

尿 MCP-1、血浆 IL-8 在紫癜性肾炎诊断中的价值

蔡 晋,徐美玉*,赵建美,吴尤佳,张向东

(南通大学附属医院儿科,江苏 南通 226001)

[摘要] 目的:探讨尿单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)与血浆白细胞介素-8(IL-8)在紫癜性肾炎中的诊断价值。方法:将 57 例过敏性紫癜患儿纳入实验组,其中合并紫癜性肾炎的 45 例细胞,按照尿微量白蛋白(UMALB)测定分为正常尿白蛋白组(第 1 组)、微量尿白蛋白组(第 2 组)及大量尿白蛋白组(第 3 组);12 例无尿常规异常者为单纯性紫癜组(第 4 组);同期选取 19 例健康儿童作为对照组。酶联免疫吸附双抗体夹心法测定尿 MCP-1 及血浆 IL-8 水平,并比较各组间尿 MCP-1 及血浆 IL-8 水平的差异;计算紫癜性肾炎病例尿 MCP-1、血浆 IL-8 在 ROC 曲线下面积,分析其在紫癜性肾炎中的诊断价值。结果:尿 MCP-1 水平在 1~4 组间比较差异有统计学意义($F = 88.52, P < 0.01$),且随着尿白蛋白的增加,尿 MCP-1 水平随之上升,组间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。血浆 IL-8 水平在 1~4 组及对照组组间比较差异有统计学意义($F = 289.55, P < 0.01$),两两比较显示:血浆 IL-8 水平在不同水平尿白蛋白组(1~3 组)间比较差异有统计学意义($P < 0.01$);而正常尿白蛋白组(第 1 组)与单纯性紫癜组(第 4 组)比较差异无统计学意义($P > 0.05$);1~4 组血浆 IL-8 水平均显著高于对照组($P < 0.01$)。尿 MCP-1、血浆 IL-8 在 ROC 曲线下面积分别为 0.90、0.83,其诊断界值分别为 111.50、349.54 ng/L,灵敏度分别达到 82.22%、68.89%。结论:尿 MCP-1 对紫癜性肾炎早期诊断的灵敏度优于血浆 IL-8,且两者都有助于判断紫癜性肾炎肾脏损害的轻重程度。

[关键词] 紫癜性肾炎;单核细胞趋化蛋白;白细胞介素-8

[中图分类号] R692.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)09-1272-05

The diagnose value of urinary MCP-1 and plasma interleukin-8 in purpura nephritis

CAI Jin, XU Mei-yu*, ZHAO Jian-mei, WU You-jia, ZHANG Xiang-dong

(Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the diagnose value of the urine monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and plasma interleukin-8(IL-8) in purpura nephritis. **Methods:** There were 57 cases who suffered from Henoch-Schonlein purpura included in the experimental group, including 45 cases complicated with purpura nephritis. According to the level of urinary albumin, they were divided into 4 groups: group 1 (normal urinary albumin), group 2 (micro urinary albumin), group 3 (a large number of urinary albumin), group 4 (simple purpuric group with normal urine). In the same period, 19 cases of healthy children were selected as control group. The urinary MCP-1, and plasma IL-8 were examined in all cases by ELISA. The differences of urinary MCP-1, plasma IL-8 levels were compared among all the group, and the areas under the ROC curves were calculated. **Results:** The comparative differences of urine MCP-1 level from experimental group 1 to 4 had statistical significance ($F = 88.52, P < 0.01$). With the increase of urinary albumin, the urine MCP-1 level increased altogether. The differences from comparisons between one group and another all had statistical significance ($P < 0.01$). The comparative differences of plasma IL-8 levels from experimental group 1 to 4 and the control group had statistical significance ($F = 289.55, P < 0.01$). Comparisons between one group and another indicate: The comparative differences of plasma IL-8 level in urine albumin groups (group 1 to 3) of different levels had statistical significance ($P < 0.01$), whereas the comparative difference of normal urinary albumin group (group 1) and simple purpura group (group 4) did not have statistical significance ($P > 0.05$). The plasma IL-8 level of experimental groups (group 1 to 4) was obviously higher than that of control groups in average ($P < 0.01$). The areas under ROC curves of urine MCP-1 and plasma IL-8 were 0.90 and 0.83. Their diagnostic boundary values were 111.50 ng/L and 349.54 ng/L and their sensitivities were 82.22% and 68.89%. **Conclusion:** The sensitivity of urine MCP-1 to the early diagnosis of Henoch-Schonlein purpura nephritis (HSPN) was superior to that of plasma IL-8. And these two are both helpful for the judgment of the severity of HSPN damage.

[基金项目] 南通市社会发展科技计划(S2008047)

*通讯作者, E-mail: xumeiyu_nt@hotmail.com

[Key words] purpura nephritis; monocyte chemoattractant protein-1; interleukin-8

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1272-1276]

紫癜性肾炎是过敏性紫癜常见的并发症,20%~55%的过敏性紫癜病例在起病1个月内出现肾脏损害,当随访时间延长至6个月,过敏性紫癜肾损害的发生率也同时递增。其中80%的病例出现孤立性血尿和(或)蛋白尿,20%的病例有急性肾炎或肾病综合征,2.0%~5.5%的病例演变为永久性肾损害^[1]。因此能否早期发现过敏性紫癜肾损害,将关系到能否早期干预紫癜性肾炎,减少重症和永久性肾损害的发生。现在临床上肾脏疾病早期诊断的最准确方法是肾脏病理活检,但是国内大多数过敏性紫癜患儿不愿意在早期接受病理检查,所以早期诊断紫癜性肾炎一直较困难。本实验探讨尿单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)与血浆白细胞介素-8(IL-8)在紫癜性肾炎中的诊断价值,期望为临床早期诊断紫癜性肾炎找到切实有效、经济可行的诊断指标;同时观察尿MCP-1及血浆IL-8在不同程度尿蛋白紫癜性肾炎中的变化,明确其是否有助于判断紫癜性肾炎肾脏损害的轻重程度。

1 对象与方法

1.1 对象

将2008年1月~2010年2月在本院儿科住院并确诊为过敏性紫癜的57例患儿纳入实验组,并随访至病程6个月,其中男32例,女25例,年龄(8.05±3.42)岁。按照国内制定的紫癜性肾炎(HSPN)诊断标准(2000年,珠海),过敏性紫癜(HSP)病程中(6个月内)出现血尿和(或)蛋白尿的诊断诊断为紫癜性肾炎,其中尿红细胞(RBC)计数(血尿)在各肾脏损害组(1~3组)间两两比较无统计学意义($P>0.01$)^[2],所选病例均除外以下情况:原发性肾病综合征、急性肾炎、狼疮性肾炎、乙型肝炎病毒相关性肾炎以及近期有急性感染、风湿、系统性红斑狼疮等疾病。实验组57例中合并紫癜性肾炎的45例,并按照入选第1周3次尿微量白蛋白(UMALB)检测结果分为1~3组(参考K/DOQI标准^[3]):第1组为正常尿白蛋白组(UMALB<20mg/L,12例);第2组为微量尿白蛋白组(20mg/L<UMALB<200mg/L,19例);第3组为大量尿白蛋白组(UMALB>200mg/L,14例)。实验设第4组为单纯性紫癜组(随访6个月内未发现尿常规异常,12例)。对照组19例:为同期在

本院儿科门诊体检的健康儿童,男11例,女8例,年龄(7.74±3.85)岁。实验组与对照组性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 尿常规和UMALB检查

实验组患儿每周行2~3次尿常规检查。入选第1周内留取3次尿液,均为清晨起床后第1次尿液,应用UMALB试剂盒检测。

1.2.2 尿MCP-1和血浆IL-8测定

实验组患儿于入选后次日留取清晨第1次中段尿10ml,以3000r/min离心5~10min留取上清液;采集肘静脉血2ml,置3.3%枸橼酸钠0.3ml抗凝血试管中摇匀,4℃低温离心机中以3000r/min离心15min,分离血浆。对照组入选后次日留取尿液、血浆标本。将所有分离的尿上清液和血浆分装后置低温冰箱(-70℃)中保存待检。尿MCP-1和血浆IL-8采用酶联免疫吸附双抗体夹心法测定。所有试剂盒均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.3 统计学方法

使用SPSS17.0统计软件进行数据分析和统计学处理,所有数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,尿MCP-1及血浆IL-8在多组资料中比较采用方差分析,利用 q 检验进行两两比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。分别作尿MCP-1、血浆IL-8诊断紫癜性肾炎的ROC曲线,计算ROC曲线下面积。

2 结果

2.1 尿常规检查结果

共57例过敏性紫癜,有45例因尿常规检查异常确诊合并有紫癜性肾炎。其中第1次尿常规检查有异常的15例;确诊过敏性紫癜1个月内通过多次尿常规检查发现异常的14例;确诊后1~3个月内发现尿常规异常的10例;随访3~6个月内发现尿常规异常的6例。

2.2 尿MCP-1水平

尿MCP-1水平在实验组1~4组组间比较差异有统计学意义($F=88.52, P<0.01$,图1)。两两比较结果显示:在肾损害组(1~3组),随着尿白蛋白的增加,尿MCP-1水平随之上升,差异有统计学意义($P<0.01$);且第1~3组尿MCP-1水平均明显高于第4

组和对照组水平 ($P < 0.001$); 而单纯性紫癜组和对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。1~3组尿白蛋白水平和尿 MCP-1 直线相关分析显示相关系数 $r = 0.69, P = 0.000$, 有统计学意义。

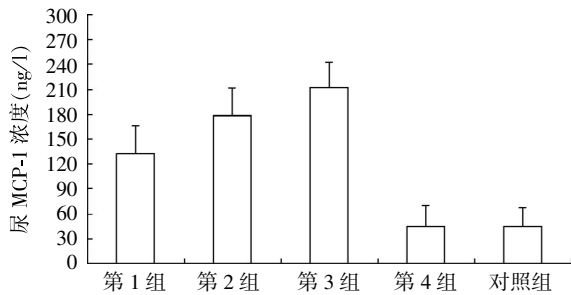


图1 各组患儿尿 MCP-1 的比较

Figure 1 Comparison of urinary MCP-1 levels in different groups

2.3 血浆 IL-8 水平

血浆 IL-8 水平在实验组 1~4 组及对照组间差异有统计学意义 ($F = 289.55, P < 0.01$, 图 2)。两两比较结果显示: 血浆 IL-8 水平在实验组不同程度尿白蛋白组 (1~3 组) 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 而正常尿白蛋白组 (第 1 组) 与单纯性紫癜组 (第 4 组) 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 实验组 (1~4 组) 血浆 IL-8 水平均显著高于对照组 ($P < 0.01$, 图 2)。

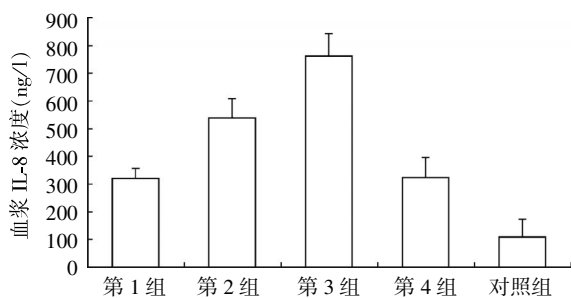


图2 各组患儿血浆 IL-8 的比较

Figure 2 Comparison of plasma IL-8 levels in different groups

2.4 尿 MCP-1 和血浆 IL-8 的诊断灵敏度和特异度

尿 MCP-1 以 111.50 ng/L 为临界值时, 其诊断紫癜性肾炎的敏感度为 82.22%, 特异度为 83.33%, 准确度为 82.45%, 阳性预测值为 94.87%, 阴性预测值为 55.56% (表 1)。血浆 IL-8 达到 349.54 ng/L 时, 其诊断敏感度为 68.89%, 特异度为 75.00%, 准确度为 70.18%, 阳性预测值为 91.18%, 阴性预测值为 39.13% (表 2)。

分别构建尿 MCP-1 及血浆 IL-8 诊断紫癜性肾炎的 ROC 曲线 (图 3), MCP-1 曲线下面积为 0.90,

表 1 尿 MCP-1 的实验结果

尿 MCP-1	6 个月内反复尿常规确诊的病例		合计
	紫癜性肾炎	单纯性紫癜	
>临界值 (+)	36	2	38
<临界值 (-)	9	10	19
合计	45	12	57

表 2 血浆 IL-8 的实验结果

血浆 IL-8	6 个月内反复尿常规确诊的病例		合计
	紫癜性肾炎	单纯性紫癜	
>临界值 (+)	31	3	34
<临界值 (-)	14	9	23
合计	45	12	57

标准误为 0.03, 其 95% 的近似参考置信区间为 0.84~0.97; 血浆 IL-8 曲线下面积为 0.83, 标准误为 0.05, 其 95% 的近似参考置信区间为 0.75~0.92。

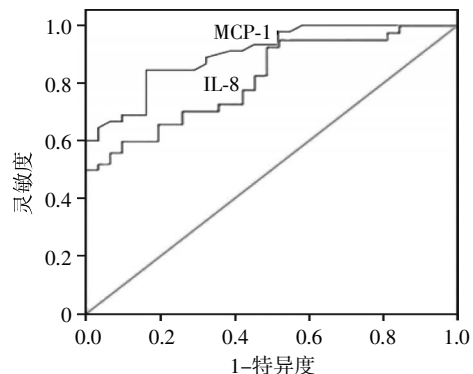


图3 血浆 MCP-1、IL-8 的 ROC 曲线

Figure 3 ROC curve of urinary MCP-1 and Plasma IL-8

3 讨论

过敏性紫癜是儿童时期常见的血管炎之一, 由凝血机制改变、炎性细胞和炎性细胞趋化因子等多种因素参与, 导致多脏器血管内皮损伤。紫癜性肾炎是过敏性紫癜血管内皮损伤后的常见并发症, 由于过敏性紫癜合并肾脏损害的发病率很高, 国内的研究显示 90%~100% 的过敏性紫癜病例肾脏有病理改变^[4]。如何早期诊断紫癜性肾炎, 判断肾脏损害的轻重程度是提高紫癜性肾炎治愈率的关键。

本研究显示确诊紫癜性肾炎的病例中, 尿常规在过敏性紫癜发病 1 个月以内有异常的占 64.4%, 其中确诊过敏性紫癜时即出现尿常规异常的仅占 33.3%。国内外的一些资料也同样显示, 尿常规早期诊断紫癜性肾炎的阳性率低^[5], 甚至在病理已证实肾脏

病变的情况下,尿常规也可以不出现阳性改变^[6]。目前早期病理检查实施困难,UMALB、尿视黄醇蛋白等指标在紫癜性肾炎的早期诊断中也没有获得最满意的阳性结果^[7],尿常规异常变化仍被国内大多数医疗机构视作诊断紫癜性肾炎的依据,因此急需探索能早期诊断紫癜性肾炎并判断紫癜性肾炎肾脏损害轻重程度的指标。

实验结果显示紫癜性肾炎病例尿 MCP-1 水平明显高于单纯性紫癜组和健康对照组,并且在微量尿白蛋白正常的紫癜性肾炎病例中尿 MCP-1 即已出现变化。实验根据尿 MCP-1 水平构建了 ROC 曲线,曲线下面积达到 0.90,诊断紫癜性肾炎的特异度和灵敏度分别为 83.33%和 82.45%,获得较满意的早期诊断效果。而这一结果与尿 MCP-1 在紫癜性肾炎中作用机制是密不可分的。首先 MCP-1 在分子生物学上是一个有效的单核细胞趋化因子,可由肾脏内皮细胞、上皮细胞以及系膜细胞在内的多种细胞产生^[8],当过敏性紫癜内皮细胞受损累及肾脏时,核因子(NF)- κ B 介导的 MCP-1 由近端小管上皮细胞分泌产生^[9]。其次肾脏损害后肾小管管腔存在过量的蛋白质,这些蛋白质激活 MCP-1 基因的转录,从而导致 MCP-1 的产生增加。再者紫癜性肾炎时肾脏 MCP-1 表达增加,肾小球滤过膜通透性改变,尿液中可以检测到 MCP-1。这 3 种作用机制均说明 MCP-1 参与了紫癜性肾炎的起始阶段并能在尿液中表达,也是尿 MCP-1 早期诊断过敏性紫癜肾脏损害的理论依据。

尿 MCP-1 不但可用于紫癜性肾炎的早期诊断,对紫癜性肾炎的病情判断同样具有重要意义。肾脏疾病中蛋白尿可以代表不同程度的病理变化^[10]。实验中通过不同水平 UMALB 对紫癜性肾炎进行了分组,结果显示随着 UMALB 的增加,尿 MCP-1 表达水平也随之增加,具有显著性差异。在肾脏因各种因素受损的时候,MCP-1 参与肾小球、肾小管间质疾病的发生并导致单核细胞在肾脏组织中的浸润,而单核细胞浸润将加重疾病对肾脏的损害。同时肾脏疾病局部组织中 MCP-1 表达也随着肾损害加重而增加^[11],所以 MCP-1 与肾脏病变的发生发展有密切关系,诱导单核细胞浸润到肾组织,并释放细胞因子,加速肾组织结构破坏,病理上可以表现为肾小球硬化及肾小管间质纤维化^[12]。

IL-8 是 CXC 族趋化因子中的一种,可由内皮细胞合成和分泌,是具有较强作用的趋化因子,在对血管炎疾病的研究中发现,血浆中 IL-8 的表达水平明

显增高。因此,IL-8 参与血管炎的发病过程,其水平的高低与血管炎症的反应强弱存在关联,并趋化中性粒细胞加重血管壁的损伤^[13]。紫癜性肾炎作为系统性血管炎的肾脏表现,IL-8 在其发病机制中同样起重要作用。紫癜性肾炎急性期血管内皮细胞分泌大量的 IL-8,大量的 IL-8 诱导 IgA 为主的免疫复合物沉积以及血管周围多形核白细胞浸润^[14],这种反应是紫癜性肾炎病情持续发展的主要原因。即使临床缓解后,中性粒细胞及淋巴细胞的浸润反应仍将持续存在,同时内皮细胞也持续分泌 IL-8,使紫癜性肾炎易复发。

国外研究还发现了过敏性紫癜病例是否合并肾损害与 IL-8 基因型的不同分布有关。研究中出现 IL-8 等位基因 A 的过敏性紫癜患者肾脏损害的发病率高^[15]。对于儿童常见的继发性肾炎(紫癜性肾炎)病理上多见肾小球系膜增生,重症病例病理可见肾小球硬化。临床中紫癜性肾炎多表现为蛋白尿,重症病例临床早期即出现大量蛋白尿,而肾源病因的蛋白尿与 IL-8 有关^[16]。由于肾脏疾病时肾脏组织分泌 IL-8,增加了临床蛋白尿的表现,这也是肾源蛋白尿的病因之一。本实验中血浆 IL-8 在紫癜性肾炎不同程度尿白蛋白分组之间有显著性差异,但在正常尿白蛋白组与单纯性紫癜组之间却无显著差异,这与其他学者研究的蛋白尿与 IL-8 的关系相一致。由于 IL-8 在早期无尿白蛋白改变的紫癜性肾炎中表达无明显改变,因此影响了 IL-8 在紫癜性肾炎早期诊断中的作用,ROC 曲线显示其灵敏度仅为 68.89%。虽然血浆 IL-8 不能区分单纯性紫癜和早期无尿白蛋白改变的紫癜性肾炎,但血浆 IL-8 水平在实验组不同程度尿白蛋白组间比较差异显著,提示血浆 IL-8 有助于判断紫癜性肾损害的严重程度。

综上所述,尿 MCP-1 对紫癜性肾炎早期诊断的灵敏度优于血浆 IL-8,且两者都有助于判断紫癜性肾炎肾脏损害的轻重程度。本研究中实验组的病例均为初诊患者,未经过特殊治疗。因入选条件的限制和随访时间较长,病例数有待进一步扩大;此外,本研究优选的指标有待进一步以肾活检病理检查作为检验其价值的金标准。

[参考文献]

- [1] Narchi H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schonlein purpura with normal or minimal urinary findings:a systematic review [J]. Arch Dis Child,2005,90 (9):916-920

- [2] 蔡晋. 不同尿白蛋白水平紫癜性肾炎患儿尿 MCP-1 水平变化[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(21): 2352-2353
- [3] Kopple JD. The National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guidelines for dietary protein intake for chronic dialysis patients [J]. *Am J Kidney Dis*, 2001, 38(4 Suppl 1): S68-73
- [4] 杨霖云. 小儿过敏性紫癜性肾炎诊治中的几个问题[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2004, 13(2): 147-149
- [5] Miyazawa T, Sugimoto K, Fujita S, et al. A patient with Henoch-Schonlein purpura manifesting unusual symptoms and clinical course [J]. *J Clin Rheumatol*, 2010, 16(7): 338-340
- [6] 张国珍, 吴小川. 儿童紫癜性肾炎临床与病理相关性 [J]. 中国当代儿科杂志, 2007, 9(2): 129-132
- [7] Hospach T, Klaus G, Holl-Ulrich K, et al. Purpura Schoenlein-Henoch; results of the Worlitz 2005 Consensus Conference focusing on diagnosis and therapy [J]. *Klin Padiatr*, 2008, 220(1): 47-52
- [8] Lee EY, Chung CH, Khoury CC, et al. The monocyte chemoattractant protein-1/CCR2 loop, inducible by TGF-beta, increases podocyte motility and albumin permeability [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297(1): F85-94
- [9] Steinmetz OM, Panzer U, Harendza S, et al. No association of the -2518 MCP-1 A/G promoter polymorphism with incidence and clinical course of IgA nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19(3): 596-601
- [10] Petrovic D, Stojimirovic B. Proteinuria as a risk factor for the progression of chronic renal disease [J]. *Vojnosanit Pregl*, 2008, 65(7): 552-558
- [11] Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ma FY, et al. Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but not type 2 diabetes in obese db/db mice [J]. *Diabetologia*, 2007, 50(2): 471-480
- [12] Wang Y, Rangan GK, Tay YC, et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by albumin is mediated by nuclear factor kappaB in proximal tubule cells [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10: 1204-1213
- [13] Xiao S, Xu C, Jarvis JN. C1q-bearing immune complexes induce IL-8 secretion in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) through protein tyrosine kinase- and mitogen-activated protein kinase-dependent mechanisms; evidence that the 126 kD phagocytic C1q receptor mediates immune complex activation of HUVEC [J]. *Clin Exp Immunol*, 2001, 125(3): 360-367
- [14] Paltrinieri S, Panelli S, Sartorelli P. Characteristics of the response of ovine granulocytes (PMNs) to zymosan-activated serum (ZAS) and to recombinant human interleukin-8 (IL-8) [J]. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2000, 47(7): 421-430
- [15] Loboda A, Jazwa A, Wegiel B, et al. Heme oxygenase-1-dependent and -independent regulation of angiogenic genes expression; effect of cobalt protoporphyrin and cobalt chloride on VEGF and IL-8 synthesis in human microvascular endothelial cells [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2005, 51(4): 347-355
- [16] Souto MF, Teixeira AL, Russo RC, et al. Immune mediators in idiopathic nephrotic syndrome; evidence for a relation between interleukin 8 and proteinuria [J]. *Pediatr Res*, 2008, 64(6): 637-642

[收稿日期] 2012-05-02