

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2023.04.05

· 临床研究 ·

高血压肾病患者尿液水通道蛋白 1、P53 和 P21 水平分析*

吕武洋, 梁蕾, 薛龙格, 金英玉 (哈尔滨医科大学附属第一医院检验科, 哈尔滨 150001)

摘要:目的 分析高血压肾病患者尿液中水通道蛋白 1(AQP1)、P53、P21 水平并观察其在诊断肾脏损伤中的价值。方法 收集哈尔滨医科大学附属第一医院健康者(82 例)、高血压患者(109 例)和高血压肾病患者(126 例)的晨尿,用 ELISA 试剂盒检测尿液中 AQP1、P53 和 P21 蛋白表达。结果 高血压组 AQP1、P53、P21 水平较健康组升高($P<0.01$),高血压肾病患者 P53、P21 水平较高血压组升高,而 AQP1 下降($P<0.01$)。AQP1 在高血压肾病患者分期(CKD1~5 期)中呈递减趋势,但 P53、P21 表达差异无统计学意义($P>0.05$)。Pearson 相关分析显示,高血压肾病患者 AQP1 与血液肌酐(Cr)、尿素(Urea)、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(CysC)以及尿液微量清蛋白(m-Alb)、转铁蛋白(Tf)、 α_1 -微球蛋白(α_1 -MG)、24 h 尿蛋白定量(24 h U-Pro)水平呈负相关(r 分别为 -0.720 、 -0.720 、 -0.706 、 -0.767 、 -0.868 、 -0.879 、 -0.844 、 -0.860 , P 均 <0.01),与肾小球滤过率(GFR)呈正相关($r=0.852$, $P<0.01$)。P53、P21 与以上指标均无相关性($P>0.05$)。此外, AQP1、P53、P21 诊断高血压肾病的 ROC 曲线下面积(AUC^{ROC})分别为 0.921、0.996、0.983。结论 高血压肾病患者尿液 AQP1 水平下降及 P53、P21 表达上升,可作为肾脏损伤指标。

关键词: 高血压; 高血压肾病; 水通道蛋白 1; P53; P21

中图分类号: R446

文献标志码: A

高血压肾病是一种常见的临床综合疾病,长期血压升高使肾脏小动脉硬化,引发肾小球及肾小管功能损伤,其发病率和死亡率呈逐年上升趋势^[1]。然而,高血压肾病的主要诱因高血压在疾病的早期是一种沉默表现,当发现并确诊后肾脏已经发生不可逆的损伤^[2]。此外,高血压肾病的诊断需要经过金标准肾组织活检来确诊^[2],这一过程耗时久且有创伤。水通道蛋白 1(aquaporin 1, AQP1)是主要转运水分子的跨膜通道蛋白^[3]。AQP1 主要分布于肾脏近端小管上皮细胞顶端膜和基底外侧膜,促进尿液浓缩和维持机体水平衡^[4]。P53,一种肿瘤抑制蛋白,与癌症的发病机制密切相关。P21, P53 的下游因子,也作为 P53 活化的标志物之一。2010 年, Yang 等^[5]基础研究证明 P53 通过上调 P21 介导近端小管上皮细胞 G₂/M 期阻滞,加重肾脏纤维化并促进肾损伤后向慢性肾脏病(CKD)进展。因此,本研究旨在探讨尿液中 AQP1、P53、P21 作为高血压肾病的评价肾脏损伤水平指标的可能性。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2021 年 3 月至 2022 年 9 月

哈尔滨医科大学附属第一医院高血压肾病患者 126 例和高血压无明显肾脏损害患者 109 例作为研究对象,分别纳入高血压肾病患者和高血压组,选择同期 82 例体检健康者作为对照组。纳入标准:(1)高血压肾病患者及高血压组均符合 2020 年国际高血压学会(ISH)国际高血压实践指南^[6]以及《中国高血压防治指南(2018 年修订版)》^[1]中定义高血压为多次重复测量后诊室收缩压 ≥ 140 mmHg 和/或舒张压 ≥ 90 mmHg 的标准;若患者既往有高血压史,或正在用抗高血压药,即使目前血压低于 140 mmHg/90 mmHg,亦诊断为高血压。(2)高血压肾病诊断依据高血压病史 ≥ 5 年,有微量清蛋白尿或轻中度的蛋白尿,或出现肾功能损害等临床表现^[6];肾穿刺活检病理符合高血压引起的肾小动脉硬化^[7];(3)年龄 ≥ 18 周岁;(4)病历资料完整;(5)近 3 年居住于本地的常住人口。排除标准:(1)继发性高血压:肾性高血压、原发性醛固酮增多症、肾动脉狭窄、库欣综合征、嗜铬细胞瘤、甲状腺疾病等疾病继发高血压;(2)原发性肾脏疾病、慢性肾小球肾炎、肾病综合征、狼疮性肾病、糖尿病肾病;(3)妊娠或肾移植受者;(4)合并心、肝、肾器质性病变以及恶

* 基金项目:国家重点研发计划(2019YFF0216502)。

作者简介:吕武洋,1996 年生,女,硕士研究生,研究方向为肾脏损伤机制。

通信作者:金英玉,主任医师,博士, E-mail: jyyharbin@163.com。

行肿瘤等；(5)入组前一年内有大型心血管手术史和抢救病史。

高血压肾病属于 CKD 的类型之一。因此,根据研究目的又将符合研究条件的 126 例高血压肾病患者按照 CKD 的诊断标准分为 5 期,分别为 CKD1、2、3、4、5 期。慢性肾脏病分期:采用 2012 年全球肾病改善预后工作组 (Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO) 制定的 CKD 诊断标准:存在肾损伤(包括肾脏病理学检查异常,血或尿成分异常或影像学检查异常)或肾小球滤过率 (GFR) 小于 $60 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2) \geq 3$ 个月。GFR 计算公式:男性 $\text{GFR} = (140 - \text{年龄}) \times \text{体重}(\text{kg}) \times 1.23 / \text{血肌酐}(\mu\text{mol}/\text{L})$; 女性 $\text{GFR} = (140 - \text{年龄}) \times \text{体重}(\text{kg}) \times 1.03 / \text{血肌酐}(\mu\text{mol}/\text{L})$ 。将 CKD 分为 5 期,见表 1。

表 1 根据 KDIGO 指南将 CKD 分为 5 期

分期	描述	GFR [$\text{mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$]
CKD1 期	肾损害, GFR 正常	90
CKD2 期	肾损害伴 GFR 轻度下降	60~80
CKD3 期	GFR 中度下降	30~59
CKD4 期	GFR 重度下降	15~29
CKD5 期	肾衰竭	<15(或透析)

1.2 临床资料收集 收集研究对象人口学特征、基础疾病以及实验室检测指标,人口学特征包括年龄、性别、血压、身体质量指数 (BMI)、基础疾病史、用药史、高血压家族史;入院 48 h 内的实验室指标包括血液肌酐 (Cr)、尿素 (Urea)、尿酸 (UA)、半胱

氨酸蛋白酶抑制剂 C (CysC)、 β_2 -微球蛋白 (β_2 -MG) 以及尿液微量清蛋白 (m-Alb)、转铁蛋白 (Tf)、 α_1 -微球蛋白 (α_1 -MG)、24 h 尿蛋白定量 (24 h U-Pro)。

1.3 检测方法 健康者、高血压患者和高血压肾病患者于清晨空腹状态下采集中段尿液 5 mL。用室温离心机 (德国 Thermo 公司) 在 2 h 内离心尿液标本, $1\ 980 \times g$ 离心 5 min 后,取上清液分装于无菌 EP 管中, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存。待标本收集完后,将 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冻存尿液取出,室温解冻 30 min, $400 \times g$ 离心 30 s 后,用 ELISA 试剂盒 (上海江莱生物公司) 和 MULTISKAN FC 酶标仪 (德国 Thermo 公司) 检测尿液中 AQP1、P53 和 P21 蛋白表达。

1.4 统计学分析 用 SPSS 22.0 统计软件进行。正态分布的连续变量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或单因素 ANOVA 分析;非正态分布的连续型变量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用非参数秩和检验;计数资料用频数及百分比 (%) 表示,组间比较采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 见表 2。健康组、高血压组和高血压肾病组的年龄、性别、BMI 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。高血压和高血压肾病组的收缩压和舒张压较健康组上升 ($P < 0.01$)。

表 2 健康组、高血压组和高血压肾病组的一般资料比较

指标	健康组 ($n=82$)	高血压组 ($n=109$)	高血压肾病组 ($n=126$)	P 值
年龄 (岁)	53.1 \pm 14.5	50.9 \pm 13.1	54.0 \pm 13.7	0.207
男性 [n (%)]	38(46.4)	69(63.3)	70(55.5)	0.065
BMI (kg/m^2)	22.04 \pm 1.95	22.29 \pm 2.20	22.83 \pm 2.06	0.207
收缩压 (mmHg)	112.6 \pm 7.4	162.3 \pm 18.8	149.3 \pm 7.3	$P < 0.000\ 1$
舒张压 (mmHg)	78.7 \pm 4.3	106.0 \pm 4.6	93.3 \pm 16.0	$P < 0.000\ 1$
基础疾病 [n (%)]				
高血压	0	109(100.0)	126(100.0)	—
消化系统疾病	0	0	4(3.1)	—
冠心病	0	4(3.6)	11(8.7)	—
脑梗死	0	2(1.8)	17(13.4)	—
痛风	0	0	7(5.5)	—
高血压家族史	0	12(11.0)	3(2.3)	—
药物过敏	2(2.4)	2(1.8)	7(5.5)	—
手术史 [n (%)]				
阑尾切除	2(2.4)	4(3.6)	9(7.1)	—
胆囊手术	0	2(1.8)	3(2.3)	—
骨折	1(1.2)	0	3(2.3)	—
子宫肌瘤切除	0	2(1.8)	6(4.7)	—
抗高血压药物 [n (%)]				
服用药物	0	46(42.2)	93(73.8)	—
未服用药物	0	50(45.8)	33(26.2)	—

2.2 实验室检查指标比较 见表 3。健康组和高血压组尿液 Cr、Urea、 β_2 -MG、CysC 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与高血压组比较,高血压

肾病(CKD3、4、5 期)组尿液 Cr、Urea、 β_2 -MG、CysC 水平呈递增趋势 ($P<0.01$)。

表 3 3 组研究对象的实验室检查指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

分组	Cr($\mu\text{mol/L}$)	Urea(mmol/L)	UA($\mu\text{mol/L}$)	β_2 -MG(mg/L)	CysC(mg/L)
健康组($n=82$)	62.49 \pm 12.43	5.22 \pm 1.12	307.40 \pm 64.41	1.51 \pm 0.40	0.77 \pm 0.12
高血压组($n=109$)	71.65 \pm 16.96	5.81 \pm 1.69	388.40 \pm 94.66 ^b	1.64 \pm 0.61	0.81 \pm 0.13
高血压肾病组					
CKD1 期($n=21$)	87.90 \pm 26.71	6.47 \pm 1.79	404.50 \pm 77.04 ^a	1.54 \pm 0.66	1.14 \pm 0.43
CKD2 期($n=18$)	95.55 \pm 15.33	6.10 \pm 1.62	448.20 \pm 126.4 ^a	2.11 \pm 1.13	1.34 \pm 0.34 ^{ab}
CKD3 期($n=27$)	144.00 \pm 44.59 ^{ab}	9.23 \pm 2.80 ^{ab}	420.80 \pm 86.38 ^a	4.01 \pm 1.94 ^{ab}	2.04 \pm 0.74 ^{ab}
CKD4 期($n=14$)	311.60 \pm 130.90 ^{ab}	15.61 \pm 5.86 ^{ab}	537.50 \pm 120.50 ^{ab}	8.03 \pm 3.16 ^{ab}	2.89 \pm 0.76 ^{ab}
CKD5 期($n=46$)	655.70 \pm 285.60 ^{ab}	23.72 \pm 8.01 ^{ab}	479.30 \pm 148.00 ^{ab}	17.56 \pm 3.16 ^{ab}	4.46 \pm 1.10 ^{ab}
<i>F(P)</i> 值	172.4($<0.000\ 1$)	166.7($<0.000\ 1$)	22.24($<0.000\ 1$)	246.8($<0.000\ 1$)	319.9($<0.000\ 1$)

注:a,与健康组比较, $P<0.05$;b,与高血压组比较, $P<0.05$ 。

2.3 尿液 m-Alb、Tf、 α_1 -MG、24 h U-Pro 的比较 见表 4。健康组和高血压组尿液 m-Alb、Tf、 α_1 -MG、24 h U-Pro 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

与高血压组比较,高血压肾病(CKD1~5 期)组尿液 m-Alb、Tf、 α_1 -MG、24 h U-Pro 水平呈递增趋势 ($P<0.01$)。

表 4 3 组研究对象 m-Alb、Tf、 α_1 -MG、24 h U-Pro 的比较 ($\bar{x}\pm s$)

分组	m-Alb(mg/L)	Tf(mg/L)	α_1 -MG(mg/L)	24 h U-Pro(mg/L)
健康组($n=82$)	17.11 \pm 5.28	1.42 \pm 0.35	11.62 \pm 2.30	34.78 \pm 11.71
高血压组($n=109$)	18.41 \pm 5.76	1.45 \pm 0.42	11.51 \pm 2.03	33.52 \pm 10.01
高血压肾病组				
CKD1 期($n=21$)	51.14 \pm 8.62 ^{ab}	5.80 \pm 1.73 ^{ab}	23.59 \pm 3.24 ^{ab}	184.60 \pm 71.26 ^{ab}
CKD2 期($n=18$)	125.10 \pm 18.06 ^{ab}	15.18 \pm 2.60 ^{ab}	39.44 \pm 7.84 ^{ab}	289.40 \pm 37.64 ^{ab}
CKD3 期($n=27$)	194.90 \pm 18.67 ^{ab}	29.59 \pm 7.19 ^{ab}	61.39 \pm 10.97 ^{ab}	395.50 \pm 28.72 ^{ab}
CKD4 期($n=14$)	269.80 \pm 23.04 ^{ab}	44.81 \pm 3.62 ^{ab}	86.06 \pm 5.68 ^{ab}	568.60 \pm 63.89 ^{ab}
CKD5 期($n=46$)	415.30 \pm 46.73 ^{ab}	60.07 \pm 5.99 ^{ab}	141.80 \pm 20.65 ^{ab}	803.20 \pm 79.22 ^{ab}
<i>F(P)</i> 值	2 659($<0.000\ 1$)	2 271($<0.000\ 1$)	1 407($<0.000\ 1$)	2 555($<0.000\ 1$)

注:a,与健康组比较, $P<0.05$;b,与高血压组比较, $P<0.05$ 。

2.4 尿液 AQP1、P53 和 P21 水平的比较 见表 5。分别比较 3 组研究对象尿液 AQP1、P53、P21 水平,差异均有统计学意义 (P 均 <0.01)。高血压组 AQP1、P53 和 P21 水平较健康组升高 ($P<0.05$)。

高血压肾病组的 P53、P21 水平较高血压组进一步升高,而 AQP1 水平明显降低。在高血压肾病分期(CKD1~5 期)中,AQP1 呈递减趋势,P53、P21 水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 5 3 组研究对象尿液中 AQP1、P53 和 P21 的水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

分组	AQP1(ng/mL)	P53(pg/mL)	P21(pg/mL)
健康组($n=82$)	1.173 \pm 0.130	204.50 \pm 31.69	652.1 \pm 185.5
高血压组($n=109$)	2.063 \pm 0.410 ^a	334.60 \pm 84.39 ^a	974.1 \pm 187.7 ^a
高血压肾病组			
CKD1 期($n=21$)	1.011 \pm 0.180 ^b	425.10 \pm 71.66 ^{ab}	1 543.0 \pm 156.8 ^{ab}
CKD2 期($n=18$)	1.068 \pm 0.130 ^b	410.60 \pm 88.35 ^{ab}	1 498.0 \pm 429.9 ^{ab}
CKD3 期($n=27$)	0.712 \pm 0.120 ^{ab}	415.10 \pm 87.73 ^{ab}	1 551.0 \pm 266.5 ^{ab}
CKD4 期($n=14$)	0.439 \pm 0.090 ^{ab}	428.40 \pm 77.69 ^{ab}	1 476.0 \pm 247.7 ^{ab}
CKD5 期($n=46$)	0.317 \pm 0.080 ^{ab}	412.20 \pm 75.01 ^{ab}	1 501.0 \pm 278.7 ^{ab}
<i>F(P)</i> 值	306.0($<0.000\ 1$)	71.57($<0.000\ 1$)	127.3($<0.000\ 1$)

注:a,与健康组比较, $P<0.05$;b,与高血压组比较, $P<0.05$ 。

2.5 AQP1、P53 和 P21 与实验室检查指标的相关性 Pearson 相关分析显示,高血压肾病组尿液 AQP1 表达与血液 Cr、Urea、 β_2 -MG、CysC 以及尿液

m-Alb、Tf、 α_1 -MG、24 h U-Pro 水平呈负相关(r 分别为 -0.720 、 -0.720 、 -0.706 、 -0.767 、 -0.868 、 -0.879 、 -0.844 、 -0.860 , P 均 <0.01),而与 GFR 呈

正相关($r=0.852, P<0.01$)。P53 和 P21 与以上指标均无相关性($P>0.05$)。

2.6 AQP1、P53、P21 对高血压肾病的诊断效能评估 AQP1、P53、P21 诊断高血压肾病的 ROC 曲线下面积(AUC^{ROC})分别为 0.921(95% CI: 0.886~0.955)、0.996(95% CI: 0.992~1.000)、0.983(95% CI: 0.961~1.000), 最佳临界值分别为 0.933 ng/L、280.17 ng/L、1 002.7 ng/L 时, 敏感性分别为 76.4%、98.4%、99.2%, 特异性分别为 95.1%、96.3%、96.3%。

3 讨论

本课题组前期研究表明脂多糖诱导播散性血管内凝血急性非少尿型肾损伤(4、6、8 h)大鼠的尿液中 AQP1 表达逐渐升高并且其升高程度大于尿液中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白, 提示尿液 AQP1 可能作为 AKI 的早期诊断标志物^[8]。类似的, 研究表明尿液中 P21 表达上升可能作为 AKI 早期诊断标志物^[9]。上述研究结果均表明, 尿液中 AQP1 和 P21 的表达水平上升可提示早期肾脏损伤。然而, 本研究表明高血压肾病患者尿液中 AQP1 水平下降, P53 和 P21 表达水平升高。一方面, 与疾病的种类不同。研究表明, 脓毒症 AKI 时, AQP1 通过调节免疫反应发挥肾脏保护作用^[10]。高血压肾病属于慢性肾脏病, 患者发生蛋白质能量消耗^[11]。因此, 在高血压肾病过程中, AQP1 通过发挥肾脏保护作用被长期消耗, 导致尿液中表达下降。另一方面, AQP1 表达降低可能与 P53 和 P21 的表达升高有关。有研究表明顺铂诱导肾损伤时, 大鼠肾脏 P53 乙酰化激活, 加重肾小管上皮细胞衰老和肾间质纤维化, 促进 AKI 向 CKD 进展^[12]。在高血压肾病的进展中, AQP1 被长期消耗而降低的同时, 肾脏中 P53 和 P21 表达上升促进肾脏损伤, 进而进一步加重 AQP1 表达下降。

有趣的是, 尿液中 P53 和 P21 表达在高血压肾病分期(CKD1~5 期)中无差异。P53 能被各种应激条件激活发挥功能, 例如缺氧、血压改变等^[13]。高血压条件下, 肾脏 P53 被诱导激活升高介导其下游 P21 表达上调, 当高血压肾病时, 损伤和刺激因素多重叠加, 导致肾脏中 P53 和 P21 表达进一步升高, 加重肾脏损伤。此时, 肾脏已经发生了损伤, 即使随着 CKD 分期增加, 刺激因素并未改变。因此, 尿液中 P53 和 P21 在高血压肾病分期(CKD1~5 期)中并未改变。

综上所述, 本研究表明高血压肾病患者尿液中

AQP1 水平下降以及 P53、P21 表达上升, 可作为肾脏损伤指标。但本研究样本量较小, 且缺乏高血压肾病患者治疗过程中尿液 AQP1、P53 和 P21 的动态监测, 存在一定的局限性。在今后的研究中, 本课题组会考虑设计大样本、多中心的深入研究方案来进一步探索和验证。

4 参考文献

- [1] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国), 中华医学会心血管病学分会中国医师协会高血压专业委员会, 等. 中国高血压防治指南(2018 年修订版)[J]. 中国心血管杂志, 2019, 24(1): 24-56.
- [2] 高血压肾病诊治中国专家共识组成员. 高血压肾病诊断和治疗中国专家共识(2022)[J]. 中华高血压杂志, 2022, 30(4): 307-317.
- [3] Kortenoeven MLA, Fenton RA. Renal aquaporins and water balance disorders[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(5): 1533-1549.
- [4] Su W, Cao R, Zhang XY, et al. Aquaporins in the kidney: physiology and pathophysiology[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2020, 318(1): F193-F203.
- [5] Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, et al. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury[J]. Nat Med, 2010, 16(5): 535-543.
- [6] Unger T, Borghi C, Charchar F, et al. 2020 international society of hypertension global hypertension practice guidelines[J]. Hypertension, 2020, 75(6): 1334-1357.
- [7] Wang XC, Liu CH, Chen YJ, et al. Clinical and pathological analysis of the kidney in patients with hypertensive nephropathy[J]. Exp Ther Med, 2013, 6(5): 1243-1246.
- [8] 东雪宁, 刘春梅, 李博慧, 等. 播散性血管内凝血急性非少尿型肾损伤大鼠尿道蛋白-1 水平与炎性因子的相关性[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(3): 216-220.
- [9] Johnson AC, Zager RA. Plasma and urinary p21: potential biomarkers of AKI and renal aging[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2018, 315(5): F1329-F1335.
- [10] Liu CM, Li BH, Tang KH, et al. Aquaporin 1 alleviates acute kidney injury via PI3K-mediated macrophage M2 polarization[J]. Inflamm Res, 2020, 69(5): 509-521.
- [11] 吴朦朦, 吴红赤. 慢性肾脏病患者蛋白质能量消耗病因及诊治研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(5): 514-517.
- [12] Li CZ, Xie N, Li Y, et al. N-acetylcysteine ameliorates cisplatin-induced renal senescence and renal interstitial fibrosis through sirtuin1 activation and p53 deacetylation[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 130: 512-527.
- [13] Kruiswijk F, Labuschagne CF, Voudsen KH. p53 in survival, death and metabolic health: a lifeguard with a licence to kill[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2015, 16(7): 393-405.

(收稿日期: 2022-10-25)

(本文编辑: 王海燕)