

肾毒性生物标志物的研究进展及其意义

毕海燕^{1,2}, 刘 静², 侯衍豹², 张宗鹏^{2*}, 吕雄文^{1*}

1. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230000

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘 要: 药物肾毒性已成为医药界广泛关注的问题, 而生物标志物在早期诊断及干预过程中尤为重要。主要阐述肾小球损伤标志物(β 2-MG、CysC)、肾小管损伤标志物(clusterin、KIM-1、TFF-3、albumin)和其他生物标志物(NGAL、L-FABP、IL-18、OPN、microRNA等)对肾毒性早期诊断的意义及其优劣势, 为药物肾毒性评价提供新思路。

关键词: 肾毒性; 生物标志物; KIM-1; 白蛋白; NGAL; OPN

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)01-0207-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.01.033

Research progress and significance of biomarkers for nephrotoxicity

BI Haiyan^{1,2}, LIU Jing², HOU Yanbao², ZHANG Zongpeng², LÜ Xiongwen¹

1. College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230000, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Drug Safety Assessment Co., Ltd., Tianjin 300301, China

Abstract: Drug nephrotoxicity has become a widespread concern in the medical community, and biomarkers are particularly important in the process of early diagnosis and intervention. This review expounds mainly the significance of glomerular markers(β 2 microglobulin and cystatin C), tubular markers(clusterin, kidney injury molecule 1, trefoil factor-3, albumin) and other biomarkers (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, liver fatty acid binding protein, interleukin-18, osteopontin, microRNAs, etc.) in early diagnosis of nephrotoxicity, as well as their advantages and disadvantages, which provide new thoughts for evaluating the nephrotoxicity of drugs.

Key words: nephrotoxicity; biomarkers; KIM-1; albumin; NGAL; OPN

肾脏由于其功能和解剖学特点,是药物毒性的主要靶器官之一,药物导致的急性肾损伤约占所有肾损伤病例的33%。目前,临床用于肾毒性的诊断方法是以急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)诊断标准为依据,即肾功能急剧下降,48 h内血清肌酐(serum creatinine, SCr)升高到损伤前的1.5倍或增加26.4 μ mol/L,和(或)尿量 <0.5 mL/(kg $\cdot$ h)持续6 h以上^[1]。但依靠SCr诊断AKI存在以下局限性:SCr是肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)依赖指标,不能反映肾小管的损伤情况,其在血液中蓄积只与GFR降低相关,且只有当GFR下降超过50%时SCr才开始升高,此时AKI已发生,因此依靠SCr诊断AKI明显滞后;SCr水平变化易受年

龄、性别、种族、肌肉代谢和蛋白质摄入等因素的影响。尿量则更易受循环血量、脱水剂、利尿剂应用以及尿路梗阻等因素的影响^[2]。因此需要特异性更高灵敏度更强的生物标志物用于早期肾毒性诊断。

美国食品药品监督管理局(FDA)和欧洲药物管理局(EMA)已批准了几种用于药物临床前安全性评价的肾毒性生物标志物,其中 β 2-微球蛋白(β 2-MG)、血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(CysC)作为药物肾小球损伤(或肾小管重吸收障碍)生物标志物;丛生蛋白(clusterin)、肾损伤分子-1(KIM-1)、三叶因子-3(TFF-3)和白蛋白(albumin)作为药物肾小管损伤生物标志物^[3]。部分尿酶如N-乙酰- β -氨基葡萄糖苷酶(NAG)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、碱性磷

收稿日期: 2018-09-19

基金项目: 国家科技重大新药创制项目(2015ZX09501004);天津市科技计划项目(16PTGCCX00090)

第一作者: 毕海燕(1992-),女,硕士研究生。E-mail: bhyezi@126.com

*通信作者: 吕雄文,男,教授,硕士生导师。E-mail: lxw31288@aliyun.com
张宗鹏,男,研究员 E-mail: zhangzp@tjipr.com

酸酶(AP)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)也可以及早且快速诊断肾损伤。除此之外,中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、肝脏脂肪酸结合蛋白(L-FABP)、白细胞介素 18(IL-18)、周期阻滞生物标志物(TIMP-2 和 IGFBP-7)、骨桥蛋白(OPN)、视黄醇结合蛋白(RBP)、神经生长因子(Netrin-1)、microRNA 等在预测肾损伤方面也存在潜在优势。

1 肾小球损伤生物标志物

1.1 β 2-微球蛋白(β 2 microglobulin)

β 2-微球蛋白(β 2-M)相对分子质量为 1.18×10^4 ,是有核细胞表面表达的主要组织相容性类I类分子的轻链。正常情况下, β 2-M在细胞内经过合成、脱落、脱离重链的过程进入循环,经肾小球滤过,被近曲小管重吸收代谢^[4]。在嘌呤霉素和阿霉素引起的肾毒性研究中,尿 β 2-M诊断肾小球损伤的ROC曲线下面积为0.89,优于血清肌酐(0.55)和尿素氮(0.80)^[5]。临床上血清 β 2-M预测心脏手术后AKI有较高的潜能^[6]。然而 β 2-M作为生物标志物的缺点是在尿液不稳定,在室温和pH值<6的尿中迅速降解。

1.2 胱抑素C(cystatin C)

CysC是有核细胞以恒定速率产生的非糖基化半胱氨酸蛋白酶抑制剂,不与血浆蛋白结合,由肾小球自由过滤,被近端小管重吸收并降解^[4]。血浆CysC水平与性别、种族、肌肉质量无关,但可能受甲状腺功能紊乱、吸烟、炎症、癌症和糖皮质激素等因素的影响^[7-8]。CysC达到稳态比血清肌酐快3倍^[9],一些研究已经证明,急性肾损伤中CysC水平增加可能比SCr提前1~2 d^[10-12]。然而,Togahsi等^[13]利用顺铂致大鼠肾小管损伤,发现血清CysC水平升高不明显,尿液CysC却可以预测由顺铂导致的大鼠早期肾小管损伤。因此,血清CysC可能主要预测肾小球毒性而非肾小管毒性。此外,CysC和白蛋白均被近端小管巨蛋白内吞而重吸收,因而当蛋白尿存在时可能竞争性抑制CysC的重吸收,增加其尿排泄^[14]。因而对于持续尿蛋白增加患者,尿CysC诊断并不可靠。

2 肾小管损伤标志物

2.1 丛生蛋白(clusterin)

clusterin是一种糖基化蛋白,由多种器官的上皮细胞产生。肾损伤后肾小管上皮细胞产生clusterin,发挥其抗凋亡、脂质再循环、细胞聚集和黏附的作用。研究显示,比格犬顺铂给药8 d后尿clusterin水平显著升高,灵敏度远高于血清肌酐和

尿素氮^[15]。此外,在庆大霉素诱导的大鼠肾损伤研究中,尿clusterin水平的升高持续到肾损伤恢复前期^[16],因此认为clusterin可能参与肾损伤的恢复过程。

2.2 肾损伤分子1(KIM-1)

KIM-1是一种I型跨膜蛋白,肾脏局部缺血或毒性损伤后,其在去分化近端小管细胞中表达上调^[17-18]。KIM-1被认为在上皮损伤修复的去分化过程中起作用,也可特异性识别凋亡肾小管上皮细胞上的磷脂酰丝氨酸抗原,与其结合后可吞噬小管腔中的凋亡和坏死物质^[19]。KIM-1脱落可以通过p38丝裂原活化蛋白激酶信号通路促进生长因子产生,参与细胞的增殖和修复。在大鼠草甘膦类除草剂肾毒性研究中,只有KIM-1在损伤8 h能较好地预测组织病理学变化^[20]。在顺铂诱导的肾毒性中,24 h尿KIM-1水平显著高于在3 d时达到高峰的SCr^[21]。此外,尿KIM-1还可用于AKI不良后果预测,其预测儿童AKI患者30 d和3个月死亡率的AUC分别为0.55和0.60^[22]。

KIM-1在尿液中极其稳定,且尿KIM-1水平与病理损伤程度一致,这些特性表明尿KIM对肾损伤的早期诊断有较高的价值。然而,KIM-1水平上升缓慢,常滞后于肾损伤,并且可受持续性蛋白尿的影响^[23],从而降低其诊断肾损伤的特异性。

2.3 三叶因子-3(TFF3)

TFF3是由多种组织的上皮细胞和黏液生成细胞产生的一种肽类激素,相对分子质量为 7×10^3 。TFF3通过抑制细胞凋亡和促进细胞迁移参与上皮表面修复。一项研究对给予顺铂治疗的大鼠肾组织进行免疫组化评估发现TFF3表达水平显著降低^[24]。另有研究显示,从57例接受顺铂治疗的实体瘤患者中收集的尿液中发现TFF3水平在第10天升高2倍^[25]。由于在顺铂暴露条件下TFF3在大鼠肾脏和人类尿液中的表达存在差异,需要更多的研究来揭示肾毒性过程中TFF3表达的机制。

2.4 白蛋白(albumin)

白蛋白是一种高分子量蛋白质(6.65×10^4),肾小球和(或)肾小管损伤患者可被检测到。顺铂输注4 h后尿白蛋白浓度升高,4~10 d达到峰值,约2周开始下降^[26]。Vlasakova^[27]研究表明,KIM-1、clusterin和白蛋白对药物诱导的大鼠肾小管损伤的敏感性和特异性最高,而白蛋白在检测药物性肾小球损伤中表现最好。然而,尿白蛋白作为人类心血管和肾脏风险标志物已经得到证实,在收缩期心力

衰竭、炎症、剧烈运动或发烧等情况下,尿白蛋白水平也会升高^[28]。

3 尿酶类生物标志物

3.1 N-乙酰基-β-葡糖胺酶(NAG)

NAG是存在于近端和远端肾小管细胞的溶酶体酶,相对分子质量大于 1.30×10^5 。因其相对分子量较高因而不被肾小球滤过,尿NAG酶的活性增加提示可能存在肾小管细胞损伤,或无细胞损伤的酶活性增加^[29]。研究表明,亚临床和临床患者在顺铂治疗后3~5 d内尿NAG浓度增加,但尿NAG浓度不反映损伤程度,与接受顺铂的累积剂量也无相关性^[26]。Mishra^[30]研究发现,NAG预测AKI儿童患者死亡率的AUC为0.724,其对死亡率有中度的诊断能力。然而,生物标志物的联合应用可提高其诊断能力,在心脏外科手术AKI患者中将具有较高特异性的尿NAG(AUC=0.75)与具有较高敏感性的尿L-FABP(AUC=0.72)联合应用可使AUC值增加至0.81^[31]。

3.2 γ-谷氨酰转肽酶(GGT)与碱性磷酸酶(AP)

GGT和AP都是肾小管刷状缘酶,当微绒毛结构丧失,刷状缘膜有显著损伤时,释放到尿液中^[32]。GT和AP的排泄增加意味着近端小管上皮细胞的损伤。这两种肾脏标志物的研究数据相对较少,一项对一般ICU患者的前瞻性观测研究表明,在AKI 12 h后,当 $eGFR \geq 60 \text{ mL/min}$,GGT预测AKI的AUC ≥ 0.73 ^[33]。而另一项横断面研究显示,肝脏移植术前升高的GGT和AP都可作为术后AKI发生的风险因子^[34]。GGT和AP能否作为肾损伤诊断及预后的生物标志物还需要更多的前瞻性队列研究来进行验证。

3.3 谷胱甘肽-S-转移酶(GST)

GST蛋白家族分为 α 、 π 和 μ 三个主要亚类,主要参与自由基解毒,其中肾脏主要以 α 和 π 形式存在, α -GST位于近端小管而 π -GST位于远端小管,在肾小管上皮细胞受损的情况下,细胞质酶在尿中积累并可被检测^[35]。有研究表明,尿 π -GST预测体外循环术病人术后2 h发生AKI的AUC为0.620,优于尿 α -GST(AUC=0.56),将二者结合可提高 α -GST的预测能力^[36]。在已确诊的AKI患者中,尿 π -GST预测透析需求或死亡的能力较 α -GST好(AUC: 0.59 vs 0.56)^[37]。大多数文献表明, π -GST较 α -GST而言对肾损伤有着较好的预测能力。

4 其他肾毒性生物标志物

4.1 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)

NGAL属于脂蛋白家族,亦是一种铁血黄素。

NGAL与铁载体复合物螯合,限制细菌对铁的吸收。推测受损的肾小管释放不稳定铁螯合物,可以阻止羟基自由基和超氧物的形成^[14]。除了抑菌作用外,NGAL还具有抗凋亡,促进肾小管上皮细胞增殖的能力,是肾脏保护的潜在途径^[38]。NAGL是一个被大量研究的生物标志物,且其诊断及预后能力在不同条件下被评估。有研究显示肾损伤3 h后尿液中NAGL浓度开始升高,损伤6 h NAGL浓度达峰值,肾损伤5 d后尿NAGL仍持续处于高水平^[39]。尿NGAL可以识别铂类似物治疗后AKI,对顺铂、卡铂和奥沙利铂的化疗反应,尿NGAL浓度增加分别为基线2.3倍、2.7倍和1.5倍^[40]。NGAL也被用于预测肾移植后肾功能延迟及儿童和成人造影剂肾病^[41]。

NGAL被认为是辅助诊断肾毒性的强有力标志物,但血清NGAL和尿NGAL水平在炎症和感染情况下也升高^[42]。因此,需更多的研究揭示肾毒性引起NGAL上调的机制。

4.2 肝脏脂肪酸结合蛋白(L-FABP)

肝脏脂肪酸结合蛋白(liver fatty acid binding protein, L-FABP)来自脂质结合蛋白家族,相对分子质量为 1.4×10^4 。L-FABP可能是氧化应激过程中重要的细胞抗氧化剂,通过促进细胞内代谢和尿排出来维持肾小管细胞质低水平的游离脂肪酸^[10]。位于近端小管的L-FABP还通过减轻 H_2O_2 诱导的氧化应激发挥细胞保护作用,可将结合的毒性过氧化物酶产物排泄到管腔中^[43]。在缺血条件下,肾小管L-FABP基因被诱导表达,近端肾小管重吸收L-FABP减少。Nakamura^[44]研究表明,人类L-FABP转基因(TG)小鼠在给予头孢氯啶、顺铂后中,L-FABP的尿排泄量增加。另有研究显示,肾前损伤ICU病人的尿L-FABP水平较无AKI病人明显升高^[45],尿L-FABP对发生AKI的心脏外科手术小儿患者也有着较高的辨识能力^[46]。

由于L-FABP在肝脏中表达,当共存肝病时,尿L-FABP可能对肾脏疾病失去特异性。对于尿白细胞增多、血尿及全身炎症反应对尿L-FABP诊断肾损伤几乎没有影响^[42]。在此种情况下,尿L-FABP比尿NGAL有着更优的预测能力。

4.3 白细胞介素18(IL-18)

白细胞介素18(interleukin-18, IL-18)是由肾小管上皮细胞和巨噬细胞产生的促炎性细胞因子,相对分子质量为 2.2×10^4 。在缺血再灌注损伤导致的AKI中,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1介导Pro-IL-18向活性IL-18的转化,活性IL-18由肾小管细胞释

放,介导肾实质中性粒细胞浸润^[10]。因此,可以看出IL-18在AKI进展期发挥促使AKI进一步恶化的作用。动物实验表明,IL-18基因缺陷小鼠可以免受缺血-再灌注诱导的AKI^[47]。血清IL-18对AKI具有中度的诊断价值,预测AKI发生的AUC为0.696^[48],但血清IL-18对脓毒症致AKI具有优良的诊断价值,ROC曲线下面积(AUC)为0.719优于SCr(AUC=0.677)^[49]。此外,尿IL-18在急性肾小管坏死和肾移植后肾功能延迟患者中也明显升高^[50]。Faubel^[51]研究显示,顺铂诱导的AKI小鼠肾脏IL-18水平升高,提示IL-18也可以应用于药物诱导的肾损伤。然而,IL-18作为肾毒性AKI潜在标志物还需要更多实验验证。

IL-18水平在脓毒血症、关节炎、炎性肠病、系统性红斑狼疮、银屑病、肝炎和多发性硬化等情况下增加。这个属性降低其特异性,显著限制了其运用^[52]。不难看出,IL-18作为肾毒性生物标志物的限制性主要来源于其作为炎症因子的特性。

4.4 骨桥蛋白(OPN)

OPN是一种糖蛋白,除了在骨骼和上皮中高表达外,还广泛表达于内皮细胞、血管平滑肌、巨噬细胞和活化的T细胞,参与生物矿化、组织重塑、细胞黏附、迁徙等^[53]。在大鼠毒理学研究中,OPN鉴定药物诱导的肾小管上皮变性坏死的能力均优于肌酐和尿素氮^[54],可作为顺铂治疗大鼠肾毒性研究的良好生物标志物^[55]。然而,尿液OPN增加并不特异于肾损伤,在对乙酰氨基酚诱导的肝损伤小鼠中尿OPN也明显增加^[56]。

4.5 周期阻滞生物标志物

胰岛素样生长因子结合蛋白7(insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7)和金属蛋白酶组织抑制剂-2(tissue inhibitor of metalloproteinase 2, TIMP-2)都是G₁细胞周期阻滞生物标志物,这些细胞周期阻滞蛋白在受损的肾小管细胞中合成和分泌,通过结合内皮细胞表面的 α 3 β 1整合蛋白,阻断内皮细胞增殖及血管生成^[57],并影响参与肿瘤抑制和细胞衰老的胰岛素生长因子的生物利用度^[58]。研究报道,IGFBP7也可用于预测肾功能恢复、AKI严重程度、肾脏替代治疗,且比NGAL更加准确^[59]。有研究评估了340种候选生物标志物对危重病人发生AKI风险的预测能力,结果表明,尿TIMP-2和IGFBP7比其他生物标志物(特别是NGAL、IL-18、L-FABP和KIM-1)更具优势^[60]。[TIMP-2 $\times$ IGFBP7]即TIMP-2浓度与IGFBP7浓度

的乘积,是极具有应用前景的指标。尿[TIMP-2 $\times$ IGFBP7]对儿童心脏手术后、脓毒症患者和高危手术患者发生AKI具有良好预测能力,并且研究表明[TIMP-2 $\times$ IGFBP7]的截断值在0.3~2时12 h内有中度至高度的AKI风险,[TIMP-2 $\times$ IGFBP7]截断值大于2有着极高的AKI风险^[61-62]。对于药物诱导的肾损伤,研究发现,顺铂给药24 h后发生AKI的病人,IGFBP7浓度没有变化,而TIMP2水平则增加了1.1倍^[63]。另一项研究表明,在顺铂治疗后第3天和第10天,TIMP2或IGFBP7以及[TIMP-2 $\times$ IGFBP7]与基线相比无明显变化^[64]。TIMP2和IGFBP7对药物诱导AKI的早期诊断能力需要更多的研究来进行验证。

4.6 视黄醇结合蛋白(RBP)

RBP由肝脏合成,相对分子量为2.1 $\times$ 104,在维生素A从肝脏运输到组织的过程中发挥重要作用。RBP经肾小球自由滤过后,由近端肾小管重吸收代谢。其灵敏度比 β 2M低,但比NAG高,在GFR未下降或轻微下降时,增加的RBP是肾小管损伤的一个重要的特殊指标,因此尿RBP可作为近端小管损伤早期检测的理想标志物^[4]。RBP水平升高可作为顺铂、铅、汞、镉和环孢霉素诱导的肾毒性的早期诊断指标。与其他低分子量蛋白相比,RBP产生速率恒定且在尿液pH值下稳定^[65]。然而,RBP作为维生素A转运体,RBP检测值在维生素A缺乏症患者中有所降低,并且作为肾损伤生物标志物对重度肾小球蛋白尿患者的特异性不高。

4.7 神经生长因子(Netrin-1)

Netrin-1是一种多功能层黏连蛋白相关的神经元导向蛋白,广泛表达于各种组织中,在正常肾脏的肾小管上皮细胞中几乎不表达。与健康志愿者相比,AKI患者尿Netrin-1排泄量增加,提示尿Netrin-1可能是一种很有前途的早期检测肾损伤的生物标志物^[10]。缺血、造影剂、脓毒症和药物诱导的急性肾损伤患者,与健康对照组相比尿Netrin-1含量均升高^[66]。Netrin-1水平在脓毒血症AKI患者ICU入院1 h内显著升高,在3~6 h达到高峰,并在48 h内持续升高,入院3 h对AKI的预测能力达到最高(AUC=0.858)^[67]。虽然Netrin-1具有较高的诊断能力但其特异性较低,能否具有实践意义有待更深层次地研究考察。

4.8 microRNA

microRNAs是21~25个核苷酸的非编码RNA分子,它们可以诱导mRNA降解,亦可通过与靶

mRNA的3'-非翻译区(UTR)结合来抑制蛋白质的翻译,越来越多的证据表明大多数基因受到miRNA的调控^[68-69]。有证据表明,miR-687、miR-489、miR-494、miR-24、miR-21、miR-126这几种microRNA参与缺血再灌注诱导的AKI的发病机制^[68]。一项初步研究筛选了10种microRNA即miR-101-3p、miR-127-3p、miR-210-3p、miR-126-3p、miR-26b-5p、miR-29a-3p、miR-146a-5p、miR-27a-3p、miR-93-3p和miR-10a-5p,证明它们对ICU患者发生AKI有极高的诊断价值(AUC:0.935-1.00)^[70]。体外肾毒性研究表明^[71],miR-21、miR-29a、miR-34a和miR-192可作为药物(顺铂、替诺福韦、环孢素A和妥布霉素)诱导近端小管上皮细胞损伤的敏感性生物标志物。

5 蛋白质组学与代谢组学技术在肾毒性生物标志物发现过程中的应用

当前最为先进的蛋白质组学与代谢组学也被用于寻找更敏感更准确更可靠的肾毒性早期生物标志物。一项关于肾损伤的蛋白质组学研究表明,CYR61、HGF、TNF- α 、FGF23、PTGDS、AAP、LDH、SOD1、信号素-3A、TGF- β 1、IL-6、CX3CL1、P/E选择蛋白、TLRs、Caspase-1、CAF、CXCL5等蛋白在肾损伤进展中占据关键位置,可作为AKI的候选生物标志物^[72]。顺铂诱导的AKI大鼠尿代谢产物3-吡啶硫酸酯水平显著下降,提示3-吡啶硫酸酯可作为检测药物诱导AKI的生物标志物^[73]。Li^[74]等利用超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术趋势分析筛选出5种肾毒性生物标志物:胸苷、溶血磷脂(16:1)、溶血磷脂(18:4)、溶血磷脂(20:5)和溶血磷脂(22:5)。

由于肾毒性标志物的毒性机制方面的报道较少,还需探讨药物毒性相关的代谢通路及与蛋白多肽类标志物之间的相关性,以验证这些候选生物标志物是否可靠。

6 结语

在肾毒性研究中,KIM-1、clusterin和白蛋白对肾小管损伤的敏感性高,白蛋白在检测肾小球损伤方面优于所有其他标志物。其他标志物,如OPN、NGAL,是很有前途的肾小管毒性生物标志物,但其特异性问题并未得到解决。尿酶类生物标志物由于其稳定性差的原因,临床应用较为困难。迄今为止,以上肾毒性生物标志物依然没有取代尿素氮和血清肌酐,而是作为传统指标的补充。为了加快这些生物标志物的应用,需要更深入了解生物标志物在药物造成肾毒性过程中的产生机制和动态变化。

不同药物导致肾损伤的病理机制不同使得单个分子的预测相当困难,因此可以将多种候选生物标志物联合运用以提高肾毒性的早期诊断能力。近年来新兴崛起的蛋白质组学技术及代谢组学技术成为肾毒性生物标志物寻找的新工具,蛋白质组学技术可获得蛋白质组的全局图像用来描述发病机制中具有重要作用的途径和蛋白,而代谢组学技术则是活体系统对病理生理刺激或遗传修饰的动态代谢反应的定量测量。组学技术带来了大量的肾毒性生物标志物,然而这些生物标志物并非都具有高敏感性和特异性,能否取代传统生物标志物还需要大量的动物实验和临床数据加以验证。

尽管这些被发现肾毒性生物标志物并未取代传统生物标志物,但这些生物标志物的使用,给临床医生带来识别出患者危险的机会。在新药研究方面,新的肾毒性标志物给药物的肾毒性预测提供更多的途径,使药物临床安全性评价的数据更加安全可靠。

参考文献

- [1] 李明阳,李勇,王昉彤.氨基糖苷类抗生素肾毒性及生物标志物的研究进展[J].中国抗生素杂志,2014,39(2):85-88.
- [2] 尹路,邵义明.脓毒症急性肾损伤诊断标准研究进展[J].海南医学,2015,26(18):2731-2733.
- [3] Mohamed F, Endre Z H, Buckley N A. Role of biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury in deliberate poisoning and envenomation in less developed countries [J]. Br J Clin Pharmacol, 2015, 80 (1): 3-19.
- [4] Andreucci M, Faga T, Pisani A, et al. The ischemic / nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice [J]. Eur J Int Med, 2017, 39: 1-8.
- [5] Dieterle F, Perentes E, Cordier A, et al. Urinary clusterin, cystatin C, beta2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury [J]. Nat Biotechnol, 2010, 28 (5): 463-469.
- [6] Zaleska-Kociecka M, Skrobisz A, Wojtkowska I, et al. Serum beta-2 microglobulin levels for predicting acute kidney injury complicating aortic valve replacement [J]. Int Card Vasc Thor Surg, 2017, 25: 533-540.
- [7] Ghatanatti R, Teli A, Tirkey S S, et al. Role of renal biomarkers as predictors of acute kidney injury in cardiac surgery [J]. Asian Cardiovasc Thorac Ann, 2014, 22 (2): 234-241.
- [8] Pickering J W, Endre Z H. Challenges facing early detection of acute kidney injury in the critically ill [J].

- World J Crit Care Med, 2012, 1 (3): 61-66.
- [9] Teo S H, Endre Z H. Biomarkers in acute kidney injury (AKI) [J]. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2017, 31 (3): 331-344.
- [10] Kokkoris S, Pipili C, Grapsa, E, et al. Novel biomarkers of acute kidney injury in the general adult ICU: a review [J]. Renal Failure, 2013, 35 (4): 579-591.
- [11] Fouad M, Boraie M. Cystatin C as an early marker of acute kidney injury and predictor of mortality in the intensive care unit after acute myocardial infarction [J]. Arab J Nephrol Transplant, 2013, 6 (1): 21-26.
- [12] Leem A Y, Park M S, Park B H, et al. Value of serum cystatin C measurement in the diagnosis of sepsis-induced kidney injury and prediction of renal function recovery [J]. Yonsei Med J, 2017, 58 (3): 604-612.
- [13] Togashi Y, Sakaguchi Y, Miyamoto M, et al. Urinary cystatin C as a biomarker for acute kidney injury and its immunohistochemical localization in kidney in the CDDP-treated rats [J]. Exp Toxicol Pathol, 2012, 64 (7-8): 797-805.
- [14] Charlton J R, Portilla D, Okusa M D. A basic science view of acute kidney injury biomarkers [J]. Nephrol Dial Transplant, 2014, 29 (7): 1301-1311.
- [15] Wagoner M P, Yang Y, McDuffie J E, et al. Evaluation of temporal changes in urine-based metabolomic and kidney injury markers to detect compound induced acute kidney tubular toxicity in beagle dogs [J]. Curr Top Med Chem, 2017, 17 (24): 2767-2780.
- [16] Ozer J S, Dieterle F, Troth S, et al. A panel of urinary biomarkers to monitor reversibility of renal injury and a serum marker with improved potential to assess renal function [J]. Nat Biotechnol, 2010, 28 (5): 486-494.
- [17] Obermüller N, Geiger H, Weipert C, et al. Current developments in early diagnosis of acute kidney injury [J]. Int Urol Nephrol, 2014, 46 (1): 1-7.
- [18] Rysz J, Gluba-Brzózka A, Franczyk B, et al. Novel biomarkers in the diagnosis of chronic kidney disease and the prediction of its outcome [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (8): 1702.
- [19] Yin C, Wang N. Kidney injury molecule-1 in kidney disease [J]. Renal Failure, 2016, 38 (10): 1567-1573.
- [20] Wunnapuk K, Gobe G, Endre Z, et al. Use of a glyphosate-based herbicide-induced nephrotoxicity model to investigate a panel of kidney injury biomarkers [J]. Toxicol Lett, 2014, 225(1): 192-200.
- [21] Sinha V, Vence L M, Salahudeen A K. Urinary tubular protein-based biomarkers in the rodent model of cisplatin nephrotoxicity: a comparative analysis of serum creatinine, renal histology, and urinary KIM-1, NGAL, and NAG in the initiation, maintenance, and recovery phases of acute kidney injury [J]. Investig Med, 2013, 61 (3): 564-568.
- [22] Westhoff J H, Seibert F S, Waldherr S, et al. Urinary calprotectin, kidney injury molecule-1, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of adverse outcome in pediatric acute kidney injury [J]. Eur J Pediatr, 2017, 176 (6): 745-755.
- [23] Liu X Q, Guan Y, Xu S, et al. Early predictors of acute kidney injury: A narrative review [J]. Kidney Blood Press Res, 2016, 41 (5): 680-700.
- [24] Wadey R M, Pinches M G, Jones H B, et al. Tissue expression and correlation of a panel of urinary biomarkers following cisplatin-induced kidney injury [J]. Toxicol Pathol, 2014, 42(3): 591-602.
- [25] George B, Wen X, Mercke N, et al. Profiling of kidney injury biomarkers in patients receiving cisplatin: time-dependent changes in the absence of clinical nephrotoxicity [J]. Clin Pharmacol Ther, 2017, 101(4): 510-518.
- [26] George B, Joy M S, Aleksunes L M. Urinary protein biomarkers of kidney injury in patients receiving cisplatin chemotherapy [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243 (3): 272-282.
- [27] Vlasakova K, Erdos, Z, Troth S P, et al. Evaluation of the relative performance of 12 urinary biomarkers for renal safety across 22 rat sensitivity and specificity studies [J]. Toxicol Sci, 2014, 138 (1): 3-20.
- [28] Wada T, Shimizu M, Toyama T, et al. Clinical impact of albuminuria in diabetic nephropathy [J]. Clin Exp Nephrol, 2012, 16(1): 96-101.
- [29] Gonzalez F, Vincent F. Biomarkers for acute kidney injury in critically ill patients [J]. Miner Anesthesiol, 2012, 78 (12): 1394-1403.
- [30] Mishra O P, Rai A K, Srivastava P, et al. Predictive ability of urinary biomarkers for outcome in children with acute kidney injury [J]. Pediatr Nephrol, 2017, 32 (3): 521-527.
- [31] Katagiri D, Doi K, Honda K, et al. Combination of two urinary biomarkers predicts acute kidney injury after adult cardiac surgery [J]. Ann Thorac Surg, 2012, 93 (2): 577-583.
- [32] de Geus H R, Betjes M G, Bakker J. Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges [J]. Clin Kidney J, 2012, 5 (2): 102-108.
- [33] Endre Z H, Pickering J W, Walker R J, et al. Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function [J]. Kidney Int, 2011, 79 (10): 102-110.

- 1119-1130.
- [34] Gomes Junior R M, Cezar L C, Meneses G C, et al. Preoperative risk factors for acute kidney injury after liver transplantation: results from a cross-sectional study in northeast of Brazil [J]. Arq Gastroenterol, 2018, 55 (1): 18-22.
- [35] McMahon B A, Koyner J L, Murray P T. Urinary glutathione S-transferases in the pathogenesis and diagnostic evaluation of acute kidney injury following cardiac surgery: a critical review [J]. Curr Opin Crit Care, 2010, 16 (6): 550-555.
- [36] Susantitaphong P, Perianayagam M C, Tighiouart H, et al. Urinary alpha- and pi-glutathione s-transferases for early detection of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass [J]. Biomarkers, 2013, 18 (4): 331-337.
- [37] Seabra V F, Perianayagam M C, Tighiouart H, et al. Urinary alpha-GST and pi-GST for prediction of dialysis requirement or in-hospital death in established acute kidney injury [J]. Biomarkers, 2011, 16 (8): 709-717.
- [38] Paragas N, Kulkarni R, Werth M, et al. alpha-Intercalated cells defend the urinary system from bacterial infection [J]. J Clin Invest, 2014, 124 (7): 2963-2976.
- [39] 王霞, 王金泉. 急性肾损伤生物标记物的作用机制及潜在治疗意义 [J]. 医学研究生学报, 2015, 28 (3): 318-322.
- [40] Seker M M, Deveci K, Seker A, et al. Predictive role of neutrophil gelatinase associated lipocalin in early diagnosis of platin-induced renal injury [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16: 407-410.
- [41] Slocum J L, Heung M, Pennathur S. Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine? [J]. Transl Res, 2012, 159 (4): 277-289.
- [42] Holzschelter L, Beck C, Rutz S, et al. NGAL, L-FABP, and KIM-1 in comparison to established markers of renal dysfunction [J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52 (4): 537-546.
- [43] Kashani K, Cheungpasitporn W, Ronco C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption [J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 55 (8): 1074-1089.
- [44] Nakamura K, Ito K, Kato Y, et al. L-type fatty acid binding protein transgenic mouse as a novel tool to explore cytotoxicity to renal proximal tubules [J]. Drug Metab Pharmacokinet, 2008, 23 (4): 271-278.
- [45] Hiruma T, Asada T, Yamamoto M, et al. Mortality prediction by acute kidney injury biomarkers in comparison with serum creatinine [J]. Biomarkers, 2014, 19 (8): 646-651.
- [46] Greenberg J H, Zappitelli M, Jia Y, et al. Biomarkers of AKI progression after pediatric cardiac surgery [J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29 (5): 1549-1556.
- [47] Wu H, Craft M L, Wang P, et al. IL-18 contributes to renal damage after ischemia-reperfusion [J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19 (12): 2331-2341.
- [48] Choudhary A, Basu S, Dey S K, et al. Association and prognostic value of serum Cystatin C, IL-18 and Uric acid in urological patients with acute kidney injury [J]. Clin Chim Acta, 2018, 482: 144-148.
- [49] 朱丽丽, 师东武. 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白及白细胞介素-18在脓毒症所致急性肾损伤中的早期诊断价值 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (8): 718-722.
- [50] Hall I E, Yarlagadda S G, Coca S G, et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation [J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21 (1): 189-197.
- [51] Faubel S, Lewis E C, Reznikov L, et al. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL) -1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 322 (1): 8-15.
- [52] Herget-Rosenthal S, Metzger J, Albalat A, et al. Proteomic biomarkers for the early detection of acute kidney injury [J]. Prilozi, 2012, 33(1): 27-48.
- [53] Kahles F, Findeisen H M, Bruemmer D. Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes [J]. Mol Metab, 2014, 3(4): 384-393.
- [54] Phillips J A, Holder D J, Ennulat D, et al. Rat urinary osteopontin and neutrophil gelatinase-associated lipocalin improve certainty of detecting drug-induced kidney injury [J]. Toxicol Sci, 2016, 151 (2): 214-223.
- [55] Fuchs T C, Frick K, Emde B, et al. Evaluation of novel acute urinary rat kidney toxicity biomarker for subacute toxicity studies in preclinical trials [J]. Toxicol Pathol, 2012, 40 (7): 1031-1048.
- [56] He C Y, Liang B B, Fan X Y, et al. The dual role of osteopontin in acetaminophen hepatotoxicity [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33 (8): 1004-1012.
- [57] Seo D W, Li H, Guedez L, et al. TIMP-2 mediated inhibition of angiogenesis: an MMP-independent mechanism [J]. Cell, 2003, 114 (2): 171-180.
- [58] Ortega L M, Heung M. The use of cell cycle arrest biomarkers in the early detection of acute kidney injury. Is this the new renal troponin? [J]. Nefrologia, 2018, 38 (4): 361-367.
- [59] Aregger F, Uehlinger D E, Witowski J, et al. Identification of IGFBP-7 by urinary proteomics as a novel prognostic marker in early acute kidney injury [J]. Kidney Int, 2014,

- 85 (4): 909-919.
- [60] Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury [J]. *Crit Care*, 2013, 17 (1): R25.
- [61] Vijayan A, Faubel S, Askenazi D J, et al. Clinical use of the urine biomarker [TIMP-2] $\times$ [IGFBP7] for acute kidney injury risk assessment [J]. *Am J Kidney Dis*, 2016, 68 (1): 19-28.
- [62] Meersch M, Schmidt C, Van Aken H, et al. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury after pediatric cardiac surgery [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (10): e110865.
- [63] Toprak Z, Cebeci E, Helvacı S A, et al. Cisplatin nephrotoxicity is not detected by urinary cell-cycle arrest biomarkers in lung cancer patients [J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(6): 1041-1047.
- [64] Chang C, Hu Y, Hogan S L, et al. The product of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP2) and Insulin Like Growth Factor Binding Protein 7 (IGFBP7) is elevated at baseline in ambulatory cancer patients prescribed cisplatin [J]. *JSM Biomar*, 2017, 3(1): 1009.
- [65] Adiyanti S S, Loho T. Acute Kidney Injury (AKI) Biomarker [J]. *Acta Med Indones*, 2012, 44 (3): 246-255.
- [66] Urbschat A, Obermuller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury [J]. *Biomarkers* 2011, 16 Suppl1: S22-30.
- [67] Tu Y, Wang H, Sun R, et al. Urinary netrin-1 and KIM-1 as early biomarkers for septic acute kidney injury [J]. *Ren Fail*, 2014, 36 (10): 1559-1563.
- [68] Liu Z, Wang S, Mi Q S, et al. MicroRNAs in pathogenesis of acute kidney injury [J]. *Nephron*, 2016, 134 (3): 149-153.
- [69] Li Y F, Jing Y, Hao J, et al. MicroRNA-21 in the pathogenesis of acute kidney injury [J]. *Protein Cell*, 2013, 4 (11): 813-819.
- [70] Aguado-Fraile E, Ramos E, Conde E, et al. A pilot study identifying a set of microRNAs as precise diagnostic biomarkers of acute kidney injury [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (6): e0127175.
- [71] Suter-Dick L, Mauch L, Ramp D, et al. Combining extracellular miRNA determination with microfluidic 3D cell cultures for the assessment of nephrotoxicity: a proof of concept study [J]. *AAPSJ*, 2018, 20 (5): 86.
- [72] Marx D, Metzger J, Pejchinovski M, et al. Proteomics and metabolomics for AKI diagnosis [J]. *Semin Nephrol*, 2018, 38 (1): 63-87.
- [73] Won A J, Kim S, Kim Y G, et al. Discovery of urinary metabolomic biomarkers for early detection of acute kidney injury [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12 (1): 133-144.
- [74] Li Y, Deng H, Ju L, et al. Screening and validation for plasma biomarkers of nephrotoxicity based on metabolomics in male rats [J]. *Toxicol Res (Camb)*, 2016, 5 (1): 259-267.