

- [22] Schito GC, Felmingham D. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin, azithromycin and telithromycin (PROTEKT 1999-2003)[J]. *J Antimicrob Agents*, 2005, 26(3): 479-485.
- [23] Kim SH, Song JH, Chug DR, et al. Changing trends in antimicrobial resistance and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asian countries: an Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) study. [J]. *J Antimicrob Agents*, 2012, 56(6): 1418-1426.
- [24] Camilli R, Iannelli F, Pantosti A, et al. New genetic element carry-

ing the erythromycin resistance determinant erm(TR) in *Streptococcus pneumoniae*[J]. *J Antimicrob Agents*, 2008, 52(4): 619-625.

- [25] Cochetti I, Tili E, Vecchi M, et al. New Tn916-related elements causing erm(B)-mediated erythromycin resistance in tetracycline-susceptible pneumococci[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60(1): 127-131.

(收稿日期: 2014-03-01)

• 综述 •

糖尿病肾病发病机制及治疗研究新进展

牛春波¹综述, 李建华^{2△}审校

(1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院肾内科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 糖尿病肾病; 发病机制; 治疗**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.035**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2014)16-2204-03

糖尿病肾病(DN)是糖尿病最严重的并发症,近年在世界范围内患病人数不断增长,成为导致终末期肾脏病的主要原因之一^[1]。表现为肾小球高滤过、滤出清蛋白、肾小球基底膜增厚、系膜细胞增生及细胞外基质增多,导致肾小管及间质的纤维化,最终引起肾脏功能衰竭^[2-3]。DN是一种多因素参与诱发的疾病,发病机制包含多种不同的细胞、分子及其相关因素^[4],目前已知的机制有高血糖状态、血流动力学改变、肾素-血管紧张素 II-醛固酮系统激活、炎症信号通路等,但具体机制仍未详细阐明。本文就 DN 的发病机制及治疗研究进行如下综述。

1 DN 发病机制的研究进展

1.1 高血糖 一般情况下高血糖被认为是 DN 患者体内代谢异常通路的始发因素,通过提升葡萄糖氧化和线粒体生成活性氧,而加剧氧化应激,引起 DNA 损伤,加速细胞凋亡,最终引起肾小管及间质的纤维化^[5]。也增加了活性氧多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶的数量,在糖酵解及其他替代途径中抑制甘油醛磷酸脱氢酶,从而介导细胞损伤^[6]。但国外有研究发现,糖尿病患者移植非糖尿病患者的肾脏后,即使合理控制血糖, DN 仍继续发展。因此,高血糖可能是必要条件^[7]。

1.2 多元醇通路 持续的高血糖激活以醛糖还原酶为限速酶的多元醇代谢通路,在还原型辅酶 II 作用下葡萄糖大量转化为山梨醇,使细胞内谷胱甘肽水平降低,晚期糖基化终末产物及纤维连接蛋白数量增加,对细胞产生渗透性损伤,导致细胞结构和功能异常,直接影响了肾小球和肾小管的功能^[8]。近年来研究发现高血糖环境及醛糖还原酶过度表达,促使纤维连接蛋白数量增加,而醛糖还原酶抑制剂能减少纤维连接蛋白的数量^[9]。

1.3 非酶糖基化及晚期糖基化终末产物(AGEs) 在慢性持续高血糖状态下, AGEs 是葡萄糖分子的游离醛基与蛋白质、脂肪酸或核酸的氨基基团发生非酶糖基化反应所形成的一系列具有高度活性终末产物的总称。在糖尿病患者体内, AGEs 的水平与糖尿病并发症的发生及其严重程度呈正相关, DN 患者会引起肾脏功能丧失^[10]。Sebekova 等^[11]证实,在残存肾脏大鼠模型中,喂养富含 AGEs 的饲料 6 周,肾脏质量较前明显增加,并出现蛋白尿,而且不依赖肾小球滤过率的改变,表明含有 AGEs 的食物对肾脏具有损害作用。

1.4 蛋白激酶 C(PKC) PKC 是由不同的同工酶组成的丝氨酸/苏氨酸相关的蛋白激酶,在 DN 的发展过程中起到信号传递的作用。二酯酰甘油是激活 PKC 的主要胞内物质,可直接激活 PKC^[12],激活后会导致内皮功能障碍;一氧化氮的释放减少,导致血管收缩障碍;内皮素-1 和血管内皮生长因子及血管黏附分子过度表达,导致内皮增殖,促进肾小球的硬化,还与转化生长因子-β1 密切相关,可引发炎症反应,并具有促纤维化作用^[13];引起核因子-κB 及纤溶酶原激活物抑制剂-1 的过度表达,进一步发生组织炎症反应及血栓性微血管病^[14]。

1.5 氧化应激 近年来研究发现氧化应激与高血糖状态密切相关,在导致 DN 并发症中起到一定的作用^[15]。在肾脏固有细胞,活性氧可作为信号分子激活许多通路,如 PKC、MAPK 和 JAK/STAT 等,引发一系列级联反应,最终引起细胞损伤^[16]。诱导多种细胞因子生成,肾脏血流动力学发生转变,肾小球内皮细胞受损,系膜细胞外基质沉积及肾小球基底膜增厚。烟酰胺腺苷二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶和线粒体功能障碍,被证实是 DN 患者氧化应激的两种主要来源^[17]。

1.6 炎症介质 许多的炎症分子参与了 DN 的发生和进展过程,例如转化生长因子-β(TGF-β)、白细胞介素家族、趋化因子、黏附分子、Toll 样受体、脂肪因子、核受体、血浆纤溶酶原激活物抑制因子,血管内皮生长因子等,激发一系列的炎症信号通路,导致肾小管及间质纤维化、细胞外基质增厚,最终引发肾脏功能障碍^[18]。TGF 是致纤维化的重要因子,包括 β1、β2、β3 3 个亚型,肾脏以 TGF-β1 为主,主要分布于肾小球及肾小管上皮细胞。高血糖激活 TGF-β1/Smad 通路,可调控细胞外基质的形成。当 TGF-β1 过度表达时,基质增生并致肾脏组织纤维化。同时二酯酰甘油-蛋白激酶 C 通路也是活化 TGF-β1 的主要方式之一,高血糖引发的多元醇通路、非酶糖基化、PKC 等上游环节亦可引起 TGF-β1 的活化^[2]。

2 DN 治疗的研究进展

2.1 阻断多元醇通路 依帕司他是新型的醛糖还原酶抑制剂,能抑制多元醇通路降低氧化应激和炎症反应的程度。国外研究显示依帕司他不仅延缓早期 DN 微量清蛋白的进展,也抑制糖尿病患者视网膜点状出血和硬性渗出^[19]。近期国外有一项关于新型醛糖还原酶抑制剂的试验,动物被随机分组,包括正常 SD 大鼠和未经处理的 SDT 大鼠,分别给予口服雷尼司他

(0.1、1.0、10 mg/kg) 或依帕司他(100 mg/kg) 40 周,接受药物 40 周后在大鼠双眼及坐骨神经测量山梨醇及果糖水平,以评价 DN 的进展。结果是雷尼司他能显著降低糖尿病性白内障的进展速度,依帕司他则不能。所以,雷尼司他既能抑制 DN 的进展,又能减慢糖尿病性白内障的发展;依帕司他则仅能抑制 DN 的进展^[20]。

2.2 抑制非酶糖基化及晚期糖基化终产物及氧化应激水平
AGEs 受体途径的激活引发随后的炎症反应及氧化应激^[21],由此得出 AGEs 受体抑制剂是新型的靶点治疗方法。一些 AGEs 受体抑制剂如吡哆胺,LR-90 及 KIOM-79 被运用于临床动物实验表现出对肾脏的保护作用。黄连素被应用于治疗中,是其成分中的黄连主要起到抗氧化的作用^[22]。Endo 等^[23]对 162 例 2 型糖尿病患者,(尿蛋白大于 300 mg/d) 进行随机试验,80 例给予普罗布考(500 mg/d),82 例不给予。随访 5 年以观察出现肾脏功能下降的时间。结果是 72 例出现肾脏功能下降,其中 69 例接受血液透析治疗,42 例为非普罗布考组,27 例为普罗布考组。这说明普罗布考通过抗氧化减缓 DN 的发病进展及减少肾脏功能受损事件的发生。

2.3 抑制 PKC 通路 鲁伯斯塔是 PKC-β 的选择性抑制剂,近年被用于 DN 的治疗当中^[24]。在一个 2 型 DN 患者的随机试验中,3 组患者分别给予肾素-血管紧张素 II-醛固酮系统抑制剂,鲁伯斯塔 32 mg 或安慰剂。服用鲁伯斯塔组患者尿蛋白量明显降低,其他组间无明显不同^[25]。另一个关于鲁伯斯塔的随机试验,目的是评估对肾小球滤过率的影响,结果与安慰剂组无明显不同^[26]。此结果备受争议,也许 PKC-α 与尿蛋白有更高相关性^[27]。

2.4 抑制炎症介质的产生 吡非尼酮是一种新型的广谱抗纤维化药物,主要作用是抑制 TGF-β1,也能够清除自由基^[28]。在一项 db/db 大鼠的实验中,用吡非尼酮治疗大鼠 4 周的时间,大鼠肾小球系膜基质生成减少,基质基因表达也明显减少,其保护肾脏作用是通过抑制 RNA 加工处理^[29]。近期研究发现柚皮素具有抗炎作用,通过减少 TGF-β1 的转化,降低 IV 型胶原蛋白及纤维连接蛋白的表达^[30]。近期发现一种葱属植物——苍葱,苍葱叶提取物被证明有效降低 TGF-β1 表达,也对其他炎症通路的抑制产生有益的影响^[31]。

3 小 结

综上所述, DN 的发生、发展涉及多种发病机制的参与,各个机制在发病中所起到的作用众说纷纭。尽管现在 DN 的发病机制尚不够明确,继续深入研究 DN 的发病机制将对相应的治疗起到指导作用,并具有重要的理论与临床意义。

参 考 文 献

[1] Packham DK, Alves TP, Dwyer JP, et al. Relative incidence of ESRD versus cardiovascular mortality in proteinuric type 2 diabetes and nephropathy: results from the DIAMETRIC (Diabetes Mellitus Treatment for Renal Insufficiency Consortium) database [J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 59(1): 75-83.
 [2] 吕飞,唐丽琴. 炎症因子在糖尿病肾病相关信号通路中的作用 [J]. *中国药房*, 2012, 21(18): 1706-1710.
 [3] Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(5): 1358-1373.
 [4] Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy [J]. *Cardiovasc Ther*, 2012, 30(1): 49-59.
 [5] Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications [J]. *Circ Res*, 2010, 107(1): 1058-1070.
 [6] Murarka S, Movahed MR. Diabetic cardiomyopathy [J]. *J Card*

Fail, 2010, 16(1): 971-979.
 [7] Dronavalli S, Duka I, Bakris GL. The pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *J Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2008, 4(8): 444-452.
 [8] Lewko B, Latawiec E, Maryn A, et al. Osmolarity and glucose differentially regulation aldose reductase activity in cultured mouse podocytes [J]. *Exp Diabets Res*, 2011, 20(11): 278963.
 [9] Huang P, Zhang Y, Jiang T, et al. Role of aldose reductase in the high glucose induced expression of fibronectin in human mesangial cells [J]. *J Mol Biol Rep*, 2010, 37(6): 3017-3021.
 [10] 吕翠,刘洪娟,刘晓丽,等. 晚期糖基化终末产物受体及其抑制剂的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(4): 452-456.
 [11] Sebekova K, Faist V, Hofmann T, et al. Effects of a diet rich in advanced glycation end products in the rat remnant kidney model [J]. *Am J Kidney Dis*, 2003, 41(3): 48-51.
 [12] 张晓东,耿文佳,魏日胞. 炎症信号通路在糖尿病肾病中的研究进展 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012, 12(2): 177-179.
 [13] Kanwar YS, Wada J, Sun L, et al. Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression [J]. *Exp Biol Med*, 2008, 233(2): 4-11.
 [14] Wolf G. New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from hemodynamics to molecular pathology [J]. *Eur J Clin Invest*, 2004, 34(1): 785-796.
 [15] Brown WV. Microvascular complications of diabetes mellitus: renal protection accompanies cardiovascular protection [J]. *Am J Cardiol*, 2008, 102(2): 10-13.
 [16] Wagener FA, Dekker D, Berden JH, et al. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney [J]. *Apoptosis*, 2009, 14(12): 1451-1458.
 [17] Noh H, Ha H. Reactive oxygen species and oxidative stress [J]. *Contrib Nephrol*, 2011, 170(2): 102-112.
 [18] Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Clin Sci(Lond)*, 2013, 124(1): 139-152.
 [19] Hotta N, Kawamori R, Fukuda M, et al. Short report: treatment long-term clinical effects of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on progression of diabetic neuropathy and other microvascular complications: multivariate epidemiological analysis based on patient background factors and severity of diabetic neuropathy [J]. *Diabet Med*, 2012, 29(12): 1529-1533.
 [20] Ayumi O, Akihiro K, Fumihiko T, et al. Effects of long-term treatment with ranirestat, a potent aldose reductase inhibitor, on diabetic cataract and neuropathy in spontaneously diabetic torii rats [J]. *J Diabetes Res*, 2013, 10(1): 1155-1163.
 [21] Chung AC, Zhang H, Kong YZ, et al. Advanced glycation end-products induce tubular CTGF via TGF-β-independent Smad3 signaling [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(1): 249-260.
 [22] Wu D, Wen W, Qi CL, et al. Ameliorative effect of berberine on renal damage in rats with diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(8/9): 712-718.
 [23] Endo K, Saiki A, Yamaguchi T. Probucol suppresses initiation of chronic hemodialysis therapy and renal dysfunction-relate death in diabetic nephropathy patients. Sakura Study [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2013, 20(5): 494-502.
 [24] Danis RP, Sheetz MJ. Ruboxistaurin: PKC-beta inhibition for complications of diabetes [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2009, 10(17): 2913-2925.
 [25] Tuttle KR, Bakris GL, Toto RD, et al. The effect of ruboxistaurin on nephropathy in type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2005, 28(2): 2686-2690.
 [26] Tuttle KR, McGill JB, Haney DJ, et al. Kidney outcomes in long-term studies of ruboxistaurin for diabetic eye disease [J]. *Clin J am*

Soc Nephrol, 2007, 20(2): 631-636.

[27] Menne J, Meier M, Park J, et al. Inhibition of protein kinaseC in diabetic nephropathy-where do we stand[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(2): 2021-2023.

[28] van Buren PN, Toto R. Current update in the management of diabetic nephropathy[J]. Curr Diabetes Rev, 2013, 9(1): 62-77.

[29] RamachandraRao SP, Zhu Y, Ravasi T, et al. Pirfenidone is renoprotective in diabetic kidney disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(8): 1765-1775.

[30] Tsai SJ, Huang CS, Mong MC, et al. Anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of naringenin in diabetic mice[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(1): 514-521.

[31] Kim YS, Jung DH, Lee IS, et al. Effects of allium victorialis leaf extracts and its single compounds on aldose reductase, advanced glycation end products and TGF- β 1 expression in mesangial cells[J]. BMC Complement Altern Med, 2013, 13(1): 251.

(收稿日期: 2014-03-03)

• 综 述 •

DNA 甲基化在高血压疾病中的研究

翟秀伟 综述, 胡大春[△] 审校

(云南省昆明市第一人民医院检验科, 云南昆明 650011)

关键词: 表观遗传学; 高血压; 基因甲基化

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 16. 036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)16-2206-02

高血压病是一个复杂的疾病, 现在主要从遗传和环境因素研究发病机制^[1], 通过基因 DNA 甲基化研究高血压疾病的发病机制受到更多人的关注。参与高血压发病的相关基因有很多种, 不同基因甲基化或去甲基化在高血压发病中的机制各不相同。高血压疾病的主要相关基因有血管紧张素受体(ATR)、11 β 羟基类固醇脱氢酶 2(11 β -HSD-2)、内皮素转换酶 1(ECE-1)、血管紧张素转换酶(ACE)、血管紧张素原(AGT)、醛固酮合成酶基因等几十种, 这些在高血压的发生发展中起到不同程度的调控作用, 由于这些基因突变、DNA 甲基化或去甲基化、组蛋白修饰和染色体重塑等机制, 影响并改变了高血压调控作用, 从而导致高血压病的发生发展。DNA 甲基化的改变在高血压的发病机制中发挥重要作用^[2], 本文就高血压病相关基因的甲基化改变在高血压发病机制中的作用研究进展综述如下。

1 DNA 甲基化及其特点

DNA 甲基化是 S-腺苷甲硫氨酸上的甲基在 DNA 甲基转移酶的催化下, 共价结合到 DNA 分子中胞嘧啶环第 5 位碳原子上, 形成 5-甲基胞嘧啶(5-mC)。DNA 甲基化在哺乳动物中常发生在 CpG 苷酸序列, 主要发生在基因启动子、转座子和印记控制区的 CpG 岛^[3-4]。DNA 甲基化的主要功能与转录沉默的蛋白质编码基因相关, 通过调节基因表达信息, 从而起到调控功能蛋白表达^[5]。如果启动子区域 CpG 岛发生甲基化或去甲基化, 将表现为基因表达不同程度的激活或抑制。DNA 甲基化在基因印记、X 染色体失活、某些疾病的发生发展中发挥重要作用。一些研究分析把基因组 DNA 甲基化与同型半胱氨酸(Hcy)作为心血管疾病的一个生物学标志物^[6]。

2 基因去甲基化或低甲基化与高血压病

2.1 血管紧张素受体(ATR)基因 ATR 通过介导血管紧张素直接收缩小动脉、分泌醛固酮或释放儿茶酚胺, 使高血压升高。有研究发现, AT1b 受体基因通过甲基化改变参与了高血压的发生发展, AT1b 基因启动子区低甲基化或去甲基化可导致高血压的发生。文献[7-8]报道用糖皮质激素(地塞米松)干预转染了 pGL3AT1b 的 Y1 细胞研究发现, 肾上腺 AT1b 受体基因启动子发生去甲基化, AT1b 受体基因表达随之上调, 引起血管紧张素的分泌增加导致血压高于正常, 实验结果说明, AT1b 受体基因的低甲基化可作为高血压病发生的潜在病因

之一。

2.2 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 转运蛋白 1(NKCC1)基因 位于细胞膜上离子通道转运蛋白, 维持体内离子动态平衡。K⁺、Na⁺、Cl⁻ 转运蛋白异常将导致细胞内外离子失去平衡, 出现机体水盐代谢紊乱, 引起血压增高。Lee 等^[9]报道, 通过原发性高血压的鼠动物实验, 提示 NKCC1 基因启动子低甲基化可引起 NKCC1 基因高表达, 导致高血压病发生。Cho 等^[10]用动物模型研究认为 NKCC1 基因启动子低甲基化能引起 NKCC1 表达上调, 引起血压升高。因此, NKCC1 基因启动子低甲基化可能是高血压病发生的重要因素之一。

2.3 血管紧张素转换酶(ACE)基因 ACE 是一种膜结合肽链内切酶, 参与血管紧张素 I 和缓激肽代谢^[11]; 催化血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II, 血管紧张素 II 作用于血管紧张素受体 I, 使血管平滑肌收缩、刺激醛固酮分泌、促进肾脏对 Na 重吸收, 引起钠水潴留, 血容量增加, 从而导致血压升高。Goyal 等^[12]研究发现, 孕期小鼠低蛋白饮食引起胎鼠 ACE-1 基因启动子区域 CpG 岛低甲基化, 导致 ACE-1 上调引起成年鼠高血压。Rivière 等^[13]研究发现血管紧张素转换酶启动子甲基化可抑制管紧张素转换酶的表达; 反之, ACE 分泌增加, 提示 ACE 的低甲基化可能参与高血压的发生发展。

2.4 ADD1 基因 ADD1 基因是 α -adducin 编码基因的亚基因, α -adducin 分子调节表达多种转运蛋白和离子泵, 从而调节细胞信号转导和细胞膜离子运输^[14]。人类和动物模型研究发现, ADD1 基因是高血压病的一个候选基因^[14-15], ADD1 基因的改变引起蛋白质的结构和功能变化, 导致高血压的风险^[16]。Zhang 等^[17]的研究发现, ADD1 基因启动子甲基化降低, 可增加原发性高血压的风险; 另外发现, 男性中, 用 ADD1 基因 CpG2-5 甲基化水平预测原发性高血压的风险比女性 CpG-1 甲基化更准确。实验研究证明, ADD1 启动子低甲基化可以增加原发性高血压的风险, ADD1 启动子低甲基化是高血压发病因素之一。

2.5 ABCG4 基因 ABCG4 基因是细胞膜转运蛋白-ATP 的 G 族中第四个成员, 受肝 X 受体调节并参与胆固醇代谢调节^[18]。郭军等^[19]对原发性高血压患者 ABCG4 基因启动子的甲基化差异分析发现, ABCG4 甲基化程度与高血压高度相关, 提示 ABCG4 基因启动子低甲基化可能起到对原发性高血压