

Renalase 的研究进展

吴逸如 刘文虎

摘要 Renalase 是一种蛋白质,主要在肾脏表达,可以通过代谢儿茶酚胺类物质降低血压。近年来研究发现,与酶活性无关, Renalase 可能作为一种信号分子发挥保护作用。而在过去两年里,关于 Renalase 的病理生理作用和潜在的治疗效果已经取得了显著的进展。本文就 Renalase 的研究进展做一综述。

关键词 Renalase 保护作用 心血管疾病 肾脏疾病

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.09.042

Renalase 是一种分泌型的依赖黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)的胺氧化酶,主要表达于肾脏近端小管及心脏组织,血浆中 Renalase 水平与肾脏的大小和功能密切相关^[1]。最初认为该蛋白可以分解循环中的儿茶酚胺类物质,近年来发现 Renalase 可能是一种细胞因子,通过激活细胞内 MAPK 信号通路发挥细胞保护作用^[1]。

一、Renalase 的简介

1. Renalase 的定位及分布:2005 年学者首先发现并命名了 Renalase,其基因定位于 10 号染色体 q23.33,全长约 309462bp,可以转录两种 mRNA,翻译成两种 Renalase 亚型,即 hRenalase1 和 hRenalase2。近年来发现 Renalase 有 7 种亚型,每一种亚型可能发挥不同的作用^[1]。体内含量最多的亚型为 hRenalase1,由 342 个氨基酸残基组成,分子质量为 37.85kDa。Renalase 首先在肾脏发现,肾小球、肾小管、系膜细胞、足细胞及小管上皮细胞均可表达;心肌、肝脏、骨骼肌、周围神经、肾上腺及脂肪组织中亦有表达^[2]。

2. Renalase 的作用:最初认为 Renalase 是一种 FAD 依赖的单胺氧化酶,可以代谢儿茶酚胺类物质,其中多巴胺(dopamine, DA)是其最适底物,其次是肾上腺素,然后是去甲肾上腺素。近年来研究者发现 Renalase 最适底物分别是肾上腺素、DA 及 L-DA,也可以代谢多巴酚丁胺、异丙肾上腺素、甲基多巴胺,但是不代谢去甲肾上腺素^[2]。耶鲁大学最初发现 Renalase 时通过一种测量单胺氧化酶活性的方法推断出

Renalase 是一种单胺氧化酶,但越来越多人质疑该观点。Renalase 的化学结构与单胺氧化酶只有 13% 相似,且其测量单胺氧化酶活性的方法值得怀疑,实验中用到的儿茶酚胺的浓度远高于其病理生理浓度^[2]。有研究者用两种不同的方法均未证实 Renalase 的单胺氧化酶活性,指出 Renalase 并不是单胺氧化酶甚至不是一种氧化酶^[2]。近期,研究者应用化学方法验证并提出 Renalase 并不对儿茶酚胺类物质的氧化反应起催化作用。究竟 Renalase 是否具有催化作用,是否可以代谢儿茶酚胺类物质,目前尚存争议,仍有待于进一步研究证实。

二、Renalase 的调节

1. 肾脏与 Renalase: Renalase 可能由肾小管上皮细胞分泌排泄,循环中 Renalase 的水平与肾脏的大小和功能密切相关。最早研究者应用 Western blot 法检测血清 Renalase 水平时发现 Renalase 水平与肾小球滤过率及肾脏大小直接相关,肾功能下降时,血清 Renalase 水平降低;3/4 肾切除大鼠循环 Renalase 水平下降亦证实 Renalase 与肾脏大小和功能相关^[3]。另有动物研究发现,肾动脉狭窄侧,肾脏 Renalase 表达及分泌均减少,肾脏缺血再灌注损伤后循环中 Renalase 水平明显降低,说明肾脏的灌注与 Renalase 的分泌相关^[2,4]。然而,近期的研究利用 ELISA 的方法检测 Renalase 水平却得出相反的结果,即终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD)患者体内 Renalase 水平升高^[5-7]。研究发现慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)3~4 期血清 Renalase 水平较 CKD1~2 期患者明显升高,但 CKD 3、4、5 各期之间并没有明显差异,而 CKD 1~2 期患者与正常人没有差异,也就是说,肾小球滤过率(glomerular filtration rate, eGFR)≤60ml/min 时患者 Renalase 水平升高,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81300607);北京市科技计划项目(D131100004713001)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院肾内科、首都医科大学肾病学系

通讯作者:刘文虎,电子邮箱:liuwenhu2013@163.com

而CKD 3~5期,随着肾功能进展未见明显 Renalase 递增^[7]。透析患者血 Renalase 水平较正常人升高^[5]。同样对于肾移植后患者,发现 eGFR 下降与 Renalase 水平升高有相关性^[6]。然而,上述实验并不能说明肾功能下降时 Renalase 水平升高。首先,CKD 时,血儿茶酚胺水平上升,这与高血压、心血管疾病并发症相关,那么 Renalase 是因为儿茶酚胺升高所致亦或者由于肾功能受损呢,上述研究并没有证实。其次,上述实验应用 ELISA 方法检测 Renalase 水平,当肾功能受损时, Renalase 的代谢产物可能不能及时排出体外,而 ELISA 检测时并不能除外这些代谢产物,造成假阳性;最后,由于肾脏分泌 Renalase 减少其他非肾脏器官可能代偿性产生更多的 Renalase。透析可以清除 Renalase,且不受透析器类型(高通或低通)及抗凝方式的影响。但不同的透析方式对 Renalase 水平有影响,血透患者 Renalase 水平较腹透高,原因可能为腹膜透析患者透析龄短,残肾功能保护更好,血液透析滤过患者较单纯血液透析患者 Renalase 清除更明显^[5]。

2. 多巴胺受体与 Renalase: Wang 分别体外培养 Wistar - Kyoto (WKY)大鼠和自发性高血压大鼠肾近端小管上皮细胞发现, DA1 受体激动剂可以增加 WKY 大鼠肾小管上皮细胞 Renalase 表达和功能,但是却减少自发性高血压大鼠肾小管上皮细胞 Renalase 表达^[8]。同时发现,对于 WKY 大鼠肾小管上皮细胞,沉默 DA5 受体后可以阻断 DA1 受体激动剂促进 Renalase 表达增加的作用,用 PKC 抑制剂抑制 PKC 后亦可以阻断该作用,而沉默 DA1 受体则没有该作用,说明 DA1 受体激动剂主要是通过作用于 DA5 受体上调 Renalase 的表达, PKC 信号通路可能参与该过程。

3. 肾上腺素受体与 Renalase: 研究发现肾上腺素可以促进体外培养的肾小管上皮 (HK2) 细胞 Renalase 表达增加,该作用可被酚妥拉明阻断,因此推测 α 受体在肾上腺素诱导的 Renalase 表达增高的过程中起关键作用,而究竟是 α_1 还是 α_2 受体起主要作用仍有待于进一步研究^[9]。

4. 电解质与 Renalase: Desir 报道称盐摄取可以调控 Renalase 表达^[2]。对于高钠饮食的大鼠,其尿中 Renalase 水平均较正常饮食者高,说明高钠饮食可以增加 Renalase 的排泄^[3]。

三、Renalase 与疾病

1. Renalase 与心血管疾病: (1) Renalase 与高血

压: 高血压患者循环中 Renalase 水平降低。给 SD 大鼠外源性补充 Renalase 后血压下降,而用 siRNA 抑制 Renalase 表达后,血压升高。目前认为 Renalase 可以降低血压,其涉及的机制包括: ①通过代谢儿茶酚胺类物质间接降低血压; ②通过抑制肾脏 DA 系统活性调节血压。研究发现, Renalase 基因敲除的小鼠肾脏 DA 增加 2 倍而尿中苯丙氨酸排泄下降 2 倍,说明 Renalase 基因敲除后肾 DA 系统活性增加, Renalase 可能参与肾脏 DA 系统活性的调控^[10]; ③通过抑制肾脏交感神经活性调节血压。研究发现肾脏去神经支配后,血清 Renalase 水平上升,血压下降^[2]。此外,在研究高盐饮食对系统和尿中 Renalase 水平影响时亦发现 Renalase 与交感神经活性相关^[3]。然而, Wang 称酚妥拉明可以抑制 Renalase 表达,进而可能导致血压升高,这与上述研究结果矛盾,原因可能为 Wang 等^[9]的实验中并没有检测 Renalase 的活性,而且酚妥拉明抑制的是肾上腺素诱导的 Renalase 表达增加,是否对基础条件下 Renalase 的表达也有抑制左右不得而知。Renalase 与高血压的关系为高血压的治疗提供了新思路,不仅如此, Renalase 的基因多态性亦与高血压相关,可以通过检测 Renalase 特定位点的单核苷酸多态性预测高血压的发病风险。有研究纳入 1317 例高血压患者和 1269 例正常人,通过基因分析发现高血压与 rs2576178 GG 基因型及 rs2296545 CC 基因型相关^[11]。另有研究发现 rs2576178 与 rs10887800 基因多态性与透析患者高血压相关^[11]。然而,通过对 7 篇文章的 Meta 分析发现 rs2296545 基因多态性与高血压的危险性没有关系^[11]。目前认为 Renalase 可以降低血压,但 Renalase 的基因多态性是否与高血压相关,仍需进一步探讨。(2) Renalase 与心功能: ①临床研究方面: 与正常人相比,由于冠心病或扩心病所致的心力衰竭患者血清 Renalase 水平明显升高。冠心病患者血清 Renalase 水平升高,且与射血分数下降相关。透析患者中因心血管死亡患者 Renalase 水平较高,而主动脉缩窄修复成功后的血浆 Renalase 水平显著降低^[12,13]; ②基础研究方面: 研究者在研究大鼠心力衰竭模型(结扎冠脉左前降支)时发现, Renalase 表达与活性均增加^[2]; 原因可能为肾脏合成和排泄更多的 Renalase 以适应急性心肌梗死早期儿茶酚胺类物质的增加。然而,遗憾的是该实验并没有指出心力衰竭大鼠血肌酐的变化,并不能除外 Renalase 水平的变化是由于肾功能的变化引起的。另有研究发现,大鼠 5/6 肾切除后可出现心肌肥大,

伴随 Renalase 水平明显下降、血压升高、左心室/体重指数增加,而补充 Renalase 后上述指标好转,说明 Renalase 除了降血压外亦有调节心脏大小和功能的作用^[2]。然而该实验并不能除外 Renalase 是通过改善血压发挥调节心功能的作用。应用体外的心脏灌注模型发现外源性重组 Renalase 可以改善左心室功能,减少左心室平均压力。(3) Renalase 与缺血性心脏病:对于 Renalase 基因敲除的小鼠,尽管心脏收缩功能没有明显变化,但是基因敲除的小鼠耐受心肌缺血能力差,更易出现心肌坏死和凋亡;外源性补充重组 Renalase 蛋白可以完全改善心肌损伤,说明 Renalase 可以改善缺血造成的细胞损伤,增加细胞对缺血的耐受能力并减轻心肌细胞凋亡^[1]。近年来,研究者用动物实验证明了 Renalase 可以保护心肌缺血再灌注损伤^[14, 15]。应用慢病毒介导的 siRNA 经心包腔注射入抑制大鼠心脏组织 Renalase 基因表达后发生缺血再灌注损伤时心肌细胞凋亡和坏死更重;外源性补充 Renalase 可以明显减少心肌细胞凋亡和坏死^[15]。进一步探索了 Renalase 对小鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其可能的机制。体外实验发现缺氧诱导因子(HIF)1 α 特异性启动 Renalase 转录^[14]。而用 siRNA 干扰小鼠 HIF-1 α 后,发生缺血再灌注损伤时, Renalase 上升幅度减少^[14]。说明小鼠发生心肌缺血再灌注损伤时, Renalase 可能作为一种新型的 HIF-1 α 靶基因发挥保护作用。不仅如此, Renalase 的基因多态性也可能与缺血性心脏病相关,研究发现 rs2296545 (Glu37Asp) 基因型的冠心病患者发生缺血风险增加^[1]。(4) Renalase 与血脂: Renalase 可能与血脂代谢异常和动脉粥样硬化相关^[16]。高脂饮食喂养 ApoE -/- 小鼠,小鼠脂肪组织 Renalase 表达上调,肝脏 Renalase 表达下调;稳定性动脉粥样硬化斑块 Renalase 水平较不稳定性高。同时发现缬沙坦可以通过增加血清 Renalase 水平及纤维帽中 Renalase 的表达增加斑块的稳定性。

2. Renalase 与肾脏疾病:尽管目前 Renalase 与肾功能的关系并没有定论,越来越多的研究显示 Renalase 有肾脏保护作用。(1) Renalase 与急性肾损伤(acute kidney injury, AKI):动物实验发现,肾脏缺血再灌注损伤后循环中 Renalase 水平明显降低,血清中儿茶酚胺水平增加,而在 Renalase 缺陷模型,肾小管炎症、坏死、凋亡更重;外源性补充重组 Renalase 可以保护缺血所致的 AKI^[17]。Renalase 不仅可以保护缺血所致 AKI,亦可以保护毒物所致的 AKI^[18]。研究者

进一步探讨了 Renalase 对 AKI 保护作用的机制。通过对其晶体结构分析,发现 Renalase 的一个多肽 RP-220 可能与其溶解性相关,该多肽在所有亚型均表达,且在蛋白结构表面。RP-220 没有酶活性,但 RP-220 具有与 Renalase 相同的对 AKI 的保护作用,说明 Renalase 的保护作用与酶活性无关,可能是通过作用于膜受体,激活细胞内信号通路所致。进一步在体和离体水平研究均发现 Renalase 及 RP-220 可以引起肾脏 ERK、p38MAPK 磷酸化增加,而应用 ERK、MAPK 的抑制剂可以阻断 Renalase 对 AKI 的保护作用^[18]。说明 Renalase 对 AKI 的保护作用可能与增加 ERK、p38MAPK 磷酸化相关。而近期学者发现, Renalase 的细胞保护作用可能与其激活 p38MAPK 相关而与 ERK 无关^[19]。对于体外培养的 HK-2 细胞,用顺铂刺激,加用 RP-220 后 p38MAPK 的磷酸化明显增加,而 ERK 磷酸化较前增加不明显;抑制 ERK 对 RP-220 的保护作用没有影响,抑制 p38MAPK 后 RP-220 的保护作用消失。用生物素标记 RP-220,与 HK-2 细胞在 4℃ 紫外线下共孵育 24h,用质谱法纯化含生物素的蛋白复合物发现 RP-220 与细胞膜钙 ATP 酶亚型 4 (PMCA4b) 交联, siRNA 抑制 PMCA4b 可以阻断 RP-220 介导的 HK-2 细胞 p38MAPK 磷酸化增加^[19]。说明 Renalase 可能通过与细胞膜上 PMCA4b 结合发挥细胞保护作用。外源性补充 Renalase 对肾脏有保护作用^[18]。近期研究发现内源性 Renalase 在应激条件下也可以发挥肾脏保护作用^[4]。大鼠缺血预处理后,肾皮质 Renalase 表达上调。与缺血再灌注损伤组相比,缺血再灌注前给予预处理组血肌酐水平、肾小管硬化及凋亡明显减轻,而添加抗 Renalase 抗体后血肌酐水平、肾小管硬化及凋亡加重,说明缺血预处理主要是通过上调 Renalase 发挥肾脏保护作用^[4]。阻断 HIF-1 α 表达后给予缺血预处理发现 Renalase 表达减少,说明缺血预处理可能通过上调 HIF-1 α 进而上调 Renalase 表达发挥保护作用^[4]。(2) Renalase 与单纯性肾囊肿^[20]:单纯性肾囊肿 (simple renal cyst, SRC) 起源于肾小管,横断面研究发现 SRC 患者较正常组 Renalase 低,而多因素回归分析发现 Renalase 与 SRC 的发生相关。值得注意的是,尽管对于单纯性肾囊肿患者,肾功能下降时 Renalase 也下降,然而 Renalase 水平与白蛋白肌酐比 (ACR) 和 eGFR 没有相关性。(3) Renalase 与造影剂肾病^[21]:造影剂肾病是医院获得性急性肾损伤第三大原因。对于造影剂肾病大鼠模型,外

源性补充 Renalase 后可以减轻肾功能损害、肾小管坏死、氧化应激、凋亡和炎症反应。细胞实验亦证实 Renalase 可以通过抗氧化、抗炎症、抗凋亡对碘氟醇刺激的 HK-2 细胞起保护作用。

3. Renalase 与其他: (1) Renalase 与缺血性脑卒中: rs10887800 和 rs2576178 的基因多态性与缺血性脑卒中发生相关; rs10887800 GG 型与 2 型糖尿病患者缺血性脑卒中的发生相关^[1]。血液透析患者 Renalase 水平与脑卒中发生相关, 有脑卒中病史的血液透析患者 Renalase 水平更低^[1]。(2) Renalase 与糖尿病: Renalase 在胰岛素分泌细胞中有表达, Renalase 与自身免疫性胰腺 β 细胞破坏相关, 且 rs10509540 与 1 型糖尿病密切相关^[1]。目前 Renalase 参与糖尿病的具体机制仍不清楚。

不管 Renalase 是否具有酶活性, 诸多的研究表明 Renalase 有肾脏和心血管保护作用, 但具体机制尚不十分清楚, 仍需更深层次的研究; 而且, 如上所述, Renalase 可能与缺血性疾病相关 (AKI、缺血性心脏病、缺血性脑卒中), 循环中 Renalase 是否可以作为缺血性疾病的一个新的生物学标志物也是个值得思考的问题。同时, Renalase 是否可以作为治疗肾脏和心血管疾病的一种新型药物应用于临床呢, 亦缺乏相关资料。而对于肾脏疾病中最常见的慢性肾脏病, Renalase 是否也有保护作用有待于进一步研究。

参考文献

- Guo X, Wang L, Velazquez H, *et al.* Renalase: its role as a cytokine, and an update on its association with type 1 diabetes and ischemic stroke[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2014, 23(5): 513 - 518
- Malyszko J, Bachorzewska - Gajewska H, Dobrzycki S. Renalase, kidney and cardiovascular disease: are they related or just coincidentally associated[J]. *Adv Med Sci*, 2015, 60(1): 41 - 49
- Quelhas - Santos J, Sampaio - Maia B, Simoes - Silva L, *et al.* Sodium - dependent modulation of systemic and urinary renalase expression and activity in the rat remnant kidney[J]. *J Hypertens*, 2013, 31(3): 543 - 552; discussion 552 - 553
- Wang F, Zhang G, Xing T, *et al.* Renalase contributes to the renal protection of delayed ischaemic preconditioning via the regulation of hypoxia - inducible factor - 1 α [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(6): 1400 - 1409
- Malyszko J, Koc - Zorawska E, Zorawski M, *et al.* Renalase is removed by kidneys and during dialysis - excess related to CKD complications[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2015, 13(1): 134 - 140
- Stojanovic D, Cvetkovic T, Stojanovic M, *et al.* The assessment of renalase: searching for the best predictor of early renal dysfunction by

- multivariate modeling in stable renal transplant recipients[J]. *Ann Transplant*, 2015, 20: 186 - 192
- Wang F, Li J, Xing T, *et al.* Serum renalase is related to catecholamine levels and renal function[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015, 19(1): 92 - 98
- Wang S, Lu X, Yang J, *et al.* Regulation of renalase expression by D5 dopamine receptors in rat renal proximal tubule cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306(6): F588 - F596
- Wang F, Cai H, Zhao Q, *et al.* Epinephrine evokes renalase secretion via α - adrenoceptor/NF - κ B pathways in renal proximal tubular epithelial cells[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2014, 39(4): 252 - 259
- Sizova D, Velazquez H, Sampaio - Maia B, *et al.* Renalase regulates renal dopamine and phosphate metabolism[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(6): F839 - F844
- Shi WB, Wang HY. The association study on renalase polymorphism and hypertension: a meta - analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(6): 9505 - 9511
- Zbroch E, Koc - Zorawska E, Malyszko J, *et al.* Circulating levels of renalase, norepinephrine, and dopamine in dialysis patients[J]. *Ren Fail*, 2013, 35(5): 673 - 679
- Wybraniec MT, Mizia - Stec K, Trojnarowska O, *et al.* Low plasma renalase concentration in hypertensive patients after surgical repair of coarctation of aorta[J]. *J Am Soc Hypertens*, 2014, 8(7): 464 - 474
- Du M, Huang K, Huang D, *et al.* Renalase is a novel target gene of hypoxia - inducible factor - 1 in protection against cardiac ischaemia - reperfusion injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 105(2): 182 - 191
- Li X, Xie Z, Lin M, *et al.* Renalase protects the cardiomyocytes of Sprague - Dawley rats against ischemia and reperfusion injury by reducing myocardial cell necrosis and apoptosis[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2015, 40(3): 215 - 222
- Zhou M, Ma C, Liu W, *et al.* Valsartan promoting atherosclerotic plaque stabilization by upregulating renalase: a potential - related gene of atherosclerosis[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2015, 20(5): 509 - 519
- Lee HT, Kim JY, Kim M, *et al.* Renalase protects against ischemic AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(3): 445 - 455
- Wang L, Velazquez H, Moeckel G, *et al.* Renalase prevents AKI independent of amine oxidase activity[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(6): 1226 - 1235
- Wang L, Velazquez H, Chang J, *et al.* Identification of a receptor for extracellular renalase[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0122932
- Elcioglu OC, Afsar B, Takir M, *et al.* Renalase: Another puzzle piece between hypertension and simple renal cysts[J]. *Int Urol Nephrol*, 2015, 47(7): 1181 - 1186
- Zhao B, Zhao Q, Li J, *et al.* Renalase protects against contrast - induced nephropathy in Sprague - Dawley rats[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116583

(收稿日期: 2016 - 01 - 28)

(修回日期: 2016 - 02 - 29)