

骨桥蛋白与糖尿病肾病关系的研究进展*

张 筠 王建平[△]

(南华大学附属第二医院内分泌科 湖南 衡阳 421001)

摘要:骨桥蛋白(OPN)是一种具有细胞粘附和迁移功能的分泌型磷酸化糖蛋白。在肾脏中有广泛分布,研究发现其参与糖尿病肾病(DN)蛋白尿形成、DN 的炎症反应及肾脏纤维化过程,抑制 OPN 可改善糖尿病肾脏病变。

关键词:骨桥蛋白 糖尿病肾病 蛋白尿 炎症反应

中图分类号:R587.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2011)03-598-03

The advances of relationship between osteopontin and diabetic nephropathy*

ZHANG Jun, WANG Jian-ping[△]

(Department of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of NanHua University, 421001, Hengyang, China)

ABSTRACT: Osteopontin is a kind of secreted glycoprotein of phosphorylated for cellular adhesion and migration. It is a wide range of distribution in the kidney. Studies have shown that it is involved in the formation of proteinuria, inflammation and fibrosis on the diabetic nephropathy. Inhibition of osteopontin can improve diabetic nephropathy.

Key words: Osteopontin; Diabetic nephropathy; Proteinuria; Inflammation

Chinese Library Classification: R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)03-598-03

糖尿病肾病(Diabetic nephropathy DN)是糖尿病最常见微血管并发症之一,已成为我国终末期肾病的重要原因之一。针对糖尿病肾病患者血糖、血压和肾素-血管紧张素系统(RAS)过度激活的治疗可以延缓 DN 的发展,但并不能阻止其进展到终末期肾衰竭,因而确定治疗 DN 新靶点至关重要。近年来研究发现骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是参与糖尿病肾病发病的重要细胞因子。本文就其与糖尿病肾病关系的研究进展作一概述。

1 骨桥蛋白的结构特点、功能、表达及调控因素

1.1 骨桥蛋白的结构特点

骨桥蛋白(OPN)是由多种细胞分泌的分子量为 44kd 的负电荷磷酸化糖蛋白(SPP1)^[1]。目前已证实,编码人类 OPN 的基因位于 4 号染色体 q13,为一单拷贝基因,长约 5.4~8.2kb,编码序列包括 7 个外显子和 6 个内含子。OPN 基因启动子上有多个应答元件,包括维生素 D 反应元件(VDRE)、糖皮质激素反应元件(GRE)、Ras 反应元件(RRE)、转化生长因子- β (TGF- β)反应元件、高糖/葡萄糖胺反应元件等,及有转化上游刺激因子(USF)和活化蛋白(AP-1)的结合位点及核因子(NF- κ B)的调控位点^[2,3]。其 OPN 基因启动子区 -112~-62bp 之间存在的高糖/葡萄糖胺反应元件具有高度保守性,其内 E-box 区域或富含 GC 区的突变可引起 OPN 对高糖/葡萄糖胺反应的明显丧失。OPN 基因所编码的蛋白质含有特异的精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸(RGD)序列,这与许多细胞外基质蛋白中的粘附序列相同,是 OPN 促进细胞粘附和迁移功能的结构基础。而大鼠的

OPN 基因定位于 5 号染色体 ric 区,而其编码的蛋白质同样含有精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸(RGD)这一高度保守序列。OPN 分子另外一个结构特征是在距离 RGD 序列羧基端 6 个氨基酸残基处存在一个凝血酶作用位点。OPN 分子可被凝血酶水解为一个氨基端片段和一个羧基端片段,而被凝血酶切割的 OPN 分子促黏附和迁移能力更强,经基质金属蛋白酶(MMP-3 或 MMP-7)酶切和磷酸化修饰以后也具有同样的功效^[1]。

1.2 骨桥蛋白的功能

骨桥蛋白的结构特点决定其功能,OPN 经与整合素家族、CD44v、骨钙蛋白等多种配体结合,发挥相应的生物学效应,其生物学效应包括:细胞趋化和黏附作用、调节骨骼的矿物化、参与肿瘤转移、影响细胞间信息传递及调节免疫等。

1.3 骨桥蛋白的表达及调控因素

生理情况下,OPN 表达于骨基质、牙齿、巨噬细胞、活化 T 细胞、不同的上皮细胞、内皮细胞和平滑肌细胞,亦存在于乳汁、尿液等体液中^[1]。肾脏亦为表达 OPN 的主要器官之一。在正常成人肾脏中,OPN 主要表达于远端肾单位(特别如:Helen 拌升支粗段)及一些集合管上皮。另有研究发现肾皮质及肾小球囊壁层上皮细胞、球旁器、极少数球内细胞亦有较弱的 OPN 表达^[4]。此外,动物研究发现 OPN 可表达于鼠足细胞及系膜细胞。

病理情况下,多种肿瘤细胞可见 OPN 表达,而不同疾病时巨噬细胞、活化 T 细胞、上皮细胞、破骨细胞等均可见其表达上调。林珊等^[5]对 23 例 DN 患者肾活检发现:肾小球表达轻度上调,肾小管明显上调,且主要表达于结构相对正常小管上皮细胞,在炎症细胞大量聚集和明显纤维化处表达较少。

* 基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(09C844)

作者简介:张筠 (1983-)男,硕士研究生 主要从事糖尿病及其并发症的研究

[△]通讯作者:王建平 E-mail:wangjpppp@yahoo.com.cn

(收稿日期:2010-10-05 接受日期:2010-10-28)

DN 病程中不同阶段可有不同的因素调控 OPN,最为重要的有:高血糖及晚期糖基化终末产物 (AGEs)、RAS 系统的激活、磷脂酰肌醇 3- 激酶(PI3-K)、NF- κ B、TGF- β 等,以上因素均可直接导致肾组织中 OPN 的上调。

2 骨桥蛋白参与糖尿病肾病的发病机制

2.1 骨桥蛋白参与蛋白尿形成

Lorenzen 等^[6]研究显示肾脏 OPNmRNA 在 Akita1 型糖尿病肾病模型鼠中增加,OPN 敲除鼠显示对糖尿病所诱导的蛋白尿和系膜细胞膨胀产生了保护作用,不发展为蛋白尿。足细胞的能动性蛋白尿的发展有密切联系,用重组 OPN 处理足细胞激活了 NF- κ B 路径,增加了尿激酶纤溶酶原活化剂和基质金属蛋白酶 (2 与 9) 的表达,增加足细胞的能动性。提示 OPN 在蛋白尿的发展中具有重要作用,此作用可能是通过调节足细胞信号途径和其能动性来完成的。用 OPN 处理过的足细胞迁移速度快于普通对照组,能较快覆盖损伤区域。NF- κ B 路径似乎是足细胞的重要调节者,抑制此路径就阻止了 OPN 诱导的足细胞的迁移。Nicholas 等^[7]采用类似方法将 INS2Aki-ta/+1 型糖尿病鼠和 db/db2 型糖尿病模型鼠的 OPN 基因敲除,结果导致实验组的尿蛋白、系膜细胞膨胀、肾小球Ⅳ型胶原、纤维连接蛋白、TGF- β 均比对照组显著减少。而 Yamaguchi 等^[8]研究了 229 名日本 2 型糖尿病病人血浆 OPN 水平与糖尿病肾病进程的关系。结果显示血浆 OPN 水平升高与 DN 尿蛋白增加呈一致性,而与血压、血糖、血脂水平均不相关。以上动物及临床实验均表明 OPN 可能是 DN 蛋白尿形成中的一个关键因子。

2.2 骨桥蛋白参与糖尿病肾病炎症反应

由代谢紊乱引起的炎症反应是糖尿病肾病的重要发病机制现已得到学界的公认,而炎症反应也可进一步导致肾脏纤维化。OPN 参与 DN 炎症反应最重要的标志就是趋化单核 / 巨噬细胞的浸润,Kelly^[9] 等将糖尿病模型 OLETF 大鼠及转基因 (mRen-2)-27 大鼠予以链脲佐菌素(STZ)诱导 DN 后,其肾组织可出现炎症细胞浸润、小管间质纤维化及肾小球硬化等病变。同时肾组织中 OPN、MCP-1 及 TGF- β 的表达上调,并且 OPN-mRNA 及其蛋白质仅表达于肾脏的损伤部位,与单核巨噬细胞的标志物 ED-1(小鼠抗大鼠 CD68,主要表达于大鼠的单核巨噬细胞浆) 阳性细胞数及小管间质纤维化的评分强相关,提示 OPN 表达上调可诱导单核巨噬细胞的趋化,从而促进糖尿病肾病的小管间质病变。

研究发现给大鼠注射巨噬细胞趋化蛋白 FMLP (N-formyl-met-leu-phe)后,注射部位可诱导巨噬细胞浸润,并与 OPN 阳性相关;予以 OPN 抗体可使巨噬细胞的积聚降低 60%。有人提出在慢性肾病进展中,单核巨噬细胞趋化至小管间质中,分泌活化细胞因子如 TGF- β 、血小板源性生长因子(PDGF)、白细胞介素(IL-1)等,产生并分泌胶原Ⅰ、Ⅲ、纤维连接蛋白、硫酸软骨素等细胞外基质成分,诱导过氧化物生成,从而导致小管增殖、小管及间质细胞的表型转化,促进小管间质纤维化的发生。研究表明肾小管和小管间质损伤也是 DN 的特点之一。临床上大约有 1/3 的 2 型糖尿病肾病肾活检显示无肾小球病变,表现为明显的肾小管和肾间质的损害。林珊等^[9]对 DN 患者肾活检

研究显示,肾小管细胞 NF- κ B、OPN 及 MCP-1 的表达与尿蛋白呈正相关。而体外实验证实,白蛋白能诱导近端小管细胞表达 NF- κ B。作者认为蛋白尿可能是肾小管细胞炎症反应的始动因素。另有学者发现 OPN 与 NF- κ B 还可形成 NF- κ B $\rightarrow$ OPN $\rightarrow$ NF- κ B 的恶性循环,诱导更多炎性介质的合成^[10]。

2.3 骨桥蛋白参与促进肾脏纤维化

Nicholas 等^[7]研究体外培养 OPN 重组系膜细胞显示:OPN 可激活肾小球 ERK/MAPK 和 JNK(通过 c-Jun 的激活)信号途径,继而导致系膜细胞中 TGF- β 的升高,进而促进肾小球纤维化和系膜细胞外基质(ECM)的沉积,证明 OPN 可直接作用于系膜细胞而不是通过炎症机制促进肾脏纤维化。将 INS2Aki-ta/+1 型糖尿病鼠和 db/db2 型糖尿病模型鼠的 OPN 基因敲除后,则导致 TGF- β 、系膜细胞膨胀、肾小球Ⅳ型胶原、纤维连接蛋白明显减少。而对大鼠肾上皮细胞系 NRK52E 的研究中发现,TGF- β 可上调 OPN 基因转录从而诱导 OPN 的表达。TGF- β 可刺激近曲小管、系膜细胞产生并分泌Ⅰ、Ⅳ型胶原,刺激 ECM 合成;同时抑制 MMPs 合成并促进纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1) 及组织基质金属蛋白酶抑制剂合成,从而减少 ECM 降解,促进 ECM 在小管间质的积聚^[11]。提示 TGF- β 与 OPN 可能构成促进肾脏纤维化正反馈途径。

此外,骨桥蛋白还可参与一氧化氮(NO)信号途径的调节,影响 DN 早期肾小球高滤过的发生和对小管的氧化损伤,促进糖尿病肾病的发展^[12]。

4 抑制骨桥蛋白在 DN 治疗中的应用

近年有许多实验证实抑制 OPN 可改善糖尿病肾脏病变。Li 等^[13]在 2 型糖尿病大鼠模型中,用 ACEI 类雷米普利治疗 9 个月,肌酐清除率改善,尿蛋白排泄减少,收缩压降低,肾小球硬化,间质纤维化,炎细胞浸润等均有所改善($p<0.01$)。日本学者 Kikuchi 等^[14]报道,免疫抑制剂咪唑立宾治疗 OLETF 大鼠(2 型糖尿病模型)12 周,可以显著抑制糖尿病大鼠尿蛋白的排泄,减轻肾脏巨噬细胞的浸润,通过抑制单核 / 巨噬细胞趋化蛋白(MCP-1)、OPN 和 TGF- β 1 的表达,可阻止肾小球病变和肾脏间质纤维化的进展。Junaid 等^[12]用 PKC- β 抑制剂能降低糖尿病大鼠小管上皮细胞 OPN 表达、巨噬细胞浸润程度、TGF- β 活性而发挥肾脏保护作用。Sun 等^[15]用 OPN 中和抗体或整合素 β 3 抗体处理系膜细胞后,均可抑制系膜细胞增殖和Ⅳ型胶原合成。Nicholas 等^[7]观察了噻唑烷二酮类药物(吡格列酮、罗格列酮)与胰岛素对 DN 模型鼠的蛋白尿和血管紧张素Ⅱ所致 OPN 的升高的影响,发现噻唑烷二酮类比胰岛素更能减少 DN 的蛋白尿($p<0.05$),且独立于降血糖的作用。噻唑烷二酮类能显著减少血管紧张素Ⅱ所致的 OPN 的升高,而胰岛素则不能。还有研究显示重组人促红细胞生长素、醛固酮拮抗剂、缓激肽拮抗剂、他丁及贝特类降脂药、中药制剂、大豆等均可抑制 OPN 可改善糖尿病肾脏病变。从多实验显示 OPN 已经成为治疗糖尿病肾脏病变的新靶点。

5 展望

虽然 OPN 在糖尿病肾病动物模型中对蛋白尿起着关键作用,但临床 DN 肾活检并没有在肾小球上观察到 OPN 的强表

达,而近来对不典型病理类型 DN 研究中发现,早期肾小管和间质损伤也可出现尿蛋白升高和肾小球功能下降,是否 OPN 导致肾小管和间质损伤再损伤肾小球或者直接导致近端肾小管重吸收蛋白障碍,进而发展为蛋白尿应值得继续研究。另一方面,前述抑制 OPN 的多项基础实验已取得了可喜的成果,但正如 Heuer 和 Breyer^[6]两位学者在 Kidney Int 杂志上撰文所说骨桥蛋白到底是 DN 的关键因子,或仅是 DN 严重程度的一个指标,还需要更多的临床实验去验证。总之,OPN 与 DN 有着密切的关系,对其的进一步研究有助于了解糖尿病肾病的发病机制、开发新的生物学诊断标记物和治疗药物。

参考文献(References)

- [1] Xie Y, Sakatsume M, Nishi S, et al. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney [J]. Kidney Int, 2001, 60 (5): 1645 - 1657
- [2] Hullinger TG, Pan Q, Viswanathan HL, et al. TGF beta and BMP-2 activation of the OPN promoter: roles of smad-and hox-binding elements[J]. Exp Cell Res, 2001, 262:69-74
- [3] Sanchez AP, Sharma K. Transcription factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Expert Rev Mol Med, 2009, 11(13).1-19
- [4] Verhulst A, Persy VP, Van Rompay AR, et al. Osteopontin synthesis and localization along the human nephron [J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13: 1210-1218
- [5] 林珊,佟智颖,贾俊亚,等.糖尿病肾病患者肾小球上皮细胞 NF- κ B 及炎性介质表达的病理意义 [J]. 中华肾脏病学杂志,2010,26 (1):15-19
Lin Shan, Tong Zhi-ying, Jia Jun-ya, et al. Expression of inflammatory mediator in renal tubular epithelial cell and its clinicopathological significance in patients with diabetic nephropathy[J]. Chin J Nephrol, 2010,26(1):15-19(In Chinese)
- [6] Lorenzen J, Shah R, Biser A, et al. The role of osteopontin in the development of albuminuria [J]. J Am Soc Nephrol, 2008,19 (5): 884-890
- [7] Nicholas SB, Liu J, Kim J, et al. Critical role for osteopontin in diabetic nephropathy[J]. Kidney International, 2010, 77:588-600
- [8] Yamaguchi H, Igarashi M, Hirata A, et al. Progression of diabetic nephropathy enhances the plasma osteopontin level in type 2 diabetic patients[J]. Endocr J, 2004,51 (5):499-504
- [9] Kelly DJ, Wilkinson-Berka JL, Ricardo SD, et al. Progression of tubulointerstitial injury by osteopontin induced macrophage recruitment in advanced diabetic nephropathy of transgenic (mRen-2) 27 rats[J]. Nephrol Dial Transplant, 2002, 17:985-991
- [10] Zheng W, Li R, Pan H, et al. Role of osteopontin in induction of monocyte chemoattractant protein1 and macrophage inflammation protein 1 beta through the NF-Kappa B and MAPK pathways in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60:1957-1965
- [11] Li JH, Huang XR, Zhu HJ, et al. Role of TGF-beta signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions [J]. Kidney Int, 2003, 63:2010-2019
- [12] Junaaid A, Amara FM. Osteopontin: correlation with interstitial fibrosis inhuman diabetic kidney and PI3Kinase-mediated enhancement of expression by glucose in human proximal tubular epithelial cells[J]. Histopathology, 2004, 44:136-146
- [13] Li C, Yang CW, Park CW, et al. Long - term treatment with ramipril attenuates renal osteopontin expression in diabetic rats[J]. Kidney Int, 2003, 63 (2): 454 - 463
- [14] Kikuchi Y, Imakiire T, YamadaM, et al. Mizoribine reduces renal injury and macrophage infiltration in non - insulin - dependent diabetics[J]. Nephrol Dial Transp lant, 2005, 20 (8): 1573 - 1581
- [15] Sun J, Xu Y, Deng H, Sun S, et al. Involvement of osteopontin upregulation on mesangial cells growth and collagen synthesis induced by intermittent high glucose[J]. J Cell Biochem, 2010 109(6):1210-1221
- [16] Heuer J, Breyer M. Osteopontin in diabetic nephropathy: signpost or road[J]? Kidney Int, 2010, 77:565-566