

· 综 述 ·

肾损伤分子-1 与肾小管损伤研究进展*

霍文谦 综述,张克勤,靳风烁 审校

(第三军医大学大坪医院泌尿外科,重庆 400042)

关键词:肾损伤分子-1;肾小管;肾损伤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.19.055

中图分类号:R692.5

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)19-2665-03

肾小管上皮细胞(renal tubular epithelial cell, RTEC)损伤是各种急慢性肾病的病理特点,肾脏受缺氧、中毒、细胞炎症反应因子、血浆蛋白或葡萄糖等因素作用后,RTEC 活化、增生、凋亡,小管扩张、管型形成,最终导致小管萎缩和(或)纤维化,是终末期肾病主要原因和共同病理过程^[1]。近年来发现的肾损伤分子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)是一种新的 I 型跨膜蛋白,在急性肾损伤后的肾组织中高表达,是一种敏感性和特异性都较高的诊断肾小管损伤的标志物。研究发现 KIM-1 不仅仅是一种诊断肾损伤的标志物,还是一种有功能的分子,参与了肾损伤和修复的过程,具体机制还有待于研究。本文对 KIM-1 在 TREC 损伤中的功能和研究进展做一综述。

1 KIM-1 的蛋白结构和表达定位

KIM-1 是 Ichimura 等于 1998 年采用表象差异分析法(representational difference analysis, RDA)在缺血再灌注大鼠肾细胞中识别一种新的 I 型跨膜蛋白,命名为 KIM-1,其大量表达于缺血再灌注损伤后再生的近曲小管上皮细胞,与肾小管损伤程度密切相关。KIM-1 基因普遍存在于哺乳动物中,鼠和人的 KIM-1 cDNA 有 43.8% 的同源性,在 Ig 域有 68.3% 的同源性。人类 KIM-1 由 334 个氨基酸残基组成。据蛋白多重序列对比显示,KIM-1 与甲型肝炎病毒受体-1(HAVcr-1)和 T 细胞免疫球蛋白白域、黏蛋白白域蛋白-1(TIM-1)是同源蛋白。KIM-1 蛋白的胞外功能区包含 1 个特征性的胞外 Ig 结构域、1 个黏蛋白结构域、信号肽、跨膜区和胞浆区,提示 KIM-1 可能是一种新的免疫球蛋白超家族的上皮黏附分子,和细胞黏附分子-1(ICAM-1)结构极为类似,执行膜受体/黏附分子的功能。

KIM-1 在正常的肾脏不表达,损伤发生时,KIM-1 RNA 迅速复制并表达蛋白,定位于受累的 TREC 的顶部,并反映肾小管损伤的程度^[2]。KIM-1 一般表达于去分化的近端小管上皮细胞,尤其在外髓部近端小管 S3 段(该区域对缺血和中毒损伤非常敏感)。而且 KIM-1 表达于形态相对正常的肾小管(刷状缘较完整、肾小管在中度以下萎缩),而完全萎缩的肾小管不表达,这提示 KIM-1 可能是损伤周围 RTEC 启动修复机制的标志^[3-4]。

2 KIM-1 可作为一种诊断急性肾损伤的标志物

目前,急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的临床诊断指标通常是血清肌酐、尿素氮、肌酐清除率等,但这些指标不仅受许多肾外因素的影响,而且对 AKI 的诊断通常是在组织学改变的 48~72 h 之后,这严重影响了 AKI 的治疗和预后^[5]。KIM-1 在正常肾脏不表达,而特征性的上调表达于肾损伤的小管上皮细胞顶膜并持续到细胞损伤完全修复,而且 KIM-1 的胞外功能区可裂解并释放入尿,尿中 KIM-1 水平和肾组织

表达正相关。有研究报道尿 KIM-1 可在缺血损伤后 12 h 内检测到,并在肾功能恢复过程中持续存在,可应用于早期 AKI 的诊断,在一定程度上避免肾穿刺活检,并可以指导各种原因导致 AKI 的早期治疗和观察治疗效果。近年的研究发现,KIM-1 在许多慢性肾病中的小管上皮细胞也有表达,可作为慢性肾损伤的诊断标志^[6-7]。Zhang 等^[6]还检测了 KIM-1 在移植肾组织内的定量表达并观察其与肾功能的关系,发现组织 KIM-1 表达是诊断移植肾上皮细胞损伤的有效标志物,近端小管 KIM-1 染色的强度和不同类型的移植肾损伤有关,有助于确定肾移植术后肾功能不全的原因。Timmeren 等^[8-9]还评估了尿 KIM-1 在移植患者的应用,观察了术后平均 6 年的患者,检测了尿中 KIM-1 的基础分泌,结果提示 KIM-1 分泌水平可预示移植肾失功率。KIM-1 在肾细胞癌中也有表达,Han 等^[10]报道约 91% 的透明细胞癌患者其肿瘤组织高表达 KIM-1,在肾切除后,尿 KIM-1 水平迅速下降甚至降至正常,提示尿 KIM-1 水平可以作为肾肿瘤尤其是肾透明细胞癌早期诊断和疗效监测的可靠指标。

3 KIM-1 是一种功能性分子参与肾小管损伤和修复过程

3.1 KIM-1 参与肾小管损伤修复的机制 KIM-1 的结构与黏附分子相似,可能在上皮细胞的重建中发挥了重要功能,除了参与细胞与细胞间的联系及细胞与细胞基质的联系外还参与细胞的移动、增殖和去分化。研究表明,重组 KIM-1 的表达导致细胞能动性发生改变并扩散,提示 KIM-1 参与去分化细胞的迁移,促进上皮细胞连续性的重建^[11]。表达 KIM-1 的细胞株可通过 KIM-1 蛋白近膜区的裂解向培养基释放 KIM-1 的胞外功能区,其 Ig 域可与膜型 KIM-1 分子竞争性地结合整合素,使定位于基底膜顶部的整合素失活,从而抑制细胞脱落或封闭细胞表面整合素结合位点,避免脱落细胞之间以及脱落细胞与纤连蛋白之间的黏附,以减少管型形成和小管阻塞。KIM-1 胞外功能区的释放可被结合到蛋白裂解位点的单克隆抗体阻断,还可被金属蛋白酶抑制剂 BB-94 和 GM6001 阻断,这意味着裂解是金属蛋白酶介导的。因此,推测再生的肾脏 KIM-1 的释放包括了激活机制,该机制使去分化的再生的细胞分布到裸露的基底膜并重建上皮细胞层的完整性^[12]。

KIM-1 表达于含有溴脱氧尿苷(细胞增殖的标记物)的上皮细胞和含有弹性蛋白(细胞去分化的标记物)的上皮细胞,提示 KIM-1 的表达与上皮细胞的去分化和增殖有关,并参与小管上皮组织形态和功能完整性的恢复^[13]。Takaharu 等^[14]在体外试验证实 KIM-1 是一种独特的非骨髓来源的磷脂酰丝氨酸受体,赋予小管上皮细胞吞噬功能,可以识别吞噬凋亡细胞并引导它们至溶酶体进行消化,加速小管内凋亡细胞碎屑的清

* 基金项目:第三军医大学临床科研基金资助项目(2009XG182)。

除以促进肾功能恢复,而且 KIM-1 介导的吞噬作用和巨噬细胞一样产生抗炎性细胞因子,抑制促炎性因子的活化,对损伤后继发的新暴露抗原的免疫反应有减轻,从而减轻进一步损伤。肝细胞生长因子(HGF),一种已知的肾上皮细胞修复因子,在吞噬凋亡细胞的小管上皮细胞中表达上调,推测 KIM-1 除了清除作用外,可能还具有再生功能,可以促进损伤细胞的替代或修复^[15]。

3.2 KIM-1 与 AKI 缺血缺氧或中毒性肾损伤是临床上导致急性肾小管损伤最常见的原因。大量蛋白尿引起的肾小管毒性作用也可以加剧肾小管损伤。毒性及缺血损伤发生后,近曲小管上皮经历一系列复杂的过程:(1)细胞极性和细胞骨架完整性消失;(2)细胞的凋亡与坏死(包括继发性坏死);(3)幸存细胞的去分化和增殖;(4)再生细胞的再分化和增殖,这些过程最主要的病理特征就是凋亡细胞和细胞碎屑的聚集以及损伤近曲小管管腔管型形成,KIM-1 可能参与了 AKI 修复的过程^[11]。

3.2.1 缺血、缺氧损伤 研究表明缺血、缺氧发生后,肾组织及尿 KIM-1 表达均明显升高。缺血、缺氧后,肾间质水肿,管周毛细血管减少,可引起细胞缺血、缺氧;损伤后活化的小管细胞可分泌细胞因子,加重毛细血管内皮细胞的损害,从而进一步减少甚至阻断了损伤区附近小管细胞的氧供;另外,由于损伤小管重吸收蛋白的负荷加重可导致溶酶体吞噬功能活跃而加剧耗氧,进而促进 KIM-1 表达上调^[16]。在各种原因导致的肾小管损伤中,缺血性损伤 KIM-1 表达水平最高,尿 KIM-1 表达在缺血后 12 h 即可被检测出,并持续升高数天,和肾组织 KIM-1 表达一致。人和大鼠的肾缺血再灌注损伤后,KIM-1 在近曲小管上皮细胞中的表达明显上调,24~48 h 后 KIM-1 和波形蛋白(Vimentin,细胞去分化的标志)或溴脱氧尿苷(BrdU,细胞增殖的标志)共阳性的上皮细胞均明显增多,而且 KIM-1 蛋白表达于波形蛋白阳性的再生的近曲小管(细胞去分化的标志),所以,KIM-1 可能参与肾上皮细胞(RTEC)不同分化状态并在细胞修复过程中参与上皮结构重建。

3.2.2 药物、毒物肾损伤 药物、毒物(如叶酸、顺铂、庆大霉素、镉、铬、环孢素、万古霉素、赫曲霉素等)引起的中毒性肾病中,损伤区肾组织及尿中 KIM-1 表达均显著升高^[17]。顺铂可导致 RTEC 凋亡、坏死,应用顺铂 1~2 d 后近端 RTEC 即弥漫性表达 KIM-1 蛋白,同时尿中可溶性 KIM-1 表达也升高。在叶酸性肾病模型中,应用叶酸后 24 h,肾组织和尿中 KIM-1 表达增加并可持续到 7 d 后。环孢霉素和雷帕霉素均可引起 KIM-1 表达的上调,二者合用时 KIM-1 水平明显高于单药应用组。提示 KIM-1 参与了各种药物及毒物引起的肾小管损伤,而且尿 KIM-1 水平可用于监测药物、毒物引起的肾小管损伤。

3.2.3 蛋白尿肾损伤 RTEC 暴露于高浓度的蛋白时可引起重吸收蛋白负荷过重以及蛋白的毒性作用,诱导小管上皮细胞活化、分泌前炎性介质和前纤维化介质(如 MCP-1、RANTES、IL-8、TGF- β 1 等),加剧肾小管间质损伤,从而促进 KIM-1 的表达^[18]。在蛋白负荷性肾病大鼠模型中,KIM-1 蛋白表达于肿大的肾单位顶膜,并局限于巨噬细胞浸润、纤维化和小管损伤区域。该研究发现同一肾小管内 KIM-1 的表达呈非均一性:损伤初期同时表达 KIM-1 和波形蛋白的细胞数较少,而多有骨桥蛋白(osteopontin, OPN, 趋化和早期修复的标志物)的共表达。从肾小管损伤定位来看,KIM-1 单独阳性的小管往往无明显结构破坏,波形蛋白单独阳性的细胞所在肾小管结构毁损较严重,而一些 OPN 阳性而 KIM-1 阴性的细胞所在的肾小管结构往往正常。这提示 KIM-1 的表达可能是小管细胞从

损伤后的活化到最终纤维化这一系列过程中的中间步骤,KIM-1 可能参与了损伤后 RTEC 的去分化和增殖过程。另外,大量尿蛋白形成管型阻塞肾小管、缺血、缺氧在蛋白负荷性肾病引起的 KIM-1 上调中可能也是肾小管损伤重要的因素。

3.3 KIM-1 与慢性肾损伤

3.3.1 多囊性肾病(PKD) 有学者在 PKD 的研究中发现,KIM-1 表达于部分囊泡和近囊泡处的极性的部分丧失近端小管上皮细胞,其表达与囊的大小、起源的节段或增生活跃程度没有明显的关系。KIM-1 阳性小管周围间质中有大量增殖细胞核抗原(PCNA)染色阳性细胞,在损伤区域内部分 KIM-1 染色阴性小管周围也出现增殖活跃细胞,而未损伤的 KIM-1 阴性的小管周围间质中 PCNA 阳性细胞较少。此外,KIM-1 染色阳性的小管周围 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)阳性细胞也明显增多。以上结果提示 KIM-1 与间质细胞增生和纤维化有关,KIM-1 参与了 PKD 中肾间质纤维变性的形成,从而导致肾单位的进行性损害。

3.3.2 RAS 介导的肾损伤 RAS 系统紊乱在肾脏疾病发病和进展中的作用已得到公认,应用血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)以及血管紧张素受体拮抗剂(ARB)抑制 RAS 系统活性可以延缓肾脏疾病的进展。De Borst 等^[7]在肾素转基因 Ren2 大鼠的研究中发现,KIM-1 可以在 RAS 介导的肾损伤中表达,损伤小管细胞 KIM-1 的表达和 OPN、 α -SMA 相关并定位于同一部位,而且 KIM-1 表达水平和 α -SMA、Ⅲ型胶原水平以及间质纤维化程度相关。应用 RAS 阻断剂或 p38 MAPK 抑制剂治疗 4 周后,肾组织 KIM-1 的表达被明显抑制。由此可推断 KIM-1 和小管间质损伤与间质胶原Ⅲ沉积有关,而损伤的产生可能与 p38 MAP kinase 通路激活有关,下调 KIM-1 的表达有可能抑制肾间质纤维化的进展。

3.3.3 其他慢性肾脏疾病 Van Timmeren 等^[19]在一项 102 例慢性肾病患者的研究发现,除微小病变外,各种类型肾病的 KIM-1 表达水平均显著升高,包括:IgA 肾病、膜性肾病、系膜增殖性肾炎、糖尿病肾病、狼疮性肾病等。KIM-1 位于纤维化区域内扩张的近端 RTEC 顶端侧,而完全萎缩的小管、远端肾小管和肾小球均不表达 KIM-1。该研究报告,KIM-1 表达水平与肾脏纤维化程度呈正相关,并与肾小球病变如系膜基质扩张(mesangial matrix expansion, MME)和局灶肾小球硬化(focal glomerulo sclerosis, FGS)相关,而且纤维化及炎性浸润病变主要发生在 KIM-1 阳性小管上皮周围。该研究还发现尿 KIM-1 表达也和 MME 和 FGS 相关,但尿 KIM-1 和小球损伤及间质纤维化程度并无关联,说明尿 KIM-1 水平仅反应正在发生损害的小管,是肾脏疾病进行性损害的标志。

3.4 KIM-1 与肾细胞癌 可溶性 KIM-1 的黏蛋白域可对抗黏附,对细胞起保护作用,然而肿瘤细胞的黏蛋白过度表达也可抑制淋巴细胞与肿瘤细胞的黏附,从而保护肿瘤细胞,使其转移成为可能。肾细胞癌细胞株 7692P 能大量表达 KIM-1,而在肾切除术后尿 KIM-1 水平迅速下降或消失,表明 KIM-1 可能在肾肿瘤的发展及转移中起作用并可作为肾肿瘤的早期诊断指标。有资料指出,利用可结合蛋白裂解位点的单克隆抗体阻止黏附分子胞外区的释放,已成为一种独特且精确的治疗肿瘤靶点,如人类抗 HER2 单克隆抗体,即是通过阻止 HER2 胞外区的释放来实现临床对乳腺癌治疗的。因此,抗 KIM-1 蛋白裂解位点的单克隆抗体(ABE3)可能为肾细胞癌的治疗提供新的治疗靶点。

4 KIM-1 的其他功能

KIM-1 基因定位区域为 5q33.2,此区也包含人类甲肝病

毒受体-1(HAVcr-1)、Tim 家族的基因,与小鼠 T 细胞气道高反应表型基因座(Tapr)同源,KIM-1 可能通过影响 T 细胞分化及巨噬细胞的活化而参与多种免疫反应过程^[20]。KIM-1 还可与 TIM-4 相互作用,参与 CD3 和 CD4 介导的 T 细胞增殖,推测 KIM-1 可能与淋巴毒素的信号传递以及哮喘易感性有关,而且 KIM-1 的胞外功能域可能作为前炎症分子发挥作用,正如趋化性细胞因子 CX3 家族成员 Fractalkine 一样,除具有趋化功能外还具有细胞黏附功能^[21]。此外,KIM-1 胞浆区含一个保守的酪氨酸磷酸化位点,在磷酸酶抑制剂作用下可被酪氨酸磷酸化,提示 KIM-1 可能是一种细胞信号转导分子,可通过受体-配体相互作用的细胞内信号转导通路促进细胞的吞噬功能。

综上所述,KIM-1 是肾小管近曲小管上皮细胞表达的一种新的 I 型跨膜蛋白,在各种急、慢性肾损伤中发挥功能,参与肾损伤及修复的过程。干预 KIM-1 表达可能为治疗急、慢性肾损伤的一个新的分子生物学手段,特别是在抗纤维化治疗慢性肾脏病,KIM-1 可能成为一个新的靶点。以上结论或推论均大多来源于体外研究,目前国内外尚没有关于 KIM-1 功能方面体内研究的报道,因此,KIM-1 的确切功能有待于在体内进一步证实,也许通过基因敲除模型可以更详细地了解 KIM-1 的确切功能和机制。

参考文献:

[1] Kimura M, Asano M, Abe K, et al. Role of atrophic changes in proximal tubular cells in the peritubular deposition of type IV collagen in a rat renal ablation model[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(5):907.

[2] Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, et al. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 290(2):517.

[3] Hung CC, Yang SA. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286(3):552.

[4] Andrea BK, Mirjan M, Van Timmeren, et al. Reduction of proteinuria in adriamycin-induced nephropathy is associated with reduction of renal kidney injury molecule (KIM-1) over time[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296(11):1136.

[5] Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review[J]. *Kidney International*, 2008, 73(9):1008.

[6] Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, et al. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury[J]. *Kidney International*, 2008, 73(6):608.

[7] De Borst MH, Van Timmeren MM, Vaidya VS, et al. Induction of kidney injury molecule-1 (KIM-1) in homozygous Ren2 rats is attenuated by blockade of the renin-angiotensin system or p38 MAP kinase[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 92(2):313.

[8] Van Timmeren MM, Bakker SJ, Vaidya VS, et al. Tubular kidney injury molecule-1 in protein-overload nephropathy[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 29(12):456.

[9] Van Timmeren MM, Vaidya VS, Van Ree RM, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients[J]. *Transplantation*, 2007, 84(3):1625.

[10] Han WK, Alinani A, Wu CL, et al. Human kidney injury molecule-1 is a tissue and urinary tumor marker of renal cell carcinoma[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(4):1126.

[11] Bailly V, Zhang Z, Meier W, et al. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration[J]. *J Biol Chem*, 2002, 10(18):39739.

[12] Li YG, Yang JW, Dai J CS, et al. Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(4):503.

[13] Zhang Z, Humphreys BD, Bonventre JV. Shedding of the urinary biomarker kidney injury molecule-1 (KIM-1) is regulated by MAP kinases and juxtamembrane region[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(10):2704.

[14] Takaharu I, Edwin J, Asseldonk EJ, et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(5):1657.

[15] Norimoto K, Piia K, Victor PC, et al. TIM-1 and TIM-4 glycoproteins bind phosphatidylserine and mediate uptake of apoptotic cells[J]. *Immunity*, 2007, 27(6):927.

[16] Ichimura T, Hung CC, Yang SA, et al. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286(3):552.

[17] Zhou Y, Vaidya VS, Brown RP, et al. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium[J]. *Toxicol Sci*, 2008, 101(2):159.

[18] Benigni A, Remuzzi G. Cellular responses to protein overload; key event in renal disease progression[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2004, 13(1):31.

[19] Van Timmeren MM, Van MC, Bailly V, et al. Tubular kidney injury molecule-1(KIM-1) in human renal disease[J]. *J Pathol*, 2007, 212(2):209.

[20] Kuehroo VK, Umetsu IY, Del RH, et al. The TIM gene family: emerging roles in immunity and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(6):454.

[21] Meyers JH, Chakravarti S, Schlesinger DZ, et al. TIM-4 is the ligand for TIM-1, and the TIM-1-TIM-4 interaction regulates T cell proliferation[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(5):455.