

原发性慢性肾小球肾炎与尿白蛋白片段的关系

钱白音, 邹和群, 黄志清, 傅玉如, 李 铎, 赖德源, 周文英

(中山大学附属第二医院肾内科, 广东 广州 510120)

摘要: 【目的】分析肾活检诊断明确的原发性慢性肾小球肾炎患者尿中修饰型白蛋白可能的病理生理和临床意义。【方法】46 例经肾活检诊断明确, 并除外狼疮性肾炎、糖尿病肾病、原发性高血压、心脑血管损害的原发性慢性肾小球肾炎患者尿标本, 用免疫印记法检测尿白蛋白片段(uAF)的阳性率。【结果】病理损害 I 级患者 uAF 阳性率 25%, II 级 29%, III 级 60%, IV 级 88% ($P < 0.01$); 具有肾病综合征的患者, uAF 阳性率 100%; 无肾病综合征的患者阳性率 42%, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。【结论】尿中修饰型白蛋白与原发性慢性肾小球肾炎的发展及预后密切相关, uAF 可以作为判断肾脏损害程度及疾病预后的参考标准。

关键词: 肾小球; 免疫印记; 尿白蛋白分子片段; 蛋白尿

中图分类号: R692.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)04-0347-03

Primary Chronic Glomerulonephritis and Urinary Albumin Fragments

QIAN Bai-yin, ZOU He-qun, HUANG Zhi-qing, FU Yu-ru, LI Duo, LAI De-yuan, ZHOU Wen-ying

(Department of Nephrology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To study the possible pathophysiologic determinants and clinical significance of modified albumin in the urine of patients with biopsy proven primary glomerulonephritis.

【Methods】The existence of urinary albumin fragments(uAF) in 46 cases of patients with biopsy proven primary chronic glomerulonephritis with non lupus glomerulonephritis, non diabetic nephropathy, non primary hypertension, and non cardiovascular damage disease was examined by immunoblotting.

【Results】The presence of uAF increased significantly with the aggravation of pathologic lesion: uAF were present in 25% of class I, 29% of class II, 60% of class III, and 88% of class IV ($P < 0.01$); uAF were present in 100% of patients with nephrotic syndrome, 42% of patients without nephrotic syndrome. The presence of uAF in nephrotic syndrome group was significantly higher than non-nephrotic syndrome group ($P < 0.05$). 【Conclusion】There is close relationship between urinary modified albumin and development and prognosis of primary chronic glomerulonephritis. uAF may be a marker for degree of pathologic lesion and prognosis of primary chronic glomerulonephritis.

Key words: glomerulonephritis; immunoblotting; albumin fragments; proteinuria

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci) 2004, 25(4): 347 - 349]

已有很多证据表明肾小球疾病伴随的肾小管间质损害与预后的关系更为密切, 大量蛋白尿是造成这一损害主要因素之一。近年来研究证实, 持续性蛋白尿在进展性慢性肾功能损害中起着重要作用。有许多资料表明尿蛋白的成份较尿蛋白的多少更能说明病变的广泛和严重程度, 反映肾脏损害程

度。目前已证实牛血清白蛋白和人血清白蛋白均可以刺激肾小管细胞产生多种炎症介质, 从而介导肾间质小管炎症及纤维化^[1]。但有学者^[2]证实, 肾炎患者血浆中的白蛋白荧光谱特性与正常人不同, 即肾炎患者血浆中的白蛋白较正常人发生了改变。而且, 白蛋白在尿液中也可能改变^[3], 与在血浆中

收稿日期 2004-01-05

基金项目: "211 工程" 重点学科建设基金资助项目(中山医科大学 98136)

作者简介: 钱白音(1972 -), 女, 安徽合肥人, 医学博士, 助教. E-mail: baiying@yahoo.com.cn

不尽相同。因此,肾炎患者尿液中白蛋白与疾病关系的研究更符合真实的病理生理状况。尿白蛋白片段(urinary albumin fragments, uAF)是尿液中修饰型白蛋白经 SDS 处理后断裂、分裂而成的分子片段。Yagame 等^[4]认为其与糖尿病肾病有关,但 uAF 与原发慢性肾小球肾炎的关系罕见报道。为此,我们对肾炎患者尿液中 uAF 进行研究,探讨它与原发慢性肾小球肾炎的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择 2002 年 8 月至 2003 年 8 月间收治我科,经临床、肾活检诊断明确并除外狼疮性肾炎、糖尿病肾病、原发性高血压、心脑血管损害的各型原发性慢性肾小球肾炎患者 46 例。男 16 例,女 30 例,13~66 岁,平均年龄 33.1 岁,均同步行免疫印记检测。经肾穿刺活检确诊 IgA 肾病 30 例,系膜增生性肾小球肾炎 9 例,微小病变型肾小球肾炎 5 例,膜性肾病 2 例。

1.2 病理损害分级

病理损害程度按 WHO 分类标准并参照 Lee 氏标准分为五级。I 级:大部分肾小球正常,可见轻度的局灶性节段性系膜增厚,有或无系膜细胞增殖。II 级:弥漫性系膜细胞增殖,系膜基质增加。III 级:弥漫性或局灶性系膜细胞增殖,系膜基质增加,伴有节段性小的硬化和小的新月体,或有显著的内皮细胞增殖,间质有局部水肿和炎性细胞浸润。IV 级:显著的细胞增殖、系膜基质增加,有球形及广泛的节段性硬化,新月体可达 45%,局部有较明显的炎性细胞浸润,肾小管萎缩及肾内小血管硬化。V 级:与 IV 级相同,但更严重,新月体在 45% 以上。

1.3 免疫印记法(immunoblotting)

留取肾活检术前 3 d 内 24 h 尿,磺基水杨酸法定性,据文献^[5,6]调节浓度,在 100 g/L 聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶上电泳,然后转移至硝酸纤维素膜,50 g/L 脱脂奶粉溶液封闭 1 h,加入第一抗体(兔抗人白蛋白多克隆抗体,购自 Santa Cruz 公司),浓度为 1:1 000,室温孵育 3 h,再加入羊抗兔辣根过氧化物酶标记的第二抗体(羊抗兔 IgG,购自博士德公司),浓度为 1:500,室温孵育 1 h。4-萘酚显色。

1.4 结果判断

标本经免疫印记显色可见 45、30、22 ku uAF,在 45 ku 及/或 30 ku 出现蛋白带者为 uAF 阳性^[7],见图 1。

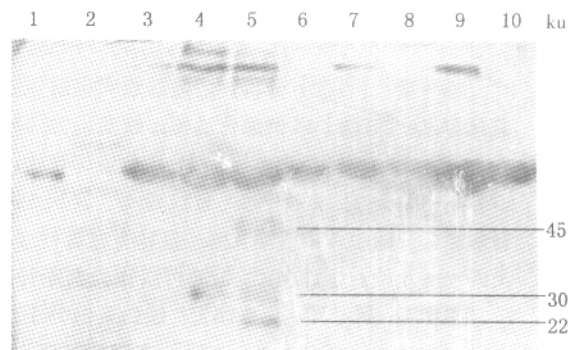


图 1 免疫印记法检测 uAF

Fig. 1 The existence of uAF detected by immunoblotting

Lane 1: standard albumin; Lane 2: prestained marker; Lane 3~10: samples 1~8(30 ku uAF was present in sample 2, and 22 ku, 30 ku, and 45 ku uAF were present in sample 3, 45 ku uAF was present in sample 5)

1.5 统计分析

多个样本率比较采取列联表法,两个样本率比较采取四格表校正法,均在计算机上由统计软件包 SPSS8.0 进行。

2 结果

2.1 与各型肾小球肾炎病理分级的关系

原发性慢性肾小球肾炎病理损害 I 级 uAF 阳性率 25% ($n=8$), II 级为 29% ($n=7$), III 级 60% ($n=15$), IV 级为 88% ($n=16$), 差异有显著性 ($P=0.01$)。病理分级 I 级与 IV 级患者 uAF 阳性率差异有显著性 ($P=0.00$)。病理分级 II 级与 IV 级患者 uAF 阳性率差异有显著性 ($P=0.01$)。

2.2 与肾病综合征的关系

10 例具有肾病综合征临床表现的患者, uAF 均阳性, 阳性率 100%; 36 例无肾病综合征临床表现的患者, 15 例 uAF 阳性, 阳性率为 42%, 差异有显著性 ($P=0.001$)。

3 讨论

蛋白尿在过去仅被认作是某些肾损害的标志。近年来不少研究表明,从肾小球滤出过多的蛋

白对肾脏可能具有某种毒性作用。尿蛋白可直接损伤肾小管上皮细胞,也可通过刺激后者产生细胞因子介导间质慢性炎症及纤维化造成间接损害。白蛋白往往是蛋白尿的重要组成部分。天然人白蛋白分子由585个氨基酸组成,分子质量为69 ku,结构类似心形,有3个亚区,9个肽环,环间有17对二硫键和氢键相连。人血浆中的蛋白水解酶能把天然的白蛋白裂解为许多切口,这种蛋白称为修饰型白蛋白。由于二硫键和氢键的连接,使其在血浆中仍处于全分子状态,并以全分子形式渗出到尿液中。当尿液用SDS处理后,二硫键断裂,分裂成分子片段^[8],即uAF。uAF的出现表明尿样中存在分子构型改变的白蛋白。uAF的存在是1985年由Wiggins RC等首先发现的,1995年Yagame等^[4]发现它可作为糖尿病肾病早期诊断的临床参数,但其临床意义迄今尚未完全明了。

本研究发现,uAF阳性率随原发性慢性肾小球肾炎病理损害加重而明显增高,与病理分级呈正相关。这提示尿修饰型白蛋白具有肾毒性作用,导致肾小球肾炎病理损害加重,或/和肾小球肾炎病理损害加重,导致尿修饰型白蛋白增加,二者的因果关系有待进一步研究:可提纯原发性慢性肾小球肾炎患者尿中该构型改变的白蛋白,刺激肾小管上皮细胞,观察其有无肾毒性。同时,uAF检测作为一种非损害的检测方法,可以作为判断肾脏损害程度的参考标准。

肾病综合征常并发感染、营养不良、肾功能损伤、血栓、栓塞性合并症等,持续性肾病综合征往往预示着疾病向慢性肾功能衰竭方向发展^[6]。本研究发现,临床10例肾病综合征患者uAF均阳性,阳性率100%,较无肾病综合征者明显增加,提示uAF与肾病综合征关系密切,即尿液中修饰型白蛋白与原发慢性肾小球肾炎的预后密切相关,同时,uAF可以用来预测原发性慢性肾小球肾炎的预后,持续阳性者常提示预后较差。

综上所述,通过对原发性慢性肾小球肾炎uAF的检测,发现尿中修饰型白蛋白与肾小球肾炎的发展及预后关系密切,uAF可以作为判断肾脏损害程度及疾病预后的参考标准。

参考文献:

- [1] 刘刚,王海燕.人白蛋白刺激人肾小管上皮细胞表达单核细胞趋化蛋白-1[J].中华肾脏病杂志,2001,17(6):394-8.
- [2] Parkhomenko T V, Klicenko O A, Shavlovski M M, *et al.* Biophysical characterization of albumin preparations from blood serum of healthy donors and patients with renal diseases. Part I: spectrofluorometric analysis[J]. Med Sci Monit, 2002, 8(7): BR266-71.
- [3] Osicka T M, Houlihan C A, Chan J G, *et al.* Albuminuria in patients with type 1 diabetes is directly linked to changes in the lysosome-mediated degradation of albumin during renal passage[J]. Diabetes, 2000, 49(9): 1579-84.
- [4] Yagame M, Sazuki D, Jinde K, *et al.* Urinary albumin fragments as a new clinical parameter for the early detection of diabetic nephropathy[J]. Inter Med, 1995, 34(6): 463-8.
- [5] 王生余,张真,章精,等.半薄SDS-PAGE垂直式平板电泳法检测尿蛋白谱[J].肾脏病与透析肾移植杂志,1999,8(4):397-9.
- [6] Bazzi C, Petrini C, Rizza V, *et al.* Characterization of proteinuria in primary glomerulonephritides: urinary polymers of albumin[J]. Am J Kidney Dis, 1997, 30(3): 404-12.
- [7] 陈仁涉,魏洁,吴伟,等.尿白蛋白片段分析在糖尿病性肾病早期诊断中的意义[J].上海医学检验杂志,1999,14(4):212-3.
- [8] Wiggins R C, Kshisaagar B, Kelsch R C, *et al.* Fragmentation and polymeric complexes of albumin in human urine[J]. Clin Chim Acta, 1985, 149(2-3): 155-63.

(编辑 黄小延)