

YKL-40 在肾结核患者中的表达及临床意义

陈怀安¹ 刘硕¹ 王哲¹ 张潮¹ 李凤岐¹ 苗文隆¹

[摘要] 目的:探讨 YKL-40 在肾结核患者中的表达及临床意义。方法:选取 2016 年 1 月~2018 年 1 月我院 108 例新入院肾结核患者为观察组,另选取同期来我院体检的 110 例健康人群为对照组,采用 ELISA 方法检测两组患者的尿和血清中 YKL-40 浓度。另外收集肾结核术后病变组织及病变周围正常组织的病理石蜡标本各 25 例,通过免疫组化分析方法分析 YKL-40 的表达。同时进行尿结核杆菌 PCR 检测,绘制 ROC 曲线,与尿 YKL-40 浓度的检出率进行比较。结果观察组血清和尿 YKL-40 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);免疫组化分析发现,YKL-40 在术后肾结核病变组织内的表达水平明显高于周围正常组织($P < 0.05$)。尿 YKL-40 检测 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.93,PCR 检测的 AUC 为 0.79,差异有统计学意义($Z = 4.348, P < 0.01$)。结论:血清和尿液 YKL-40 可作为早期诊断肾结核的生物标志物,但由于缺乏足够的特异性,建议与 PCR 等多种金标准检测相结合,为肾结核的早期诊断提供理论依据。

[关键词] 肾结核;血清;YKL-40;尿液;免疫组化;组织表达

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2019.12.006

[中图分类号] R527.1 **[文献标志码]** A

Expression of YKL-40 in patients with renal tuberculosis and its clinical value

CHEN Huaian LIU Shuo WANG Zhe ZHANG Chao LI Fengqi MIAO Wenlong

(Department of Urology, First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, 075000, China)

Corresponding author: LIU Shuo, E-mail: liushuo1970@163.com

Abstract Objective: To investigate the expression of YKL-40 in patients with renal tuberculosis and its clinical value. **Method:** One hundred and eight newly admitted patients with renal tuberculosis who were admitted from January 2016 to January 2018 in our hospital were selected as the observation group. One hundred and ten healthy people who admitted to our hospital for physical examination were selected as the control group. ELISA was used to detect the YKL-40 concentrations in urine and serum from subjects of the two groups. In addition, 25 cases of paraffin specimens of renal tuberculosis tissue and normal tissues surrounding the lesion were collected, and the expression of YKL-40 was analyzed by immunohistochemical analysis. Simultaneously, PCR detection of Mycobacterium tuberculosis was performed, and the ROC curve was drawn and compared with the detection rate of urine YKL-40 concentration. **Result:** The serum and urine YKL-40 levels in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The expression level of YKL-40 in the renal tuberculosis lesions was significantly higher than that in the surrounding healthy tissues by immunohistochemical analysis ($P < 0.05$). The area under the ROC curve of YKL-40 detection was 0.93, and the area under the ROC curve of PCR detection was 0.79. The difference was statistically significant ($Z = 4.348, P < 0.01$). **Conclusion:** Serum and urine YKL-40 can be used as biomarkers for early diagnosis of renal tuberculosis. However, due to lack of sufficient specificity, it is recommended to combine with various gold standard tests such as PCR to provide a theoretical basis for early diagnosis of renal tuberculosis.

Key words renal tuberculosis; serum; YKL-40; urine; immunohistochemical; tissue expression

在泌尿系统结核中,以肾结核最为常见且最早发生,然后逐步蔓延整个泌尿系统,该疾病所带来的疼痛往往会对患者的生活质量造成严重影响^[1]。目前临床针对肾结核的诊断主要依据细菌学检查,但此方法应用存在较多缺陷,越来越多的人致力于寻找新型肾结核诊断方法^[2]。YKL-40 又名人类

软骨糖蛋白 39(human cartilage glycoprotein-39, HCgp-39)或者壳多糖酶-3 样蛋白-1(chitinase-3-like protein 1, CHI3L1),属于哺乳动物壳多糖酶样蛋白家族,目前 YKL-40 已被认为是一种在多组织及肝脏内表达的壳多糖酶样蛋白,并被报道为纤维化标志物,在肿瘤、慢性肝病中出现相关报道,但在肾结核中尚未见报道^[3],缺乏可靠依据。因此我们通过分析 YKL-40 在尿和血清中的浓度以及在肾结核组织中的表达情况,并与 PCR 方法的诊断

¹河北北方学院附属第一医院泌尿外科(河北张家口, 075000)

通信作者:刘硕, E-mail: liushuo1970@163.com

价值进行比较,希望为早期诊断肾结核并初步分析其与肾结核的关系提供依据,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2016 年 1 月~2018 年 1 月我院 108 例新入院肾结核患者为观察组,其中男 69 例,女 39 例;年龄 18~65 岁,平均 (41.51 ± 5.28) 岁;单侧肾结核 79 例,双侧肾结核 29 例。另选取同期来我院体检的 110 例健康人群为对照组,其中男 72 例,女 38 例;年龄 18~67 岁,平均 (41.78 ± 5.15) 岁。纳入标准^[4]:①均符合肾结核诊断标准;②对本次研究项目知情同意;③无其他重要脏器功能受损;④意识清醒。排除标准:①严重高血压病、感染患者;②心脑血管病变;③肝功能不全者;④妊娠及哺乳期妇女;⑤近期使用过肾毒性药物者。另外收集肾结核术后病变组织及肾脏病变周围正常组织的病理石蜡标本各 25 例,通过免疫组化方法分析 YKL-40 的表达。所选对象均自愿参与,本研究获得我院医学伦理委员会批准。两组患者的一般资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血清和尿中 YKL-40 浓度测定 收集两组患者入院当天晨尿和抗凝血标本,要求其隔夜空腹 10 h 以上,静脉抽血,离心收集上清,将血清分装到干净的试管中,并保存在 -80°C 的冰箱中,直至分析;取晨尿 10 ml,3 000 r/min 离心 15 min,取上层清液 5 ml 移至无菌试管中,同样保存在 -80°C 的冰箱中,将标本于 48 h 内室温下复融,应用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测标本中 YKL-40 浓度,ELISA 试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司。

1.2.2 组织中 YKL-40 表达分析 收集肾结核术后病变组织及肾脏病变周围正常组织的病理石蜡标本,切成 $5\ \mu\text{m}$ 切片,采用免疫组化 SP 法检测组织中 YKL-40 的表达,兔抗人 YKL-40 多克隆抗体(实验时稀释倍数为 1:100)购自 Usenlife 公司,SP9001 试剂盒购自北京中杉金桥公司。

1.2.3 尿结核杆菌 PCR 检测 仪器 LightCycler

全自动荧光定量基因扩增仪购自罗氏公司,试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司。取观察组和对照组尿液标本底部 10~15 ml,置于离心管中进行离心,弃上清,静置沉淀加无菌生理盐水 1 ml 打匀,再进行重复上述步骤,最后插入圆形卡盘倒置 20 s 后放入一起中进行循环扩增。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以 % 表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。绘制 ROC 曲线,比较对照组和观察组分别采用尿 YKL-40 浓度和尿 PCR 检测方法的检出情况。

2 结果

2.1 两组患者血清和尿 YKL-40 的水平比较

观察组血清和尿 YKL-40 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者血清和尿 YKL-40 的水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	血清 YKL40 /(ng · ml ⁻¹)	尿液 YKL40 /(pg · ml ⁻¹)
对照组($n=110$)	26.23±10.19	25.37±6.08
观察组($n=108$)	50.36±15.27	272.72±48.59
t	13.747	52.972
P 值	<0.05	<0.05

2.2 YKL-40 在肾结核组织内的表达情况

免疫组化染色结果由专业人员阅片,YKL-40 表达在胞浆内。阳性细胞染色强弱(记为 a):未着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。每张切片选取 5 个典型高倍镜视野(HPF),根据阳性细胞在全部组织细胞中所占比例计算阳性细胞百分比(记为 b):1%~10%为 1 分,11%~50%为 2 分,51%~80%为 3 分,81%~100%为 4 分。最后以 a+b 进行半定量分析:0 为-,1~2 分为+,3~5 分为++,6~7 分为+++。发现 YKL-40 在肾结核病变组织内的表达水平明显高于周围正常组织($P < 0.05$),见表 2。

表 2 YKL-40 在肾结核组织和结核周围正常组织内的表达情况

组别	—	+	++	+++	合计
肾结核病变组织	0	3(12.0)	12(48.0)	10(40.0)	25(100.0)
周围正常组织	20(80.0)	5(20.0)	0	0	25(100.0)
合计	20	8	12	10	50

2.3 尿 YKL-40 浓度与尿 PCR 检测方法对肾结核诊断的敏感性和特异性比较

对 108 例新入院肾结核患者展开调查,采用尿

ELISA 方法检测 YKL-40 浓度的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.93(95%CI:0.900~0.969),用于肾结核诊断有统计学意义($P < 0.01$)。尿 YKL-40

浓度对肾结核诊断的敏感性为 76.92%,特异性为 91.70%,阳性预测值为 51.02%,阴性预测值为 97.23%,见图 1;尿 PCR 检测的 AUC 为 0.79 (95%CI:0.736~0.849),用于肾结核诊断有统计学意义($P<0.01$)。尿 PCR 检测对肾结核诊断的敏感性为 83.08%,特异性 62.80%,阳性预测值为 20.15%,阴性预测值为 97.04%,见图 2。YKL-40 检测和 PCR 检测的 AUC 比较差异有统计学意义($Z=4.348, P<0.01$)。

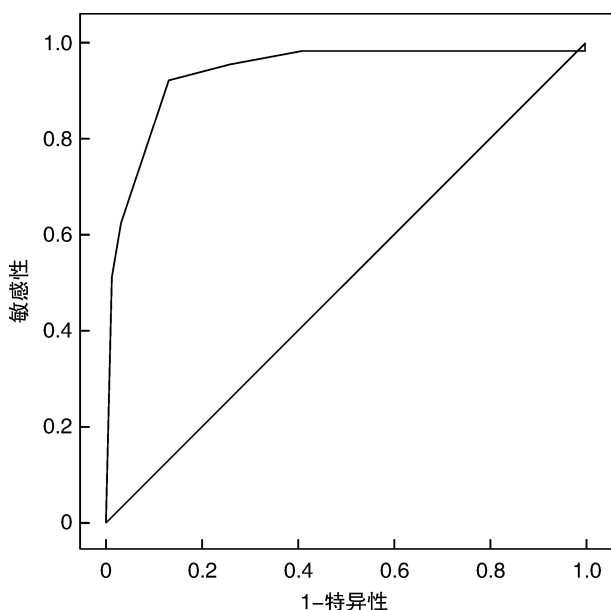


图 1 尿 ELISA 检测 YKL-40 浓度的 ROC 曲线

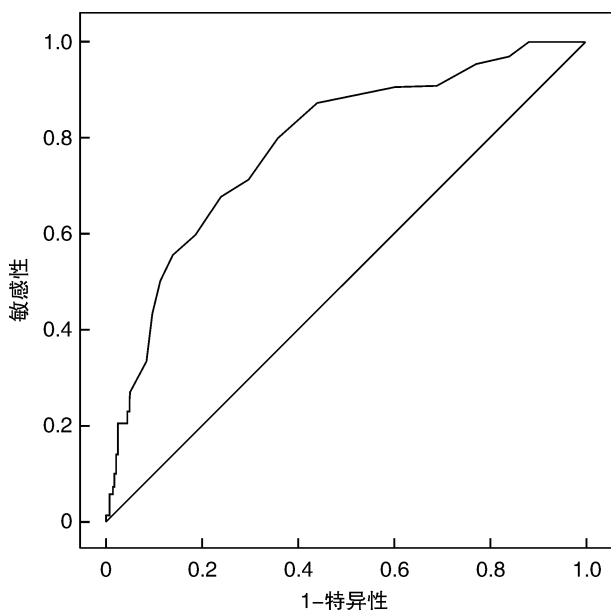


图 2 尿 PCR 检测的 ROC 曲线

3 讨论

我国结核病患者人数居全球第 2 位,是世界上

结核病负担最重的国家之一,尤其偏远农村山区高发,泌尿系结核在张家口偏远农村山区易发、高发,我院每年收治泌尿系结核上百例,其中以肾结核最多见,该病多表现为局部症状,全身症状较为少见^[5,6]。肾结核早期若未得到及时有效的治疗,随病情发展将会破坏其泌尿系统功能,逐渐丧失肾脏功能,严重甚至需要切除患侧肾脏,对患者的身心健康造成巨大影响^[7,8]。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。目前常用的检查诊断方法包括静脉尿路造影、CT、超声等检查,其虽能在一定程度上检出典型肾结核病例,但想要达到早期诊断非典型肾结核效果仍不理想^[9,10]。

YKL-40 的正式命名是在 1993 年, Hakala 等^[11]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 kDa,所以称其为 YKL-40。有多项研究分析肺结核、肺癌及其他原因导致的胸腔积液患者血清中的 YKL-40 的浓度升高^[12],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,从而证明了 YKL-40 对局部炎症有提示性诊断价值^[13]。本研究为探讨血清和尿液 YKL-40 在肾结核患者中的变化及临床意义,选取肾结核确诊患者与体检健康人群进行比较分析,发现观察组血清和尿 YKL-40 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。YKL-40 水平在炎症过程中升高,主要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,从而在炎症相关细胞的趋化、蓄积和激活中发挥重要作用,增加水平表达含量。随后本研究探讨其在肾结核组织内的表达情况发现, YKL-40 在肾结核病变组织内的表达水平明显高于周围正常组织,差异有统计学意义($P<0.05$),可见 YKL-40 在肾结核组织中呈高表达,可能参与了肾结核的发生发展,监测其水平能够有效反映肾结核的病变程度。此外为进一步探讨 YKL-40 对肾结核诊断的应用价值,将 YKL-40 检测与 PCR 检测结果进行对比发现,尿 ELISA 方法检测 YKL-40 浓度的 AUC 为 0.93, PCR 检测的 AUC 为 0.79,二者比较差异有统计学意义($Z=4.348, P<0.01$),其中 PCR 检测阳性预测值仅有 20.15%,而 YKL-40 检测阳性预测值为 51.02%,可见 YKL-40 检测阳性率更高。PCR 检测虽是诊断肾结核的关键,虽然尿标本简单易取,取样不会对患者造成痛苦以及增加感染的机会,但由于结核菌经尿排出少且是间歇性、随机

发生的,因此可能出现假阴性;另外因为该方法敏感,极微量的污染就可能造成假阳性结果。而 YKL-40 不仅具有与 PCR 检测相同的诊断价值与临床优势,同时也具有更高的灵敏性,这可能与 YKL-40 是从不同类型的细胞如巨噬细胞、中性粒细胞、间皮细胞、滑液成纤维细胞和平滑肌细胞有关。但 YKL-40 作为一个炎症反应的因子,并没有确定的组织特异性和疾病特异性,在诊断中应将此因子结合 PCR 检测共同分析。

综上所述,血清和尿液 YKL-40 水平变化在肾结核患者中具有重要的临床意义,分析血清和尿液中 YKL-40 浓度,可作为诊断早期肾结核的重要指标,但仍然需要与其他多项金标准检测联合进行分析以明确诊断肾结核。本文仍存在一定的局限性,如 YKL-40 的浓度与治疗反应之间的相关性无法评价,所选样本量相对较小,统计力量有限,有待扩大样本作深入研究分析。

[参考文献]

- 1 杨丽萍,张晓炜,张国华,等.急性脑梗死患者血清 YKL-40、hs-CRP 水平与颈动脉粥样硬化斑块的相关性研究[J].中风与神经疾病杂志,2013,30(4):306—308.
- 2 郭艳歌,张菲斐,邱春光,等.冠心病合并糖尿病患者血清 YKL-40 水平变化及其与冠脉病变的关系[J].实用医学杂志,2011,27(24):4414—4416.
- 3 韩金玉,邵滢,王秋月,等.2 型糖尿病患者血清 YKL-40 水平与尿白蛋白的相关性[J].中华内分泌代谢杂志,2014,30(3):225—227.
- 4 陈建文,周靖媛,张凯华,等.多系统萎缩患者血清 YKL-40 和 CD40 水平变化及相关性因素研究[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2016,23(6):385—388.
- 5 周新浪,陈达开,林治瓯,等.老年不稳定型心绞痛合并 2 型糖尿病患者血清 NF- κ B、YKL-40 水平和 Gensini 评分的变化[J].中国老年学杂志,2017,37(15):3716—3718.
- 6 陈启,马礼坤,孙向东,等.冠心病患者血清脂联素、YKL-40 水平的变化及其与冠状动脉病变程度的关系[J].蚌埠医学院学报,2010,35(4):361—363,366.
- 7 朱慧静,杨明明,程霖,等.不同程度糖尿病慢性肾脏疾病患者血清 YKL-40 水平变化及其临床意义的观察[J].中国糖尿病杂志,2015,23(8):720—722.
- 8 刘智勇,纪月岭,代晓微.后腹腔镜肾输尿管全长切除加经尿道膀胱袖状切除术治疗无功能肾结核的疗效观察[J].临床泌尿外科杂志,2016,31(1):50—52,58.
- 9 王焕,崔凯,徐可,等.2 型糖尿病肾病患者血清 YKL-40 与动脉粥样硬化的关系[J].中国中西医结合肾病杂志,2015,16(1):57—58.
- 10 王晶,樊松,汪小霞,等.不典型肾结核 29 例临床分析[J].临床泌尿外科杂志,2015,30(3):245—248.
- 11 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(34):25803—25810.
- 12 Egberts F, Kotthoff E M, Gerdes S, et al. Comparative study of YKL-40, S-100B and LDH as monitoring tools for Stage IV melanoma[J]. Eur J Cancer, 2012, 48(5):695—702.
- 13 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—55,56.

(收稿日期:2018-06-24)

(上接第 952 页)

- 21 Li G, Liu K, Du X. Long Non-Coding RNA TUG1 Promotes Proliferation and Inhibits Apoptosis of Osteosarcoma Cells by Sponging miR-132-3p and Upregulating SOX4 Expression[J]. Yonsei Med J, 2018, 59(2):226—235.
- 22 Guo P, Zhang G, Meng J, et al. Upregulation of long non-coding RNA TUG1 promotes bladder cancer cell proliferation, migration and invasion by inhibiting miR-29c[J]. Oncol Res, 2018, 26(7):1083—1091.
- 23 Han Y, Liu Y, Gui Y, et al. Long intergenic non-coding RNA TUG1 is overexpressed in urothelial carcinoma of the bladder[J]. J Surg Oncol, 2013, 107(5):555—559.

(收稿日期:2018-09-13)