

引用本文:王丽,周小勤,涂丹娜,等.尿液及血清骨膜蛋白的检测对早期诊断儿童紫癜性肾炎的价值[J].安徽医药,2021,25(2):258-260.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.02.011.

◇临床医学◇



尿液及血清骨膜蛋白的检测对早期诊断儿童紫癜性肾炎的价值

王丽¹,周小勤¹,涂丹娜¹,黄方²,陈霞²

作者单位:¹湖北省妇幼保健院儿内科,湖北 武汉 430070;

²湖北文理学院附属医院、襄阳市中心医院儿科,湖北 襄阳 441021

通信作者:陈霞,女,主任医师,研究方向为儿童疾病诊断与治疗,Email:4314132@qq.com

基金项目:湖北省自然科学基金项目(2015CFB660)

摘要: **目的** 探讨尿液及血清骨膜蛋白的检测对早期诊断儿童紫癜性肾炎(HSPN)的价值。**方法** 选取2012年6月至2018年6月在湖北省妇幼保健院就诊的HSPN患儿35例为HSPN组,选取同期在湖北省妇幼保健院门诊健康体检的35例儿童为健康对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定并比较两组尿液及血清骨膜蛋白的表达水平,用Medcalc软件绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估骨膜蛋白对HSPN早期诊断的价值。**结果** 健康对照组与HSPN组年龄比较,差异无统计学意义[(8.38±1.72)岁比(8.62±1.68)岁, $t=1.629$, $P=0.072$];健康对照组与HSPN组尿液骨膜蛋白表达水平[(31.91±1.78)pg/mL比(34.74±2.27)pg/mL]及血清骨膜蛋白表达水平[(40.15±7.46)pg/mL比(48.63±6.92)pg/mL]比较,均差异有统计学意义($P < 0.01$);ROC曲线分析结果显示HSPN组尿液及血清骨膜蛋白表达水平曲线下面积(AUC)分别为0.838与0.778;相对血清,尿液骨膜蛋白表达水平的灵敏度和特异性较好,差异有统计学意义($Z=6.528$, $P < 0.001$)。**结论** 尿液骨膜蛋白检测是HSPN早期诊断的敏感指标。

关键词: 紫癜,过敏性; 紫癜性肾炎; 骨膜蛋白; 儿童

Clinical value of urine and serum periostin for children with henoch schonlein purpura nephritis in early stage

WANG Li¹,ZHOU Xiaoqin¹,TU Danna¹,HUANG Fang²,CHEN Xia²

*Author Affiliations:*¹Department of Pediatrics,Hubei Maternal and Child Health Hospital,Wuhan,Hubei 430070, China;²Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Sciences,Pediatrics,Xiangyang Central Hospital,Xiangyang,Hubei 441021,China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between Henoch-Schonlein purpura nephritis (HSPN) and periostin in children, and to provide scientific evidence for the study of HSPN in children.**Methods** A total of 35 children with HSPN who were admitted to Hubei Provincial Maternity and Child Health Hospital from June 2012 to June 2018 were enrolled as HSPN group. 35 children who received physical examination in the outpatient health in Hubei Maternity and Child Health Hospital during the same period were selected as the normal control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the level of periostin in urine and serum of the subjects. The expression levels of periostin in urine and serum of normal control group and HSPN group were compared, receiver operating characteristic curve (ROC curve) was calculated by Medcalc software to evaluate the value of periostin on HSPN.**Results** The study found that the age of the normal control group and the HSPN group showed no significant difference between the two groups [(8.38±1.72) vs. (8.62±1.68), $t=1.629$, $P=0.072$]. The difference of periplasmic protein expression in urine [(31.91±1.78) pg/mL vs. (34.74±2.27) pg/mL] and serum [(40.15±7.46) pg/mL vs. (48.63±6.92) pg/mL] between the two groups was statistically significant ($P < 0.01$); ROC curve analysis showed that the area under the curve of periostin expression in urine and serum (AUC) was 0.838 and 0.778, respectively. The sensitivity and specificity of periostin expression levels in children's urine were relatively good. The differences in the diagnostic value of urine and serum periostin for children with HSPN in early stage were statistically significant ($Z=6.528$, $P < 0.001$).**Conclusion** Urinary periostin is a sensitive indicator for HSPN-related studies.

Key words: Purpura,henoch-schonlein; Henoch-Schonlein purpura nephritis; Periostin; Child

过敏性紫癜(Henoch-Schonlein purpura, HSP)是发生在儿童中一种免疫球蛋白A(IgA)介导的系统性小血管炎,IgA抗体在血管壁上的沉积会导致皮

肤、关节、肠和肾脏的症状^[1]。紫癜性肾炎(Henoch-Schonlein purpura nephritis, HSPN)是HSP最严重的并发症之一,通常定义为HSP伴有血尿和/或蛋白尿

的肾脏受累,并且通常决定HSP病人的预后^[2],相关研究结果显示HSPN在儿童继发性肾小球疾病中占第一位^[3]。骨膜蛋白是一种细胞外基质蛋白,是由成骨细胞及其前体细胞分泌的,多在牙周韧带和骨膜中出现,与皮肤修复、牙齿与骨骼生长有关^[4]。近年研究显示,骨膜蛋白在一些肾病中有表达^[5-7],其在HSPN中的作用研究较少。本研究通过检测HSPN病儿尿液与血清中骨膜蛋白的表达水平,探讨骨膜蛋白的检测对早期诊断儿童HSPN的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2012年6月至2018年6月在湖北省妇幼保健院就诊的HSPN病儿35例为HSPN组,其中男性19例,女性16例,年龄 (8.62 ± 1.68) 岁,年龄范围为6~11岁。纳入的HSPN病儿均符合儿童HSPN诊治循证指南^[8](2016年由中华医学会儿科学分会肾脏学组制定)。选取同期在湖北省妇幼保健院门诊健康体检的35例儿童为健康对照组,其中男性19例,女性16例,年龄 (8.38 ± 1.72) 岁,年龄范围为6~11岁。纳入标准:①近1个月未服用存在肾毒性药物;②既往无泌尿系统及肾脏疾病,尿检筛查正常,家族无肾脏遗传性疾病。两组年龄比较,差异无统计学意义($t=1.629, P=0.072$),具有可比性。病儿近亲属对研究方案签署知情同意书。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 样本采集 HSPN组病儿在就诊第二天早晨采集尿液和血液样本,健康对照组儿童于体检时留取尿液和血液样本。具体方法:在清洗外阴后采集中断尿5 mL作为尿液样本,采集外周静脉血3 mL作为血液样本,并在4℃下3 000 r/min离心10 min。分别吸取上层尿液及上层血清至无菌干燥的EP管中,将所得样本分别编号后置于-80℃冰箱中冻存备用。

1.3 骨膜蛋白的测定

1.3.1 实验材料与器材 人骨膜蛋白试剂盒(购自江苏酶标生物科技有限公司),酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司),振荡器(汇诚生物科技有限公司)。

1.3.2 实验方法 采用ELISA法检测血清和尿的样品中骨膜蛋白的相对表达水平,实验操作严格按照试剂盒说明书进行。(1)实验前准备:试剂盒、血清和尿的样品均置于室温中复温,以备后续实验使用。(2)实验过程:①将标准品倍比稀释后绘制标准曲线。将50 μL标准品和待测样品分别加入反应孔中,盖上膜盖后轻轻振荡,37℃孵育30 min。②弃去孔内液体,加入配制好的洗涤液,洗涤5次并拍干。③除空白孔之外的反应孔中加入酶标试剂50 μL。孵育、洗涤同前。④每孔加入A、B显色剂各50 μL,轻

轻混匀,37℃孵育10 min,避免光照。迅速加入50 μL终止液。⑤在450 nm波长处测定各孔的OD值。(3)计算方法:根据样品的OD值在标准曲线中查出相应的浓度,再乘以稀释的倍数,计算出样品中人骨膜蛋白的实际浓度。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,采用Medcalc软件绘制受试者工作特征曲线(ROC曲线)并进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组尿液及血清骨膜蛋白表达水平比较 两组尿液及血清中骨膜蛋白表达水平均差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表1。

表1 健康对照组与紫癜性肾炎(HSPN)组尿液及血清中骨膜蛋白表达水平比较/(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	尿液骨膜蛋白	血清骨膜蛋白
健康对照组	35	31.91±1.78	40.15±7.46
HSPN组	35	34.74±2.27	48.63±6.92
t 值		5.807	4.926
P 值		0.000	0.000

2.2 尿液及血清骨膜蛋白ROC曲线 为了评价尿液及血清骨膜蛋白对儿童HSPN早期诊断的价值,本研究通过绘制ROC曲线进行分析,结果显示曲线下面积(AUC)分别为0.838与0.778,病儿尿液中骨膜蛋白表达水平的灵敏度和特异度相对较好,尿液及血清骨膜蛋白对儿童HSPN早期诊断的价值差异有统计学意义($Z=6.528, P < 0.01$)。见图1和表2。

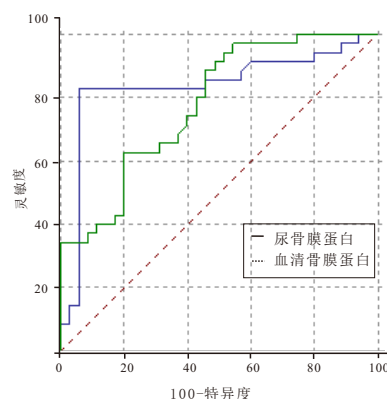


图1 尿液及血清骨膜蛋白ROC曲线

表2 尿液及血清骨膜蛋白对儿童紫癜性肾炎(HSPN)早期诊断的ROC分析

检测指标	曲线下面积	P 值	95% CI
尿液骨膜蛋白	0.838	0.000	0.944~0.732
血清骨膜蛋白	0.778	0.000	0.885~0.672

3 讨论

HSP是一种小血管、白细胞碎裂性血管炎,可在

不同器官中引起多种症状。HSP是儿童时期最常见的系统性血管炎之一^[9],男孩的发病率略高于女孩,有研究显示17岁以下儿童HSP患病率为6~24/10万^[10],而HSPN通常为HSP伴有血尿和/或蛋白尿的肾脏受累。大约20%的HSPN病人发展为肾病或肾病综合征^[11],基于大量临床和实验研究的结果显示,在HSPN肾小球中肾外来源的含IgA免疫复合物的肾小球沉积可导致肾脏炎症改变,因此,HSPN可被视为免疫复合物肾炎^[12]。骨膜蛋白作为由成骨细胞及其前体细胞分泌的一种细胞外基质蛋白,多在牙周韧带和骨膜中出现,并参与皮肤修复、牙齿与骨骼生长。近年来,有关骨膜蛋白在肾脏中的作用得到了研究人员的重视,Hwang等^[13]的研究结果显示,在IgA肾病肾纤维化病人尿中骨膜蛋白可能是早期生物标志物。有研究显示在狼疮性肾炎病人中,骨膜蛋白主要表达于肾小球周围发生纤维化的部位与硬化的肾小球中^[14]。在糖尿病肾病病人的肾小管和肾小球中骨膜蛋白均有表达,结果显示肾功能与骨膜蛋白表达量相关^[15]。本研究结果显示:HSPN组尿液及血清中骨膜蛋白的表达量均高于健康对照组,推测在HSPN的发生发展过程中骨膜蛋白可能参与其中,当机体发生炎症免疫反应时,刺激纤维化的肾组织及肾血管平滑肌细胞产生骨膜蛋白并释放入血;而过敏性紫癜病儿发生肾损伤时,受损的肾组织被诱导表达骨膜蛋白,骨膜蛋白通过肾小管上皮细胞分泌或表达骨膜蛋白的细胞退化脱落至尿液中导致尿骨膜蛋白增加。本研究通过绘制ROC曲线进行分析,曲线下面积(AUC)分别为0.838与0.778,尿液及血清骨膜蛋白对儿童HSPN早期诊断的价值差异有统计学意义,病儿尿液中骨膜蛋白表达水平的灵敏度和特异度相对较好,提示我们在HSPN的相关研究中尿骨膜蛋白可作为敏感指标。

参考文献

- [1] PUREVDORJ N, MU Y, GU Y, et al. Clinical significance of the serum biomarker index detection in children with Henoch-Schönlein purpura[J]. Clin Biochem, 2018, 52: 167-170.
- [2] DELBET J D, HOGAN J, AOUN B, et al. Clinical outcomes in chil-

dren with Henoch - Schönlein purpura nephritis without crescents [J]. Pediatric Nephrology, 2017, 32(7): 1193-1199.

- [3] BUTANI L, MORGENSTERN BZ. Long-term outcome in children after Henoch-Schönlein purpura nephritis [J]. Clinical Pediatrics (Phila), 2007, 46(6): 505-511.
- [4] 吕琳琳, 李纾. 骨膜蛋白与牙周组织再生[J]. 国际口腔医学杂志, 2014(2): 224-227.
- [5] WILLIAMS ME. New potential agents in treating diabetic kidney disease: the fourth act[J]. Drugs, 2006, 66(18): 2287-2298.
- [6] 王丹, 马恒颢, 章洁, 等. 原发性肾病综合征患儿外周血单个核细胞对肾小球上皮细胞和系膜细胞的直接影响[J]. 中华医学杂志(英文版), 2001, 114(8): 813-816.
- [7] WALLACE DP, WHITE C, SAVINKOVA L, et al. Periostin promotes renal cyst growth and interstitial fibrosis in polycystic kidney disease[J]. Kidney International, 2014, 85(4): 845-854.
- [8] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. HSPN的诊治循证指南(2016)[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(9): 647-651.
- [9] ATAEEPOUR M, MONAJEMZADEH M, SADEGHI P, et al. Direct Immunofluorescence Results of the Skin Biopsy and Frequency of Systemic Involvement in Children with Henoch-Schönlein Purpura[J]. Fetal and Pediatric Pathology, 2019, 38(2): 121-126.
- [10] LUDVIGSSON JF, JARRICK S, MURRAY JA, et al. Celiac disease and risk of henoch-schönlein purpura: population-based cohort study[J]. Journal of Clinical Gastroenterology, 2018, 52(2): 141-145.
- [11] DAVIN JC. Henoch-Schönlein purpura nephritis: pathophysiology, treatment, and future strategy [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2011, 6(3): 679-689.
- [12] SCHÄRER K, KMAR R, QUERFELD U, et al. Clinical outcome of Schönlein-Henoch purpura nephritis in children[J]. Pediatric Nephrology, 1999, 13(9): 816-823.
- [13] HWANG JH, LEE JP, KIM CT, et al. Urinary periostin excretion predicts renal outcome in iga nephropathy [J]. American Journal of Nephrology, 2016, 44(6): 481-492.
- [14] WANTANASIRI P, SATIRAPOJ B, CHAROENPITAKCHAI M, et al. Periostin: a novel tissue biomarker correlates with chronicity index and renal function in lupus nephritis patients [J]. Lupus, 2015, 24(8): 835-845.
- [15] BANCHA S, SURAT T, MONGTKON C, et al. Periostin as a tissue and urinary biomarker of renal injury in type 2 diabetes mellitus [J/OL]. PLoS One, 2015, 10(4): e0124055. DOI: 10.1371/journal.pone.0124055.

(收稿日期: 2019-10-24, 修回日期: 2019-12-08)