

孟德尔随机化探究细胞因子与慢性肾脏病的因果关系

吴飞¹, 李清丽², 肖振卫³

(1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014; 2. 中国中医科学院望京医院老年医学科, 北京 100102;

3. 山东中医药大学附属医院肾内科, 山东 济南 250014)

摘要:目的 采用孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)方法探究细胞因子与慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的因果关系。方法 从全基因组关联分析(genome-wide association studies, GWAS)中获取研究数据,选择相互独立且与细胞因子相关的遗传位点作为工具变量(instrumental variables, IVs)。以逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)为主要方法,加权中位数法(Weighted Median)、MR Egger回归为补充进行MR分析。敏感性分析采用MR Egger截距项检验、留一法分析和Cochran's Q检验。并用Bonferroni法进行校正。当 $P < 0.055 \times 10^{-2}$ (0.050/91)时,结果具有显著的因果关系;当 $0.055 \times 10^{-2} \leq P < 0.050$ 时,结果具有潜在的因果关系。结果 共发现10种炎症因子与CKD有显著或潜在的关联。与CKD存在正向因果关联的有6种,显著相关的为IL-17C(IVW对应的 $OR = 1.171$, 95%CI: 1.079~1.270, $P = 1.426 \times 10^{-4}$),潜在相关的为IL-17A、CXCL10、MCP-4、DNER、CCL-4;与CKD存在负向因果关联的有4种,无显著相关,潜在相关的为CD40R、CD244、OPG、MIP-1a;敏感性分析证实了研究结果的准确性和稳健性。结论 IL-17C显著增加CKD的风险,IL-17A、CXCL10、MCP-4、DNER、CCL-4可能增加CKD的风险,CD40R、CD244、OPG、MIP-1a可能降低CKD的风险。

关键词:慢性肾脏病;细胞因子;孟德尔随机化;因果推断;药物靶点

中图分类号:R692.5

文献标志码:A

Causal association between cytokines and chronic kidney disease based on Mendelian randomization

WU Fei¹, LI Qingli², XIAO Zhenwei³

(1. The First Clinical Medical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong, China;

2. Department of Geriatrics, Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China;

3. Department of Nephrology, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong, China)

Abstract: Objective To explore the causal relationship between cytokines and chronic kidney disease (CKD) using the Mendelian randomization (MR) analysis. **Methods** Data for the analysis were sourced from genome-wide association studies (GWAS) and independent genetic loci associated with cytokines were selected as instrumental variables (IVs). MR analysis was conducted primarily using the inverse variance weighted (IVW) method, complemented by the Weighted Median and MR Egger regression approaches. Sensitivity analysis was performed using MR Egger regression intercept term test, leave-one-out analysis, and Cochran's Q tests. The Bonferroni correction was applied and the results were considered significantly causal when $P < 0.055 \times 10^{-2}$ (0.050/91), and potentially causal when $0.055 \times 10^{-2} \leq P < 0.050$. **Results** A total of 10 inflammatory factors were identified as significantly or potentially associated with CKD. Six cytokines showed positive causal associations with CKD, with IL-17C being significantly associated (for IVW, $OR = 1.171$, 95%CI: 1.079-1.270, $P = 1.426 \times 10^{-4}$). Cytokines potentially associated with increased risk of CKD

included IL-17A, CXCL10, MCP-4, DNER, and CCL-4. Four cytokines demonstrated negative causal associations with CKD, although none were significantly correlated. CD40R, CD244, OPG, and MIP-1a were potentially associated with a reduced risk of CKD included. The precision and robustness of the findings were confirmed by sensitivity tests.

Conclusion IL-17C significantly increases the risk of CKD, while IL-17A, CXCL10, MCP-4, DNER and CCL-4 may increase the risk of CKD. In contrast, CD40R, CD244, OPG, and MIP-1a may lower the risk of CKD.

Key words: Chronic kidney disease; Cytokines; Mendelian randomization; Causal inference; Drug target

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)是一种由各类原因导致的肾脏功能与结构的损害,病程超过3个月,临床表现为不同程度蛋白尿、水肿和高血压等的一组综合征。根据国际指南,CKD被定义为存在肾损伤标记物或肾小球滤过率小于 $60\text{ mL}/(\text{min}\cdot 1.73\text{m}^2)$,或两者同时存在,至少持续3个月^[1]。2023年调查显示,全球CKD的中位患病率约为9.5%,全球CKD相关中位死亡率约为2.4%,因此防治CKD已刻不容缓^[2]。

细胞因子是机体各种生理反应的介质,主要由免疫细胞和部分非免疫细胞分泌和合成的小肽蛋白组成。大多数细胞因子是多效性的,在不同的生理环境中发挥不同的作用。研究表明,抑制磷脂酰激酶3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)、转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)、血小板型磷酸果糖激酶(platelet-type phosphofructokinase, PFKP)的激活能缓解肾纤维化的发生,延缓CKD的发展^[3-6];白细胞介素8(interleukin-8, IL-8)通过诱导中性粒细胞聚集并促进炎症介质的释放,从而加重CKD^[7];肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)能诱导肾小管上皮细胞凋亡,促使肾纤维化与CKD的发生发展^[8];解耦联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP1)通过沉默信息调节因子3(silent information regulator 3, SIRT3)抑制氧化应激的发生并缓解肾间质纤维化^[9]。可见细胞因子与CKD密切相关,能通过诸多途径促进或延缓CKD的发生发展,研究这些细胞因子与CKD的因果关系将有助于更深入地了解CKD的发病机制和探索新的治疗方法。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)是一种统计学方法,以遗传变异作为工具变量(instrumental variables, IVs)来检测和量化暴露与结局之间的因果关系。其以3个基本假设为前提,并采用全基因组关联分析(genome-wide association studies, GWAS)和GWAS荟萃分析的大规模公开

数据来调查暴露因素与疾病,提高了结果的可靠性。

本研究旨在通过MR分析探讨细胞因子与CKD的因果关系,进一步探讨CKD的发病机制,为CKD的防治提供新的治疗方案。

1 资料与方法

1.1 资料

细胞因子的数据来自欧洲生物信息研究所GWAS目录数据库,包括11个队列、14 824名欧洲血统个体,共91个细胞炎症因子^[10]。CKD数据来源于CKD Gen Consortium,该数据库包括23项研究、480 698名欧洲血统个体,其中包括41 395例病例和439 303名对照^[11]。此研究基于公共GWAS数据库,所有原始研究都获得了伦理批准,不需要额外的知情同意或伦理批准。

1.2 方法

1.2.1 研究设计

基于两样本MR分析,探究91种细胞因子与CKD之间的因果关联。91种细胞因子为暴露,CKD为结局。满足3个基本假设^[12]:①IVs与暴露显著相关;②IVs与混淆因素无关;③IVs仅能通过暴露与结局相关,而非其他途径。

1.2.2 工具变量的选择

以 $P < 5 \times 10^{-8}$ 为显著阈值对暴露的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)进行筛选时,部分数据得出的SNP位点少于10个甚至少于3个,当SNP位点小于10个时可能会降低MR分析的统计效率,当SNP位点小于3个时无法进行有效的MR分析,因此可以使用一个宽松的阈值^[13-14]。通过检索文献,将此阈值放宽为 $P < 5 \times 10^{-6}$,但这同时导致了多效性的增加,需要通过MR PRESSO和敏感性分析保证其结果的可靠性^[15-20]。同时消除连锁不平衡,使独立性设置后的SNPs必须满足 $r^2 < 0.01$, $\text{kb} > 500$ ^[21]。其次以 F 值 > 10 作为强相关的标准以排除弱工具变量,通过计算,所有SNPs的 F 值均大于10。 F 值计算公式为: $F = R^2$

$(N-k-1)/k(1-R^2)$, 其中 N 为暴露样本量, R^2 为 SNPs 解释暴露的程度, k 表示所选 SNPs 的数量^[22]。 R^2 计算公式为: $R^2 = 2 \times \text{EAF} \times (1-\text{EAF}) \times \beta^2$, EAF 为效应等位基因频率, β 为等位基因效应值。然后在结局中提取相关 SNPs, 采用 harmonise 法剔除回文序列, 并手动剔除了所有结局 P 值 < 暴露 P 值的 SNPs, 保证暴露与结局无关。最后将所有 SNPs 上传到 LD trait, 并剔除与 CKD 相关的混淆因素(如高血压、糖尿病)的 SNPs, 保证工具变量与混淆因素无关。并在 MR 分析前以 MR PRESSO 方法剔除影响水平多效性的离群 SNPs, 以保证分析的可靠性^[23]。

1.2.3 MR 分析

本研究采用的为 R 4.3.2 版本, 分析基于“TwoSampleMR”“gwasglue”等软件包。通过逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)、MR Egger 回归、Weighted Median 三种方法进行 MR 分析, 并以森林图、散点图和留一图进行可视化。其中 IVW 方法是评估细胞因子与 CKD 之间因果关系的主要方法^[24], 在 IVW 分析得出显著结果($P < 0.050$)且未发现水平多效性或异质性证据的情况下, 只要 β 值的方向保持一致, 即使其他方法没有得出显著结果, 也可以认为结果是阳性的^[25]。IVW 法以结局方差的倒数作为权重进行拟合, 且不考虑截距项的存在, 只有全部 IVs 有效, 结果才是无偏倚的; MR Egger 法基于 IVW 法上考虑截距项的存在, 用于 IVs 存在潜在多效性时的推断; Weighted Median 法计算加权权重大小并进行排序, 要求至少一半的权重来自有效的 IVs, 作为有异质性但无水平多效性的选择^[26]。由于研究为 91 种细胞因子与 CKD 的两样本 MR 分析, 需采用 Bonferroni 校正, 即当 $P < 0.055 \times 10^{-2}$ 时, 表明分析结果具有显著性。Bonferroni 校正虽能有效避免 I 类错误的发生, 降低假阳性率, 但其过于保守, 在 GWAS 多组数据校正后会降低显著性水平与统计功效, 增加 II 类错误的发生, 导致假阴性率的增加。诸多 MR 研究中, 将 Bonferroni 校正后不显著的结果($0.055 \times 10^{-2} \leq P < 0.050$)称为潜性相关或提示相关, 即暴露结局之间可能存在因果关联^[15-16, 27-29]。为了权衡假阳性和假阴性, 将 $P < 0.055 \times 10^{-2}$ 的具有显著关系的细胞因子首位列出, 将 $0.055 \times 10^{-2} \leq P < 0.050$ 的可能存在关联的细胞因子随后列出, 以便于区分, 不遗漏可能存在因

果关系的细胞因子。

1.2.4 敏感性分析

从异质性、水平多效性、留一法进行敏感性分析。异质性以 IVW 方法为主, 以 Cochran's Q 检验异质性, $P > 0.500$ 说明不存在异质性, 存在 $P \leq 0.500$ 表明异质性^[30-31]。若异质性存在, 这可能是不同环境、不同人群或存在一些未识别的混杂因素和离群值所致, 需用 radial MR 方法进一步去除离群值^[31-33], 并采用随机效应 IVW 法重新分析, 以保证结果可靠性^[19, 34-35]。通过 MR Egger 截距的 P 值 > 0.050 , 说明水平多效性不存在, 散点图对结果进行可视化^[23]。以留一法确定因果关系是否存在任何单一 SNP 的影响, 留一图对结果进行可视化^[36]。

2 结果

IVW 方法所得结果中, $P < 0.050$ 的因子共有 13 种, 但其中有 3 种细胞因子行 MR 分析时, MR Egger 方法与 IVW 方向不一致, 分别为巨噬细胞集落刺激因子 1 (macrophage colony-stimulating factor 1, M-CSF1) ($P = 0.019$, $\beta_{\text{IVW}} = 0.153$, $\beta_{\text{MR Egger}} = -0.103$)、成纤维细胞生长因子 23 (fibroblast growth factor 23, FGF23) ($P = 0.020$, $\beta_{\text{IVW}} = 0.147$, $\beta_{\text{MR Egger}} = -0.081$)、血管内皮细胞生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A) ($P = 0.044$, $\beta_{\text{IVW}} = 0.093$, $\beta_{\text{MR Egger}} = -0.050$)。将这 3 种细胞因子去除后得到与 CKD 有因果关系的细胞因子共 10 种, 并通过绘制森林图(图 1)使结果可视化。

2.1 正向因果关联

2.1.1 白细胞介素 17C (interleukin-17C, IL-17C) 分析结果

IVW 法结果显示, IL-17C 与 CKD 存在显著正向因果关联 ($P = 1.426 \times 10^{-4}$, $OR = 1.171$, $95\% CI: 1.079 \sim 1.270$), 且三种分析结果方向一致, MR 分析前去除了混淆 SNP rs2814092 及离群 SNP rs8015296, 异质性检验提示不存在异质性 ($P_{Q\text{-test}} = 0.414$), MR Egger 测试无多效性 ($P_{\text{intercept}} = 0.280$), 留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.1.2 白细胞介素 17A (interleukin-17A, IL-17A) 分析结果

IVW 法结果显示, IL-17A 与 CKD 存在潜在正向因果关联 ($P = 0.028$, $OR = 1.113$, $95\% CI: 1.012 \sim$

1.224),且三种分析结果方向一致,MR分析前未发现混淆SNPs和离群SNPs,异质性检验提示不存在异质性($P_{Q\text{-test}} = 0.839$),MR Egger测试无多效性

($P_{\text{intercept}} = 0.842$),留一法未发现对因果关联影响较大的SNPs见图2、图3。



图1 10种细胞因子与CKD的MR分析结果

$P_{\text{intercept}}$:基于MR Egger截距项的多效性P值; $P_{Q\text{-test}}$:基于IVW Cochran Q统计量的异质性P值。

Figure 1 Results of MR analysis of 10 cytokines and CKD

$P_{\text{intercept}}$: P value for pleiotropy based on MR Egger intercept term; $P_{Q\text{-test}}$: P value for heterogeneity based on Cochran's Q statistic for IVW.

2.1.3 C-X-C基序趋化因子10(C-X-C motif chemokine 10,CXCL10)分析结果

IVW法结果显示,CXCL10与CKD存在潜在正向因果关联($P = 0.047$, $OR = 1.082$, $95\% CI: 1.001 \sim$

1.169),且三种分析结果方向一致,MR分析前去除了混淆 SNP rs2523495 及离群 SNPs rs12155428、rs12174864,异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.201$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.458$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.1.4 单核细胞趋化蛋白 4(monocyte chemoattractant protein-4, MCP-4)分析结果

IVW 法结果显示,MCP-4 与 CKD 存在潜在正向因果关联($P = 0.014$, $OR = 1.062$, $95\% CI: 1.012 \sim 1.115$),且三种分析结果方向一致,MR 分析前去除了混淆 SNP rs191825334,MR PRESSO 未发现离群 SNPs,异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.586$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.702$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.1.5 Delta/Notch 样表皮生长因子相关受体(Delta and Notch-like epidermal growth factor-related receptor, DNER)分析结果

IVW 法结果显示,DNER 与 CKD 存在潜在正向因果关联($P = 0.007$, $OR = 1.149$, $95\% CI: 1.039 \sim 1.270$),且三种分析结果方向一致,MR 分析前去除了混淆 SNP rs11695483,MR PRESSO 未发现离群 SNPs,异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.638$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.875$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.1.6 C-C 基序趋化因子-4(C-C motif chemokine 4, CCL-4)分析结果

IVW 法结果显示,CCL-4 与 CKD 存在潜在正向因果关联($P = 0.012$, $OR = 1.050$, $95\% CI: 1.011 \sim 1.092$),且三种分析结果($\beta_{IVW} = 0.049$, $\beta_{MR Egger} = 0.005$, $\beta_{Weighted Median} = 0.022$)方向一致,MR 分析前去除了混淆 SNP rs74801519 与离群 SNPs rs140505982、rs113308217,MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.090$),异质性检验提示存在异质性($P_{Q.test} = 0.004$)。因此继用 radial MR 方法去除了 rs62261476、rs78206331、rs9330240 三个离群 SNPs,并使用随机效应 IVW 法分析。IVW 法结果显示,CCL-4 与 CKD 存在潜在正向因果关联($P = 0.003$, $OR = 1.051$, $95\% CI: 1.017 \sim 1.086$),且三种分析结果方向

一致。异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.535$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.167$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.2 负向因果关联

2.2.1 CD40R 分析结果

IVW 法结果显示,CD40L 受体与 CKD 存在潜在负向因果关联($P = 0.013$, $OR = 0.952$, $95\% CI: 0.916 \sim 0.990$),且三种分析结果方向一致,MR 分析前未发现混淆 SNPs,MR PRESSO 去除离群 SNP rs75612263。异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.868$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.501$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.2.2 自然杀伤细胞受体 2B4(又称 CD244)分析结果

IVW 法结果显示,CD244 与 CKD 存在潜在负向因果关联($P = 0.042$, $OR = 0.939$, $95\% CI: 0.883 \sim 0.998$),且三种分析结果方向一致,MR 分析前未发现混淆与离群 SNPs。异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.395$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.523$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.2.3 骨保护素(osteoprotegerin, OPG)分析结果

IVW 法结果显示,OPG 与 CKD 存在潜在负向因果关联($P = 0.006$, $OR = 0.889$, $95\% CI: 0.817 \sim 0.960$),且三种分析结果方向一致,MR 分析前去除了混淆 SNP rs11066309 及离群 SNPs rs2853926、rs5743604。异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.796$),MR Egger 测试无多效性($P_{intercept} = 0.715$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

2.2.4 巨噬细胞炎性蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein 1a, MIP-1a)分析结果

IVW 法结果显示,MIP-1a 与 CKD 存在潜在负向因果关联($P = 0.004$, $OR = 0.938$, $95\% CI: 0.897 \sim 0.980$),且三种分析结果方向一致,MR 分析前未发现混淆与离群 SNPs。异质性检验提示不存在异质性($P_{Q.test} = 0.876$),测试无多效性($P_{intercept} = 0.406$),留一法未发现对因果关联影响较大的 SNPs。见图 2、图 3。

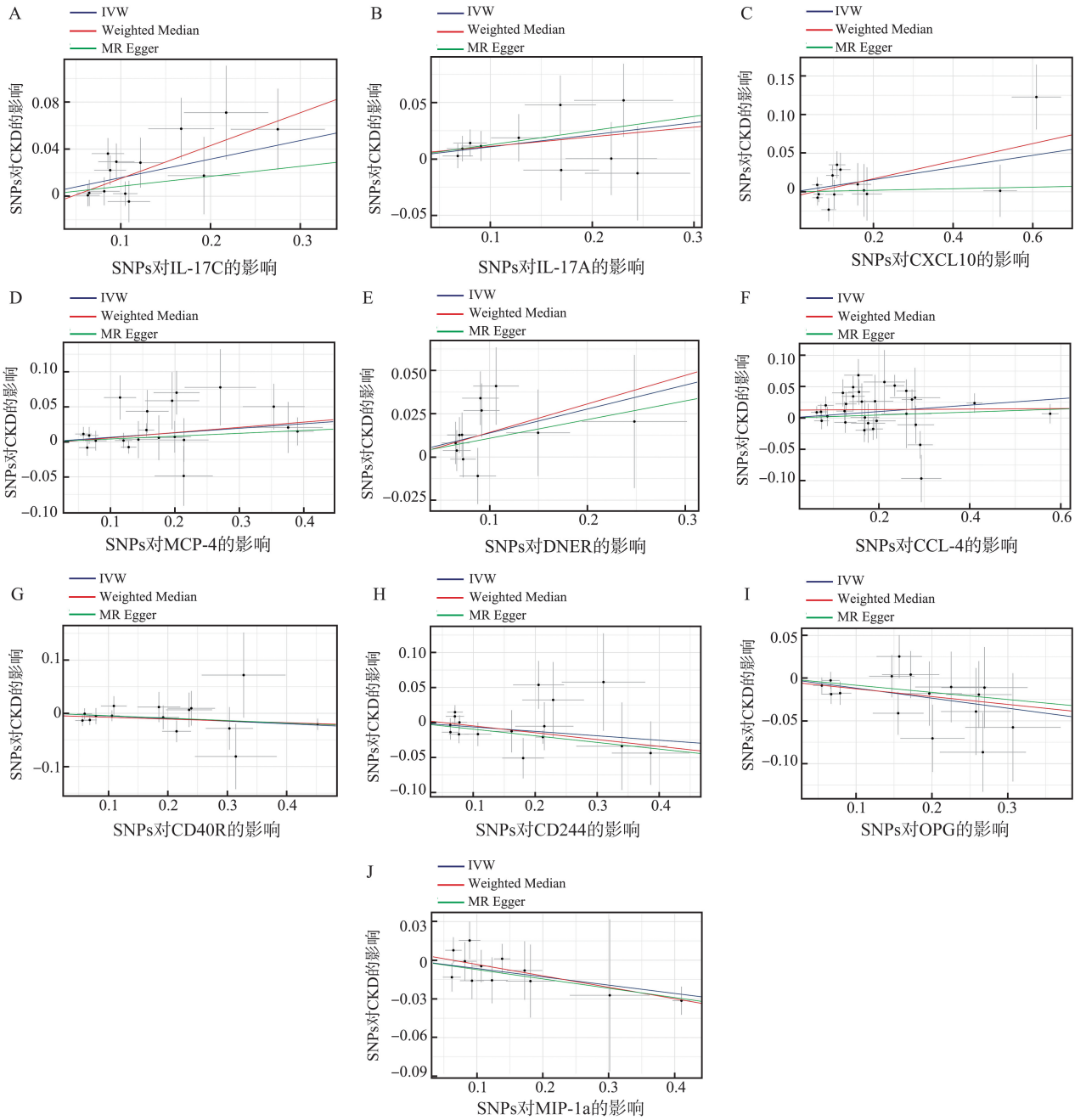


图2 10种细胞因子与CKD的散点图

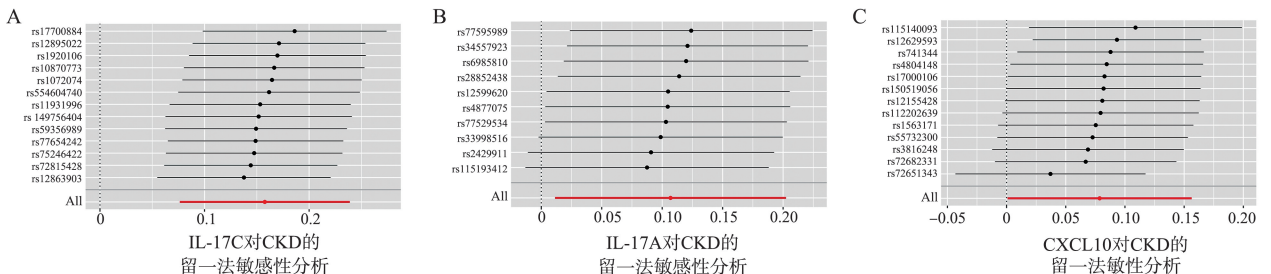
A: IL-17C; B: IL-17A; C: CXCL10; D: MCP-4; E: DNER; F: CCL-4; G: CD40R; H: CD244; I: OPG; J: MIP-1a。

直线斜率代表MR方法的估计因果效应,黑点代表每个遗传变异与细胞因子和CKD的关联,垂直线和水平线代表每个遗传变异OR的95%CI。

Figure 2 Scatter plots of MR analysis between 10 cytokines and CKD

A: IL-17C; B: IL-17A; C: CXCL10; D: MCP-4; E: DNER; F: CCL-4; G: CD40R; H: CD244; I: OPG; J: MIP-1a.

The slope of the lines represented the estimated causal effect of the MR methods; the association of each SNP with cytokines and CKD was displayed by black dots; the 95% CI of odd ratio for each SNP was shown by vertical and horizontal lines.



IL-17C对CKD的留一法敏感性分析

IL-17A对CKD的留一法敏感性分析

CXCL10对CKD的留一法敏感性分析

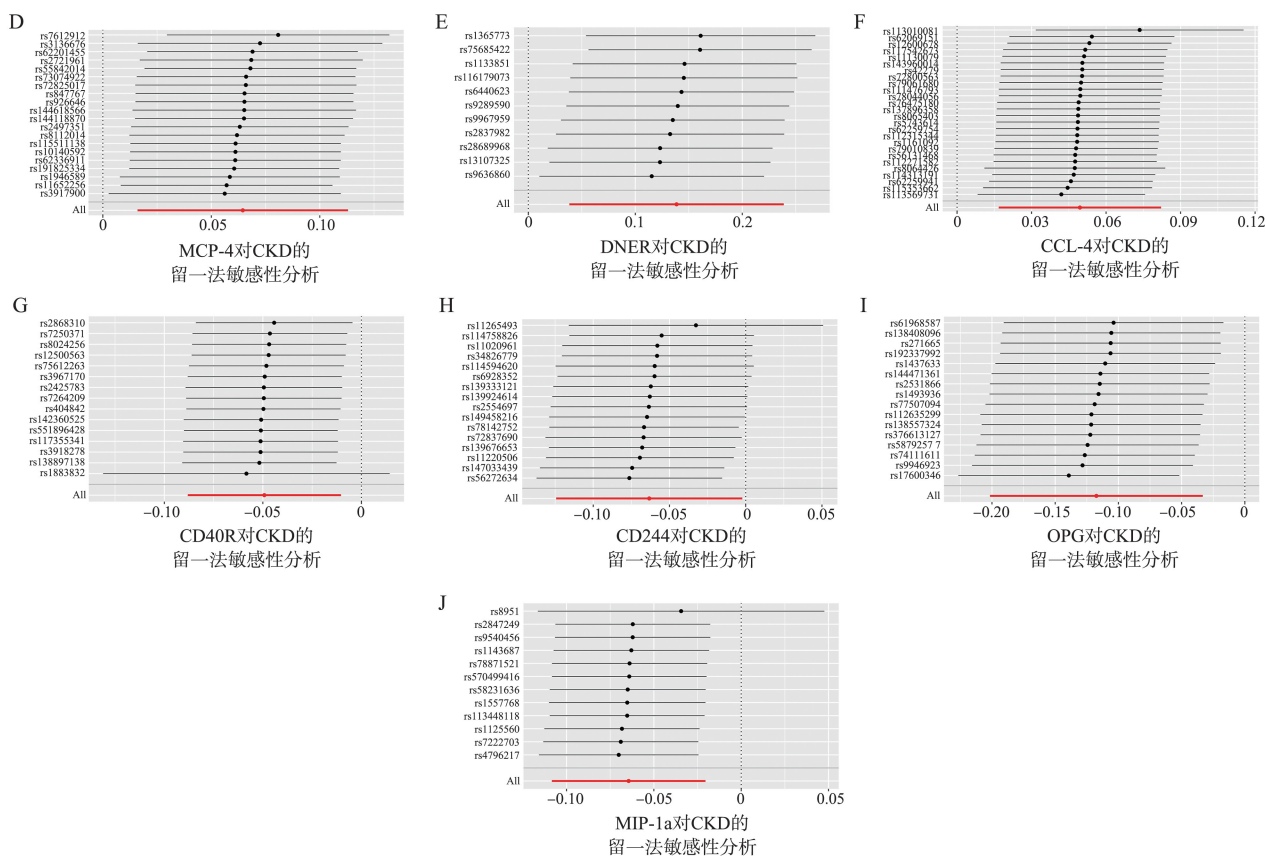


图3 10种细胞因子对CKD的留一法敏感性分析

A: IL-17C; B: IL-17A; C: CXCL10; D: MCP-4; E: DNER; F: CCL-4; G: CD40R; H: CD244; I: OPG; J: MIP-1a。

黑点与红点均在0.00同侧代表结果稳健。

Figure 3 Sensitivity analysis of the leave-one-out method between 10 cytokines and CKD

A: IL-17C; B: IL-17A; C: CXCL10; D: MCP-4; E: DNER; F: CCL-4; G: CD40R; H: CD244; I: OPG; J: MIP-1a.

Both the black and red dots were on the same side of 0.00, indicating a robust result.

3 讨论

本研究通过整合大样本的GWAS数据,利用MR分析揭示了91种细胞因子与CKD的关系。其中M-CSF1、FGF23、VEGF-A的IVW与MR Egger方向相反,表明可能存在多效性,其因果关系不可靠^[34]。尽管通过MR PRESSO去除了离群值,并在MR Egger回归中证明其不存在水平多效性(M-CSF1: $P_{\text{intercept}} = 0.171$; FGF23: $P_{\text{intercept}} = 0.292$; VEGF-A: $P_{\text{intercept}} = 0.134$),但由于遗传变异的复杂性和多样性,有些离群值难以准确识别或校正,可能还会存在潜在的离群值,致使分析结果偏移,导致IVW和MR Egger的结果方向不准确,这种结果是不可靠的^[37],需要更多的基础或临床研究验证M-CSF1、FGF23、VEGF-A与CKD的关系,因此将这3种细胞因子排除掉。最终结果显示,在91种细胞因子中,有10种细胞因子与CKD存在关联,其中6种细胞因子与CKD存在正向因果关联,4种细胞

因子与CKD存在负向因果关联。且IL-17C与CKD存在显著的相关性。

CKD发生时,患者体内普遍存在炎症状态,这是一种持续的、慢性的炎症反应,其特点是循环炎症因子水平升高^[38]。炎症因子的清除主要通过肾脏,随着CKD的进展,肾脏滤过功能逐渐下降,炎症因子无法得到有效清除,致使炎症因子不断蓄积,从而诱发氧化应激和炎症反应持续驱动肾单位丢失,导致CKD的进一步恶化^[38-39]。IL-17C属于IL-17细胞因子家族,来源于各种免疫细胞,通过自分泌的方式诱导炎症因子和趋化因子的释放,以及活化辅助性T细胞17(T helper cell 17, Th17)促进炎症反馈环路的形成^[40]。Wang等^[41]发现抑制IL-17C后可减轻肾小管损伤、肾脏氧化应激和肾脏炎症,推断其作用机制可能与Th17活化衰减和IL-17A表达减弱有关。在Zhang等^[42]研究中再次验证了此作用机制,在IL-17C中和后,小鼠下游炎症因子、炎性细胞浸润和Th17、IL-17A的表达被显著抑制,有效缓解了蛋白尿。Krohn等^[43]研究证明,IL-17C通过

Th17 细胞表达白介素 17 受体 E 促进了免疫介导的肾脏疾病。此外, Huang 等^[44]发现 IL-17C 在体外直接作用于肾上皮细胞,并促进炎症因子的产生,在抑制 IL-17C 表达后,小鼠肾组织损伤也得到了明显缓解。这些与本研究结论是一致的,推断 IL-17C 导致肾功能减退的原因或许与 IL-17C 本身攻击肾脏,并通过 Th17 促进炎症因子释放进一步介导肾脏疾病有关。因此,进一步深入探讨 IL-17C 的作用机制与靶向抑制 IL-17C 可能会为 CKD 的防治提供一个新的方向。

IL-17A 主要由 Th17 分泌,可促进炎症因子的释放,进一步扩大炎症反应^[45]。实验表明,抑制 IL-17A 的分泌能下调炎症因子的水平从而有效改善肾功能,并且可降低与纤维细胞相关的趋化因子和激活剂的表达,显著降低肾纤维化^[46-47]。CXCL10 属于 CXC 趋化因子家族,主要与 CXC 趋化因子受体 3 结合,发挥生物学功能,可调控细胞生长与增殖、诱导细胞凋亡和趋化、抑制血管生成^[48]。敲除 CXCL10 可抑制肾小管上皮细胞的增殖、减缓肾间质纤维化,以保护肾功能^[48-49]。此外, CXCL10 已被证明是疾病严重程度的重要生物标志物,与估算肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)呈负相关,可作为多种肾脏疾病的预后指标^[50-52]。MCP-4 是 T 细胞和单核细胞的重要趋化因子,其表达于肾小管、肾小球和血管周围,并在募集保留单核/巨噬细胞中起到重要作用,可加重肾脏炎症的进展^[53]。DNER 是一种跨膜蛋白,在介导神经元和神经胶质细胞之间的信号通信以及肿瘤抑制中发挥作用^[54],但其与 CKD 关系并无明确报道,需进一步的实验证明。CCL-4 是一种趋化因子,可吸引单核细胞、T 淋巴细胞和嗜酸性粒细胞等免疫细胞,在炎症和免疫反应中发挥作用^[55],但其是否通过炎症与免疫反应对 CKD 产生影响,还是存在其他作用机制,这有待深入的研究进行阐述。

CD40 是一种细胞表面受体,属于肿瘤坏死因子-R 家族,其在肾近端小管上皮细胞中表达,可诱导炎症因子表达和肾脏纤维化,加重肾脏疾病的发展^[56-57]。研究表明, CD40 与 eGFR 呈负相关,降低 CD40 表达后,尿蛋白显著减少,肾小球与肾小管的形态也得以恢复^[58-59]。而 CD40R 是 CD40 激活的竞争性拮抗剂, CD40R 会降低 CD40 的表达,对延缓 CKD 的发展有重要意义^[60]。CD244 是一种细胞表面免疫因子,在自然杀伤细胞、T 细胞中表达,在许多免疫相关疾病中起到重要作用^[61],但其与 CKD 的相关性还有待更多的研究支持。研究表明,

OPG 作为 CKD 的潜在生物标志物,可降低大量蛋白尿的风险并延缓 CKD 的进展^[62]。此外, OPG 作为 NF- κ B 受体激活因子(receptor activator of NF- κ B, RANK)的竞争性抑制剂,可作为诱饵受体与核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, RANKL)高亲和性结合,阻止 RANKL 激活 RANK,抑制破骨细胞分化、活化和存活,从而抑制骨吸收、减少骨质流失、增加骨密度,进而调节血清钙、磷酸盐水平,在慢性肾脏病矿物质和骨代谢中起到重要的作用^[63]。MIP-1a 属于趋化因子,起到调控造血、保护干细胞、抗 HIV 的作用,但其如何降低 CKD 风险尚缺乏明确的证据,需要深层次探讨其作用机制。

本研究的局限性:①数据均来源于欧洲人群,结论不可广泛应用于其他种族;②仅探讨单一细胞因子对 CKD 的影响,缺乏细胞因子之间相互联系对 CKD 影响的探讨;③研究数据来源于 GWAS,无法详细获知患者疾病严重程度及年龄等信息。

综上所述,本研究通过 MR 分析揭示了 10 种细胞因子在 CKD 中发挥作用。IL-17C 显著增加 CKD 的风险, IL-17A、CXCL10、MCP-4、DNER、CCL-4 可能增加 CKD 的风险, CD40R、CD244、OPG、MIP-1a 可能降低 CKD 的风险。本研究结果为 CKD 的早期筛查与可能的药物靶点发现提供了基础,靶向抑制 IL-17C 可能是治疗 CKD 的一个新方向,但仍需要进一步的临床和基础实验去证明此结论。

参考文献:

- [1] Kalantar-Zadeh K, Jafar TH, Nitsch D, et al. Chronic kidney disease [J]. *Lancet*, 2021, 398(10302): 786-802.
- [2] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2020, 395(10225): 709-733.
- [3] Li R, Shi CR, Wei CT, et al. Fufang Shenhua Tablet inhibits renal fibrosis by inhibiting PI3K/AKT[J]. *Phyto-medicine*, 2023, 116: 154873. doi: 10.1016/j.phymed.2023.154873.
- [4] Zhu JH, Wang L, Ma ZX, et al. Rehmannia glutinosa Libosch and Cornus officinalis Sieb herb couple ameliorates renal interstitial fibrosis in CKD rats by inhibiting the TGF- β 1/MAPK signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318(Pt B): 117039. doi: 10.1016/j.jep.2023.117039.

- [5] Cao R, Su W, Sheng JY, et al. Estrogen receptor β attenuates renal fibrosis by suppressing the transcriptional activity of Smad3[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2023, 1869(6): 166755. doi:10.1016/j.bbadis.2023.166755.
- [6] Yang S, Wu H, Li YC, et al. Inhibition of PFKF in renal tubular epithelial cell restrains TGF- β induced glycolysis and renal fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(12): 816. doi:10.1038/s41419-023-06347-1.
- [7] Kalantar-Zadeh K. The latest addition to the inflammatory homeboys in chronic kidney disease: interleukin-8[J]. *Nephron Clin Pract*, 2006, 102(2): c59-c60.
- [8] Lin ZY, Chen A, Cui HW, et al. Renal tubular epithelial cell necroptosis promotes tubulointerstitial fibrosis in patients with chronic kidney disease[J]. *FASEB J*, 2022, 36(12): e22625. doi:10.1096/fj.202200706RR.
- [9] Xiong W, Xiong ZY, Song AN, et al. UCPI alleviates renal interstitial fibrosis progression through oxidative stress pathway mediated by SIRT3 protein stability[J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 521. doi:10.1186/s12967-023-04376-0.
- [10] Zhao JH, Stacey D, Eriksson N, et al. Genetics of circulating inflammatory proteins identifies drivers of immune-mediated disease risk and therapeutic targets[J]. *Nat Immunol*, 2023, 24(9): 1540-1551.
- [11] Wuttke M, Li Y, Li M, et al. A catalog of genetic loci associated with kidney function from analyses of a million individuals[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(6): 957-972.
- [12] Birney E. Mendelian randomization[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2022, 12(4): a041302. doi:10.1101/cshperspect.a041302.
- [13] Zhu ZH, Zheng ZL, Zhang FT, et al. Causal associations between risk factors and common diseases inferred from GWAS summary data[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 224. doi:10.1038/s41467-017-02317-2.
- [14] Zhao GR, Lu Z, Sun YY, et al. Dissecting the causal association between social or physical inactivity and depression: a bidirectional two-sample Mendelian Randomization study[J]. *Transl Psychiatry*, 2023, 13(1): 194. doi:10.1038/s41398-023-02492-5.
- [15] Yeung CHC, Schooling CM. Systemic inflammatory regulators and risk of Alzheimer's disease: a bidirectional Mendelian-randomization study[J]. *Int J Epidemiol*, 2021, 50(3): 829-840.
- [16] Xiang MM, Wang YL, Gao ZY, et al. Exploring causal correlations between inflammatory cytokines and systemic lupus erythematosus: a Mendelian randomization[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 985729. doi:10.3389/fimmu.2022.985729.
- [17] Choi KW, Chen CY, Stein MB, et al. Assessment of bidirectional relationships between physical activity and depression among adults: a 2-sample Mendelian randomization study[J]. *JAMA Psychiatry*, 2019, 76(4): 399-408.
- [18] 陈帅,金杰,韩化伟,等.两样本孟德尔随机化分析循环炎症细胞因子与骨密度的因果关联[J].*中国组织工程研究*, 2025, 29(8): 1556-1564.
CHEN Shuai, JIN Jie, HAN Huawei, et al. Causal relationship between circulating inflammatory cytokines and bone mineral density based on two-sample Mendelian randomization[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2025, 29(8): 1556-1564.
- [19] 陈世崧,黄凯,徐泓杰,等.91种炎症蛋白与5种心血管疾病的因果关系:双向孟德尔随机化研究[J].*海军军医大学学报*, 2024, 45(5): 558-568.
CHEN Shisong, HUANG Kai, XU Hongjie, et al. Causal relationship between 91 inflammatory proteins and 5 cardiovascular diseases: a bidirectional Mendelian randomization[J]. *Academic Journal of Naval Medical University*, 2024, 45(5): 558-568.
- [20] Lai R, Yin BZ, Feng ZY, et al. The causal relationship between 41 inflammatory cytokines and hypothyroidism: bidirectional two-sample Mendelian randomization study[J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1332383. doi:10.3389/fendo.2023.1332383.
- [21] Chen X, Zhang SM, Wu X, et al. Inflammatory cytokines and oral lichen planus: a Mendelian randomization study[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1332317. doi:10.3389/fimmu.2024.1332317.
- [22] Papadimitriou N, Dimou N, Tsilidis KK, et al. Physical activity and risks of breast and colorectal cancer: a Mendelian randomisation analysis[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 597. doi:10.1038/s41467-020-14389-8.
- [23] Ong JS, MacGregor S. Implementing MR-PRESSO and GCTA-GSMR for pleiotropy assessment in Mendelian randomization studies from a practitioner's perspective[J]. *Genet Epidemiol*, 2019, 43(6): 609-616.
- [24] Bowden J, Holmes MV. Meta-analysis and Mendelian randomization: a review[J]. *Res Synth Methods*, 2019, 10(4): 486-496.
- [25] Wang SN, Zhu H, Pan L, et al. Systemic inflammatory regulators and risk of acute-on-chronic liver failure: a bidirectional mendelian-randomization study[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1125233. doi:10.3389/fcell.2023.1125233.
- [26] Hwang LD, Lawlor DA, Freathy RM, et al. Using a two-sample Mendelian randomization design to investigate a possible causal effect of maternal lipid concentrations on offspring birth weight[J]. *Int J Epidemiol*, 2019, 48(5): 1457-1467.

- [27] Georgakis MK, Gill D, Rannikmäe K, et al. Genetically determined levels of circulating cytokines and risk of stroke[J]. *Circulation*, 2019, 139(2): 256-268.
- [28] 唐仕浩, 张堃, 刘春贵, 等. 孟德尔随机化探究细胞因子与深静脉血栓的因果效应[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(4): 759-764.
TANG Shihao, ZHANG Kun, LIU Chungui, et al. Causal association between cytokines and deep vein thrombosis based on Mendelian randomization[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 48(4): 759-764.
- [29] Ji D, Chen WZ, Zhang L, et al. Gut microbiota, circulating cytokines and dementia: a Mendelian randomization study[J]. *J Neuroinflammation*, 2024, 21(1): 2. doi:10.1186/s12974-023-02999-0.
- [30] 吴彤, 杨晶玉, 林澔, 等. 基于孟德尔随机化方法探讨脂质和降脂药物与慢性阻塞性肺病的遗传关联[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2024, 62(5): 54-63.
WU Tong, YANG Jingyu, LIN Dang, et al. Genetic association of lipids and lipid-lowering drugs with chronic obstructive pulmonary disease based on Mendelian randomization[J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2024, 62(5): 54-63.
- [31] Bowden J, Spiller W, Del Greco MF, et al. Improving the visualization, interpretation and analysis of two-sample summary data Mendelian randomization via the Radial plot and Radial regression[J]. *Int J Epidemiol*, 2018, 47(6): 2100. doi:10.1093/ije/dyy265.
- [32] Yu K, Chen XF, Guo J, et al. Assessment of bidirectional relationships between brain imaging-derived phenotypes and stroke: a Mendelian randomization study[J]. *BMC Med*, 2023, 21(1): 271. doi:10.1186/s12916-023-02982-9.
- [33] Yu Z, Zhang LJ, Zhang G, et al. Lipids, apolipoproteins, statins, and intracerebral hemorrhage: a Mendelian randomization study[J]. *Ann Neurol*, 2022, 92(3): 390-399.
- [34] Chen Z, Chen ZY, Jin XL. Mendelian randomization supports causality between overweight status and accelerated aging[J]. *Aging Cell*, 2023, 22(8): e13899. doi:10.1111/acel.13899.
- [35] Li NN, Yang K, Deng L, et al. Mendelian randomization study supports positive bidirectional causal relationships between genetically predicted insomnia symptom and liability to benign prostatic hyperplasia[J]. *BMC Urol*, 2024, 24(1): 91. doi:10.1186/s12894-024-01474-z.
- [36] Nolte IM. Metasubtract: an R-package to analytically produce leave-one-out meta-analysis GWAS summary statistics[J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(16): 4521-4522.
- [37] 任清林, 何文博, 岳佳瑞, 等. 两样本孟德尔随机化分析肠道菌群与肺癌的因果关系[J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2023, 30(11): 1618-1627.
REN Qinglin, HE Wenbo, YUE Jiarui, et al. Association of lung cancer and gut microbiota: a two-sample Mendelian randomization analysis[J]. *Chinese Journal of Clinical Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2023, 30(11): 1618-1627.
- [38] Frałk W, Kućmierz J, Szlagor M, et al. New insights into molecular mechanisms of chronic kidney disease[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(11): 2846. doi:10.3390/biomedicines10112846.
- [39] Kadatane SP, Satariano M, Massey M, et al. The role of inflammation in CKD[J]. *Cells*, 2023, 12(12): 1581. doi:10.3390/cells12121581.
- [40] Nies JF, Panzer U. IL-17C/IL-17RE: emergence of a unique axis in TH17 biology[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 341. doi:10.3389/fimmu.2020.00341.
- [41] Wang F, Yin JY, Lin YY, et al. IL-17C has a pathogenic role in kidney ischemia/reperfusion injury[J]. *Kidney Int*, 2020, 97(6): 1219-1229.
- [42] Zhang FF, Yin JY, Liu L, et al. IL-17C neutralization protects the kidney against acute injury and chronic injury[J]. *EBioMedicine*, 2023, 92: 104607. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104607.
- [43] Krohn S, Nies JF, Kapffer S, et al. IL-17C/IL-17 receptor E signaling in CD4+T cells promotes TH17 cell-driven glomerular inflammation[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(4): 1210-1222.
- [44] Huang J, Meng S, Hong S, et al. IL-17C is required for lethal inflammation during systemic fungal infection[J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(4): 474-483. doi:10.1038/cmi.2015.56.
- [45] Li XX, Bechara R, Zhao JJ, et al. IL-17 receptor-based signaling and implications for disease[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1594-1602.
- [46] Lavozy C, Matus YS, Orejudo M, et al. Interleukin-17A blockade reduces albuminuria and kidney injury in an accelerated model of diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2019, 95(6): 1418-1432.
- [47] Li LX, Luo R, Yang Y, et al. Tamibarotene inhibit the accumulation of fibrocyte and alleviate renal fibrosis by IL-17A[J]. *Ren Fail*, 2020, 42(1): 1173-1183.
- [48] Gao J, Wu LL, Wang SY, et al. Role of chemokine (C-X-C motif) ligand 10 (CXCL10) in renal diseases[J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 6194864. doi:10.1155/2020/6194864.
- [49] Gao J, Wu LL, Zhao YH, et al. Cxcl10 deficiency attenuates renal interstitial fibrosis through regulating epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Exp Cell Res*, 2022, 410(2): 112965.

- [50] Tinel C, Vermorel A, Picciotto D, et al. Deciphering the prognostic and predictive value of urinary CXCL10 in kidney recipients with BK virus reactivation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 604353. doi:10.3389/fimmu.2020.604353.
- [51] Ho J, Schaub S, Jackson AM, et al. Multicenter validation of a urine CXCL10 assay for noninvasive monitoring of renal transplants [J]. *Transplantation*, 2023, 107(7): 1630-1641.
- [52] Miura Y, Motoshima T, Anami T, et al. Predictive value of CXCL10 for the occurrence of immune-related adverse events in patient with renal cell carcinoma [J]. *Microbiol Immunol*, 2023, 67(7): 345-354.
- [53] Li LF, Dai F, Wang LL, et al. CCL13 and human diseases [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1176639. doi:10.3389/fimmu.2023.1176639.
- [54] Wang Q, Li YQ, Li JM, et al. Delta and Notch-like epidermal growth factor-related receptor suppresses human glioma growth by inhibiting oncogene TOR4A [J]. *J Cancer Res Ther*, 2022, 18(5): 1372-1379.
- [55] Hughes CE, Nibbs RJB. A guide to chemokines and their receptors [J]. *FEBS J*, 2018, 285(16): 2944-2971.
- [56] Zhang SG, Breidenbach JD, Khalaf FK, et al. Renal fibrosis is significantly attenuated following targeted disruption of Cd40 in experimental renal ischemia [J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(7): e014072. doi:10.1161/JAHA.119.014072.
- [57] Zhang SG, Breidenbach JD, Russell BH, et al. CD40/CD40L signaling as a promising therapeutic target for the treatment of renal disease [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(11): 3653. doi:10.3390/jcm9113653.
- [58] Perper SJ, Westmoreland SV, Karman J, et al. Treatment with a CD40 antagonist antibody reverses severe proteinuria and loss of saliva production and restores glomerular morphology in murine systemic lupus erythematosus [J]. *J Immunol*, 2019, 203(1): 58-75.
- [59] Tapia-Llanos R, Muñoz-Valle JF, Román-Fernández IV, et al. Association of soluble CD40 levels with -1 C>T CD40 polymorphism and chronic kidney disease in systemic lupus erythematosus [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(12): e1014. doi:10.1002/mgg3.1014.
- [60] Wagner AH, Klersy A, Sultan CS, et al. Potential role of soluble CD40 receptor in chronic inflammatory diseases [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 217: 115858. doi:10.1016/j.bcp.2023.115858.
- [61] Sun L, Gang XK, Li Z, et al. Advances in understanding the roles of CD244 (SLAMF4) in immune regulation and associated diseases [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 648182. doi:10.3389/fimmu.2021.648182.
- [62] Lou XY, Yang Z, Wu KX, et al. Elevated serum osteoprotegerin is associated with reduced risks of albuminuria and CKD progression in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2022, 15: 3831-3841. doi:10.2147/DMSO.S390483.
- [63] Aguilar A, Gifre L, Ureña-Torres P, et al. Pathophysiology of bone disease in chronic kidney disease: from basics to renal osteodystrophy and osteoporosis [J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1177829. doi:10.3389/fphys.2023.1177829.

(编辑:相峰)