

## 尿液 AQP2 在先天性肾积水患儿中的检测和意义

张国贤<sup>1</sup> 文建国<sup>1</sup> 王庆伟<sup>2</sup> 王 焱<sup>1</sup> 张 宁<sup>1</sup> 姜安锋<sup>1</sup> 张瑞莉<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的 研究单侧先天性肾盂输尿管连接处梗阻 (pyeloureteric junction obstruction, PUJO) 肾积水患儿尿液水通道蛋白 2 (Aquaporins-2, AQP2) 测定在肾脏浓缩功能评价中的意义。方法 选取 12 例正常儿童, 26 例单侧先天性 PUJO 肾积水患儿, 其中轻度 14 例, 重度 12 例, 均经彩超、静脉肾盂造影证实, 并排除其它泌尿系统疾病; 在严格设定条件下, 收集正常对照组术前和梗阻解除术后第 3 天患肾 24 h 尿液, 同时收集术中肾盂尿液, 测定尿渗透压, 并用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定尿液中 AQP2。结果 与正常对照组比较, 积水组术中尿液 AQP2 和尿渗透压明显下降 ( $P < 0.05$ ), 且重度积水组术中尿液 AQP2 与轻度积水组相比, 明显降低 ( $P < 0.05$ ), 但重度积水组和轻度积水组术中尿渗透压相比无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 梗阻解除后, 轻、重度积水组术中尿液 AQP2 与术后第 3 天相比, 无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 而术后第 3 天两组尿渗透压却明显下降 ( $P < 0.05$ ), 术后第 3 天重度积水组与轻度积水组尿液 AQP2 和尿渗透压相比较, 显著下降 ( $P < 0.05$ ); 正常对照组与轻、重度积水组术后第 3 天尿液 AQP2 和尿渗透压之间存在一定相关性。结论 小儿单侧先天性 PUJO 尿液 AQP2 和尿渗透压较正常对照组显著降低, 且二者之间存在一定相关性。尿液中 AQP2 下降可能和尿液浓缩功能改变有关。

**【关键词】** 肾积水 / 先天性; 水孔蛋白类 / 尿

**Significance and measurement of urinary aquaporins-2 in children with congenital hydronephrosis.**  
ZHANG Guo-Xian<sup>1</sup>, WEN Jian-Guo<sup>1</sup>, WANG Qing-Wei<sup>2</sup>, et al. 1, Department of Pediatric Surgery and Urodynamic Center; 2, Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

**【Abstract】** **Objective** To investigate the value of evaluating kidney concentration ability by detecting urinary aquaporins-2 in children with pyeloureteral junction obstruction (PUJO). **Methods** Twelve healthy children and twenty-six hydronephrosis children with congenital unilateral PUJO were included in this study, which included fourteen mild hydronephrosis and twelve severe hydronephrosis. All were confirmed by color Doppler ultrasound and intravenous pyelogram (IVP), and the other urinary system diseases were eliminated. In the strict control condition, 24h-urine was collected separately from healthy children and affected kidney of releasing ureteral obstruction in the third day, and pelvis urine of operation also was collected. The urine osmolality was measured, and AQP2 levels were measured by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Comparing with the normal control, urinary AQP2 and osmolality were lower at operation ( $P < 0.05$ ), and urine AQP2 in severe hydronephrosis were lower than those of the mild hydronephrosis ( $P < 0.05$ ). However, there is no significant difference between the mild and severe hydronephrosis. After releasing obstruction, there is no statistic difference in urinary AQP2 between the mild and severe group, but urine osmolality reversed. Meanwhile, urinary AQP2 and osmolality in severe group were lower than the mild group in the third day after operation ( $P < 0.05$ ); there was a positive correlation between osmolality and AQP2 levels in normal children and those of the third day after operation. **Conclusions** Comparing with the normal control, urinary AQP2 and osmolality were lower than those of congenital PUJO hydronephrosis, which indicated that the decrease of AQP2 levels of urine may be related with impairment of concentrating ability of collecting duct.

**【Key Words】** Hydronephrosis/CN; Aquaporins/UR

肾盂输尿管连接处梗阻 (pyeloureteric junction obstruction, PUJO) 引起肾积水是小儿外科常见疾病, 多表现为肾脏尿液浓缩功能下降, 并随病情加重而最终出现肾功能衰竭。有报道水通道蛋白 (AQP) 在肾脏尿液浓缩功能损害过程中起主要作用, 其中分布于肾脏集合管的 AQP2 是机体调节水代谢的终末靶蛋白<sup>[1]</sup>; 在肾积水动物模型中已经证实 AQP2 表达下调<sup>[2]</sup>, 梗阻解除后较长时间内仍存在尿液浓缩功能障碍, 但是有关人类儿童的研究很少; 且相对于正常儿童尿液 AQP2 水平, 梗阻解除手术前后积水肾脏尿液 AQP2 和尿渗透压的变化还不清楚。本研究应用酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测尿液 AQP2 这一成熟技术<sup>[3]</sup>, 分析了正常儿童、PUJO 患儿梗阻未解除前和梗阻解除后第 3 天尿液 AQP2 和尿渗透压, 明确梗阻解除手术前后尿液浓缩功能的改变, 初步探讨应用尿液 AQP2 来反映肾脏浓缩功能的可行性。

## 材料与方法

### 一、临床资料

选择本院小儿外科 2006 年 3 月至 2008 年 3 月确诊为单侧先天性 PUJO 性肾积水患儿 26 例, 术前均经彩超、静脉肾盂造影 (IVP) 或 CT 检查, 并排除膀胱输尿管返流或其他泌尿系统疾病。肾积水按照 Grignon 法<sup>[4]</sup>进行分级。轻度积水组 14 例 (Grignon 分级 1~3 级), 均符合“肾盂扩张小于 15 mm”的标准, 包括 11 例左肾积水, 3 例右肾积水; 男 10 例, 女 4 例, 年龄 13~73 个月, 平均年龄  $(40.2 \pm 18.5)$  个月。重度积水组 12 例 (Grignon 分级 4~5 级), 均符合“肾盂扩张在 15 mm 以上, 伴肾盏中度扩张, 且肾实质变薄”的标准, 重度积水组患肾经 IVP 检查均显示注射造影剂后 30 min 才显影, 包括 9 例左肾积水, 3 例右肾积水; 男 9 例, 女 3 例, 年龄 12~65 个月, 平均年龄  $(37.6 \pm 16.8)$  个月。

患儿均行离断性肾盂成形术 (Anderson-Hynes 术式) 和肾造瘘术, 术中证实肾盂输尿管连接部明显狭窄, 于肾盂输尿管吻合口处留置支架管, 肾脏造瘘处留置 14~16F 引流管, 术后 8~10 d 拔除输尿管内支架管, 其后 2 d 拔除肾盂造瘘管。

选择同期住院的 12 例因其他疾病住院患儿为正常对照组, 术前彩超检查未发现泌尿系统疾病, 其中 9 例男性均为腹股沟斜疝患儿, 3 例女性均为皮肤血管瘤患儿, 年龄 13~70 个月, 平均年龄

$(38.7 \pm 18.3)$  个月。

### 二、尿液样本的收集和处理

收集所有单侧先天性 PUJO 肾积水患儿术中患肾肾盂尿液约 20 ml, 经患肾造瘘管收集术后第 3 天患肾 24 h 尿液。同时收集术前正常对照组 24 h 尿液, 所有患儿白天总补水量约 100 ml/kg, 夜间 22 时至早晨 7 时均未予补液或饮水。将所收集尿液标本在室温下按 3 000 r/min 离心 10 min 后, 一部分用来测定尿渗透压, 另一部分贮存在  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱待检测 AQP2。

### 三、尿渗透压和尿液 AQP2 测定

尿渗透压的测定使用上海尉诚仪器设备有限公司生产的 BS-88 冰点渗透压测定仪。尿液中 AQP2 检测采用美国 ADL 公司人 AQP2 (尿液) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒, 严格按照产品说明书上步骤进行 ELISA 测定。尿液中 AQP2 检测值范围为 0~480 nmol/L, 敏感度 1.0 nmol/L。

### 四、统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计分析, 数值以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 正态性检验采用 K-S 检验, 不同组间比较采用单因素方差分析; 尿液 AQP2 和尿渗透压间采用 Pearson 相关分析。所有分析显著性水平  $\alpha = 0.05$ 。

## 结 果

### 一、正常对照组、积水组术中和术后第 3 天尿液 AQP2 和尿渗透压比较

所测定数据经正态性检验 (K-S 检验) 均符合正态分布, 结果见表 1。结果显示: 积水组术中尿液 AQP2 和尿渗透压较正常对照组明显下降 ( $P < 0.05$ ), 其中重度积水组术中尿液 AQP2 较轻度积水组明显下降 ( $P < 0.05$ ), 但重度积水组和轻度积水组术中尿渗透压相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

轻、重度积水组术中尿液 AQP2 与术后第 3 天相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 而术后第 3 天两组尿渗透压却明显下降 ( $P < 0.05$ ); 术后第 3 天轻度积水组和重度积水组尿液 AQP2 和尿渗透压相比也有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

### 二、正常对照组、积水组术中和术后第 3 天尿液 AQP2 及尿渗透压相关性分析

正常对照组和轻、重度积水组术后第 3 天尿液 AQP2 和尿渗透压之间存在一定正相关性 (正常对照组  $r = 0.617$ , 轻度积水组术后  $r = 0.638$ , 重度积水

组术后  $r = 0.655; P < 0.05$ ), 轻、重度积水组术中尿液 AQP2 和尿渗透压之间无相关性。

表 1 正常对照组、积水组术中和术后第 3 天尿液 AQP2 及尿渗透压比较

项目	正常 对照组	轻度积水组		重度积水组	
		术中	术后 3 d	术中	术后 3 d
AQP2	92 ± 6*	65 ± 7 Δ	61 ± 5 §	38 ± 4	35 ± 5
尿渗透压	438 ± 17*	382 ± 17	343 ± 14 □ §	372 ± 11	299 ± 15 □

注: \* 正常对照组和轻、重度积水组术中比较,  $P < 0.05$ , 差异有统计学意义。Δ 轻度积水组和重度积水组术中比较,  $P < 0.05$ , 差异有统计学意义。# 积水组术中和术后 3 d 比较,  $P < 0.05$ , 差异有统计学意义。§ 轻度积水组和重度积水组术中比较,  $P < 0.05$ , 差异有统计学意义。

## 讨 论

先天性肾积水是小儿泌尿外科常见疾病, 可由膀胱输尿管返流、后尿道瓣膜、输尿管末端狭窄和输尿管囊肿等所致, 最常见的原因是肾盂输尿管连接处梗阻 (PUJO) 所致肾积水, 约占先天性肾积水的 85%<sup>[6]</sup>, 男女比例为 3 : 1, 多发生于左侧, 产前诊断中约 20% ~ 25% 的病例发生在两侧<sup>[7]</sup>; 如不能得到早期诊断和治疗, 肾功能进行性受损, 最终丧失功能; 在双侧输尿管梗阻 (BUO) 和单侧输尿管梗阻 (UO) 动物模型中, 均已证实肾脏 AQP2 表达的改变和尿液浓缩功能受损存在密切关系<sup>[2,3]</sup>。目前小儿先天性肾积水术中和术后尿液 AQP2 含量变化的意义尚不清楚。本研究通过对正常儿童和肾积水患儿尿液 AQP2 及尿渗透压的研究, 了解尿液 AQP2 和尿渗透压变化的意义, 初步探讨通过较简单方法测定尿液 AQP2 含量的变化以了解肾脏浓缩功能变化。

AQP 是广泛存在于原核细胞和真核细胞膜上转运水的特异孔道, 其在体内各系统组织中的表达很广, 多数是在与体液分泌和吸收密切相关的上皮和内皮细胞上高表达; 其中 AQP2 主要分布于肾脏集合管主细胞细胞膜和顶膜小囊泡中<sup>[8]</sup>, 是调节肾脏集合管对水通透性的关键蛋白, 目前已发现多种 AQP2 常染色体隐性突变和显性突变在人类引起遗传性尿崩症<sup>[9]</sup>。在 BUO 和 UO 动物模型研究中, 均已证实梗阻后肾组织中 AQP2 表达下降, 作者前期对小儿肾积水肾脏 AQP 表达的初步研究显示, 积水肾脏 AQP2-4 表达明显下降, 这和动物实验结果一致<sup>[10]</sup>; 但采用输尿管结扎法制作的肾积水动物模型与人类肾积水的发病过程显然不同, 一方面输尿管结扎法是在动物出生后肾脏发育基本成熟的情况

下进行, 另一方面它只是外在结扎并在短时间内发挥作用, 而人类肾积水一般在胎儿早期肾发育过程中即已出现<sup>[11]</sup>。因此, 进一步在小儿先天性肾积水中进行 AQP2 的相关研究很有必要。同时作为分布于肾脏集合管的 AQP2 是机体调节水代谢的终末靶蛋白, 检测肾脏中 AQP2 才可能充分了解机体水代谢情况。

伴有肾脏功能改变的肾脏疾病和症状通常通过肾外蛋白的尿液排泄来表明。有研究显示, 男性和女性尿液中 AQP2 日常排出数量相等, 而且尿液中 AQP2 内含物不受受试者年龄的影响, 同时在大鼠模型上的研究表明, 3% ~ 4% 的肾脏 AQP2 通过尿液排出来<sup>[12]</sup>, 并且证实了尿液 AQP2 含量的稳定性, 不会因样品保存原因而降解, 确定了尿液检测 AQP2 的实用价值。由于不可能随时获取患儿肾组织, 因此作者考虑通过对尿液中 AQP2 变化的研究来间接反映肾脏浓缩功能的改变; 且有研究也证实了在成年人糖尿病肾病中尿液 AQP2 是一个反映肾脏浓缩功能很好的指标<sup>[13]</sup>, 但是在小儿肾积水方面尚未进行类似研究。本研究采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 对尿液中的 AQP2 进行较准确的定量检验, 操作简便, 无需对尿液进行浓缩或稀释, 灵敏度高, 这和 Fuminori 的研究一致<sup>[14]</sup>。目前也已研发出试剂盒, 保证了检测的可靠性, 可大规模进行检测。

Frokiær J 等<sup>[15]</sup>在 BUO 研究中发现, 对双侧输尿管给予 24 h 梗阻后, AQP2 表达水平显著降低, 甚至在梗阻被解除前仍然存在; 而在梗阻期间尿液的生成为零, 这支持利尿本身不是 AQP2 水平下降的原因。梗阻解除后存在数天显著性多尿, 且自由水清除率升高, 显示集合管重吸收水分能力受损。本研究也有类似发现, 积水组术中尿液 AQP2 较正常对照组明显下降, 其中重度积水组术中尿液 AQP2 较轻度积水组明显下降; 梗阻解除后, 轻、重度积水组术中尿液 AQP2 与术后第 3 天相比无显著性差异, 但术后第 3 天两组尿渗透压却明显下降, 说明尿液 AQP2 含量在重度肾积水中进一步下降。积水组术中尿渗透压较正常对照组明显下降, 但轻度积水组和重度积水组术中尿渗透压比较无显著性差异, 梗阻解除后, 轻、重度积水组术后第 3 天尿渗透压较术中明显下降, 且术后第 3 天轻度积水组和重度积水组尿渗透压比较也有显著性差异, 表明梗阻侧肾脏尿液浓缩能力下降, 而梗阻解除后积水程度较重组尿渗透压下降更多。

有研究表明, 健康成年受试者在一般基线状态

下尿液 AQP2 和尿渗透压没有明显的相关关系<sup>[14]</sup>。本研究证实,正常对照组和轻、重度积水组术后第 3 天尿液 AQP2 和尿渗透压之间存在一定程度正相关性,但轻重度积水组术中尿液 AQP2 和尿渗透压之间却没有相关性,说明在严格设定条件下,正常儿童和轻、重度积水组术后第 3 天尿液 AQP2 和尿渗透压之间可能存在一定相关关系,而术中尿液 AQP2 和尿渗透压之间没有相关性,这或许受太多术中因素或者样本量较小的影响。

综上所述,积水组术中梗阻解除后第 3 天尿液 AQP2 含量明显下降,且积水较重组中尿液 AQP2 进一步下降;术中肾盂尿渗透压在不同程度肾积水之间没有显著差异,但梗阻解除后第 3 天尿渗透压在不同程度肾积水之间存在差异,表明相对于尿渗透压,尿液 AQP2 更能准确反映肾脏浓缩功能,可通过尿液 AQP2 含量变化来了解肾脏浓缩功能的改变。本研究作为一项临床研究,不可避免存在样本量偏少,观察时间偏短,标本收集的可控性欠佳等缺点,所得结论有待进一步扩大样本量进行研究。对于积水侧肾脏尿液中 AQP2 表达的下降是否真正反映肾脏中 AQP2 表达的下降,还有待将来进一步对相关积水侧肾脏标本和相应的尿液标本同时进行测定来确定。

### 参 考 文 献


- Nielsen S, Chou CL, Marples D, et al. Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD waterchannels to plasma membrane[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 1013-1017.
- Frokiaer J, Marples D, Knepper MA, et al. Bilateral ureteral obstruction downregulates expression of vasopressin-sensitive AQP2 water channel in rat kidney [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270: F657-F668.
- Frokiaer J, Christensen BM, Marples D, et al. Downregulation of aquaporin-2 parallels changes in renal water excretion in unilateral ureteral obstruction[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: F213-F223.
- Fuminori Umenishi, Sandran Summer, Melissa Cadnapaphornchai, et al. Comparison of three methods to quantify urinary aquaporin-2 protein[J]. *Kidney International*, 2002, 62: 2288-2293.
- Grignon A, Filion R, Filiatrault D, et al. Urinary tract dilation in utero: Classification and clinical applications[J]. *Radiology*, 1986, 160: 645-647.
- 张金哲. 实用小儿外科学[M]. 浙江科学技术出版社, 2004, 991-994.
- Woodward M, Frank D. Postnatal management of antenatal hydronephrosis[J]. *BJU International*, 2002, 8(4): 149-156.
- Nielsen S, DiGiovanni SR, Christensen EI, et al. Cellular and subcellular immunolocalization of vasopressin-regulated water channel in rat kidney [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 11663-11667.
- Knoers N V, Deen P M. Molecular and cellular defects in nephrogenic diabetes insipidus [J]. *Pediatr Nephrol*, 2001, 16 (12): 1146-1152.
- 李真珍, 文建国, 张红等. 儿童轻度积水肾脏中水通道蛋白 2、3 和 4 的表达 [J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22 (22): 1751-1753.
- Pope JCT, Brock JW 3rd, Adams MC, et al. How they begin and how they end: Classic and new theories for the development and deterioration of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10: 2018-2028.
- Rai T, Sekine K, Kanno K, et al. Urinary excretion of aquaporin-2 water channel protein in human and rat[J]. *J Am Soc Nephrol*, 1997, 8(9): 1357-62.
- Nakamura T, Saito T, Kusaka I, et al. Decrease in urinary excretion of aquaporin-2 associated with impaired urinary concentrating ability in diabetic nephropathy [J]. *Nephron*, 2002, 92: 445-448.
- Al-Dameh A, Bedford JJ, Leader JP, et al. Urinary aquaporin-2 levels in healthy volunteers [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2003, 8 (3): 139-141.

### ·消息·

## 2008 中国小儿外科临床论坛将于 11 月在长沙召开

为展示我国小儿外科学界的发展,促进同业之间的学术交流,本刊将于 11 月 21 日~23 日在湖南长沙举办“2008 中国小儿外科临床论坛”。邀请国内知名中青年小儿外科专家学者进行主题演讲,内容包括临床新知识、新理论、新技术,对小儿外科焦点、难点问题开展争鸣与探讨,欢迎广大小儿外科工作者通过短信、QQ、E-mail 报名参加。联系地址:长沙市梓园路 86 号,临床小儿外科杂志编辑部(湖南省儿童医院内),邮政编码:410007, E-mail: china\_jcps@sina.com, 联系人:周小渔、王爱莲;联系电话:0731-5383982、5356896。

# 尿液 AQP2 在先天性肾积水患儿中的检测和意义

作者: 张国贤, 文建国, 王庆伟, 王焱, 张宁, 娄安锋, 张瑞莉  
作者单位: 张国贤, 文建国, 王焱, 张宁, 娄安锋, 张瑞莉 (郑州大学第一附属医院小儿外科和尿动力学中心, 河南省, 450052), 王庆伟 (郑州大学第一附属医院泌尿外科, 河南省, 450052)  
刊名: 临床小儿外科杂志   
英文刊名: JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY  
年, 卷(期): 2008, 7 (5)  
被引用次数: 2次

## 参考文献(14条)

1. Al-Dameh A; Bedford JJ; Leader JP Urinary aquaporin-2 levels in healthy volunteers 2003 (03)
2. Nakamura T; Saito T; Kusaka I Decrease in urinary excretion of aquaporin-2 associated with impaired urinary concentrating ability in diabetic nephropathy 2002
3. Knoers N V; Deen P M Molecular and cellular defects in nephrogenic diabetes insipidus 2001 (12)
4. Nielsen S; DiGiovanni SR; Christensen EI Cellular and subcellular immunolocalization of vasopressin-regulated water channel in rat kidney 1993
5. Woodward M; Frank D Postnatal management of antenatal hydronephrosis 2002 (04)
6. 张金哲 实用小儿外科学 2004
7. Grignon A; Filion R; Filiatrault D Urinary tract dilation in utero: Classification and clinical applications 1986
8. Fuminori Umenishi; Sandran. Summer; Melissa Cadnapaphomchai Comparison of three methods to quantify urinary aquaporin-2 protein 2002 (6)
9. Frokiaer J; Christensen BM; Marples D Downregulation of aquaporin-2 parallels changes in renal water excretion in unilateral ureteral obstruction 1997
10. Frokiaer J; Marples D; Knepper MA Bilateral ureteral obstruction downregulates expression of vasopressin-sensitive AQP2 water channel in rat kidney 1996
11. Rai T; Sekine K; Kanno K Urinary excretion of aquaporin-2 water channel protein in human and rat 1997 (09)
12. Pope JCT; Brock JW 3rd; Adams MC How they begin and how they end: Classic and new theories for the development and deterioration of congenital anomalies of the kidney and urinary tract 1999
13. 李真珍; 文建国; 张红 儿童轻度积水肾脏中水通道蛋白2、3和4的表达 [期刊论文] - 实用儿科临床杂志 2007 (22)
14. Nielsen S; Chou CL; Marphs D Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane 1995

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_lcxewkzz200805002.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200805002.aspx)

授权使用: 黔南民族师范学院 (gnnzsfxy), 授权号: b9a82cdb-a653-423a-8b87-9ed401064346

下载时间: 2011年4月29日