

综述

慢性肾脏病肾小管损伤诊断标志物的研究进展

何望¹, 周恩超^{2*}, 葛宏伟¹, 张凯钰¹¹南京中医药大学附属医院, 南京 210029; ²江苏省中医院, 南京 210029

摘要: 肾小管萎缩和肾小管间质纤维化是慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)常见的病理表现, 肾小管损伤的生物标志物通常可反映肾小管间质中直接组织损伤和修复的过程, 其严重程度一直被证明是预测疾病进展的可靠指征。目前大部分研究常利用肾小球滤过率和尿白蛋白/肌酐比作为评估CKD的主要指标, 而肾小管损伤诊断标志物在慢性肾脏病中的研究较少。因此, 本文就肾小管损伤诊断标志物在CKD中的研究进展作一综述, 以期最大限度地诊断、治疗和预防CKD, 对肾脏健康进行更加全面的评估。

关键词: 慢性肾脏病; 肾小管损伤; 生物标志物

Research progress on diagnostic biomarkers for renal tubular injury in chronic kidney disease

HE Wang¹, ZHOU Enchao^{2*}, GE Hongwei¹, ZHANG Kaiyu¹¹Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;²Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: Renal tubular atrophy and tubulointerstitial fibrosis are common pathologic manifestations of chronic kidney disease (CKD). Biomarkers of renal tubular injury usually reflect the process of direct tissue injury and repair in the renal tubular interstitium, and their severity has been shown to be a reliable indication for predicting disease progression. Most studies use glomerular filtration rate and urine albumin/creatinine ratio as the main indicators for assessing CKD. However, diagnostic markers of renal tubular injury have not been studied clearly in chronic kidney disease. Therefore, this paper provides the research progress of renal tubular injury diagnostic markers in CKD, with the aim of maximizing the diagnosis, treatment and prevention of CKD and providing more comprehensive assessment of kidney health.

Key Words: chronic kidney disease; renal tubular injury; biomarkers

由于慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的发病率和患病率在全球持续性增加, 慢性肾脏病的患者也随之与日俱增。研究显示, 与其他欧美等发达国家相比, 我国慢性肾脏病患病率有赶超之势, 高达10.8%^[1]。CKD是一种无声的疾病,

大多数病人直到中晚期才产生症状^[2], 常与其他疾病合并发生, 如高血压、心力衰竭等^[3], 最终发展为永久性和不可逆的肾脏功能丧失。根据CKD的进展程度, 临床治疗包括透析、血液透析和肾移植。这些治疗需要医疗机构投入大量资金, 给国

收稿日期: 2023-06-13

基金项目: 南京市科技局医疗卫生国际联合研发项目(202002051); 南京中医药大学中医学优势学科三期项目(ZYX03KF076)

第一作者: E-mail: 1121284302@qq.com

*通信作者: E-mail: zhouenchao@njucm.edu.cn

家财政支出加重了负担^[4]。

CKD病例的增加是不可避免的,目前肾脏疾病的临床评估很大程度上依赖于肾小球,常用指标为血肌酐,但它作为肾脏损伤的间接标志物仍有许多公认的局限性,包括损伤的延迟检测^[5]。这种单向度的模式限制了肾脏疾病诊断和治疗,因此需要提高CKD早期发现的预测准确性,探索较新的、具有较高准确性的诊断的生物标志物,其中就包括肾小管损伤的相关标志物。这些标记物是由肾脏直接产生的,或者是肾损伤后小管细胞功能障碍的结果^[6]。随着对肾脏疾病研究的不断深入,越来越多的研究开始探索了解肾小管健康的独特方面,与临床上可用的肾小球指标(如肾小球滤过率和尿白蛋白/肌酐比)相似,这些较新的生物标志物可反映小管损伤和小管功能障碍,与肾脏特异性终点的预后直接相关^[7],也与CKD并发症(如脑血管病、心力衰竭)和死亡率有直接关系。近年来,应用于临床的肾小管损伤标志物层出不穷,这些指标与肾损伤的病理生理学有关,可能有助于早期发现、确定损伤的位置、病因识别和肾脏疾病的预后,较好地反应肾脏的功能^[8]。

1 蛋白类生物标志物

1.1 β 2-微球蛋白(β 2-microglobulin, β 2-MG)

自1968年Berggard和Bearn首次描述了 β 2-微球蛋白(β 2-microglobulin, β 2-MG)这种低相对分子质量蛋白质以来,其物理化学特性就已为人所知。 β 2-MG是一种含有99个氨基酸的蛋白质,最初是从管状蛋白尿患者的尿液中纯化得到的,与感染相关^[9]。在正常情况下, β 2-MG在肾小球被过滤,并被肾近端小管细胞重吸收。早前就有学者提出, β 2-微球蛋白作为透析充分性和预后的可能性^[10]。而近期,Argyropoulos等^[11]研究者探索了 β 2-MG与不同肾脏疾病的关系,提出并讨论了基于血清 β 2-MG浓度估计肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)的可行性。尽管很多研究提出, β 2-MG与脑血管病(cardiovascular disease, CVD)和死亡率之间有关系,但在早前的研究中^[12],纳入了2377名CKD患者,随访中位时间是3.8年,并未得出 β 2-MG与CVD之间的关联,作者提出可能与在酸性条件下 β 2-MG的不稳定性有

关。因此, β 2-MG检测的准确性也是研究过程中需要克服的。但毋庸置疑的是, β 2-MG与临床多种并发症都密切相关,这也是近年来 β 2-MG成为研究热点的原因。

1.2 中性粒细胞明胶酶相关性载脂蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)

NGAL是一种单体蛋白,表达于肾小管上皮细胞^[7],含有179个氨基酸,相对分子质量为25 000,参与疏水小分子的跨膜转运。NGAL由不同的细胞组成,但也在肾、肝和上皮细胞中表达,NGAL表达随着肾小管上皮细胞的损伤而升高^[13]。NGAL被确定为急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)发展中的可靠生物标志物。多项研究也表明,NGAL不但在AKI中表达,在CKD患者中也有一定的临床意义^[14]。在CKD中,NGAL也被认为是一种潜在的生物标志物进展预测器,同时,NGAL也是AKI向CKD转变的潜在生物标志物。有研究提出,在3 386名参与者的队列研究中,尿NGAL水平与CKD的缺血性动脉粥样硬化结局密切相关^[15]。NGAL与肾脏疾病的发生、进展息息相关,现已成为一种新的具有预测价值的生物指标。

1.3 乙酰- β -D-基葡萄糖苷酶(N-acetyl- β -D-glucosaminidase, NAG)

NAG是一种在尿中较为稳定的、主要表达于近端小管上皮细胞的溶酶体酶,由于其质量大,不能通过肾小球膜过滤。此酶在尿中较为稳定,但当近端小管细胞因任何疾病过程而受损时,如慢性肾衰竭、急慢性肾炎、中毒性肾病等,尿NAG水平升高。因此,尿NAG升高可能提示近端小管的损伤^[16],因其表达早于其他尿酶,因此被认为是肾脏损伤的较为敏感的指标之一。有研究显示,在糖尿病中,NAG与CKD相关,可用于预测白蛋白尿,从而预测糖尿病肾病患者肾损害的严重程度,以及预测CKD的结局^[17]。吴智慧等^[18]分别针对糖尿病、高血压、系统性红斑狼疮患者的研究发现,尽管尿蛋白为阴性,但多数患者NAG水平明显增高。这些数据表明,NAG能在尿检未见异常的患者中,提示肾小管病变。

1.4 视黄醇结合蛋白(retinol binding protein, RBP)

RBP是一种低相对分子质量蛋白,大部分

RBP-视黄醇在血浆中循环,与转甲状腺素结合^[19],这是一种阻止其肾小球滤过的复合物。相反,4%~5%的血清RBP-视黄醇自由循环,通过肾小球屏障,然后在近端小管中被重吸收和降解,这一过程由巨蛋白介导^[20]。由于这些特性,尿RBP是近端肾小管功能障碍的既定生物标志物,并被用作近端肾小管疾病的诊断工具。除了典型的近端小管病变外,尿RBP与其他一些情况下CKD进展的风险有关。有研究发现,尿RBP值较高与多种肾小球疾病的疾病、皮质类固醇抵抗和CKD风险相关^[21]。该研究提出,视黄醇结合蛋白的高水平状态与肾小球滤过屏障、低相对分子质量蛋白的产生等因素有关。

视黄醇结合蛋白4(retinol-binding protein 4, RBP4)是一种主要由肝脏和脂肪组织产生的脂肪因子,与普通人群动脉粥样硬化的风险升高有关^[22]。早前有研究提出,高水平的RBP4与2型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)患者的炎症和胰岛素抵抗状态有关^[23],同时也与肥胖、代谢综合征、心血管疾病等有关^[24]。作为首个提出RBP4与CKD患者发生CVD事件有关的研究,Su等^[22]在3年的随访期间,发现血清RBP4水平较高的CKD患者有更多的心血管(cardiovascular, CV)事件和更高的CV死亡率,最终提出RBP4参与CKD患者CV事件发生和发展的观点。因此,RBP4发挥其促炎功能形成动脉粥样硬化可能是CKD患者发生CV事件的重要原因。同时,Teon等^[25]的研究结果表明,尿RBP4水平与肾移植受者(kidney transplant recipients, KTRs)的肾功能显著相关,也有可能作为KTRs肾功能快速下降的预测性生物标志物。

1.5 肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)

KIM-1是一种I型膜蛋白,最早在1998年Ichimura等^[26]的研究中被发现。它在肾脏和肝脏中表达。肾损伤后,近端小管上皮可再生,但小管上皮细胞恢复的机制尚不清楚。van Timmeren等^[27]研究发现,KIM-1表达于中毒性或缺血性损伤后再生的近端小管上皮细胞,提示KIM-1可能在小管上皮细胞再生过程中发挥作用。

KIM-1的表达与肾纤维化和炎症有关,KIM-1在各种人类原发性和继发性肾脏疾病以及同种异体移植肾病中被证明是上调的^[28]。有学者提出,

近端小管上皮中KIM-1的表达与肾脏病理的严重程度密切相关,是肾小管上皮损伤的理想标志物^[29]。

CKD是大多数肾病的自然结果,其病因复杂多样,而慢性缺氧可导致硬化性肾小球改变和小管间质纤维化。缺氧是近端小管细胞中KIM-1表达增加的有力刺激,这反过来又可能导致慢性间质炎症的诱导^[30]。膜结合的和游离的KIM-1被认为参与了受损近端小管细胞和巨噬细胞之间的信号相互作用,是与上皮和基质细胞相关的自分泌-旁分泌因子^[31]。此外,据推测,在CKD中受损近端小管细胞获得间充质表型并释放促纤维化因子,在这些疾病的发展中起重要作用,缺氧条件下升高的KIM-1表达促进CKD的进展,形成一个正反馈循环,并以间质纤维化完结^[32]。因此,功能性的KIM-1效应可能是急性和慢性肾脏疾病发病机制中的一个联系机制。

局灶性肾小球硬化、IgA肾病、慢性同种异体肾病、狼疮性肾炎等多种肾脏疾病均有KIM-1表达的升高。先前的一项研究表明,IgA肾病患者尿中KIM-1排泄量显著高于对照组^[33]。因此作者提出,尿中KIM-1在IgA肾病患者中具有预测意义。既往研究表明,系统性红斑狼疮患者尿中KIM-1水平与小管KIM-1表达显著相关^[34]。研究人员还发现,与非活动性狼疮性肾炎患者相比,活动性狼疮性肾炎患者尿中KIM-1水平升高。Yutaro等^[35]发现,糖尿病KIM-1D黏蛋白小鼠肾小球继发性病变的缺失进一步支持KIM-1损伤、间质炎症、纤维化和肾小球硬化。该研究还发现,患有糖尿病的小鼠中肾小管上皮KIM-1的表达显著升高,KIM-1的水平与肾纤维化和炎症程度呈正相关。Shalabi等^[36]发现,尿中性粒细胞明胶相关脂钙蛋白和KIM-1与肾细胞癌患者的组织病理特征有潜在的关联。这些发现提示,尿液中的KIM-1水平可作为肾细胞癌患者的早期检测指标。同时,uKIM-1水平与脉粥样硬化也有关联,Wybraniec等^[37]对95例冠状动脉造影后患者进行了为期12个月的随访,证实uKIM-1水平升高是这些患者远期梗死或卒中的独立预测指标。

1.6 单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)

MCP-1是趋化因子家族的一员,作为最早发现

的趋化因子之一，其在过去几十年里得到了广泛的研究。趋化因子因其功能不同分为体内平衡趋化因子和促炎趋化因子，在多种疾病的发病机制中起关键作用^[9]。

在肾脏中，产生MCP-1的细胞有包括肾小管细胞在内的多种类型。MCP-1在转录水平上的表达也受多种刺激的影响。MCP-1表达的主要诱导剂是白细胞介素-1、肿瘤坏死因子- α 等，但其他细胞因子也能诱导MCP-1表达^[38]。

在过去的30年里，肾脏活检中MCP-1的表达和尿液中MCP-1的排泄在大多数炎症性肾脏疾病中都有所增加。一项针对IgA肾病患者的研究显示，MCP-1与肾脏病变严重程度之间存在关联，提示MCP-1可作为该病的生物标志物^[39]。另外，在急性移植排斥反应患者中，MCP-1的表达明显高于单纯肾小管损伤患者。MCP-1主要定位于移植肾近端肾小管细胞和浸润的单核细胞^[40]。急性排斥反应患者的尿MCP-1排泄量也明显高于移植肾功能稳定的患者。

在系统性红斑狼疮中，有研究指出，在狼疮性肾炎动物模型中，MCP-1的表达随巨噬细胞浸润和疾病的进展而显著升高，而几种抑制MCP-1活性或MCP-1表达的治疗策略表明，炎症和疾病进展的迹象都明显减少^[41]，这证明MCP-1和MCP-1/趋化因子配体2(C-C motif 2, CCR2)相关治疗策略在狼疮性肾炎中的重要性。同样，在多项实验研究中，通过阻断MCP-1受体CCR2可改善糖尿病肾损伤和血糖控制，这些数据提供了一种新的治疗策略，即阻断MCP-1/CCR2轴可能是治疗糖尿病肾损伤患者的一个有意义的新治疗靶点^[42]。

1.7 L型或肝型脂肪酸结合蛋白(liver type fatty acid binding protein, L-FABP)

L-FABP是一个结合长链脂肪酸和其他疏水配体的蛋白质家族。L-FABP是肝脏中丰富的胞质蛋白，与脂肪酸的细胞内运输、核信号传导和细胞内脂解的调节有关^[43]。循环中的L-FABP被认为在肾小球被过滤，并被近端肾小管细胞重吸收^[8]。先前对肾移植受者的研究表明，尿中LFABP浓度的增加与肾小管周围毛细血管血流量的减少平行^[44]。有研究表明，CKD患者尿L-FABP增加、eGFR降低与肾脏、心血管疾病进展到终末期的风

险增加相关^[45]。

1.8 尿调节素(uromodulin, UMOD)

尿调节素是一种大小为85 kDa的糖蛋白，由髓祥升支粗段细胞产生。它是生理尿中最丰富的蛋白质，含有大量半胱氨酸残基，有聚集的趋势，是透明管型的主要成分^[46]，已有实验表明，UMOD可作为肾小管间质生物标志物^[47]。UMOD广泛存在于尿液中，尽管其生理功能现尚未完全阐明，但它与盐稳态的调节和免疫肾脏保护有关，具有抗菌作用^[48]。高UMOD排泄导致机体血清水平较低，可激活机体免疫功能，或者大量进入组织间质后，特别是受损伤的肾小管，与嗜中性白细胞结合而促进IL-8的合成，可诱导单核细胞分泌IL-1 β 、TNF- α ，增加淋巴细胞表面IL-2受体与HLA II类分子的表达等，从而导致炎症反应，引起慢性肾病的恶化，影响CKD患者的预后^[49]。

2 新型的代谢组学及蛋白质组学生物标志物

2.1 三甲胺N-氧化物(trimethylamine N-oxide, TMAO)

TMAO是一种有机小分子(C₃H₉NO, 75.11 g/mol)，属于氨基氧化物官能团，由胆碱类营养物质经肠道菌群分解为代谢产物三甲胺(trimethylamine, TMA)，并由肝黄素单加氧酶3(flavin-containing monooxygenase 3, FMO3)进一步氧化而成^[50]。对CKD患者与健康人群的一项前瞻性队列研究发现，提高循环中的TMAO水平将使死亡率增加2.8倍。该研究还发现，在尚未诊断为CKD的人群中，TMAO水平与胱抑素C的水平正相关，说明TMAO的蓄积可能发生在肾功能明显减退之前，而在此研究动物模型中则表现为肾小管间质的纤维化和功能障碍^[51]。TMAO可以作为CKD 3~5期患者死亡率的独立预测因素^[52]。笔者团队前期动物实验显示，TMAO可以促进肾病大鼠肾脏细胞尤其是肾小管上皮细胞的凋亡，诱导线粒体数量减少和结构损伤。在临床实验中，课题组分析了治疗前CKD不同分期下TMAO水平的差异，结果显示，CKD4期患者较CKD3期患者血尿TMAO水平均显著升高，分析血尿TMAO水平与肾功能间的关系，显示血尿TMAO水平均与SCR呈正相关而与eGFR呈负相关。因此，进一步证实了血

清TMAO水平和肾脏功能恶化间的联系^[53]。

2.2 CKD273

CKD273是由273个肽片段组成的多维尿生物标志物^[54],包括不同的胶原蛋白片段、肾特异性蛋白、血液衍生蛋白片段等,其中主要是1型和3型胶原蛋白片段,但对应于源蛋白的肽如白蛋白、尿调节素和A1AT也在其中,因此可以同时反映多种疾病的致病途径^[55]。研究表明,CKD273中各种胶原蛋白片段的修饰可能表明细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的变化,这是CKD早期肾脏损害的标志,且在肾组织纤维化期间,肾间质中瘢痕组织的形成是ECM过度增生的结果^[56]。在患有晚期CKD的患者中,CKD273预示着肾功能的进一步恶化。CKD273作为一种新型的尿蛋白质组学分类模型,可以用于CKD的早期诊断与进展评估,并且较UACR和eGFR具有更高的特异度和敏感度,甚至能预测CKD患者心血管风险、药物作用,监测慢性抗体介导排斥反应^[57]。

2.3 硫酸吲哚酚(indoxyl sulfate, IS)和硫酸对甲酚(p-cresyl sulfate, p-CS)

硫酸吲哚酚及对甲苯基硫酸酯是含硫有机分子的基本形式。IS和p-CS是蛋白质结合的尿毒症毒素,分别为络氨酸和色氨酸在肠道细菌作用下的代谢产物,存在于尿液和血浆中,通常由肾脏近端小管分泌物清除^[58]。当人体肾功能出现障碍时,p-CS和IS不能被有效排出体外,从而导致在体内蓄积。IS和p-CS具有肾脏毒性和心血管毒性,促进肾间质细胞向成纤维细胞转化,引起肾脏的纤维化^[59]。在动物实验中,以腺嘌呤给药和马兜铃酸引起肾毒性的大鼠模型中,IS和p-CS均显著增加。这些结果增加了IS和p-CS与肾损伤和肾小管间质损伤的严重程度相关的证据^[60]。因此,p-CS被认为是轻度至中度CKD进展的生物标志物^[61]。

3 总结与展望

CKD患者肾功能受损不仅与肾小球有关,肾活检显示肾小管萎缩和肾小管间质纤维化是几乎所有CKD的常见病理表现^[62]。较新的肾小管损伤指标反映了肾小管的再吸收能力,衡量了肾小管蛋白合成及感染防御能力。这些肾小管生物标志物与肾脏特异性终点的预后直接相关,也与

CKD并发症如CVD、心力衰竭和死亡率有直接关系^[63]。

随着医学的发展和检测技术的进步,对肾脏健康进行更广泛的评估超越了对肾小球的关注。越来越多的研究开始探索肾小管损伤指标在肾脏疾病中的独特作用。作为一种无创性评估,肾小管损伤诊断标志物可以在早期发现肾病问题,为临床诊治CKD提供了一种新的思路。

参考文献

- [1] Zhang L, Wang F, Wang L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey. *Lancet*, 2012, 379(9818): 815-822
- [2] Go AS, Chertow GM, Fan D, et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*, 2004, 351(13): 1296-1305
- [3] Weiner DE, Tighiouart H, Amin MG, et al. Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(5): 1307-1315
- [4] Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*, 2013, 382(9888): 260-272
- [5] Nickolas TL, Barasch J, Devarajan P. Biomarkers in acute and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2008, 17(2): 127-132
- [6] Zürbig P, Dihazi H, Metzger J, et al. Urine proteomics in kidney and urogenital diseases: moving towards clinical applications. *Proteomics Clin Appl*, 2011, 5(5-6): 256-268
- [7] Ribitsch W, Schilcher G, Quehenberger F, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) fails as an early predictor of contrast induced nephropathy in chronic kidney disease (ANTI-CI-AKI study). *Sci Rep*, 2017, 7(1): 41300
- [8] Zhang WR, Parikh CR. Biomarkers of acute and chronic kidney disease. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81(1): 309-333
- [9] Saucedo AL, Perales-Quintana MM, Paniagua-Vega D, et al. Chronic kidney disease and the search for new biomarkers for early diagnosis. *Curr Med Chem*, 2018, 25(31): 3719-3747
- [10] Roumelioti ME, Trietley G, Nolin TD, et al. Beta-2 microglobulin clearance in high-flux dialysis and convective dialysis modalities: a meta-analysis of published studies. *Nephrol Dial Transplant*, 2018, 33(6): 1025-1039
- [11] Argyropoulos CP, Chen SS, Ng YH, et al. Rediscovering Beta-2 microglobulin as a biomarker across the spectrum of kidney diseases. *Front Med*, 2017, 4: 73

- [12] Garimella PS, Lee AK, Ambrosius WT, et al. Markers of kidney tubule function and risk of cardiovascular disease events and mortality in the SPRINT trial. *Eur Heart J*, 2019, 40(42): 3486-3493
- [13] Marakala V. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in kidney injury—a systematic review. *Clinica Chim Acta*, 2022, 536: 135-141
- [14] Karoli R, Gupta N, Karoli Y, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of renal tubular injury in metabolic syndrome patients with hyperuricemia. *J Assoc Physicians India*, 2022, 69(12): 11-12
- [15] Liu KD, Yang W, Go AS, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and risk of cardiovascular disease and death in CKD: results from the chronic renal insufficiency cohort (CRIC) study. *Am J Kidney Dis*, 2015, 65(2): 267-274
- [16] Novak R, Salai G, Hrkac S, et al. Revisiting the role of NAG across the continuum of kidney disease. *Bioengineering*, 2023, 10(4): 444
- [17] Lobato GR, Lobato MR, Thomé FS, et al. Performance of urinary kidney injury molecule-1, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase to predict chronic kidney disease progression and adverse outcomes. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 50(5): e6106
- [18] 吴智慧, 唐小铁, 王艳娥, 等. NAG酶、 γ -谷氨酰转移酶联合尿微量蛋白检测对早期肾损伤的诊断价值. *海南医学院学报*, 2014, 20(5): 627-629
- [19] Gaetani S, Bellovino D, Apreda M, et al. Hepatic synthesis, maturation and complex formation between retinol-binding protein and transthyretin. *Clin Chem Lab Med*, 2002, 40(12): 1211-1220
- [20] Christensen EI, Moskaug JØ, Vorum H, et al. Evidence for an essential role of megalin in transepithelial transport of retinol. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10(4): 685-695
- [21] Mastroianni Kirsztajn G, Nishida SK, Silva MS, et al. Urinary retinol-binding protein as a prognostic marker in glomerulopathies. *Nephron*, 2002, 90(4): 424-431
- [22] Su Y, Huang Y, Jiang Y, et al. The association between serum retinol-binding protein 4 levels and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease. *Lab Med*, 2020, 51(5): 491-497
- [23] Yang Q, Graham TE, Mody N, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*, 2005, 436(7049): 356-362
- [24] von Eynatten M, Lepper PM, Liu D, et al. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease. *Diabetologia*, 2007, 50(9): 1930-1937
- [25] Jeon HJ, Shin DH, Oh J, et al. Urinary retinol-binding protein 4 is associated with renal function and rapid renal function decline in kidney transplant recipients. *Transplant Proc*, 2022, 54(2): 362-366
- [26] Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem*, 1998, 273(7): 4135-4142
- [27] van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, et al. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *J Pathol*, 2007, 212(2): 209-217
- [28] Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, et al. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. *Kidney Int*, 2008, 73(5): 608-614
- [29] Karmakova TA, Sergeeva NS, Kanukoev KY, et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): a multifunctional glycoprotein and biological marker (review). *Sovrem Tehnol Med*, 2021, 13(3): 64-78
- [30] van Timmeren MM, Vaidya VS, van Ree RM, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients. *Transplantation*, 2007, 84(12): 1625-1630
- [31] Yang L, Brooks CR, Xiao S, et al. KIM-1-mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney. *J Clin Invest*, 2015, 125(4): 1620-1636
- [32] Humphreys BD, Xu F, Sabbiseti V, et al. Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *J Clin Invest*, 2013, 123(9): 4023-4035
- [33] Peters HPE, Waanders F, Meijer E, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(11): 3581-3588
- [34] Nozaki Y, Kinoshita K, Yano T, et al. Estimation of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in patients with lupus nephritis. *Lupus*, 2014, 23(8): 769-777
- [35] Mori Y, Ajay AK, Chang JH, et al. KIM-1 mediates fatty acid uptake by renal tubular cells to promote progressive diabetic kidney disease. *Cell Metab*, 2021, 33(5): 1042-1061
- [36] Shalabi A, Abassi Z, Awad H, et al. Urinary NGAL and KIM-1: potential association with histopathologic features in patients with renal cell carcinoma. *World J Urol*, 2013, 31(6): 1541-1545
- [37] Wybraniec MT, Chudek J, Mizia-Stec K. Association between elevated urinary levels of kidney injury molecule type 1 and adverse cardiovascular events at 12 months in patients with coronary artery disease. *Pol Arch Intern Med*, 2018, 128(5): 301-309

- [38] Yadav A, Saini V, Arora S. MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. *Clinica Chim Acta*, 2010, 411(21-22): 1570-1579
- [39] Stangou M, Alexopoulos E, Papagianni A, et al. Urinary levels of epidermal growth factor, interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 may act as predictor markers of renal function outcome in immunoglobulin A nephropathy. *Nephrology*, 2009, 14(6): 613-620
- [40] Raza A, Firasat S, Khaliq S, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) levels and its association with renal allograft rejection. *Immunol Invests*, 2017, 46(3): 251-262
- [41] Hasegawa H, Kohno M, Sasaki M, et al. Antagonist of monocyte chemoattractant protein 1 ameliorates the initiation and progression of lupus nephritis and renal vasculitis in MRL/LPR mice. *Arthritis Rheumatism*, 2003, 48(9): 2555-2566
- [42] Giunti S, Barutta F, Cavallo Perin P, et al. Targeting the MCP-1/CCR2 system in diabetic kidney disease. *CVP*, 2010, 8(6): 849-860
- [43] Fufaa GD, Weil EJ, Nelson RG, et al. Association of urinary KIM-1, L-FABP, NAG and NGAL with incident end-stage renal disease and mortality in American Indians with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2015, 58(1): 188-198
- [44] Ozcan F, Akbas H, Kirac E, et al. Mass spectrometric quantification of urinary human liver fatty acid binding protein in renal transplant recipients. *Rapid Comm Mass Spectrometry*, 2016, 30(5): 603-610
- [45] Xu Y, Xie Y, Shao X, et al. L-FABP: a novel biomarker of kidney disease. *Clinica Chim Acta*, 2015, 445: 85-90
- [46] Schaeffer C, Devuyst O, Rampoldi L. Uromodulin: roles in health and disease. *Annu Rev Physiol*, 2021, 83: 477-501
- [47] Steubl D, Block M, Herbst V, et al. Plasma uromodulin correlates with kidney function and identifies early stages in chronic kidney disease patients. *Medicine*, 2016, 95(10): e3011
- [48] Bailie C, Kilner J, Maxwell AP, et al. Development of next generation sequencing panel for UMOD and association with kidney disease. *PLoS One*, 2017, 12(6): e178321
- [49] Devuyst O, Olinger E, Rampoldi L. Uromodulin: from physiology to rare and complex kidney disorders. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(9): 525-544
- [50] Subramaniam S, Fletcher C. Trimethylamine N-oxide: breathe new life. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(8): 1344-1353
- [51] Zhu W, Gregory JC, Org E, et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell*, 2016, 165(1): 111-124
- [52] Zhu W, Wang Z, Tang WHW, et al. Gut microbe-generated trimethylamine N-oxide from dietary choline is prothrombotic in subjects. *Circulation*, 2017, 135(17): 1671-1673
- [53] Yong C, Huang G, Ge H, et al. *Perilla frutescens* L. alleviates trimethylamine N-oxide -induced apoptosis in the renal tubule by regulating ASK1-JNKphosphorylation. *Phytother Res*, 2023, 37(4): 1274-1292
- [54] Nkuipou-Kenfack E, Zürgbig P, Mischak H. The long path towards implementation of clinical proteomics: exemplified based on CKD273. *Proteomics Clin Appl*, 2017. doi: 10.1002/prca.201600104
- [55] 徐耀, 徐艳, 刘昌华. 基于尿蛋白组学的CKD273在慢性肾脏病中的应用进展. *中国医学创新*, 2020, 17(22): 165-169
- [56] Genovese F, Manresa AA, Leeming DJ, et al. The extracellular matrix in the kidney: a source of novel non-invasive biomarkers of kidney fibrosis? *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2014, 7(1): 4
- [57] Schanstra JP, Zürgbig P, Alkhalaf A, et al. Diagnosis and prediction of CKD progression by assessment of urinary peptides. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(8): 1999-2010
- [58] Wu W, Bush KT, Nigam SK. Key role for the organic anion transporters, OAT1 and OAT3, in the *in vivo* handling of uremic toxins and solutes. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4939
- [59] 肖永华, 革丽亚, 朱庆, 等. 超高效液相色谱-串联质谱技术分析人体血浆中硫酸吡嗪酚及硫酸对甲酚含量. *分析科学学报*, 2019, 35(2): 243-246
- [60] Zhao YY, Tang DD, Chen H, et al. Urinary metabolomics and biomarkers of aristolochic acid nephrotoxicity by UPLC-QTOF/HDMS. *Bioanalysis*, 2015, 7(6): 685-700
- [61] Meijers BKI, Claes K, Bammens B, et al. p-Cresol and cardiovascular risk in mild-to-moderate kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(7): 1182-1189
- [62] Rule AD. The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults. *Ann Intern Med*, 2010, 152(9): 561-567
- [63] Ix JH, Shlipak MG. The promise of tubule biomarkers in kidney disease: a review. *Am J Kidney Dis*, 2021, 78(5): 719-727