

肾素血管紧张素系统与活性维生素 D3-成纤维细胞生长因子 23-Klotho 在慢性肾脏病中的相互关系研究

李月红 王梅

肾素和血管紧张素 II (Ang II) 通过升高肾小球内压、刺激细胞增殖及细胞外基质合成等多种途径促进慢性肾脏病的进展^[1]。阻断肾素血管紧张素系统(RAS)激活有助于慢性肾脏病的治疗,但随之而来的肾素水平反馈性增高会减弱这种作用。维生素 D3(VitD3)是肾素表达的负性调节因子,是潜在的肾素抑制剂,理论上活性 VitD3 通过抑制肾素活性,可减轻因使用血管紧张素转换酶抑制剂引起的反馈性肾素增高,具有肾脏保护作用。VitD3 缺乏可使罹患高血压、心血管系统疾病及 I 型糖尿病的风险大大增加^[2-3]。活性 VitD3 参与成纤维细胞生长因子 23(FGF23)-Klotho(KI)的调控,有实验证实 RAS 抑制剂与维生素 D 类似物联合可有效提高大鼠糖尿病肾病的治疗效果。本文阐述 RAS 与 VitD3-FGF23-KI 之间的相互作用,探讨补充活性 VitD3 是否更有利于慢性肾脏病的治疗及其机制。

一、关于活性 VitD3、FGF23 和 KI 在慢性肾脏病中的研究

1. 活性 VitD3 与慢性肾脏病: 维生素 D 在肝脏和肾脏羟化酶作用下转化为活性 1,25 二羟维生素 D3。1,25 二羟维生素 D3 与维生素 D 受体(VDR)结合形成激素-受体复合物,具有调节钙磷平衡、调节免疫、神经、生殖和内分泌等生理功能。慢性肾脏病患者因 1- α 羟化酶减少,导致活性 VitD3 缺乏。活性 VitD3 通过抑制肾素表达、降低 RAS 系统活性,减轻肾小球滤过压和足细胞损伤,降低尿蛋白,减轻肾小球硬化。慢性肾脏病引起活性 VitD3 的缺乏,而活性 VitD3 缺乏又通过激活 RAS 系统等引起肾脏损伤加重,形成恶性循环。补充 VitD3 则可能打破这种恶性循环,对肾脏起到保护作用。

2. KI 基因与慢性肾脏病的关系: KI 基因是 1997 年发现的与人类衰老密切相关的一种新型基因。KI 基因缺陷可出现与衰老和慢性肾功能衰竭相似的表型,如动脉硬化、异位钙化、骨质疏松、免疫功能异常、糖代谢紊乱和内分泌功能失调等, KI 基因表达产物有膜结合型和分泌型两种蛋白异构体,其中分泌型的表达量明显高于膜结合型,以游离的形式发挥作用,是抗衰老激素,在血清中可检测到 KI 蛋白的存在^[4]。KI 基因的生物学术效尤其在肾脏疾病发生发展中的作用和意义倍受瞩目,分泌型 KI 蛋白有

望成为治疗老年疾病和肾脏疾病的有效药物。

KI 的功能与慢性肾衰竭患者系列并发症的发生有关。Koh 等^[5]观察 10 例慢性肾衰竭患者,用 Western 印迹和免疫组化法检测肾组织中 KI 的表达,结果全部患者肾脏 KI mRNA 和 KI 蛋白表达显著降低,并与肾单位减少和肾小管上皮细胞损伤相关。研究表明 KI 具有抑制氧自由基产生、减少氧化应激、保护肾功能及防止肾小管间质纤维化的作用, KI 基因表达上调可延缓肾功能恶化。Hu 等^[6]发现在双侧肾脏缺血再灌注的大鼠模型中,肾脏 KI 基因和蛋白水平明显降低,第 10 天后仍低于假手术组,而之前用 KI 转基因处理组血肌酐水平、组织损伤程度、凋亡细胞总数均较对照组好,说明 KI 表达的变化在肾脏缺血再灌注损伤中起关键作用。Hu 等^[6]研究发现给肾小球肾炎小鼠转入 KI 基因后,和对照组相比其尿蛋白量、血肌酐水平明显改善,毛细血管祥增厚、系膜增生、小管萎缩及间质纤维化等形态学明显改善。因此肾脏损伤过程中伴有 KI 表达的下降,而其表达的下降不利于肾脏功能的保护。

3. FGF23 的作用依赖 Klotho 蛋白的介导: FGF23 是监测慢性肾脏病进展的一个重要指标,是肾脏疾病不良预后的一个独立危险因素,高 FGF23 血症与左心室肥厚、动脉粥样硬化及中枢神经系统功能异常等有关^[6]。随着慢性肾脏病的进展,血浆 FGF23 水平进行性升高。Gutierrez 等^[7]对 10 044 例血液透析患者前瞻性观察研究表明,血浆 FGF23 水平增高是血液透析患者死亡的独立危险因素。我们的研究证实维持性血液透析患者血中 FGF23 水平明显升高,1,25 二羟维生素 D3 降低为 FGF23 升高的影响因素^[8]。FGF23 是一种分泌蛋白,存在血循环中,在蛋白水解酶作用下,形成 N 端片段和 C 端片段, N 端片段具有 FGF 受体结合位点, C 端片段具有 KI 蛋白的结合位点。FGF23 降低血磷和减少 1,25 二羟维生素 D3 生成作用必须依赖于 KI 蛋白的存在。有研究发现 KI^{-/-}小鼠的表象和 FGF23 基因敲除的小鼠表象非常相似,在敲除 KI 基因的大鼠中, FGF23 并不能降低血磷和 1,25 二羟维生素 D3, KI 基因缺失时体内 FGF23 水平升高明显。KI 蛋白是 FGF23 信号转导通路的关键因子,通过 KI 蛋白的介导发挥生物学作用^[9]。

二、RAS 和活性 VitD3-FGF23-KI 的相互作用

1. RAS 影响 KI、FGF23 和活性 VitD3 的机制: Ang II 在肾脏疾病的发生发展中有重要地位。我们研究发现不同浓度 Ang II 经由 AT1 受体介导了 ERK 和 cPLA2 α 通路的平衡,在肾近曲小管调节水和钠的重吸收,引起肾损伤^[1-2,9]。Ang II 抑制 KI 基因的表达, Mitani 等^[5]观察发现,给大鼠持

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2012.11.019

基金项目:教育部回国人员启动基金(806001)

作者单位:100044 北京大学人民医院肾内科

通信作者:王梅, Email: wangmei1949@163.com

续微量泵入具有加压效应剂量的 Ang II, 7 d 后蛋白尿和肾小球滤过率下降, 部分大鼠在灌注 Ang II 之前静脉给予载有鼠 K1 基因的腺病毒, 4 d 后大鼠肝脏 K1 蛋白表达显著增强, 尿蛋白减少、肌酐清除率改善, 因灌注 Ang II 引起的小管上皮细胞塌陷、小管间质损害得到改善。表明长时间灌注 Ang II 可以下调肾脏 K1 mRNA 和蛋白的表达, 这种表达下调与加压作用无关, 是血管紧张素 I 型受体依赖的。K1 基因表达受 Ang II 的调控, 给予 Ang II 可下调大鼠 K1 mRNA 和蛋白的表达, 而静脉转染含 K1 基因的腺病毒载体, 诱导 K1 基因上调表达后, 可减少尿蛋白, 减轻肾小管间质损害, 改善肾小球肌酐清除率, 阻止高血压及肾损害的进展。有研究观察 Ang II 下调 K1 基因表达, 发现福辛普利和缬沙坦均有拮抗 Ang II 抑制 K1 基因表达的作用^[10]。以上说明 Ang II 通过血管紧张素 I 型受体下调肾脏 K1 mRNA 和蛋白的表达, 肾脏 K1 基因表达下调在 Ang II 诱导的肾脏损伤中起重要作用, 转入 K1 基因或上调 K1 的表达对 Ang II 介导的肾脏损害有一定的治疗作用。

在肾脏, Ang II 通过血管紧张素 I 受体抑制肾脏表达 K1, K1 表达下降使之具有高亲和力的 FGF23-K1 受体复合物下降, 引起 FGF23 抵抗。慢性肾脏病患者因 FGF23 抵抗减少磷酸盐的排泄, 而高血磷又进一步促进 FGF23 的释放, 形成恶性循环, 导致维生素 D 的活化受到抑制, 引起血管钙化、内皮细胞功能损伤和透析患者并发症的进展。

目前关于 RAS 和活性 VitD3 的相互作用的研究较少^[11-12]。Ang II 通过下调 K1 及产生 FGF23 抵抗而抑制 1- α 羟化酶, 影响维生素 D 的活化。VitD3 水平与血浆肾素活性和 Ang II 呈负相关, 缺乏 VitD3 引起肾脏肾素 mRNA 和蛋白水平表达增加, Ang II 含量增加, 给予野生型小鼠饮食添加镉, 以抑制 VitD3 生物合成后, 其肾脏肾素 mRNA 表达明显上调, 而经腹腔注射 VitD3 后, 肾素表达即下调, 提示 VitD3 能抑制肾素的生物合成, 即 VitD3 是肾素表达的负性调节因子, VitD3 对肾素分泌有抑制作用, 可调节肾素的表达, 抑制肾素基因的转录。

2. K1、FGF23 和活性 VitD3 对 RAS 的反作用: 慢性肾脏病患者活性 VitD3 缺乏、K1 下降、FGF23 水平增高造成内皮细胞功能损伤、心血管系统疾病发生率和病死率上升及慢性肾脏病的进展, 这反过来又促进了 RAS 的激活, 形成恶性循环^[13-14]。Nakai 等^[13]采用 K1 基因缺陷大鼠, 用 K1 cDNA 探针发现在高脂血症、炎症应激状态下肾脏 K1 mRNA 的表达下调。Mitani 等^[15]发现在原发性高血压大鼠、5/6 肾切除大鼠及非胰岛素依赖性糖尿病大鼠肾组织中, K1 mRNA 表达水平明显低于对照组。Zhang 等^[16]研究发现, 和对照组相比, 注射链霉素 (STZ) 的糖尿病大鼠造模成功 4~8 周后, 肾脏组织中 K1 mRNA 明显下降, 血管紧张素受体 I 拮抗剂 (洛沙坦) 可抑制这种现象。表明在高血压、糖尿病或炎症应激等疾病状态下, 肾脏 K1 基因表达下调, 会进一步激活 RAS 系统, 而这种作用可被血管紧张素受体 I 拮抗剂阻滞。

健康人活性 1, 25 二羟维生素 D3 抑制肾素产生, 当 RAS 未激活时 (低 Ang II), 肾脏 K1 水平足够维持正常的 FGF23 受体功能, FGF23 (负性调节 1- α 羟化酶) 的水平正常。在慢性肾脏病患者中, 因肾单位丢失, 1- α 羟化酶减

少、FGF23 水平增高; 1, 25 二羟维生素 D3 减少, 肾素的表达上调; 高水平 Ang II 引起肾脏 K1 缺失; FGF23 信号传导紊乱, 出现高磷和高 FGF23^[13-14]。RAS 活化、活性维生素 D 缺乏、高 FGF23 水平和肾脏低 K1 均与慢性肾脏病加重有关。因此, 肾素血管紧张素系统与活性 VitD3-FGF23-K1 相互作用加重肾脏疾病的进展。

但目前, 还没有发现 VitD3 与 K1 和 FGF23 之间的直接调节关系, VitD3 尤其在体内是否直接调节 FGF23, 是否对 FGF23 的产生占有主导调节地位, 尚未得知。另外, K1 对肾脏纤维化的作用, 不依赖于活性 VitD3、FGF23 的调节。因此, 需要我们进一步研究 VitD3 对 K1 和 FGF23 的作用, 以更加明确 RAS 和 VitD3-FGF23-K1 的相互关系。

三、活性 VitD3 用于慢性肾脏病治疗的可行性

1. 慢性肾脏病的治疗: 肾脏中的维生素 D 受体选择性高表达于肾小球系膜细胞、足细胞、近曲小管、远曲小管、集合管和髓袢升支粗段。1, 25 二羟维生素 D3 可抑制血管平滑肌细胞增殖, 抑制心血管损伤中的炎症反应, 如降低 IL-6、IL-12、INF- γ 和 TNF- α 的产生。维生素 D 缺乏能引起大鼠心肌肥厚、心脏质量与体质量比率增加及心肌细胞外基质增加, 而给予 1, 25 二羟维生素 D3 可抑制心肌肥厚和心肌细胞增殖。活性 VitD3 有抗炎、抗动脉粥样硬化及心血管保护作用。在慢性肾脏病治疗方面, Kuhlmann 等^[17]报道, 在次全肾切除的小鼠, 给予 VitD3 可减轻蛋白尿、足细胞肥大和肾小球硬化。体外实验证实, 维生素 D 的类似物 22-奥沙骨化三醇 (22-oxacalcitriol) 可减少小鼠的肾间质纤维化和肾小球硬化。活性维生素 D 及其类似物具有降低蛋白尿、控制高血压、保护足细胞、抑制系膜细胞增殖、减少系膜基质沉积、抑制肾小管上皮细胞和间充质细胞转化等功能, 从而减轻肾脏纤维化。国内学者报道, 在 IgA 肾病患者, 活性 VitD3 和血管紧张素抑制剂联合较单用血管紧张素抑制剂降低尿蛋白更明显^[16]。维生素 D 治疗能够改善慢性肾脏病患者的预后, 降低死亡危险。3~4 期慢性肾脏病患者中合理地使用维生素 D, 可以带来血压控制、心肌保护、糖脂代谢和免疫机能等诸多方面的益处^[17]。理论上活性 VitD3 通过抑制肾素活性, 具有肾脏保护作用。活性 VitD3 (骨化三醇) 容易增高血钙, 维生素 D 类似物帕立骨化醇 (paricaltol) 和度骨化醇 (doxercalciferol) 增高血钙的不良反应较少。

2. 糖尿病肾病 (DN) 的治疗: 慢性肾脏病患者中 DN 的发病率和病死率逐年增高, 目前研究正致力于发现可延缓其进展的有效治疗方法。DN 最初是肾小球的高滤过和微量蛋白尿, 进而发展为蛋白尿、肾小球硬化和肾小管间质纤维化, 最终导致终末期肾病。DN 发病与多种因素有关, 包括蛋白激酶 C 激活、多元醇刺激途径、糖基化终产物形成和氧自由基过度生成等, 但最重要的是 RAS 系统, 特别是肾内 RAS 系统活性增加。肾内 Ang II 通过升高肾小球内压、刺激细胞增殖, 增加细胞外基质的合成以及促进足细胞凋亡等多种途径, 促进 DN 的进展。维生素 D 通过抑制炎症反应、抑制免疫和增加胰岛素敏感性等多种机制维持正常胰岛素分泌和糖耐量, 维生素 D 缺乏会影响胰岛细胞功能及加重胰岛素抵抗。

活性 VitD3 用于 DN 的治疗目前研究较少。剔除维生素 D 受体基因的 DM 大鼠比超重的 DM 大鼠, 更早出现蛋白尿且程度更重, 病理包括基底膜增厚、足细胞减少、细胞外基质增加及肾小球硬化更严重, 提示在糖尿病患者 VitD3 可通过抑制 RAS 系统保护肾脏^[18-19]。Zhang 等^[20]使用 RAS 抑制剂(洛沙坦)联合维生素 D 类似物(帕立骨化醇)治疗链脲霉素诱导 DN 模型大鼠, 与对照组(单用氯沙坦或帕立骨化醇)及安慰剂组相比, 联合治疗组滤过膜完整, 未出现基底膜增厚和足细胞消失, 纤连蛋白沉积减少, 肾脏表达 TGF- β 和 MCP-1 减少, 几乎完全抑制蛋白尿的发生。我们发现 CKD 3~5 期的非透析患者普遍存在 25(OH)D 和 1,25(OH)₂-VitD3 缺乏, 尤其糖尿病患者的水平更低, 血浆白蛋白是 25(OH)D 水平的独立影响因素, 而血浆 25(OH)D 水平、eGFR 是 1,25(OH)₂-VitD3 水平的独立影响因素^[21]。糖尿病是血液透析患者血管钙化的独立危险因素^[22]。这些研究表明, RAS 抑制剂与维生素 D 类似物联合可能会提高 DN 患者的治疗效果。

综上所述, RAS 激活对慢性肾脏病的进展起重要作用, 应用血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素受体拮抗剂可降低慢性肾脏病患者的蛋白尿、延缓肾功能的进展。FGF23 和 Kl 是慢性肾脏病诊断和评价预后的重要生物学标志物, RAS 与活性 VitD3-FGF23-Kl 之间相互作用, Ang II 通过血管紧张素 1 受体抑制肾脏表达 Kl, Kl 下降使之具有高亲和力的 FGF23-Kl 受体复合物下降, 引起 FGF23 抵抗, 加重肾脏损伤。RAS 激活、活性 VitD3 缺乏、高 FGF23 水平和肾脏 Kl 表达减少相互作用加重慢性肾脏病的进展。VitD3 是肾素表达的负性调节因子, 潜在的肾素抑制剂, 通过抑制肾素活性, 降低 Ang II, 具有肾脏保护作用。理论上活性 VitD3(或维生素 D 类似物)与 RAS 抑制剂(或血管紧张素受体拮抗剂)联合可有效降低因阻滞 Ang II 引起的反馈性肾素增高, 有助于慢性肾脏病的治疗, 但如何应用、何时开始补充、剂量如何掌握、浓度如何检测及不同维生素 D 制剂有何区别等还需要进一步研究。关于 VitD3 尤其在体内是否直接调节 FGF23 和 Kl, 是否对 FGF23 产生占有主导调节地位, 仍需要深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Li Y, Yamada H, Kita Y, et al. Roles of ERK and cPLA2 in the angiotensin II - mediated biphasic regulation of Na⁺ - HCO₃⁻ transport. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19: 252-259.
- [2] Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S, et al. Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 280: 1015-1020.
- [3] Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Klotho and kidney disease. *J Nephrol*, 2010, 23 Suppl 16: S136-S144.
- [4] Shroff R, Wan M, Rees L. Can vitamin D slow down the progression of chronic kidney disease? *Pediatr Nephrol*, 2012, 27: 2167-2173.
- [5] Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T, et al. In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin II - induced renal damage. *Hypertension*, 2002, 39: 838-843.
- [6] Bernheim J, Benchetrit S. The potential roles of FGF23 and Klotho in the prognosis of renal and cardiovascular diseases. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26: 2433-2438.
- [7] Gutierrez OM, Mannstadt M, Isakova T, et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*, 2008, 359: 584-592.
- [8] 杨涛, 蔡美顺, 王梅, 等. 维持性血液透析患者成纤维细胞生长因子 23 影响因素探讨. *中国血液净化*, 2008, 7: 252-255.
- [9] 李月红, 閔常司, 王梅. 细胞外信号调节激酶及胞质磷脂酶 A2 α 在血管紧张素 II 调节肾近曲小管 Na⁺-HCO₃⁻ 转运中的作用. *中华肾脏病杂志*, 2008, 24: 751-758.
- [10] Lin SD, Zhou QL, Zhan F, et al. Fosinopril up - regulates and ameliorates the Ang II induced down - expression of klotho gene in NRK - 52E. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, 2010, 26: 348-351.
- [11] Medici D, Razzaque MS, Deluca S, et al. FGF - 23 - Klotho signaling stimulates proliferation and prevents vitamin D - induced apoptosis. *J Cell Biol*, 2008, 182: 459-465.
- [12] Forman JP, Williams JS, Fisher ND. Plasma 25 - hydroxyvitamin D and regulation of the renin - angiotensin system in humans. *Hypertension*, 2010, 55: 1283-1288.
- [13] Nakai K, Komaba H, Fukagawa M. New insights into the role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *J Nephrol*, 2010, 23: 619-625.
- [14] De Borst MH, Vervloet MG, Ter Wee PM, et al. Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF - 23 - klotho in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22: 1603-1609.
- [15] Kuhlmann A, Haas CS, Gross ML, et al. 1,25 - Dihydroxyvitamin D3 decreases podocyte loss and podocyte hypertrophy in the subtotal nephrectomized rat. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286: 526-533.
- [16] Liu LJ, Lv JC, Shi SF, et al. Oral calcitriol for reduction of proteinuria in patients with IgA nephropathy: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis*, 2012, 59: 67-74.
- [17] 刘丹, 吕林莉, 刘必成. 活性维生素 D 在慢性肾脏病中的作用研究进展. *基础医学与临床*, 2011, 31: 591-593.
- [18] Zhang Z, Sun L, Wang Y, et al. Renoprotective role of the vitamin D receptor in diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 2008, 73: 163-171.
- [19] Zhang Y, Deb DK, Kong J, et al. Long - term therapeutic effect of vitamin D analog doxercalciferol on diabetic nephropathy: strong synergism with AT1 receptor antagonist. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297: 791-801.
- [20] Zhang Z, Zhang Y, Ning G, et al. Combination therapy with AT1 blocker and vitamin D analog markedly ameliorates diabetic nephropathy: blockade of compensatory renin increase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 15896-15901.
- [21] 于媛, 王宓, 王梅. 慢性肾脏病 3~5 期非透析患者 25(OH)D 与 1,25(OH)2D 水平的相关性及影响因素. *中国血液净化*, 2011, 10: 310-314.
- [22] Wang M, Wang M, Gan LY, et al. Vascular calcification in maintenance hemodialysis patients. *Blood Purif*, 2009, 28: 15-20.

(收稿日期:2012-03-31)

(本文编辑:杨克魁)