

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.14.024
文章编号: 1005-8982 (2019) 14-0110-04

甲壳质酶蛋白 40 对肾结核的 诊断效能及关系研究

陈怀安, 刘硕, 李秀君, 王哲, 张潮, 李凤岐, 苗文隆
(河北北方学院附属第一医院 泌尿外科, 河北 张家口 075000)

摘要: 目的 研究血清甲壳质酶蛋白 40 (YKL-40) 水平对肾结核的诊断效能, 分析其与肾结核的关系。**方法** 选取 2012 年 8 月—2017 年 8 月河北北方学院附属第一医院收治的 46 例肾结核患者作为结核组, 另选取同期来院体检的 46 例健康志愿者作为对照组。观察两组血清 YKL-40 水平, 分析 YKL-40 对肾结核的诊断价值。**结果** 研究组血清 YKL-40 水平高于对照组 ($P < 0.05$); 病变组织 YKL-40 水平高于周围健康组织 ($P < 0.05$)。实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检出肾结核阳性患者 30 例 (32.61%), YKL-40 检出阳性患者 44 例 (47.83%), YKL-40 检出肾结核阳性率高于 PCR ($P < 0.05$)。YKL-40 检测 ROC 曲线下面积为 0.930, PCR 检测 ROC 曲线下面积为 0.790, YKL-40 检测 ROC 曲线下面积大于 PCR ($P < 0.05$)。**结论** YKL-40 检测对肾结核诊断效能较高。

关键词: 结核, 肾; 诊断; ROC 曲线

中图分类号: R586.9

文献标识码: A

Relationship between YKL-40 and renal tuberculosis

Huai-an Chen, Shuo Liu, Xiu-jun Li, Zhe Wang, Chao Zhang, Feng-qi Li, Wen-long Miao
(Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University,
Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

Abstract: Objective To study the diagnostic efficacy of serum chitosanase 40 (YKL-40) in patients with renal tuberculosis and to analyze its relationship with renal tuberculosis. **Methods** Forty-six patients with renal tuberculosis who were admitted to our hospital from August 2012 to August 2017 were selected as the tuberculosis group. The other 46 healthy volunteers who were examined in our hospital during the same period were selected as the control group. The levels of serum YKL-40 were observed in two groups and the diagnostic value of YKL-40 in renal tuberculosis was analyzed. **Results** The levels of serum YKL-40 in the study group were significantly higher than those in the control group ($t = 7.168, P = 0.000$). The levels of YKL-40 in the lesions of patients with renal tuberculosis were significantly higher than those in surrounding healthy tissues ($t = 4.112, P = 0.000$). 30 cases (32.61%) were positive for renal tuberculosis determined by PCR, and 62 cases (67.39%) were negative. However, the positive rate of YKL-40 in detecting renal tuberculosis was higher than that of PCR ($P < 0.05$). The area under the ROC curve of YKL-40 was 0.930, under the ROC curve of PCR was 0.790, and under the ROC curve of YKL-40 was larger than that of PCR ($P < 0.05$). **Conclusions** YKL-40 has higher diagnostic efficacy for renal tuberculosis.

Keywords: tuberculosis, renal; diagnosis; ROC curve

收稿日期: 2019-01-19

[通信作者] 刘硕, E-mail: liushuo1970@163.com; Tel: 15530396742

泌尿结核是最常见的肺外结核, 近年来随着耐药结核菌株的出现, 其发生率呈上升趋势, 其中肾结核最为常见且最早发生。1989 年, HANCE 将尿聚合酶链反应 (PCR) 技术应用于结核杆菌检测, 但由于技术原因存在局限性, 易导致 DNA 污染致假阳性, 而且若结核菌未排入尿中, 必然导致假阴性^[1-3]。本文探讨甲壳质酶蛋白 40 (YKL-40) 水平与肾结核的关系, 分析 YKL-40 对肾结核的诊断效能, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 8 月—2017 年 8 月河北北方学院附属第一医院收治的 46 例肾结核患者作为研究组, 另选取同期来院体检的 46 例健康志愿者作为对照组。研究组: 男性 29 例, 女性 17 例; 年龄 31 ~ 76 岁, 平均 (52.2 ± 4.5) 岁。对照组: 男性 30 例, 女性 16 例; 年龄 30 ~ 78 岁, 平均 (52.5 ± 4.6) 岁。纳入标准: ①经检查和诊断符合肾结核诊断标准^[4]并经病理诊断核实; ②自愿参加本研究。排除标准: ①有其他结核疾病; ②合并其他对研究有影响的严重疾病。两组一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 YKL-40 检测 所有研究对象晨起抽取空腹静脉血 3 ml, 3 000 r/min 离心 15 min 收集上层血清。采用酶联免疫吸附法检测研究对象血清 YKL-40 水平, 试剂盒由美国 Quidel 公司提供, 检测过程中严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR)

①仪器和试剂: 采用由德国 Gene 公司生产的 Rotorgene 3000 qRT-PCR 仪进行检测, DNA 提取试剂盒由美国 Sigma 公司生产, 德国 Gene 公司提供 SYBR 实时定量试剂。以 β -actin 为内参, 以特异性结合分支杆菌插入序列 IS6110 为目的基因。 β -actin 正向引物: 5'-AGTTGCGTTACACCCTTTCTTG-3'; 反向引物: 5'-TCACCTTCACCGTTCCAGTTT-3'。结核杆菌正向引物: 5'-TTGGAAGGATGGGGTCA-3'; 反向引物: 5'-CGCAGCCAACACCAAGTAG-3'。所有引物由日本 TaKaRa 公司设计合成。②检测方法: 按试剂盒操作说明书进行 DNA 提取及标准品制备。反应条件: 95 °C 预变性 2 min, 95 °C 变性 15 s, 58 °C 退火 30 s, 68 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。所得结果以阴阳性表示。阳性: Ct 值 \leq 35。每个标准点进行 3 次重复测量, 取

平均值, 每次实验设立空白对照组。

1.3 观察指标

观察两组血清 YKL-40 水平, 观察肾结核患者病变组织和周围健康组织 YKL-40 表达水平。对比 PCR 检测方法, 分析 YKL-40 水平检测对肾结核患者的诊断效能。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验; 计数资料以率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验; 绘制 ROC 曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 YKL-40 表达水平比较

研究组与对照组血清 YKL-40 水平分别为 (29.36 ± 6.52) 和 (20.06 ± 5.91) ng/ml, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t = 7.168, P = 0.000$), 研究组血清 YKL-40 水平高于对照组。

2.2 病变组织与周围健康组织 YKL-40 表达水平比较

肾结核病变组织与周围健康组织 YKL-40 表达水平分别为 (31.52 ± 6.87) 和 (26.15 ± 5.59) ng/ml, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t = 4.112, P = 0.000$), 病变组织 YKL-40 水平高于周围健康组织。

2.3 YKL-40 与 qRT-PCR 检出肾结核阳性率比较

YKL-40 与 qRT-PCR 检出肾结核阳性率比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.817, P = 0.000$), YKL-40 检出肾结核阳性率高于 PCR。见表 1。

表 1 YKL-40 与 qRT-PCR 检出肾结核阳性率比较

检测方式	病理检查 / 例		合计例 (%)
	+	-	
PCR			
+	28	2	30 (32.61)
-	18	44	62 (67.39)
YKL-40			
+	40	4	44 (47.83)
-	6	42	48 (52.17)
合计	46	46	92

2.4 YKL-40、qRT-PCR 对肾结核的诊断效能

YKL-40 ROC 曲线下面积为 0.930 (95% CI : 0.900, 0.969), 敏感性为 76.09% (35/46), 特异性为 91.30% (42/46), 阳性预测值为 50.85% (30/59), 阴性预测值为 96.97% (32/33)。qRT-PCR ROC 曲线下面积为 0.790 (95% CI : 0.736, 0.849), 敏感性为 82.61% (38/46), 特异性为 63.04% (29/46), 阳性预测值为 20.00% (11/55), 阴性预测值为 97.30% (36/37)。YKL-40 与 qRT-PCR ROC 曲线下面积比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=4.348, P=0.000$); YKL-40 ROC 曲线下面积大于 PCR。见图 1、2。

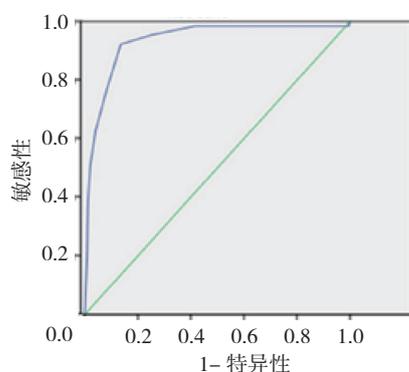


图 1 YKL-40 的 ROC 曲线

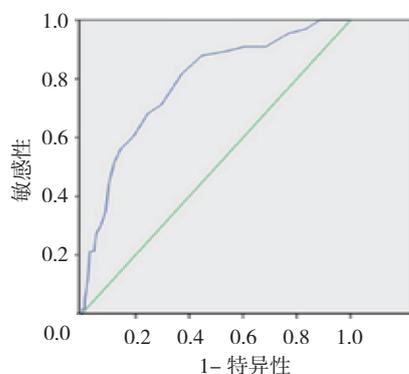


图 2 qRT-PCR 的 ROC 曲线

3 讨论

我国结核病人位居全球第 2 位, 是世界上结核病负担最重的国家之一, 尤其高发于偏远农村山区。泌尿系结核在张家口偏远农村山区易发、高发, 河北北方学院附属第一医院每年收治上百例泌尿系结核患者, 其中以肾结核最常见。临床发现肾结核均有影像学表现或临床症状, 单纯药物治疗已无法治愈, 需手术切除单侧肾脏才能治愈肾结核。所以, 如何早期发现肾结核, 早期药物治疗保留患者肾脏变得尤为重要。

YKL-40 又名人类软骨糖蛋白 39 或者壳多糖酶-3 样蛋白-1, 属于哺乳动物壳多糖酶样蛋白家族^[5]。YKL-40 蛋白最初是由 REJMAN 等^[6]于 1988 年从非分泌期牛乳腺分泌物的乳清蛋白中分离发现, 并于 1992 年由 JOHANSEN 等^[7]鉴定和命名。1993 年, HAKALA 等^[8]测出其完整的氨基酸及 cDNA 序列, 结果显示 YKL-40 是由 383 个氨基酸组成的单链多肽, N 末端 3 个氨基酸为酪氨酸 (Y)、赖氨酸 (K) 和亮氨酸 (L), 分子量为 40 kD, 所以称其为 YKL-40。YKL-40 从不同类型的细胞如巨噬细胞、中性粒细胞、间皮细胞、滑液成纤维细胞、平滑肌细胞和恶性肿瘤细胞释放^[9]。YKL-40 水平在炎症过程中升高, 可能在炎症相关细胞的趋化、蓄积和激活中发挥重要作用。YKL-40 通过细胞膜激活细胞内途径, 发挥几丁质传感器样作用, 趋化巨噬细胞并激活感染的抗炎反应^[10]。有多项研究分析肺结核、肺癌及其他原因导致胸腔积液以及血清中 YKL-40 的浓度, 结果不太一致, 但总体发现胸腔积液中高浓度 YKL-40 有可能区分渗出液与漏出液, YKL-40 胸腔积液 / 血清浓度之比有可能区分结核性与其他非结核性胸腔积液, 证明 YKL-40 对局部炎症有提示性诊断价值^[11]。

关于肾病, 目前只在肾移植后患者中分析 YKL-40 与肾损伤的关系, 发现尿中或血清 YKL-40 浓度与进行性肾损伤相关, 可能是肾移植患者群体心血管损伤发病的原因^[12-13]。目前尚未见 YKL-40 在肾结核患者中表达的研究。本文通过分析 YKL-40 在肾结核和正常对照个体血清中的浓度以及在肾结核组织中的表达情况, 并与 qRT-PCR 方法诊断价值进行比较。结果显示, 相对于健康人群来说, YKL-40 在肾结核患者血清中的表达水平升高。而在比较肾结核患者病变组织和周围健康组织 YKL-40 的表达水平时发现, 病变组织 YKL-40 水平也高于健康组织。表明 YKL-40 可能参与肾结核的发生过程。YKL-40 与 qRT-PCR 诊断肾结核一直是临床研究的重点, 由于 YKL-40 是近年来出现的诊断指标, 部分学者仍然习惯性采用 qRT-PCR 进行检测, 认为 qRT-PCR 对肾结核诊断率较高。但在比较 YKL-40 和 qRT-PCR 诊断对肾结核时发现, qRT-PCR 检出肾结核阳性率 32.61%, YKL-40 检出肾结核阳性率 47.83%, YKL-40 检出肾结核阳性率高于 qRT-PCR。比较两种诊断方法对肾结核诊断效能时发现, YKL-40 对肾结核的诊断效能优于 qRT-PCR。YKL-40 可能是通过多种机制在肾结核的

发生发展中起到作用, 可有效反映肾结核的活动及病变范围, 相对于 qRT-PCR 检测效果更佳。

综上所述, YKL-40 的检测对肾结核患者的诊断效能较高。

参 考 文 献:

- [1] 李建民, 刘志光, 龙小平, 等. YKL-40 在结核性胸腔积液中的临床价值 [J]. 湖南师范大学学报 (医学版), 2015, 12(3): 53-55.
- [2] 杨阳, 杨晶晶, 宁宁, 等. YKL-40 和 IL-6 在结肠癌组织中表达变化的研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(6): 727-729.
- [3] 温杰冉, 黎国梅, 谢永平, 等. COPD 患者加重期与稳定期 YKL40 水平变化研究 [J]. 中国医药科学, 2016, 6(15): 136-139.
- [4] 马越, 吴帅, 蔡晓岚, 等. 类几丁质酶 YKL-40 及 Toll 样受体 4 在慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉与不伴鼻息肉患者中表达的差异 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 50(4): 300-305.
- [5] 张永芳, 廖建华, 蒲元林, 等. 反复肺炎患儿体内免疫应答, 炎症反应与 YKL-40 含量的相关性分析 [J]. 海南医学院学报, 2018, 24(11): 1093-1096.
- [6] REJMAN J J, HURLEY W L. Isolation and characterization of a novel 39 kilo dalton whey protein from bovine mammary secretions collected during the non-lactating period[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1988, 150: 329-334.
- [7] JOHANSEN, J S, WILLIAMSON, M K, RICE, J S, et al. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture[J]. J Bone Miner Res, 1992, 7: 501-512.
- [8] HAKALA B E, WHITE C, RECKLIES A D. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family[J]. J Biol Chem, 1993, 268: 25803-25810.
- [9] 刘丹, 李杰, 李浩, 等. 瑞舒伐他汀联合参麦注射液治疗 AMI 患者临床疗效及对血清 YKL-40 NF- κ B 水平和免疫功能的影响 [J]. 中国急救医学, 2017, 37(8): 705-708.
- [10] 张德建, 孙耕耘. YKL-40 和 CEA 在恶性胸腔积液诊断中的应用价值 [J]. 重庆医学, 2015, 44(35): 4950-4952.
- [11] 贺元, 廖明芳 (综述), 曲乐丰 (审校), 等. YKL-40 在炎症性疾病中的作用及其信号通路研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2016, 29(8): 883-888.
- [12] 唐承璐, 刘慧敏, 吕小红, 等. 血清 YKL-40, CEA, CA72-4 联合检测对结肠癌的诊断价值 [J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(4): 645-646.
- [13] 王玮, 王旭生, 张帆, 等. 急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块稳定性与血清 YKL-40 水平的相关性研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2015, 32(8): 712-714.

(唐勇 编辑)