

慢性肾脏病患者血液中 FGF23, TNF- α , RANTES 和 IL-12 检测水平的相关性研究

杨 雄^{1,2}, 尹爱萍³

(1. 西安交通大学医学院, 西安 710061; 2. 神木市医院肾脏病科, 陕西神木 719300;

3. 西安交通大学第一附属医院, 西安 710061)

摘要:目的 分析慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)患者中成纤维细胞生长因子 23(fibroblast growth factor 23, FGF23)水平与促炎性趋化因子之间的相关性。方法 选取神木市医院肾脏病科 2017 年 1 月~2019 年 1 月收治的 50 例 CKD II~V 期患者和 50 例老年健康体检对照组纳入研究, 分析受试对象血液和尿液中的生化指标。用 ELISA 技术测量 FGF23 水平, 通过 Milliplex 技术检测分析促炎细胞因子, 并分析其相关性。结果 CKD 患者的肿瘤坏死因子(TNF)- α 调节激活正常 T-细胞表达分泌因子(RANTES)和白介素(IL)-12 水平均显著升高, 差异有统计学意义($t=3.965, 4.087, 4.956$, 均 $P<0.001$)。CKD 患者的 FGF23 水平与尿清蛋白排泄(UAE)、磷酸盐、甲状旁腺激素(PTH)和钙之间存在显著相关性, 差异有统计学意义($P<0.001$), 与 C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)和纤维蛋白原之间无显著相关性($P>0.05$)。FGF23 水平与 RANTES 和 IL-12 之间具有显著相关性, 差异有统计学意义($P<0.001$)。CKD 组中 IL-8, IFN- γ 和 TNF- α 与 FGF23 水平无相关性($P>0.05$)。CKD 患者的 FGF23 与 GFR 之间存在显著负相关 [$r=-0.66$ (95% CI: $-0.78 \sim 0.62$), $P<0.001$], 随着 GFR 水平的降低, FGF23 的浓度显著增加。结论 CKD 患者处于炎症状态。FGF23 水平与钙磷代谢、促炎性细胞因子、肾功能恶化程度相关, 可作为预测病程进展的早期指标。

关键词:慢性肾脏病; 肿瘤坏死因子- α ; 成纤维细胞生长因子; 白介素-12

中图分类号: R692; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020)01-025-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.01.007

Correlation between FGF23, TNF- α , RANTES and IL-12 Levels in the Blood of Patients with Chronic Kidney Disease

YANG Xiong^{1,2}, YIN Ai-ping³

(1. Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 2. Department of Nephrology, Shenmu Hospital, Shaanxi Shenmu 719300, China; 3. the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract: Objective To analyze the correlation between FGF23 levels and pro-inflammatory chemokines in patients with chronic kidney disease (CKD). **Methods** Fifty CKD patients with stage 2-5 and 50 geriatric healthy controls were analyzed for biochemical indicators in blood and urine in the Shenmu Hospital from January 2017 to December 2019. FGF23 levels were measured by ELISA, Proinflammatory cytokines were analyzed by Milliplex technique and the correlation was analyzed. **Results** The levels of tumor necrosis factor (TNF)- α , RANTES and interleukin (IL)-12 were significantly higher in CKD patients with statistically significant differences ($t=3.965, 4.087, 4.956$, all $P<0.001$). There was a significant correlation between FGF23 levels and urinary albumin excretion, phosphate, PTH, and calcium in patients with CKD and the difference was statistically significant ($P<0.001$), but no significant correlation with C reactive protein (CRP) and fibrinogen ($P>0.05$), and there was a significant correlation between FGF23 levels and the cytokines RANTES and IL-12 with statistically significant differences ($P<0.001$). In the CKD group, IL-8, IFN- γ and TNF- α were not related to FGF23 levels ($P>0.05$). There was a significantly negative correlation between FGF23 and GFR in CKD patients [$r=-0.66$ (95% CI: -0.78 to 0.62), $P<0.001$], the concentration of FGF23 increased significantly as the level of GFR decreased. **Conclusion** CKD patients are in an inflammatory state. The level of FGF23 is associated with calcium and phosphorus metabolism, pro-inflammatory cytokines, and deterioration of renal function, and can be used as an early indicator of disease progression.

Keywords: chronic kidney disease; tumor necrosis factor- α ; fibroblast growth factor; interleukin-12

作者简介: 杨雄 (1978 -), 男, 副主任医师, 研究方向: 肾脏病学, E-mail: yangxiongxy@126.com。

通讯作者: 尹爱萍, E-mail: aipingy@126.com。

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)是以肾脏解剖结构和(或)肾脏功能长期异常为特征的一组临床综合征。其日益增加的发病率已成为一个严重的全球公共卫生问题^[1]。CKD的诊断和预后是确定疾病进展及其发病机理的关键因素。炎症介质,也被称为促炎因子,是机体在炎症反应中形成和释放的一类活性物质,参与体内炎症反应过程。大量研究表明,炎症反应贯穿肾脏疾病的发生、发展过程,已经成为诱发CKD损伤的机制之一。炎症细胞与炎症介质共同作用于肾小球、肾小管间质细胞等细胞,然后以自分泌的方式促使炎症介质产生,造成恶性循环,破坏肾小球、肾小管以及间质组织,促使肾脏间质纤维化,导致终末期肾脏病发生。成纤维细胞生长因子23(fibroblast growth factor 23, FGF23)是一种骨源性磷酸饱和激素,其水平的升高与CKD以及普通人群中发病率和死亡率的增加独立相关^[2]。FGF23是急性和慢性疾病预后的预测指标,炎症可增强FGF23的产生,而FGF23对炎症反应既具有刺激作用,又具有保留作用。FGF23通过触发基因起作用,该基因编码细胞因子,例如白介素(interleukin, IL)-6和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α ,并且CKD和非CKD人群均已描述FGF23水平与促炎性标志物相关联^[3]。其突出了FGF23作为炎症介质的作用,可能是通过细胞因子上调发挥作用。FGF23在调节先天性免疫方面可能具有广泛的作用。因此,我们旨在明确CKD患者中FGF23与促炎性介质的潜在关联。

1 材料与方法

1.1 研究对象 本研究招募了2017年1月~2019年1月神木市医院肾脏病科收治的50例CKD患者作为观察组,入选标准符合2005年《慢性肾脏病及透析的临床实践指南》(K/DOQI)^[4]:①肾损害时间超过3个月,其中肾损害是指肾脏结构和(或)功能异常,有或没有肾小球滤过率(GFR)下降,表现为病理异常、肾损害指标(包括异常血液或尿液成分异常)或超声检查结果异常;②GFR小于60 ml/min/1.73 m²持续3个月以上。所有患者自愿签署本研究的知情同意书。排除标准:①肾移植患者和(或)接受免疫抑制治疗;②伴有严重感染;③有急性心肌梗死、急性脑血管疾病、心力衰竭等重大疾病;④行甲状腺切除的患者;⑤继发性系统性疾病组包括糖尿病肾病和系统性红斑狼疮(SLE)肾脏损害。健康对照组($n=50$)招募50例老年健康体检者, GFR > 120 ml/min/1.73 m²,性别和年龄相匹配。本研究经神木市医院伦理委员会批准同意。其中CKD组病因包括原发性肾小球肾炎($n=21$, 42%)、继发性肾小球全身性疾病($n=18$, 36%)、先天性疾病($n=4$, 8%)和不明原因CKD($n=7$, 14%)。两组间性别组成、年

龄等一般资料比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表1。

表1 CKD组和健康对照组基本资料对比 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

项目	CKD组 ($n=50$)	健康对照组 ($n=50$)	t/χ^2	P
男	27(54.00)	26(52.00)	60.015	0.125
女	23(46.00)	24(48.00)		
年龄(岁)	62.16 \pm 20.23	60.46 \pm 22.15	1.462	0.072
体重指数 (kg/m ²)	21.45 \pm 5.49	20.94 \pm 4.56	1.661	0.053

1.2 试剂和仪器 高速离心机选自广州吉迪仪器有限公司,检测仪器为罗氏全自动C702生化分析仪,美国罗氏电化学发光分析仪,检测试剂盒购于中国武汉优尔生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 数据采集:收集所有受试者性别、年龄等资料以及体重指数、原发疾病等临床资料。检测GFR,血红蛋白(Hb)、高敏C反应蛋白(hsCRP)、肌酐、钙、磷酸盐、24h尿清蛋白排泄率、纤维蛋白原和甲状旁腺激素(PTH)等实验室指标。所有样本均是在基线访问时从参与者那里获得。

1.3.2 血清FGF23水平:使用ELISA法对参与者进行了FGF23分析,以鉴定完整的生物活性FGF23。检测下限为3pg/ml,批内和批间变异系数均<5%。

1.3.3 血浆可溶性炎症介质:我们选择了一组反映免疫系统各个方面的细胞因子和趋化因子。测定促炎性TNF- α 、趋化作用的调节激活正常T-细胞表达分泌因子(RANTES)和IL-8以及干扰素(IFN)- γ 和IL-12,同时分析血浆中的可溶性炎症介质。

1.4 统计学分析 采用SPSS 20.0软件进行统计分析。分类变量表示为频率(%)和比例。连续变量总结为均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)。从卡方检验中计算分类变量的 P 值,以评估组差异。对于连续变量,进行 t 检验或Mann-Whitney U 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组之间血液及尿液相关指标水平比较 见表2。与健康对照组相比,CKD患者的CRP显著升高($P=0.015$),CKD患者的TNF- α 、RANTES和IL-12水平显著升高,差异均具有统计学意义($t=3.965$, 4.087, 4.956, 均 $P<0.001$)。在CKD不同分期患者组内比较,FGF23的浓度差异具有统计学意义,数据显示,随着GFR水平的降低,FGF23的浓度升高更明显($F=38.174$, $P<0.001$)。

2.2 FGF23水平与实验室数据的相关性分析 见

表3。在CKD队列中,FGF23与UAE、磷酸盐、PTH和钙之间存在显著相关性,差异具有统计学意义($P < 0.001$),与CRP、纤维蛋白原没有显著相关性($P > 0.05$)。FGF23水平与细胞因子RANTES、IL-12之间具有显著相关性,差异具有统计学意义($P < 0.001$)。CKD组中IL-8、IFN- γ 和TNF- α 与FGF23水平无关($P > 0.05$)。

表2 两组之间血及尿相关指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	CKD组 (n=50)	健康对照组 (n=50)	t	P
GFR(ml/min)	52.12 ± 15.40	125.61 ± 18.43	4.163	<0.001
UAE(mg/24h)	135.13 ± 42.06	4.03 ± 1.87	4.538	<0.001
磷酸盐(mmol/L)	1.26 ± 0.43	1.03 ± 0.22	3.201	<0.001
钙(mmol/L)	2.31 ± 0.04	2.30 ± 0.03	1.551	0.051
PTH(pg/ml)	64.18 ± 13.62	42.84 ± 14.02	4.014	<0.001
CRP(mg/L)	3.25 ± 1.34	1.87 ± 0.52	2.236	0.015
纤维蛋白原(g/L)	3.52 ± 1.03	2.76 ± 0.59	3.547	<0.001
FGF23(pg/ml)	57.13 ± 13.54	18.44 ± 4.26	3.462	<0.001
TNF- α (pg/ml)	7.16 ± 2.46	4.36 ± 1.07	3.965	<0.001
IL-8(pg/ml)	1.85 ± 0.26	3.06 ± 1.02	1.056	0.147
RANTES(pg/ml)	9 805.12 ± 163.45	6 645 ± 105.04	4.087	<0.001
IL-12(pg/ml)	9.16 ± 4.47	4.56 ± 1.54	4.956	<0.001
IFN- γ (pg/ml)	7.45 ± 2.16	5.48 ± 1.62	1.106	0.101

注:UAE:尿清蛋白排泄率;PTH:甲状旁腺激素。

3 讨论

CKD已经成为全球疾病负担中重要的疾病之一,CKD的患病率在7%~12%^[5],随着研究技术水平的提高,人们对CKD的认识也在不断更新,如肾脏参与了体内多个系统的调节,如血液系统、骨骼系统、体内酸碱以及水电解质平衡系统和维持血压平

衡。肾功能异常可导致全身性多种疾病发生,同时引起多种并发症,如代谢性酸中毒、贫血、矿物质骨代谢异常、维生素D缺乏、甲状旁腺功能亢进、高钾血症、高磷血症,以及高血压、高尿酸血症、血脂异常等^[6]。CKD非特异性症状包括身体消瘦、易疲劳、食欲下降、皮肤发痒、肌肉痉挛、水肿、胸闷气短等不适症状,甚至出现恶心、呕吐等消化道症状^[7]。同时,CKD与获得性免疫障碍相关,既影响先天免疫又影响适应性免疫,部分表现为促炎性细胞因子水平升高。这些免疫紊乱又与心血管疾病如动脉粥样硬化和肾功能加速丧失以及对感染的易感性增加有关。

在炎症介质对CKD作用机制的深入研究中人们发现,炎症介质与CKD的诊断、转归和进展之间关系密切。TNF- α 是引起全身炎症反应综合征中的主要炎症介质^[8],TNF- α 主要由单核-巨噬细胞、T细胞和肾固有细胞产生的具有促炎作用的细胞因子,与蛋白尿之间也存在相互作用。在肾衰竭大鼠模型中可发现TNF- α 表达明显升高,而使用TNF- α 中和抗体后大鼠血压下降、蛋白尿减少,并伴随肾脏纤维化和局部炎症的减轻。此外,有学者发现人尿清蛋白排泄率增加先于TNF- α 的水平增加,这也提示蛋白尿水平的上升可能对TNF- α 产生有刺激作用。这些研究结果支持蛋白尿和TNF- α 之间存在密切关系。趋化因子RANTES是单核巨噬细胞特异性的趋化因子,可调节活化正常细胞的表达与分泌。在CKD中,通过核转录因子(NK- κ B)途径,RANTES可趋化单核巨噬细胞在肾组织广泛浸润,进而释放大量的炎症因子和纤维化因子,导致肾组织损伤^[9],在本研究中,CKD患者与健康对照组比较,TNF- α 与RANTES均明显升高,并有统计学意义,说明在CKD患者中炎症反应具有重大的临床意义。

表3 FGF23与各指标相关性分析[r(95%CI)]

项目	CKD		健康对照组	
	FGF23	P	FGF23	P
UAE	0.25(0.06~0.48)	0.01	-0.01(-0.32~0.30)	0.82
磷酸盐	0.66(0.51~0.82)	<0.001	-0.20(-0.48~-0.10)	0.22
PTH	0.48(0.30~0.63)	<0.001	0.19(-0.10~-0.49)	0.26
钙	0.31(0.15~0.56)	<0.001	-0.32(-0.55~-0.01)	0.03
CRP	-0.02(-0.26~0.20)	0.59	-0.03(-0.32~0.30)	0.81
纤维蛋白原	-0.10(-0.31~0.10)	0.30	0.07(-0.25~0.36)	0.69
TNF- α	-0.08(-0.25~0.15)	0.49	-0.14(-0.39~0.10)	0.42
IL-8	-0.20(-0.39~0.01)	0.06	0.20(0.01~0.41)	0.02
IFN- γ	-0.06(-0.26~0.20)	0.62	0.01(-0.30~0.31)	0.96
RANTES	0.45(0.26~0.59)	<0.001	-0.10(-0.42~0.21)	0.52
IL-12	0.40(0.21~0.57)	<0.001	0.12(-0.22~0.39)	0.53
GFR	-0.66(-0.78~-0.62)	<0.001	-0.21(-0.31~0.16)	0.65

FGF23 是一种由骨细胞及成骨细胞产生的成纤维细胞生长因子。分泌型 FGF23 (又称成熟全段 FGF23) 分子量约为 32KD, 是包含 227 个氨基酸的多肽, 它是一种重要的具有生物学活性的钙磷代谢调节因子^[10]。在本研究中显示, 在 CKD 中, FGF23 与磷酸盐、PTH 和钙之间存在显著相关性 ($P < 0.001$), 在健康对照组中, FGF23 与磷酸盐、PTH 和钙之间无相关性 ($P < 0.05$)。说明随着肾功能恶化, FGF23 与矿物质代谢标记物之间已建立了关联。也可能提示: 在 CKD 早期, 当血清磷水平仍处于正常范围时, 血清 FGF23 水平可以作为 CKD 患者矿物质代谢紊乱的早期敏感指标, 对 CKD 患者体内矿物质代谢紊乱情况预判具有重要参考价值, 有助于疾病早期发现、早期干预。

尿 UAE 是 CKD 早期标志物, 蛋白尿是疾病进展的预后标志, 是肾脏病预后的独立危险因素。另外, 由于最近的研究表明足细胞中存在相关的 FGF23 受体, 提示 FGF23 水平与蛋白尿有关^[11]。本研究显示, 在 CKD 患者中, FGF23 与 UAE 显著相关, 从临床中证实, 在 CKD 和非 CKD 人群中, 可通过对 FGF23 受体抑制, 进而达到降低尿蛋白的作用。

本研究中, CKD 患者的 TNF- α 、RANTES 和 IL-12 水平显著增高 ($P < 0.001$); FGF23 与尿清蛋白排泄率、磷酸盐、PTH 和钙之间存在显著相关性 ($P < 0.001$); FGF23 水平与细胞因子 RANTES 和 IL-12 之间存在显著相关性 ($P < 0.001$); FGF23 与 GFR 之间存在显著的负相关 [$r = -0.66$ (95% CI: $-0.78 \sim -0.62$), $P < 0.001$], 即随着 GFR 水平的降低, FGF23 的浓度显著增加。说明 FGF23 在 CKD 早期就具有标志作用, 并与尿蛋白、炎症反应之间关系密切。

总而言之, CKD 患者处于炎症状态。FGF23 水平与钙磷代谢以及促炎性细胞因子、肾功能恶化程度相关, 可作为早期预测 CKD 病程进展的有效敏感指标。

参考文献:

- [1] 张恒远, 张燕林, 周凌辉, 等. 慢性肾脏病患者血清肿瘤坏死因子样凋亡诱导因子与疾病进展的相关性分析[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2019, 48(5): 590-593.
ZHANG Hengyuan, ZHANG Yanlin, ZHOU Linghui, et al. Correlation between serum tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and disease progression in patients with Chronic Kidney Disease [J]. Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ et Technologiæ Huazhong (Medical Science), 2019, 48(5): 590-593.
- [2] CZAYA B, FAUL C. FGF23 and inflammation-a vicious coalition in CKD [J]. Kidney International, 2019, 96(4): 813-815.
- [3] PEREIRA R C, SALUSKY I B, BOWEN R E, et al. Vitamin D sterols increase FGF23 expression by stimulating osteoblast and osteocyte maturation in CKD

bone [J]. Bone, 2019, 127: 813-815.

- [4] 邸平, 孙京花, 张帆. 血清学指标检测在慢性肾功能不全疾病早期诊断和临床分期中的应用价值[J]. 中国医学装备, 2019, 16(6): 76-79.
DI Ping, SUN Jinghua, ZHANG Fan. The application value of serological indicator detection in early diagnosis and clinical staging of chronic renal insufficiency [J]. China Medical Equipment, 2019, 16(6): 76-79.
- [5] NELSON R G, GRAMS M E, BALLEW S H, et al. Development of risk prediction equations for incident Chronic Kidney Disease [J]. JAMA, 2019, 322(21): 2104-2114.
- [6] 高桂英. 慢性肾脏病矿物质和骨代谢异常的研究进展[J]. 实用临床护理学电子杂志, 2016, 1(6): 179-180.
GAO Guiying. The research progress of chronic kidney disease mineral and bone metabolism [J]. Journal of Clinic Nursing's Practicality, 2016, 1(6): 179-180.
- [7] 马芳芳, 刘刚. 慢性肾脏疾病与心血管疾病风险研究进展[J]. 中国误诊学杂志, 2019, 14(1): 33-36.
MA Fangfang, LIU Gang. The research progress of chronic kidney disease and cardiovascular disease risk [J]. Chinese Journal of Misdiagnostics, 2019, 14(1): 33-36.
- [8] 耿彪, 宋婷阁, 张鹏举, 等. 血清炎症因子与老年急性脑梗死颈动脉粥样硬化及预后的关系[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(4): 120-123, 127.
GENG Biao, SONG Tingge, ZHANG Pengju, et al. Relationship between inflammatory factors in serum and carotid atherosclerosis and prognosis in elderly patients with Acute Cerebral Infarction. [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(4): 120-123, 127.
- [9] 邹敏书, 余健, 聂国明, 等. 帕立骨化醇抑制血管紧张素活性减轻足细胞损伤[J]. 中国药师, 2011, 14(9): 1262-1265.
ZOU Minshu, YU Jian, NIE Guoming, et al. The effect of paricalcitol on podocyte injury through inhibiting angiotensin activity [J]. China Pharmacist, 2011, 14(9): 1262-1265.
- [10] DARYADEL A, NATALE L, SEEBECK P, et al. Elevated FGF23 and disordered renal mineral handling with reduced bone mineralization in chronically erythropoietin over-expressing transgenic mice [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 14989.
- [11] 孙翠英, 王洁, 张承承, 等. 糖肾清 1 号对糖尿病肾病模型大鼠肾组织 MCP-1, RANTES 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 102-108.
SUN Cuiying, WANG Jie, ZHANG Chengcheng, et al. Effect of Tangshenqing No. 1 on expression of MCP-1 and RANTES in renal tissues of diabetic nephropathy rats [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(1): 102-108.

收稿日期: 2019-11-20

修回日期: 2019-12-03