

慢性肾功能衰竭的治疗现状及研究前景

王磊¹ 王珏² 付强¹ 邱建新¹ 马建军¹ 保庭毅^{1△}

(1 第四军医大学唐都医院泌尿外科 陕西 西安 710038 2 第四军医大学唐都医院感染科 陕西 西安 710038)

摘要 CRF 是威胁人类健康及生命的常见病之一,近年来平均每年以约 8% 的速度在增长。依靠慢性肾功能衰竭肾脏母体及机体的再生潜在在脱细胞基质支架上修复重建肾脏结构与功能,这将是慢性肾功能衰竭治疗的一种全新的途径。而去细胞基质在组织工程、干细胞及再生医学的大量应用为解决组织器官的修复和重建等难题带来了希望。本文就目前 CRF 的治疗现状及、肾脏组织工程研究前景进行简要综述。

关键词 慢性肾功能衰竭 组织工程 去细胞基质 干细胞 修复重建

中图分类号 R692.5 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)10-1983-03

Treatment Status and Research Prospects of Chronic Renal Failure

WANG Lei¹, WANG Jue², FU Qiang¹, QIU Jian-xin¹, MA Jian-jun¹, BAO Ting-yi^{1△}

(1 Department of Urology Surgery, Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China;

2 Department of Contagion Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

ABSTRACT: CRF is a threat to human health and life disease. In recently years, about 8 percent rate of average annual growth. Rely on the regeneration of the kidney and body potential repair and reconstruction of kidney structure and function in acellular matrix scaffold, this will be a new way the treatment of chronic renal failure. Extracellular matrix in tissue engineering, stem cells and regenerative medicine of a large number of applications brought hope to address tissue and organ repair and reconstruction challenges. Article on the current status and treatment of CRF, kidney tissue engineering research prospects are briefly reviewed.

Key words: Chronic Renal Failure; Tissue engineering; Extracellular matrix; Stem cell; Reconstruction

Chinese Library Classification(CLC): R692.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)10-1983-03

慢性肾功能衰竭是各种肾脏疾病进行发展的终末结局,是临床医学中最为复杂和最难处理的问题之一。随着组织工程学的诞生及发展,为自体组织工程肾移植带来了希望。依靠慢性肾功能衰竭肾脏母体及机体的再生潜在在脱细胞基质支架上修复重建肾脏结构与功能,这将为慢性肾功能衰竭治疗揭开新的篇章。

1 慢性肾功能衰竭的治疗现状

1.1 慢性肾功能衰竭(Chronic Renal Failure, CRF, 简称慢性肾衰)是一种常见的临床综合征

它由各种原因引起肾脏损害并进行性恶化,造成肾单位严重破坏、肾实质不可逆性逆转的损害,肾功能接近正常 10% 左右时,致使机体在排泄代谢产物和调节水电解质及酸碱平衡等方面发生紊乱,并形成尿毒症。慢性肾功能衰竭病因多种多样,各种原发性和继发性肾脏疾病持续发展,最终均可使肾实质受到破坏,导致肾功能衰竭,一般认为这种趋势是进行性的、不可逆的。在我国人群中,诱发 CRF 的病因中肾小球肾炎的发病率占 49%,是我国 CRF 的最常见病因。在美国,糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是致终末期肾功能衰竭的首位原因,在

欧洲居第二位。我国 DN 在终末期肾功能衰竭患者中所占的比例也已上升至 15%。

1.2 慢性肾功能损害常成进行性恶化

由于肾单位受到破坏而减少,残存有功能肾单位不足以充分排出代谢废物和维持内环境恒定,进而发生泌尿功能障碍和内环境紊乱,致使肾脏排泄调节功能和内分泌代谢功能严重受损而造成水与电解质、酸碱平衡紊乱出现一系列症状、体征和并发症。

由于慢性肾功能衰竭多种疾病所引起的,其早、中期的病理改变和损伤程度取决于原发病。但中后期发展至终末期在机制上则以非免疫机制为主,结局是纤维化和硬化。任何组织都是由细胞及其周围的基质(ECM)组成,当 ECM 持续异常增多,常成纤维化。它是组织损伤后的一种病理愈合过程。它分为三个连续且重叠的阶段:诱导阶段、基质沉积阶段和基质降解阶段。在此过程中,由于某种原因使基质沉积阶段持续存在而不进入基质降解阶段则纤维化过程持续存在甚至进行性发展,最终导致器官正常结构和功能丧失。肾间质纤维化是各种肾脏疾病发生肾衰竭终末期(End stage renal disease ESRD)共同途径。肾纤维化表现为不适当的结缔组织在肾脏聚集,包括间质胶原(Ⅰ型,Ⅱ型,Ⅲ型)纤粘连蛋白和一些糖蛋白,导致正常肾结构改变。随着对纤维化的细胞及生化机制不断了解,许多学者认为新的治疗措施应针对阻止肾纤维化发生与发展,但研究尚在起始阶段,对于指导临床治疗尚有待时日。

1.3 针对慢性肾功能衰竭的治疗思路

作者简介 王磊,男,医师,硕士研究生,研究方向:泌尿系功能与重建, E-mail:30682507@qq.com。

△通讯作者 保庭毅(1963-)男,教授,硕士生导师,第四军医大学唐都医院泌尿外科主任医师。E-mail:tdurol@fmmu.edu.com

(收稿日期:2011-08-31 接受日期:2011-09-24)

基本上有以下几种：①在已衰竭的肾脏基础上采取内科治疗方法(如饮食、药物、透析等)来改善或替代患者的肾功能。当前临床普遍采用的透析治疗,属于保守性治疗,仅能替代正常肾脏的部分功能,不能完全具备天然肾脏的各种复杂功能,而且必须长期依赖,不能摆脱。另外,长期透析治疗还会导致一些常见并发症^[1]。②移植一个新的肾脏替换原有肾脏,原肾脏被放弃。植入肾脏后数分钟甚至数秒钟内即可产生尿液,其疗效可谓立竿见影,优于内科所有疗法。但是,移植术后仍有并发症发生,例如:结核杆菌、霉菌、巨细胞病毒等特殊病原体感染发生率增加。肾脏移植虽然能从根本上治疗慢性肾病与肾功能衰竭,但因供体肾脏匮乏、异种移植失败和需要长期使用免疫抑制剂带来的肝肾毒性、消化道溃疡、恶性肿瘤等长期并发症的发生率增加而受到限制^[2-3]。③生物人工肾(bioartificial kidney BAK)其研究包括两个方面:生物人工肾小管和生物人工肾小球的研究,目前国外生物人工肾系统已经完成由美国食品药品监督管理局(FDA)批准的Ⅰ期临床实验,并取得了令人鼓舞的效果。但仍存在关键的问题有待解决例如:构建的BRK体积必须适合植于体内,种植细胞的长期存活、转染细胞抗凝活性及调节、BRK效能长期保存、植入体内后的感染、促红细胞生成素分泌及其他激素的代谢、血压的调节等问题仍需进一步研究、完善。

2 研究前景

2.1 细胞治疗(cell therapy)

目前这些方法的共同点是都没有充分利用衰竭肾脏的肾脏结构功能重建的潜力,建立在这个新思路上,可以采取“去陈出新”的策略。而近年来越来越成为热门的细胞治疗(cell therapy)却可以有效的利用患者自身衰竭的肾脏。细胞治疗首先是由瑞士医生 Niehans 创立,经过众多学者的不断改进和发展,从而形成了专门的活细胞治疗学科^[4]。细胞治疗的实质就是活细胞输入的治疗方法,是指将原代或体外培养的具有正常功能的细胞通过注射或植入的方法导入体内,代偿因各种原因引起的丧失功能的细胞,达到治疗疾病的目的;或将细胞在体外经过遗传修饰后直接用于治疗疾病的方法。近年来,随着干细胞技术的快速发展,干细胞治疗的应用给细胞治疗学带来了新的生机和美好的前景。

2.2 去细胞外基质技术

在慢性肾功能衰竭早期,利用在体灌注脱细胞剂的组织工程技术在 CRF 肾脏内选择性脱除部分沉积于肾小球内皮细胞、基底膜、系膜细胞的抗原抗体复合物及细胞外基质的大分子物质,保留仍有功能的肾脏细胞,依靠肾脏母体再生潜能及原始肾脏干细胞在细胞基质支架上修复重建肾脏结构与功能,这将是慢性肾功能衰竭治疗的一种全新的途径。

生理状态下 ECM 的合成和降解处于动态平衡,病理状态下这个动态平衡被打破,ECM 大量集聚,最终发生肾小球硬化和间质纤维化。业已发现降解 ECM 的蛋白酶降解酶类至少有六种:①丝氨酸蛋白酶类,包括胰蛋白酶、凝血酶、纤溶酶、纤溶酶原激活物等;②基质金属蛋白酶(MMPs),对 ECM 有广泛降解作用,是调节 ECM 动态平衡的重要酶类;③半胱氨酸蛋白酶,④天门冬氨酸蛋白酶,⑤脯肽酶,⑥糖苷酶,包括透明质酸

酶、肝素酶等,能降解 ECM 中的蛋白聚糖。其中丝氨酸蛋白酶类和 MMPs 在 ECM 降解中起重要作用。

基质金属蛋白酶系统中, MMPs 具有较强的 ECM 降解功能,属于锌依赖蛋白酶家族,按作用底物分为几个群组:①胶原酶,又称间质胶原酶,包括 MMPs-1、MMPs-8、MMPs-13、MMPs-18,主要降解纤维性胶原,即Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型胶原,不能降解明胶和Ⅳ型胶原;在中性环境中作用于Ⅰ型胶原的原胶原分子,使其在距离氨基端的 3/4 处断裂成两部分,断裂后的原胶原分子在正常体温下即可自动变性,丧失其螺旋构型,从而进一步被明胶酶和特异性的中性蛋白酶分解。细菌胶原酶可以直接降解瘢痕组织内的胶原纤维,可望成为一种快速有效的治疗增生性瘢痕和瘢痕疙瘩的新方法,还有,胶原酶在肝、肺纤维化治疗中的应用等,但是目前尚无将胶原酶应用于肾脏治疗肾功能衰竭的相关文献报道。②明胶酶,又称为Ⅱ型胶原酶,包括明胶酶 A(MMPs-2)和明胶酶 B(MMPs-9),两者均能降解明胶、基底膜Ⅱ型胶原,对Ⅰ、Ⅲ型胶原也有作用,但对基质胶原无活性。MMPs-2 可降解 FN、LN, MMPs-9 则作用很弱,是目前为止发现的水解活性最强的 MMPs,已断裂和变性的胶原,在明胶酶和其他中性蛋白酶的作用下,分解成多肽,再经肽酶分解为三肽,三肽经氨基肽酶分解为甘氨酸和二肽,最后经二肽酶分解为氨基酸。另外各种组织蛋白酶均有降解明胶和变性胶原片段的作用,有时也可被吞噬细胞吞噬,在溶酶体被降解。③间质溶解素,主要降解 FN、LN、弹性蛋白和蛋白糖苷的蛋白核,也能活化其他的 MMPs;④膜型基质金属蛋白酶,表达于细胞膜上,除降解胶原、FN、LN 等 ECM 成分外,也可进一步活化 MMPs。

2.3 肾脏再生及干细胞技术

近年来的研究发现从许多系统和器官中都可以分离出自身的干细胞包括中枢神经系统、肝脏、骨骼肌、视网膜等^[5-8]。近期有研究结果表明肾脏也有自身的干细胞存在。Oliver 等^[9]利用干细胞的低循环性给出生后 3 天的老鼠和鼠仔注射溴脱氧尿苷(BrdU)后,用免疫荧光显微镜追踪观察 2 个月后发现成人肾乳头 BrdU 着色细胞是肾脏干细胞,而肾乳头是肾脏干细胞的“蓄水池”。Lin^[10]从肾后性缺血损伤小鼠的外周注入骨髓干细胞后,测量了干细胞的分化来源情况:骨髓干细胞的分化只能解释 11%的再生小管上皮细胞的增殖,而 89%的再生上皮细胞的增殖是由肾脏自身的成体干细胞分化而来的。Duffield 等^[11]的实验数据也表明,肾脏受到缺血损伤后,骨髓来源的干细胞不能主要地解释上皮组织的修复,而内源性小管细胞才能主要解释这一点。Humphreys 等^[12]报道急性肾功能损伤后,许多残存的肾脏上皮细胞可发生去分化并表现出间充质细胞的特征,进而增生修复裸露的基底膜,再分化成有功能的上皮组织,这是因为小部分残存的小管内细胞拥有干细胞的特性,它们可以选择性地分化成邻近的受损细胞,并且再生小管细胞大多是通过肾内的成体干细胞分化而来的。

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells; BMSC)是骨髓内除造血干细胞之外的另一类干细胞,是骨髓造血微环境的重要组成部分,在体内外均具有支持和调控造血的作用。具有干细胞的共性,即自我更新及多向分化的能力^[18],表

现为能够体外大量扩增,同时保持原有生物学特性并在一定条件下被诱导分化生成骨、软骨、脂肪、心肌、神经元及肝等细胞^[19]。BMSC 在肾脏损伤领域的研究起步较晚,但目前已有研究证明外源性 BMSC 能够定居于肾脏并可以分化为肾脏细胞^[20]。Poulsom 等^[13]将雄性小鼠骨髓细胞移植于经全身放射线照射的雌性小鼠体内,结果受体小鼠肾组织的实质小管和肾小球足细胞中均发现了 Y-染色体阳性细胞。Kale 等^[14]的实验亦证实 BMSC 移植可显著降低血清 BUN 水平,促进肾功能恢复,移植的 BMSC 可定居在肾小管,但在肾小球中未发现。Hauger 等^[15]利用 MR 技术追踪 BMSC 在大鼠模型归巢情况,结论是静脉注射 BMSC 能归巢到肾小管损伤部位并进行修复。在国内,董兴刚^[16]等通过对急性肾小管坏死裸鼠肾动脉注射途径移植骨髓间充质干细胞证实移植的 BMSC 能定位于肾小管上皮,可促进 ATN 中损伤的肾小管上皮细胞的修复。王公先等^[17]通过对缺血再灌注模型的大鼠移植 BMSC 证实移植的外源性骨髓间充质干细胞能够迁移、定居于缺血再灌注损伤后的肾组织中并分化为肾小管上皮细胞,骨髓间充质干细胞移植可促进损伤肾脏本身的细胞增殖再生。

3 总结与展望

综上所述,在肾脏组织工程的研究中,利用衰竭肾脏的肾脏结构功能重建,结合细胞治疗及干细胞技术为工程化组织的构建提供了新的思路和方法。但是,脱细胞外基质方法及肾脏干细胞再生技术仍需进一步研究,随着这几方面研究的进一步深入,必将推进肾脏组织工程的飞速发展,使肾功能衰竭的治疗得到新的突破。

参考文献(References)

- [1] Held PJ, Port FK, Webb RL, et al. Excerpts from united states renal datasystem1995 Annual data report [J]. Am J Kidney Dis, 1995, 26 (4Suppl2): S1-S186
- [2] Hancock ww. The past, present and future of renal xenotransplantation[J]. Kidney Int, 1997, 51(3): 932-944
- [3] Samstein B, Platt J. Physiologic and immunologic hurdles to xenotransplantation[J]. J Am Soc Nephrol, 2001, 12(1): 182-193
- [4] Manganas LN, Maletic SM. Stem cell therapy for central nervous system demyelinating disease [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2005, 5 (3): 225-231
- [5] Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system [J]. Science, 1992, 255(5052): 1707-1710
- [6] Tropepe V, Coles BL, Chiasson BJ, et al. Retinal stem cells in the adult mammalian eye[J]. Science, 2000, 287(5460): 2032-2036
- [7] Jackson KA, Mi T, Goodell MA. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(25): 14482-14486
- [8] Herrera MB, Bruno S, Buttiqlieri S, et al. Isolation and characterization of a stem cell population from adult human liver [J]. Stem Cells, 2006, 24(12): 2840-2850
- [9] Juan A. Oliver, Omar Maarouf, Faisal H. Cheema. The renal papilla is an niche for adult kidney stem cells [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2004, 114(6): 301-315
- [10] Lin F, Moran A, Igarashi P. Intrarenal cells, not bone marrow-derived cells, are the major source for regeneration in postischemic kidney [J]. J Clin Invest, 2005, 115(7): 1756-1764
- [11] Duffield JS, Park KM, et al. Restoration of tubular epithelial cells during repair of the postischemic kidney occurs independently of bone marrow-derived stem cells [J]. J Clin Invest, 2005, 115(7): 1743-1755
- [12] Humphreys BD, Duffield JS, Bonventre JV. Renal stem cells in recovery from acute kidney injury [J]. Minerva Urol Nefrol, 2006, 58 (4): 329-337
- [13] Poulsom R, Forbes SJ, Hodivala-Dilke K, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turn over and regeneration [J]. J Pathol, 2001, 195: 229-235
- [14] Kale S, Karihaloo A, Clark PR, et al. Bone marrow stem cells contribute to repair of the ischemically injured renal tubule [J]. J Clin Invest, 2003, 112: 42-49
- [15] Hauger D, Frost EE, Heeswijk RV, et al. MR evaluation of the glomerular homing of magnetically labeled mesenchymal stem cells in a rat model of nephropathy [J]. Radiology, 2006, 238 (1): 200-210
- [16] Huls M, Russell F G, Maserbauer R. Insights into the role of bone marrow derived stem cells in renal repair [J]. Kidney Blood Press Res, 2008, 31: 104-110
- [17] Pountos I, Corscadden D, Emery P, Giannoudis P V. Mesenchymal stem cell tissue engineering: techniques for isolation, expansion and application [J]. Injury, 2007, 38(Suppl 4): S23-S33
- [18] Masahino M, Christopher J, et al. Hematopoietic origin of glomerular mesangial cell [J]. Blood, 2003, 104: 2215-2218
- [19] Imasawa T, Utsunomiya Y, Kawamura T, Zhong Y, Nagasawa R, Okabe M, et al. The potential of bone marrow derived cells to differentiate to glomerular mesangial cells [J]. J Am Soc Nephrol, 2001, 12: 1401-1409
- [20] Tae S K, Lee S H, Park J S, Im G I. Mesenchymal stem cells for tissue engineering and regenerative medicine [J]. Biomed Mater, 2006, 1: 63-71