

慢性肾病Ⅲ~Ⅴ期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 表达水平与疾病预后的相关性研究

宋 强, 李永钢 (内蒙古包钢医院检验科, 内蒙古包头 014010)

摘要: 目的 研究慢性肾病(chronic kidney disease, CKD) Ⅲ~Ⅴ期患者血清 Klotho, 赭曲霉毒素 A (OTA) 和 B 细胞淋巴瘤因子 3(Bcl-3) 水平, 分析三者的临床预后价值。方法 选取内蒙古包钢医院 2018 年 1 月~2019 年 1 月期间收治的原发性 CKD Ⅲ~Ⅴ期患者 118 例为研究对象(CKD 组), 以同期健康查体的健康者 60 例为对照组。应用酶联免疫吸附实验检测血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 表达水平。相关性分析采用 Pearson 相关分析。Kaplan-Meier 生存分析不同血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平患者肾脏存活率的差异。单因素及多因素 COX 回归分析影响 CKD Ⅲ~Ⅴ期患者肾脏结局事件发生的因素。结果 CKD 组患者血清 Klotho (2.54 ± 0.39 mg/L) 低于对照组 (8.24 ± 1.30 mg/L), 血清 OTA (2.11 ± 0.40 mg/L), Bcl-3 (81.25 ± 13.67 pmol/L) 高于对照组 (0.40 ± 0.13 mg/L, 48.14 ± 10.28 pmol/L), 差异均有统计学意义 ($t=43.996, 32.111, 16.526$, 均 $P<0.05$)。不同 CKD 分期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平比较, 差异均具有统计学意义 ($F=206.071, 48.544, 60.466$, 均 $P<0.05$)。CKD 组患者血清 Klotho 与估计肾小球滤过率(eGFR) 呈显著正相关 ($r=0.627, P<0.05$), 血清 OTA, Bcl-3 与 eGFR 呈显著负相关 ($r=-0.537, -0.489$, 均 $P<0.05$), 血清 Klotho 表达与 OTA, Bcl-3 表达呈显著负相关 ($r=-0.689, -0.703$, 均 $P<0.05$)。低 Klotho 组肾脏存活率 [44.83% (26/58)] 低于高 Klotho 组 [75.00% (45/60)], 差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2=6.988, P<0.05$); 高 OTA 组肾脏存活率 [40.68% (24/59)] 低于低 OTA 组 [79.66% (47/59)], 差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2=7.247, P<0.05$); 高 Bcl-3 组肾脏存活率 [46.67% (28/60)] 低于低 Bcl-3 组 [74.14% (43/58)], 差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2=7.198, P<0.05$)。24h 尿蛋白量 (OR=1.602, 95%CI=1.268 ~ 2.022), eGFR (OR=0.628, 95%CI=0.493 ~ 0.799), 血清 Klotho (OR=0.577, 95%CI=0.416 ~ 0.800), OTA (OR=2.061, 95%CI=1.922 ~ 2.279) 和 Bcl-3 (OR=1.809, 95%CI=1.218 ~ 2.688) 是影响 CKD Ⅲ~Ⅴ期患者肾脏结局事件发生的独立因素。结论 CKD Ⅲ~Ⅴ期患者血清 Klotho 降低, OTA, Bcl-3 水平升高, 三者血清水平与患者肾功能状况有关, 有助于评估 CKD Ⅲ~Ⅴ期患者的预后。

关键词: 慢性肾病; Klotho; 赭曲霉毒素 A; B 细胞淋巴瘤因子 3

中图分类号: R692; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 04-173-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.04.032

Correlation of Serum Klotho, OTA and Bcl-3 Expression Levels and Disease Prognosis in Patients with Chronic Kidney Disease Stage Ⅲ ~ Ⅴ

SONG Qiang, LI Yonggang (Department of Clinical Laboratory, Inner Mongolia Baogang Hospital, Inner Mongolia Baotou 014010, China)

Abstract: Objective To study the expression levels of serum Klotho, Ochratoxin A (OTA) and B-cell lymphoma factor 3 (Bcl-3) in patients with chronic kidney disease (CKD) staging Ⅲ ~ Ⅴ and assess their prognostic value. **Methods** A total of 118 primary CKD patients staging Ⅲ ~ Ⅴ admitted to Inner Mongolia Baogang Hospital from January 2018 to January 2019 were selected as the research subjects (CKD group), and 60 healthy subjects who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The expression levels of serum Klotho, OTA and Bcl-3 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The relationship between indicators were analyzed by Pearson correlation analysis. The differences in renal survival between patients with different serum Klotho, OTA and Bcl-3 expression levels were analyzed by Kaplan-Meier survival analysis. Univariate and multivariate COX regression analysis was used to analyze the factors influencing the renal outcome of CKD patients with stage Ⅲ ~ Ⅴ. **Results** In CKD group, serum Klotho (2.54 ± 0.39 mg/L) was lower than that in control group (8.24 ± 1.30 mg/L), serum OTA (2.11 ± 0.40 mg/L) and Bcl-3 (81.25 ± 13.67 pmol/L) were higher than those in control group (0.40 ± 0.13 mg/L, 48.14 ± 10.28 pmol/L), and the differences were statistically significant ($t=43.996, 32.111, 16.526$, all $P<0.05$). The difference of serum Klotho, OTA and Bcl-3 levels in patients with

基金项目: 内蒙古自治区科学技术厅资助项目 (912013J0624): 血清可溶性 Klotho 与慢性肾脏病患者肾功能及预后的关系研究。

作者简介: 宋强 (1989-), 男, 硕士研究生, 主管检验师, 研究方向: 免疫学、分子生物学, E-mail: songqiang0025@163.com。

通讯作者: 李永钢 (1974-), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 临床血液体液学、分子生物学。

different CKD stages was statistically significant ($F=206.071, 48.544, 60.466$, all $P<0.05$). In CKD group, serum Klotho was significantly positively correlated with eGFR ($r=0.627, P<0.05$), and serum OTA and Bcl-3 were negatively correlated with eGFR ($r=-0.537, -0.489$, all $P<0.05$). Serum Klotho was significantly negatively correlated with the expression of OTA and Bcl-3 ($r=-0.689, -0.703, P<0.05$). The renal survival rate [44.83% (26/58)] in the low Klothogroup was significantly lower than that in the high Klotho group [75.00% (45/60)] (Log rank $\chi^2=6.988, P<0.05$). The renal survival rate in the high OTA group [40.68% (24/59)] was significantly lower than that in the low OTA group [79.66% (47/59)] (Log rank $\chi^2=7.247, P<0.05$). The renal survival rate of high Bcl-3 group [46.67% (28/60)] was significantly lower than that of low Bcl-3 group [74.14% (43/58)] (Log rank $\chi^2=7.198, P<0.05$), the differences were statistically significant, respectively. 24h urine protein (OR=1.602, 95%CI=1.268 ~ 2.022), eGFR (OR=0.628, 95%CI=0.493 ~ 0.799), serum Klotho (OR=0.577, 95%CI=0.416 ~ 0.800), OTA (OR=2.061, 95%CI=1.922 ~ 2.279), and Bcl-3 (OR=1.809, 95%CI=1.218 ~ 2.688) were independent factors affecting the renal outcome of CKD stage III ~ V patients. **Conclusion** In patients with CKD stage III ~ V, serum Klotho is decreased, while levels of OTA and Bcl-3 increased, which were related to the patient's renal function and are helpful to evaluate the prognosis of CKD stage III ~ V patients.

Keywords: chronic kidney disease; Klotho; ochratoxin A; B-cell lymphoma factor 3

慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 可发展为终末期肾病, 需肾脏替代治疗^[1-2]。虽然肾小球滤过率能反映 CKD 的疾病程度, 但贫血、脑卒中等疾病可降低肾小球滤过率, 影响评估准确性^[3]。Klotho 蛋白是参与尿磷酸盐排泄过程的蛋白^[4]。FREUNDLICH 等^[5]研究发现, CKD 患者血清中 Klotho 水平下降, 有助于 CKD 的早期诊断。赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A, OTA) 是由青霉属和曲霉属菌产生的次级代谢物, 具有肝肾毒性、致畸和免疫毒性^[6]。研究发现, CKD 患者血清 OTA 水平升高, 具有促进凝血、抑制免疫等作用, 促进 CKD 疾病进展^[7-8]。B 细胞淋巴瘤因子 3 (B-cell lymphoma factor 3, Bcl-3) 是 I κ B 家族的成员^[9]。BARINOTTI 等^[10]发现, CKD 患者血清 Bcl-3 表达升高, 与肾纤维化程度有关, 是反映 CKD 疾病进展的血清标志物。目前 CKD III ~ V 期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 表达的临床意义尚不清楚。本研究通过研究 CKD III ~ V 期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 表达与肾功能及预后的关系, 为临床诊治提供参考价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选取内蒙古包钢医院自 2018 年 1 月 ~ 2019 年 1 月期间收治的原发性 CKD III ~ V 期患者 118 例为研究对象。纳入标准: ① CKD 的诊断符合 2002 年美国国家肾脏基金会制定的 K/DOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative) 指南中的标准^[11]; ② 年龄 ≥ 18 岁, CKD 病史 > 6 个月, 估计肾小球滤过率 (estimated glomerular filtration rate, eGFR) < 60 ml/min; ③ 临床病历资料完整; ④ 患者无精神障碍性疾病, 能够配合相关检查及随访。排除标准: ① 继发性肾病, 如糖尿病肾病、高血压肾病、狼疮性肾炎等; ② eGFR ≤ 5 ml/min, 已开始透析的 CKD 患者或预计短期内 (≤ 3 个月)

将进行透析治疗; ③ 伴有自身免疫性疾病, 糖皮质激素用药史或长期服用免疫抑制剂史等; ④ 并发急性肾损伤、急性肾衰竭等疾病; ⑤ 伴有其它肾脏疾病, 如多囊肾、孤立肾等。CKD 患者病程 2~13 年, 其中男性 78 例, 女性 40 例; 年龄 45 ~ 68 (58.18 \pm 3.63) 岁; 体质量指数 (body mass index, BMI) 22.27 \pm 2.30 kg/m²; 参考 K/DOQI 中 CKD 诊断标准^[11]: CKD III 期 51 例, CKD IV 期 47 例, CKD V 期 20 例。以同期我院健康查体的健康者 60 例为对照组, 其中男性 37 例, 女性 23 例; 年龄 43 ~ 67 (57.74 \pm 2.30) 岁; BMI 22.41 \pm 2.29 kg/m²。两组在性别、年龄、体质量指数之间差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。患者对本研究知情同意并签署知情同意书, 本研究已获得伦理委员会批准通过。

1.2 仪器与试剂 人 Klotho ELISA 试剂盒 (上海梵态生物公司, 货号 FT-P31156R)。OTA ELISA 试剂盒 (上海研域生物公司, 货号 398637)。人 Bcl-3 ELISA 试剂盒 (上海臻科生物公司)。采用赛默飞 Varioskan LUX 酶标仪进行测定。

1.3 方法

1.3.1 血清 Klotho, OTA, Bcl-3 水平检测: 留取 CKD 组患者治疗前及对照组清晨空腹静脉血 5ml, 3 000 r/min 离心 10min, 取血清于 -20°C 保存待用。采用酶联免疫吸附实验 (双抗体夹心法) 检测血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平。实验步骤按说明书进行, 酶标仪检测各孔 $A_{450\text{nm}}$ 值, 并根据标准品浓度的 A 值, 计算每孔样品的浓度值。以血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平的均值 2.54 mg/L, 2.11 mg/L 和 81.25 pmol/L 为临界值, 分为 Klotho 高表达组 ($n=60$) 和低表达组 ($n=58$), OTA 高表达组 ($n=59$) 和低表达组 ($n=59$), Bcl-3 高表达组 ($n=60$) 和低表达组 ($n=58$)。

1.3.2 观察指标: 收集所有研究对象性别、年龄、

体质量指数 (body mass index, BMI)、高血压史等一般临床资料, 收集患者入院后第一天 24 h 尿蛋白量、血红蛋白、清蛋白、总胆固醇、三酰甘油、肌酐、尿素氮、尿酸和血磷等实验室检查指标。应用肾脏病饮食改良研究公式 (the modification of diet in renal disease equation, MDRD) 计算 eGFR=186 × (Scr/88.4)^{-1.154} × 年龄^{-0.203} × 0742 (女性)。

1.3.3 随访: 以入组时间为起点, 对所有 CKD 患者进行随访, 每三个月随访一次, 以门诊或电话方式进行随访, 随访内容为患者需要肾脏替代治疗或死亡, 记录肾脏存活情况, 随访截止时间为 2022 年 3 月 30 日。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析。符合正态性分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 三组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。计数资料以率 (%) 表示, 组间比较采用卡方检验。相关性分析采用 Pearson 相关性分析。用 Kaplan-Meier 生存分析 (Log-Rank 检验) 血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平对 CKD III ~ V 期患者肾脏存活率的影响。单因素及多因素 COX 回归分析影响 CKD III ~ V 期患者肾脏结局事件发生的因素。P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料及血清 Klotho, OTA 和 Bcl3 水平比较 见表 1。CKD 组高血压史、肌酐、尿素氮、尿酸、血磷、24h 尿蛋白量、OTA 及 Bcl-3 高于对照组, 而血红蛋白、清蛋白、eGFR, Klotho 低于对照组, 差异具有统计学意义 (均 P<0.05)。

表 2 不同 CKD 分期患者血清 Klotho, OTA, Bcl3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	CKD III期 (n=51)	CKD IV期 (n=47)	CKD V期 (n=20)	F	P
Klotho (mg/L)	3.13 ± 0.37	2.53 ± 0.41	1.06 ± 0.37	206.071	0.000
OTA (mg/L)	1.80 ± 0.38	2.13 ± 0.41	2.85 ± 0.45	48.544	0.000
Bcl-3 (pmol/L)	71.49 ± 10.61	80.90 ± 12.66	106.96 ± 14.87	60.446	0.000

2.3 血清 Klotho, OTA, Bcl3 与肾功能指标的相关性 见表 3。CKD 组患者中, 血清 Klotho 与 eGFR 呈显著正相关 (r=0.627), 血清 OTA, Bcl-3 与 eGFR 呈显著负相关 (r=-0.537, -0.489, 均 P<0.05)。血清 Klotho 表达与 OTA, Bcl-3 表达呈显著负相关 (r=-0.689, -0.703, 均 P<0.05)。

表 3 血清 Klotho, OTA, Bcl-3 与肾功能指标的相关性

参数	Klotho		OTA		Bcl-3	
	r	P	r	P	r	P
eGFR	0.627	0.000	-0.537	0.000	-0.489	0.000
肌酐	-0.124	0.649	0.234	0.678	0.119	0.795
尿素氮	-0.221	0.428	0.336	0.550	0.220	0.621

表 1 各组一般资料及血清 Klotho, OTA, Bcl-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

类别	对照组 (n=60)	CKD 组 (n=118)	t/ χ^2	P
高血压史 [n(%)]	12 (20.00)	45 (38.14)	6.010	0.014
肌酐 (μmol/L)	72.14 ± 10.55	389.74 ± 22.98	101.641	0.000
尿素氮 (mmol/L)	5.19 ± 0.92	14.46 ± 1.02	59.197	0.000
eGFR (ml/min/1.73m ²)	98.89 ± 14.62	33.17 ± 10.82	33.901	0.000
总胆固醇 (mmol/L)	4.68 ± 0.82	4.72 ± 0.93	0.282	0.778
三酰甘油 (mmol/L)	1.53 ± 0.62	1.58 ± 0.83	0.412	0.681
清蛋白 (g/L)	48.25 ± 1.54	39.25 ± 1.39	39.262	0.000
24h 尿蛋白量 (g/24h)	0.81 ± 0.07	5.19 ± 0.86	39.330	0.000
血红蛋白 (g/L)	143.27 ± 9.37	114.08 ± 9.72	19.818	0.000
尿酸 (ng/L)	233.76 ± 22.37	443.27 ± 25.37	54.141	0.000
血磷 (mmol/L)	1.10 ± 0.38	1.42 ± 0.42	4.958	0.000
Klotho (mg/L)	8.24 ± 1.30	2.54 ± 0.39	43.996	0.000
OTA (mg/L)	0.40 ± 0.13	2.11 ± 0.40	32.111	0.000
Bcl-3 (pmol/L)	48.14 ± 10.28	81.25 ± 13.67	16.526	0.000

2.2 不同 CKD 分期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平比较 见表 2。不同 CKD 分期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 比较, 差异具有统计学意义 (均 P<0.05)。CKD 分期越高, 血清 Klotho 越低, 血清 OTA, Bcl-3 越高。CKD V 期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平明显高于 CKD IV 期和 CKD III 期患者, 差异均有统计学意义 (q=20.147, 28.709, 9.433, 13.920; 11.287, 15.545, 均 P=0.000)。CKD IV 期患者血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平明显高于 CKD III 期患者, 差异具有统计学意义 (q=10.858, 5.709, 5.381, 均 P=0.000)。

2.4 血清 Klotho, OTA 和 Bcl3 水平对 CKD III ~ V 期患者的预后影响 随访 6 ~ 36 个月, 平均随访时间 21.58 ± 6.12 个月, 47 例患者发生肾脏结局事件, 肾脏存活 71 例, 肾脏存活率为 60.17% (71/118)。低 Klotho 组肾脏存活率为 44.83% (26/58), 低于高 Klotho 组的 75.00% (45/60), 差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2=6.988, P=0.008$); 高 OTA 组肾脏存活率为 40.68% (24/59), 低于低 OTA 组的 79.66% (47/59), 差异具有统计学意义 (Log rank $\chi^2=7.247, P=0.000$); 高 Bcl-3 组肾脏存活率为 46.67% (28/60), 低于低 Bcl-3 组的 74.14% (43/58), 差异具有统计学意义 (Log rank

$\chi^2=7.198, P=0.000$), 见图1。

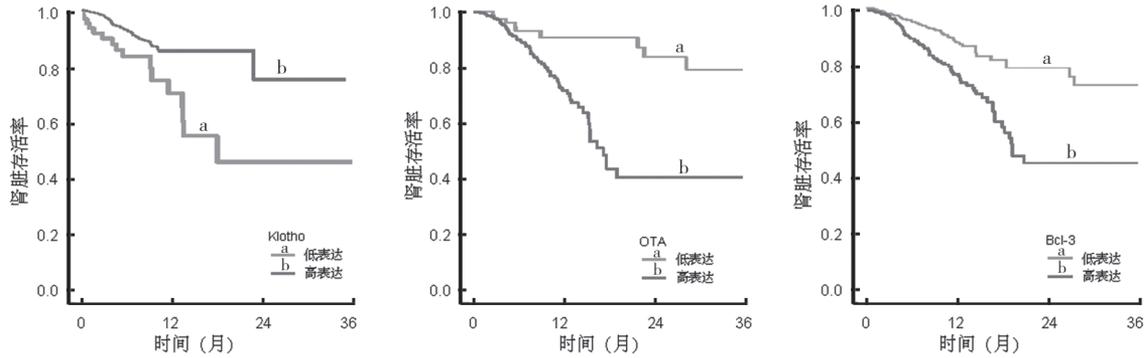


图1 KaplanMeier 曲线分析血清 Klotho, OTA, Bcl3 对肾脏存活率的影响

2.5 单因素及多因素 COX 回归分析影响肾脏结局事件的因素 见表4, 5。24h 尿蛋白量升高, 升高是影响 CKD III ~ V 期患者肾脏结局事件发生的独立危险因素。eGFR 降低、血清 Klotho 降低, OTA 升高, Bcl-3

表4 单因素 COX 回归分析影响肾脏结局事件发生的因素

类别	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
年龄	0.155	0.147	1.095	0.643	0.861	0.614 ~ 0.976
总胆固醇	0.267	0.189	0.781	0.747	1.182	0.816 ~ 1.711
三酰甘油	0.180	0.160	1.266	0.504	1.197	0.874 ~ 1.638
尿酸	0.249	0.207	1.447	0.420	1.283	0.855 ~ 1.925
24h 尿蛋白量	0.689	0.177	15.153	0.000	1.224	1.408 ~ 2.818
血红蛋白	-0.362	0.293	1.526	0.139	0.696	0.392 ~ 1.236
血磷	0.239	0.168	2.204	0.102	1.270	0.626 ~ 1.210
清蛋白	0.252	0.203	1.823	0.119	1.337	0.936 ~ 1.399
高血压	0.247	0.187	1.745	0.132	1.280	0.887 ~ 1.846
eGFR	-0.472	0.152	9.463	0.000	0.634	0.463 ~ 0.840
Klotho	-0.642	0.182	12.443	0.000	0.526	0.368 ~ 0.752
OTA	0.718	0.215	12.697	0.000	2.061	1.922 ~ 2.279
Bcl-3	0.718	0.215	12.697	0.000	2.061	1.922 ~ 2.279

表5 多因素 COX 回归分析影响肾脏结局事件发生的因素

类别	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
24h 尿蛋白量	0.471	0.119	15.666	0.000	1.602	1.268 ~ 2.022
eGFR	0.466	0.123	14.354	0.000	0.628	0.493 ~ 0.799
Klotho	-0.550	0.167	10.847	0.000	0.577	0.416 ~ 0.800
OTA	0.718	0.215	12.697	0.000	2.061	1.922 ~ 2.279
Bcl-3	0.593	0.202	8.618	0.000	1.809	1.218 ~ 2.688

3 讨论

我国 CKD 疾病负担重, 患病率约为 10.8%, 其中 CKD III ~ V 期患病率相对较低, 但更容易进展为终末期肾病, 需要接受肾脏替代治疗维持机体内环境稳定^[12]。目前 CKD 尚无有效的防治手段, 早诊断、早治疗及预后预测对于提高 CKD 患者的肾脏存活率至关重要。CKD 的病因多样, 包括高

血压、糖尿病及急性肾损伤等已知病因, 也可由环境中的有毒物质等因素导致。各种因素引起肾内外细胞的氧化应激、炎症性损伤, 导致肾间质中成纤维细胞的活化、肾小球硬化等病理改变, 促进 CKD 向终末期肾病的发展。深入研究 CKD 的病因及疾病机制, 识别 CKD 尤其是 CKD III 期以上患者肾功能进展的危险因素, 有助于临床早期识别高危

患者。

Klotho 蛋白是一种单跨膜蛋白,其细胞外结构域可以被金属蛋白酶切割释放到血清、尿液和脑脊液等体液中检测到。功能上,Klotho 是一种肾脏保护因子,参与维持钙磷平衡调节,并作为一种抗炎因子抑制肾纤维化发挥其保护肾功能的生物学效应^[13]。本研究中,CKD 患者血清 Klotho 水平降低,这与 FREUNDLICH 等^[5]学者研究报道一致,该研究证实在 CKD 患者早期即出现血清和尿液中 Klotho 水平降低,是早期诊断 CKD 的生物标志物。CKD 中 Klotho 水平降低的机制可能与转录后调控异常有关。MENCKE 等^[14]发现,多种有害刺激诱导肾小管上皮细胞损伤后,无义 mRNA 降解因子能够促进 Klotho RNA 降解,导致 Klotho 蛋白的翻译和分泌减少。本研究发现,CKD 分期越高,血清 Klotho 水平降低更为明显,提示血清 Klotho 水平能够反映 CKD 疾病严重程度。LIU 等^[15]发现,Klotho 作为成纤维细胞生长因子 23 受体的共受体,其表达下调抑制成纤维细胞生长因子 23 及下游细胞外信号调节激酶 1/2 通路,导致磷酸钠协同转运蛋白表达缺失,近端肾小管上皮细胞不能排泄磷酸盐,导致血磷升高,加重肾功能损伤。此外,Klotho 的表达降低能够促进转化生长因子 β 结合到转化生长因子 β II 受体,诱导肾小管上皮细胞发生上皮间质转化,促进肾纤维化^[16]。本研究发现,Klotho 低表达的 CKD 患者肾脏存活率较低,并且 Klotho 低表达是 CKD III ~ V 期患者发生肾结局事件的独立危险因素,表明检测血清 Klotho 水平有助于判断 CKD III ~ V 期患者的临床预后,可能是新的预后判断的血清标志物。FREUNDLICH 等^[5]学者报道,通过外源性的补充 Klotho 或内源性过表达 Klotho 能够抑制肾脏纤维化的发生,延缓 CKD 的疾病进展。因此,以 Klotho 为靶点的临床治疗可能有助于延缓 CKD III ~ V 期患者的疾病进展,增加肾脏存活率,减少肾结局事件的发生,是潜在的临床治疗方案,值得深入研究。

OTA 作为一种真菌毒素,进入机体后主要在胃和近端空肠被吸收,未吸收的 OTA 可以到达后肠与肠道菌群相互作用,产生有毒代谢产物,对肾功能造成损伤^[17]。近年来发现,血清 OTA 在肾结石、慢性肾衰竭及透析患者中表达升高,其表达升高通过激活核因子 κ B 通路,诱导促炎症微环境,加重肾脏炎症病理损伤^[8]。本研究中,CKD 患者血清 OTA 显著升高,其原因一方面为 CKD 患者胃肠道黏膜上皮细胞功能障碍,肠黏膜上皮细胞完整性破坏、黏液屏障的丧失及肠道菌群失调,均导致 OTA 吸收增加^[18]。另一方面,由于肾脏是 OTA 的

主要排泄器官,CKD 患者肾小球滤过率的下降导致血清 OTA 水平的升高。本研究中,CKD 分期越高,血清 OTA 水平升高越明显,提示血清 OTA 升高与 CKD 疾病严重程度有关。其机制是 OTA 能够激活肾纤维化基因如 α -SMA 及波形蛋白等的表达,促进肾纤维化的发生,加重肾功能损伤^[19]。此外,OTA 还能够通过激活 NOD 样受体 3 炎症小体,促进肾小管上皮细胞发生细胞焦亡,白介素 1β 及白介素 18 等大量促炎细胞因子释放,加重肾脏炎症反应,促进肾脏功能的恶化^[19]。本研究进一步分析发现血清 OTA 高表达 CKD 患者肾脏存活率较低,提示检测血清 OTA 水平有助于 CKD III ~ V 期患者预后预测。DU 等^[20]在肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞中进行了体外实验,发现无毒浓度的 OTA (0.25 mg/kg) 能够激活转化生长因子 - β 1/SMAD 家族成员 2 通路,加重阿霉素的细胞毒性及肾纤维化的发生,并在小鼠肾病模型进一步证实,OTA 增加了肾病小鼠中纤维化因子、 α -平滑肌肌动蛋白和波形蛋白的表达,诱导的肾纤维化加重,肾损伤加重。因此,血清 OTA 是一种新的 CKD III ~ V 期患者预后相关血清标志物,值得临床关注。

Bcl-3 编码基因位于 19q13.32,编码蛋白是一种转录共激活因子,通过结合核因子 κ B,发挥调控下游靶基因表达的作用,广泛参与炎症、肿瘤及 CKD 等疾病的病理生理学过程^[10,21]。本研究发现,CKD 患者血清 Bcl-3 表达升高,其机制尚不清楚,可能是转化生长因子 β 信号通路的激活促进 Bcl-3 表达。BARINOTTI 等^[10]学者在单侧输尿管梗阻的动物模型中发现,在肾梗阻纤维化早期,肾小管上皮细胞损伤凋亡后 Bcl-3 释放到血清中,导致血清 Bcl-3 水平升高。此外,梗阻肾组织中转化生长因子 β 表达升高能够促进 Bcl-3 的表达,导致下游肾纤维化基因如 α -平滑肌肌动蛋白表达上调,导致肾功能恶化^[10]。本研究中,血清 Bcl-3 水平与 CKD 疾病严重程度有关,且与 eGFR 呈显著正相关,与 BARINOTTI 等^[10]学者报道一致,提示血清 Bcl-3 水平升高参与促进 CKD 的疾病进展。Bcl-3 能够通过激活转化生长因子 β 信号通路的传导,促进肾纤维化。CARR 等^[22]研究发现,Bcl-3 与 SMAD 家族成员 3 结合并保护 SMAD 家族成员 3 免于泛素化和降解,进而激活转化生长因子 β 信号通路,促进肾小管细胞发生上皮间质转化及肾间质纤维化,导致 CKD 疾病进展。本研究中,血清 Bcl-3 高表达 CKD 患者肾脏存活率较低,是影响肾结局事件发生的独立危险因素。因此,Bcl-3 是一种新的反映 CKD 疾病进展的血清标志物,有助于评估 CKD III ~ V 期患者的临床预后。

本研究中,血清 Klotho 与 OTA, Bcl-3 表达呈显著负相关。研究表明,核因子 kB 能够抑制肾小管上皮细胞 Klotho 的表达,而 Bcl-3 作为核因子 kB 的辅因子,在促炎因子的刺激下能够增强核因子 kB 的表达及活性,进而抑制 Klotho 的表达^[23]。此外,OTA 的肾毒性损伤肾小管上皮细胞,并促进白介素 1 β , 白介素 -6 等促炎因子的释放,而这些促炎因子能够激活核因子 E2 相关因子 2,抑制抗衰老因子 Klotho 的表达,促进细胞衰老^[24]。但三者之间的关系及在 CKD 中的作用机制有待今后深入探索。

综上所述,CKD III ~ V 期患者血清 Klotho 水平降低,OTA 和 Bcl-3 水平升高,血清 Klotho, OTA 和 Bcl-3 水平与 eGFR 有关,有助于反映 CKD III ~ V 期患者疾病严重程度。血清 Klotho 降低,OTA 升高,Bcl-3 升高是影响 CKD III ~ V 期患者肾脏结局事件发生的独立危险因素,为预后评估提供参考价值。但本研究样本量有限,未对 CKD III ~ V 期患者进行分层分析,有待今后设计多中心临床试验,扩大样本量进一步验证本研究的结论。

参考文献:

- [1] CHARLES C, FERRIS A H. Chronic Kidney Disease[J]. Prim Care, 2020, 47(4):585-595.
- [2] 鲁文菊, 宫艳艳, 高霞, 等. 2 型糖尿病肾病患者外周血 E-选择素表达水平及其基因 G98T 和 A561C 位点多态性与代谢指标的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37 (5) : 81-85, 153.
LU Wenju, GONG Yanyan, GAO Xia, et al. Association of E-selectin and its gene G98T and A561C polymorphisms with type 2 diabetic nephropathy[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(5): 81-85, 153.
- [3] WANG Yanni, MA Shixing, CHEN Yuanyuan, et al. Chronic kidney disease: Biomarker diagnosis to therapeutic targets[J]. Clinica Chimica Acta, 2019, 499: 54-63.
- [4] ZOU Di, WU Wen, HE Yan, et al. The role of Klothoin chronic kidney disease[J]. BMC Nephrology, 2018, 19(1): 285.
- [5] FREUNDLICH M, GAMBA G, RODRIGUEZ-ITURBE B. Fibroblast growth factor 23-Klotho and hypertension: experimental and clinical mechanisms[J]. Pediatric Nephrology, 2021, 36(10): 3007-3022.
- [6] ZHAI Shuangshuang, ZHU Yongwen, FENG Peishi, et al. Ochratoxin A: Its impact on poultry gut health and microbiota, an overview[J]. Poultry Science, 2021, 100(5): 101037.
- [7] KULAHİ A, KABAK B. A preliminary assessment of dietary exposure of ochratoxin A in Central Anatolia Region, Turkey[J]. Mycotoxin Research, 2020, 36(3): 327-337.
- [8] KOSICKI R, BUHAROWSKA-DONTEN J, TWARUŻEK M. Ochratoxin a levels in serum of Polish dialysis patients with chronic renal failure [J]. Toxicon, 2021, 200: 183-188.
- [9] LEGGE D N, SHEPHARD A P, COLLARD T J, et al. BCL-3 promotes a cancer stem cell phenotype by enhancing β -catenin signalling in colorectal tumour cells[J]. Disease Models & Mechanisms, 2019, 12(3): dmm037697.
- [10] BARINOTTI A, RADIN M, CECCHI I, et al. Serum biomarkers of renal fibrosis: a systematic review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(22): 14139.
- [11] National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification[J]. American Journal of Kidney Diseases, 2002, 39(2 Suppl 1): S1-266.
- [12] LIAO Shumei, LIN Diaozhu, FENG Qiling, et al. Lipid parameters and the development of chronic kidney disease: a prospective cohort study in middle-aged and elderly Chinese individuals[J]. Nutrients, 2022, 15(1): 112.
- [13] PRUD'HOMME G J, KURT M, WANG Qinghua. Pathobiology of the Klotho antiaging protein and therapeutic considerations[J]. Front Aging, 2022, 3: 931331.
- [14] MENCKE R, HARMS G, MOSER J, et al. Human alternative Klotho mRNA is a nonsense-mediated mRNA decay target inefficiently spliced in renal disease[J]. JCI Insight, 2017, 2(20): 94375.
- [15] LIU Buhui, CHONG F L, YUAN Cancan, et al. Fucoidan ameliorates renal injury-related calcium-phosphorus metabolic disorder and bone abnormality in the CKD-MBD model rats by targeting FGF23-Klotho signaling axis[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 586725.
- [16] GU Liyuan, SUN Yun, TANG Haitao, et al. Huangkui capsule in combination with metformin ameliorates diabetic nephropathy via the Klotho/TGF- β 1/p38MAPK signaling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 281: 113548.
- [17] 张晓倩, 管昊晨, 袁伟杰. 肠道菌群与慢性肾脏病患者免疫功能关系的研究进展 [J]. 中华医学杂志, 2021, 101(34): 2742-2744.
ZHANG Xiaoqian, GUAN Haochen, YUAN Weijie. Research progress on the relationship between intestinal flora and immune function in patients with chronic kidney disease[J]. National Medical Journal of China, 2021, 101(34): 2742-2744.
- [18] GAO Yanan, MENG Lu, LIU Huimin, et al. The compromised intestinal barrier induced by mycotoxins[J]. Toxins, 2020, 12(10): 619.
- [19] LI Hu, MAO Xinru, LIU Kai, et al. Ochratoxin a induces nephrotoxicity in vitro and in vivo via pyroptosis[J]. Archives of Toxicology, 2021, 95(4): 1489-1502.
- [20] DU Heng, LE Guannan, HOU Lili, et al. Nontoxic concentration of ochratoxin a aggravates renal fibrosis induced by adriamycin/cyclosporine a nephropathy via TGF- β 1/SMAD2/3[J]. Journal of Agricultural and

- Food Chemistry, 2022, 70(43): 14005-14014.
- [21] LEGGE D N, CHAMBERS A C, PARKER C T, et al. The role of B-cell lymphoma-3 (BCL-3) in enabling the hallmarks of cancer: implications for the treatment of colorectal carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(3): 249-256.
- [22] CARR D, ZEIN A, COULOMBE J, et al. Multiple roles for Bcl-3 in mammary gland branching, stromal collagen invasion, involution and tumor pathology[J]. *Breast Cancer Research*, 2022, 24(1): 40.
- [23] FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ B, VALIÑO-RIVAS L, SÁNCHEZ-NIÑO M D, et al. Albuminuria downregulation of the anti-aging factor klotho: the missing link potentially explaining the association of pathological albuminuria with premature death[J]. *Advances in Therapy*, 2020, 37(Suppl 2): 62-72.
- [24] EBERT T, PAWELZIK S C, WITASP A, et al. Inflammation and premature ageing in chronic kidney disease[J]. *Toxins*, 2020, 12(4): 227.
- 收稿日期: 2022-12-05
修回日期: 2023-01-17

(上接第142页)

综上所述,脓毒症患者肠道菌群多样性下降,肠道内拟杆菌门与厚壁菌门占比下降,变形菌门占比上升,且肠道菌群失衡可能联合肠道屏障障碍与炎症反应,共同参与脓毒症的发生。但本文所纳入的研究样本量过小,且未研究肠道菌群紊乱对脓毒症患者预后的影响,也并未分析改善肠道菌群在脓毒症中的应用价值,以上研究结果仅表明脓毒症肠道菌群多样性下降,且与肠道屏障障碍及炎症反应相关,可为脓毒症的治疗研究提供新思路。

参考文献:

- [1] 邹卫,肖晓芬,王晓慧,等. 89例2~5期非透析慢性肾脏病患者肠道菌群特点分析[J]. *临床肾脏病杂志*, 2022, 22(9): 742-747.
ZOU Wei, XIAO Xiaofen, WANG Xiaohui, et al. Characteristics of intestinal flora in 89 non-dialysis patients with chronic kidney disease stages 2~5[J]. *Journal of Clinical Nephrology*, 2022, 22(9): 742-747.
- [2] SCHWARTZ D J, LANGDON A E, DANTAS G. Understanding the impact of antibiotic perturbation on the human microbiome[J]. *Genome Medicine*, 2020, 12(1): 82.
- [3] ARINA P, SINGER M. Pathophysiology of sepsis[J]. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 2021, 34(2): 77-84.
- [4] 张小彬,刘丹,王妍柏,等. 血清肠型脂肪酸结合蛋白和D-乳酸水平在脓毒症患者早期肠道损伤中的临床意义[J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31(5): 545-550.
ZHANG Xiaobin, LIU Dan, WANG Yanbai, et al. Clinical significance on serum intestinal fatty acid binding protein and D-lactic acid levels in early intestinal injury of patients with sepsis[J]. *Chinese Critical Care Medicine*, 2019, 31(5): 545-550.
- [5] 张琪,姜利,席修明,等. 血清 TRAF-6, MCP-1, sTREM-1, IL-33 水平与脓毒症严重程度及与合并急性肾损伤关系的临床分析[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(23): 4440-4444.
ZHANG Qi, JIANG Li, XI Xiuming, et al. Clinical analysis of the relationship between serum TRAF-6, MCP-1, sTREM-1, IL-33 and severity of sepsis and acute kidney injury[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2019, 19(23): 4440-4444.
- [6] FLEUREN L M, KLAUSCH T L T, ZWAGER C L, et al. Machine learning for the prediction of sepsis: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy[J]. *Intensive Care Medicine*, 2020, 46(3): 383-400.
- [7] YAJNIK V, MAAROUF R. Sepsis and the microcirculation: the impact on outcomes[J]. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 2022, 35(2): 230-235.
- [8] MILLER W D, KESKEY R, ALVERDY J C. Sepsis and the microbiome: a vicious cycle[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2021, 223(12 Suppl 2): S264-S269.
- [9] ADELMAN M W, WOODWORTH M H, LANGELLIER C, et al. The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis[J]. *Critical Care*, 2020, 24(1): 278.
- [10] 肖武强,董磊,吴先正. 急性胃肠损伤分级联合D-乳酸、内毒素水平测定对脓毒症患者预后的评估价值[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(12): 1577-1579, 1583.
XIAO Wuqiang, DONG Lei, WU Xianzheng. Evaluation value of acute gastrointestinal injury grading combined with d-lactic acid and endotoxin levels in patients with sepsis[J]. *Shaanxi Medical Journal*, 2020, 49(12): 1577-1579, 1583.
- [11] 王溪,黄桔秀,王颖,等. 脓毒症患者肠道细菌紊乱与PCT, D-乳酸、内毒素水平的相关性[J]. *中国现代医生*, 2022, 60(18): 141-144.
WANG Xi, HUANG Jiexiu, WANG Ying, et al. Correlation of intestinal bacterial disorders with PCT, D-lactate and endotoxin levels in patients with sepsis[J]. *China Modern Doctor*, 2022, 60(18): 141-144.
- [12] NASR EL-DIN A, ABDEL-GAWAD A R, ABDELGALIL W, et al. Evaluation of sTREM1 and suPAR biomarkers as diagnostic and prognostic predictors in Sepsis patients[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2021, 14: 3495-3507.
- [13] CHEN Xingru, WANG Daoxin. Serum MCP-1 and NGAL play an important role in the acute inflammatory event of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2021, 18(4): 425-431.
- 收稿日期: 2022-11-12
修回日期: 2023-01-31