

· 临床 ·

## IgA 肾病中医证候分布及血清 microRNA 在疾病中的预测作用

王格<sup>1</sup>, 王耀献<sup>1\*</sup>, 董贺<sup>1</sup>, 白辰<sup>2</sup>, 陈宇<sup>1</sup>

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100010; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

**[摘要]** 目的:探讨 IgA 肾病(IgA nephropathy)的中医证候分布规律及模拟 mRNA(microRNA)对 IgA 肾病的预测价值。方法:收集 109 例经肾脏穿刺符合 IgA 肾病病理诊断的临床病例,遵循中医证候诊断标准,分为肺肾气虚、脾肾气虚、肝肾阴虚、气阴两虚、脾肾阳虚 5 型。分析中医证候分布情况与临床指标之间的关系。从出现率最高证型的患者中,随机抽取 10 例标本,健康人 10 例标本对照,运用实时荧光定量 PCR 技术对其血清中 microRNA 的表达水平进行检测。结果:109 例患者的 5 种证型中,肺肾气虚型临床表现最轻,病理分级最低;脾肾阳虚型临床表现最重,病理分级最高;脾肾阳虚型肾小球滤过率较其余 4 型低,且该型 24 h 尿蛋白定量、血肌酐较其余 4 型高。其中气阴两虚证在 IgA 患者中出现频率最高,共 49 例,其血清中 microRNA(miR)141,miR146a 高于正常组( $P < 0.05$ ),miR205,miR155,miR192 低于正常组( $P < 0.05$ )。结论:IgA 肾病病理与临床理化指标改变加重的过程一定程度上反映了中医证型其病机演变规律为肺肾气虚-脾肾气虚-肝肾气虚-气阴两虚-脾肾阳虚;microRNA 表达的差异与 IgA 肾病的严重程度及病情的进展密切相关,为 IgA 肾病的发病机制和诊断提供新的依据。

**[关键词]** IgA 肾病; 辨证分型; 临床指标; 微小 RNA (microRNA)

**[中图分类号]** R22;R243;R287;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)12-0163-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20181120

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.1001.026.html>

**[网络出版时间]** 2018-03-15 16:30

### Distribution of Traditional Chinese Medicine Syndromes of IgA Nephropathy and Predictive Value of Serum microRNA in Diseases

WANG Ge<sup>1</sup>, WANG Yao-xian<sup>1\*</sup>, DONG He<sup>1</sup>, BAI Chen<sup>2</sup>, CHEN Yu<sup>1</sup>

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100010, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the distribution regularity of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome of IgA nephropathy and the predictive value of microRNA (miR) on IgA nephropathy. **Method:** Totally 109 clinical cases diagnosed as IgA nephropathy by renal puncture were collected. According to the diagnostic criteria of TCM syndromes, they were divided into four groups: lung and kidney deficiency group, spleen and kidney deficiency group, liver and kidney deficiency group, and Qi and Yin deficiency group. The relationship between TCM syndrome distribution and clinical indexes was analyzed. Among the patients with the highest syndromes, 10 cases were randomly selected, with 10 healthy people as controls, and the expression of miR was detected by Real-time PCR. **Result:** Among the five syndromes, lung-kidney-Qi deficiency was the lightest clinical manifestation, with the lowest pathological grade; Spleen-kidney-Yang deficiency was the heaviest clinical manifestation, with the highest pathological grade; the glomerular filtration rate was lower than the other four types, whereas the 24-hour urine protein, serum creatinine were higher than the other four types. Among them, Qi and Yin deficiency syndrome had the highest frequency in IgA patients, with a total of 49 cases. The serum levels of

**[收稿日期]** 20171130(016)

**[基金项目]** 北京中医药大学 2016 年度基本科研业务费项目(2016-JYB-JSPY-022)

**[第一作者]** 王格, 硕士, 住院医师, 从事慢性肾脏病研究, E-mail: wangge0612@sina.com

**[通信作者]** \*王耀献, 博士, 主任医师, 从事慢性肾脏病研究, Tel:010-84015829, E-mail:776557317@qq.com

miR141 and miR146a were higher than those in normal group, while miR205, miR155 and miR192 were lower than normal group. **Conclusion:** The pathological changes of IgA nephropathy and the changes of clinical physical and chemical indexes aggravated to a certain extent. The pathogenesis evolution of TCM syndromes is that the pathogenesis of the syndromes of the kidney and kidney is Qi and kidney deficiency-spleen and kidney Qi deficiency-liver and kidney Qi deficiency-Qi and Yin deficiency-spleen and kidney Yang deficiency. The difference of miR expression is closely related to the severity of IgA nephropathy and the progression of the disease, which provides a new basis for the pathogenesis and diagnosis of IgA nephropathy.

[**Key words**] IgA nephropathy; syndrome differentiation; clinical indicators; microRNA (miR)

IgA 肾病是指一种常见的原发性肾小球疾病,其特征是以 IgA 或 IgA 为主的免疫复合物在肾小球系膜区沉积,其临床和病理表现呈慢性进展,并具有多样化。大多数 IgA 肾病患者可见持续镜下血尿并少至中量镜下蛋白尿,部分患者可以出现严重高血压或者肾功能不全,IgA 肾病是一种严重的肾小球疾病,约 1/3 的 IgA 患者在 10~20 年后进入终末期肾病,成为终末期肾病的主要原因之一,其病理改变多样,病情轻重不一,迄今尚无统一、特效的治疗方案。虽然目前中医治疗该病取得一定疗效,但缺乏统一的辨证依据,尤其是在临床表现常与病理表现不一致。由于其诊断主要依赖肾组织活检,探索合适的非侵入性 IgA 肾病诊断方法,以及寻找中西医指标的关系及演变规律,可以为临床诊断及治疗提供新的依据。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是在真核生物中发现的一类具有调控功能的非编码 RNA,存在于肾组织、尿液及血液中,参与多种调节通路,与 IgA 肾病的严重程度及病情的进展呈显著相关,同时参与先天性和获得性免疫应答。已经有众多研究指出某些 miRNA 在调控肾脏疾病时出现特异性表达,使 miRNA 在肾脏疾病诊断、治疗以及预后等研究领域中有很好的研究前景,有研究发现 IgA 肾病的患者血清及肾脏中沉积的 IgA<sub>1</sub> 均出现糖基化缺陷,但国内外对循环血中 miRNA 与 IgA 肾病研究较少。因此对 miRNA 的深入研究,发现肾脏及肾脏疾病中更加特异的 miRNA,建立肾脏疾病可靠的生物标志物,进而找寻治疗肾脏疾病的特异靶点,为肾脏疾病的诊治提供新的角度。本研究选择 IgA 肾病患者为研究对象,研究 IgA 肾病的中医证候的演变规律及与其临床理化指标的关系,以及选择筛选与本病相关的 miRNA,分析其差异的基因表达,以寻找特异性标志物,指导诊断及治疗。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究观察病例均来源于 2014 年

1 月至 2016 年 1 月北京中医药大学东直门医院肾病科门诊及住院 109 例患者,所有患者均通过肾脏穿刺明确诊断为原发性 IgA 肾病,除去肝炎、系统性红斑狼疮、过敏性紫癜等其他慢性疾病。其中女性 40 例,男性 69 例;年龄最大 78 岁,最小 18 岁。正常组抽取本院健康体检者,随机抽取正常人血液标本 10 例,其中女性 4 例,男性 6 例,年龄 18~78 岁,近 3 个月内健康体检无异常,既往均无肾脏病及其他慢性病史。随机抽取来本院进行健康体检的正常人血液标本 10 例为正常组,其中女性 4 例,男性 6 例,年龄 18~78 岁,近 3 个月内健康体检无异常,既往均无肾脏病及其他慢性病史。本研究经北京中医药大学东直门医院医学伦理委员会批准,编号 2016-JYB-JSPY-022。

## 1.2 诊断标准

**1.2.1 西医诊断标准** 参照 2011 年中医医学会肾脏病分会出版的《临床诊疗指南·肾脏病学分册》<sup>[1]</sup> 和 2012 年 KDIGO 肾小球肾炎临床实践指南<sup>[2]</sup>,经肾穿刺病理免疫荧光病理检查可见以 IgA 为主的免疫球蛋白在肾小球系膜区呈团块状或颗粒状弥漫性沉积。根据临床表现、实验室资料并结合病理特点诊断为 IgA 肾病,排除继发性 IgA 肾病。

病理分级标准,根据 Haas 分类系统进行分级<sup>[3]</sup>。I 级,轻微病变型,无新月体;II 级,局灶节段性肾小球硬化样型,无新月体;III 级,局灶增生型,可有少数新月体;IV 级,弥漫增生型,可有新月体;V 级,进行性慢性肾炎型,超过 40% 肾小球可见新月体或球形硬化。

**1.2.2 中医辨证标准** 根据《中药新药临床研究指导原则》<sup>[4]</sup> 的中医证候诊断标准进行辨证分型。分为脾肾气虚、脾肾阳虚、气阴两虚、肝肾阴虚、阴阳两虚证 5 型。①肺肾气虚证,主证为腰膝酸软、肢倦乏力、颜面及下肢浮肿、纳呆食少、脘腹胀满;次证为大便溏、尿频或夜尿多、舌质淡红、苔薄白、脉细弱。②脾肾气虚证,主证为倦怠乏力,气短懒言,

食少纳呆,腰酸膝软;次证为脘腹胀满,大便烂,口淡不渴,舌淡有齿痕,脉沉细。③脾肾阳虚证,主证为畏寒肢冷,倦怠乏力,气短懒言,食少纳呆,腰膝酸软;次证为腰部冷痛,脘腹胀满,大便烂,夜尿清长,舌淡有齿痕,脉沉弱。④气阴两虚证,主证为倦怠乏力,腰酸膝软,口干咽燥,五心烦热;次证为夜尿清长,舌淡有齿痕,脉沉。⑤肝肾阴虚证,主证为头晕,头痛,腰酸膝软,口干咽燥,五心烦热;次证为大便干结,尿少色黄,舌淡红少苔,脉弦细或脉细数。

**1.3 纳入标准** ①年龄18~80岁;②经肾穿刺活检符合IgA肾病的诊断标准;③无合并症与并发症;④均签署知情同意书。

**1.4 排除标准** ①年龄在18岁以下,80岁以上者;②除外过敏性紫癜性肾炎、狼疮性肾炎、乙肝病毒相关性肾炎等继发性肾脏疾病者;③合并有自身免疫性疾病、恶性肿瘤、血液系统疾病、内分泌疾病及泌尿系感染者;④妊娠或哺乳期妇女。

### 1.5 检测方法

**1.5.1 尿常规及肾功能检测** 对符合标准的患者进行基本信息收集并设计调查表包括年龄,性别,尿常规,24 h尿蛋白定量,白蛋白,血红蛋白,血肌酐,尿素氮,胆固醇,估计肾小球滤过率,血清miRNA。

**1.5.2 miRNA检测** 随机抽取气阴两虚型10例患者和正常组10例血液标本,使用除酶的离心管采集全血5 mL。25℃,1 500 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,去除血细胞并收集血清,然后将收集的血清在4℃条件下,16 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,离心后收集血清置于-80℃冰箱保存。

miScript II Reverse Transcription Kit,PCR试剂 QuantiFast® SYBR® GreenPCR Kit(Qiagen公司,货号分别为218161,204054)。9700型PCR仪(美国ABI公司),LC480 II型荧光定量PCR仪(瑞士Roche公司)。

运用miRNA加尾法荧光定量PCR对miR-141, miR-192, miR-205, miR-146a, miR-155的表达水平进行检测,由于成熟miRNA较小,无法用常规的方法直接进行反转录PCR,故将miRNA配对的序列延长,加PolyA尾,然后进行正常的反转录及PCR检测。本实验使用TaqMan荧光探针法,将总RNA 5 mL与特异性引物3 mL,100 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP(含dTTP)0.15 mL,逆转录缓冲液1.5 mL,(50 U) miScriptII Reverse Transcription Kit(Qiagen公司,货号218161)1 mL,20 U·mL<sup>-1</sup> RNase抑制剂0.19 mL混合,并制成15 mL。在37℃下反转录60 min,

95℃ 5 min,PCR试剂 QuantiFast® SYBR® GreenPCR Kit(Qiagen公司,货号204054)5 mL,95℃ 5 min,95℃ 10 s,60℃ 30 s,40个循环。以正常组作为对照,miRNA以cel-miR-39作为外参,采用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法表达量计算mRNA相对表达量。

**1.6 统计学方法** 采用SPSS 19.0统计软件进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用频数(构成比)表示。计量资料符合正态分布,两组比较用t检验,数据且符合方差齐性检验,3组及多组以上比较用单因素方差分析,否则用非参数秩和检验。率的比较用列联表或 $\chi^2$ 检验;以P<0.05为具有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 IgA患者证型分布比较** 109例患者中气阴两虚证为49例(45%),出现的频率最高,其后依次是脾肾阳虚证20例(18%),脾肾气虚证15例(14%),肺肾气虚14例(13%),肝肾阴虚证11例(10%),其中各证型中年龄与性别差异无统计学意义。

**2.2 IgA患者中医证型与临床指标关系** ①24 h尿蛋白定量,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组24 h尿蛋白定量升高(P<0.05, P<0.01);脾肾气虚组、肺肾气虚组24 h尿蛋白定量降低(P<0.01)。②血肌酐、尿素氮水平,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组肌酐及尿素氮水平升高(P<0.05, P<0.01);脾肾气虚组、肺肾气虚组肌酐及尿素氮水平降低(P<0.01)。③血尿酸,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组血尿酸水平升高(P<0.05);脾肾气虚组、肺肾气虚组血尿酸水平降低(P<0.05)。④肾小球滤过率,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组肾小球滤过率降低(P<0.05, P<0.01)。脾肾气虚组、肺肾气虚组肾小球滤过率升高(P<0.01)。⑤血红蛋白,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组血红蛋白含量降低(P<0.05, P<0.01)。脾肾气虚组、肺肾气虚组血红蛋白含量升高(P<0.01)。⑥血脂,随着肺肾气虚型、脾肾气虚型、肝肾阴虚型、气阴两虚型、脾肾阳虚型证型的改变,血胆固醇水平有所升高,但差异无统计学意义。见表1。

**2.3 IgA患者中医证型与Hass临床分级之间的关系** 根据肾穿刺结果,轻微病变型18例(17%);局灶节段性肾小球硬化样型61例(56%);局灶增生,伴少数新月体形成12例(11%),弥漫增生型伴新月体形成12例(11%),超过40%肾小球可见新月

表 1 IgA 患者辨证分型与临床指标的关系

Table 1 Relationship between IgA syndrome differentiation and physical and chemical indicators

证型	例数	24 h 尿蛋白 定量/g	血肌酐 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	尿素氮 / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	尿酸 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	肾小球滤过率 / $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	血红蛋白 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	白蛋白 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	总胆固醇 / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
气阴两虚	49	2.22 ± 2.01	157.33 ± 77.88	9.56 ± 5.93	437.49 ± 99.00	57.73 ± 24.09	149.5 ± 184.1	35.53 ± 7.00	4.85 ± 1.36
脾肾阳虚	20	3.48 ± 1.72 <sup>2)</sup>	921.66 ± 391.14 <sup>2)</sup>	29.76 ± 8.54 <sup>2)</sup>	486.24 ± 126.22 <sup>1)</sup>	6.40 ± 2.17 <sup>2)</sup>	84.2 ± 31.5 <sup>1)</sup>	34.52 ± 5.02	4.56 ± 1.33
肝肾阴虚	11	2.70 ± 1.10 <sup>1)</sup>	469.14 ± 68.93 <sup>1)</sup>	19.63 ± 7.43 <sup>1)</sup>	470.46 ± 148.40 <sup>1)</sup>	11.01 ± 1.54 <sup>1)</sup>	83.4 ± 17.4 <sup>2)</sup>	36.34 ± 4.78	4.17 ± 1.15
脾肾气虚	15	1.30 ± 1.02 <sup>2)</sup>	73.06 ± 4.31 <sup>2)</sup>	4.92 ± 1.06 <sup>2)</sup>	396.46 ± 88.34 <sup>1)</sup>	104.06 ± 14.75 <sup>2)</sup>	133.4 ± 23.7 <sup>1)</sup>	37.48 ± 7.54	4.86 ± 0.90
肺肾气虚	14	0.72 ± 0.56 <sup>2)</sup>	56.43 ± 7.05 <sup>2)</sup>	4.37 ± 1.14 <sup>2)</sup>	327.95 ± 114.03 <sup>1)</sup>	127.01 ± 20.34 <sup>2)</sup>	132.1 ± 17.4 <sup>1)</sup>	38.30 ± 3.84	4.40 ± 0.88

注:与气阴两虚组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

体或球形硬化 6 例(6%);在各证型中气阴两虚证、脾肾气虚证、肺肾气虚证中病理分级以 II 级最多,肝肾阴虚证病理分级以 III 级最多,脾肾阳虚证病理分级以 IV 级最多。见表 2。

2.4 气阴两虚证患者在 miRNA 中的基因表达 与非气阴两虚组比较,气阴两虚组血肌酐、尿素氮明显降低( $P < 0.05$ );年龄,24 h 尿蛋白定量,血尿酸,血红蛋白,白蛋白,总胆固醇指标无统计学差异。见表 3。

表 2 IgA 肾病患者中医辨证分型与临床分级之间的关系

Table 2 Relationship between IgA nephropathy syndrome differentiation and clinical classification

证型	I 级	II 级	III 级	IV 级	V 级
气阴两虚	7	32	4	3	3
脾肾阳虚	3	5	3	7	2
肝肾阴虚	0	4	5	1	1
脾肾气虚	5	9	0	1	0
肺肾气虚	3	11	0	0	0

表 3 IgA 肾病患者气阴两虚证组随机抽取患者理化指标( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Physical and chemical indicators of randomly selected patients in IgA nephropathy Qi-Yin deficiency group( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	年龄/岁	24 h 尿蛋白定量 /g	血肌酐 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	尿素氮 / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	血尿酸 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	血红蛋白 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	白蛋白 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
气阴两虚	49	37.20 ± 11.18	2.22 ± 1.99	172.48 ± 131.99 <sup>1)</sup>	9.88 ± 6.29 <sup>1)</sup>	437.68 ± 97.99	148.3 ± 182.5	35.52 ± 6.93
非气阴两虚	60	37.93 ± 11.12	2.15 ± 1.67	424.66 ± 444.73	15.77 ± 12.77	423.97 ± 132.96	107.5 ± 34.3	36.48 ± 5.57

注:与非气阴两虚组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ 。

2.5 IgA 肾病气阴两虚证患者血液 microRNA 比较 在 49 例气阴两虚证型中随机抽取 10 例患者,二者在性别、临床分级、年龄及临床指标上均无统计学

差异。与正常组比较,气阴两虚组 miR-141, miR-146a 表达水平明显升高,miR-205, miR-155, miR-192 明显降低( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 IgA 肾病气阴两虚证患者血液 microRNA 检测( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Blood microRNA test of Qi-Yin deficiency type IgA nephropathy patients( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	hsa-miR141	hsa-miR192	hsa-miR205	hsa-miR146a	hsa-miR155
气阴两虚	18.17 ± 41.00 <sup>1)</sup>	0.65 ± 0.84 <sup>1)</sup>	0.85 ± 0.92 <sup>1)</sup>	1.27 ± 2.11 <sup>1)</sup>	0.57 ± 0.53 <sup>1)</sup>
正常	11.43 ± 22.47	1.16 ± 0.89	2.11 ± 2.50	1.09 ± 0.45	1.33 ± 1.14

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

IgA 肾病是通过肾脏穿刺进行确诊的慢性肾小球疾病,病变可累及肾小管及肾间质,临床表现多样化,常会出现临床表现与病理程度不一致的情况,往往有“临床轻,病理重”的特点<sup>[5]</sup>,有些患者用药治疗后症状缓解,但临床指标常常未见明显变化,还有

一些患者并未出现临床症状,仅体检或意外发现尿中出现红细胞或者尿蛋白而就诊,在这种无症状的情况下,很难进行中医辨证论治,因此结合西医理化指标,可大大提高临床的诊断及治疗。

IgA 肾病的病情程度与中医证型密切相关,本研究发现,脾肾阳虚型患者 24 h 尿蛋白定量、血肌

酞浓度、尿素氮及尿酸水平最高,随着从肝肾阴虚证、气阴两虚证、脾肾气虚证、肺肾气虚证证型的变化,其指标逐渐下降,说明脾肾阳虚型患者的肾脏病理损害较其他4个证型更为严重,脾肾阳虚型患者的肾小球滤过率比脾肾气虚、肺肾气虚及气阴两虚型明显降低。且脾肾阳虚型患者病理分级较高,肺肾气虚及脾肾气虚病理分级较低,由此说明,脾肾阳虚型患者肾小球功能损害最重,由此可推断,中医证候由脾肾气虚、肺肾气虚-气阴两虚-肝肾阴虚-脾肾阳虚过程演变。

本研究发现,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组24h尿蛋白定量升高;脾肾气虚组、肺肾气虚组降低,说明脾肾阳虚组、肝肾阴虚组患者肾小球基底膜通透性增高,肾功能受损程度较重,脾肾气虚组、肺肾气虚组患者肾功能受损程度较轻;脾肾阳虚组、肝肾阴虚组肌酐及尿素氮水平升高;脾肾气虚组、肺肾气虚组肌酐及尿素氮水平降低,且随着脾肾气虚型、肝肾阴虚型、气阴两虚型、脾肾阳虚型4种证型的演变,血肌酐浓度及尿素氮水平逐渐升高,说明慢性肾炎肾病患者,由于肾小球基膜通透性增加,更多的内生肌酐从肾小球排出,脾肾气虚组、肺肾气虚组患者肾小球滤过功能轻微受损,而脾肾阳虚组、肝肾阴虚组患者肾小球滤过功能最差;与气阴两虚组比较,脾肾气虚组、肺肾气虚组肾小球滤过率升高,说明慢性肾炎患者早期肾功能具有代偿作用;因肾小管分泌受抑制,重吸收增多,以及肾小球滤过减少,人体内血尿酸浓度逐渐升高,本研究发现,与气阴两虚组比较,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组血尿酸水平升高,脾肾气虚组、肺肾气虚组血尿酸水平降低,且随着证型的变化,血尿酸水平逐渐升高,提示肾脏功能越来越差;脾肾气虚组血红蛋白含量最高、脾肾阳虚组血红蛋白含量最低,脾肾阳虚组、肝肾阴虚组血红蛋白含量降低;脾肾气虚组、肺肾气虚组血红蛋白含量升高,说明肾脏促红细胞生成素产生不足或者血浆中有毒物质干扰红细胞的生成和代谢,可导致贫血,因此,贫血的程度与肾功能减退的程度相关;同时随着脾肾气虚型、脾肾气虚型、肝肾阴虚型、气阴两虚型、脾肾阳虚型证型的改变,血胆固醇水平有所升高。

Haas分级系统是IgA肾病肾小球病变常用的分级方法之一,本研究发现,肺肾气虚型、脾肾气虚性以及气阴两虚型患者肾小球损伤程度较轻,而脾肾阳虚型患者肾小球损害最重。

本研究发现,在所归纳的5种中医证型中,气阴

两虚证型在5型中所占比例最高,中医认为,气者,人之根本也,《黄帝内经·素问·六微旨大论》曰:“升降出入,无器不有”、“出入废,则神机化灭,升降息,则气立孤危。”气虚则运化无权,推动无力,不能化生阴精,气损及阴导致气阴两虚,久之则肾阴耗损,肝藏血,肾藏精,肝血有赖于肾精的滋养,肾精也不断得到肝血所化之精的填充,精血相互滋生,肾精亏损必导致肝血不足,肝血不足也可引起肾精亏损。肾为先天之本,脾为后天之本,肾阳亏虚无法温煦脾阳,脾脏亏虚不能运化水谷精微,因此出现脾肾阳气俱虚。当IgA肾病出现阳虚证候时,病理损害最重,而IgA肾病中气虚型证候病理损害相对较轻,气阴两虚型IgA肾病则是由气虚向阴虚发展过程的中间阶段,由于气阴两虚阶段持续时间较长,故此型患者出现频率较高,这与既往文献研究一致,说明气阴两虚是IgA肾病的核心病机<sup>[6]</sup>。因此对气阴两虚证进行深入研究有重要意义。

目前IgA肾病病因尚不明确,但已有一些研究表明miRNA在IgA肾病中有重要作用<sup>[7]</sup>。miRNA是在真核生物中发现的一类具有调控功能的非编码RNA。其参与包括生长发育、细胞增殖和凋亡等各种生命的调节过程<sup>[8]</sup>。miRNA异常表达可引起如肿瘤、自身免疫病、肾脏疾病等多种人类疾病<sup>[9]</sup>。研究发现肾组织及血清、尿液中的miR-141水平表达升高<sup>[7]</sup>,本研究结果发现,IgA肾病患者血清中miR-141表达水平高于正常组,与文献<sup>[7]</sup>研究结果相一致,同时,研究发现并证实miR-141的表达与E-钙黏蛋白的抑制有关,miR-141表达升高可抑制间充质转分化(EMT),且尿和血清中miR-141表达水平与eGFR呈负相关,血清miR-141水平表达与IgA肾病患者蛋白尿呈正相关<sup>[10]</sup>。

MiR-192,miR205与IgA患者的疾病严重程度和进展具有密切关系,本研究发现,miR-205,miR-192与正常组比较,其表达水平低于正常组,有研究证实miR-192的肾内表达与肾小球硬化程度以及肾小球滤过率显著相关,而miR-192在尿液中的表达与蛋白尿的基线严重程度呈负相关<sup>[11]</sup>。Chung等<sup>[12]</sup>最近的一项研究,进一步提示miR-192在肾纤维化中的作用,在肾纤维化模型中,miR-192以TGF依赖性方式诱导,导致胶原蛋白生成。有研究发现IgA肾病组患者尿液中miR-146a和miR-155表达均上调<sup>[13]</sup>,与肾组织中的基因表达结果相同,本研究结果发现,IgA肾病组患者血清中miR-146a表达水平高于正常组,这与既往肾组织及尿液中实验结果

相一致,而 IgA 肾病组患者 miR-155 表达水平低于正常组。有研究可推测出上调 miR-146, miR-155 可抑制生成某些促炎性细胞因子<sup>[13]</sup>,并且参与了先天和适应性免疫应答的调节。在另一项研究中, IgA 肾病患者的 miR-146a, miR-155 的肾内水平与肾小球滤过率正相关,而蛋白尿与 miR-146a, miR-155 的肾内水平之间存在正相关<sup>[14]</sup>, miR-155 的水平也与肾小管间质性瘢痕形成有关。近年来研究发现 IgA 肾病的患者血清及肾脏中沉积的 IgA<sub>1</sub> 均出现糖基化缺陷,但因国内外对循环血中 miRNA, IgA 肾病研究较少。

本课题通过对既往国内外研究基础之上,选取肾脏组织及尿液研究与 IgA 肾病较为密切的 5 条 miRNA<sup>[15-16]</sup>进行验证,是否在血清中也存在相同的表达,通过测试发现, miR-141, miR-146a 高于正常组,呈高表达趋势, miR-205, miR-155, miR-192 均低于正常组,呈低表达趋势,在本实验中,血清中 miR-141 也呈高表达,与肾组织表达相符,而 miR-205, miR-155, miR-146a, miR-192 在肾组织中呈高表达,而本实验 miR-205, miR-155, miR-192, miR-146a 呈低表达趋势,出现该种情况考虑可能①血清中所含的 miRNA 特异性较低,无法检测出相应的基因片段,或因本课题样本量较少,无法准确推测出该 miRNA 在血清中的表达;② miR-205, miR-155 在血清中本身就存在含量较低可能,提示 miRNA 在肾脏组织及血液、尿液中存在不同的 miRNA 表达谱;③在既往研究中所选取患者纳入标准较为宽泛,而本研究结合中医证型分布,选取较具有代表性的核心证型,从而表现出不同的基因表达趋势。

目前肾脏中 miRNA 还在研究阶段,随着对其生物学功能的进一步研究,血液中 miRNA 成为 IgA 肾病诊断的标志物值得进一步探讨。

对于 IgA 肾病,中西医的辨病、辨证结合在诊断和治疗学上仍有很大发展前景,本研究现已证实 IgA 肾病的证候分布具有一定规律。通过观察 IgA 肾病不同证候与临床指标的相互关系,证明其证候变化与病变程度、病情轻重都具有一定的相关性,且在本病种选取患病率较高的证候,测试其基因表达谱,从而找到具有特异性的基因表达,有助于对本病的诊断更加方便简化,从而减少进行带有创伤性质的肾穿刺进行确诊,本文为探索性研究,由于病例数量有限以及研究设计本身存在局限性,再因 IgA 肾病临床表现的多样性和复杂性,病程较长,难以深入了解本病中医方面与 miRNA 之间密切性,今后会积极采取多中心、大样本更深入的研究,并制定更加完

善的研究设计,进一步观察总结。

[参考文献]

- [1] 陈香美. 临床诊疗指南·肾脏病学分册[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:35-39.
- [2] Eckardt K U, Kasiske B L. KDIGO Clinical practice guideline for glomerulonephritis foreword [J]. *Kidney Int Suppl*, 2012, 2(2): 139-140.
- [3] Haas M. Histologic subclassification of IgA nephropathy: a clinicopathologic study of 244 cases [J]. *Am J Kidney Dis*, 1997, 29(6): 829-842.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:156-162.
- [5] 陈明,万廷信,戴恩来. IgA 肾病中医证候分型与临床及病理的相关性[J]. *中国中医药信息杂志*, 2013, 20(3): 19-21, 25.
- [6] 陈香美,陈以平,谌贻璞,等. 286 例 IgA 肾病中医辨证与肾脏病理关系的多中心前瞻性研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2004, 24(2): 101-105.
- [7] WANG N, BU R, DUAN Z, et al. Profiling and initial validation of urinary microRNAs as biomarkers in IgA nephropathy [J]. *Peer J*, 2015, doi: 10.7717/peerj.990.
- [8] 陈大鹏,陈香美. microRNA 及其在肾脏疾病中的作用[J]. *中华肾病研究电子杂志*, 2012, 1(2): 119-124.
- [9] Kato M, Arce L, Natarajan R. microRNAs and their role in progressive kidney diseases [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, 4(7): 1255-1266.
- [10] HU H, WAN Q, CHENG Y, et al. Expression of microRNA-141 in the urine, serum, and kidneys of patients with IgA nephropathy [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2016, 9(9): 18239-18244.
- [11] WANG G, Kwan B C, LAI F M, et al. Intrarenal expression of microRNAs in patients with IgA nephropathy [J]. *Lab Invest*, 2010, 90(1): 98-103.
- [12] Chung A C, HUANG X R, MENG X, et al. miR-192 mediates TGF-beta/Smad3-driven renal fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(8): 1317-1325.
- [13] GANG W, Ching-Ha K B, LAI M M, et al. Elevated levels of miR-146a and miR-155 in kidney biopsy and urine from patients with IgA nephropathy [J]. *Dis Markers*, 2011, 30(4): 171-179.
- [14] Moresco R N, Speeckaert M M, Delanghe J R. Diagnosis and monitoring of IgA nephropathy: the role of biomarkers as an alternative to renal biopsy [J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(10): 847-853.
- [15] 王阶,李敏,刘咏梅,等. miRNA 在冠心病治疗中的作用及与中医药的相关性[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(22): 1-5.
- [16] Imai E, Maruyama S. microRNA-induced IgA nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(5): 765-766.

[责任编辑 张丰丰]