

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2306105

论著·临床研究

重组人生长激素治疗对特发性矮小症儿童血清 Klotho和成纤维细胞生长因子23的影响

董涵涵 李蒙蒙 孙萌 周冉 张新颖 程亚颖

(河北省人民医院儿科, 河北石家庄 050051)

[摘要] **目的** 比较重组人生长激素 (recombinant human growth hormone, rhGH) 治疗前后特发性矮小症 (idiopathic short stature, ISS) 患儿血清 Klotho、成纤维细胞生长因子 23 (fibroblast growth factor, FGF23) 和胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) -1 水平变化, 探讨 Klotho 和 FGF23 与 ISS 患儿生长激素 (growth hormone, GH) /IGF-1 生长轴的关系。**方法** 前瞻性选择 2021 年 3 月 10 日—2022 年 12 月 1 日在河北省人民医院儿科确诊为 ISS 的 33 例儿童为 ISS 组, 选择同期于儿童保健科就诊, 年龄、性别与 ISS 组匹配的 29 例健康儿童为健康对照组。ISS 组给予 rhGH 治疗, 比较治疗前及治疗 3、6、9 个月血清 Klotho、FGF23、IGF-1 水平, 并进行相关性分析。**结果** ISS 组与健康对照组的血清 IGF-1、Klotho、FGF23 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。rhGH 治疗 3、6、9 个月的 ISS 组血清 Klotho、FGF23、IGF-1 水平均较治疗前显著升高 (均 $P<0.05$)。ISS 组治疗前 Klotho、FGF23 与磷酸盐水平均呈正相关 ($P<0.05$); 治疗前及治疗 3、6、9 个月的 Klotho 与 IGF-1 水平均呈正相关 ($P<0.05$), FGF23 与 IGF-1 水平均呈正相关 ($P<0.05$), Klotho 与 FGF23 水平均呈正相关 ($P<0.05$), Klotho、FGF23 水平与身高标准差积分无相关性 ($P>0.05$)。**结论** rhGH 治疗可上调 Klotho、FGF23 及 IGF-1 水平, 实现 ISS 患儿的追赶生长。Klotho、FGF23 可能并非直接促进 ISS 患儿线性生长, 而是可能通过 IGF-1 及磷酸盐代谢等途径产生间接影响。Klotho、FGF23 与 IGF-1 的一致变化表明三者存在协同关系。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (11): 1143-1149]

[关键词] 特发性矮小症; Klotho; 成纤维细胞生长因子 23; 胰岛素样生长因子-1; 体格发育; 儿童

Effect of recombinant human growth hormone on serum Klotho and fibroblast growth factor 23 in children with idiopathic short stature

DONG Han-Han, LI Meng-Meng, SUN Meng, ZHOU Ran, ZHANG Xin-Ying, CHENG Ya-Ying. Department of Pediatrics, Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China (Cheng Y-Y, Email: doctorcy@126.com)

Abstract: Objective To investigate the changes in the serum levels of Klotho, fibroblast growth factor 23 (FGF23), and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in children with idiopathic short stature (ISS) before and after recombinant human growth hormone (rhGH) treatment, as well as the correlation of Klotho and FGF23 with the growth hormone (GH)/IGF-1 growth axis in these children. **Methods** A prospective study was conducted on 33 children who were diagnosed with ISS in the Department of Pediatrics, Hebei Provincial People's Hospital, from March 10, 2021 to December 1, 2022 (ISS group). Twenty-nine healthy children, matched for age and sex, who attended the Department of Child Healthcare during the same period, were enrolled as the healthy control group. The children in the ISS group were treated with rhGH, and the serum levels of Klotho, FGF23, and IGF-1 were measured before treatment and after 3, 6, and 9 months of treatment. A correlation analysis was conducted on these indexes. **Results** There were no significant differences in the serum levels of IGF-1, Klotho, and FGF23 between the ISS and healthy control groups ($P>0.05$). The serum levels of Klotho, FGF23, and IGF-1 increased significantly in the ISS group after 3, 6, and 9 months of rhGH

[收稿日期] 2023-06-20; [接受日期] 2023-09-22

[基金项目] 河北省科技厅重点研发计划项目卫生健康创新专项 (21377783D); 河北省 2023 年政府资助临床医学优秀人才培养项目 (ZF2023201)。

[作者简介] 董涵涵, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 程亚颖, 女, 主任医师, 教授。Email: doctorcy@126.com。

treatment ($P<0.05$). In the ISS group, Klotho and FGF23 levels were positively correlated with the phosphate level before treatment ($P<0.05$). Before treatment and after 3, 6, and 9 months of rhGH treatment, the Klotho level was positively correlated with the IGF-1 level ($P<0.05$), the FGF23 level was positively correlated with the IGF-1 level ($P<0.05$), and the Klotho level was positively correlated with the FGF23 level ($P<0.05$), while Klotho and FGF23 levels were not correlated with the height standard deviation of point ($P>0.05$). **Conclusions** The rhGH treatment can upregulate the levels of Klotho, FGF23, and IGF-1 and realize the catch-up growth in children with ISS. Klotho and FGF23 may not directly promote the linear growth of children with ISS, but may have indirect effects through the pathways such as IGF-1 and phosphate metabolism. The consistent changes in Klotho, FGF23 and IGF-1 levels show that there is a synergistic relationship among them in regulating the linear growth of ISS children.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(11): 1143-1149]

Key words: Idiopathic short stature; Klotho; Fibroblast growth factor 23; Insulin-like growth factor-1; Physical development; Child

特发性矮小症 (idiopathic short stature, ISS) 是矮身材儿童最常见的病因, 研究表明ISS可能存在生长激素 (growth hormone, GH) -胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) -1轴损害^[1]。成纤维细胞生长因子23 (fibroblast growth factor, FGF23) 是一种通过调节钙磷稳态进而促进骨形成的激素, 主要由骨细胞和成骨细胞分泌, 调节磷酸盐重吸收和1,25-二羟维生素D₃ [1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25-(OH)₂D₃] 的合成^[2]。Klotho是一种在肾脏、脉络丛和垂体前叶中高度表达的跨膜蛋白, 在FGF23对磷酸盐转运和骨化三醇产生中具有重要影响。研究发现敲除FGF23基因和敲除Klotho基因的小鼠均表现出矿物质代谢异常, 以及与衰老相关的特征, 包括寿命缩短、生长迟缓、性腺功能减退、认知障碍、骨质减少及骨骼肌萎缩等^[3]。研究表明, Klotho和FGF23与GH-IGF轴密切相关^[4]。Efthymiadou等^[5]关于生长激素缺乏症 (growth hormone deficiency, GHD) 研究显示, Klotho、FGF23及IGF-1与血清磷酸盐均呈正相关, 且FGF23与Klotho、IGF-1均呈正相关。Guarnotta等^[6]研究显示, 给予GHD患儿重组人生长激素 (recombinant human growth hormone, rhGH) 治疗12个月后, Klotho、IGF-1均较前明显增高, Klotho可与IGF-1、GH联合作为GHD的标志物。但国内外ISS患儿血清Klotho、FGF23水平改变及其与线性生长的关系鲜有报道。本研究检测rhGH治疗前后ISS患儿Klotho、FGF23水平变化, 以及其与身高标准差积分 (height standard deviation of point, HtSDS)、磷酸盐等的相关性, 旨在初步探讨ISS患儿血清Klotho、FGF23与GH-IGF-1轴之间的关系, 为ISS患儿的发病机制提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

前瞻性选取2021年3月10日—2022年12月1日于河北省人民医院儿科初次就诊并完善相关检查后确诊为ISS患儿33例为研究对象, 其中男18例, 女15例, 年龄4.0~13.1岁, 平均7.6岁。纳入标准: (1) 身高低于同性别、同年龄、同种族的健康儿童2个标准差或处于第3百分位数以下; (2) 出生时身长及体重均在正常范围内; (3) 两种作用机制不同的药物GH激发试验 (胰岛素+左旋多巴) 提示GH峰值 $\geq 10 \mu\text{g/L}$; (4) 伴或不伴骨龄延迟。ISS诊断依据《基因重组人生长激素儿科临床规范应用的建议》^[7]中相关诊断标准。

收集同期在我院儿童保健科健康体检的健康儿童29例作为健康对照组, 其中男14例, 女15例, 年龄5.1~13.8岁, 平均9.8岁。纳入标准: (1) 年龄4~<14岁; (2) 身高处于同年龄、性别儿童正常范围内; (3) 近3个月内未使用任何激素类或促身高药物; (4) 无慢性肝肾病史、骨代谢疾病及近期骨折病史。

两组共同排除标准: (1) 临床资料不完整; (2) 治疗期间失访; (3) 存在染色体异常; (4) 患有其他基础性疾病, 如内分泌系统疾病、骨骼系统疾病、肾脏系统疾病、心血管系统疾病、遗传代谢性疾病、心身障碍性疾病、营养不良等。

本研究已获得儿童家长的同意并签署知情同意书, 并且已通过我院医学伦理会审核批准, 审批号为(2021)科研伦审第(24)号。

1.2 体格测量和性发育状态评估

身高测量: 由同一人在同一时间段 (上午8:00

—10:00)在同一台仪器上对所有入组儿童进行身高测量。免冠,脱掉鞋子,嘱患儿背向量尺,双脚跟并拢,脚尖分开大约呈45°角站立,双眼平视前方,枕部、背部、臀部及脚跟紧贴测量杆,测量者将测量仪器的水平板移到儿童的头顶,适当地收紧,连续测量2次,取平均值,以cm为单位。

体重测量:由同一人在同一时间段(上午8:00—10:00)在同一台仪器上对所有入组儿童进行体重测量。儿童穿单衣脱掉鞋子立于体重称中间,待指针稳定后方可读数,连续测量2次取平均值,以kg为单位。

性发育状态:采用Tanner分期系统,根据乳房、外阴的发育及月经来潮等情况来评估女童,根据睾丸大小、阴茎、有无变声、喉结等来评估男童^[8]。

1.3 血清FGF23、Klotho、IGF-1测定及标准

所有受试者于清晨空腹状态下采血,并留取血清冷冻于-80℃冰箱保存。血清FGF23及Klotho水平均采用ELISA原理测定。本实验使用的人FGF23 ELISA试剂盒由武汉华美生物工程有限公司生产提供,灵敏度为0.78 pg/mL,精密度为批内变异系数(coefficient of variation, CV) <8%,批间CV <10%。人Klotho ELISA试剂盒由北京四正柏生物科技有限公司生产提供,灵敏度为40.00 pg/mL,精密度为批内、批间CV均<10%。

血清IGF-1通过化学发光免疫分析法检测,使用的试剂盒及全自动化学发光测定仪来自于深圳市新产业生物医学工程股份有限公司,灵敏度为2.50 ng/mL,精密度为批内CV≤10%,批间CV≤15%,由我院核医学科专业人员协助完成。IGF-1参考范围:1~5岁为45~305 ng/mL;6~10岁为50~410 ng/mL;11~15岁为80~900 ng/mL。

1.4 资料收集

收集两组儿童的资料。(1)一般资料:年龄、性别、年生长速率、身高、体重、体重指数(body mass index, BMI)、骨龄、性发育状态、出生史(胎次、胎龄、出生体重、出生身长等)、喂养史、家族史(父母身高及性发育情况)、既往病史等,并计算HtSDS、体重标准差积分(weight standard deviation of point, WtSDS)、体重指数标准差积分(BMI-SDS)。为校正性别、年龄、地区间的差异,对身高、体重及BMI加以标准化,更加快速准确地判断该组儿童在所在参照人群中所处

的位置。 $SDS = (\text{实际测量值} - \text{同种族同年龄同性别人群平均值}) / \text{同种族同年龄同性别人群标准差}$ ^[9-10]。(2)辅助检查:血清磷酸盐、血清钙、25-羟维生素D、FGF23、Klotho、IGF-1等。

1.5 治疗方法

ISS组患儿均使用rhGH(注射用rhGH,长春金赛药业有限责任公司,规格:4.0 IU/1.33 mg/1 mL)治疗,剂量0.15~0.20 IU/(kg·d),睡前半小时皮下注射。注意更换注射部位,并根据随访监测结果调整药物剂量。分别在治疗3、6、9个月时进行体格测量和生化指标评估。

1.6 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行数据分析。正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用两样本t检验;偏态分布的计量资料采用中位数(四分位数间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,组间比较采用Wilcoxon秩和检验。多个不同时间点数据符合正态分布及球形性假定采用单因素重复测量方差分析;对于不符合正态分布的数据采用Friedman非参数检验。计数资料采用例数和百分比(%)表示,组间比较采用卡方检验。相关性分析采用Spearman秩相关检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的一般资料及血清学指标比较

ISS组HtSDS、WtSDS、BMI-SDS低于健康对照($P < 0.05$)。两组年龄、性别、青春期前患儿比例,以及血清磷酸盐、血清钙、25-羟维生素D、IGF-1、Klotho、FGF23水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 ISS组不同治疗时间点生长参数及血清学指标变化

ISS组患儿rhGH治疗3、6、9个月时HtSDS、IGF-1、Klotho及FGF23均明显升高(均 $P < 0.001$),且治疗后,每个时间点与前一个时间点比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。每3个月的 Δ HtSDS、 Δ IGF-1的变化值呈上升趋势,治疗3个月时 Δ HtSDS、 Δ IGF-1增高最为明显(均 $P < 0.001$)。治疗前后BMI-SDS、每3个月 Δ WtSDS及 Δ BMI-SDS的变化值差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表 1 ISS 组和健康对照组一般资料及血清学指标比较

项目	健康对照组 (n=29)	ISS 组 (n=33)	$\chi^2/Z/t$ 值	P 值
年龄 [M(P ₂₅ , P ₇₅), 岁]	9.0(6.4, 10.0)	8.0(4.9, 10.0)	0.925	0.453
性别 (男/女, 例)	14/15	18/15	0.243	0.622
青春期前 [例(%)]	14(48)	16(48)	0.000	0.987
HtSDS [M(P ₂₅ , P ₇₅)]	0.88(-1.26, 1.57)	-2.14(-2.46, -2.00)	-6.770	<0.001
WtSDS ($\bar{x} \pm s$)	-0.04 \pm 1.32	-1.67 \pm 0.49	-6.285	<0.001
BMI-SDS [M(P ₂₅ , P ₇₅)]	0.30(-0.77, 0.60)	-0.60(-1.00, -0.15)	-2.377	0.017
血清磷酸盐 [M(P ₂₅ , P ₇₅), mmol/L]	1.66(1.09, 1.77)	1.52(1.26, 1.65)	-0.896	0.370
血清钙 [M(P ₂₅ , P ₇₅), mg/dL]	2.33 \pm 0.29	2.39 \pm 0.16	0.963	0.341
25-羟维生素 D [M(P ₂₅ , P ₇₅), ng/mL]	26.47(21.91, 41.20)	32.40(25.00, 44.67)	-1.599	0.110
IGF-1 [M(P ₂₅ , P ₇₅), ng/mL]	145 \pm 36	168 \pm 68	1.723	0.091
Klotho [M(P ₂₅ , P ₇₅), pg/mL]	2 029.25(1 710.25, 2 207.75)	1 660.26(1 206.71, 2 334.38)	-1.305	0.192
FGF23 [M(P ₂₅ , P ₇₅), pg/mL]	35.20(27.87, 42.55)	33.98(24.78, 45.93)	-0.190	0.849

注: [ISS] 特发性矮小症; [HtSDS] 身高标准差积分; [WtSDS] 体重标准差积分; [BMI-SDS] 体重指数标准差积分; [IGF-1] 胰岛素样生长因子-1; [FGF23] 成纤维细胞生长因子 23。

表 2 ISS 组不同治疗时间点生长参数与血清学指标比较

项目	治疗前	治疗 3 个月	治疗 6 个月	治疗 9 个月	F/ χ^2 值	P 值
HtSDS ($\bar{x} \pm s$)	-2.27 \pm 0.33	-1.89 \pm 0.41 ^a	-1.69 \pm 0.47 ^{a,b}	-1.51 \pm 0.59 ^{a,b,c}	60.648	<0.001
Δ HtSDS ($\bar{x} \pm s$)	-	0.38 \pm 0.27	0.27 \pm 0.20 ^a	0.36 \pm 0.18 ^a	3.904	0.028
WtSDS ($\bar{x} \pm s$)	-1.67 \pm 0.49	-1.58 \pm 0.59	-1.47 \pm 0.65 ^a	-1.24 \pm 0.84 ^{a,b}	10.959	<0.001
Δ WtSDS ($\bar{x} \pm s$)	-	0.40 \pm 0.10	0.38 \pm 0.11	0.47 \pm 0.22	0.769	0.462
BMI-SDS ($\bar{x} \pm s$)	-0.60 \pm 0.49	-0.62 \pm 0.60	-0.59 \pm 0.54	-0.66 \pm 0.46	1.205	0.310
Δ BMI-SDS ($\bar{x} \pm s$)	-	-0.62 \pm 0.12	0.34 \pm 0.01	0.47 \pm 0.14	1.882	0.166
IGF-1 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	168 \pm 68	262 \pm 99 ^a	301 \pm 115 ^{a,b}	327 \pm 126 ^{a,c}	46.427	<0.001
Δ IGF-1 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	-	94 \pm 74	39 \pm 78 ^a	25 \pm 66 ^{a,b}	45.919	<0.001
Klotho [M(P ₂₅ , P ₇₅), pg/mL]	1 660.00 (1 206.50, 2 334.50)	2 416.39 (2 275.59, 3 085.48) ^a	2 673.55 (2 320.90, 3 317.00) ^{a,b}	2 890.40 (2 427.64, 3 550.90) ^{a,b,c}	87.909	<0.001
FGF23 [M(P ₂₅ , P ₇₅), pg/mL]	33.98 (24.78, 45.93)	44.76 (32.88, 57.18) ^a	55.00 (43.81, 67.64) ^{a,b}	63.23 (54.65, 72.50) ^{a,b,c}	95.582	<0.001

注: [HtSDS] 身高标准差积分; [Δ HtSDS] 身高标准差积分差值; [WtSDS] 体重标准差积分; [Δ WtSDS] 体重标准差积分差值; [BMI-SDS] 体重指数标准差积分; [Δ BMI-SDS] 体重指数标准差积分差值; [Δ IGF-1] IGF-1 差值。^a与治疗前比较, $P < 0.05$; ^b与治疗 3 个月比较, $P < 0.05$; ^c与治疗 6 个月比较, $P < 0.05$ 。进行对数转换后, 符合正态分布则进行重复测量方差分析。

2.3 ISS 组血清 Klotho、FGF23 水平与相关参数的相关性

ISS 组患儿治疗前 Klotho 与 FGF23、IGF-1、磷酸盐呈正相关 (分别 $r_s = 0.462$ 、 0.522 、 0.417 , $P < 0.05$), Klotho 与 HtSDS 无相关性 ($P > 0.05$)。治疗前 FGF23 与 IGF-1、磷酸盐呈正相关 (分别 $r_s = 0.348$ 、 0.360 , $P < 0.05$), FGF23 与 HtSDS 无相关性

($P > 0.05$)。rhGH 治疗 3、6、9 个月时, Klotho 与 FGF23、IGF-1 呈正相关 (分别 $r_s = 0.511$ 、 0.523 、 0.523 , $P < 0.05$), Klotho 与 HtSDS 无相关性 ($P > 0.05$)。rhGH 治疗 3、6、9 个月时, FGF23 与 IGF-1 呈正相关 (分别 $r_s = 0.365$ 、 0.366 、 0.503 , $P < 0.05$), FGF23 与 HtSDS 无相关性 ($P > 0.05$)。见表 3~6。

表 3 治疗前 ISS 组血清 Klotho、FGF23 水平与 HtSDS、IGF-1、Klotho 及磷酸盐的相关性

指标	Klotho		FGF23	
	r_s	P	r_s	P
HtSDS	0.292	0.099	0.181	0.314
IGF-1	0.522	<0.001	0.348	0.047
FGF23	0.462	0.007	-	-
磷酸盐	0.417	0.016	0.360	0.039

注：[HtSDS] 身高标准差积分；[IGF-1] 胰岛素样生长因子-1；[FGF23] 成纤维细胞生长因子 23。

表 4 治疗 3 个月 ISS 组血清 Klotho、FGF23 水平与 HtSDS、IGF-1、Klotho 及磷酸盐的相关性

指标	Klotho		FGF23	
	r_s	P	r_s	P
HtSDS	0.073	0.687	0.205	0.254
IGF-1	0.543	0.001	0.365	0.037
FGF23	0.511	0.002	-	-
磷酸盐	-	-	-	-

注：[HtSDS] 身高标准差积分；[IGF-1] 胰岛素样生长因子-1；[FGF23] 成纤维细胞生长因子 23。

表 5 治疗 6 个月 ISS 组血清 Klotho、FGF23 水平与 HtSDS、IGF-1、Klotho 及磷酸盐的相关性

指标	Klotho		FGF23	
	r_s	P	r_s	P
HtSDS	0.179	0.320	0.029	0.874
IGF-1	0.493	0.004	0.366	0.037
FGF23	0.523	0.002	-	-
磷酸盐	-	-	-	-

注：[HtSDS] 身高标准差积分；[IGF-1] 胰岛素样生长因子-1；[FGF23] 成纤维细胞生长因子 23。

表 6 治疗 9 个月 ISS 组血清 Klotho、FGF23 水平与 HtSDS、IGF-1、Klotho 及磷酸盐的相关性

指标	Klotho		FGF23	
	r_s	P	r_s	P
HtSDS	0.150	0.403	0.082	0.652
IGF-1	0.473	0.005	0.503	0.003
FGF23	0.523	0.002	-	-
磷酸盐	-	-	-	-

注：[HtSDS] 身高标准差积分；[IGF-1] 胰岛素样生长因子-1；[FGF23] 成纤维细胞生长因子 23。

3 讨论

Klotho 基因在 1997 年首次被发现，其表达缺陷与几种过早衰老的表现有关，包括软组织钙化、

皮肤萎缩、性腺发育不良、低血糖、严重高磷血症、骨质疏松症及寿命缩短等^[11]。Klotho 主要在肾脏的远端和近端肾小管、脑中的脉络丛和甲状旁腺中表达，但在多种内分泌相关组织中少量表达，包括睾丸、卵巢和垂体^[12]。据报道，在大鼠垂体瘤 GH3 细胞中，Klotho 和碱性成纤维细胞生长因子共同作用来激活细胞外调节蛋白激酶 1/2 途径，进而诱导 GH 分泌^[13]。在 GH3 细胞系、培养的大鼠垂体和培养的人 GH 分泌腺瘤中研究显示，经过 Klotho 治疗后 GH 分泌增加了约 2 倍^[14]。Rubinek 等^[15]首次证明了 IGF-1 直接促进 Klotho 脱落进而调节 Klotho 分泌，这种作用是通过蛋白激酶 B-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白途径介导的。反过来，有研究证实 Klotho 能抑制小鼠肝细胞和心肌细胞中的胰岛素和 IGF-1 的分泌^[16]。Sze 等^[17]报道了 24 例肢端肥大症患者的 Klotho 水平过高，经蝶窦手术后 Klotho 水平恢复正常，GH 和 IGF-1 水平也恢复正常。综上所述，Klotho 可能在 ISS 患儿的生长发育过程中发挥一定作用。

本研究显示 ISS 患儿血清 Klotho 水平与正常儿童相比差异无统计学意义，经 rhGH 治疗后 Klotho 水平持续上升，3 个月时升高幅度最明显。同时，IGF-1 与 Klotho 呈现一致性变化，相关性分析显示，治疗前后 IGF-1 与 Klotho 呈明显正相关，推测 Klotho 在 ISS 儿童中与 GH-IGF-1 轴存在某种关联。本研究中 rhGh 治疗后 ISS 患儿身高 HtSDS 明显改善，同样在前 3 个月增高最显著，但治疗前后 Klotho 与 HtSDS 无相关性，Klotho 与磷酸盐存在明显正相关，提示 Klotho 并非直接促进其线性生长，可能通过调节 IGF-1 等其他途径参与。Guarnotta 等^[6]及 Rubinek 等^[15]研究显示 GHD 患者血清 Klotho 的倍数增加与 IGF-1 的倍数增加相关。Coopmans 等^[18]研究亦提示肢端肥大症患者血清 Klotho 和 IGF-1 增长呈平行变化。在健康儿童中的研究也证实了这一点^[19]。但 Klotho 与 GH-IGF-1 轴的具体机制有待进一步深入研究。

FGF23 和 Klotho 介导的骨肾内分泌轴是磷酸盐稳态的主要调节因子。FGF23 是在小鼠的脑中首先被发现的^[20]，通过连锁分析发现导致 FGF23 功能丧失的基因突变是引起常染色体显性遗传性低磷血症性佝偻病和肿瘤诱导的骨软化症的原因^[21-22]。FGF23 由成骨细胞和骨细胞合成并分泌到体循环中，作用于肾脏、甲状旁腺、心脏、骨骼及其他器官^[23]。在肾脏中，FGF23 通过下调近端小管的

Na⁺偶联磷酸盐转运体 NaPi- II a 的膜丰度来抑制磷酸盐的重吸收^[24]。此外, FGF23 通过抑制肾脏中的 25-羟维生素 D 及 1 α -羟化酶来抑制 1,25-(OH)₂D₃ 的合成^[25]。FGF23 通过与 FGFR1 受体结合发挥作用, 并且需要 Klotho 作为辅助受体来增强其与受体的结合, 从而参与 FGF23 介导的信号转导, 促进磷酸盐和钙稳态的调节。骨骼生长需要正向的磷酸盐平衡, GH/IGF-1 轴通过促进肾脏磷酸盐的重吸收和骨化三醇的形成来提高血清磷浓度, 而 FGF23 和 Klotho 通过抑制磷酸盐重吸收而降低血磷水平, 从而保持血磷稳定。FGF23、Klotho 与磷酸盐、1,25-(OH)₂D₃ 及 GH/IGF-1 轴存在紧密联系, 均在肾功能和磷酸盐转运中起着重要作用。因此, FGF23/Klotho 轴对于正常的线性生长非常重要。

本研究显示, ISS 患儿血清中 FGF23 水平与正常儿童相比无明显差异, 经 rhGH 治疗后 FGF23 水平均较前增高, 且与 Klotho、IGF-1 及血清磷酸盐呈正相关。FGF23 与 HtSDS 亦无相关性, 这与 Meazza 等^[26]的研究结果一致。Klotho、FGF23 与 HtSDS 无明显相关性, 提示 Klotho、FGF23 可能并非直接促进 ISS 患儿的线性生长, 而是通过其他途径间接参与其生长发育。一项在 98 例肾功能正常的儿童中的研究发现 FGF23 与磷酸盐、IGF-1 呈正相关^[27]。另一项在健康儿童中的研究也显示, 血磷和肾小管最大磷吸收/肾小球滤过率与 FGF23、Klotho 呈正相关, Klotho 与 FGF23 呈正相关^[28]。在肢端肥大症患者中的研究也发现, 体内高水平的 GH 及 Klotho, 会导致高水平的血清磷酸盐存在^[18]。本研究证实 rhGH 治疗可促进血清 Klotho、FGF23、IGF-1 水平增高, 均存在正相关。因此, Klotho、FGF23 与 GH/IGF-1 轴共同调控磷酸盐, 在 ISS 儿童的线性生长方面发挥重要作用。

总之, rhGH 干预会促进 ISS 患儿血清中 Klotho、FGF23 水平的升高。血清 Klotho、FGF23 在 ISS 患儿与 IGF-1 相互作用, 促进其追赶生长。Klotho、FGF23 与 IGF-1 的一致变化表明三者 in 调节 ISS 线性生长中存在协同关系。

本研究的局限性是未对各组儿童性别、青春期状态与血清 Klotho 和 FGF23 水平的相关性进行研究, 缺少有关营养和运动的完整信息, 且入组例数较少, 需要扩大样本量, 延长随访监测时间, 以获取更多的临床资料, 为今后的研究工作提供更多的理论依据。

利益冲突声明: 所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Kumar A, Jain V, Chowdhury MR, et al. Pathogenic/likely pathogenic variants in the *SHOX*, *GHR* and *IGFALS* genes among Indian children with idiopathic short stature[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2020, 33(1): 79-88. PMID: 31834863. DOI: 10.1515/jpem-2019-0234.
- [2] Alvarez-Cienfuegos A, Cantero-Nieto L, Garcia-Gomez JA, et al. FGF23-Klotho axis in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2020, 38(1): 50-57. PMID: 31025926.
- [3] Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by Klotho[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(10): 6120-6123. PMID: 16436388. PMID: PMC2637204. DOI: 10.1074/jbc.C500457200.
- [4] Lehtihet M, Stephanou C, Börjesson A, et al. Studies of IGF-I and klotho protein in relation to anabolic-androgenic steroid and growth hormone administrations[J]. *Front Sports Act Living*, 2022, 4: 829940. PMID: 35434614. PMID: PMC9008280. DOI: 10.3389/fspor.2022.829940.
- [5] Efthymiadou A, Kritikou D, Mantagos S, et al. The effect of GH treatment on serum FGF23 and Klotho in GH-deficient children[J]. *Eur J Endocrinol*, 2016, 174(4): 473-479. PMID: 26764419. DOI: 10.1530/EJE-15-1018.
- [6] Guarnotta V, Pizzolanti G, Petracosta R, et al. Gender-specific soluble α -klotho levels as marker of GH deficiency in children: a case-control study[J]. *J Endocrinol Invest*, 2022, 45(6): 1247-1254. PMID: 35279809. PMID: PMC9098545. DOI: 10.1007/s40618-022-01757-y.
- [7] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会, 梁雁. 基因重组人生长激素儿科临床应用应用的建议[J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(6): 426-432. PMID: 24120059. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2013.06.007.
- [8] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 中枢性性早熟诊断与治疗共识 (2015) [J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(6): 412-418. PMID: 26310550. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2015.06.004.
- [9] 李辉, 季成叶, 宗心南, 等. 中国 0~18 岁儿童、青少年身高、体重的标准化生长曲线[J]. *中华儿科杂志*, 2009, 47(7): 487-492. PMID: 19951507. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2009.07.003.
- [10] 李辉, 季成叶, 宗心南, 等. 中国 0~18 岁儿童、青少年体块指数的生长曲线[J]. *中华儿科杂志*, 2009, 47(7): 493-498. PMID: 19951508. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2009.07.004.
- [11] Cheikhi A, Barchowsky A, Sahu A, et al. Klotho: an elephant in aging research[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2019, 74(7): 1031-1042. PMID: 30843026. PMID: PMC7330474. DOI: 10.1093/gerona/glz061.
- [12] Sanchez-Niño MD, Fernandez-Fernandez B, Ortiz A. Klotho, the elusive kidney-derived anti-ageing factor[J]. *Clin Kidney J*, 2019, 13(2): 125-127. PMID: 32297880. PMID: PMC7147303.

- DOI: 10.1093/ckj/sfz125.
- [13] Zhou H, Pu S, Zhou H, et al. Klotho as potential autophagy regulator and therapeutic target[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 755366. PMID: 34737707. PMCID: PMC8560683. DOI: 10.3389/fphar.2021.755366.
- [14] Rubinek T, Modan-Moses D. Klotho and the growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis: novel insights into complex interactions[J]. *Vitam Horm*, 2016, 101: 85-118. PMID: 27125739. DOI: 10.1016/bs.vh.2016.02.009.
- [15] Rubinek T, Shahmoon S, Shabtay-Orbach A, et al. Klotho response to treatment with growth hormone and the role of IGF-I as a mediator[J]. *Metabolism*, 2016, 65(11): 1597-1604. PMID: 27733247. DOI: 10.1016/j.metabol.2016.08.004.
- [16] Sen JM. Phenotypes of Klotho[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(14): 4777-4778. PMID: 31326964. PMCID: PMC6682531. DOI: 10.18632/aging.102117.
- [17] Sze L, Bernays RL, Zwimpfer C, et al. Excessively high soluble Klotho in patients with acromegaly[J]. *J Intern Med*, 2012, 272(1): 93-97. PMID: 22452701. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02542.x.
- [18] Coopmans EC, El-Sayed N, Frystyk J, et al. Soluble Klotho: a possible predictor of quality of life in acromegaly patients[J]. *Endocrine*, 2020, 69(1): 165-174. PMID: 32333268. PMCID: PMC7343750. DOI: 10.1007/s12020-020-02306-4.
- [19] Kuro-O M. The Klotho proteins in health and disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(1): 27-44. PMID: 30455427. DOI: 10.1038/s41581-018-0078-3.
- [20] Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 277(2): 494-498. PMID: 11032749. DOI: 10.1006/bbrc.2000.3696.
- [21] ADHR Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23[J]. *Nat Genet*, 2000, 26(3): 345-348. PMID: 11062477. DOI: 10.1038/81664.
- [22] Shimada T, Mizutani S, Muto T, et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(11): 6500-6505. PMID: 11344269. PMCID: PMC33497. DOI: 10.1073/pnas.101545198.
- [23] Ho BB, Bergwitz C. FGF23 signalling and physiology[J]. *J Mol Endocrinol*, 2021, 66(2): R23-R32. PMID: 33338030. PMCID: PMC8782161. DOI: 10.1530/JME-20-0178.
- [24] Agoro R, Ni P, Noonan ML, et al. Osteocytic FGF23 and its kidney function[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 592. PMID: 32982979. PMCID: PMC7485387. DOI: 10.3389/fendo.2020.00592.
- [25] Takashi Y, Fukumoto S. Phosphate-sensing and regulatory mechanism of FGF23 production[J]. *J Endocrinol Invest*, 2020, 43(7): 877-883. PMID: 32140858. DOI: 10.1007/s40618-020-01205-9.
- [26] Meazza C, Elsedfy HH, Khalaf RI, et al. Serum α -Klotho levels are not informative for the evaluation of growth hormone secretion in short children[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2017, 30(10): 1055-1059. PMID: 28902627. DOI: 10.1515/jpem-2016-0464.
- [27] Pons-Belda OD, Alonso-Álvarez MA, González-Rodríguez JD, et al. Mineral metabolism in children: interrelation between vitamin D and FGF23[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6661. PMID: 37047636. PMCID: PMC10094813. DOI: 10.3390/ijms24076661.
- [28] Michigami T, Tachikawa K, Yamazaki M, et al. Growth-related skeletal changes and alterations in phosphate metabolism[J]. *Bone*, 2022, 161: 116430. PMID: 35577326. DOI: 10.1016/j.bone.2022.116430.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2023 中国当代儿科杂志)