

# 尿红细胞 THP 免疫荧光染色在血尿红细胞来源鉴定中的应用价值

宋世平<sup>1</sup>, 王 森<sup>1</sup>, 董 磊<sup>2</sup>, 安映红<sup>2</sup>, 全首祯<sup>2</sup>, 马红雨<sup>2</sup>  
(1. 北京军事医学科学院附属医院检验科, 北京 100071;  
2. 空军总医院临床检验中心, 北京 100142)

**【摘要】** 目的 探讨尿红细胞 T-H 蛋白(Tamm-Horsfall protein, THP)免疫荧光检测在鉴定尿红细胞来源中的临床应用价值,并对 2004-2007 年临床诊断单纯血尿情况进行总结,了解肾性血尿与非肾性血尿的病因和分布特点。**方法** 利用尿红细胞 THP 免疫荧光染色技术对明确诊断的 30 例肾小球性血尿和 25 例非肾小球性血尿标本进行尿红细胞的 THP 免疫荧光染色,并与病理结果进行比较分析。**结果** 在病理诊断确定的 30 例肾小球性血尿中,THP 检测诊断肾性血尿 28 例,符合率为 93.3%;在临床明确诊断的非肾性血尿 25 例中,THP 检测确定非肾性血尿 22 例,符合率为 88%。病理分析显示肾性血尿中,IgA 肾病 16 例(53.3%),肾小球微小病变 10 例(33.3%),非 IgA 肾病的系膜细胞增殖性肾小球肾炎 3 例(10.0%),局灶阶段性硬化性肾炎 1 例(3.3%)。**结论** THP 免疫荧光染色鉴别尿红细胞来源的方法特异性强,是鉴别肾性与非肾性血尿的一种有价值的诊断方法,能够为血尿患者的早期诊断与治疗提供临床依据。

**【关键词】** 血尿;Tamm-Horsfall 蛋白;免疫荧光染色

**【中图分类号】** R446.12 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2013)01-0053-03

**Value of immunofluorescence staining of urine erythrocytes for Tamm-Horsfall protein in determining the origin of hematuria.** SONG Shi-ping<sup>1</sup>, WANG Miao<sup>1</sup>, DONG Lei<sup>2</sup>, AN Ying-hong<sup>2</sup>, QUAN Shou-zhen<sup>2</sup>, MA Hong-yu<sup>2</sup>. 1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, CHINA; 2. Clinical Laboratory Center, PLA Air Force General Hospital, Beijing 100142, CHINA

**【Abstract】 Objective** To investigate the clinical significance of immunofluorescence staining of urine erythrocytes for Tamm-Horsfall protein (THP) in determining the origin of hematuria, and to sum up the hematuria situation from 2004 to 2007 for understanding pathological distribution between renal hematuria and non-renal hematuria. **Methods** Urine erythrocytes from 30 patients of glomerular hematuria and 25 patients of non-glomerular specimens were immunocytochemically stained with antibody against human Tamm-Horsfall protein. The results were compared with the pathological findings. **Results** Among the 30 patients of glomerular hematuria according to pathological diagnosis, 28 were confirmed by the immunofluorescence assay, with a coincidence rate of 93.3%. Among the 25 patients of non-renal hematuria according to pathological diagnosis, 22 were confirmed by the immunofluorescence as-

基金项目:首都医学发展基金(编号:2009-2056)

通讯作者:马红雨。E-mail:mhy06052@163.com

\*\*\*\*\*

[2] Shariff MIF, Cox IJ, Gomaa AI, et al. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics [J]. Expert Review of Gastroenterology and Hepatology, 2009, 3(4): 353-367.

[3] Tung HD, Wang JH, Tseng PL, et al. Neither Diabetes Mellitus nor Overweight Is a Risk Factor for Hepatocellular Carcinoma in a Dual HBV and HCV Endemic Area: Community Cross-Sectional and Case-Control Studies [J]. American Journal of Gastroenterology, 2010, 105(8): 624-631.

[4] 毛燕群. 快速灵敏检测 HCV 核心抗原的免疫新方法及其性能分析[J]. 重庆医学, 2012, 41(7): 701-703.

[5] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics [J]. CA: Cancer Journal for Clinicians, 1999, 49(1): 33-64.

[6] Li YL, Chang SC, Goldstein BY, et al. Green tea consumption, inflammation and the risk of primary hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. Cancer Epidemiology, 2011, 35(4): 362-368.

[7] 李立明. 流行病学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 453-469.

[8] 刘艳红, 韩素桂. 原发性肝癌 570 例血清 HBV 标志物检测分析[J]. 中国误诊医学, 2011, 11 (13): 3109.

[9] Raza SA, Clifford GM, Franceschi S. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review [J]. British Journal of Cancer, 2007, 96(7): 1127-1134.

[10] 北京医科大学肝病研究所, 日本红十字中央血液中心, 北京医科大学血液病研究所, 等. 北京地区不同人群血清抗-HCV 研究[J]. 中华医学杂志, 1992, 72(1): 18.

[11] Chaudhry MA, Rizvi F, Afzal M, et al. Frequency of risk factors for hepatitis B (HBV) and hepatitis C virus (HCV) [J]. Ann Pak Inst Med Sci, 2010, 6(3): 161-163.

[12] 甘 雨. 青少年原发性肝癌与乙型及丙型肝炎病毒感染的关系分析[J]. 中国全科医学, 2012, 15 (1B): 170-172.

(收稿日期:2012-06-19)

say, with a coincidence rate of 88%. Pathologic analysis showed IgA nephropathy in 16 of the patients with renal hematuria (16/30, 53.3%), small glomerular lesions in 10 patients (10/30, 33.3%), non-IgA nephropathy mesangial cell proliferative glomerulonephritis in 3 patients (3/30, 10.0%) and focal sclerosing lomerulonephritis stage in 1 patients (1/30, 3.3%). **Conclusion** Immunofluorescence staining of urine erythrocytes for THP are stable, accurate, objective and reliable for identifying the origin of hematuria, which provides the foundation of the early diagnosis and treatment of patients with hematuria.

**【Key words】** Hematuria; Tamm-Horsfall protein; Immunofluorescence staining

血尿为泌尿系统常见病之一,不易诊断,按其来源可分为肾性及非肾性血尿。传统无创性的鉴别血尿红细胞来源的方法主要是利用相差显微镜观察红细胞形态进而判断血尿来源,但该方法易受尿PH、渗透压等多种因素影响,操作者主观因素的影响较大,各实验室的标准尚未统一,因此该方法的准确度仅为70%~80%<sup>[1-2]</sup>。研究表明<sup>[3]</sup>,肾小球来源的红细胞经过肾小管时表面可被THP包裹,而非肾小球性血尿中的红细胞,由于不经过髓袢及远端小管,表面不会覆盖THP颗粒,因此应用免疫荧光技术检测尿红细胞表面THP可以鉴别肾小球性和非肾小球性血尿。本文建立了尿红细胞THP的免疫荧光检测方法,在识别尿红细胞来源方面具有客观、准确等优点,并结合临床、病理结果对55例血尿病例进行了总结,现报道如下:

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2004-2007年在我院住院或门诊随诊诊断明确的单纯性血尿共计55例:男19例,女36例,年龄平均38岁,患者均具有完整的肾脏病理资料、临床资料。

1.2 试剂与设备 荧光标记的兔抗人THP抗体(一抗)、TRITC标记的山羊抗兔抗体(二抗)均购自尚柏生物公司,荧光显微镜为奥林巴斯IX81。

## 1.3 方法

1.3.1 尿红细胞THP免疫荧光检测 留患者尿5 ml, 2 000 r/min离心10 min,沉淀以PBS重悬,离心后取1滴混悬液铺于载玻片上,自然风干后,以冷丙酮固定10 min,放入-20℃冰箱备用。染色时用10%山羊血清封闭20 min;加入抗人THP一抗,室温下孵育1 h, PBS洗涤3 min,共3次;避光滴加1:100稀释的TRITC标记的二抗,37℃孵育1.5 h; PBS洗涤3 min,共3次;用抗淬灭封片剂封片;在普通光源下计数总红细胞数后,切换至荧光下计数荧光阳性红细胞。每例标本至少计数100个红细胞,以荧光阳性细胞>70%为肾性血尿,<30%为非肾性血尿。THP阳性红细胞着清晰黄绿色荧光,容易和染色阴性的红细胞相鉴别。

1.3.2 临床诊断方法 详细询问病史-尿常规检

测-考虑泌尿系统结石-肿瘤选择-尿路平片-肾盂造影。考虑肾小球肾炎时做肾活检。

1.4 统计学方法 SPSS12.0统计软件进行数据的统计学处理,THP蛋白免疫荧光染色检测尿红细胞来源与肾病理结果符合性的确定使用Kappa检验。

## 2 结果

2.1 尿红细胞THP免疫荧光染色鉴定血尿来源的可靠性 在30例肾性血尿中,有28例THP免疫荧光染色阳性,与病理诊断一致,符合率为93.3%。在25例非肾小球性血尿中,有3例与临床不符,符合率为88%,见表1和表2。尿红细胞THP免疫荧光染色阳性红细胞见图1。

表1 55例单纯性血尿患者的病因情况

血尿类型	例数	百分比(%)
一过性血尿	14	25.4
肾小球疾病	30	54.5
泌尿系统结石	3	5.4
泌尿系统肿瘤	1	1.8
泌尿系感染	7	12.7

表2 30例肾性血尿的病理类型

病理分型	例数	百分比(%)
IgA肾病	16	53.3
肾小球微小病变	10	33.3
非IgA肾病的系膜细胞增殖性肾小球肾炎	3	10.0
局灶阶段性硬化性肾炎	1	3.3

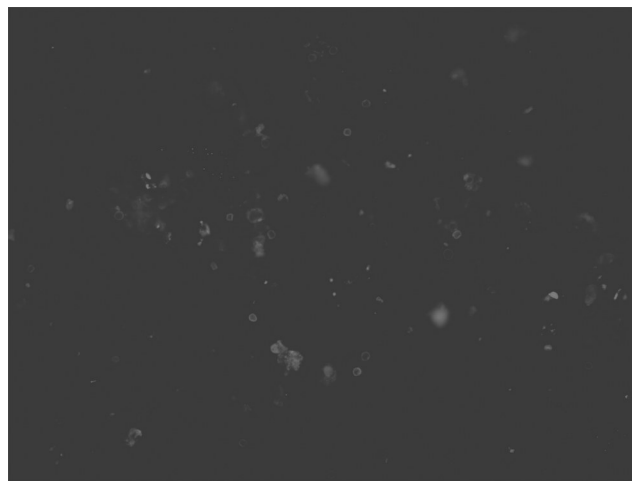


图1 尿液红细胞THP免疫荧光染色(×40)

2.2 血尿患者的病因分析 在跟踪检查的 55 例血尿患者中,肾性血尿为 30 例,非肾性血尿 25 例,临床病因诊断见表 1,肾性血尿的病理分型见表 2。

### 3 讨论

血尿是指尿中红细胞排泄异常增多,是泌尿系统可能有病患的讯号,轻者仅镜下发现红细胞增多,称为镜下血尿;重者外观呈洗肉水样或含有血凝块,称为肉眼血尿。一般单纯性血尿无临床症状,在行尿常规时发现,引起血尿的原因很多,如肾炎、泌尿系统结石、外伤、肿瘤以及多种理化因素等,因此诊断较为困难<sup>[4]</sup>。目前鉴别肾小球性或非肾小球性血尿的最常用的方法是利用相差显微镜检查尿沉渣,当尿红细胞数 $>8 \times 10^6/L$ ,且其中异形红细胞(环形、靶形、芽孢形等) $>80\%$ ,则视为肾小球性血尿;尿红细胞表面光滑,大小和形态均一,且畸形红细胞在 20% 以下提示非肾小球性血尿<sup>[5]</sup>。但由于该方法易受标本放置时间、尿液理化性质及人为主观因素的影响,并且各实验室的方法学及认定标准不统一,导致血尿的临床诊断不够准确,因此迫切需要诊断血尿来源的快速、准确以及可靠的检测方法。

THP 为尿中黏蛋白的一种,经免疫荧光与免疫酶电镜证实它是由肾小管髓袢升支粗段与远曲小管的上皮细胞内高尔基复合体产生,是尿中构成管型的一种肾特异性大分子糖蛋白,分子量为 94 kD<sup>[6]</sup>。健康成人每天由尿液排泄的 THP 20~70 mg,在肾损伤情况下,尿中排出减少,而且其排出量与损伤程度一致,故 TH 蛋白在尿中的排泄量可以认为是检测肾功能的一项指标<sup>[7]</sup>。肾小球来源的红细胞在经过肾小管时可被 THP 覆盖,而非肾小球性血尿中红细胞则不会出现此种现象,因此通过红细胞表面 THP 的检测可以判断血尿中红细胞的来源。本研究采用免疫荧光染色法来检测尿红细胞 THP,染色阳性红细胞 $>70\%$ 则判定为肾性血尿,此方法操作简便,重复性好,结果稳定可靠。

本研究选择了 160 例血尿患者进行跟踪观察,其中 32 例未遵医嘱定期来院复查,73 例拒绝做肾活检进行病理检查,最终只有 55 例得到明确诊断。肾活检为一种创伤性检查方式,一般不被患者所接受。本研究结果表明,在应用 THP 免疫荧光染色法对 30 例肾性血尿及 25 例非肾性血尿的诊断中,THP 免疫荧光染色法与肾活检的符合率很高(93.3%和 88%),但此方法能否代替尿位相和部分代替肾活检仍有待于今后大量临床试验证实。

正常人尿液中无红细胞或偶见个别红细胞,在明确诊断的 25 例非肾性血尿中,一过性血尿比例较高(25.4%),此类患者尿中红细胞常在一段时间后自动消失,无需临床治疗,可叮嘱患者定期复查尿常规观察病情进展。泌尿系统结石、肿瘤性血尿诊断相对简单,而对于肾性血尿患者应引起足够重视,以免延误治疗的最佳时机。

### 参考文献

- [1] Metz MD, Schiphorst PP, Go RI. The analysis of erythrocyte morphologic characteristics in urine using a hematologic flow cytometer and microscopic methods [J]. *Am J Clin Path*, 1991, 95(2): 257-261.
- [2] Schramek P, Schuster FX, Georgopoulos M, et al. Value of urinary erythrocyte morphology in assessment of symptomless microhaematuria [J]. *Lancet*, 1989, 2(8675): 1316-1319.
- [3] Fukuzaki A, Kaneto H, Ikeda S, et al. Determining the origin of hematuria by immunocytochemical staining of erythrocytes in urine for Tamm-Horsfall protein [J]. *J Urol*, 1996, 155(1): 248-251.
- [4] Kincaid-Smith P, Fairley K. The investigation of hematuria [J]. *Semin Nephrol*, 2005, 25(3): 127-135.
- [5] 孙雪峰,叶任高.尿红细胞形态及其临床意义[J].*中国实用内科杂志*, 2002, 22(1): 19-21.
- [6] Pennica D, Kohr WJ, Kuang WJ, et al. Identification of human uromodulin as the Tamm-Horsfall urinary glycoprotein [J]. *Science*, 1987, 236(4797): 83-88.
- [7] Chakraborty J, Below AA, Solaiman D. Tamm-Horsfall protein in patients with kidney damage and diabetes [J]. *Urol-Res*, 2004, 32(2): 79-83.

(收稿日期:2012-07-18)