ALR 水平与非 AKI 组的血 ALR 水平在 6、12、24、48、72 h 的差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。血 ALR 水平在入组后即快速升高,于入组后 12 h 达到峰值,12 h 的 AUC 达到最大值,为 0.993。同时,12 h 的血 ALR 有较高的灵敏度、特异度,提示血 ALR 在 AKI 发生 12 h 时就已经有良好的诊断价值。AKI 组的尿 ALR 水平与非 AKI 组的尿 ALR 水平在 6、12、24、48 h 的差异均有统计学意义 ($P<0.05$),尿 ALR 水平在入组时升高速度较血 ALR 慢,于入组后 24 h 达到峰值,24 h 的 AUC 达到最大值,为 0.984,提示尿 ALR 在 AKI 发生的 24 h 时诊断价值尚可。AKI 组的血肌酐在入组后 12 h 开始明显升高,AKI 组的血肌酐水平与非 AKI 组的血肌酐水平在 12、24、48、72 h 的差异均有统计学意义 ($P<0.05$),于入组后 72 h 仍有缓慢升高,升高速度明显慢于血、尿 ALR。由此可见,血、尿 ALR 均能够在 AKI 发生的早期(6 h)有所升高并迅速达到峰值(12、24 h),血 ALR 升高时间稍早于尿 ALR,二者升高时间均早于血肌酐,同时拥有较高的灵敏度、特异度。因此,相对于血肌酐而言,ALR 诊断早期

AKI 可能有更大的临床意义。从本研究推测 ALR 可能是早期诊断 AKI 的生物标志物, ALR 联合其他 AKI 标志物可能会有效地提高 AKI 诊断的灵敏度和特异度, 进而早期发现并诊断 AKI。

本研究中发现血、尿 ALR 在 AKI 早期就明显上升, 有较高的灵敏度和特异度, 提示血、尿 ALR 有可能成为早期诊断 AKI 的生物标志物。但是, 尚需要多中心、大样本量的对照研究进一步证实, 有关 ALR 与其他新型标志物的比较笔者会在进一步的试验中深入探讨。

参考文献

- [1] KABALLO M A, ELSAYED M E, STACK A G. Linking acute kidney injury to chronic kidney disease; the missing links[J]. *J Nephrol*, 2017, 30(4): 461-475.
 - [2] PARIKH C R, MOLEDINA D G, COCA S G, et al. Application of new acute kidney injury biomarkers in human randomized controlled trials[J]. *Kidney Int*, 2016, 89(6): 1372-1379.
 - [3] MAKRIS K, SPANOU L. Acute kidney injury; diagnostic approaches and controversies [J]. *Clin Biochem Rev*, 2016, 37(4): 153-175.
 - [4] HAGIYA M, FRANCAVILLA A, POLIMENO L, et al. Cloning and sequence analysis of the rat augmenter of liver regeneration (ALR) gene; expression of biologically active recombinant ALR and demonstration of tissue distribution[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(17): 8142-8146.
 - [5] NALESNIK M A, GANDHI C R, STARZL T E. Augmenter of liver regeneration; A fundamental Life protein [J]. *Hepatology*, 2017, 66(1): 266-270.
 - [6] LIAO X H, ZHANG L, LIU Q, et al. Augmenter of liver regeneration protects kidneys from ischaemia/reperfusion injury in rats[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(9): 2921-2929.
 - [7] SCHREZENMEIER E V, BARASCH J, BUDDE K, et al. Biomarkers in acute kidney injury - pathophysiological basis and clinical performance [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2017, 219(3): 554-572.
 - [8] KIM H, HUR M, LEE S, et al. Proenkephalin, neutrophil Gelatinase-Associated lipocalin, and estimated glomerular filtration rates in patients with sepsis[J]. *Ann Lab Med*, 2017, 37(5): 388-397.
 - [9] ANDREUCCI M, FAGA T, PISANI A, et al. The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice [J]. *Eur J Intern Med*, 2017, 39(1): 1-8.
 - [10] SIEW E D, WARE L B, GEBRETSADIK T, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin moderately predicts acute kidney injury in critically ill adults[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(8): 1823-1832.
 - [11] SIEW E D, IKIZLER T A, GEBRETSADIK T, et al. Elevated urinary IL-18 levels at the time of ICU admission predict adverse clinical outcomes [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(8): 1497-1505.
 - [12] ARTHUR J M, HILL E G, ALGE J L, et al. Evaluation of 32 urine biomarkers to predict the progression of acute kidney injury after cardiac surgery[J]. *Kidney Int*, 2014, 85(2): 431-438.
 - [13] 张玲, 廖晓辉, 刘杞, 等. 肝再生增强因子在急性肾衰大鼠模型肾组织中的表达及意义[J]. *重庆医学*, 2003, 32(6): 647-649.
 - [14] LIAO X H, ZHANG L, TANG X P, et al. Expression of augmenter of liver regeneration in rats with gentamicin-induced acute renal failure and its protective effect on kidney[J]. *Ren Fail*, 2009, 31(10): 946-955.
 - [15] LIAO X H, CHEN G T, LI Y, et al. Augmenter of liver regeneration attenuates tubular cell apoptosis in acute kidney injury in rats; the possible mechanisms[J]. *Ren Fail*, 2012, 34(5): 590-599.
 - [16] 廖晓辉, 孙航, 刘杞, 等. 肝再生增强因子对缺血再灌注损伤肾脏局部炎症反应的影响[J]. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28(2): 121-126.
- (收稿日期: 2017-09-18 修回日期: 2017-10-02)
-
- (上接第 743 页)
- [22] KAI H. Blood pressure variability-induced aggravation of hypertensive organ damages[J]. *Nihon Rinsho*, 2015, 73(11): 1939-1945.
 - [23] NTINERI A, KOLLIAS A, ZENIODI M, et al. 24-hour ambulatory central blood pressure variability and target-organ damage in adolescents and young adults[J]. *J Hypertens*, 2015, 33(1): 34-41.
 - [24] MADDEN J M, O'FLYNN A M, DOLAN E, et al. Short-term blood pressure variability over 24 h and target organ damage in middle-aged men and women[J]. *J Hum Hypertens*, 2015, 29(12): 719-725.
 - [25] VELOUDI P, BLIZZARD C L, HEAD G A, et al. Blood pressure variability and prediction of target organ damage in patients with uncomplicated hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2016, 29(9): 1046-1054.
 - [26] GRASSI G, BOMBELLI M, BRAMBILLA G, et al. Total cardiovascular risk, blood pressure variability and adrenergic overdrive in hypertension; evidence, mechanisms and clinical implications [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2012, 14(4): 333-338.
 - [27] CIOBANU A O, GHERGHINESCU C L, DULGHERU R, et al. The impact of blood pressure variability on sub-clinical ventricular, renal and vascular dysfunction, in patients with hypertension and diabetes[J]. *Maedica*, 2013, 8(2): 129-136.
- (收稿日期: 2017-07-25 修回日期: 2017-10-18)