

# 血清 PDPN 及 Angptl4 水平对膜性肾病 高凝状态的诊断价值\*

钱瑾 陈卫东 张倩文

(蚌埠医学院第一附属医院, 安徽 蚌埠 233000)

**【摘要】** 目的 探讨血清平足蛋白(PDPN)及血管生成素样蛋白 4(Angptl4)水平与膜性肾病(MN)高凝状态的相关性分析及其诊断价值。方法 选择 2021 年 12 月—2022 年 9 月在蚌埠医学院第一附属医院肾内科肾脏活检确诊的 45 例 MN 患者(MN 组)、19 例 IgA 患者(IgA 组)及 20 例其他类型患者(其他类型组)作为观察对象,30 名健康体检者作为对照组。MN 组根据是否形成高凝状态分为高凝亚组( $n=26$ )和非高凝亚组( $n=19$ )。应用酶联免疫吸附法对血清中 PDPN 及 Angptl4 水平进行了测定,对各组 PDPN 及 Angptl4 水平进行比较分析。结果 MN 组血清 PDPN 水平高于 IgA 组、其他类型组和对照组,与 IgA 组、对照组差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与其他类型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。MN 组血清 Angptl4 水平低于 IgA 组、其他类型组和对照组,MN 组与 IgA 组、对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与其他类型组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。血清 PDPN 水平与 24 h 尿蛋白及纤维蛋白原呈显著正相关,血清 Angptl4 水平与 Alb、PT 及 APTT 呈显著正相关,与胆固醇呈显著负相关( $P<0.05$ )。高凝组 PDPN、CH、D-二聚体及纤维蛋白原高于非高凝组,Angptl4、Alb 及 PT 低于非高凝组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。多因素回归分析表明,高水平血清 PDPN 是评价高凝状态的重要危险因素( $OR=1.007, 95\%CI:1.000\sim 1.013, P=0.036$ )。PDPN 预测 MN 患者形成高凝状态的曲线下面积为 0.705( $95\%CI:0.550\sim 0.860, P=0.020$ ),灵敏度、特异度分别为 80.8%、57.9%。结论 高水平血清 PDPN 是 MN 发生高凝状态的重要危险因素,对高凝状态具有一定的诊断价值,能否作为标志物进行预防性抗凝还有待进一步研究,而血清 Angptl4 水平无诊断意义。

**【关键词】** 膜性肾病;平足蛋白;血管生成素样蛋白 4;高凝状态

**【中图分类号】** R692 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.12.016

## Diagnostic value of serum levels of PDPN and Angptl4 with hypercoagulability in membranous nephropathy

QIAN Jin, CHEN Weidong, ZHANG Qianwen

(The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, Anhui, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the correlation of serum podoplanin (PDPN) and angiopoietin-like protein 4 (Angptl4) levels with the hypercoagulable state of membranous nephropathy(MN) and their diagnostic value. **Methods** 45 patients with MN, 19 patients with IgA nephropathy and 20 patients with other glomerular diseases diagnosed by renal biopsy in the Department of Nephrology of the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College from December 2021 to September 2022 were selected as the study subjects, and 30 healthy physical examiners were used as the control group. According to the formation of hypercoagulable state, the MN group was divided into hypercoagulable group ( $n=26$ ) and non-hypercoagulable group ( $n=19$ ). The serum levels of PDPN and Angptl4 were measured by applying enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the levels of PDPN and Angptl4 in each group were compared and analyzed. **Results** Serum PDPN levels were higher in the MN group than in the IgA nephropathy group, other pathological types and the control group. The serum PDPN level of MN group was statistically significant different from IgA nephropathy group and

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(202004j07020011)

通讯作者:陈卫东,主任医师, E-mail:cwd2012@163.com

引用本文:钱瑾,陈卫东,张倩文.血清 PDPN 及 Angptl4 水平对膜性肾病高凝状态的诊断价值[J].西部医学,2024,36(12):1803-1808. DOI:10.

3969/j.issn.1672-3511.2024.12.016

control group ( $P1 < 0.05$ ,  $P3 < 0.01$ ), but wasn't statistically significant different from other pathological type groups ( $P2 > 0.05$ ). Serum Angptl4 levels in the MN group were lower than those in the IgA nephropathy group, the other pathological types and the control group. The serum Angptl4 level of MN group was statistically significant different from IgA nephropathy group and control group ( $P1 < 0.05$ ,  $P3 < 0.01$ ), but had no statistically significant differences with other pathological type groups ( $P2 > 0.05$ ). In MN patients, serum PDPN level was positively correlated with 24h urinary protein and fibrinogen; serum Angptl4 level was positively correlated with albumin, prothrombin time and activated partial thrombin time, and negatively correlated with serum cholesterol ( $P < 0.05$ ). PDPN, cholesterol, D-dimer and fibrinogen were higher in the hypercoagulable group than in the non-hypercoagulable group, while Angptl4, albumin and prothrombin time were lower than in the non-hypercoagulable group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Multifactorial regression analysis showed that serum PDPN was an important risk factor for MN hypercoagulable state ( $OR = 1.007$ , 95%CI: 1.000-1.013,  $P = 0.036$ ). The area under the curve of PDPN predicting the formation of hypercoagulable state in PMN patients was 0.705 (95%CI: 0.550-0.860,  $P = 0.020$ ); the sensitivity and specificity were 80.8% and 57.9%, respectively. **Conclusion** High levels of serum PDPN are an important risk factor for the development of hypercoagulable state in MN. Whether it can be used as a marker for preventive anticoagulation remains to be further studied. However, the level of serum Angptl4 has no diagnostic significance.

**【Key words】** Membranous nephropathy; Flatfoot protein; Angiopoietin-like protein 4; Hypercoagulable state

膜性肾病(Membranous nephropathy, MN)是成人肾病综合征中最常见的病因,且发病率在逐年升高。静脉血栓栓塞症(Venous thromboembolism, VTE)包括深静脉血栓(Deep vein thrombosis, DVT)、肾静脉血栓(Renal vein thrombosis, RVT)和肺栓塞,是MN的常见并发症之一,并且是造成MN患者病情迁延和死亡的重要原因,与其他病理类型肾病患者相比, MN患者更易并发血栓<sup>[1-2]</sup>。平足蛋白(Podoplanin, PDPN),是一种36~43 kDa黏蛋白型跨膜蛋白,因其在肾小球脏层上皮细胞(足细胞)中的低水平表达,并且可使足细胞由树枝状变为扁平状而被命名为PDPN<sup>[3]</sup>。在生理状态下,多种正常组织细胞均表达PDPN,如I型肺泡细胞、肾脏足细胞、淋巴管内皮细胞、腹膜间皮细胞、骨细胞、成骨细胞和脉络膜丛的室管膜细胞等<sup>[4]</sup>。C型凝集素样受体2(C-type lectin-like receptor 2, CLEC-2)为一种新型的血小板表面活化蛋白,属于II型跨膜受体,其在巨核细胞和血小板中高度表达;PDPN是目前唯一已知的内源性配体, PDPN-CLEC-2轴可刺激脑血管的形成和完整性,并促进巨核细胞的增殖和成熟以产生血小板。以往研究表明, PDPN可在与CLEC-2结合后介导静脉血栓形成和血管外血小板活化,并且在晚期动脉粥样硬化病变中也与内皮损伤和血小板聚集相关<sup>[5]</sup>。血管生成素样蛋白4(Angiopoietin-like protein 4, Angptl4)是一种与血管生成和脂质代谢密切相关的分泌蛋白<sup>[6]</sup>,广泛参与糖代谢、脂质代谢、动脉粥样硬化、肿瘤生长、炎症状态等病理生理过程<sup>[7-8]</sup>;通过对MN患者肾组织及足细胞损伤及修复、机体免疫应答、蛋白尿形成、血管通透性及脂质代谢等造成影响,从而间

接或直接地影响MN患者机体凝血功能<sup>[9]</sup>。本研究分析影响MN高凝状态的危险因素,同时对比患者血PDPN、Angptl4及相关指标水平,并分析血PDPN及Angptl4水平与高凝状态的相关性,以评价血PDPN及Angptl4能否作为预测MN高凝状态的标志物。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2021年12月—2022年9月在蚌埠医学院第一附属医院肾活检确诊的MN患者45例(MN组)、IgA肾病患者19例(IgA组)及其他病理类型患者20例(其他类型组),共84例。另外,选取本院30例健康体检者为对照组。MN组按照是否形成高凝状态分为高凝亚组( $n = 26$ )和非高凝亚组( $n = 19$ )。高凝状态:部分凝血酶原时间(PT)比正常短3 s(11~14 s),活化部分凝血活酶时间(APTT)比正常短10 s(35~45 s),D-二聚体 $> 0.5$  mg/L。纳入标准:①肾穿刺病理诊断结果明确为膜性肾病。②年龄 $\geq 18$ 岁, $< 75$ 岁。③患者就诊前,未接受糖皮质激素及其他免疫抑制剂、细胞毒药物等治疗。④既往无血栓形成或出血性疾病史。排除标准:①患者合并有病毒性肝炎、带状疱疹、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、肿瘤等疾病,存在可能导致发生继发性膜性肾病的因素。②患者于住院抽取血液化验及行肾穿刺活检之前已应用糖皮质激素、免疫抑制剂、细胞毒药物等治疗。③入院后行抽血化验前1周内应用肝素、低分子量肝素、华法林等药物抗凝治疗者及阿司匹林、氯吡格雷等抗血小板药物治疗者。

1.2 研究指标 收集患者的临床资料包括年龄、性别、24 h尿蛋白定量、血清总蛋白、血清白蛋白(Alb)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CH)、抗PLA2R抗体滴度、

凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、D-二聚体、纤维蛋白原等血清指标。采集患者空腹静脉血 2 mL, 离心获得上层血清,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存待测, 使用前取出至  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱中溶解, 待完全溶解后作为实验样本, 严格按照试剂盒说明 ELISA 法测定血清 PDPN 及 Angptl4 水平。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 26.0 统计学软件进行统计分析, 正态分布的计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 非正态分布的计量资料以  $[M(P_{25}, P_{75})]$  表示, 组间比较采用非参数检验。采用 Pearson 相关性分析对膜性肾病患者血清 PDPN 及 Angptl4 水平与相关临床指的相关性进行分析。采用单因素和多因素二元 Logistic 回归分析来确定与高凝状态相关的独立因素。应用 ROC 曲线分析血清 PDPN 及 Angptl4 水平对 MN 患者高凝状态的预测价值。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组间患者临床资料对比 MN 患者年龄、24 h

尿蛋白、TG、CH、抗 PLA2R 抗体滴度及 D-二聚体高于 IgA 患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); MN 患者 Alb、总蛋白、PT 及 APTT 低于 IgA 患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); MN 组与 IgA 组患者在性别、纤维蛋白原等方面比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。MN 患者年龄、CH 及抗 PLA2R 抗体滴度高于其他类型患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); MN 患者 PT 及 APTT 低于其他类型患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); MN 组与其他类型组患者在性别、Alb、总蛋白、24 h 尿蛋白、TG、纤维蛋白原及 D-二聚体等方面比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。MN 组患者 CH、TG、纤维蛋白原及 D-二聚体显著高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); MN 患者总蛋白、Alb、PT 及 APTT 低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); MN 组与对照组在年龄等方面比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。4 组年龄、白蛋白、总蛋白、TG、CH、PT、APTT、D-二聚体及纤维蛋白原等比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 性别比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组间临床资料的比较  $[(\bar{x} \pm s), M(P_{25}, P_{75})]$

Table 1 Comparison of clinical data

指标	MN 组 ( $n=45$ )	IgA 组 ( $n=19$ )	其他类型组 ( $n=20$ )	对照组 ( $n=30$ )	P1	P2	P3	P
性别(男/女)	35/10	14/5	11/9	16/14	0.729	0.090	0.033	0.090
年龄(岁)	50.36 $\pm$ 12.59	38.37 $\pm$ 13.93	30.95 $\pm$ 11.87	43.87 $\pm$ 20.02	0.001	<0.001	0.150	<0.001
24 h 尿蛋白(g/d)	5.98 $\pm$ 2.36	2.87 $\pm$ 1.86	5.00 $\pm$ 2.59		<0.001	0.138	-	-
Alb(g/L)	24.60(22.30, 27.80)	39.60(33.20, 43.90)	24.80(19.70, 34.00)	44.80(43.30, 47.15)	<0.001	0.989	<0.001	<0.001
总蛋白(g/L)	45.50(43.15, 50.05)	60.10(53.90, 69.20)	46.8(40.48, 55.83)	66.75(62.08, 68.63)	<0.001	0.691	<0.001	<0.001
TG(mmol/L)	6.80(4.85, 8.07)	1.09(1.59, 3.11)	2.07(1.44, 2.47)	1.01(0.66, 2.27)	0.049	0.804	0.001	0.005
CH(mmol/L)	6.68 $\pm$ 2.29	4.71 $\pm$ 1.86	8.46 $\pm$ 2.96	4.34 $\pm$ 1.18	0.001	0.011	<0.001	<0.001
抗 PLA2R 抗体滴度	55.38(28.70, 287.13)	5.00(5.00, 5.00)	5.00(5.00, 5.00)		<0.001	<0.001	-	-
PT(s)	10.54 $\pm$ 0.71	11.24 $\pm$ 0.91	11.06 $\pm$ 0.86	10.99 $\pm$ 0.87	0.002	0.014	0.017	0.007
APTT(s)	25.70(24.00, 26.80)	27.60(26.10, 29.90)	26.95(25.53, 29.18)	27.10(24.25, 29.53)	0.001	0.001	0.035	0.003
D-二聚体(mg/LFEU)	0.84(0.36, 1.63)	0.27(0.19, 0.71)	0.49(0.27, 1.52)	0.26(0.19, 0.61)	0.040	0.283	<0.001	<0.001
纤维蛋白原(g/L)	3.33(2.99, 4.36)	2.86(2.39, 3.82)	3.85(2.52, 5.06)	2.42(2.02, 2.72)	0.070	0.604	<0.001	<0.001

注: P1 为 MN 组与 IgA 组比较统计学差异; P2 为 MN 组与其他类型组比较统计学差异; P3 为 MN 组与对照组比较统计学差异; P 为各组间比较统计学差异。

2.2 各组间患者血清 PDPN 及 Angptl4 水平对比 MN 组血清 PDPN 水平高于 IgA 组、其他类型组和对照组, MN 组与 IgA 组、对照组 PDPN 比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 与其他类型组 PDPN 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。MN 组血清 Angptl4 水平

低于 IgA 组、其他病例类型组和对照组, MN 组与 IgA 组、对照组 Angptl4 比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 与其他类型组 Angptl4 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。4 组间血清 PDPN 及 Angptl4 水平比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组间血清 PDPN 及 Angptl4 水平的比较  $[(\bar{x} \pm s), M(P_{25}, P_{75})]$

Table 2 Comparison of serum PDPN and Angptl4 levels

指标	MN 组 ( $n=45$ )	IgA 组 ( $n=19$ )	其他类型组 ( $n=20$ )	对照组 ( $n=30$ )	P1	P2	P3	P
PDPN(pg/mL)	659.30(577.34, 815.95)	556.06(517.67, 686.35)	578.51(524.82, 743.75)	316.77(264.26, 398.53)	0.034	0.085	<0.001	<0.001
Angptl4(ng/mL)	2.67 $\pm$ 0.91	3.18 $\pm$ 0.85	3.08 $\pm$ 0.64	5.14 $\pm$ 0.60	0.039	0.064	<0.001	<0.001

注: P1 为 MN 组与 IgA 组比较差异有统计学意义; P2 为 MN 组与其他类型组比较差异有统计学意义; P3 为 MN 组与对照组比较差异有统计学意义; P 为各组间比较差异有统计学意义。

2.3 血清 PDPN 及 Angptl4 水平与临床指标的相关性分析 为确定影响 MN 患者高凝状态的危险因素,对表 3 中所列变量与血清 PDPN 及 Angptl4 水平进行 Pearson 相关分析,结果表明在 MN 患者中,血清 PDPN 水平与 24 h 尿蛋白及纤维蛋白原呈显著正相关( $P < 0.05$ ),与 Alb、D-二聚体、PT 及 APTT 无相关性( $P > 0.05$ )。血清 Angptl4 水平与 Alb、PT 及 APTT 呈显著正相关( $P < 0.05$ ),与 CH 呈显著负相关( $P < 0.05$ ),与 TG、D-二聚体、纤维蛋白原、24 h 尿蛋白及 PT 无相关性( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 MN 组血清 PDPN 及 Angptl4 水平与各临床资料的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of serum PDPN and Angptl4 levels in MN group 4 with clinical data

指标	血清 PDPN		血清 Angptl4	
	r	P	r	P
Alb(g/L)	-0.086	0.572	0.398 <sup>①</sup>	0.007
总蛋白(g/L)	-0.017	0.912	0.039	0.798
24h 尿蛋白(g/d)	0.295	0.049 <sup>②</sup>	-0.125	0.413
胆固醇(mmol/L)	0.039	0.797	-0.430	0.003 <sup>①</sup>
甘油三酯(mmol/L)	0.065	0.672	-0.271	0.072
凝血酶原时间(s)	-0.042	0.784	0.322	0.031 <sup>②</sup>
活化部分凝血活酶时间(s)	-0.104	0.498	0.309	0.039 <sup>②</sup>
D-二聚体(mg/LFEU)	0.062	0.684	-0.045	0.769
纤维蛋白原(g/L)	0.295	0.047 <sup>②</sup>	-0.135	0.378
抗 PLA2R 抗体滴度	0.163	0.284	-0.039	0.799

注:①表示在 0.01 级别(双尾),相关性显著。②表示在 0.05 级别(双尾),相关性显著。

2.4 与高凝状态相关影响因素的分析 根据是否形成高凝状态将 MN 患者分为高凝组和非高凝组,比较 2 组患者的各项相关临床指标,高凝状态患者 PDPN、CH、D-二聚体及纤维蛋白原高于非高凝状态患者( $P < 0.05$ ),Angptl4、Alb 及 PT 低于非高凝状态患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 4。以是否形成高凝状态为因变量,将以上可能有影响的相关因素进行单因素二元 Logistic 回归分析,结果表明,Alb、CH、PDPN 是影响 MN 患者高凝状态的相关因素( $P < 0.05$ )。对  $P < 0.2$  的因素进行多因素二元 Logistic 回归分析,结果表明血清 PDPN 水平升高是 MN 患者高凝状态形成的重要危险因素( $OR = 1.007$ ,  $95\%CI: 1.000 \sim 1.013$ ,  $P = 0.036$ ),见表 5。

2.5 分析血清 PDPN 水平对 MN 患者高凝状态的诊断价值 应用 ROC 曲线分析显示,PDPN 预测 MN 患者形成高凝状态的曲线下面积为 0.705 ( $95\%CI: 0.550 \sim 0.860$ ,  $P = 0.020$ );灵敏度、特异度分别为 80.8%、57.9%。当 MN 患者的血清 PDPN 水平  $> 616.87$  pg/mL 时,发生高凝状态的风险显著增加。见表 6、图 1。

表 4 高凝组与非高凝组临床资料的比较 [ $(\bar{x} \pm s)$ ,  $M(P_{25}, P_{75})$ ]

Table 4 Comparison of clinical data between hypercoagulant group and non-hypercoagulant group

指标	高凝组(n=26)	非高凝组(n=19)	P
性别(男/女)	22/4	13/6	0.202
年龄(岁)	53.12±11.80	46.58±12.94	0.150
Alb(g/L)	24.10(21.73,25.2)	27.00(23.90,29.10)	0.013
24h 尿蛋白(g/d)	6.29±2.59	5.56±2.00	0.313
胆固醇(mmol/L)	7.41±2.28	5.69±1.94	0.011
甘油三酯(mmol/L)	2.23(1.36,3.01)	1.99(1.06,3.12)	0.415
PT(s)	10.34±0.55	10.83±0.83	0.022
活化部分凝血活酶时间(s)	25.55(24.05,26.83)	25.40(23.80,26.20)	0.476
D-二聚体(mg/LFEU)	2.29(0.81,2.71)	0.39(0.24,0.54)	<0.001
纤维蛋白原(g/L)	4.06(3.30,4.64)	3.00(2.64,3.35)	0.001
抗 PLA2R 抗体滴度	71.87(23.24,288.51)	54.00(31.38,161.00)	0.748
血清 PDPN(pg/mL)	753.95(625.77,870.56)	598.60(536.11,742.18)	0.020
血清 Angptl4(ng/mL)	2.41±1.10	2.98±0.56	0.028

表 5 影响 MN 高凝状态的单因素及多因素分析

Table 5 Analysis of single and multiple factors affecting the hypercoagulability of MN

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR	95%CI	P	OR	95%CI	P
年龄(岁)	1.046	0.993~1.101	0.092	1.015	0.944~1.091	0.691
Alb(g/L)	0.760	0.613~0.941	0.012	0.794	0.604~1.044	0.098
24h 尿蛋白(g/L)	1.149	0.880~1.500	0.308	-	-	-
胆固醇(mmol/L)	1.518	1.064~2.164	0.021	1.347	0.883~2.053	0.166
甘油三酯(mmol/L)	1.042	0.768~1.414	0.790	-	-	-
抗 PLA2R 抗体滴度	1.000	0.997~1.004	0.811	-	-	-
血清 PDPN(pg/mL)	1.005	1.001~1.009	0.029	1.007	1.000~1.013	0.036
血清 Angptl4(ng/mL)	0.467	0.214~1.019	0.056	0.635	0.234~1.724	0.373

表 6 血清 PDPN 水平对于 MN 患者高凝状态的预测值

Table 6 Predictive value of serum PDPN level for hypercoagulability in MN patients

变量	预测值	灵敏度	特异度	AUC	约登指数	P	95%CI	标准误
血清 PDPN(pg/mL)	616.87	0.808	0.579	0.705	0.387	0.020	0.550~0.860	0.079

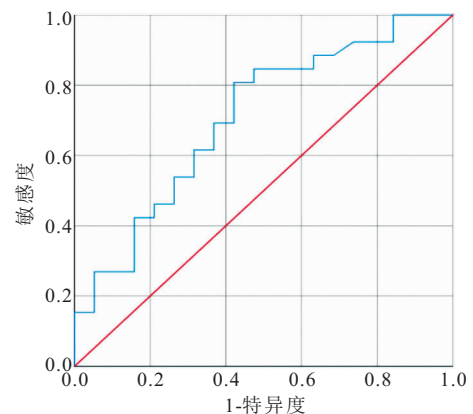


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

在治疗 MN 的过程中,人们逐渐认识到 VTE 是 MN 患者的常见并发症,也是发病率和死亡率的主要原因<sup>[10]</sup>。MN 患者高脂血症促进了血液粘稠度增加,

使血小板和 D-D 功能受限,增加了静脉血栓形成的概率,进一步损伤肾功能<sup>[11]</sup>。NS 患者 VTE 的潜在病理生理机制尚未完全阐明。血栓形成的基本要素即 Virchow 三联征包括高凝状态、内皮损伤和静脉淤滞。其中,高凝状态被认为是 NS 相关 VTE 的主要危险因素<sup>[12]</sup>。高凝状态被认为是由多种因素引起的,包括肾小球凝血因子丢失失衡,肝脏促凝剂合成增加,血小板活性改变,血管内容量收缩,伴随水肿的静脉淤滞<sup>[13]</sup>。高凝状态导致肾损伤,并促进肾病综合征的进展,是血栓栓塞性疾病早期诊断的重要内容。根据国外文献报道,低蛋白血症是 MN 患者血栓形成的独立危险因素<sup>[14]</sup>。但是,尽管血清白蛋白水平没有差异,MN 患者更容易发生血栓栓塞并发症,这表明可能涉及其他机制<sup>[15]</sup>。MN 患者血栓形成风险增加的机制至今仍不清楚。

Welander 等<sup>[16]</sup>对 95 例 NS 患者静脉血栓的回顾性研究中发现,NS 患者 VTE 风险的增加与蛋白尿和低蛋白血症在一定程度上相关。本研究发现,MN 患者 PDPN 水平高于非 MN 患者,Angptl4 水平低于非 MN 患者,并且 MN 患者 PDPN 及 Angptl4 水平与 IgA 患者间存在显著差异,与其他病理类型患者之间不存在显著差异。同样,MN 患者与 IgA 患者之间白蛋白及尿蛋白存在显著差异,而与其他病理类型患者之间不存在显著差异,这与三组间 PDPN 及 Angptl4 水平差异一致。进一步表明了 MN 患者由于较重的免疫炎症损伤导致的大量蛋白尿、低蛋白血症可能会激活凝血系统并带来一系列的代谢紊乱。张子恒<sup>[17]</sup>人研究发现,膜性肾病患者肾脏组织中 PDPN 表达增多,血清中 PDPN 的水平低于其他肾小球疾病组,推测是由于其血中 PDPN 与血小板结合并消耗导致,该结论与本研究结果不一致,可能是由于释放入血的 PDPN 多于其与血小板结合消耗的。目前的研究表明<sup>[18]</sup>,PDPN 在某些肿瘤细胞中的高表达会诱导血小板聚集,形成高凝状态,增加血栓栓塞风险。并且在某些病理状态下,PDPN 被证明在内皮下壁上调并在破裂部位暴露,从而触发血小板活化和血栓形成<sup>[19]</sup>。在动物模型中,PDPN 表达缺失与足细胞足突的变平、蛋白尿和肾小球选择性通透性降低有关<sup>[20]</sup>。由于足细胞特殊的肌动蛋白骨架系统是其发挥正常功能的必要条件,所以足细胞的损伤和功能破坏是 MN 发病的核心环节<sup>[21]</sup>。足细胞受损时,精细的足突结构发生融合或消退,足细胞细胞骨架发生改变,从而导致足细胞狭缝隔膜功能的丧失和肾小球蛋白的渗漏,而细胞骨架的重排与 PDPN 密切相关<sup>[22]</sup>。这表明 MN 患者较 IgA 及其他病理类型患者足细胞的损

伤和功能破坏可能更严重,在足细胞细胞膜受损的过程中,更多的 PDPN 合成进入血液循环,与血液循环中的血小板膜上表达的 CLEC-2 结合,导致血小板聚集和活化,致易形成血栓的高凝状态,从而导致血流缓慢和血液停滞部位血栓形成的倾向增加,由此推测肾损伤和高凝状态之间可能存在直接联系。因此,PDPN 升高可能不仅反映生理调节,而且与高凝状态和血栓栓塞形成有关。

同时,MN 患者足细胞受损后能够分泌 Angptl4,可将活性甘油三酯水解酶-脂蛋白脂肪酶片段转为无活性单体,抑制脂肪吸收和储存、改善脂质代谢过程,从而抑制泡沫细胞形成及炎症反应,减缓血栓事件的发生<sup>[23]</sup>。在 MCD 动物模型中,足细胞中的 Angptl4 蛋白表达增加,可导致蛋白尿和足细胞损伤<sup>[24]</sup>。但在人肾脏疾病中 Angptl4 与足细胞损伤及蛋白尿的关系仍不明确。有研究发现,Angptl4 能够作用于肾脏足细胞,影响肾小球基底膜功能,在膜性肾病患者大量蛋白尿发生发展中具有重要作用<sup>[25]</sup>。此外,研究发现 Angptl4 通过抑制肠系膜淋巴结巨噬细胞对脂肪酸的吸收来抑制饱和脂肪酸诱导的全身炎症反应,维持内皮细胞的完整性,从而减少血栓发病风险<sup>[26]</sup>。炎症介质通路和脂质代谢水平均可破坏心脏补体系统,致使血管内膜损伤加剧,从而使血栓发病风险增加。当足细胞损伤,机体存在纤维溶解活动时,分泌 Angptl4 平衡脂质代谢水平和炎症应激反应。研究显示<sup>[27]</sup>,与对照组相比,LPS 诱导的小鼠足细胞损伤模型中,尿液 Angptl4 增加而血清 Angptl4 减少,我们的研究结果与其基本一致。

蛋白尿及低蛋白血症通常被认为是 MN 患者血栓形成的高危因素。纤维蛋白原是最丰富的凝血蛋白,并且是凝血酶活性的标志物;APTT 测定是临床上最常用的反映内源性凝血系统凝血活性的敏感筛选试验<sup>[28]</sup>。本研究中我们发现,高凝组 PDPN、CH、D-二聚体及纤维蛋白原显著高于非高凝组,Angptl4、Alb 及 PT 显著低于非高凝组。这表明 MN 患者高凝状态与 PDPN、Angptl4、Alb、CH、D-二聚体及纤维蛋白原相关,且在高凝状态下,MN 患者血清 PDPN 水平更高,Angptl4 水平更低,这与本实验前面的研究结果一致。通过相关性分析我们还发现,MN 患者血清 PDPN 水平与 24h 尿蛋白、纤维蛋白原呈显著正相关,Angptl4 水平与白蛋白及 APTT 呈显著正相关,与胆固醇呈显著负相关。此外,高胆固醇血症也促进血小板粘附和亢进,与 MN 的高凝状态有关。PDPN、Angptl4 与纤维蛋白原和胆固醇之间的显著相关性进一步证实了其可能与高凝状态有关,与以上研究结果一

致。此外,本研究表明,白蛋白血症、胆固醇和 PDPN 是 MN 患者是高凝状态形成的危险因素。进一步行多因素回归分析发现,高水平血清 PDPN 是 MN 患者高凝状态形成的重要危险因素。当 MN 患者的血清 PDPN 水平 > 616.87 pg/mL 时,发生高凝状态的风险显著增加。由此,我们推测 PDPN 对 MN 高凝状态有一定的诊断价值,可作为预测高凝状态的指标。

#### 4 结论

高水平血清 PDPN 是 MN 患者高凝状态形成的重要危险因素,还对 MN 患者高凝状态有一定的诊断意义。而血清 Angptl4 水平无诊断意义。此外, PDPN 参与 MN 患者高凝状态形成的机制以及是否能作为标志物进行预防性抗凝还有待进一步研究。

#### 【参考文献】

- [1] CHEN X, GENG X, JIN S, *et al.* The association of syndecan-1, hypercoagulable state and thrombosis in patients with nephrotic syndrome[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2021, 27(3): 1-6.
- [2] CASEY D, ROMERO K, PATEL R, *et al.* Bilateral renal vein thrombosis in membranous nephropathy: hypoalbuminemia predictive of venous thromboembolism in nephrotic syndrome[J]. *Cureus*, 2022, 14(10): e30032.
- [3] WATANABE N, KIDOKORO M, SUZUKI Y, *et al.* A pull-down and slot blot-based screening system for inhibitor compounds of the podoplanin-CLEC-2 interaction[J]. *PloS One*, 2019, 14(9): e0222331.
- [4] 曲乐,赵星鹏,傅建新,等. 重组人平足蛋白基因在中国仓鼠卵巢细胞的稳定表达[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(1): 25-28.
- [5] BORGOGNONE A, NAVARRO-NÚEZ L, CORREIA J N, *et al.* CLEC-2-dependent activation of mouse platelets is weakly inhibited by cAMP but not by cGMP[J]. *J Thromb Haemos*, 2021, 12(4): 550-559.
- [6] BO L, MING Q, HAO C, *et al.* TGF- $\beta$  2-induced ANGPTL4 expression promotes tumor progression and osteoclast differentiation in giant cell tumor of bone[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(33): 54966-54977.
- [7] LI J, LI L, GUO D M, *et al.* Triglyceride metabolism and angiopoietin-like proteins in lipoprotein lipase regulation[J]. *Clin Chimica Acta*, 2020, 503: 19-34.
- [8] ARYAL B, PRICE N L, SUAREZ Y, *et al.* ANGPTL4 in Metabolic and Cardiovascular Disease[J]. *Trends in Mol Med*, 2019, 25(8): 723-734.
- [9] 贾利敏,赵翠,魏迪,等. 膜性肾病患者 Angptl4,CTLA4 及维生素 D 检测与凝血功能的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(3): 362-365.
- [10] GEETA G, MOLNAR M Z, LU J L, *et al.* Association of serum albumin level and venous thromboembolic events in a large cohort of patients with nephrotic syndrome. [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32(1): 157-164.
- [11] ZHONG F, LIU S, LI Y, *et al.* ANGPTL3 impacts proteinuria and hyperlipidemia in primary nephrotic syndrome[J]. *Lipids Health Dis*, 2022, 21(1): 1-13.
- [12] BERNS A S, SOVETNIKOV E N, CHEBOTAREVA N V, *et al.* Evaluation of hemostasis disorders using the thrombodynamic test in patients with chronic glomerulonephritis with nephrotic syndrome[J]. *Ter Ark*, 2022, 94(6): 738-742.
- [13] ZOU P M, LI H, CAI J F, *et al.* Statins can benefit patients with primary membranous nephropathy on venous thromboembolism[J]. *Ren Fail*, 2021, 43(1): 302-306.
- [14] LIONAKI S, DEREBAI L V K, HOGAN S L, *et al.* Venous thromboembolism in patients with membranous nephropathy [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(1): 43-51.
- [15] MA K L, WANG G H, LU J, *et al.* The release of monocyte-derived tissue factor-positive microparticles contributes to a hypercoagulable state in idiopathic membranous nephropathy[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2019, 26(6): 538-546.
- [16] WELANDER F, HOLMBERG H, E DIMÉN Y, *et al.* Prophylactic anticoagulants to prevent venous thromboembolism in patients with nephrotic syndrome-A retrospective observational study[J]. *PLoS One*, 2021, 16(7): e0255009.
- [17] 张子恒. PDPN 在特发性膜性肾病患者血栓并发症发生中的作用分析[D]. 济南:山东大学, 2021.
- [18] RIEDL J, PREUSSER M, NAZARI P M S, *et al.* Podoplanin expression in primary brain tumors induces platelet aggregation and increases risk of venous thromboembolism[J]. *Blood*, 2017, 129(13): 1831-1839.
- [19] KATSUE, SUZUKI-INOUE. Platelets and cancer-associated thrombosis: focusing on the platelet activation receptor CLEC-2 and podoplanin[J]. *Blood*, 2019, 134(22): 1912-1918.
- [20] 宋燕珂,郭迎雪,孙莹,等. 平足蛋白在肿瘤侵袭转移过程中作用的研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(4): 599-603.
- [21] BROEK M, SMEETS B, SCHREUDER M F, *et al.* The podocyte as a direct target of glucocorticoids in nephrotic syndrome [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2022, 37(10): 1808-1815.
- [22] TANAKA K, TANAKA M, WATANABE N, *et al.* C-type lectin-like receptor (CLEC)-2, the ligand of podoplanin, induces morphological changes in podocytes[J]. *Sci Reports*, 2022, 12(1): 223-256.
- [23] 孙勇,聂中林,宋涛,等. Angptl4 在下肢动脉硬化闭塞症患者中的表达及临床意义[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2021, 42(16): 1381-1386.
- [24] LI Y, GONG W, LIU J, *et al.* Angiopoietin-like protein 4 promotes hyperlipidemia-induced renal injury by down-regulating the expression of ACTN4[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 595: 69-75.
- [25] GAO X, ZHANG M, FENG W, *et al.* Alteration of Angiopoietin-Like Protein 4 Levels in Serum or Urine Correlate with Different Biochemical Markers in Hyperlipidemia-Related Proteinuria[J]. *Bio Med Res Int*, 2020, 2020(18): 1-8.
- [26] LICHTENSTEIN L, MATTIJSSEN F, WIT N, *et al.* Angptl4 protects against severe proinflammatory effects of saturated fat by inhibiting fatty acid uptake into mesenteric lymph node macrophages. [J]. *Cell Metab*, 2010, 12(6): 580-592.
- [27] HEN X, WENG C, WANG Y, *et al.* Lipopolysaccharide-induced podocyte injury is regulated by calcineurin/NFAT and TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathways through angiopoietin-like protein 4[J]. *Genes Dis*, 2022, 9(6): 1757-1758.
- [28] JI Y, WANG Y L, XU F, *et al.* Elevated Soluble Podoplanin Associates with Hypercoagulability in Patients With Nephrotic Syndrome[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2022, 28: 1-7.

(收稿日期: 2023-04-10; 修回日期: 2024-07-26; 编辑: 黎仕娟)