

网络出版时间: 2017-1-20 11:13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170120.1113.033.html>

局灶节段性肾小球硬化足细胞损伤生物标志物的研究进展

尚懿纯¹, 曹式丽², 窦一田² 综述 尚懿纯¹ 审校

摘要 局灶节段性肾小球硬化(FSGS)作为临床难治性肾病综合征常见的病理分型,预后不佳。近期研究表明,众多生物因子在FSGS足细胞损伤发生发展中发挥着重要作用,有成为FSGS生物标志物的潜力及临床价值。现综述近期FSGS热点因子的最新进展,为今后的早期诊断和治疗提供参考。

关键词 局灶节段性肾小球硬化;生物标志物;足细胞损伤
中图分类号 R 692.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)01-0151-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.033

目前国际上将电子显微镜下足突融合且免疫病理寡免疫复合物为共同特征的足细胞结构功能异常导致的肾病综合征定义为足细胞病。随着研究的深入,局灶节段性肾小球硬化(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)已被公认是最具特征性的足细胞

病。FSGS作为临床难治性肾病综合征常见的病理分型,多表现为激素治疗耐药或药物依赖,导致近50%的儿童和成年患者出现肾脏纤维化,并在5~10年内进展为终末期肾病。即使行肾脏替代治疗后,亦有约55%的患者出现复发^[1]。肾脏纤维化包含了肾小球硬化和肾小管间质纤维化,它既是FSGS的病理基础,也是FSGS发展到终末期肾病的最终途径与结果。而足细胞损伤始动了这一进程:足细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、脱落及凋亡引起足突滤过屏障功能障碍产生蛋白尿;而随着大量蛋白聚集在肾小管管腔,刺激肾小管上皮细胞启动EMT进程,细胞间黏附力降低,肌动蛋白重组,细胞伸出伪足获得侵袭运动能力,破坏了肾小管基底膜,最终导致肾小管间质纤维化。因此,从足细胞损伤角度寻找精确而敏感的早期FSGS筛查指标变得尤为重要。现将近年来参与的相关因子研究作一综述。

1 足细胞标志蛋白

FSGS患者不但可见足细胞EMT样改变,与正常人的肾脏病理比较发现,足细胞标志物裂孔隔膜(slit diaphragm, SD)相关蛋白:Nephrin、CD2相关蛋白(CD2-associated protein, CD2AP)、Podocin等由线

2016-08-02 接收

基金项目:天津市卫生和计划生育委员会中医中西医结合科研课题(编号:2015074);国家自然科学基金(编号:81403333);天津市应用基础与前沿技术研究计划(青年项目)(编号:14JQJNC11400)

作者单位:¹天津中医药大学中医学院温病教研室 天津 300193

²天津中医药大学第一附属医院肾病科 天津 300192

作者简介:尚懿纯,男,讲师,责任作者, E-mail: x_meshang@126.com

1060-7.

- [31] 张格祥,王蕾蕾,魏学燕,等.三氯生对胎鼠脑组织的影响及初步机理探讨[J].卫生研究,2013,42(2):285-8.
- [32] 张格祥,王蕾蕾,魏学燕,等.三氯生对孕鼠妊娠结局的影响及机理[J].重庆医科大学学报,2013,38(10):1163-8.
- [33] Kennedy R C, Menn F M, Healy L, et al. Early life triclocarban exposure during lactation affects neonate rat survival [J]. *Reprod Sci* 2015, 22(1):75-89.
- [34] Han J, Won E J, Hwang U K, et al. Triclosan (TCS) and triclocarban (TCC) cause lifespan reduction and reproductive impairment through oxidative stress-mediated expression of the defensome in the monogonot rotifer (*Brachionus koreanus*) [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2016, 185-186:131-7.
- [35] Pycke B F, Geer L A, Dalloul M, et al. Human fetal exposure to triclosan and triclocarban in an urban population from Brooklyn, New York [J]. *Environ Sci Technol* 2014, 48(15):8831-8.
- [36] Axelstad M, Boberg J, Vinggaard A M, et al. Triclosan exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring [J]. *Food Chem Toxicol* 2013, 59(8):534-40.
- [37] 李林朋,马慧敏,胡俊杰,等.三氯生和三氯卡班对人体肝细胞DNA损伤的研究[J].生态环境学报,2010,19(12):2897-901.
- [38] 陈建军,豆晓飞,刘海津,等.三氯生致泥鳅生理及遗传毒性作用[J].中国公共卫生,2013,29(7):1014-6.
- [39] Lin D, Xie X, Zhou Q, et al. Biochemical and genotoxic effect of triclosan on earthworms (*Eisenia fetida*) using contact and soil tests [J]. *Environ Toxicol* 2012, 27(7):385-92.
- [40] Giudice B D, Young T M. The antimicrobial triclocarban stimulates embryoproduction in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* [J]. *Environ Toxicol Chem* 2010, 29(4):966-70.

样分布转变为点、短条样分布,表达浓度呈相关性下降及分布不均,在硬化区的表达量出现明显下降甚至出现大片消失,与尿蛋白呈明显的负相关。间充质细胞标志物如纤维连结蛋白(fibronectin, FN)、 α -平滑肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)等表达升高,且上述足细胞SD相关蛋白的改变较电镜下组织病理超微结构损伤出现更早,可以说足细胞EMT启动了FSGS。研究^[2]显示Nephrin、Podocin、CD2AP等的编码基因等位突变是造成FSGS的重要诱因。

另外,表达于足细胞核的Wilm's tumor-1(WT-1)作为足细胞的特异性标志蛋白,既往多用于足细胞计数。近年来,在FSGS模型小鼠中发现,尿外泌体中WT-1的减少较尿蛋白早1周出现,与血管紧张素受体拮抗剂治疗呈平行负相关。在FSGS患者中同样证实了这一点^[3]。故尿外泌体中WT-1基因已被提议作为无创性FSGS的生物标志物。因而,足细胞标志蛋白可以成为早期诊断、预测FSGS的敏感指标。

2 脂质代谢产物

足细胞生物学脂类的作用近年来已得到深入的研究。其中,膜脂筏上的鞘脂作为SD的重要组成部分,是肾小球滤过屏障的关键因素。而催化鞘磷脂转变为神经酰胺的酸性鞘磷脂酶在FSGS患者肾活检标本中大幅减少;FSGS患者血清刺激足细胞后发现,酸性鞘磷脂酶的表达与足细胞损伤的易感性呈正相关^[4]。研究^[5]显示,干扰脂质代谢在FSGS病理发生发展中起到重要作用。在足细胞损伤小鼠模型中表明,溶血磷脂酰胆碱刺激肾小球系膜细胞、巨噬细胞和肾小球内皮细胞表达黏附分子和趋化因子,促进巨噬细胞体外黏附和迁移,导致肾小球脂质沉积和氧化磷脂的表达,从而加速足细胞损伤^[6]。故FSGS患者尿中脂肪酸、溶血磷脂酰胆碱和磷脂酰胆碱的浓度异常可作为足细胞损伤的生物标志物。另外,FSGS的易感性与APOL1的序列变异有关,APOL1除了编码高密度脂蛋白的重要组成部分—载脂蛋白A-1(apolipoprotein A-1, Apo-A1)外,也表达于足细胞。在FSGS患者的肾脏中,其表达的缺失甚至比足细胞标志物synaptopodin等更早出现。临床研究^[7]显示,尿Apo-A1b作为FSGS复发患者的诊断标志物,有92.8%的敏感性和98.1%的

特异性。

另外,属于lipocalin蛋白家族的中性粒细胞明胶酶相关性载脂蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)既往研究主要集中在肾小管纤维化方面,作为诊断急性肾损伤的生物标志物,对比传统的血尿肌酐诊断方法,能更加及时、精确地作出诊断,从而提高早期诊疗效果。而随着足细胞损伤研究的深入,其作为FSGS早期生物标志物的前景越来越被看好。目前已知的除转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)明确导致足细胞EMT进程外,表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)也起到了重要作用。NGAL与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)之间存在信号串话。足细胞在病理状态下可异常分泌NGAL^[8],作为EGFR的生长调节剂,可促进EGFR表达,从而激活下游缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF-1 α)通过一系列磷酸化途径使得修饰信号进入细胞核,最终诱发足细胞表型改变,导致肾功能损害。除此之外,增多的NGAL还可以优先与基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)结合,隔绝MMP-9与抑制剂相互作用,从而提高MMP-9的活性,增强MMP-9分解基底膜的IV型胶原的能力,导致足细胞EMT及脱落。当抑制足细胞的NGAL表达,可延缓进展性蛋白尿和肾功能损伤。对临床难治性肾病综合征患者的研究^[9-10]显示,NGAL与病情进展也密切相关。其中尿NGAL作为独立的危险因素,不但导致更高的死亡率和肾脏替代治疗的风险,还与动脉粥样硬化性缺血性事件的发生密切相关^[11-12]。Pawar et al^[13]通过基因组学研究发现,NGAL基因敲除可能对部分肾小球疾病产生治疗作用。

3 血液循环因子

因为原发性FSGS患者在肾移植后不久即出现复发的情况,越来越多的研究指向血液循环因子是导致FSGS的重要因素。其中,可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体(soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, suPAR)最受关注。suPAR为单链糖基化蛋白,通过同源结构域III与 β 3整合素(β 3-integrin)的配体结合从而固定于细胞膜上。在体与离体实验显示,当suPAR过量表达后,通过结合足细胞上的 β 3-integrin,激活三磷酸鸟苷酶相关

C3 内毒素底物和细胞分裂周期蛋白 42 ,引起了 nephrin 和 WT-1 等足细胞标志物表达的下降 ,并导致肌动蛋白骨架重构 ,引起足细胞的损伤、脱落及凋亡 ,给予 suPAR 拮抗剂可阻止此类病变^[14-15]。而在单中心成年 FSGS 患者的研究^[16]中 ,复发的 FSGS 患者 suPAR 与足突融合的程度密切相关 ,当进行血浆置换清除后 ,足细胞损伤程度下降 ,蛋白漏出的情况得到了大幅改善。另一项涉及 62 例 FSGS 患者的研究^[17]显示 ,尿 suPAR 作用于 FSGS 具有特异性 ,与 24 h 尿蛋白呈正相关。另外 ,对于 FSGS 患者肾移植术后等的复发也具有明显的预测作用^[18]。

另一个可能的循环因子为心肌营养素样因子 1 (cardiotrophin-like cytokine 1, CLC-1) ,作为白介素-6 家族成员 ,在 FSGS 患者血清中被发现。CLC-1 主要通过激活转录信号传导子和激活子 3 信号通路^[19] ,下调足细胞 Nephrin 表达 ,导致血清白蛋白通透性升高^[20]。

4 微小 RNA

随着精准医学理论的提出 ,医学研究逐渐从蛋白、信号通路水平向基因调控方向发展^[21]。而高通量测序技术的成熟 ,得以发现大量非编码 RNA (non-coding RNA ,ncRNA) ,颠覆了既往人类对 DNA-RNA-蛋白的传统认识^[22]。ncRNA 并不在翻译水平而是在转录水平调控基因表达 ,从而干预相关蛋白及信号通路 ,影响病变进展。作为 ncRNAs 中最大的转录后基因调控家族 ,目前对微小 RNA (microRNA ,miRNA) 的研究最为深入。miRNA 介导转录后水平基因调节的方式可调控约 1/3 的信使 RNA (messenger RNA ,mRNA) ,主要通过与 mRNA 3' 非翻译区 (untranslated region ,UTR) 结合 ,剪切和脱腺苷降解靶基因 ;或通过降低靶基因转录体稳定性达到抑制翻译的作用 ;在某些情况下 ,也可上调靶基因的表达^[23]。在动物体内 ,miRNA 主要通过翻译抑制下调基因表达。且 miRNA 的表达具有显著的组织、疾病及时空特异性 ,这使 miRNA 有可能成为 FSGS 的生物标志物。

Guo et al^[24] 在 FSGS 小鼠模型及条件永生小鼠足细胞系中发现 ,miR-206 过表达可靶向诱导 WT-1 降解及肌动蛋白重排 ,引发足细胞稳定系统灾难性损伤 ,最终导致 FSGS 进程。除此之外 ,miR-186、miR-196a、miR-30a-5p 和 miR-490 等众多 miRNAs

在临床实验中均表明具备成为 FSGS 生物标志物的潜力^[25-26]。其中 miR-30 家族在 FSGS 相关 miRNA 研究中的数量和深度最引人注目。Pen et al^[27] 发现 ,FSGS 患者及动物模型肾活检中 miR-30a 显著下降 ,EMT 标志物强烈表达。而在离体足细胞诱导 EMT 实验中 ,TGF- β /Smad 通路激活后 ,miR-30d 因其启动子含有 Smad2/3 结合元件 ,从而被抑制表达 ;若过表达 miR-30d 则可明显阻滞足细胞 EMT 进程^[28]。而绝大部分 miR-30 家族还可通过调控钙/钙调磷酸酶信号通路的关键位点如瞬时受体电位阳离子通道蛋白 6 (transient receptor potential channel 6 ,TRPC6) 等 ,减低细胞内钙离子浓度及钙调神经磷酸酶活性 ,抑制足细胞标志蛋白 Synaptopodin、肌动蛋白纤维降解及 β 3-integrin 活化 ,防止 FSGS 的发生^[29]。另外 ,miR-200 家族也参与足细胞 EMT 进程的调控。Sene et al^[30] 的研究显示 TGF- β 1 可显著降低 miR-200 家族中 miR-200a、miR-141、miR-429 等的表达 ,从而抑制肾脏组织 Podocin、Nephrin 表达 ,上调 α -SMA、结蛋白等间充质标志物的基因、蛋白表达 ,从而引起足细胞 EMT 进程。

5 结语

FSGS 作为原发性肾小球疾病致终末期肾病的主要原因之一 ,发病率在不断增加。相信随着技术的进步 ,通过对 FSGS 始动因素—足细胞损伤机制的研究 ,必将寻找到典型的生物标志物 ,为 FSGS 早期诊疗提供依据。

参考文献

- [1] Trachtman R , Sran S S , Trachtman H. Recurrent focal segmental glomerulosclerosis after kidney transplantation [J]. *Pediatr Nephrol* 2015 , 30(10) :1793 - 802.
- [2] 尚懿纯. 足细胞参与局灶节段性肾小球硬化的机制研究 [J]. *安徽医科大学学报* 2013 , 48(1) :85 - 8.
- [3] Zhou H , Kajiyama H , Tsuji T , et al. Urinary exosomal Wilms' tumor-1 as a potential biomarker for podocyte injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013 , 305(4) :F553 - 9.
- [4] Forni A , Merscher S , Kopp J B. Lipid biology of the podocyte—new perspectives offer new opportunities [J]. *Nat Rev Nephrol* , 2014 , 10(7) :379 - 88.
- [5] Erkan E , Zhao X , Setchell K , et al. Distinct urinary lipid profile in children with focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Pediatr Nephrol* 2016 , 31(4) :581 - 8.
- [6] Hara S , Kobayashi N , Sakamoto K , et al. Podocyte injury-driven lipid peroxidation accelerates the infiltration of glomerular foam

- cells in focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Am J Pathol* 2015 , 185 (8) :2118 – 31.
- [7] Lopez-Hellin J , Cantarell C , Jimeno L , et al. A form of apolipoprotein a-I is found specifically in relapses of focal segmental glomerulosclerosis following transplantation [J]. *Am J Transplant* , 2013 , 13 (2) :493 – 500.
- [8] Lee S J , Borsting E , Declèves A E , et al. Podocytes express IL-6 and lipocalin 2/ neutrophilgelatinase-associated lipocalin in lipopolysaccharide-induced acute glomerular injury [J]. *Nephron Exp Nephrol* 2012 , 121 (3 – 4) :e86 – 96.
- [9] Bienias B , Zajączkowska M , Borzęcka H , et al. Early markers of tubulointerstitial fibrosis in children with idiopathic nephrotic syndrome: preliminary report [J]. *Medicine (Baltimore)* , 2015 , 94 (42) :782 – 91.
- [10] Lin H Y , Hwang D Y , Lee S C , et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and clinical outcomes in chronic kidney disease patients [J]. *Clin Chem Lab Med* 2015 , 53 (1) :73 – 83.
- [11] Liu K D , Yang W , Go A S , 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 [J]. *Am J Kidney Dis* 2015 , 65 (2) :267 – 74.
- [12] Liu K D , Yang W , Anderson A H , et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels do not improve risk prediction of progressive chronic kidney disease [J]. *Kidney Int* 2013 , 83 (5) :909 – 14.
- [13] Pawar R D , Pitashny M , Gindea S , et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is instrumental in the pathogenesis of antibody-mediated nephritis in mice [J]. *Arthritis Rheum* , 2012 , 64 (5) :1620 – 31.
- [14] Yoo T H , Pedigo C E , Guzman J , et al. Sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3b expression levels determine podocyte injury phenotypes in glomerular disease [J]. *J Am Soc Nephrol* 2015 , 26 (1) :133 – 47.
- [15] Alfano M , Cinque P , Giusti G , et al. Full-length soluble urokinase plasminogen activator receptor down-modulates nephrin expression in podocytes [J]. *Sci Rep* 2015 , 5 :13647.
- [16] Staack O , Slowinski T , Lieker I , et al. Recurrent primary focal segmental glomerulosclerosis managed with intensified plasma exchange and concomitant monitoring of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor-mediated podocyte β 3-integrin activation [J]. *Transplantation* 2015 , 99 (12) :2593 – 7.
- [17] Huang J , Liu G , Zhang Y M , et al. Urinary soluble urokinase receptor levels are elevated and pathogenic in patients with primary focal segmental glomerulosclerosis [J]. *BMC Med* 2014 , 12 (1) :81.
- [18] Delville M , Sigdel T K , Wei C , et al. A circulating antibody panel for pretransplant prediction of FSGS recurrence after kidney transplantation [J]. *Sci Transl Med* 2014 , 6 (256) :256ra136.
- [19] Sharma M , Zhou J , Gauchat J F , et al. Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 inhibitors attenuate the effect of cardiotrophin-like cytokine factor 1 and human focal segmental glomerulosclerosis serum on glomerular filtration barrier [J]. *Transl Res* 2015 , 166 (4) :384 – 98.
- [20] Wada T , Nangaku M. A circulating permeability factor in focal segmental glomerulosclerosis: the hunt continues [J]. *Clin Kidney J* 2015 , 8 (6) :708 – 15.
- [21] Phillips A , Shroufi A , Vojnov L , et al. Sustainable HIV treatment in Africa through viral-load-informed differentiated care [J]. *Nature* , 2015 , 528 (7580) :68 – 76.
- [22] Hermann T. Non-coding RNA: Antibiotic tricks a switch [J]. *Nature* 2015 , 526 (7575) :650 – 1.
- [23] Akhtar M M , Micolucci L , Islam M S , et al. Bioinformatic tools for microRNA dissection [J]. *Nucleic Acids Res* 2016 , 44 (1) :24 – 44.
- [24] Guo N , Guo J , Su D. MicroRNA-206 and its down-regulation of Wilms Tumor-1 dictate podocyte health in adriamycin-induced nephropathy [J]. *Ren Fail* 2016 , 38 (6) :1 – 7.
- [25] Zhang C , Zhang W , Chen H M , et al. Plasma microRNA-186 and proteinuria in focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Am J Kidney Dis* 2015 , 65 (2) :223 – 32.
- [26] Zhang W , Zhang C , Chen H , et al. Evaluation of microRNAs miR-196a , miR-30a-5P , and miR-490 as biomarkers of disease activity among patients with FSGS [J]. *Clin J Am Soc Nephrol* , 2014 , 9 (9) :1545 – 52.
- [27] Peng R , Zhou L , Zhou Y , et al. MiR-30a inhibits the epithelial-mesenchymal transition of podocytes through downregulation of NFATc3 [J]. *Int J Mol Sci* 2015 , 16 (10) :24032 – 47.
- [28] Liu L , Lin W , Zhang Q , et al. TGF- β induces miR-30d down-regulation and podocyte injury through Smad2/3 and HDAC3-associated transcriptional repression [J]. *J Mol Med (Berl)* , 2016 , 94 (3) :291 – 300.
- [29] Wu J , Zheng C , Wang X , et al. MicroRNA-30 family members regulate calcium/calcineurin signaling in podocytes [J]. *J Clin Invest* , 2015 , 125 (11) :4091 – 106.
- [30] Sene Lde B , Mesquita F F , de Moraes L N , et al. Involvement of renal corpuscle microRNA expression on epithelial-to-mesenchymal transition in maternal low protein diet in adult programmed rats [J]. *PLoS One* 2013 , 8 (8) :e71310.