

慢性肾病贫血患者血清 NGAL 水平 与缺铁状态的临床相关研究*

王 尉¹, 高志琪² (1. 首都医科大学附属北京地坛医院输血科, 北京 100015;
2. 首都医科大学附属北京朝阳医院检验科, 北京 100020)

摘要:目的 研究慢性肾脏疾病(CKD)贫血患者血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)水平与 CKD 患者缺铁状态的临床关系。方法 筛选 154 例 CKD 患者,分为贫血组和非贫血组,比较血清铁状态指标、红细胞参数、NGAL 等的水平;CKD 贫血患者中,按转铁蛋白饱和度(TSAT)分组,进行单变量相关性和多元回归分析,以及 ROC 曲线分析,评估和比较 CKD 患者中血清 NGAL、铁蛋白(Fer)、促红细胞生成素(EPO)和转铁蛋白受体(Tfr)的临床诊断潜力。结果 CKD 贫血患者血清 NGAL 水平明显高于无贫血的 CKD 患者(192.5 ± 65.5 ng/ml vs 256.9 ± 130.4 ng/ml, $t=3.2$, $P<0.01$);在单变量分析中,血清 NGAL 与血红蛋白(Hb)、血细胞比积(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)、血清铁(Fe)、TSAT 相关系数分别为 -0.36 , -0.32 , -0.26 , -0.31 , -0.38 和 -0.3 。ROC 曲线分析中,血清 NGAL 水平与 CKD 贫血患者缺铁状态的曲线下面积(AUC)为 0.713,灵敏度为 58.6%(95%CI 为 36.9~76.6),特异度为 74.7%(95%CI 为 64.0~83.6)。结论 CKD 缺铁性贫血患者中,血清 NGAL 水平有可能成为评估缺铁状态和疗效的新指标。

关键词:中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;慢性肾脏疾病;贫血;铁状态

中图分类号:R556.3;R446.112 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2017)03-119-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.03.032

Clinical Study on NGAL and Iron Status in Patients with Chronic Renal Anemia

WANG Wei¹, GAO Zhi-qi²

(1. Department of Blood Transfusion, Beijing Ditan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100015, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100020, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the association between the NGAL and the chronic kidney disease (CKD) patients with iron status, which was occurred iron scarcity for CKD patient in clinical. **Methods** 154 CKD patients were included in this study. Serum neutrophil gelatinase-related lipid transport protein (NGAL) were detected in anemia group and non-anemia group of chronic kidney disease. The NGAL, univariate correlation and multivariate regression analysis, as well as ROC curve analysis, were used to assess and compared the diagnostic potential of NGAL, ferritin, EPO and Tfr (transferrin receptor) in CKD patients after analyzing the patient's iron status. **Results** NGAL levels were markedly higher in CKD patients with anemia than CKD patients without anemia. In the analysis, NGAL was inverse correlated with hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, serum iron and TSAT (correlation relation was -0.36 , -0.32 , -0.26 , -0.31 , -0.38 , -0.3 , respectively). ROC analysis was employed to assess and compare the diagnostic potentials of the NGAL, ferritin, EPO, and Tfr (transferrin receptor) in identifying this condition among CKD patients. The NGAL showed that the area under the curve of iron deficiency in CKD patients (AUC) was 0.713, with good sensitivity and specificity (58.6% vs 74.7%). **Conclusion** NGAL might be proposed as a new tool in the assessment of iron deficiency and in the management of iron therapy for CKD patients.

Keywords: NGAL; chronic kidney disease; anemia; iron status

慢性肾脏疾病(CKD)表现为肾功能逐渐减退,我国成年人肾病患者数量接近1.2亿^[1]。CKD的常见并发症是由于红细胞生成素不足、铁吸收或动员不足导致的贫血,评估缺铁状态是CKD患者缺铁性贫血管理的重要手段^[2,3]。骨髓铁染色被认为是评估铁状态的最佳指标,但此方法采样具有侵

人性,易造成活检部位出血、感染^[4]。美国肾病基金会指南(K/DOQI)建议检测缺铁状态指标来评估缺铁贫血对CKD的影响,但CKD患者缺铁状态的实验室指标存在缺陷^[5]。例如,血清铁蛋白在炎症、营养不良和感染时都会发生变化,不能真实反映贮存铁水平^[6]。

* 作者简介:王 尉(1980—),女,本科学历,中级职称,研究方向为临床检验诊断及标准化,E-mail:kelly.wangwei@hotmail.com。

高志琪(1965—),女,本科学历,中级职称,研究方向为临床检验,E-mail:zhiqigao@hotmail.com。

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)是一种 25 kDa 小分子蛋白,含有铁的小疏水分子^[7],被用作急性肾损伤和慢性肾脏损伤的生物标志物,也是CKD进展的预测指标^[8]。然而,临床上对缺铁性贫血CKD患者的血清NGAL水平研究较少。本文旨在研究在肾功能不全时血清NGAL水平与缺铁状态的关系,判断血清NGAL与CKD患者缺铁状态的临床相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2015年10月~2016年12月期间医院肾脏科CKD患者标本。筛选154例诊断CKD的18岁以上成年患者。排除以往3个月内患有心血管疾病(冠状动脉疾病、心肌缺血、脑血管疾病或外周动脉疾病)、恶性肿瘤、肝、甲状腺或感染性疾病、器官移植、免疫抑制治疗和妊娠的患者。

空腹抽取静脉血,EDTA-Na₂抗凝管标本用于血常规的检测,促凝管标本于1 500 g和4℃离心10 min,取上清用于生化项目的检测使用。检测项目包括血清NGAL、血清铁、血清铁蛋白、总铁结合能力(TIBC)、尿素、肌酐、尿酸、血清电解质、清蛋白、血红蛋白、蛋白尿和纤维蛋白原等生化项目。

1.2 仪器和试剂 测量使用Cobas c501全自动生化分析仪(Roche, Mannheim, Germany)颗粒增强比浊测定法。试剂:血清NGAL水平检测采用九强生物技术有限公司(北京,中国)试剂盒。血清

铁(DxC800 Beckman-Coulter, ferrozine, 560 nm),铁蛋白(BN-Siemens, 胶乳铁蛋白免疫比浊法)和转铁蛋白(BN-Siemens, 抗人转铁蛋白免疫比浊法)。内源性EPO和转铁蛋白受体水平采用双抗体夹心ELISA方法(Usen Life Science, Inc 武汉,湖北),血清中铁调素采用竞争性抑制ELISA方法检测。

1.3 方法 计算公式, TIBC(总铁结合能力, mmol/L) = 25 × 转铁蛋白(g/L), TSAT(%) = 血清铁 × 100 / TIBC。使用Lipschitz的铁指数^[9]对TSAT和铁蛋白的铁状态进行定义:正常, TSAT ≥ 20%;绝对缺铁, TSAT < 20%, 铁蛋白 < 40 ng/ml;功能缺铁, TSAT < 20%, 铁蛋白 ≥ 40 ng/ml。

1.4 统计学分析 用SPSS15.0软件进行统计学分析。数据以适当的平均值(\bar{x})或中位数(25~75百分位数)表示。在非正态分布变量的情况下,使用方差分析,非配对 t 检验。使用ROC曲线下面积(AUC)判断NGAL的临床诊断能力。

2 结果

2.1 CKD患者贫血与非贫血组参数比较 见表1。CKD患者分为贫血组和非贫血组,分组标准参考有关文献^[2]。CKD非贫血患者平均年龄为43.7 ± 12.8岁,贫血组为50 ± 15.8岁。贫血CKD组血液主要血红蛋白、血清铁、TSAT参数均显著降低,贫血患者CKD组NGAL水平高于非贫血患者CKD,差异有统计学意义($t=3.2, P<0.01$)。

表1 CKD患者贫血组与非贫血组临床与实验室指标比较

参数	非贫血CKD组(n=71)	贫血CKD组(n=83)	t	P
Gender(M/F)	40/31	47/36	1.3	0.06
Age(years)	53.7 ± 12.8	50 ± 15.8	1.4	0.054
NGAL(ng/ml)	192.5 ± 65.5	256.9 ± 130.4	3.2	<0.01
EPO(pg/ml)	3.8 ± 2.3	4.7 ± 2.6	2.5	0.03
TFR(ng/ml)	2.4 ± 1.4	2.2 ± 1.3	1.6	0.33
Hemoglobin(g/L)	140.3 ± 11.9	104.1 ± 13.4	3.6	<0.01
hematocrit(%)	0.41 ± 0.03	0.31 ± 0.04	4.2	<0.01
MCV(fl)	90 ± 4.1	90.6 ± 5.9	1.2	0.37
MCH(pg)	30.5 ± 1.6	30.1 ± 2.0	1.7	0.12
MCHC(g/L)	339.0 ± 9.6	320.5 ± 12.2	3.5	<0.01
RDW(%)	12.7 ± 0.8	13.6 ± 1.6	3.8	<0.01
WBC(×10 ⁹ /L)	8.12 ± 3.09	7.70 ± 3.19	1.2	0.36
Serum iron(μmol/L)	15.7 ± 5.8	12.3 ± 5.4	3.5	<0.01
Serum ferritin(mg/dl)	219.5 ± 130.4	280.5 ± 150.2	1.4	0.04
Transferrin(mg/dl)	183.8 ± 53.2	176.2 ± 48.2	1.1	0.32
TSAT(%)	38.1 ± 13.6	30.1 ± 14.2	3.8	<0.01

2.2 CKD贫血患者缺铁状态比较 见表2。有 23例(27.7%)属于低 TSAT 组,其余 60例(72.3%)呈现良好的铁状态(TSAT>20%)。

表2 根据 TSAT 分组 CKD 贫血患者临床与实验室参数比较

参数	TSAT<20%	TSAT>20%	t	P
Gender(M/F)	10/13	24/36	3.28	0.002
Age(years)	47.2±11.8	52±15.8	1.5	0.07
NGAL(ng/ml)	292.5±133.4	216.3±95.3	2.9	0.04
EPO(pg/ml)	4.2±3.3	4.0±2.6	0.21	0.15
TfR(ng/ml)	2.2±1.3	1.7±1.3	1.34	0.74
Hemoglobin(g/L)	101.0±14.5	107.9±11.3	1.6	0.046
hematocrit(%)	0.30±0.04	0.32±0.03	1.1	0.12
MCV(fl)	89±4.1	92±5.1	2.3	0.6
MCH(pg)	29±2.0	30.7±1.7	3.7	0.15
MCHC(g/L)	326.0±9.3	333.9±12.1	2.8	0.12
RDW(%)	13.8±1.2	13.5±1.3	1.2	0.85
WBC(×10 ⁹ /L)	7.04±1.76	6.37±1.83	1.5	0.53
Serum iron(μmol/L)	7.6±2.0	14.9±5.9	5.7	0.01
Serum ferritin(mg/dl)	222.9±116.0	306.7±160.2	1.3	0.001
Transferrin(mg/dl)	218.0±46.0	176.6±42.1	3.9	0.25
TSAT(%)	14.5±3.78	34.8±13.9	6.9	0.001

2.3 单因素与多因素分析 见表3。在单变量因素分析中,血清 NGAL 与血红蛋白、血细胞比容、MCV,MCH,血清铁和 TSAT 等呈负相关。血清 NGAL 与其他临床和实验室参数如年龄、性别、EPO, TfR, MCHC, RDW, WBC, 铁蛋白和转铁蛋白之间无明显相关性(P>0.08)。

表3 血清 NGAL 在 CKD 贫血患者中的单因素与多因素分析

参数	r	β	P
EPO	0.175	0.146	0.147
Transferrin receptor	0.179	0.243	0.018
Hemoglobin	-0.251	-0.237	0.024
Red distribution width	0.137	0.147	0.15
Serum iron	-0.38	-0.26	0.014

2.4 ROC 曲线分析 CKD 患者中 NGAL, 铁蛋白(Fer), EPO 和 TfR(转铁蛋白受体)ROC 曲线, 见图1。曲线下面积比较, 见表4。

表4 NGAL, Fer, EPO 和 TfR 曲线下面积比较

参数	AUC	95%CI
NGAL	0.713	0.618~0.796
EPO	0.497	0.400~0.594
Fer	0.573	0.474~0.667
TfR	0.501	0.404~0.599

铁缺乏的最佳 NGAL 临界值为>244.8 ng/ml, 灵敏度为 58.6%(95%CI 为 36.9~76.6), 特异度为 74.7%(95%CI 为 64.0~83.6)。NGAL 与 EPO 和 TfR 比较差异均有统计学意义(P=0.003, 0.024)。NGAL 和铁蛋白差异无统计学意义(P=0.15)。

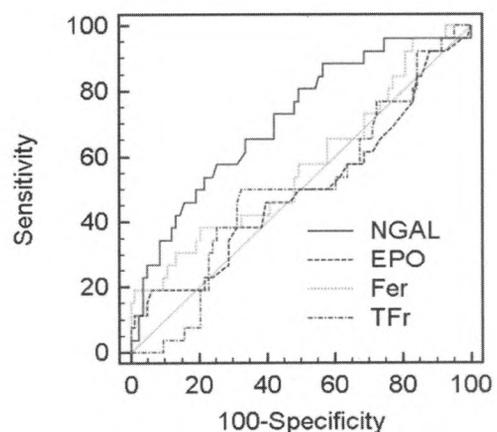


图1 CKD 患者与 NGAL, 铁蛋白, EPO 和 TfR 的 ROC 曲线

3 讨论 普遍认为血清 NGAL 是疾病急性期因素, 几乎每个受伤的组织都可以释放, 通常成为疾病严重程度的标志物^[9]。高水平的血清 NGAL 水平可能在 CKD 相关贫血的发生、恶化中起重要作用^[10~12]。近来, 血清 NGAL 已经成为铁稳态和红

细胞生长调节的重要因素,在长期升高时可能导致贫血^[13]。在本研究中,我们报告了血清 NGAL 水平与贫血指标之间存在的关联。

在临床上,使用骨髓铁染色直接量化铁存储的能力有实际使用局限性。铁蛋白和 TSAT 的血清水平通常用于评估存储铁。一般来说,血清铁蛋白被认为是铁的标记物,TSAT 是反映可用于运输到骨髓的红细胞生成铁的指标^[14]。在本研究中,我们采用了铁缺乏症的测量指标。例如,低血红蛋白浓度(代表红细胞中血红蛋白的相对缺乏),红细胞分布宽度(代表红细胞生成情况)。

在比较 CKD 患者贫血组与非贫血组参数变化后,我们也进行 NGAL 水平与 CKD 患者缺铁状态的相关分析,本研究结果显示,CKD 贫血患者与无贫血患者血清 NGAL 水平显著相关。在 CKD 患者中,铁缺乏已经成为贫血的常见原因。为了将全身性铁转运到肾小管细胞以支持细胞增殖和预防细胞凋亡,血清 NGAL 水平升高可能暂时导致缺铁性贫血。在动物模型中,血清 NGAL 已经被证明能够从铁蛋白中除铁,并将铁从肝脏和脾脏重新定向到肾脏的近端小管^[13]。

本研究发现血清 NGAL 水平与贫血和铁储存的主要实验室参考指标、转铁蛋白受体、血红蛋白和血清铁相关,血清 NGAL 直接参与铁平衡。与 TSAT > 20% 的 CKD 患者相比,TSAT < 20% 的 CKD 患者血清 NGAL 水平显著增加。同时,从 ROC 分析可见,血清 NGAL 在确定 CKD 患者缺铁状态方面显示出良好的诊断能力。同时,血清 NGAL 的诊断敏感度和特异度都优于铁蛋白、EPO 和转铁蛋白受体。

总之,血清 NGAL 测量在 CKD 患者缺铁状态评估中存在巨大的应用潜力,血清 NGAL 可能成为评估 CKD 患者缺铁状态和观察铁治疗效果的新工具。

参考文献:

- [1] Zhang L, Wang F, Wang L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China; a cross-sectional survey [J]. *Lancet*, 2012, 379(9818): 815-822.
- [2] Srinivasan R, Fredy IC, Chandrashekar S, et al. Assessment of erythropoietin for treatment of anemia in chronic kidney failure-ESRD patients [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 82: 44-48.
- [3] Ribeiro S, Belo L, Reis F, et al. Iron therapy in chronic kidney disease: Recent changes, benefits and risks [J]. *Blood Rev*, 2016, 30(1): 65-72.
- [4] Barsan L, Stanciu A, Stanciu S, et al. Bone marrow iron distribution, hepcidin, and ferroportin expression in renal anemia [J]. *Hematology*, 2015, 20(9): 543-552.
- [5] Wish JB. Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2006, 1(Suppl 1): S4-S8.
- [6] Bahrainwala J, Berns JS. Diagnosis of iron-deficiency anemia in chronic kidney disease [J]. *Semin Nephrol*, 2016, 36(2): 94-98.
- [7] Xiang D, Zhang H, Bai J, et al. Clinical application of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the revised chronic kidney disease classification [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(10): 7172-7181.
- [8] Soto K, Campos P, Pinto I, et al. The risk of chronic kidney disease and mortality are increased after community-acquired acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2016, 90(5): 1090-1099.
- [9] 招湛静, 徐威力, 姚雪滢. 深圳市大鹏新区儿童小细胞低色素性贫血流行现状及病因探讨 [J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(6): 98-101.
- [9] Zhao ZJ, Xu WL, Yao XQ. Epidemic situation and causes of children of cellule low pigment anemia in Shenzhen Dapeng New District [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(6): 98-101.
- [10] Parikh CR, Moledina DG, Coca SG, et al. Application of new acute kidney injury biomarkers in human randomized controlled trials [J]. *Kidney Int*, 2016, 89(6): 1372-1379.
- [11] Bramham K, Seed PT, Lightstone L, et al. Diagnostic and predictive biomarkers for pre-eclampsia in patients with established hypertension and chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2016, 89(4): 874-885.
- [12] 张华, 詹颀, 苏宝凤, 等. 血清 NGAL 与肾功其它指标联合检测在原发性高血压肾病早期诊断中的应用 [J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(4): 54-57.
- [12] Zhang H, Zan Z, Su BF, et al. Application of detecting serum NGAL combined with other renal function index in early diagnosis of essential hypertension nephropathy [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(4): 54-57.
- [13] Bolignano D, Coppolino G, Donato V, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new piece of the anemia puzzle? [J]. *Med Sci Monit*, 2010, 16(6): RA131-RA135.
- [14] Shepshelovich D, Rozen-Zvi B, Avni T, et al. Intravenous versus oral iron supplementation for the treatment of anemia in CKD: an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2016, 68(5): 677-690.

收稿日期: 2017-03-31

修回日期: 2017-05-04