

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.13.008

文章编号: 1005-8982 (2019) 13-0041-05

先天性肾积水患儿尿水通道蛋白-1、 内皮素-1表达水平及临床意义

曹戎, 周云, 严向明, 张婷, 付明翠, 夏红亮, 戴澍

(苏州大学附属儿童医院 泌尿外科, 江苏 苏州 215000)

摘要: **目的** 分析先天性肾积水患儿尿水通道蛋白(AQP-1)及内皮素-1(ET-1)的表达水平, 并探索其临床意义。**方法** 选取40例先天性肾积水患儿作为实验组, 并根据肾积水严重程度分为轻、中、重度积水。另选无泌尿系疾患儿童40例作为对照组。收集实验组术前晨尿、术中肾盂尿和术后第7天晨尿, 以及对照组晨尿。测定实验组及对照组尿液AQP-1及ET-1表达水平, 并进行尿AQP-1、ET-1水平的组间比较, 及实验组术前、术中、术后尿AQP-1水平的组内比较。**结果** 轻度肾积水患儿尿AQP-1水平与对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 中度、重度肾积水患儿尿AQP-1水平则低于对照组($P < 0.05$); 实验组患儿术中尿AQP-1水平低于术前水平($P < 0.05$); 术后尿AQP-1水平高于术前水平($P < 0.05$); 先天性肾积水患儿尿ET-1阳性率高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 尿AQP-1及ET-1水平可作为先天性肾积水患儿的辅助诊断指标。尿AQP-1水平还可作为肾积水患儿术后恢复的监测指标。

关键词: 先天性肾积水 / 肾疾病; 水通道蛋白-1; 内皮素-1; 尿

中图分类号: R725.7

文献标识码: A

Clinical significance of urinary AQP-1 and ET-1 in children with congenital hydronephrosis

Xu Cao, Yun Zhou, Xiang-ming Yan, Ting Zhang, Ming-cui Fu, Hong-liang Xia, Shu Dai

(Department of Urology, Children's Hospital of Soochow University,
Suzhou, Jiangsu 215000, China)

Abstract: **Objective** To investigate clinical significance of urine aquaporin-1 (AQP-1) and ET-1 (endothelin-1) in children with congenital hydronephrosis. **Methods** A total of 40 cases of children with congenital hydronephrosis and 40 healthy children were selected as observation group and control group, respectively. Patients were subgrouped into mild, moderate and severe group based on severity of the disease. Pre-operative morning urine, intra-operative renal pelvis urine and morning urine at the 7th day after the operation were collected for the detection of ET-1, and AQP1. **Results** There was no significant difference in AQP-1 between mild group and control group ($P > 0.05$). Obvious increase of AQP-1 was witnessed in moderate and severe group when compared with control group. In the observation group, intraoperative levels of AQP-1 was lowered while postoperative levels of AQP-1 was increased significantly compared with pre-operation ($P < 0.05$). Urine positive rate of ET-1 in observation group were significantly higher than that in control group ($P < 0.05$). **Conclusions** AQP-1 and ET-1 may be diagnostic and prognostic markers in children with hydronephrosis.

Keywords: congenital hydronephrosis/kidney diseases; AQP-1; ET-1; urine

收稿日期: 2018-12-09

先天性肾积水是小儿泌尿外科常见疾病,发病率为 1% ~ 2%。肾盂输尿管连接部狭窄、膀胱输尿管反流、后尿道瓣膜病、输尿管狭窄及输尿管囊肿是其常见病因,如不及时治疗常导致终末期肾衰竭^[1-2]。肾小球血流动力学的改变及肾小管功能的变化是先天性肾积水的病理生理学因素。现已知积水肾脏早期的功能变化为浓缩功能受损^[3-4],但其发生机制尚不完全明确。水通道蛋白-1 (Aquaporin-1, AQP-1) 是一种参与水分子转运的特异性通道蛋白,主要分布于近曲小管的顶膜和基底膜。AQP-1 的缺失或表达下降将导致髓袢降支细段水通透性的降低,从而影响肾脏的浓缩功能。LI 等^[5]的动物实验表明,缺失 AQP-1 的小鼠多表现为中度多尿,且尿渗透压降低至正常的 1/10。因此,AQP-1 在肾脏浓缩功能方面发挥着重要作用^[6]。由于 AQP-1 亦可由肾小管上皮细胞分泌,存在于尿中。且动物模型已证实,梗阻肾脏肾盂中尿 AQP-1 的表达水平会降低。因此,尿 AQP-1 水平可能与积水肾脏的功能变化密切相关。本研究旨在通过对积水患儿手术前后尿 AQP-1 表达情况的研究,获得相应的临床线索。

内皮素-1 (Endothelin-1, ET-1) 是一种在多种细胞中均能合成的多肽,在不同组织发挥不同的生物学作用。在肾脏中,ET-1 可促使肾动脉及肾小球系膜细胞收缩,减少肾小球滤过面积,降低肾血流量及肾小球滤过率^[7]。ALALEH 等^[8]、LOPES 等^[9]的动物实验表明,随着梗阻时间延长,梗阻侧肾盂尿 ET-1 含量较对照组增加,梗阻侧肾组织中的 ET-1 蛋白含量也较正常对照组升高,而对侧肾脏组织及尿 ET-1 的变化并不明显。提示 ET-1 主要是在梗阻侧肾脏合成的。因此,与 AQP-1 类似,尿 ET-1 水平可能与积水肾的损害程度及术后恢复情况相关。国内外有这方面报道,本文希望探讨尿 ET-1 表达水平与先天性肾积水患儿的临床相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本文为前瞻性研究,选取 2017 年 1 月—2018 年 1 月于苏州大学附属儿童医院泌尿外科就诊的 40 例先天性肾积水患儿作为实验组。所有患儿在术前完成超声、静脉肾盂造影 (IVP)、膀胱造影、ECT、泌尿系 CT 等影像学检查,以明确肾积水诊断及病因,并评估积水程度。肾积水的诊断及分度依据 HALBGEWACHS 等^[10]、SHARIFIAN 等^[11]、SFU 分级法^[12]提出的标准进

行 (见表 1、2)。另选 40 例于本院就诊的患儿作为对照组,该患儿无泌尿系统疾患。对照组排除标准为:①严重的心脏、肝脏疾患;②肾功能异常;③泌尿系疾患;④自身免疫性疾病;⑤恶性肿瘤。

表 1 肾积水诊断标准及分度

肾积水分度	肾盂横断面前后径 (APD)
轻度	≤ 9 mm
中度	>9 ~ 15 mm
重度	>15 mm

注: B 超下 APD ≥ 5 mm 即可诊断为小儿肾积水

表 2 SFU 分级

分级	定义
I (轻度)	肾盂分离
II (中度)	肾盂明显扩张,伴少数肾盏扩张
III (中度)	肾盂明显扩张,伴多个肾盏扩张
IV (重度)	肾盂肾盏明显扩张,伴肾皮质变薄

1.2 一般资料

实验组患儿 40 例。男性 26 例,女性 14 例;平均年龄 (28.05 ± 5.46) 个月。30 例患儿的病变区域位于左侧,7 例位于右侧,3 例为双侧。当诊断标准发生冲突时,以评级较高的诊断标准定级。实验组轻度积水 11 例、中度积水 15 例,重度积水 14 例。病因分析:30 例 (30%) 为肾盂输尿管连接部狭窄 (uretero-pelvic junction obstruction, UPJO), 10 例 (10%) 为膀胱输尿管连接处梗阻 (uretero-bladder junction obstruction, UVJO)。30 例 UPJO 患儿均行肾盂成形术并保留双“J”管和导尿管;10 例 UVJO 患儿均行输尿管膀胱再植术并保留导尿管。对照组患儿 40 例。男性 17 例,女性 23 例;平均年龄 (29.14 ± 6.27) 个月。

1.3 标本采集

收集实验组患儿术前晨尿、术中肾盂尿及术后 7 d 尿。对照组则仅收集晨尿。所有患儿每日补液量约 100 ml/kg,且晚上 10 : 00 ~ 晨 7 : 00 不饮水及补液。将所收集的尿标本在室温下按 3 000 r/min 离心 20 min,真空冷冻干燥机对尿标本进行 20 : 1 浓缩,贮存于 -80℃ 冰箱冷冻保存待测。

1.4 尿 AQP-1 及 ET-1 浓度的检测

尿 AQP-1 及 ET-1 浓度检测采用美国 RB 公司的人 AQP-1、ET-1 ELISA 试剂盒,并严格按照产品说明

书进行测定。

本实验采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法, 用人抗 AQP-1、ET-1 单抗包被于酶标板上, 标准品和样品中的 AQP-1、ET-1 与单抗结合, 加入生物素化的人抗 AQP-1、ET-1 形成免疫复合物连接在板上, 辣根过氧化酶标记的 Stre Ptavidin 与生物素结合, 加入底物工作液显蓝色, 最后加终止液硫酸, 在 450 nm 处测 OD 值, AQP-1、ET-1 浓度与 OD 值成正比, 可通过绘制标准曲线求出标本中 AQP-1、ET-1 浓度。

1.5 实验流程及观测指标

①测量实验组不同肾积水程度下尿 AQP-1 的浓度, 与对照组进行比较; ②测量实验组在术前、术中及术后尿 AQP-1 的浓度, 比较 3 个时期尿 AQP-1 的浓度变化; ③测量实验组及对照组尿 ET-1 的浓度及阳性率, 进行组间比较; ④测量实验组术前、术后的血清应激指标, 组内比较。血清应激指标包括: 血清肾上腺素浓度、血糖、皮质醇、白细胞介素 -6(Interleukin-6) 及 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)。

1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两两比较采用 *t* 检验, 多组之间的比较采用完全随机设计及随机区组设计的方差分析, 在其有统计学意义的基础上两两比较用 SNK-*q* 检验。计数资料以率 (%) 表示, 比较做 χ^2 检验分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同肾积水程度下患儿尿 AQP-1 浓度比较

实验组轻、中、重度先天性肾积水患儿尿 AQP-1 浓度分别为 (40.0 ± 2.9)、(36.1 ± 4.9) 及 (31.3 ± 3.4) ng/L。对照组患儿尿 AQP-1 浓度为 (41.1 ± 3.5) ng/L。4 组尿 AQP-1 浓度比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (*F* = 103.143, *P* = 0.000); 轻度肾积水患儿尿 AQP-1 浓度与对照组比较, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 中度肾积水患儿尿 AQP-1 浓度与对照组比较降低

(*P* < 0.05), 重度肾积水患儿尿 AQP-1 浓度与对照组比较降低 (*P* < 0.05)。

2.2 手术前后患儿尿 AQP-1 浓度比较

实验组患儿术前、术中、术后尿 AQP-1 浓度分别为 (33.5 ± 4.7)、(24.9 ± 4.0) 及 (35.2 ± 4.5) ng/L, 比较采用随机区组设计的方差分析, 结果: 实验组术前、术中、术后不同时期患儿尿 AQP-1 浓度比较, 差异有统计学意义 (*F* = 50.741, *P* = 0.025); 实验组术中尿 AQP-1 浓度比术前尿 AQP-1 浓度降低 (*P* < 0.05), 术后尿 AQP-1 浓度比术中尿 AQP-1 浓度升高 (*P* < 0.05); 实验组患儿术后尿 AQP-1 浓度与对照组 (41.1 ± 3.5) ng/L 比较, 差异有统计学意义 (*t* = 4.252, *P* = 0.000)。

2.3 两组患儿尿 ET-1 浓度及阳性率比较

当尿 ET-1 浓度 ≥ 845.00 pg/mmol Cr (pg/mmol Cr 是指经尿肌酐校正过的尿检测结果) 时, 可认定尿中 ET-1 阳性。尿 ET-1 浓度实验组术前为 (2 034.41 ± 892.14) pg/mmol Cr, 阳性率为 77.50%, 阴性率为 22.50%。对照组的浓度为 (568.20 ± 212.35) pg/mmol Cr, 阳性率为 10.00%, 阴性率为 90.00%。两组比较, 尿 ET-1 浓度差异有统计学意义。见表 3。

2.4 两组患儿血清应激指标的变化

两组患儿术前血清应激指标比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05) (见表 4); 实验组患儿术后肾上腺素、血糖、IL-6 术后均高于术前 (*P* < 0.05); 而皮质醇、CRP 术后水平与术前水平差异无统计学意义 (*P* > 0.05) (见表 5)。

表 3 两组患儿尿液 ET-1 浓度及阳性率的比较 (n = 40)

组别	阳性 例 (%)	尿 ET-1 浓度 / (pg/mmol Cr, $\bar{x} \pm s$)
实验组	31 (77.50)	2 034.41 ± 892.14
对照组	4 (10.00)	568.20 ± 212.35
χ^2/t 值	48.672	37.031
<i>P</i> 值	0.004	0.004

表 4 实验组术前与对照组血清应激指标的比较 (n = 40, $\bar{x} \pm s$)

组别	肾上腺素 / (ng/ml)	血糖 / (mmol/L)	皮质醇 / (ng/ml)	IL-6 / (pg/ml)	CRP / (mg/L)
实验组	0.17 ± 0.05	4.59 ± 0.35	230.95 ± 18.55	12.43 ± 2.44	12.19 ± 2.38
对照组	0.17 ± 0.04	4.60 ± 0.35	231.06 ± 18.65	12.44 ± 2.40	12.18 ± 2.40
<i>t</i> 值	9.632	12.418	10.911	9.841	10.724
<i>P</i> 值	0.841	0.627	0.735	0.816	0.794

表 5 实验组术后与对照组血清应激指标的比较 ($n=40, \bar{x} \pm s$)

组别	肾上腺素 / (ng/ml)	血糖 / (mmol/L)	皮质醇 / (ng/ml)	IL-6 / (pg/ml)	CRP / (mg/L)
实验组	0.27 ± 0.05	5.90 ± 0.41	256.35 ± 20.08	16.80 ± 2.52	15.47 ± 2.61
对照组	0.17 ± 0.04	4.60 ± 0.35	231.06 ± 18.65	12.44 ± 2.40	12.18 ± 2.40
<i>t</i> 值	36.542	42.715	31.139	47.385	27.703
<i>P</i> 值	0.037	0.045	0.057	0.043	0.162

3 讨论

AQP-1 最初由 AGRE 等在红细胞及肾小管上皮细胞膜上发现^[13], 随后又陆续从动物组织中鉴定出 9 种水通道蛋白, 即 AQP-2 至 AQP-10。不同亚型的 AQP 分布于不同组织的细胞膜上, 并与分子转运、水电解质平衡、腺体分泌等功能相关。AQP-1 至 AQP-4 是参与肾脏重吸收及浓缩功能的重要通道蛋白, 其中又以 AQP-1 的功能最为关键。近曲小管是肾脏重吸收的主要功能部位, AQP-1 主要分布于近曲小管顶膜和基底膜, 在髓襻降支细段与逆流倍增机制中发挥关键性作用。正常成年人每日肾小球滤过率约 180 L, 90% 通过近曲小管的 AQP-1 完成转运。WANG 等^[14]通过单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 大鼠模型发现: 当梗阻发生时, 肾脏 AQP-1 的表达明显下调, 肾脏浓缩功能在梗阻早期即受到影响。ZELENINA 等^[15]分析解除梗阻后肾脏 AQP-1 表达的变化情况, 发现当梗阻解除后的 2 d, AQP-1 的表达开始恢复, 在梗阻解除后的 7 d 可有恢复, 而在梗阻解除的 21 d, AQP-1 的表达可基本恢复至原水平。以上研究都反映出 AQP-1 的表达与肾积水的病理生理变化密切相关。

本研究中, 实验组患儿尿 ET-1 阳性率及浓度均高于对照组。提示尿 ET-1 表达水平可作为先天性肾积水患儿的辅助诊断指标。TOPCU 等^[16]曾测定单侧 UPJO 患儿尿中 ET-1 水平。研究显示, 当将诊断标准设为 3 fmol/mg.Cr 时, 通过尿 ET-1 水平诊断肾积水的敏感性为 74.3%, 特异性为 90%, 整体精度为 81.5%。此外, 该患儿尿 ET-1 水平在肾盂成形术后 12 个月显著降低。TATA 认为尿 ET-1 不仅可以作为诊断先天性肾积水的辅助诊断指标, 还可作为术后恢复的监测指标。需要注意的是, TATA 等在研究中仅检测了术后 1 年患儿尿 ET-1 水平, 尿 ET-1 水平究竟在梗阻解除后早期 (12 周), 还是在中晚期 (>12 周) 时恢复, 不得而知。此外, 由于 ET-1 与肾小球动脉硬化、肾间质

纤维化密切相关, 而肾脏在梗阻发生后的早期并不表现出纤维化等改变, 尿 ET-1 可能不宜作为积水肾脏的早期损伤指标, 这可能会影响到 ET-1 对肾积水的诊断效率。类似的, 当梗阻解除后, 肾纤维化、肾小球硬化的恢复亦是缓慢的过程, 尿 ET-1 作为肾积水术后恢复的监测指标可能缺乏敏感性。综上所述, 尿 ET-1 的表达水平与肾积水的病理生理变化密切相关, 但其作为肾积水诊断指标及术后恢复监测指标的敏感性, 可能不如 AQP-1, 需进一步临床试验加以分析研究。

综上所述, 尿 AQP-1 及 ET-1 水平可作为先天性肾积水患儿的辅助诊断指标。此外, 尿 AQP-1 还可作为肾积水患儿术后恢复的监测指标。

参考文献:

- [1] CHUNG S H, JUN D W, KIM K T, et al. Aquaporin-2 urinary excretion in cirrhosis: relationship to vasopressin and nitric oxide[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2010, 55(4): 1135-1141.
- [2] CHEVALIER R L. Chronic partial ureteral obstruction and the developing kidney[J]. Pediatric radiology, 2008, 38(1): 35-40.
- [3] ISHIBASHI K, HARA S, KONDO S. Aquaporin water channels in mammals[J]. Clinical and Experimental Nephrology, 2009, 13(2): 107-117.
- [4] RAO P K, PALMER J S. Prenatal and postnatal management of hydronephrosis[J]. Scientific World Journal, 2014, 9(1): 606-614.
- [5] LI H, FAN J F, LI R, et al. Molecular dynamics studies on the influences of a gradient electric field on the water chain in a peptide nanotube[J]. Journal of Molecular Modeling, 2014, 20(8): 1-11.
- [6] CHEVALIER R L, THORNHILL B A, FORBES M S, et al. Mechanisms of renal injury and progression of renal disease in congenital obstructive nephropathy[J]. Pediatric nephrology, 2010, 25(4): 687-697.
- [7] LIAO S B, WONG P F, CHEUNG B M Y, et al. Effects of adrenomedullin on tumour necrosis factor alpha, interleukins, endothelin-1, leptin, and adiponectin in the epididymal fat and soleus muscle of the rat[J]. Hormone & Metabolic Research, 2013, 45(1): 31-37.
- [8] ALALEH G, MEHDI N, MOHAMMAD A S S, et al. Glomerular

- filtration rate and urine osmolality in unilateral ureteropelvic junction obstruction[J]. *Advanced Biomedical Research*, 2013, 2(1): 78.
- [9] LOPES R I, DÉNES F T, BARTOLAMEI M G, et al. Serum and urinary values of CA 19-9 and TGF- β_1 in a rat model of partial or complete ureteral obstruction[J]. *European Journal of Pediatric Surgery*, 2015, 25(06): 513-519.
- [10] HALBGEWACHS C, DOMES T. Postobstructive diuresis: Pay close attention to urinary retention[J]. *Canadian Family Physician Medecin De Famille Canadien*, 2015, 61(2): 137-142.
- [11] SHARIFIAN M, ESFANDIAR N, MOHKAM M, et al. Diagnostic accuracy of renal pelvic dilatation in determining outcome of congenital hydronephrosis[J]. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 2014, 8(5): 427.
- [12] SWENSON D W, DARGE K, ZINIEL S I, et al. Characterizing upper urinary tract dilation on ultrasound: a survey of North American pediatric radiologists' practices[J]. *Pediatric Radiology*, 2015, 45(5): 686-694.
- [13] BENGGA G. Birth of water channel proteins-the aquaporins[J]. *Cell biology international*, 2003, 27(9): 701-709.
- [14] WANG C, WANG H, WANG M. Significance of expression of urine aquaporin 1 in children with congenital hydronephrosis[J]. *Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2012, 27(11): 17.
- [15] ZELENINA M, LI Y, GLORIEUX I, et al. Urinary aquaporin-2 excretion during early human development[J]. *Pediatric Nephrology*, 2006, 21(7): 947-952.
- [16] TOPCU S O, NORREGAARD R, PEDERSEN M, et al. Regulation of aquaporins and sodium transporter proteins in the solitary kidney in response to partial ureteral obstruction in neonatal rats[J]. *Urologia Internationalis*, 2011, 87(1): 94-104.

(王荣兵 编辑)