

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.02.010

可溶性 klotho 在系统性红斑狼疮中的变化及意义*

林书典, 詹锋[△], 潘楚瑛, 张延, 刘颖, 詹宇威
(海南省人民医院肾病风湿科, 海口 570311)

[摘要] **目的** 初步研究可溶性 klotho(s-kl)在系统性红斑狼疮(SLE)和狼疮性肾炎(LN)中的变化及其意义。**方法** 收集 34 例首诊首治 SLE 患者,根据是否合并 LN 分为 SLE 不合并 LN 组(SLE 组,19 例)和合并 LN 组(LN 组,15 例),将 17 例常规体检者列为对照组。常规检测 24 h 尿蛋白定量(24 h Upro)、血常规、血生化指标和双链 DNA(dsDNA)。采用 ELISA 法检测 s-kl、25 羟基维生素 D(25-OH-D)和成纤维细胞生长因子-23(FGF-23)。对 SLE 组和 LN 组患者进行 SLE 疾病活动度评分(SLEDAI),根据 Cockcroft-Gault 公式计算内生肌酐清除率(CCr)。比较 3 组间差异并对相关指标进行相关性分析。**结果** 在 SLE 组和 LN 组中平均动脉压、血常规、酶学[肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)]、补体(补体 C₃ 和补体 C₄)及 dsDNA 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组及 SLE 组比较,LN 组 24 h Upro、血脂[总胆固醇(CHOL),三酰甘油(TG)]和血肌酐(Scr)显著升高,而血清清蛋白(ALB)和 CCr 明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。SLE 组与对照组 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 比较差异无统计学意义($P > 0.05$);而在 LN 组中 s-kl、25-OH-D 及 FGF-23 血清水平与对照组和 SLE 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。LN 组患者 SLEDAI 评分较 SLE 组评分高($P < 0.05$)。相关分析表明,s-kl 与 25-OH-D、C₃ 及 C₄ 存在正相关关系,与 FGF-23、SLEDAI 和 dsDNA 存在负相关关系(均 $P < 0.05$)。回归分析提示,s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 与 SLE 活动度无明显关系。**结论** SLE 和 LN 患者体内 s-kl 水平的降低,可能是引起 FGF-23 升高的关键因素之一,由此进一步导致 SLE 和 LN 患者维生素 D(VitD)缺乏和病情活动。

[关键词] klotho;红斑性狼疮,系统性;肾炎;维生素 D**[中图分类号]** R33**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)02-0176-04**The role of soluble klotho in patients with systemic lupus erythematosus***Lin Shudian, Zhan Feng[△], Pan Chuying, Zhang Yan, Liu Ying, Zhan Yuwei

(Department of Nephrology and Rheumatology, People's Hospital of Hainan Province, Haikou, Hainan 570001, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the serum concentration of soluble klotho (s-kl) in systemic lupus erythematosus (SLE) and lupus nephritis (LN), and elucidate its role in SLE and LN. **Methods** A total of 34 patients, definitely diagnosis as SLE with un-treatment firstly, were enrolled in this study. The patient were divided into two groups, those who complicated with LN were assigned to LN group (15 cases), the others were distributed to SLE group (19 cases). At the same time, 17 cases of routine physical examination people were take as control group. 24 hours urine of all the cases was collected for examining urinary protein (Upro). Routine hemocyte analysis, serum biochemical parameters and ANA and dsDNA were measured by routine method. ELISA was used to detect s-kl, 25-hydroxy vitamin D (25-OH-D) and fibroblast growth factor-23 (FGF-23). Systemic lupus erythematosus disease activity index (SLEDAI) was performed in SLE and LN group, and the creatinine clearance rate (CCr) was calculated according to the Cockcroft-Gault formula. Pearson's and linear regression were applied to analysis the correlation of relevant parameters.

Results As compared with the control group, there were statistically significant differences in mean arterial pressure, blood routine, creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH), complement (C₃ and C₄) and dsDNA in SLE and LN group ($P < 0.05$). The level of Upro/24 h, lipids (CHOL and TG) and creatinine (Scr) in LN group was significantly higher, while serum albumin (ALB) and CCr were obviously lower than those in SLE group and control group ($P < 0.05$). Difference of s-kl, 25-OH-D and FGF-23 in serum were not observed between SLE and control group ($P > 0.05$), but the serum level of s-kl, 25-OH-D and FGF-23 in LN group were showed a statistical significance when compared with SLE or control group ($P < 0.05$). Meanwhile, the SLEDAI score was higher in LN than in SLE group ($P < 0.05$). Correlation analysis indicted that s-kl exhibited a positive relationship with 25-OH-D, C₃ and C₄, while showed a negative correlation with FGF-23, SLEDAI and dsDNA (all $P < 0.05$). However, no any correlation was revealed in regression analysis between the s-kl, 25-OH-D, FGF-23 and the lupus activity. **Conclusion** The decrease of s-kl maybe one of the pivotal factors that up-regulated the level of FGF-23 in SLE and LN patients, thus lead to the deficiency of vitamin D and lupus activity.

[Key words] klotho; lupus; lupus erythematosus, systemic; nephritis; vitamin D

klotho 是一新发现的抗衰老基因,主要表达于大脑脉络膜 和肾脏组织中,其生物学影响可达全身各器官脏器。klotho 基

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81360118);海南省自然科学基金资助项目(309087)。 作者简介:林书典(1974-),副主任医师,博士,主要从事免疫性肾病、慢性肾脏病研究。 △ 通讯作者, E-mail: renal@126.com。

因缺失或表达低下可出现诸多临床表现,如动脉硬化、骨质疏松、氧化应激、肺气肿、早衰、不孕不育、免疫功能异常、内分泌功能失调和生长发育迟缓等。系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)是导致全身多系统脏器损害的自身免疫性疾病,其临床表现与 kloth 基因缺失表型相似,尤其肾脏是其损害的重要器官。研究已证实,血液中可溶性 klotho(soluble klotho,s-kl)主要来源于正常的肾脏组织,随着肾脏损伤加重和功能衰竭,其表达的 s-kl 基因及产物逐渐减少^[1-2],这提示 s-kl 基因表达状况及其生物学功能特征与狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)的发生发展密切相关,提示 s-kl 可能参与了 LN 的发生发展。本研究通过检测普通体检者及 SLE 和 LN 患者体内 s-kl 的变化,初步探讨 s-kl 在 SLE 及 LN 中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究入选病例为自 2013 年 1 月至 2014 年 12 月在本院肾风湿科住院的首诊首治 SLE 患者,所有患者均符合 1997 年 ACR SLE 分类标准和(或)LN 诊断标准^[3],共 51 例,其中 17 例因合并其他疾病,如类风湿关节炎、皮炎、慢性病毒性肝炎等,被剔除,其余 34 例为未合并其他疾病的单纯 SLE 患者纳入研究,并进行 SLE 疾病活动指数(SLEDAI)评分。根据是否合并 LN 分为 SLE 不合并 LN 组(SLE 组,19 例)和合并 LN 组(LN 组,15 例)。选择同时期年龄性别匹配,在本院体检中心进行常规体检者 17 例为对照组,对照组纳入标准为常规体检未发现高血压、肾脏疾病和骨骼疾病及其他脏器疾病(如心、肺、脑、肝脏等),无常见风湿免疫病症状和体征,血糖、酶学、肝肾功能、心肌酶、类风湿因子、C 反应蛋白(CRP)、补体及抗核抗体(ANA)和双链 DNA(dsDNA)等基本正常者。所有入选对象自本研究开始前 4 周内均未服用激素和免疫抑制剂及影响钙磷代谢的药物。本研究获得本院医学伦理委员会批准,参与本研究对象均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 常规血清学指标检测 纳入本研究者,留取 24 h 尿液采用双缩脲法检测 24 h 尿蛋白定量(24 h Upro)。清晨空腹采静脉血(2×10 mL),提取血清置-80℃低温冰箱中保存备检测。血常规采用全自动血液细胞学分析仪检测,全自动生化分析仪检测肝肾功能、血脂、血糖、酶学、补体、类风湿因子及 CPR 等。根据 Cockcroft-Gault 公式计算内生肌酐清除率(CCr)。ANA 和 dsDNA 分别采用间接荧光免疫法和 ELISA 法,试剂盒为欧蒙医学实验诊断股份公司。

1.2.2 s-kl、25-OH-D 及 FGF-23 检测 血清中 s-kl(Immuno-Biological Laboratories 公司,日本)、25 羟基维生素 D(25-hydroxy vitamin D, 25-OH-D, 北京荣志海达生物科技有限公司),成纤维细胞生长因子-23(fibroblast growth factor, FGF-23, 上海基免生物技术有限公司)的检测,均采用 ELISA 法检测,按照产品试剂盒说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件分析数据,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析和 Scheffe 法检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验,对部分指标的依存关系采用直线回归和 Pearson's 相关分析。为方便计算,ANA 值取负对数。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入研究者临床基本资料比较 所有纳入本研究的 51

名研究对象,按照研究设计分为对照组(17 例)、SLE 组(19 例)和 LN 组(15 例)。3 组在年龄、性别比、体质量、肝功能和血糖方面的差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 SLE 组和 LN 组中 MAP、血常规(WBC、Hb 和 PLT)、酶学(CK 和 LDH)、补体(C₃ 和 C₄)及 dsDNA 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组和 SLE 组比较,LN 组中 24 h Upro、血脂(CHOL 和 TG)和 SCr 均有显著升高,而 ALB 和 CCr 下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组患者临床基本资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (n=17)	SLE 组 (n=19)	LN 组 (n=15)
年龄(岁)	29.1±9.8	26.9±11.3	30.0±8.7
男/女(n)	4/13	1/18	3/12
病程(周)	—	9.7±5.5	10.9±6.4
体质量(kg)	57.1±8.2	56.2±7.0	58.9±11.2
MAP(mm Hg)	85.6±9.2	92.7±8.1 ^a	96.2±5.3 ^a
WBC(×10 ⁹)	6.0±2.3	3.6±1.4 ^a	4.2±1.8 ^a
Hb(g/L)	123.0±25.9	98.0±19.7 ^a	99.2±20.3 ^a
PLT(×10 ⁹ /L)	191.3±62.8	89.2±24.8 ^a	98.9±41.0 ^a
24 h Upro(g/24 h)	0.1±0.0	0.1±0.0	2.2±1.2 ^{ab}
ALT(U/L)	25.4±10.3	33.6±17.3	30.0±11.6
AST(U/L)	25.8±7.3	32.3±14.9	34.3±15.0
ALB(g/L)	38.8±10.7	35.6±9.9	28.7±9.8 ^{ab}
CK(U/L)	126.5±45.0	225.4±83.5 ^a	273.0±85.2 ^a
LDH(U/L)	168.4±39.5	291.6±96.1 ^a	285.4±133.3 ^a
尿素氮(mmol/L)	5.9±1.7	6.9±1.8	8.5±3.9 ^a
SCr(μmol/L)	70.8±9.0	90.1±13.5 ^a	104.1±31.8 ^{ab}
CCr (mL/min)	90.3±4.7	88.1±6.4	81.3±7.1 ^{ab}
血糖(mmol/L)	4.8±1.1	5.4±1.6	5.7±1.5
CHOL(mmol/L)	4.4±0.8	4.5±1.2	6.6±1.9 ^{ab}
TG(mmol/L)	1.2±0.4	1.2±0.4	1.9±1.0 ^{ab}
类风湿因子(U/L)	12.7±4.9	19.6±5.6 ^a	18.1±9.2
CRP(mg/L)	6.6±1.7	10.0±4.7 ^a	9.2±4.5
补体 C ₃ (g/L)	1.3±0.3	0.6±0.2 ^a	0.7±0.2 ^a
补体 C ₄ (g/L)	0.3±0.2	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a
ANA	—	3.34±0.67	3.16±0.72
dsDNA	13.6±5.5	158.2±53.8 ^a	174.3±68.4 ^a

MAP:平均动脉压;WBC:白细胞;Hb:血红蛋白;PLT:血小板;ALT:丙氨酸氨基转移酶;AST:天门冬氨酸氨基转移酶;CK:肌酸激酶;LDH:乳酸脱氢酶;SCr:血清肌酐;CHOL:总胆固醇;TG:三酰甘油;^a: $P < 0.05$,与对照组比较;^b: $P < 0.05$,与 SLE 组比较;—:此项无数据。

2.2 各组 s-kl、25-OH-D、FGF-23 和 SLEDAI 评分 从表 2 中可以看出,尽管 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 在 SLE 组与对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$),但与对照组比较,SLE 组 s-kl 和 25-OH-D 有下降,FGF-23 有升高的趋势,而在 LN 组中 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 与对照组和 SLE 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),并且,LN 组 SLEDAI 评分比 SLE 组

评分更高,病情活动更严重($P < 0.05$)。

表 2 3 组中 s-kl, 25-OH-D, FGF-23 及 SLEDAI 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (n=17)	SLE 组 (n=19)	LN 组 (n=15)
s-kl(pg/mL)	825.41±196.57	687.46±159.38	533.24±176.37 ^a
25-OH-D(nmol/L)	77.99±14.63	64.95±20.02	53.95±14.99 ^a
FGF-23(pg/mL)	80.47±23.26	90.07±26.91	108.10±27.13 ^a
SLEDAI 评分(分)	—	10.74±2.38	12.87±3.36 ^b

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 SLE 组比较; —: 此项无数据。

2.3 s-kl 与 25-OH-D 和 FGF-23 及与 SLE 病情活动有关指标的相关性分析 结果提示, s-kl 与 25-OH-D、C₃ 及 C₄ 呈正相关($P < 0.05$), 与 FGF-23、SLEDAI 评分和 dsDNA 呈负相关($P < 0.05$)。

表 3 s-kl 与 25-OH-D、FGF-23、C₃、C₄ 及 dsDNA 相关分析

项目	25-OH-D	FGF-23	SLEDAI 评分	补体 C ₃	补体 C ₄	双链 DNA
r	0.346	-0.406	-0.396	0.367	0.413	-0.362
P	0.013	0.003	0.021	0.008	0.003	0.009

2.4 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 与 SLEDAI 评分的线性回归分析 为了进一步了解 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 能否预测 SLE 活动度, 作者进行了线性回归分析, 从结果可以看到, s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 与 SLE 活动度无依存回归关系, 三者不能对 SLE 活动度做出预判。见表 4。

表 4 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 与 SLEDAI 评分的线性回归分析

变量	β	SB	t	P
s-kl	-0.007	0.003	-1.958	0.060
25-OH-D	0.013	0.028	0.484	0.623
FGF-23	0.003	0.021	0.136	0.893

3 讨论

klotho 是一新发现的抗衰老基因, 其表达缺失或降低可导致一系列表型与慢性肾脏病类似的临床表现, 如动脉硬化、骨质疏松、免疫系统调节紊乱、氧化应激及生长发育迟滞和不孕不育等, 又因肾脏是 klotho 基因表达的主要器官, 其在肾脏疾病中的作用日益受到重视。klotho 基因是一跨膜蛋白, 以两种形式存在, 即膜结合性 klotho(membrane klotho, m-kl) 和 s-kl。研究认为, klotho 作为重要的辅助因子, 可诱导 FGF-23 对成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factors receptors, FGFRs)及下游信号分子的激活, 从而使 FGF-23 发挥生物学效应。FGF-23 是成纤维细胞生长因子家族成员之一, 在骨组织中产生的一种激素样物质, 其主要功能是参与维生素 D(vitamin D, VitD)的代谢和钙磷调节。

SLE 是一种涉及多系统多器官的自身免疫性疾病, 肾脏是受累最严重的器官之一。越来越多的研究已经证明, SLE

与动脉粥样硬化、氧化应激、免疫调节及代谢紊乱等密切相关, VitD 的缺乏可能是 SLE 病情活动和进展的重要因素之一^[4]。尤为重要的是, 肾脏的受累和激素治疗后出现的钙磷失调和 VitD 水平下降, 导致的骨质疏松, 更是影响患者预后和生存质量的重要因素^[5]。目前的研究表明, klotho 具有调节和抑制上述病理过程的功能, 但迄今为止, 其在 SLE 和 LN 中的作用仍知之甚少。本研究初步研究了 s-kl、FGF-23 和 25-OH-D 在 SLE 和 LN 的水平。从研究结果中可以看到, 虽然 SLE 患者与普通体检者血清中 s-kl、FGF-23 及 25-OH-D 水平差异无统计学意义($P > 0.05$), 但 SLE 患者体内 s-kl 和 25-OH-D 已有下降, 且 FGF-23 出现上升趋势, 而在 LN 患者中这一趋势更加明显, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。SLE 患者由于为了防止病情加重或复发而减少日晒, 加之肾功能受损及激素的应用, 导致体内 VitD 代谢障碍, 普遍存在 VitD 缺乏, 而 SLE 患者体内的 VitD 水平低下是与 SLE 疾病活动程度呈显著负相关的^[6]。研究还发现, SLE 患者中 VitD 缺乏症与自身抗体的产生^[7]、糖脂代谢异常、冠状动脉粥样硬化、骨质疏松及疲乏关系密切, 尽管这些观察结果有待得到更多试验的验证, 但仍能提示 VitD 水平的低下可能影响 SLE 患者的长期生存率和病死率。最近的临床研究表明, 补充 VitD 可以改善 SLE 患者体内免疫紊乱和特异性生物学指标的异常, 并且 SLE 患者对服用较大剂量的 VitD₃ 呈现良好的耐受性^[8]。

研究已经证明, FGF-23 是一种由骨组织产生的激素, 肾脏是其发挥生理学效应的重要靶器官之一, 参与磷和 VitD 的代谢调节。在 FGF-23 基因缺陷的小鼠中, 存在动脉硬化、骨质疏松、性腺功能减退、全身器官功能受损等表现, 这一现象与 SLE 患者和 klotho 基因缺陷的表型特征有明显相似。研究发现, FGF-23 发挥生物学效应存在一个反馈环路, FGF-23 可下调肾脏 25 羟化 D 的 1 α 羟化酶表达, 抑制 1,23-(OH)₂D 生成, 同时 1,23-(OH)₂D 也可通过作用于 FGF-23 启动子上游的 VitD 反应元件(vitamin D response elements, VDRE)增加 FGF-23 的合成, 可能导致 VitD 抵抗。Lee 等^[9]和 Lai 等^[10]研究发现, 环孢素 A 可下调 VitD 受体表达, 导致 VitD 抵抗, 其在 SLE 患者体内的累积量与血清 1,23-(OH)₂D 水平呈反比, 与 FGF-23 呈正比, 提示 SLE 患者体内 FGF-23 水平的上调可导致 VitD 水平的降低。结合本研究, 与普通体检者比较, SLE 和 LN 患者中 FGF-23 血清水平上升, 而在 LN 患者中更加显著(均 $P < 0.05$), 由此推测 FGF-23 可能是影响 SLE 患者, 尤其是 LN 患者体内影响 VitD 血清水平的关键因素之一。

迄今为止, klotho 在肾脏病中的研究已成为热点, 尤其在肾性骨病和慢性肾纤维化中的研究更为深入^[11-12], 而 klotho 在 SLE 和 LN 中的研究罕见公开报道。klotho 水平低下与大量蛋白尿和肾功能恶化密切相关, 在本试验 LN 组患者再次得到验证。研究已证实, m-kl 可与 FGFRs 结合形成 klotho-FGFRs 复合物, 尽管 s-kl 不直接与 FGF-23 直接结合, 但血中 s-kl 水平可反映肾组织中 klotho 蛋白表达水平, 并能极大地增强 FGF-23 与 klotho-FGFRs 复合物结合的亲和力, 从而使 FGF-23 失去生物学活性^[13]。为了探讨 s-kl 在 SLE 中的作用, 进一步的相关分析提示, s-kl 与 25-OH-D、C₃ 及 C₄ 呈正相关($P < 0.05$), 与 FGF-23、SLEDAI 和 dsDNA 呈负相关($P < 0.05$), 表明 klotho 可能也是影响 SLE 活动的因素之一。但回归分析中并未发现 s-kl、25-OH-D 和 FGF-23 与 SLE 疾病活动度具有依存关系, 提示三者不能对 SLE 活动度做出预判。

尽管本试验未能直接证明 s-kl 在 SLE 发病中的作用,但结合本研究结果和已有文献资料,作者推测 SLE 和 LN 患者体内 s-kl 水平的降低,可能是引起 FGF-23 升高的关键因素之一,由此进一步导致 SLE 和 LN 患者 VitD 缺乏和病情活动。

参考文献

- [1] Fliser D, Seiler S, Heine GH, et al. Measurement of serum soluble Klotho levels in CKD 5D patients: useful tool or dispensable biomarker? [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(5):1702-1703.
- [2] Pavik I, Jaeger P, Ebner L, et al. Secreted klotho and FGF23 in chronic kidney disease stage 1 to 5: a sequence suggested from a cross-sectional study [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(2):352-359.
- [3] Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9):1725.
- [4] Petri M, Bello KJ, Fang H, et al. Vitamin D in systemic lupus erythematosus: modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(7):1865-1871.
- [5] Mok CC. Vitamin d and systemic lupus erythematosus: an update [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2013, 9(5):453-463.
- [6] Schoindre Y, Jallouli M, Tanguy ML, et al. Lower vitamin D levels are associated with higher systemic lupus erythematosus activity, but not predictive of disease flare-up [J]. *Lupus Sci Med*, 2014, 1(1):e000027.
- [7] Ritterhouse LL, Crowe SR, Niewold TB, et al. Vitamin D deficiency is associated with an increased autoimmune response in healthy individuals and in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(9):1569-1574.
- [8] Terrier B, Derian N, Schoindre Y, et al. Restoration of regulatory and effector T cell balance and B cell homeostasis in systemic lupus erythematosus patients through vitamin D supplementation [J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(5):R221.
- [9] Lee CT, Ng HY, Lien YH, et al. Effects of cyclosporine, tacrolimus and rapamycin on renal calcium transport and vitamin D metabolism [J]. *Am J Nephrol*, 2011, 34(1):87-94.
- [10] Lai CC, Chen WS, Chang DM, et al. Increased serum fibroblast growth factor-23 and decreased bone turnover in patients with systemic lupus erythematosus under treatment with cyclosporine and steroid but not steroid only [J]. *Osteoporos Int*, 2015, 26(2):601-610.
- [11] Zununi VS, Nikasa P, Ardalan M. Klotho and renal fibrosis [J]. *Nephrourol Mon*, 2013, 5(5):946-948.
- [12] Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Secreted klotho and chronic kidney disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 728:126-57.
- [13] Nitta K, Nagano N, Tsuchiya K. Fibroblast growth factor 23/klotho axis in chronic kidney disease [J]. *Nephron Clin Pract*, 2014, 128(1/2):1-10.
- (收稿日期:2015-08-22 修回日期:2015-09-18)
-
- (上接第 175 页)
- [5] Hu H, Duan Z, Long X, et al. Comparison of treatment safety and patient survival in elderly versus nonelderly patients with advanced hepatocellular carcinoma receiving sorafenib combined with transarterial chemoembolization: a propensity score matching study [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2):e0117168.
- [6] 夏红天, 郭广宏, 黄晓强, 等. 肝动脉栓塞化疗前后血管内皮细胞相关细胞因子的变化 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2012, 18(1):23-26.
- [7] 杨绍梅, 张娜. 肝癌治疗药物的研究进展 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2015, 34(2):93-98.
- [8] 张映林, 陈蛟, 吴涯昆, 等. 高强度聚焦超声不完全消融对体外培养肝癌细胞的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(3):261-266.
- [9] 胡伟书. 栓塞化疗联合射频消融治疗对 42 例晚期肝癌患者的近期疗效评价 [J]. *胃肠病学和肝脏病杂志*, 2014, 23(5):491-493.
- [10] Li C, Zhang W, Zhang R, et al. Therapeutic effects and prognostic factors in high intensity focused ultrasound combined with chemobolisation for larger hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(13):2513-2521.
- [11] Xia JZ, Xie FL, Ran LF, et al. High-intensity focused ultrasound tumor ablation active ates autologous tumor-specific cytotoxic t lymphocytes [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2012, 38(8):1363-1371.
- [12] 杨洁, 张学兰, 周玉珊. 超声造影对肝动脉化疗栓塞与高强度超声治疗原发性肝癌的临床疗效评价 [J]. *临床超声医学杂志*, 2014, 16(2):123-125.
- [13] 黄军伟, 郑军. 高强度聚焦超声在肝癌微创治疗中的应用 [J]. *重庆医学*, 2013, 42(1):87-91.
- [14] 邹孝, 丁亚军, 谭乔来, 等. 基于 B 超图像评价 HIFU 治疗剂量对组织损伤程度的影响 [J]. *激光生物学报*, 2014, 23(5):400-404.
- [15] 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会, 中华医学会肝病学会分会肝癌学组. 原发性肝癌规范化诊治的专家共识 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2009, 17(6):403-410.
- [16] 郭汉斌, 曹建彪, 周一鸣, 等. 肝动脉化疗栓塞联合 CT 引导下射频消融序贯治疗小肝癌效果观察 [J]. *解放军医药杂志*, 2015, 27(2):1-3.
- [17] 江涛, 王轩, 陆雷, 等. 精准肝脏外科理念在原发性肝癌治疗中的临床价值 [J]. *中华消化外科杂志*, 2014, 13(6):452-455.
- [18] 刘平, 魏子白, 于俊岩, 等. 微波消融与手术切除治疗早期原发性肝癌临床疗效的 Meta 分析 [J]. *中华消化外科杂志*, 2015, 14(12):1031-1037.
- (收稿日期:2015-08-03 修回日期:2015-09-07)