

血清 Cys-C、NGAL 在海洛因依赖伴慢性 HCV 感染者早期肾损伤中的变化^{*}

何 军¹, 张 丽¹, 田洪伦¹, 尹 科¹, 祝 静¹, 周 曹^{2* * *}

(1. 贵州省第二人民医院 检验科, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州省第二人民医院 精神科, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 目的: 通过检测伴慢性丙型肝炎(HCV)感染海洛因依赖者血清胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys-C)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)水平,评价海洛因依赖伴慢性 HCV 感染者早期肾损伤。方法: 120 例海洛因依赖者,分为伴 HCV 感染组($n=60$)和不伴 HCV 感染($n=60$),再按吸食海洛因时间分为<5 年组和 6~10 年组,30 例正常人作为对照组;免疫比浊法检测血清 Cys-C 水平,ELISA 法检测血清 NGAL 水平;采用 ROC 曲线面积(AUC)评价 Cys-C、NGAL 水平对海洛因依赖伴慢性 HCV 感染者早期肾损伤的诊断价值。结果: 伴 HCV 感染<5 年组和 6~10 年组血清 Cys-C 水平(0.87 ± 0.15 、 0.94 ± 0.15)mg/L 均高于不伴 HCV 感染组(0.62 ± 0.22 、 0.74 ± 0.11)mg/L 和对照组(0.65 ± 0.09)mg/L,差异有统计学意义($P<0.05$);不伴 HCV 感染 6~10 年组高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);伴 HCV 感染 6~10 年组血清 NGAL 水平(82.26 ± 25.84)ng/L 高于不伴 HCV 感染<5 年组(66.29 ± 22.02)ng/L 和对照组(64.98 ± 17.26)ng/L,差异有统计学意义($P<0.05$),不伴 HCV 感染 6~10 组高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);伴 HCV 感染<5 年组、6~10 年组及不伴 HCV 感染 6~10 年组 Cys-C 的 AUC 分别为 0.942、0.977 和 0.772, $P<0.01$;伴 HCV 感染和不伴 HCV 感染 6~10 年组 NGAL 的 AUC 分别为 0.707、0.696, $P<0.01$ 。结论: 血清 Cys-C 水平对海洛因依赖伴慢性 HCV 感染者早期肾损伤有很好诊断价值,而血清 NGAL 水平仅对在吸食海洛因 6 年以上者早期肾损伤有一定诊断价值。
[关键词] 胱氨酸蛋白酶抑制剂-C; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 海洛因依赖; 肝炎, 丙型, 慢性; 肾功能衰竭, 早期

[中图分类号] R749.64; R512.63 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2014)05-0688-04

A Study of the Changes of Serum Cys-C, NGAL in Heroin Addicts with Chronic HCV Infection and Early Renal Injury

HE Jun¹, ZHANG Li¹, TIAN Honglun¹, YIN Ke¹, ZHU Jing¹, ZHOU Cao²

(1. Department of Laboratory Medicine, Second People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550004, Guizhou, China;

2. Department of Psychiatry, Second People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate early renal injury by testing levels of serum cystatin C (Cys-C), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in heroin addicts with chronic HCV infection. **Methods:** A total of 120 cases of heroin addicts were divided into HCV infection group ($n=60$) and non HCV infection group ($n=60$), further grouping by standard of using heroin within 5 years ($n=30$) and 6~10 years ($n=30$) group; Meanwhile, 30 cases of normal people as control group ($n=30$); the serum level of NGAL was measured by ELISA assay, while serum Cys-C by immune turbidimetric method. Moreover, ROC curve area under the curve (AUC) was employed in diagnostic value comparison of early renal injury of levels of Cys-C and NGAL in heroin addicts with chronic HCV infection. **Results:** The level of serum Cys-C with HCV infection within 5 years group and 6~10 years

^{*} [基金项目] 贵州省卫生厅科学技术基金项目(Gzskj22011-1-8)

^{**} 通信作者 E-mail: 49740990@qq.com

网络出版时间: 2014-09-23 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20140923.1637.005.html>

group (0.87 ± 0.15 、 0.94 ± 0.15) mg/L were higher than that of non HCV infection group (0.62 ± 0.22 、 0.74 ± 0.11) mg/L and control group (0.65 ± 0.09) mg/L, differences were statistically significant ($P < 0.05$); 6 ~ 10 years group was higher than control group, differences were statistically significant ($P < 0.05$); the level of serum NGAL: HCV infection 6 ~ 10 years group (82.26 ± 25.84) ng/L was higher than that non-HCV infection within 5 years group (66.29 ± 22.02) ng/L and control group (64.98 ± 17.26) ng/L, differences were statistically significant ($P < 0.05$); 6 ~ 10 years group are higher than control group, differences were statistically significant ($P < 0.05$); Cys-C curve (AUC) of HCV infection within 5 years group, 6 ~ 10 years group and 6 ~ 10 years non HCV infection group were 0.942, 0.977 and 0.772 respectively, $P < 0.05$; the NGAL AUC in 6 ~ 10 years group with HCV infection and non-HCV infection were 0.707, 0.696 respectively, $P < 0.05$. **Conclusions:** The serum level of Cys-C has fine diagnostic value to evaluate the early renal injury of heroin addicts with chronic HCV infection, while the levels of serum NGAL level (heroin addition over 6 years) has certain diagnostic value.

[**Key words**] cystatin C; gelatinase-associated lipocalin; heroin addiction; hepatitis C, chronic; renal failure, early stage

阿片类物质滥用现象已成为全球性健康和社会问题,吸食海洛因影响机体神经、内分泌、免疫、循环、代谢等各个器官系统的功能。海洛因可作为抗原抗体复合物损伤肾脏,使大多数吸毒者患上各种肾脏疾病。长期以来临床一直运用血清尿素、肌酐评价海洛因依赖者肾功能,但这两项指标敏感性和特异性较低,不能真正评价海洛因依赖者肾功能损伤,尤其是早期肾功能损伤^[1]。流行病学调查发现,海洛因依赖伴慢性丙型肝炎(HCV)感染者较多,有关这类患者的肾早期损伤调查,目前罕见相关报道^[2]。血清胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(cystatin C, Cys-C)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)水平测定作为肾早期损伤标志物,已开始应用于普通手术病人、糖尿病人等肾损伤的早期诊断研究^[3-4]。本研究根据海洛因依赖伴慢性 HCV 感染者吸食时间长短分组,检测血清 NGAL、Cys-C 水平,为海洛因依赖者肾早期损伤评价提供理论依据,报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2011 年 9 月 ~ 2013 年 9 月,美沙酮维持治疗门诊就诊的海洛因依赖者 120 例,男 76 例,女 44 例,21 ~ 50 岁,平均 37.4 岁;吸食海洛因时间平均 6.3 年,海洛因日均用量 0.25 ~ 5.0 g。全部患者海洛因滥用史明确,符合 DSM-III-R 关于阿片类药

物依赖诊断标准,排除尿毒症并已行维持性透析、其他原因引起的急性肾损伤、免疫系统疾病、实体肿瘤或其他并发症、存在急慢性感染及 6 月内使用免疫制剂患者;120 例海洛因依赖者分为海洛因依赖伴 HCV 感染组(简称伴 HCV 感染组, $n = 60$)和不伴 HCV 感染海洛因依赖组(简称不伴 HCV 感染, $n = 60$),2 组按吸食海洛因时间分为 < 5 年组($n = 30$)和 6 ~ 10 年组($n = 30$)。对照组 30 例,来自体检中心正常健康体检者,男 21 例,女 9 例,年龄在 22 ~ 53 岁,年龄 37 岁。

1.2 Cys-C、NGAL 检测方法

1.2.1 主要试剂和仪器 Cys-C 试剂盒为宁波美康生物科技有限公司生产,试剂批号 20130722; NGAL 试剂盒为上海瓦兰生物科技有限公司生产,试剂批号分别为 WK-E10253。北京普朗(DNM-9602)酶标仪,日本株式会社全自动生化分析仪(TBA120FR)。

1.2.2 检测方法 采集受检者清晨空腹静脉血 4 mL,37 °C 水浴 30 min,3 000 r/min 离心 15 min,取血清 2 mL 于冻存管, - 80 °C 保存待测;ELISA 法进行常规病原体乙肝表面抗原、抗 HCV 抗体、抗戊型肝炎抗体、人类免疫缺陷病毒(Human Immunodeficiency Virus, HIV)、梅毒螺旋体(Treponema pallidum, TP)抗体检测,把单独抗 HCV 抗体阳性作为伴 HCV 感染组,上述检测全阴性为不伴 HCV 感染组。参考相关文献[3 - 4],用 ELISA 法检测血清 NGAL 水平,免疫比浊法检测血清 Cys-C 水平。

1.3 统计学处理

用统计软件包 SPSS 17.0 处理。数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用方差分析, LSD 法。绘制 ROC 曲线, 并计算 Cys-C、NGAL 对海洛因依赖伴 HCV 感染者肾早期损伤的诊断面积。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 Cys-C、NGAL 水平

血清 Cys-C 水平: 伴 HCV 感染 <5 年组和 6 ~ 10 年组均高于不伴 HCV 感染组和对照组, 差异有

统计学意义 ($P < 0.05$); 伴 HCV 感染 <5 年组和 6 ~ 10 年组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 不伴 HCV 感染 6 ~ 10 年组高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 不伴 HCV 感染 <5 年组与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。血清 NGAL 水平: 伴 HCV 感染 6 ~ 10 年组高于不伴 HCV 感染 <5 年组和对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。伴 HCV 感染 <5 年组与不伴 HCV 感染 <5 年组、6 ~ 10 年组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 不伴 HCV 感染 6 ~ 10 年组高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 海洛因依赖伴或不伴 HCV 感染组和对照组血清 Cys-C 和 NGAL 水平

Tab. 1 Serum levels of Cys-C and NGAL in the two groups

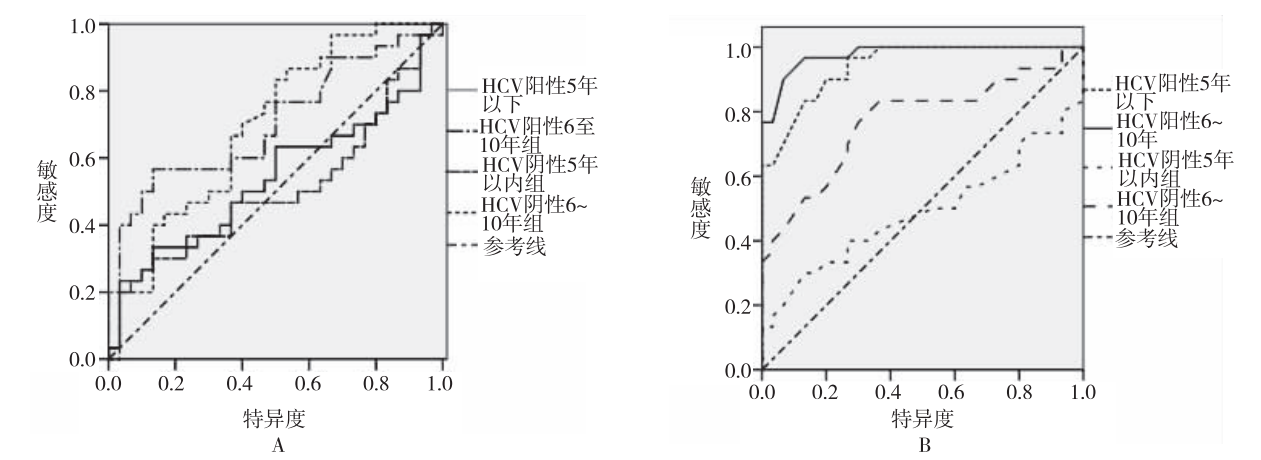
检测指标	伴 HCV 感染组		不伴 HCV 感染组		对照组
	<5 年组	6 ~ 10 年组	<5 年组	6 ~ 10 年组	
Cys-C (mg/L)	0.86 ± 0.14 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	0.93 ± 0.15 ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	0.62 ± 0.22 ⁽⁵⁾	0.74 ± 0.11 ⁽¹⁾	0.64 ± 0.07
NGAL (ng/L)	67.8 ± 22.89 ⁽²⁾	82.26 ± 25.84 ⁽¹⁾⁽³⁾	66.29 ± 22.02	76.69 ± 12.96 ⁽¹⁾	64.98 ± 17.26

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与伴 HCV 感染 6 ~ 10 年组比较, $P < 0.05$; ⁽³⁾ 不伴 HCV 感染组 <5 年组比较, $P < 0.05$; ⁽⁴⁾ 不伴 HCV 感染组 6 ~ 10 年组比较, $P < 0.05$; ⁽⁵⁾ 不伴 HCV 感染组 6 ~ 10 年组比较, $P < 0.05$

2.2 ROC 曲线分析

伴 HCV 感染 <5 年组、6 ~ 10 年组及不伴 HCV 感染 6 ~ 10 年组 Cys-C ROC 曲线面积 (AUC) 分别为 0.942 (95% 可信区间 0.890 ~ 0.994)、0.977 (95% 可信区间 0 ~ 1) 和 0.772 (95% 可信区间 0.650 ~ 0.893), $P < 0.01$; 伴 HCV 感染和不伴

HCV 感染 6 ~ 10 年组 NGAL 的 AUC 分别为 0.707 (95% 可信区间 0.574 ~ 0.840)、0.696 (95% 可信区间 0.562 ~ 0.829), $P < 0.01$ 。伴 HCV 感染和不伴 HCV 感染 <5 年组 NGAL 的 AUC 分别为 0.540 和 0.507, 不伴 HCV 感染 <5 年组 Cys-C 的 AUC 为 0.490, $P > 0.05$ 。见图 1。



A 为血清 Cys-C 水平 ROC 曲线, B 为 NGAL 水平 ROC 曲线

图 1 伴或不伴 HCV 感染海洛因依赖组血清 Cys-C 及 NGAL 水平 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curves of Cys-C and NGAL levels of the two groups

3 讨论

急性肾损伤 (AKI) 是临床常见病及多发病,是导致患者死亡的独立危险因素。在早期肾损伤时,有生物标志物会发生改变,可指导临床进行早期干预,防止病情进一步恶化,发展成肾衰竭^[5]。临床大多采用检测血肌酐 (SCr) 来计算肾小球滤过率 (GFR) 评价肾功能,由于 GFR 下降至正常的 50% 以下时,SCr 才明显上升,且受体内肌肉总量、蛋白摄入量和体内代谢水平等影响,与 GFR 相关性较差,不能及时、准确地反映肾功能状况,导致患者不能得到及时治疗。

Cys-C 生成速度稳定,肾脏是唯一的 Cys-C 排泄器官,其排出只受 GFR 的影响,1985 年被首次报道并作为评估 GFR 的指标。是反映早期肾小球滤过功能受损的一个理想、可靠的指标^[6]。NGAL 又称 lipocalin 2,是 AKI 早期敏感性和特异性均较高的生物学标志物^[7-8],是存在于中性粒细胞中的一种分泌型小分子蛋白,在肾脏急性缺血/再灌注及顺铂和脂多糖诱导的小鼠肾损伤模型中,肾损伤早期 NGAL 基因转录和翻译水平上调,血、尿标本中可检测出 NGAL^[9]。

海洛因在体内可造成肾脏各部分不同程度的损害^[10]。由于早期肾功能血液生化指标不敏感,常规尿检测很难早期发现,即使检测出来,病变已达到相当程度。在海洛因依赖者人群中找出某种或某些肾损伤早期标志物,对及早识别急性肾损伤,尽快启动干预机制改善患者预后有重要意义。有学者研究证明 HCV 感染会直接对机体造成肾损伤^[11]。HCV 入侵机体后,会影响宿主细胞的各种生理功能,诱使机体发生免疫反应,产生多种致病因子,常引起机体多组织及器官病变,产生 HCV 相关并发症。肾脏是人体重要的过滤器官,一些结合有 HCV 致病相关物质的生物大分子、免疫复合物、淀粉样蛋白及冷球蛋白在肾组织沉积,损害肾功能^[12]。

本研究发现 HCV 感染各组血清 Cys-C 的水平均高于不伴 HCV 感染者各组 and 对照组,海洛因依赖伴 HCV 感染者血清中 Cys-C 水平含量较高,说明 HCV 感染者吸食海洛因易发生肾小球滤过功能受损。HCV 感染 <5 年组和 6 ~ 10 年组 Cys-C 水平相当,表明慢性 HCV 感染者吸食海洛时血清中 Cys-C 水平不因吸食时间长短而变化。海洛因依

赖不伴 HCV 感染 6 ~ 10 年组高于对照组,表明血清中 Cys-C 水平在吸食海洛因 6 ~ 10 年间存在肾小球滤过功能损伤。

HCV 感染 6 ~ 10 年组血清 NGAL 水平高于不伴 HCV 感染海洛因依赖各组 and 对照组,不伴 HCV 感染海洛因依赖 6 ~ 10 年组高于对照组,表明吸食海洛因 6 ~ 10 年机体存在肾缺血或灌注损伤,血清 NGAL 水平适合作为评价这期间肾损伤的检测指标,尤其是 HCV 感染吸食海洛因 6 ~ 10 年间。HCV 感染与非 HCV 感染 <5 年组 NGAL 水平与对照组相当,表明血清 NGAL 水平在吸食海洛因 <5 年以下机体表达不明显,还未造成机体肾缺血或肾毒性损伤,不适合作为吸食海洛因 <5 年的肾损伤评价指标。

根据 AUC, Cys-C 在 HCV 感染组 ROC 面积均 >90%,证明 Cys-C 水平在伴 HCV 感染海洛因依赖者肾早期损伤有较高的诊断价值;NGAL 水平 6 ~ 10 年组的 ROC 面积为 74%,证明 NGAL 水平在伴 HCV 感染海洛因依赖 6 ~ 10 年肾早期损伤有一定的诊断价值,而 5 年以内 ROC 面积为 54%,说明 NGAL 水平在伴 HCV 感染海洛因依赖 5 年以内对肾早期损伤基本无诊断价值。

此外,本研究对 NGAL 的检测用的是血清样本,有学者研究评价肾早期损伤用的是尿样本^[13],使用尿样本能否较本研究的更好评价海洛因对机体肾早期损伤,有待下一步研究。

4 参考文献

- [1] 颜兴伟,杨玉金,龚俊平,等. 海洛因依赖者美沙酮维持治疗肝肾功能生化指标的变化[J]. 现代预防医学, 2012(8):2035-2037.
- [2] Bao YP, Liu ZM. Systematic review of HIV and HCV infection among drug users in China[J]. International Journal of STD & AIDS, 2009(20): 399-405.
- [3] Chen X, Xiao YL, Chen Y, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and interleukin-18 predict acute kidney injury after cardiac surgery [J]. renal failure, 2008(30):904-913.
- [4] Sabah MA, Norella K, Rashidi S, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C are early biomarkers of contrast-induced nephropathy after coronary angiography in patients with chronic kidney disease [J]. Angiology, 2014(5):436-442.

(下转第 696 页)

型功能表型,提示 TPM 的功能表型可以再极化^[6-9]。本研究体内实验显示,IL-12 预处理后的 TPM 组的肿瘤体积与质量都明显小于 TPM 组,且肿瘤发生时间晚,提示 IL-12 预处理后的 TPM 的功能表型可以朝相反方向再极化,并发挥抗肿瘤作用。IL-12 预处理后的 TPM 显示与 TPM 相反的功能表型,以及其对肿瘤的作用,提示通过再极化巨噬细胞,使促肿瘤的 2 型巨噬细胞逆转成抗肿瘤的 1 型巨噬细胞,可以延缓肿瘤的发生和发展,进而阻断肿瘤微环境到 2 型功能表型的巨噬细胞,再到肿瘤生长之间的恶性循环。因此,可以通过调整活化巨噬细胞的功能表型来治疗肿瘤,而不仅仅是简单地抑制或补充某些细胞因子。

4 参考文献

- [1] Mantovani A, Biswas SK. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling[J]. J Pathol, 2013(2):176-185.
 - [2] Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease[J]. Nature, 2013(496):445-455.
 - [3] De Palma M1, Lewis CE. Macrophage regulation of tumor responses to anticancer therapies[J]. Cancer Cell, 2013(3):277-286.
 - [4] Dorit Avnia, Meir Goldsmitha, Orna Ernst a, et al. Modulation of TNF- α , IL-10 and IL-12p40 levels by a ceramide-1-phosphate analog, PCERA-1, in vivo and ex vivo in primary macrophages [J]. Immunology Letters, 2009(123):1-8.
 - [5] Susanna Brighenti, Jan Andersson. Induction and regulation of CD8⁺ cytolytic T cells in human tuberculosis and HIV infection[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010(396):50-57.
 - [6] Michele De Palma, Claire E. Lewis. Macrophage regulation of tumor responses to anticancer therapies[J]. Cancer Cell, 2013(3):277-286.
 - [7] Suzanne Ostrand-Rosenberg. Macrophages and tumor development [J]. Tumor-Induced Immune Suppression, 2014(2):185-212.
 - [8] Mantovani A, Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013(7):1478-1483.
 - [9] Germano G, Frapolli R, Belgiovine C, et al. Role of macrophage targeting in the antitumor activity of trabectedin[J]. Cancer Cell, 2013(2):249-262.
 - [10] Kroner A, Greenhalgh AD. TNF and increased intracellular iron alter macrophage polarization to a detrimental M1 phenotype in the injured spinal cord[J]. Neuron, 2014(14):638-642.
 - [11] Zhao X, Dai J. PI3K/Akt signaling pathway modulates influenza virus induced mouse alveolar macrophage polarization to M1/M2b[J]. PLoS One, 2014(8):104-106.
(2014-07-30 收稿,2014-08-24 修回)
中文编辑: 文箬颖; 英文编辑: 周 凌
-
- (上接第 691 页)
- [5] 急性肾损伤专家共识小组. 急性肾损伤诊断与分类专家共识[J]. 中华肾脏病杂志, 2006(22):661.
 - [6] rvela K, Maaranen P, Harmoinen A, et al. Cystatin C in diabetics as a marker of mild renal insufficiency after CABG[J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg, 2011(17):77-282.
 - [7] Chou KM, Lee CC, Chen CH, et al. Clinical value of NGAL, L-FABP and albuminuria in predicting GFR decline in type 2 diabetes mellitus patients[J]. PLoS ONE, 2013(1):1-2.
 - [8] Antonio L, Valeria C, Valentina D, et al. NGAL as an Early biomarker of kidney disease in joubert syndrome: three brothers compared[J]. Renal Failure, 2012(34):495-498.
 - [9] Han M, Li Y, Liu M, et al. Renal neutrophil gelatinase associated lipocalin expression in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in the rat[J]. BMC Nephrol, 2012(13):25.
 - [10] Manner I, Sagedal S, Roger M. Renal amyloidosis in intravenous heroin addicts with nephrotic syndrome and renal failure[J]. Clinical Nephrology, 2009(3):224-228.
 - [11] 曹娅丽, 章友康. 丙型肝炎病毒感染相关性肾小球肾炎的研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2009(25):156-159.
 - [12] Rashad SB. Hepatitis C virus; from entry to renal injury-facts and potentials[J]. Nephrol Dial Transplant, 2007(7):1840-1848.
 - [13] Justyna T, Anna W, Robert M. Urine NGAL and KIM-1 in children and adolescents with hyperuricemia[J]. Pediatr Nephrol, 2013(28):1863-1869.
(2014-05-20 收稿,2014-06-29 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 赵 毅