

## • 糖尿病肾病专栏 •

## 肾小球基底膜中胶原的合成、降解与糖尿病肾病

任惠珠 王珊珊 郑妙艳 单春艳

【摘要】 糖尿病肾病是终末期肾病的主要原因,发病机制复杂。肾小球基底膜增厚及系膜区细胞外基质增生是主要的病理特点,胶原合成增多、降解减少是肾脏病理改变的主要原因。研究肾小球滤过屏障的生理功能与损伤机制,对深入了解糖尿病肾病的发生、发展尤为重要。

【关键词】 肾小球基底膜;胶原;合成;降解;糖尿病肾病

**Synthesis and degradation of collagen in glomerular basement membrane and their associations with diabetic nephropathy** Ren Huizhu, Wang Shanshan, Zheng Miaoyan, Shan Chunyan. Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), The Metabolic Disease Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China  
Corresponding author: Shan Chunyan, Email: chunyanshan@hotmail.com

【Abstract】 Diabetic nephropathy, with a complicated pathogenesis, has become the major cause of end stage renal disease. The thickening of glomerular basement membrane and hyperplasia of mesangial area of extracellular matrix are the main pathological features. Increased synthesis and decreased degradation of collagen are major causes of renal pathological changes. Researches of the physiological function and the injury mechanism of glomerular filtration barrier are particularly important for further understanding of the occurrence and development of diabetic nephropathy.

【Key words】 Glomerular basement membrane; Collagen; Synthesis; Degradation; Diabetic nephropathy  
(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35; 252-254)

糖尿病是由不同病因和发病机制引起的体内胰岛素绝对或相对不足,导致糖、蛋白质和脂肪代谢紊乱,并以慢性高血糖为主要临床表现的全身性疾病<sup>[1]</sup>。随着生活水平的提高、生活方式的改变及社会老龄化进程的加速,近 30 年来我国糖尿病患病率显著增加,患病人数居世界首位<sup>[2]</sup>。糖尿病肾病是终末期肾病的主要原因,国外学者报道,若不加干预,10~15 年内约 80% 的 1 型糖尿病和 30% 的 2 型糖尿病患者将由微量白蛋白尿进展为大量蛋白尿,在其后 20 年约 75% 的 1 型糖尿病和 20% 的 2 型糖尿病将进展为终末期肾病<sup>[3]</sup>。因此研究糖尿病肾病的发病机制及延缓其发生、发展已成为一个研究热点。

糖尿病肾病的发病机制已建立如下几种学说:高糖毒性的影响、多元醇通路的激活、肾素-血管紧张素系统的激活、活性氧簇、蛋白激酶 C 的激活、晚期糖基化终末产物的增加及肾小球过度滤过<sup>[4]</sup>。这些变化引起了多种细胞反应、细胞外基质及相关因子的表达,最终破坏肾小球滤过屏障,出现系膜基

质增生、基底膜增厚、结节性肾小球硬化、肾小管间质纤维化等组织学结构改变<sup>[5]</sup>。

### 1 肾小球基底膜与糖尿病肾病

在过去的 10 年中,许多研究都集中在糖尿病肾病时肾小球细胞成分(内皮细胞、系膜细胞、足细胞等)的变化对糖尿病肾病的影响。然而最近研究发现,肾小球细胞成分的改变也能引起肾小球基底膜的变化,通过基质与细胞间从外到内的信号传导,继发性的影响邻近细胞的特性和行为。表明肾小球基底膜最初的变化,可能对邻近的足细胞、内皮细胞、系膜细胞产生功能上的影响,从而影响肾小球滤过<sup>[6]</sup>。电镜检查证实,糖尿病肾病的特征性形态学改变是肾小球细胞外基质增多,包括肾小球基底膜增厚和系膜基质加宽。肾小球基底膜最初仅呈节段性轻度增厚,而后逐渐衍变成弥漫性增厚,厚度可达正常基底膜的 5~10 倍;系膜基质面积也随病变进展逐渐增加,若形成 Kimelstiel-Wilson 结节,还能在结节中见到同心圆排列的层状结构。因此,细胞外基质成分的积聚即合成增加、降解减慢导致了肾小球基底膜的增厚<sup>[7]</sup>。

### 2 肾小球基底膜的组成及对肾小球滤过屏障的影响

肾小球基底膜为凝胶状的细胞外基质,是最重要的静水压缓冲结构,厚约 250~400 nm,分为内、外

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.04.010

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473472)

作者单位:300070 天津医科大学代谢病医院内分泌研究所,卫生部激素与发育重点实验室

通信作者:单春艳,Email: chunyanshan@hotmail.com

疏松层和中间的致密层,由层黏连蛋白、Ⅳ型胶原、巢蛋白及硫酸肝素蛋白多糖等物质组成<sup>[8]</sup>。新近研究发现,肾小球基底膜通过小孔径筛网结构和表面丰富的阴离子电荷,发挥孔径屏障和电荷屏障的作用,此外还能贮存生长因子,为邻近细胞传递信息<sup>[9]</sup>。例如足细胞衍生的血管内皮生长因子,可作用于内皮细胞稳态的血管内皮生长因子信号轴,促进血管内皮细胞增殖,增加血管通透性,是正常和异常新生血管的重要调节因子<sup>[10]</sup>。发育成熟的肾小球基底膜中,层黏连蛋白构成以  $\alpha_5\beta_2\gamma_1$  链为主,连接肾小球基底膜各成分,并与足细胞基底侧表面受体整合素  $\alpha_3\beta_1$ 、整合素  $\alpha_6\beta_1$  及细胞外基质受体肌萎缩蛋白  $\alpha$ -Dystroglycan 相互作用<sup>[11]</sup>。Ⅳ型胶原是基底膜中,最丰富的蛋白,约占基底膜总蛋白含量的 50%。随着肾小球基底膜的发育成熟,Ⅳ型胶原的组分由  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  亚链逐渐向更加坚韧的  $\alpha_3$ 、 $\alpha_4$ 、 $\alpha_5$  亚链转化。其在细胞外基质中形成胶原纤维网,并通过结合细胞黏附分子(层黏连蛋白等)限制血浆大分子物质通过肾小球滤过膜,从而发挥机械屏障作用,对维持肾脏正常组织结构、保证肾脏正常生理功能发挥重要作用<sup>[12]</sup>。巢蛋白在基底膜中为连接层黏连蛋白和Ⅳ型胶原的桥梁糖蛋白。但在巢蛋白基因敲除小鼠中,基底膜仍可正常发挥其生理功能<sup>[13]</sup>。肾小球基底膜中蛋白聚糖以硫酸肝素蛋白多糖为主,主要分布于外疏松层,基质蛋白核心包括基膜蛋白聚糖、集聚蛋白、胶原 XVⅢ。随着肾单位的发育,肾小球基底膜中基膜蛋白聚糖、胶原 XVⅢ减少,集聚蛋白表达增加<sup>[14]</sup>。集聚蛋白的硫酸糖胺聚糖侧链携带负电荷,占据肾小球基底膜的阴离子位点,调节肾小球滤过屏障电荷选择通透性。但近年研究提示,在集聚蛋白基因突变的小鼠中,其肾小球基底膜阴离子位点的密度及膜上集聚蛋白表达减少,但是肾小球的结构和功能没有受到损害。说明肾小球基底膜上的负电荷及集聚蛋白对滤过屏障未起决定性作用<sup>[15]</sup>。

### 3 肾小球基底膜中胶原的积聚与糖尿病肾病

Good 等<sup>[16]</sup>发现尿胶原衍生多肽的减少与胶原在细胞外基质的积聚增加有关。Zürbig 等<sup>[17]</sup>研究显示,在糖尿病肾病患者中尿胶原片段的减少早于微量白蛋白尿的出现,说明肾脏中胶原积聚的出现早于糖尿病肾病的发生。在早、中期糖尿病肾病中胶原含量的升高与胶原代谢的变化有关。在胶原合成过程中,脯氨酸和赖氨酸经脯氨酰羟化酶的催化,形成羟脯氨酸和羟赖氨酸,再经半乳糖基转移酶和葡萄糖基转移酶的作用,形成半乳糖葡萄糖羟脯氨酸。糖尿病时这些酶的活性升高,基底膜中羟脯

氨酸、羟赖氨酸和半乳糖葡萄糖羟脯氨酸的浓度增加,胶原合成明显增加<sup>[18]</sup>。另外,胶原降解减慢也是糖尿病肾病胶原积聚的重要机制之一<sup>[19]</sup>。多种细胞和细胞因子参与调节胶原的合成和降解。胶原降解一般局限于某一区域,基质金属蛋白酶(MMP)在细胞外基质的降解中发挥重要作用,同时组织型 MMP 抑制因子(TIMP)参与调控 MMP 的活性。目前已经发现的 MMP 有 20 多种,根据其作用底物的不同分为 4 类:间质胶原酶、Ⅳ型胶原酶、基质溶解素和膜型 MMP<sup>[20]</sup>。糖尿病肾病时出现细胞外基质积聚的直接原因是细胞外基质的产生和降解平衡被打破。具有抗纤维化酶、促炎性反应介质双重身份的Ⅳ型胶原酶在肾脏局部和外周血表达和活性的改变,及其与其他细胞因子的相互作用是糖尿病肾病进展的关键环节。

目前关于糖尿病肾病中 MMP-2/TIMP-2、MMP-9/TIMP-1 变化及其调控虽有很多报道,但结果不一。Liu 等<sup>[21]</sup>发现在糖尿病肾病小鼠系膜细胞中存在 MMP-2/TIMP-2 活性异常,即 MMP-2 表达降低, TIMP-2 表达升高,两者比例失衡,与Ⅳ型胶原沉积相平行,对糖尿病肾病的发生和发展有重要作用。糖尿病肾病时 MMP-2 活性和蛋白表达降低的机制尚未完全明确,可能与下列因素有关:(1)高糖作用:高糖可直接抑制肾脏 MMPs 的表达和活化,同时上调 TIMPs 的表达<sup>[22]</sup>。(2)细胞因子的调节:糖尿病肾病发生、发展过程中多种细胞因子参与调节 MMP-2 的表达及活性。Elrashidy 等<sup>[23]</sup>研究发现,高血糖能降低系膜细胞 MMP-2 的表达及活性,升高 TIMP-2 水平,同时明显增加转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )的表达。应用外源性 TGF- $\beta_1$  能放大高糖降低 MMP-2 活性的效应,而且 TGF- $\beta_1$  拮抗剂可以阻断高糖对 MMP-2 活性的抑制,提示高糖对 MMPs 的影响是通过 TGF- $\beta_1$  介导的。(3)蛋白质非酶促糖基化作用:持续高血糖状态下体内形成的晚期糖基化终末产物不仅对蛋白水解酶的敏感性降低,同时还能抑制 MMP-2 的合成及活性。另外,晚期糖基化终末产物与其受体结合后诱导多种细胞因子、生长因子的合成、释放,从而影响 MMP-2 的基因转录<sup>[24]</sup>。Peng 等<sup>[25]</sup>研究发现,高糖环境下人近端肾小管上皮细胞中 MMP-9 的表达下降, TIMP-1 表达升高。而 Furukawa 等<sup>[26]</sup>对 2 型糖尿病 KK-A<sup>y</sup> 小鼠肾脏 MMP-9 及其细胞内信号转导通路进行研究,发现与非糖尿病小鼠相比, KK-A<sup>y</sup> 小鼠肾小球硬化指数明显升高,肾组织 MMP-9 及其 mRNA 表达增加,并伴有核因子- $\kappa$ B、丝裂原活化蛋白激酶激活,而抑制核因子- $\kappa$ B、丝裂原活化蛋白激酶的活性可降低 MMP-9

表达,推测抑制核因子- $\kappa$ B 及丝裂原活化蛋白激酶活性可减轻糖尿病肾病的程度。糖尿病肾病时 MMP-9/TIMP-1 表达变化的机制尚不十分清楚,推测高糖可能通过对 MMPs 类基因转录、活化及抑制等复杂的调控而影响其作用。系膜细胞由静止表型转变为炎性表型,出现快速增殖,表达新型蛋白,合成细胞外基质增多,导致系膜基质堆积;或者基底膜被降解,细胞与基质的正常连接被破坏,影响肾小球基底膜的重塑,导致肾小球损伤或蛋白尿<sup>[27]</sup>。

综上所述,肾小球基底膜增厚及系膜区细胞外基质增生是糖尿病肾病的主要病理特点。胶原合成增多、降解减少是胶原积聚且导致上述肾脏病理改变的主要原因。胶原代谢的异常主要与高血糖、蛋白质非酶糖化作用、细胞因子等有关。因此,长期有效地控制血糖对防治糖尿病肾病非常重要。在糖尿病状态下,许多参与糖尿病肾病发生、发展的因素可通过各种途径直接或间接参与 IV 型胶原酶的转录、合成和活性调节,导致细胞外基质异常重构。肾脏局部 MMP-2、MMP-9 活性下降是细胞外基质积聚的主要原因。在糖尿病肾病中纠正 MMP-2、MMP-9 的表达异常可减少细胞外基质积聚、防止延缓肾小球硬化。可以 MMPs/TIMPs 为靶点研制相应抗体或抑制剂,从而为治疗糖尿病肾病提供新的方法。

### 参 考 文 献

- [1] Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management [J]. *Lancet*, 2011, 378(9786): 169-181.
- [2] Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 103(2): 137-149.
- [3] Blouza S, Dakhli S, Abid H, et al. Efficacy of low-dose oral sulodexide in the management of diabetic nephropathy [J]. *J Nephrol*, 2010, 23(4): 415-424.
- [4] Sun YM, Su Y, Li J, et al. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic nephropathy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 433(4): 359-361.
- [5] Maezawa Y, Takemoto M, Yokote K. Cell biology of diabetic nephropathy: roles of endothelial cells, tubulointerstitial cells and podocytes [J]. *J Diabetes Investig*, 2015, 6(1): 3-15.
- [6] Suh JH, Miner JH. The glomerular basement membrane as a barrier to albumin [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2013, 9(8): 470-477.
- [7] Ekinci EI, Jerums G, Skene A, et al. Renal structure in normoalbuminuric and albuminuric patients with type 2 diabetes and impaired renal function [J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(11): 3620-3626.
- [8] Menon MC, Chuang PY, He CJ. The glomerular filtration barrier: components and crosstalk [J]. *Int J Nephrol*, 2012, 2012: 749010.
- [9] Miner JH. Glomerular basement membrane composition and the filtration barrier [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(9): 1413-1417.
- [10] Byron A, Randles MJ, Humphries JD, et al. Glomerular cell cross-talk influences composition and assembly of extracellular matrix [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(5): 953-966.
- [11] Goldberg S, Adair-Kirk TL, Senior RM, et al. Maintenance of glomerular filtration barrier integrity requires laminin alpha5 [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(4): 579-586.
- [12] Olaru F, Wang XP, Luo W, et al. Proteolysis breaks tolerance toward intact  $\alpha$ 345(IV) collagen, eliciting novel anti-glomerular basement membrane autoantibodies specific for  $\alpha$ 345NC1 hexamers [J]. *J Immunol*, 2013, 190(4): 1424-1432.
- [13] Bader BL, Smyth N, Nedbal S, et al. Compound genetic ablation of nidogen 1 and 2 causes basement membrane defects and perinatal lethality in mice [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(15): 6846-6856.
- [14] McCarthy KJ, Wassenhove-McCarthy DJ. The glomerular basement membrane as a model system to study the bioactivity of heparan sulfate glycosaminoglycans [J]. *Microsc Microanal*, 2012, 18(1): 3-21.
- [15] Goldberg S, Harvey SJ, Cunningham J, et al. Glomerular filtration is normal in the absence of both agrin and perlecan heparan sulfate from the glomerular basement membrane [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(7): 2044-2051.
- [16] Good DM, Zürlbig P, Argilés A, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(11): 2424-2437.
- [17] Zürlbig P, Jerums G, Hovind P, et al. Urinary proteomics for early diagnosis in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2012, 61(12): 3304-3313.
- [18] Taniguchi K, Xia L, Goldberg HJ, et al. Inhibition of Src kinase blocks high glucose-induced EGFR transactivation and collagen synthesis in mesangial cells and prevents diabetic nephropathy in mice [J]. *Diabetes*, 2013, 62(11): 3874-3886.
- [19] Rabbani N, Thornalley PJ. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2014, 63(1): 50-52.
- [20] Ma Q, Zhang L, Yao L, et al. Effects of herbal compound 861 on collagen synthesis and degradation in rat mesangial cells exposed to high glucose [J]. *Chin J Integr Med*, 2014, 20(3): 209-215.
- [21] Liu M, Zhang Y, Chi Y, et al. Delivery of megsin siRNA plasmid reveals therapeutic potential against diabetic nephropathy by down-regulating p27 (kip1) level [J]. *J Nephrol*, 2012, 25(3): 418-425.
- [22] Li J, Lim SS, Lee JY, et al. Purple corn anthocyanins dampened high-glucose-induced mesangial fibrosis and inflammation: possible renoprotective role in diabetic nephropathy [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(4): 320-331.
- [23] Elrashidy RA, Asker ME, Mohamed HE. Pioglitazone attenuates cardiac fibrosis and hypertrophy in a rat model of diabetic nephropathy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2012, 17(3): 324-333.
- [24] Hopps E, Caimi G. Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome [J]. *Eur J Intern Med*, 2012, 23(2): 99-104.
- [25] Peng L, Yang J, Ning C, et al. Rhein inhibits integrin-linked kinase expression and regulates matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cell [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(10): 1676-1685.
- [26] Furukawa M, Gohda T, Hagiwara S, et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren on urinary albumin excretion in spontaneous type 2 diabetic KK-A (y) mouse [J]. *Int J Nephrol*, 2013, 2013: 519130.
- [27] Aggarwal HK, Jain D, Talapatra P, et al. Evaluation of role of doxycycline (a matrix metalloproteinase inhibitor) on renal functions in patients of diabetic nephropathy [J]. *Ren Fail*, 2010, 32(8): 941-946.

(收稿日期: 2015-02-28)