

· 临床研究 ·

基质金属蛋白酶-9和胱抑素-C联合预测老年急性肾损伤的价值

赵海霞*, 刘新凤, 张杰, 周广旻

(山东省泰山疗养院医养结合病房, 泰安 271000)

【摘要】目的 探讨血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和胱抑素-C(Cys-C)预测老年急性肾损伤(AKI)的价值。**方法** 纳入山东省泰山疗养院医养结合病房2016年6月至2018年6月发生AKI患者116例为AKI组,同期未发生AKI患者68例为非AKI组,采集空腹外周静脉血,酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清MMP-9和Cys-C水平,比较2组患者MMP-9和Cys-C水平。受试者工作特征(ROC)曲线分析MMP-9和Cys-C单独及联合预测AKI的价值。应用SPSS 20.0统计软件对数据进行分析。**结果** 相比非AKI组患者,AKI组MMP-9[(377.61±28.72) vs (96.50±20.42) ng/ml]和Cys-C[(3.22±0.76) vs (0.92±0.16) mg/L]水平明显增高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。MMP-9预测AKI的ROC曲线下面积(AUC)为0.714,截断点190 ng/ml时约登指数最大,灵敏度77%,特异度63%。Cys-C预测AKI的AUC为0.805,截断点2.0 mg/L时约登指数最大,灵敏度80%,特异度75%。MMP-9和Cys-C联合预测AKI的AUC为0.856,灵敏度85%,特异度81%,显著大于各单项标志物,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 老年AKI患者血MMP-9和Cys-C水平升高,MMP-9和Cys-C联合预测AKI的灵敏度和特异度较单项标志物高。

【关键词】 基质金属蛋白酶-9;胱抑素-C;急性肾损伤

【中图分类号】 R592;R692

【文献标志码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.08.130

Predictive value of matrix metalloproteinase-9 and cystatin-C for acute kidney injury in elderly patients

ZHAO Hai-Xia*, LIU Xin-Feng, ZHANG Jie, ZHOU Guang-Min

(Integrated Ward of Medicine and Convalescence, Taishan Sanatorium of Shandong Province, Tai'an 271000, China)

【Abstract】Objective To explore the value of serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and cystatin-C (Cys-C) in prediction of acute kidney injury (AKI) in the elderly. **Methods** A total of 116 AKI patients in our ward from June 2016 to June 2018 were enrolled as AKI group. Another 68 patients without AKI during the same period were subjected as non-AKI group. Fasting peripheral venous blood samples were collected to detect the serum levels of MMP-9 and Cys-C by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels were compared between 2 groups. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to analyze the value of MMP-9 and Cys-C in predicting AKI individually and jointly. SPSS statistics 20.0 was used for data analysis. **Results** The serum levels of MMP-9 [(377.61±28.72) vs (96.50±20.42) ng/ml] and Cys-C [(3.22±0.76) vs (0.92±0.16) mg/L] were significantly higher in the AKI group than in the non-AKI group ($P<0.05$). The area under ROC curve (AUC) of MMP-9 in predicting AKI was 0.714, the Yoden index was the highest when the cut-off point was 190 ng/ml, and the sensitivity and specificity were 77% and 63%, respectively. Cys-C predicted AKI with an AUC of 0.805 and cut-off point of 2.0 mg/L, and the Yoden index was the highest with sensitivity of 80% and specificity of 75%. The AUC of AKI predicted by their combination was 0.856, sensitivity was 85%, and specificity was 81%, which was significantly higher than those of individual markers ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of MMP-9 and Cys-C are elevated in elderly AKI patients. The sensitivity and specificity of combined prediction of AKI by MMP-9 and Cys-C are higher than those of single marker of MMP-9 or Cys-C.

【Key words】 matrix metalloproteinase-9; cystatin-C; acute kidney injury

Corresponding author: ZHAO Hai-Xia, E-mail: nephrae@163.com

我国人口老龄化日趋明显,截至2017年底,>60岁人口约2.4亿,占17.3%,>65岁人口约1.6亿,占11.4%^[1],老年慢性病、共病和多重用药等问题日益

突出。急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是由多种因素导致的肾功能短时间下降而引发的综合征,药物是首位病因。患慢性病的老年人因疾病本

身及治疗用药易发生 AKI,应加强肾功能监测。一项关于中国老年住院患者发生院内获得性 AKI 的流行病学数据显示,65~79 岁 AKI 发生率为 15.44%,>80 岁 AKI 发生率达 22%^[2],因此发现早期预测 AKI 的标志物至关重要。目前诊断 AKI 是根据血肌酐(serum creatinine,SCr)水平和尿量评估,确诊时肾功能往往已损伤,为此本研究对基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)和胱抑素(cystatin-C, Cys-C)对老年 AKI 的预测价值进行了探讨,报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

纳入山东省泰山疗养院医养结合病房 2016 年 6 月至 2018 年 6 月发生 AKI 患者 116 例为 AKI 组,同期未发生 AKI 患者 68 例为非 AKI 组。AKI 诊断根据改善全球肾脏病预后组织(Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO)标准,48 h 内 SCr 水平升高 $\geq 26.5 \mu\text{mol/L}$;或 1 周内 SCr 升高达基础水平的 1.5 倍;或尿量 $<0.5 \text{ ml}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 且持续 $>6 \text{ h}$,符合上述其中一项即可诊断为 AKI^[3]。排除标准:既往慢性肾脏病;泌尿系统感染;接受过肾脏手术。所有患者均经医院伦理委员会批准且签署知情同意书。

1.2 检测指标

采集晨起空腹肘静脉血,1 500 转/min 离心 5~

10 min 后置于-70℃冻存待测。采用酶联免疫吸附法检测 MMP-9 和 Cys-C 水平,试剂由上海江莱生物科技有限公司提供,实验方法均按试剂盒说明书操作。采用苦味酸法检测血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和 SCr。肾脏疾病饮食改良简化(modification of diet in renal disease, MDRD)公式计算估算肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验。计数资料用例数(百分率)表示,组间比较采用 χ^2 检验。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析 MMP-9 和 Cys-C 单独和联合预测 AKI 的价值。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者临床资料比较

2 组性别、年龄、合并高血压、糖尿病、慢性肾脏病、脑血管病和心脏病比例等差异均无统计学意义(*P*>0.05;表 1)。

2.2 2 组患者 MMP-9、CysC、SCr、BUN 和 eGFR 水平比较

AKI 组 MMP-9、CysC、SCr 和 BUN 水平均较非 AKI 组高,差异具有统计学意义(*P*<0.05;表 2)。

表 1 2 组患者临床资料比较
Table 1 Comparison of clinical data between two groups

Group	<i>n</i>	Age (years, $\bar{x} \pm s$)	Male [<i>n</i> (%)]	Comorbidity[<i>n</i> (%)]				
				Hypertension	Diabetes mellitus	CKD	Cerebrovascular disease	Heart disease
AKI	116	76.3 $\pm$ 5.1	73(62.9)	58(50.0)	25(21.6)	16(13.8)	45(38.8)	75(64.7)
Non-AKI	68	74.3 $\pm$ 6.1	40(58.8)	31(45.6)	12(17.6)	7(10.3)	23(33.8)	40(58.8)
<i>P</i> value		0.404	0.299	0.345	0.247	0.216	0.315	0.211

AKI: acute kidney injury; CKD: chronic kidney disease.

表 2 2 组患者 MMP-9、CysC、SCr、BUN 和 eGFR 水平比较
Table 2 Comparison of MMP-9, CysC, SCr, BUN and eGFR levels between two groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	MMP-9 (ng/ml)	Cys-C (mg/L)	SCr (mol/L)	BUN (mmol/L)	eGFR [$\text{ml}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$]
		(ng/ml)	(mg/L)	(mol/L)	(mmol/L)	[$\text{ml}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$]
Non-AKI	68	96.50 $\pm$ 20.42	0.92 $\pm$ 0.16	79.12 $\pm$ 28.42	4.23 $\pm$ 2.54	68.27 $\pm$ 18.45
AKI	116	377.61 $\pm$ 28.72*	3.22 $\pm$ 0.76*	245.14 $\pm$ 90.34*	14.25 $\pm$ 5.08*	46.65 $\pm$ 19.22
Phase 1	55	157.64 $\pm$ 18.73*	1.78 $\pm$ 0.45*	142.62 $\pm$ 19.35*	9.21 $\pm$ 2.57*	55.65 $\pm$ 19.22
Phase 2	37	299.53 $\pm$ 24.45*	3.17 $\pm$ 0.66*	190.25 $\pm$ 26.46*	13.56 $\pm$ 3.24*	42.65 $\pm$ 19.22
Phase 3	24	427.64 $\pm$ 30.71*	4.57 $\pm$ 1.47*	307.86 $\pm$ 35.72*	18.26 $\pm$ 4.21*	28.65 $\pm$ 19.22

AKI: acute kidney injury; MMP-9: matrix metalloproteinase-9; Cys-C: cystatin-C; SCr: serum creatinine; BUN: blood urea nitrogen; eGFR: estimated glomerular filtration rate. Compared with non-AKI group, **P*<0.05.

2.3 MMP-9 和 CysC 预测 AKI 的价值

二者联合预测 AKI 的 ROC 曲线下面积 (area under ROC curve, AUC) 为 0.856, 灵敏度为 85%, 特异度为 81%。MMP-9 预测 AKI 的 AUC 为 0.714, 截断点取 190 ng/ml 时约登指数最大, 灵敏度 77%, 特异度 63%。Cys-C 预测 AK 的 AUC 为 0.805, 截断点取 2.0 mg/L 时约登指数最大, 灵敏度 80%, 特异度 75%。MMP-9 和 CysC 联合预测 AKI 的灵敏度和特异度显著大于单个指标, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$; 图 1)。

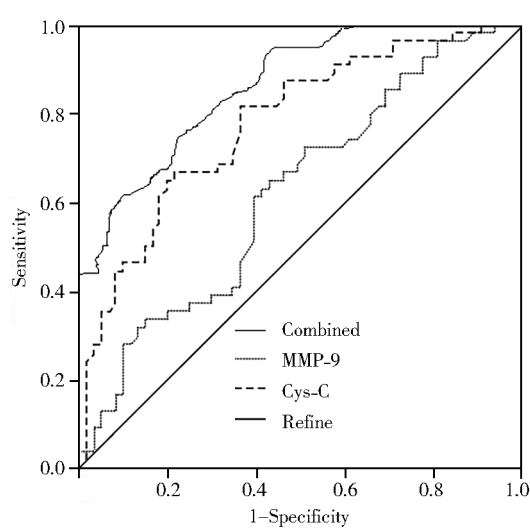


图 1 MMP-9 和 Cys-C 预测 AKI 的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve for predicting AKI by MMP-9 and Cys-C
MMP-9; matrix metalloproteinase-9; Cys-C; cystatin-C; ROC; receiver operating characteristic.

3 讨论

国际肾脏病组织发布的数据显示, 每年约 1 330 万人在住院期间被诊断 AKI, 成年住院患者 AKI 的发生率为 21%^[4]。连兴基等^[5]研究 7 029 例 ≥ 60 岁住院老年人的结果显示 AKI 发生率高达 26.0%, 提示老年人 AKI 发生率较高, 需引起重视。

MMP-9 又称明胶酶 B, 主要以明胶、IV、V 型胶原、粘连蛋白、弹性蛋白等细胞外基质成分为底物, 其中 IV 型胶原和粘连蛋白是肾血管球和肾小管上皮基底膜的主要成分^[6]。正常生理状态下 MMP-9 参与细胞外基质的降解和合成, 病理状态下表达异常, 参与炎症反应、血管形成、肿瘤侵袭和浸润等过程, 血液水平高低与活动性炎症密切相关。患者由于缺血、脓毒症、药物毒副作用等发生 AKI 时, MMP-9、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 及其他炎症介质的表达均上调, 血液水平也增高, 参与炎症反

应及肾小球和肾小管基底膜的降解^[7]。藤林等^[8]发现多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 大鼠 MMP-9 血清水平升高, 肾组织中 MMP-9 表达显著增加, 病理检查发现肾小球毛细血管扩张充血、肾间质炎症细胞浸润及肾小管上皮肿胀, 说明 MMP-9 与肾小球、肾小管及肾间质结构、功能损伤密切相关, 在 AKI 发生发展过程中起重要作用。Cys-C 是半胱氨酸蛋白酶抑制剂超家族中的一员, 广泛存在于各种体液并在多种组织中表达。Cys-C 能自由通过肾小球, 在近曲小管中被分解, 并最终排出体外, 其血液水平不受年龄、肌肉含量影响, 因此可作为评估肾小球滤过率较理想的内源性标志物。研究表明 Cys-C 水平升高早于 SCr 1~2 d, 可早期预测 AKI 并鉴别肾前性氮质血症和 AKI^[9]。

预测 AKI 的生物标志物目前有近 10 种, 研究表明它们在 AKI 发生时水平均升高, 但灵敏度和特异度不同, 早期预测 AKI 的单一理想指标尚缺, 因此很多研究倾向多项指标联合预测 AKI^[10,11]。许卓谦等^[12]研究表明 MMP-9 及其他炎症因子在多器官损伤合并 AKI 患者中血清水平升高, 治疗好转后水平下降。研究者将肝移植术后患者 $eGFR < 80 \text{ ml}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ 定义为 AKI, 结果表明 Cys-C 预测 AKI 的 AUC 为 0.937, 明显高于 SCr, 表明 Cys-C 是比 SCr 更灵敏的指标^[13]。对 29 例 AKI 患者进行的横断面研究显示, MMP-9、急性肾损伤因子 1 (kidney injury molecule 1, KIM-1) 与尿 N-乙酰- β -D 氨基葡萄糖苷酶 (N-acetyl- β -D-glucosaminidase, NAG) 联合预测早期 AKI 的 AUC 为 1.0, 灵敏度显著提高^[14]。池锐彬等^[15]对 256 例重症患者的研究显示 Cys-C 和尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)、kim-1、白细胞介素-18 联合预测 AKI 的 AUC 为 0.925 (95%CI 0.885~0.954), 灵敏度和特异度分别为 86.7%、85.4%, 较单项标志物均有所提升。上述研究均表明联合预测具有较高的灵敏度和特异度。

本研究对象为老年人, 合并多种基础疾病, 且老年人由于肾功能储备降低极易发生肾损伤, 因此笔者以在肾损伤方面研究较少的 MMP-9 和研究较成熟的 Cys-C 作为指标, 对它们联合及单项预测 AKI 的价值进行了研究, 结果显示发生 AKI 的老年人 MMP-9 和 Cys-C 血清水平均升高, 预测 AKI 的 ROC 分别为 0.714 和 0.805, 相比非 AKI 患者差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。它们联合预测 AKI 的 AUC 为 0.856, 灵敏度为 85%, 特异度为 81%, 显著大于

MMP-9、CysC 单项标志物 ($P < 0.05$), 充分说明 MMP-9 和 Cys-C 联合预测 AKI 的灵敏度和特异度更高。

本研究不足之处在于 AKI 发生后检测 MMP-9、Cys-C 水平, 未完整观察标志物的变化趋势, 有一定的局限性。如果选取多个时间点留取血液标本, 检测 MMP-9、Cys-C 水平并对结果进行分析, 研究结果将更有意义。另外本研究样本数量有限, 因此 MMP-9、Cys-C 预测 AKI 的价值还需更大样本的研究证实。

【参考文献】

[1] Naional Bureau of Statistics of China. National economy maintained the momentum of stable and sound development and exceeded the expectation[EB/OL]. [2018-01-18]. http://english.gov.cn/state_council/ministries/2018/01/19/content_281476019093711.htm.

[2] Ge SW, Nie S, Liu ZS, *et al.* Epidemiology and outcomes of acute kidney injury in elderly Chinese patients: a subgroup analysis from the EACH study[J]. BMC Nephrol, 2016, 17: 136. DOI: 10.1186/s12882-016-0351-2.

[3] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury[J]. Kidney Inter, 2012, 3(2): 1-138.

[4] Mehta RL, Cerdá J, Burdmann EA, *et al.* International Society of Nephrology's Oby25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology[J]. Lancet, 2015, 385(9987): 2616-2643. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60126-X.

[5] 连兴基, 陈源汉, 林洁珊, 等. 老年人医院获得性急性肾损伤的临床特点及用药分析[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(12): 901-905. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.12.208.

Lian XJ, Chen YH, Lin JS, *et al.* Clinical characteristics and medications for hospital-acquired acute kidney injury in the elderly patients[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2018, 17(12): 901-905. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.12.208.

[6] 薛痕, 陈亮, 潘均明, 等. MMP-9 与 TIMP-1 在肾小管上皮细胞转分化中的作用[J]. 四川大学学报(医学版), 2008, 39(1): 34-38. DOI: 10.3969/j.issn.1672-173X.2008.01.009.

Xue H, Chen L, Pan JM, *et al.* Role of MMP-9 and TIMP-1 in renal tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation[J]. J Sichuan Uni (Med Sci Ed), 2008, 39(1): 34-38. DOI: 10.3969/j.issn.1672-173X.2008.01.009.

[7] 王鹏, 余旻. 基质金属蛋白酶-9 及其抑制因子-1 在急性肾功能障碍中的作用[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(4): 667-669. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2012.04.063.

Wang P, Yu M. The effect of MMP-9 and TIMP-1 in acute kidney

dysfunction[J]. J Pract Med, 2012, 28(4): 667-669. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2012.04.063.

[8] 藤林, 余旻, 李俊明, 等. 基质金属蛋白酶-9 在多器官功能障碍综合征大鼠肾组织中的表达[J]. 中华肾脏病杂志, 2010, 26(3): 223-224. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2010.03.015.

Teng L, Yu M, Li JM, *et al.* Expression of matrix metalloproteinase-9 in the kidney of rats with multiple organ dysfunction syndrome[J]. Chin J Nephrol, 2010, 26(3): 223-224. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2010.03.015.

[9] Soto K, Coelho S, Rodrigues B, *et al.* Cystatin-C as a marker of acute kidney injury in the emergency department[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2010, 5(10): 1745-1754. DOI: 10.2215/CJN.00690110.

[10] Padhy M, Kaushik S, Gitish MP, *et al.* Serum neutrophil gelatinase associated lipoealin (NGAL) and cystatin-C as early predictors of contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing percutaneous coronary intervention[J]. Clin Chim Acta, 2014, 435: 48-52. DOI: 10.1016/j.cca.2014.04.016.

[11] Basu RK, Wong HR, Krawczeski CD, *et al.* Combining functional and tubular damage biomarkers improves diagnostic precision for acute kidney injury after cardiac surgery[J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 64(25): 2753-2762. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.09.066.

[12] 许卓谦, 叶家骏, 李东华, 等. CRRT 联合 HP 治疗多器官功能障碍综合征合并急性肾损伤的疗效及对 MMP-9 和炎症因子的影响[J]. 疑难病杂志, 2018, 17(11): 1247-1251. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.11.015.

Xu ZQ, Ye JJ, Li DH, *et al.* Effect of CRRT combined with HP on acute renal injury in patients with multiple organ dysfunction syndrome and its influence on MMP-9 and inflammatory factors[J]. Chin J Difficult Complicated Cases, 2018, 17(11): 1247-1251. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2018.11.015.

[13] Roberts DM, Wilks MF, Roberts MS, *et al.* Changes in the concentrations of creatinine, cystatin-C and NGAL in patients with acute paraquat self-poisoning[J]. Toxicol Lett, 2011, 202(1): 69-74. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.01.024.

[14] Han WK, Waikar SS, Johnson A, *et al.* Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2008, 73(7): 863-869. DOI: 10.1038/sj.ki.5002715.

[15] 池锐彬, 罗醒政, 邓宇珺. uNGA 联合血肌酐预测重症患者急性肾损伤的临床价值[J]. 中国血液净化, 2017, 16(5), 303-306. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4091.2017.05.005.

Chi RB, Luo XZ, Deng YJ. Clinical value of urinary NGA associated with serum creatinine in predicting acute kidney injury in critically ill patients[J]. Chin J Blood Purif, 2017, 16(5), 303-306. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4091.2017.05.005.

(编辑: 王彩霞)