

肾纤维化的研究进展

王金荣 熊洋洋 李斌超 付瑜 孔 娟

摘 要 肾纤维化是以细胞外基质的异常堆积为主要特征的,肾纤维化的程度不仅是肾损伤的一个标志,更预示着肾功能的恶化以及肾损害的进展,因此研究肾纤维化的机制以及治疗具有很重要的意义,为临床上预防肾纤维化提供了很大的理论基础。

关键词 肾纤维化 机制 治疗

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.06.045

肾脏纤维化是一种病理生理改变,是肾脏功能由健康到损伤,再到损坏,直至功能丧失的渐进过程。本文主要综述了肾纤维化的发生机制、治疗以及模型,为临床上的预防奠定基础。

一、肾纤维化的发生机制

1. 上皮损伤:不同的器官在发展成纤维化之前大部分是以局部上皮损伤为主的。上皮细胞暴露于毒素可导致组织纤维化的发展,突出上皮损伤的致病性,也表明上皮-间质细胞信号在促进纤维化的重要性。研究表明从动物模型和人的模型可以看出小管间质性纤维化在很大程度上会导致肾功能的下降,初期即可诱导肾损伤^[1]。在大多数的情况中,间质纤维化是一个普遍的过程,这是通过刺激肌成纤维细胞而形成的^[2]。上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)也是导致大部分间质纤维化肾病的主要机制。有研究对133例肾病患者的肾组织活体进行检查发现除了组织学损伤外,大多数的患者体内存在上皮管状细胞的上皮间质转化,更为重要的是EMT的延伸与间质损害的程度是密切相关的^[3]。Grgic等^[4]研究表明,肾小管上皮细胞靶向表达白喉素受体,允许白喉素暴露后诱导上皮损伤,这种选择性的肾小管上皮细胞损伤可导致肾间质纤维化,毛细血管稀疏和轻度肾小球硬化^[5]。对肾小管上皮细胞的研究表明,肾小管上皮细胞过表达TGF- β 1在上皮细胞损伤之前会导致弥漫性间质纤维化,随后,发生严重的肾小管损伤,伴随大量的组织纤维化^[6]。

2. 信号转导通路:(1)TGF- β 家族:EMT受很多

因素调控,包括生长因子、细胞因子、激素和分子的调控。在众多因素中,主要调控EMT的是TGF- β (transforming growth factor- β , TGF- β)^[2]。TGF- β 在肾疾病中起着很重要的作用,包括肾纤维化、炎症、细胞生殖、细胞凋亡和变异^[7]。TGF- β 有TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3 3种形式。在这3种形式中,主要调控EMT的是TGF- β 1。TGF- β 2、TGF- β 3在肾细胞中可能有相同的纤维化作用,但是他们确切的作用还有待于研究。TGF- β 1通过抑制基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)诱导产生天然基质金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)从而抑制细胞外基质的退化^[8]。从长远来看,TGF- β 1被认为可以通过管状上皮到间质的转化来诱导肌成纤维细胞的组成^[9]。这种因子可刺激两种跨膜受体,一型和二型丝氨酸苏氨酸激酶,并激活两种细胞内介质,Smad II和Smad III^[10]。作为TGF- β 超级家族的另一位关键成员骨形成蛋白7(bone morphogenetic protein-7, BMP-7)在慢性肾疾病中也扮演着很重要的作用,同TGF- β 作用相反,BMP-7具有抗纤维化的作用,因此引起了更多研究者的注意。BMP-7可以阻止Smad3和DNA序列的结合,BMP-7的这种抑制性可以减少TGF- β 激发引起的纤维化的基因表达^[11]。(2)Smad:Smad在肾纤维化中的作用已经很明确,从慢性肾病的患者和动物模型中可以看出,Smad2和Smad3在肾纤维化中是非常活跃的。而Smad3是致病性的,因为切除Smad3可以抑制梗阻性肾病以及药物毒性相关的肾纤维化的发生^[12,13]。Smad3可以直接的与启动子部位结合形成结合体,TGF- β 通过Smad3同样可以诱导TIMP-1来抑制细胞外基质的退化,而且Smad3的超表达可以抑制成纤维细胞中MMP-1的活性^[14]。Smad2和Smad3在结构上有90%的相似性,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30971401,81170065);辽宁省攀登学者计划;辽宁省千百万计划

作者单位:110000 沈阳,中国医科大学附属盛京医院临床营养科

通讯作者:孔娟,电子信箱:kongjl@sj-hospital.org

而且在与 TGF- β 的反应中他们也是相互影响的,但是 Smad2 在肾纤维化中是起保护作用的^[15]。在 Smad 中,Smad7 在 TGF- β 的信号通路中起抑制作用,它的超表达可以改善 UUO 模型的肾纤维化^[16]。Smad7 的过表达能有效的减轻炎性细胞的渗透并抑制炎性因子的产生^[17]。Smad4 在肾病中也起着抗炎的作用,而且破坏 Smad4 的功能会抑制 Smad7 的表达^[18]。(3) WNT 信号通路:Wnt 信号被证明在干细胞的更新,组织的平衡,组织和器官的再生起着至关重要的作用,经典的 Wnt 信号转导,使细胞内 β 连环蛋白稳定和积累,易位到细胞核增加转录活性,牵连纤维增生反应。Wnt 信号是 TGF- β 1 通路必要的成分并促进纤维化,有研究表明 Wnt- β -catenin 信号通路与肾纤维化有直接关系,靶向阻断此信号通路可抑制纤维化的进展^[19]。(4) Hedgehog 信号通路:Hedgehog 信号通路在血管生成以及从内皮到周细胞的双向信号中起着至关重要的作用。Hedgehog 信号转导调节器 Gli-1 和 Gli-2 对周细胞和血管周的成纤维细胞是受限的,因此这个信号通路对周细胞和成纤维细胞反应组织损伤的活性是存在争议性的,这需要更进一步的研究来解决这个争议。(5) 血小板衍生生长因子受体:血小板衍生生长因子受体 (platelet derived growth factor receptor, PDGFR) 在肾病中已经被研究过,PDGF 有两种酪氨酸激酶受体,PDGFR α 和 PDGFR β 。这两种受体在周细胞中均表达,且在肾病中受体水平平均上调。据文献报道 PDGFR β 的抑制剂伊马替尼在皮肤纤维化中可以抑制成纤维细胞的增殖和周细胞的募集。在肾脏 PDGFs 是由内皮细胞、上皮细胞、巨噬细胞产生,在损伤后间质成纤维细胞/周细胞 PDGFR α 和 β 与配体结合,转分化为肌成纤维细胞。抑制 PDGF 信号,或者通过伊马替尼中和 PDGFR 抗体,可减轻纤维化。

3. 其他:最近有证据表明低氧也是导致慢性肾疾病间质纤维化的一个重要因素,低氧已经在慢性肾疾病的患者和动物模型中表现出来^[2]。

二、肾纤维化的治疗

1. 中药:在中药理论中,慢性肾病是气血阴阳发挥失常而导致的,虽然慢性肾病 (chronic kidney diseases, CKD) 的发病机制是复杂的,但是常规的解释是体内有毒素,因此排除毒素是中药治疗 CKD 的一种关键的治疗方法。从 20 世纪 50 年代开始,我国就开始用排便的方式来排除毒素治疗肾衰竭,最显著的方法是灌肠或者肛门滴注煎好的大黄合成物来排毒。

大量的临床研究显示用煎好的大黄制剂不仅可以改善尿毒症,而且可以减少血尿毒素,但是目前中药灌肠治疗 CKD 的机制还不明确。

2. 分子疗法:(1)最近有研究表明一些内生的抗炎因子,特别是肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 能精确的抵抗 TGF- β 引起的纤维化。HGF 被认为是在肾病中一种有效的抗炎因子,在其他器官里同样适用。在各种各样的损伤中, HGF 可以促进组织修复和再生。在某些方面, HGF 和 TGF- β 在肾细胞的作用是相反的,体内试验, HGF 能有效的抑制 TGF- β 调控来自肾小球系膜细胞和间质纤维化成纤维细胞的活性,并阻断管状上皮向间质的转化。外源性肝细胞生长因子也能改善肾纤维化并且保存肾的功能,这在大量的慢性肾疾病的动物模型中已经得到证实,如阻塞性肾病、残余肾、糖尿病肾病和慢性移植肾病。(2)一些抗 TGF- β 的药物已经在人类肾疾病中开始研究,目前有两种抗 TGF- β 的抗纤维化药物,曲尼司特 (tranilast) 和吡非尼酮 (pirfenidone),这两种药物在动物模型和糖尿病肾病中已经被证实能有效的抑制肾纤维化。在残余肾和阻塞性肾病大鼠模型中,用己酮可可碱 (pentoxifylline) 治疗可以减轻肾小管间质性纤维化,在对患有慢性肾病的患者进行小型的试验发现服用己酮可可碱可以明显的降低肾功能下降的速率。(3)据文献报道, BMP-7 可以减轻肾纤维化和 EMT,并且在多种肾病的动物模型中可以抑制肾脏炎症,提示了 BMP-7 可能成为治疗肾病的一种理想药物。

3. 维生素 D:目前研究最多的是维生素 D 对肾纤维化的作用,肾脏是合成 25(OH)D 1α -羟化酶的重要脏器,因此随着慢性肾病的进展,必然影响 1,25(OH) $2D$ 的产生,据文献报道,慢性肾病的患者低维生素 D 血症发生率明显高于正常人群。维生素 D 缺乏是慢性肾病的重要特征,甚至始于疾病的早期。活性维生素 D 可以抑制 Smad3 向 TGF- β 靶基因补充从而抑制肾纤维化。在 UUO 模型中, VDR 通过抑制 TGF- β -Smad 信号转导抑制肾纤维化。有研究指出 VDR 在抑制肾纤维化的治疗中起一个很重要的作用,但是对于它的潜在机制的研究却很少。

三、肾纤维化的模型

1. 单侧输尿管结扎 (UUO) 模型:UUO (unilateral-ureteral obstruction, UUO) 模型是目前研究肾纤维化比较成熟的一种动物模型,目前,大鼠、小鼠以及兔的 UUO 诱导肾纤维化模型均已建立,在众多 UUO 诱

导肾纤维化的动物模型中,大鼠的 UUO 模型是研究肾间质病变相对来说比较好的,其对动物损伤小,成功率较高,大量的研究表明啮齿类动物的 UUO 模型可以反映人类肾脏病变过程。

2. 肾切除动物模型:5/6 肾切除模型用于研究慢性肾衰竭的发病机制,在梗阻或结扎 5/6 的肾脏后,余下的肾脏出现进行性的肾间质纤维化。5/6 肾切除的动物模型是公认的目前研究肾纤维化的良好模型,但也有研究者对 5/6 肾切除的大鼠进行为期 20 周的观察,却并没有发生任何纤维化的变化。

3. 药物诱导模型:(1)环孢素 A 肾病动物模型:环孢素 A(cyclosporine A,CsA)是一种免疫抑制剂,主要以器官移植的抗排斥药物应用于临床。Rosen 等构建的环孢素肾病的大鼠模型可以模拟出在人体内出现的慢性肾毒性,有文献表明 CsA 的大鼠模型在给药结束的 5~10 个星期后,肾功能及肾间质纤维化都可能相应恢复。(2)马兜铃酸模型:有研究者用马兜铃酸(aristolochic acids, AAs)造模,来诱导肾纤维化,它与环孢素诱导的肾纤维化模型比较相似。(3)阿霉素肾病模型:有研究报道了阿霉素可以诱导肾衰竭,阿霉素肾病模型诱导的肾脏病变特点与人类局灶性肾小球硬化很相似,但由于对此模型的评价尚缺乏一个完整而统一的体系,因此对用此模型进行的相关研究的评价与重复有一定的影响。

4. 其他:有研究者用腺嘌呤长期给大鼠灌胃可以产生类似人体慢性肾衰竭的代谢异常,还有研究者用血管紧张素 II 来制作肾损害模型。制作肾纤维化模型的方法有很多种,每种方法都有利弊。但是由于种属的巨大差异,不应简单的认为动物实验的结果与人类的疾病过程是完全一致的。

随着社会人口的老龄化,现在越来越多的患者患有糖尿病、高血压和慢性肾脏疾病、纤维化疾病,尤其是在发达国家。慢性肾疾病已经成为一个全世界的健康与社会病,目前大量的科研工作者加入到研究肾纤维化的队伍中,相信识别肾纤维化的机制和理解其信号通路,找到引导人类纤维化疾病新的靶向疗法指日可待。

参考文献

- 1 Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis; pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15: 1-12
- 2 Efstratiadis G, Divani M, Katsioulis E, *et al.* Renal fibrosis[J]. Hippokratia, 2009, 13(4): 224-228
- 3 Rastaldi MP, Ferrario F, Giardino L, *et al.* Epithelial mesenchymal

- transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies[J]. Kidney Int, 2002, 62: 137-146
- 4 Grgic I, Duffield JS, Humphreys BD. The origin of interstitial myofibroblasts in chronic kidney - disease[J]. Pediatr - Nephrol, 2012, 27(2): 183-193
- 5 Grgic I, Campanholle G, Bijol V, *et al.* Targeted proximal tubule injury triggers interstitial - fibrosis - and - glomerulosclerosis[J]. Kidney Int, 2012, 82(2): 172-183
- 6 Koesters R, Kaissling B, Lehir M, *et al.* Tubular overexpression of transforming growth factor - β 1 induces autophagy and fibrosis but not mesenchymal transition of renal epithelial cells[J]. Am J Pathol, 2012, 177(2): 632-643
- 7 Meng X, Arthur C, Chung K, *et al.* Role of the TGF - β /BMP - 7/Smad pathways in renal diseases[J]. Clinical Science, 2013, 124: 243-254
- 8 Border W, Noble NA. Evidence that TGF - β should be a therapeutic target in diabetic nephropathy[J]. Kidney Int, 1998, 54: 1390-1391
- 9 Lan HY. Tubular epithelial myofibroblast transdifferentiation mechanisms in proximal tubule cells[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2003, 12: 25-29
- 10 Song JH, Cha SH, Lee HJ, *et al.* Effect of low dose dual blockade of renin angiotensin system on urinary TGF - β in type 2 diabetic patients with advanced kidney disease[J]. Nephrol Dial Transplant, 2006, 21: 683-689
- 11 Luo D, Phillips A, Fraser D. Bone morphogenetic protein - 7 inhibits proximal tubular epithelial cell Smad3 signaling via increased SnoN expression[J]. Am J Pathol, 2010, 176: 1139-1147
- 12 Sato M, Muragaki Y, Saika S, *et al.* Targeted disruption of TGF - β 1/Smad3 signaling protects against renal tubulo interstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction[J]. J Clin Invest, 2003, 112: 1486-1494
- 13 Zhou L, Fu P, Huang XR, *et al.* Mechanism of chronic aristolochic acid nephropathy: role of Smad3[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 298: 1006-1017
- 14 Yuan W, Varga J. Transforming growth factor β repression of matrix metalloproteinase - 1 in dermal fibroblasts involves Smad3[J]. J Biol Chem, 2001, 276: 38502-38510
- 15 Massague J, Wotton D. Transcriptional control by the TGF - β /Smad signaling system[J]. EMBO J, 2000, 19: 1745-1754
- 16 Lan HY, Mu W, Tomita N, *et al.* Inhibition of renal fibrosis by gene transfer of inducible Smad7 using ultrasound microbubble system in rat UUO model[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14: 1535-1548
- 17 Chen HY, Huang XR, Wang W, *et al.* The protective role of Smad7 in diabetic kidney disease: mechanism and therapeutic potential[J]. Diabetes, 2011, 60: 590-601
- 18 Meng XM, Huang XR, Xiao J, *et al.* Disruption of Smad4 impairs TGF - β /Smad3 and Smad7 transcriptional regulation during renal inflammation and fibrosis in vivo and in vitro[J]. Kidney Int, 2012, 81: 266-279
- 19 Hao S, He W, Li Y, *et al.* Targeted inhibition of β - catenin/CBP signaling ameliorates renal interstitial fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(9): 1642-1653 (收稿日期:2014-11-19)

(修回日期:2014-11-27)