

## 中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白在腹透相关性腹膜炎中的诊断价值

章圣泽 黄文 贾李跃 王牡丹 朱源 董芍芍 周丽娜

**[摘要]** **目的** 探讨中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)在腹透相关性腹膜炎(PDRP)中的变化及诊断价值。**方法** 选取因腹透相关性腹膜炎住院治疗患者38例作为PDRP组,普通腹膜透析患者34例作为非PDRP组。检测两组患者首诊日、第3天、第7天、第14天的腹透液NGAL(P-NGAL)、腹透液白细胞(P-WBC)、腹透液中性粒细胞(P-Neu)、腹透液白介素-1 $\beta$ (P-IL-1 $\beta$ )及血NGAL(S-NGAL)、血白细胞(S-WBC)、血中性粒细胞(S-Neu)、血CRP(S-CRP)等指标,并采用ROC曲线评价指标的灵敏度和特异度。**结果** PDRP组患者的首诊日P-NGAL、P-WBC、P-IL-1 $\beta$ 及S-NGAL、S-WBC、S-Neu、S-CRP明显高于非PDRP组,差异均有统计学意义( $t$ 分别=3.12、11.23、2.17、2.45、1.81、0.91、3.32,  $P$ 均 $<0.05$ )。治疗第3天, PDRP组患者P-NGAL、S-NGAL较首诊日明显下降( $t$ 分别=4.56、7.78,  $P$ 均 $<0.05$ ),第7天, PDRP组患者P-NGAL、S-NGAL较第3天明显下降( $t$ 分别=5.97、6.21,  $P$ 均 $<0.05$ ),第14天P-NGAL明显低于第7天( $t=4.89, P<0.05$ )。ROC曲线中, P-NGAL的AUC为0.88,最佳截断值69.50 ng/ml,诊断PDRP阳性的灵敏度为81.70%,特异度为89.20%。S-NGAL的AUC为0.85,最佳截断值50.40 ng/ml,诊断PDRP阳性的灵敏度为85.21%,特异度为85.52%。**结论** NGAL在PDRP患者中明显升高,随着治疗有效而下降。NGAL是预测PDRP有效的生物标志物,可用来监测治疗。

**[关键词]** 腹透相关性腹膜炎; 中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白; 白介素-1 $\beta$ ; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

**Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin on peritoneal dialysis related peritonitis** ZHANG Shengze, HUANG Wen, JIA Liyue, et al. Department of Nephrology, Wenzhou People's Hospital, Wenzhou 325000, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the expression and diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with peritoneal dialysis-related peritonitis. **Methods** Totally 38 patients with peritoneal dialysis-related peritonitis were enrolled for PDRP group, and 34 patients of common peritoneal dialysis were selected for the control group. The peritoneal dialysis fluid-NGAL (P-NGAL), peritoneal dialysis - white blood cell (P-WBC), peritoneal dialysis fluid-neutrophile granulocyte (P-Neu), peritoneal dialysis fluid-Interleukin-1 $\beta$  (P-IL-1 $\beta$ ) and serum-NGAL (S-NGAL), serum-white blood cell (s-WBC), serum-neutrophile granulocyte (S-Neu), and serum-C-reactive protein (S-CRP) were examined at first, third, seventh, fourteenth day. ROC curve analysis curve area was used to calculate the sensitivity and specificity for evaluating diagnosis of NGAL. **Results** Compared to the control group, the P-NGAL, P-WBC, P-IL-1 $\beta$ , S-NGAL, S-WBC, S-Neu, S-CRP were significantly higher in PDRP group at first day ( $t=3.12, 11.23, 2.17, 2.45, 1.81, 0.91, 3.32, P<0.05$ ). The P-NGAL and S-NGAL were significantly declined at the third day when compared with the first day ( $t=4.56, 7.78, P<0.05$ ). The P-NGAL and S-NGAL were significantly declined at the seventh day when compared with the third day ( $t=5.97, 6.21, P<0.05$ ). The P-NGAL was significantly declined at the fourteenth day when compared with the seventh day ( $t=4.89, P<0.05$ ). The AUC of p-NGAL was 0.88, the cut off value was 69.50 ng/ml, and the sensitivity and specificity of diagnosing PDRP were 81.70% and 89.20%. The AUC of S-NGAL was 0.85, the cut off value was 50.40 ng/ml, and the sensitivity and specificity were 85.21% and 85.52%. **Conclusion** The NGAL increases significantly in PDRP patients, and decreases with effective treatment.

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2018.05.010

基金项目:温州市科技计划项目(Y20170304)

作者单位:325000 浙江温州,温州市人民医院肾内科(章圣泽、贾李跃、王牡丹、朱源、董芍芍、周丽娜);温州医科大学附属第二医院育英儿童医院肾内科(黄文)

通讯作者:周丽娜, Email: bonnylina@126.com

The NGAL is a reliable biomarker for diagnosing PDRP, a good biological indicator to monitor therapeutic effect.

**[Key words]** peritoneal dialysis related peritonitis; neutrophil gelatinase-associated lipocalin; IL-1 $\beta$ ; TNF- $\alpha$

腹透相关性腹膜炎(peritoneal dialysis related peritonitis, PDRP)是腹膜透析常见的并发症,是患者退出腹透甚至死亡的原因之一<sup>[1]</sup>。目前,尚缺乏对PDRP早期诊断、治疗监测、判断预后的有效指标。研究表明,中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)在腹膜炎状态下可升高<sup>[2]</sup>。本次研究NGAL在PDRP中的变化及诊断价值。现报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2016年1月至2017年12月在温州市人民医院因PDRP住院患者作为PDRP组,均符合国际腹膜透析协会建议的PDRP诊断标准,即具备以下2条或2条以上:①腹痛、腹透液浑浊,伴

或不伴发热;②透析液中白细胞 $>100/\mu\text{l}$ ,其中中性粒细胞 $>50\%$ ;③透析液培养有病原微生物生长;④腹膜透析时间 $>3$ 月,并剔除有:①治疗5 d症状体征无缓解、腹透液白细胞及中性粒细胞无明显下降者;②真菌性腹膜炎或者结核感染,难治性腹膜炎需拔除腹透管者;③严重心、脑、肺、肝功能异常者;④3月内发生过局部或全身性感染,存在恶性肿瘤、慢性消耗性疾病者。选择同期本院腹透中心规律随访的正常腹膜透析患者,作为非PDRP组。本次研究均通过我院伦理委员会同意,取得患者知情同意。两组患者在年龄、性别组成、透析时间、肾病基础比较见表1。两组比较,差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。

表1 两组患者一般情况比较

组别	n	性别(男/女)	平均年龄/岁	透析时间/月	肾病类型/例			
					糖尿病肾病	慢性肾炎	多囊肾	高血压肾损害
PDRP组	38	17/21	47.32 $\pm$ 8.84	31.31 $\pm$ 14.26	16	15	3	4
非PDRP组	34	17/17	49.54 $\pm$ 13.12	25.87 $\pm$ 9.41	13	12	4	5

1.2 方法 PDRP组予经验性使用广覆盖G<sup>+</sup>菌和G<sup>-</sup>菌抗生素腹腔局部用药,根据致病菌药敏试验,结合患者既往腹膜炎病史调整用药方案。留取首诊日、第3天、第7天、第14天腹透液及血标本,采用酶联免疫吸附剂测定法测指标NGAL、白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor - $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )。收集各时间点的腹透液白细胞(peritoneal dialysis fluid- white blood cell, P-WBC)、腹透液中性粒细胞(peritoneal dialysis fluid-neutrophile granulocyte, P-Neu)、腹透液白细胞介素1 $\beta$ (peritoneal dialysis fluid-interleukin-1 $\beta$ , P-IL-1 $\beta$ )和血白细胞(serum-white blood cell, S-WBC)、血中性粒细胞(serum-neutrophile granulocyte, S-Neu)、血C-反应蛋白(serum C-reactive protein, S-CRP)等指标。非PDRP组留取血及腹透液标本,检测NGAL、IL-1 $\beta$ 、WBC、Neu、CRP等指标作为基线值对照。比较两组患者腹透液及血生化指标差异,比较PDRP组治疗前后腹透液及血生化指标变化。

1.3 统计学方法 采用SPSS 20.0对数据进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验,时间依赖性变量

间比较采用重复测量数据的方差分析,再采用 $t$ 检验。非正态分布的计量资料用中位数表示,组间比较选用秩和检验。采用ROC曲线对生物标志物的诊断预测分析。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患者生化指标比较见表2

表2 两组患者腹透液及血生化指标比较

指标	PDRP组	非PDRP组
P-NGAL/ng/ml	199.45 $\pm$ 14.41*	21.39 $\pm$ 3.12
P-WBC/ $\times 10^6/L$	1520.23 $\pm$ 101.87*	24.32 $\pm$ 5.21
P-IL-1 $\beta$ /pg/L	2171.46 $\pm$ 573.17*	532 $\pm$ 45.42
S-NGAL/ng/ml	147.52 $\pm$ 81.97*	19.95 $\pm$ 4.32
S-WBC/ $\times 10^9/L$	10.85 $\pm$ 5.16*	5.49 $\pm$ 1.07
S-Neu/%	72.28 $\pm$ 13.12*	58.21 $\pm$ 7.13
S-CRP/mg/L	62.19 $\pm$ 21.34*	4.67 $\pm$ 4.28

注: \*: 与非PDRP组比较,  $P<0.05$ 。

由表2可见, PDRP组患者的首诊日P-NGAL、P-WBC、P-IL-1 $\beta$ 、S-NGAL、S-WBC、S-Neu、S-CRP明显高于非PDRP组, 差异均有统计学意义( $t$ 分别=3.12、11.23、2.17、2.45、1.81、0.91、3.32,  $P$ 均 $<0.05$ )。

## 2.2 PDRP组治疗前后腹透液指标变化见表3

表3 PDRP组治疗前后腹透液指标变化

时间	P-WBC/ $\times 10^6/L$	P-Neu/%	P-NGAL/ng/ml	P-IL-1 $\beta$ /pg/L	P-TNF- $\alpha$ /ng/L
首诊日	1520.03 $\pm$ 101.87	75.23 $\pm$ 11.34	199.45 $\pm$ 24.11	2171.46 $\pm$ 573.17	298.20 $\pm$ 13.09
第3天	663.41 $\pm$ 234.43*	51.07 $\pm$ 10.22*	112.73 $\pm$ 19.03*	1986.39 $\pm$ 358.04	277.63 $\pm$ 28.37
第7天	123.27 $\pm$ 68.51 <sup>#</sup>	31.24 $\pm$ 12.63 <sup>#</sup>	53.29 $\pm$ 30.67 <sup>#</sup>	1334.08 $\pm$ 191.86 <sup>#</sup>	189.04 $\pm$ 25.23 <sup>#</sup>
第14天	22.31 $\pm$ 5.14 <sup>△</sup>	24.36 $\pm$ 8.23 <sup>△</sup>	33.95 $\pm$ 13.44 <sup>△</sup>	1065.28 $\pm$ 174.02	175.79 $\pm$ 55.03

注: \*:与首诊日比较,  $P < 0.05$ ; #:与第3天比较,  $P < 0.05$ ;  $\Delta$ :与第7天比较,  $P < 0.05$ 。

由表3可见, PDRP组患者的P-WBC、P-Neu、P-NGAL、P-IL-1 $\beta$ 、P-TNF- $\alpha$ 随时间变化趋势明显, 差异均有统计学意义( $F$ 分别=28.99、7.78、93.21、24.53、13.23,  $P$ 均 $< 0.05$ )。PDRP组经治疗后第3天P-WBC、P-Neu、P-NGAL明显低于首诊日( $t$ 分别=8.57、1.22、4.56,  $P$ 均 $< 0.05$ ), 第7天时PDRP组患者的P-

WBC、P-Neu、P-NGAL、P-IL-1 $\beta$ 、P-TNF- $\alpha$ 均低于第3天( $t$ 分别=12.14、1.88、5.97、2.01、1.13,  $P$ 均 $< 0.05$ ), 第14天时P-WBC、P-Neu、P-NGAL低于第7天, 差异均有统计学意义( $t$ 分别=11.71、1.63、4.89,  $P$ 均 $< 0.05$ )。

## 2.3 PDRP组治疗前后血生化指标变化见表4

表4 PDRP组治疗前后血生化指标变化

时间	S-WBC/ $\times 10^9/L$	S-Neu/%	S-NGAL/ng/ml	S-CRP/mg/L	S-IL-1 $\beta$ /pg/L	S-TNF- $\alpha$ /ng/L
首诊日	10.85 $\pm$ 5.16	77.28 $\pm$ 13.12	147.52 $\pm$ 81.97	62.19 $\pm$ 21.34	3188.34 $\pm$ 699.92	291.39 $\pm$ 158.89
第3天	9.68 $\pm$ 3.45	67.32 $\pm$ 10.01	83.07 $\pm$ 18.10*	52.60 $\pm$ 18.30	1775.30 $\pm$ 591.21	187.20 $\pm$ 98.03
第7天	6.54 $\pm$ 1.94 <sup>#</sup>	60.59 $\pm$ 2.67 <sup>#</sup>	46.12 $\pm$ 8.67 <sup>#</sup>	30.01 $\pm$ 13.33 <sup>#</sup>	1544.51 $\pm$ 601.20	177.33 $\pm$ 53.20
第14天	6.61 $\pm$ 2.15	60.66 $\pm$ 3.20	43.02 $\pm$ 5.43	27.91 $\pm$ 13.20	543.03 $\pm$ 405.20 <sup>△</sup>	89.50 $\pm$ 20.21 <sup>△</sup>

注: \*:与首诊日比较,  $P < 0.05$ ; #:与第3天比较,  $P < 0.05$ ;  $\Delta$ :与第7天比较,  $P < 0.05$ 。

由表4可见, PDRP组患者的S-WBC、S-Neu、S-NGAL、S-CRP、S-IL-1 $\beta$ 、S-TNF- $\alpha$ 随时间变化趋势明显, 差异均有统计学意义( $F$ 分别=11.29、6.27、31.52、13.27、45.81、9.23,  $P$ 均 $< 0.05$ )。PDRP组经治疗后第3天S-NGAL低于首诊日( $t=7.78$ ,  $P < 0.05$ ), 第7天时, PDRP组患者的S-WBC、S-Neu、S-NGAL和S-CRP也均低于第3天( $t$ 分别=4.72、5.58、6.21、3.32,  $P$ 均 $< 0.05$ ), 第14天时S-IL-1 $\beta$ 、S-TNF- $\alpha$ 明显低于第7天, 差异均有统计学意义( $t$ 分别=4.72、3.67,  $P$ 均 $< 0.05$ )。

2.4 生物标志物预测PDRP的ROC曲线比较 P-NGAL的AUC为0.88, 最佳截断值69.50 ng/ml, 诊断PDRP阳性的灵敏度为81.70%, 特异度为89.20%。S-NGAL的AUC为0.85, 最佳截断值50.40 ng/ml, 诊断PDRP阳性的灵敏度为85.21%, 特异度为85.52%。P-IL-1 $\beta$ 的AUC为0.83, 最佳截断值537.43 pg/L, 灵敏度70.14%, 特异度100.00%。S-CRP的AUC为0.76, 最佳截断值18.50 mg/L, 灵敏度80.02%, 特异度80.31%。

## 3 讨论

NGAL属于载脂蛋白超家族成员<sup>[3]</sup>, 由178个氨基酸构成, 分子量25 KDa。NGAL最初在中性粒细胞过氧化物酶阴性颗粒中发现, 此后发现, 在腹膜间皮细胞、肾小管上皮细胞、胃壁细胞等处均有表达。生理情况下, NGAL在体内低水平表达, 当遇到有害条件刺激时可数倍增加。

本次研究结果显示, PDRP组P-NGAL、S-NGAL明显高于非PDRP组, 经治疗, 第3天P-NGAL、S-NGAL较首诊日明显下降( $P$ 均 $< 0.05$ ), 提示NGAL是PDRP敏感的生物标志物。ROC曲线中, P-NGAL、S-NGAL的AUC分别为0.88、0.85, 最佳截断值分别为69.50 ng/ml、50.40 ng/ml, 而P-IL-1 $\beta$ 的AUC为0.83, S-CRP的AUC为0.76, 提示NGAL在诊断PDRP方面具有一定的临床价值。NGAL在PDRP患者中升高, 随着治疗有效而下降, 提示NGAL能很好预测PDRP, 可用来监测治疗, 这和国外学者观点一致。Axelsson等<sup>[4]</sup>发现急性腹膜炎患者的外周血NGAL、腹水NGAL均升高。Martino等<sup>[5]</sup>证实腹透

液 NGAL 与 PCT、CRP、腹透液白细胞具有正相关性。NGAL 参与了 PDRP 的炎症趋化和免疫应答,腹腔发生细菌感染时,中性粒细胞受炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等<sup>[6]</sup>趋化到达炎症部位,释放 NGAL 类抗微生物肽。细菌分泌的肠菌素通过儿茶酚芳环  $\pi$  电子-O-Fe<sup>3+</sup> 产生共轭作用形成稳定的 [Fe-Ent]<sup>3-</sup> 配位离子以摄取 Fe<sup>3+</sup>。NGAL 与 [Fe-Ent]<sup>3-</sup> 稳定结合,竞争细菌生长所需的铁,从而达到抑菌作用。

另外,在 PDRP 患者中观察到,第 7 天 P-IL-1 $\beta$ 、P-TNF- $\alpha$  较第 3 天明显下降,第 14 天 S-IL-1 $\beta$ 、S-TNF- $\alpha$  较第 7 天明显下降( $P$  均  $< 0.05$ )。事实上,炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  促进腹膜间皮细胞的上皮细胞-间质转型,即间皮细胞失去细胞极性,增加转移和侵袭力,从而修复细胞骨架结构,促进腹膜纤维化。NGAL mRNA 一方面受 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  调节<sup>[7]</sup>,一方面抑制 Ras - MAPK 通路<sup>[8]</sup>,抑制 Ras 诱导的 E-cadherin 的磷酸化和降解,使 E-cadherin 表达增加,抑制上皮细胞-间质转型进程。

综上所述,NGAL 是 PDRP 敏感的生物标志物,可用来诊断及评估治疗效果。然而,本次研究尚有局限性,由于样本量问题,未能将 PDRP 患者根据致病菌分组,无法评估 NGAL 在 G<sup>+</sup> 菌、G<sup>-</sup> 菌及培养阴性的 PDRP 患者中的差异,因此,还需要多中心、大样本的临床研究进一步验证。

#### 参考文献

1 Liakopoulos V, Nikitidou O, Kalathas T, et al. Peritoneal

dialysis-related infections recommendations: 2016 update. What is new? [J]. Int Urol Nephrol, 2017, 49(12): 2177-2184.

2 Klausen P, Niemann CU, Cowland JB, et al. On mouse and man: neutrophil gelatinase associated lipocalin is not involved in apoptosis or acute response [J]. Eur J Haematol, 2005, 75(4): 332-340.

3 Chakraborty S, Kaur S, Guha S, et al. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (ngal) in inflammation and cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1826(1): 129-169.

4 Axelsson L, Bergenfeldt M, Ohlsson K. Studies of the release and turnover of a human neutrophil lipocalin [J]. Scand J Clin Laboratory Invest, 1995, 55(7): 577-588.

5 Martino FK, Filippi I, Giavarina D, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the early diagnosis of peritonitis: the case of neutrophil gelatinase - associated lipocalin [J]. Contrib Nephrol, 2012, 178: 258-263.

6 Leung JC, Lam MF, Tang SC, et al. Roles of neutrophil gelatinase - associated lipocalin in continuous ambulatory peritoneal [J]. J Clin Immunol, 2009, 29(3): 365-378.

7 Mao S, Jiang T, Shang G. Increased expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin receptor by interleukin-1 $\beta$  in human mesangial cells via MAPK/ ERK activation [J]. Int J Mol Med, 2011, 27(4): 555-560.

8 Hanai J, Mammoto T, Seth P. lipocalin diminishes invasiveness and metastasis of ras-transformed cells [J]. J Biol Chem, 2005, 280(14): 13641-13647.

(收稿日期 2018-06-09)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第 515 页)

8 叶波, 赵珩. 第八版国际肺癌 TNM 分期修订稿解读 [S]. 中国肺癌杂志, 2016, 19(6): 337-342.

9 谢双华, 王刚, 郭兰伟, 等. 腰围与男性肺癌发病关系的前瞻性队列研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(2): 137-141.

10 苏建华, 车国卫. 肺癌患者术前肺功能评定的现状与进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(7): 301-305.

11 Nwajei F, Becerenbraun F, Gabrusiewicz K, et al. Organ specificity of cancer metastasis depends on the adaptive immune surveillance and the neuronal chemokine fractalkine (TUM10P.1030) [J]. J Immunol, 2015, 194(1): 211.

12 王菀菀, 孙俊宁, 操珍, 等. 肺癌患者血清趋化因子的表达水平及临床意义 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2016, 43(2): 215-

218.

13 Zuccari DA, Leonel C, Castro R, et al. An immunohistochemical study of interleukin-8 (IL-8) in breast cancer [J]. Acta Histochem, 2012, 114(6): 571-576.

14 王菀菀, 钟春生, 孙俊宁等. 肺癌患者血清中 21 种细胞因子的表达水平及其临床意义 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(6): 650-655.

15 Iwata T, Tanaka K, Inoue Y, et al. Macrophage inflammatory protein-3 alpha (MIP-3a) is a novel serum prognostic marker in patients with colorectal cancer [J]. J Surg Oncol, 2013, 107(2): 160-166.

(收稿日期 2018-02-27)

(本文编辑 蔡华波)