

文章编号 1006-8147(2017)05-0483-03

综述

急性肾损伤的生物标志物--血红素加氧酶 1

陈海燕 综述,姜埃利 审校

(天津医科大学第二医院肾脏病血液净化科,天津 300211)

摘要 急性肾损伤(AKI)是临床常见疾病,特别是危重病人,其发病率和死亡率均较高。AKI的病理生理过程复杂,涉及多种途径,包括炎症、细胞的自噬、细胞周期的变化和氧化应激等。最近的证据表明对肾脏的单一严重损伤可导致慢性肾脏病的发生,因此,必须及时有效的治疗 AKI。有证据表明血红素加氧酶 1(HO-1)在动物 AKI 模型中的保护效应。HO-1 调节氧化应激、细胞自噬和炎症,并通过直接和间接机制调节细胞周期的进程。

关键词 急性肾损伤;血红素加氧酶 1;肾功能衰竭;细胞保护作用;氧化应激

中图分类号 R692.5

文献标志码 A

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是临床常见的疾病,特别是在危重病人,其发病率、死亡率和住院率均较高。AKI 临床表现具有多样性,缺乏一个可靠的早期生物标志物,并且存在显著的异质性,因此对于 AKI 的识别、病理生理及新的治疗选择(除了保守措施和肾脏替代疗法)仍然是难以捉摸的。血红素加氧酶 1(heme oxygenase 1, HO-1)是一具有强效的抗氧化剂诱导酶,并具有抗炎和抗凋亡作用^[1]。本文综述了 HO-1 在 AKI 治疗过程中细胞保护的分子机制。

1 HO-1 的生物学特征及与肾脏疾病的关系

HO 由 Tenhunen 等于 1968 年首次发现,是催化血红素形成胆绿素和一氧化碳的限速酶,有 3 种同工酶,HO-1、HO-2、HO-3 分别由不同的基因编码,其中 HO-1 为诱导型,主要分布在血细胞代谢活跃的组织器官,如肝脏、脾脏、骨髓等。HO-1 蛋白还表达在远端小管上皮细胞、髓攀和集合管上皮细胞,并非局限于受损的近端小管。HO-1 又称为热休克蛋白,可作为保护性蛋白被诱导,以防御体内细胞因子介导的凋亡,多种应激成分均可诱导 HO-1 的表达,HO-1 基因的诱导主要在转录水平被调节。热休克因子、金属调节元件等均可诱导 HO-1 的表达,而血管紧张素 II、细胞因子、转化生长因子则可抑制 HO-1 基因的表达。许多研究表明,HO-1 在急性肾损伤中发挥重要的保护作用。AKI 的多种动物模型,包括肾小管坏死、脓毒症、缺血再灌注肾损伤中,HO-1 可催化血红素产生铁离子、胆红素和一氧化碳(CO),而这些物质在急性肾损伤中发挥重要的保护作用。在人体试验中 HO-1 基因启动子多态性

研究中也证实 HO-1 在 AKI 中的保护作用^[2]。

2 AKI 中 HO-1 介导的细胞保护作用机制

在横纹肌溶解症所致的 AKI 大鼠模型中发现 HO-1 对 AKI 的保护作用,研究发现使用小量血红蛋白诱导 HO-1 表达,则能减轻肾损害,显著降低大鼠死亡率;而当使用锡原卟啉特异性抑制 HO-1 活性则能明显加重肾脏损害。有证据表明,上调 HO-1 所产生的益处至少部分来源于其催化血红素生成的产物 CO 和胆绿素/胆红素。CO 和胆绿素在减少促炎分子、抑制脂过氧化反应和改善肾脏血流状态等方面均有协同作用。

炎症反应在 AKI 的发病机制中起着关键作用,炎症反应越重导致的 AKI 的严重程度也随之增加,并且不完全恢复和进展到慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)的概率越大。动物模型的研究已经证实缺血再灌注损伤、横纹肌溶解和脓毒症导致的 AKI 中免疫反应的突出作用^[3]。其中,先天免疫细胞,如巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞是主要的应答细胞^[4]。实验数据显示 HO-1 基因敲除小鼠和 HO-1 基因缺陷人群表现为白细胞增多、红细胞吞噬、肝脾肿大、肾小管间质损伤伴有炎性细胞浸润和纤维化,这都表明 HO-1 的抗炎作用^[5]。同时有数据表明,HO-1 缺陷小鼠在静止状态和 AKI 时循环中单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)的表达均升高,此外,在 AKI 恢复期,巨噬细胞表达 HO-1 极化向抗炎表型,能分泌抗炎性细胞因子(如 IL-10)和修复基因^[6]。另外,IL-10 的效应依赖 HO-1 的表达和活性,HO-1 缺陷小鼠 AKI 出现巨噬细胞积聚,受损肾脏细胞因子 IL-6 的水平明显增高,而抗炎细胞因子 IL-10 的表达水平较低^[7]。在单侧输尿管梗阻 AKI 动

作者简介 陈海燕(1977-),女,主治医师,博士,研究方向:慢性肾脏病及其并发症的诊治;通信作者:姜埃利,E-mail:carlos_j@126.com。

物模型中,也表明 HO-1 在免疫应答过程中的有益影响^[8]。HO-1 的作用并不仅限于调节细胞基因表达与成熟免疫细胞(如树突状细胞),也能增强这些细胞的迁移能力^[9]。之前的研究证明在 AKI 中,HO-1 基因缺陷导致巨噬细胞积聚增加,最近的研究表明 HO-1 缺失会促进 AKI 肾组织中的髓系细胞(巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞)向外周淋巴组织迁移。他们使用荧光蛋白标记的 HO-1 缺失供体供给野生型小鼠双侧肾脏缺血再灌注受体,发现在特定缺失的转基因小鼠中髓系细胞中的表达。该研究还表明 HO-1 的表达能减少移植相关的 AKI 缺血再灌注后的免疫应答。CO 也能抑制树突状细胞的迁移。此外,T 细胞的调节功能有利于 AKI 的恢复,而这需要 HO-1 在抗原递呈细胞如树突状细胞的表达^[10]。CO 抑制 T 细胞增生是通过下调 IL-2 和半胱天冬酶的活性,从而抑制炎症反应。

HO-1 的异构体 HO-2 也在免疫调节中发挥重要作用。最近的研究表明巨噬细胞 HO-2 缺失阻碍其吞噬能力和促进炎症基因的表达及抗炎的表达下调,从而抑制伤口愈合。胆绿素增加逆转了这种效应^[11]。

3 细胞周期调控

在 AKI 时,受损肾脏的自我修复功能是本能反应,这一驱动的关键机制是上调抗氧化防御系统,氧化应激抑制细胞凋亡,最后损伤肾小管的再生。后者是调控细胞周期的蛋白质组成,即细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclindependent kinases, CDKs)。细胞周期蛋白和 CDKs 最终确定细胞周期停滞或增殖,细胞周期蛋白相互作用其相应的 CDK 导致磷酸化的目标蛋白质,从而启动或限制进展进入下一阶段的细胞周期。

有研究已表明,在 AKI 中,细胞周期蛋白能减轻损伤的关键作用,Megyesi 等^[12]证明在顺铂诱导的 AKI 中,p21 蛋白(Cip/Kip 家族的一个成员)在肾脏的表达明显上调,抑制细胞周期进程,并随后降低缺血再灌注肾脏的损伤。Inguaggiato 等^[13]的研究发现,在肾脏中,通过 HO-1 表达的 p21 蛋白的直接调控作用,他们证实了 HO-1 和 p21 表达在肾小管损伤中的有益作用,p21 的作用是通过介导血红素、TNF- α (肿瘤坏死因子)而实现的。使用转基因小鼠的研究证实,p21 或 HO-1 对缺血再灌注或顺铂诱导的 AKI 具有保护作用^[13]。体外实验表明,在静止状态下,肾小管细胞表达低水平的 p21 基因,并能迅速上调 HO-1。进一步的研究表明,p21 诱导依赖 HO 的活性,抑制 HO 活性可导致 p21 的表达明显减少并且细胞凋亡增加。这些研究结果表明,HO 反

应可能有助于 p21 调控。研究表明,铁促进 p21 表达。此外,CO 也能引起类似的反应^[14]。另外血红素-铁蛋白、肌红蛋白也促进了细胞周期阻滞,这种逆转的效果源于去铁敏的存在。近期的研究表明,HO-1 介导 p21 调控不仅局限于肾小管上皮细胞,在肾小球系膜细胞也存在。有趣的是,胆绿素还原酶 A(biliverdin reductase A, BVRA)是血红素加氧酶系统的关键酶,在细胞周期调控中起主导作用。Kim 等^[15]表明 BVRA 下降导致细胞周期蛋白 D1 表达和 pRb 磷酸化明显减少,而 p16(INK4 家族成员)的表达增加,这导致细胞过早衰老。另一个抑制蛋白 INK4 家族成员 p18,能阻止细胞周期的 G1 期,在顺铂肾毒性中有保护作用。最近的证据还表明,p18 的表达是通过 HO-1 的表达调控,HO-1 上调 p18 的表达^[16]。总之,HO-1 介导细胞周期调控在 AKI 肾小管损伤和修复中起着举足轻重的作用。Kashani 等^[17]最近的研究,通过鉴定 AKI 中两种新的尿生物标志物即胰岛素样生长因子结合蛋白 7(IGFBP7)和组织基质金属蛋白酶 2 抑制剂(TIMP2),发现这些标记物能诱导 G1 期细胞周期阻滞。

4 氧化应激和 HO-1

不论 AKI 损伤的原因如何,氧化应激在 AKI 的发病中具有共同点。氧化应激时的细胞抗氧化剂被耗尽,如活性氧。这些活性物相互作用,从而迅速与自由基形成恶性循环,最终导致细胞氧化应激和死亡。Nath 等^[18]首次提出 AKI 中 HO-1 在体内的细胞保护作用,在甘油致横纹肌溶解(氧化应激是主要致病因素的模型)模型中 HO-1 快速诱导的肾损伤改善作用。此外,这种功能的保护不依赖原卟啉和 HO 酶活性抑制剂的存在,而强调 HO-1 介导的氧化反应有益。同时,研究也表明,HO-1 的保护机制在其他器官系统氧化损伤中有作用。这些机制表明,HO-1 催化血红素的分解,血红素是功能细胞内多种蛋白质组分,并参与细胞动态平衡。细胞血红素水平通过合成与降解过程维持在 100 nmol,血红素的合成由氨基乙酰丙酸(ALA)合酶的调节,血红素的降解由 HO 酶管理。当细胞受到损伤时(缺血或肾毒性),血红素蛋白不稳定,导致游离血红素显著增加。血红素是亲脂性的,能自由渗透脂质膜(血浆和细胞器),造成脂质氧化和加剧氧化应激反应。此外,血红素不仅刺激肾小管上皮细胞过氧化氢的产生,也通过氢和脂质过氧化物的作用放大氧化应激。肾脏特异性 HO-1 缺陷模型小鼠证实血红素在肾损伤的破坏作用^[18]。此外,HO-1 基因缺陷人群血浆和肾脏中血红素水平显著增高并且有肾小管间质损伤。

5 HO-1 作为 AKI 的生物标志物

目前,临床医生对 AKI 的诊断主要依赖于血清尿素氮和/或血清肌酐水平以及尿量的多少,并依此做出治疗方案。因此,鉴定 AKI 新的生物标志物一直是近年来的一个首要任务。近来,许多研究着眼于 IGFBP7 和 TIMP2 作为 AKI 的生物标志物^[19]。在这方面,最近已有研究提出 HO-1 可能作为 AKI 的一种生物标志物。Zager 等^[20]研究 AKI 的 4 种模型(包括缺血再灌注,甘油致横纹肌溶解症,顺铂肾毒性和双侧输尿管梗阻)中尿和血浆中 HO-1 的水平,发现在 AKI 中,肾 HO-1 的水平是伴随着血清和尿液水平升高而升高。此外还发现,伴有 AKI 的危重患者尿和血浆 HO-1 水平明显高于不伴有 AKI 的患者,也高于包括终末期肾病患者在内的 CKD 患者。其他研究者也支持使用 HO-1 作为肾脏疾病的生物标志物。例如,最近的研究报告显示在 2 型糖尿病患者中尿 HO-1 水平升高。但尿中 HO-1 的增加与这些患者显著蛋白尿水平和 GFR 呈负相关^[21]。

因此临床上对于 AKI 的监测不仅依赖血清肌酐水平、尿量多少和蛋白尿程度,同时要监测血浆和尿中 HO-1 的水平。要分析 AKI 时血清和尿 HO-1 的来源,因为通常 HO-1 源于内质网,分清血清和尿液 HO-1 的水平只是反映细胞损伤和释放细胞内蛋白质,它涉及更活跃的细胞分泌途径。

6 小结

AKI 的发病率正以惊人的速度增加,其在 CKD 的发展中的作用越来越受到重视,因此对于 AKI 的新疗法提出迫切的要求。许多研究通过 AKI 不同的动物模型及人体试验,已证实 HO-1 能改善 AKI 时的肾损害,反之,当 HO-1 被抑制时会加重 AKI。HO-1 介导 AKI 的保护作用通过调节几种不同的途径实现。未来研究应使用上述转基因动物发现新的治疗药物诱导 HO-1,及时预防和/或治疗 AKI。

参考文献:

- [1] Ryter S W, Choi A M. Targeting heme oxygenase-1 and carbon monoxide for therapeutic modulation of inflammation[J]. *Transl Res*, 2016, 167(1):7
- [2] Leaf D E, Body S C, Muehlschlegel J D, et al. Length polymorphisms in heme oxygenase-1 and AKI after cardiac surgery[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(11):3291
- [3] Rabb H, Griffin M D, McKay D B, et al. Inflammation in AKI: current understanding, key questions, and knowledge gaps[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(2):371
- [4] Kovtunovych G, Ghosh M C, Ollivierre W, et al. Wild-type macrophages reverse disease in heme oxygenase 1-deficient mice[J]. *Blood*, 2014, 124(9):1522
- [5] Kaptureczak M H, Wasserfall C, Brusko T, et al. Heme oxygenase-1 modulates early inflammatory responses: evidence from the heme oxygenase-1-deficient mouse[J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(3):1045
- [6] Hull T D, Kamal A I, Boddu R, et al. Heme oxygenase-1 regulates myeloid cell trafficking in AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(9):2139
- [7] Tracz M J, Juncos J P, Croatt A J, et al. Deficiency of heme oxygenase-1 impairs renal hemodynamics and exaggerates systemic inflammatory responses to renal ischemia[J]. *Kidney Int*, 2007, 72(9):1073
- [8] Bolisetty S, Zarjou A, Hull T D, et al. Macrophage and epithelial cell H-ferritin expression regulates renal inflammation[J]. *Kidney Int*, 2015, 88(1):95
- [9] Park D J, Agarwal A, George J F. Heme oxygenase-1 expression in murine dendritic cell subpopulations: effect on CD81 dendritic cell differentiation in vivo[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(6):2831
- [10] Brusko T M, Wasserfall C H, Agarwal A, et al. An integral role for heme oxygenase-1 and carbon monoxide in maintaining peripheral tolerance by CD41CD251 regulatory T cells[J]. *J Immunol*, 2005, 174(9):5181
- [11] Bellner L, Marrazzo G, van Rooijen N, et al. Heme oxygenase-2 deletion impairs macrophage function: implication in wound healing[J]. *FASEB J*, 2015, 29(1):105
- [12] Megyesi J, Andrade L, Vieira J M Jr, et al. Positive effect of the induction of p21WAF1/CIP1 on the course of ischemic acute renal failure[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(6):2164
- [13] Inguaggiato P, Gonzalez-Michaca L, Croatt A J, et al. Cellular overexpression of heme oxygenase-1 up-regulates p21 and confers resistance to apoptosis[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(6):2181
- [14] Gonzalez-Michaca L, Farrugia G, Croatt A J, et al. Heme: a determinant of life and death in renal tubular epithelial cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286(2):F370
- [15] Kim S Y, Kang H T, Choi H R, et al. Biliverdin reductase A in the prevention of cellular senescence against oxidative stress[J]. *Exp Mol Med*, 2011, 43(1):15
- [16] Wang L, Zhang Y, Yuan L, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor p18INK4c is involved in protective roles of heme oxygenase-1 in cisplatin-induced acute kidney injury[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(3):911
- [17] Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury[J]. *Crit Care*, 2013, 17(1):R25
- [18] Nath K A, Haggard J J, Croatt A J, et al. The indispensability of heme oxygenase-1 in protecting against acute heme protein-induced toxicity in vivo[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(5):1527
- [19] Gunnerson K J, Shaw A D, Chawla L S, et al. TIMP2*IGFBP7 biomarker panel accurately predicts acute kidney injury in high-risk surgical patients[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2016, 80(2):243
- [20] Zager R A, Johnson A C, Becker K. Plasma and urinary heme oxygenase-1 in AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(6):1048
- [21] Li Z, Xu Y, Liu X, et al. Urinary heme oxygenase-1 as a potential biomarker for early diabetic nephropathy[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2016, 22(1):58

(2017-02-09 收稿)