

## 慢性肾脏病治疗的新靶点—连接蛋白43

汪琪,李玉斌

三峡大学人民医院 宜昌市第一人民医院肾内科,湖北 宜昌 443000

**【摘要】** 慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)是一种不可治愈性疾病,随着该病发病率不断增加,死亡率也逐年递增。由于目前尚无有效的治疗或改善预后的方案,所以当CKD病情进展至终末期肾病阶段,只能选择透析或移植进行肾脏替代治疗,继而引发了关于慢性肾脏病治疗方面的热潮。了解参与CKD进展的分子机制和所涉及的途径,有助于识别新的和更有效的治疗靶点。近来连接蛋白43 (Connexin43,Cx43)被认为是CKD发展过程中的一个新角色,在不同的肾细胞群中存在新的表达和(或)不同的定位,参与介导炎症和纤维化过程,从而导致肾脏损害。本文从Cx43及其与CKD相关性研究的角度出发,探讨CKD治疗的新靶点,并对CKD治疗的新靶点的发展前景加以展望。

**【关键词】** 慢性肾脏病;炎症;纤维化;连接蛋白43;靶向治疗

**【中图分类号】** R692 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)08-1066-04

**A new target for the treatment of chronic kidney disease—Connexin 43.** WANG Qi, LI Yu-bin. Nephrology Department, the First Hospital of Yichang, Yichang 443000, Hubei, CHINA

**【Abstract】** Chronic kidney disease (CKD) is an incurable disease. With the increase of incidence, the mortality rate is increasing year by year. Since there is no effective treatment or plan to improve the prognosis at present, when CKD progresses to the stage of end-stage kidney disease, only dialysis or transplantation can be selected for renal replacement therapy, which then triggers a wave of treatment for chronic kidney disease. Understanding the molecular mechanisms and pathways involved in the progress of CKD can help identify new and more effective therapeutic targets. Recently, Connexin 43 (Cx43) has been considered to be a new role in the development of CKD, which has new expression and/or different localization in different renal cell populations and is involved in mediating inflammation and fibrosis causing kidney damage. This article explores the new targets of CKD treatment from the perspective of Cx43 and its correlation with CKD, and prospects for the development of new targets for CKD treatment.

**【Key words】** Chronic kidney disease; Inflammation; Fibrosis; Connexin 43; Targeted therapy

慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)是一组呈进行性发展的难治性疾病,是世界范围内发病率和死亡率较高的公共卫生负担。CKD的常见病因有肾小球肾炎、高血压、糖尿病、多囊肾病、阻塞性肾病、肾盂肾炎等,尽管这些病因起源不同,但都有共同的发病机制,即炎症介导和细胞外基质的病理积累,最终导致肾脏结构和功能受损。通过深入研究,学者们对CKD发生发展过程的认识有所提高,明确维持正常的肾实质和稳态对于保护肾功能和延缓CKD进展的重要性,但目前仍缺乏针对CKD的早期预后标志物和治疗方案,因此发现更有针对性和更有效的治疗方法迫在眉睫。

### 1 连接蛋白43(connexin 43,Cx43)

连接蛋白在细胞缝隙连接中起着重要作用,而缝隙连接参与炎症和氧化应激的过程。在连接蛋白家族的20个成员中,有近一半在肾脏内表达,包括连接蛋白26、连接蛋白30、连接蛋白31、连接蛋白32、连接蛋白37、连接蛋白40、连接蛋白43、连接蛋白45和连

接蛋白46<sup>[1-2]</sup>。在这篇综述中将主要关注Cx43在CKD中的作用。

Cx43在连接蛋白家族中表达最为广泛,除了在细胞与细胞通讯中发挥作用外,还能介导基因转录、细胞骨架动力学、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)外吞、囊泡释放和细胞应激<sup>[3]</sup>。Cx43在心脏中大量表达,对心脏发育和心肌细胞功能的正常发挥必不可少<sup>[3]</sup>。同样,它也可在视网膜中广泛表达,可能是导致视网膜上皮丢失致病途径的一个环节<sup>[4]</sup>。此外,在动脉粥样硬化的进展中Cx43起有害作用<sup>[5]</sup>,在神经系统中Cx43是星形胶质细胞的主要连接蛋白<sup>[6]</sup>,在成骨细胞和骨细胞中Cx43是细胞存活所必需<sup>[7]</sup>,最后在肝脏、前列腺和乳腺等多种肿瘤中也有Cx43表达<sup>[8-10]</sup>。

### 2 Cx43与CKD

Cx43与肾脏的相关性研究起源于1989年,由BEYER等<sup>[11]</sup>学者首次在大鼠肾脏中发现Cx43的存在。随后BARAJAS等<sup>[12]</sup>提供了一个更为完整的研究,并得出结论:Cx43定位于肾血管、系膜细胞和集合

管。而HILLIS等<sup>[13]</sup>通过探究Cx43在不同炎症性肾小球疾病患者活检组织中的表达,发现Cx43在浸润细胞和肾小管上皮细胞中均有强表达,在损伤的间质部位也有新的表达。这些研究可以证实Cx43在肾实质和血管中表达,但Cx43在肾脏疾病进展中的确切作用尚不清楚,因此关于Cx43与肾脏疾病的相关性研究陆续开展起来。

**2.1 Cx43与肾脏血管及内皮细胞** 肾脏血管在许多导致CKD的肾脏病变如高血压肾病、缺血性肾病中都有解剖学意义,而Cx43在肾脏血管中发挥的作用也得到了广泛研究。有文献报道Cx43对调节肌源性张力和血管平滑肌细胞的增殖及迁移具有重要意义<sup>[14]</sup>。在肾脏血管中,Cx43除了定位于血管平滑肌细胞外,还定位于肾动脉、弓状动脉、小叶间动脉及传入和传出小动脉的内皮细胞<sup>[15]</sup>。TOUBAS等<sup>[16]</sup>和PRAKOURK等<sup>[17]</sup>采用肾素转基因小鼠模型来研究Cx43在高血压性CKD中的作用,结果表明Cx43定位于肾小管周围和肾小球毛细血管,并与疾病的严重程度有关。同时将Cx43杂合子小鼠与肾素转基因小鼠杂交,观察Cx43对疾病进展的影响,发现肾内皮细胞中Cx43上调可产生促炎症环境,通过激活嘌呤能信号来促进白细胞黏附和浸润,从而推动CKD的发生发展<sup>[17]</sup>。

**2.2 Cx43与足细胞** Yaoita的动物模型显示,损伤足细胞可强烈表达Cx43,而在系膜和肾小球内皮细胞中的表达保持不变<sup>[18]</sup>。一项对接触脓毒霉素氨基酸核苷的小鼠足细胞的体外研究指出Cx43表达增加可促进足细胞凋亡<sup>[17]</sup>,另一项关于Cx43在不同类型肾小球肾炎中表达的研究发现Cx43在肾小球中有较强的上调作用,并在足细胞中重新表达<sup>[19]</sup>。这些研究表明Cx43在CKD中具有促炎症和促凋亡作用。足细胞中Cx43的重新表达和(或)再分布可能引起新的致病刺激和表型改变,并以不同的方式促进CKD疾病的发展。

**2.3 Cx43与系膜细胞** 系膜细胞是肾小球的收缩细胞,通过缝隙连接与其他系膜细胞或内皮细胞相通,并通过支持肾小球毛细血管和足细胞以及调节肾小球基质循环来维持肾小球结构<sup>[20]</sup>。肾小球肾炎大鼠模型显示Cx43在系膜细胞与足细胞之间存在差异调节,Cx43在肾小球肾炎动物模型中表达增加,而在系膜细胞中表达下降,说明Cx43上调并不是所有肾脏细胞对损伤的普遍反应<sup>[19]</sup>。研究发现将培养的系膜细胞置于高糖环境下,可使Cx43表达降低,并诱导细胞骨架重排和增殖<sup>[21]</sup>。上述研究表明Cx43在系膜细胞中具有保护作用,当然现阶段还需更多的试验来揭示这一保护作用。

**2.4 Cx43与肾小管上皮细胞** 肾小管上皮细胞是CKD的主要或继发靶点。有研究报道Cx43在肾小管中表达,并提出间隙连接/半连接在介导肾小管上皮细胞病理信号传导中可能起作用<sup>[17]</sup>。VERGARA等<sup>[22]</sup>探讨Cx43在人近端肾小管细胞ATP耗竭模型中的作

用,研究表明,ATP耗竭可诱导Cx43信使核糖核酸(messenger Ribonucleic Acid, mRNA)和蛋白表达,激活半通道信号,参与CKD的发生。为了研究Cx43在肾小管疾病模型中的表达和定位,PRAKOURA等<sup>[17]</sup>建立了单侧输尿管梗阻性肾病小鼠模型,研究发现通过Cx43信号通路作用的第二信使对肾纤维化的发生具有重要意义。

### 3 Cx43作为CKD的治疗靶点

为了改善CKD患者预后,减轻患者及社会负担,肾脏病学领域的专家在探索新型且更有效的CKD治疗靶点的道路上付出了巨大的努力,而Cx43的出现给患者及专家带来了福音。Cx43在CKD的进展中起一定的抑制作用,通过阻止炎症和纤维化过程的进展,从而延缓CKD的病程发展。

最近有研究证实Cx43在高血压性肾病和梗阻性肾病的早期表达增加<sup>[19,23]</sup>,Cx43的上调与细胞黏附分子的表达密切相关<sup>[24]</sup>,提示Cx43可能是CKD进展过程中肾脏炎症的早期信号。另外,在高血压性CKD小鼠模型和以肾小管间质炎症为病因的CKD小鼠模型中,通过传递反义核苷酸来抑制野生型小鼠Cx43的上调<sup>[23]</sup>,上述两种实验性肾病模型的研究结果可证明Cx43表达减少限制了炎症细胞浸润和肾纤维化,并明显改善了肾脏的结构和功能,提示Cx43可能是治疗CKD进展的新靶点。

为了研究Cx43是否可能成为治疗CKD进展的潜在靶点,将Cx43反义治疗用于1岁的高血压性CKD小鼠模型,结果显示接受Cx43反义治疗的小鼠肾脏功能和结构有明显的改善,肾小球硬化和肾小管扩张也明显减少<sup>[23]</sup>。随着肾脏功能改善,CKD的进展得以延缓。Cx43反义治疗使Cx43表达减少,一方面可导致血管黏附分子在mRNA和蛋白质水平上调较小,从而限制了单核细胞的浸润,另一方面可引起转化生长因子和I型胶原在mRNA水平上调作用减弱,进而减少间质纤维化。以上研究发现支持Cx43作为治疗CKD进展的靶点。

阻止Cx43信号传导的靶向治疗方法包括使用反义寡核苷酸(antisense digonucleotides, As-ODNs)和连接蛋白模拟肽来模拟细胞外或细胞内连接蛋白环上的序列。As-ODNs对Cx43的抑制作用可以通过抑制炎症反应来促进创伤愈合,包括中枢神经系统、皮肤、骨骼肌、心脏、平滑肌和血管内皮<sup>[25-26]</sup>。此外,还有一些临床试验局部应用含有Cx43的As-ODNs的凝胶,表明其对皮肤伤口、小腿静脉溃疡和糖尿病足溃疡的治疗是安全和可耐受的<sup>[27]</sup>。在CKD动物模型中使用抗Cx43的AS-ODN可以抑制肾脏炎症和纤维化,并有效地保存肾功能<sup>[23,28]</sup>。值得注意的是,As-ODNs的使用都是在疾病建立后作为一种治疗方法开始的,这突显了抑制Cx43在预防肾脏疾病发展中的作用。

连接蛋白模拟肽是通过阻断半通道开放或缝隙

连接形成而发挥作用的,这些特定的连接蛋白阻断剂在细胞培养和动物研究中被众多学者所青睐,因为它们的靶向作用更有可能限制对生理功能的有害影响,并建立有效的调控机制。Cx43 间隙连接阻断剂 19 (Gap joint blocker19, GAP19)和间隙连接阻断剂 26 (Gap joint blocker26, GAP26)在遗传小鼠肌营养不良模型<sup>[29]</sup>中具有明显的抗心律失常和抗死亡作用,且 GAP26 还能减少心肌梗死大鼠模型的心肌梗死范围,提高离体心肌细胞的存活率<sup>[30]</sup>。在另一项研究中, Cx43 模拟肽能显著减少小鼠脊髓损伤模型的肿胀、星形胶质细胞增殖和神经元丢失<sup>[31-32]</sup>。最近研究证实,在体外用 GAP26 阻断 Cx43 可抑制炎症和纤维通路相关的细胞反应,即抑制活化的内皮细胞中的单核细胞黏附,抑制转化生长因子- $\beta$ 诱导的肾小管细胞的反应,并阻止足细胞的骨架改变和凋亡<sup>[6]</sup>。在临床试验中, Cx43 模拟肽在保护肾脏结构、延缓疾病进展方面的疗效,还需要进一步的临床数据支持。

#### 4 小结

CKD 的特点是慢性炎症导致细胞外基质成分(主要是 I 型胶原和 III 型胶原)的异常积聚和肾间质结构的改变。因此,阻止或逆转肾脏疾病的进展是公共卫生面临的主要挑战之一,攻克这一难题的关键在于寻找新的治疗靶点。Cx43 是近年来发现的一种新的肾脏疾病介质,参与炎症和纤维化的发生过程。CKD 的动物模型试验证明了 Cx43 在 CKD 中起着关键作用,即使在 CKD 发病后通过抑制 Cx43 也能减轻肾脏损害,保护肾功能。从这个意义上说,靶向阻断 Cx43 是 CKD 的一个针对性的治疗方法,具有潜在的临床应用前景。

#### 参考文献

- [1] ABED AB, KAVVADAS P, CHADJICHRISTOS CE. Functional roles of connexins and pannexins in the kidney [J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72(15): 2869-2877.
- [2] HILLS CE, PRICE GW, SQUIRES PE. Mind the gap: connexins and cell-cell communication in the diabetic kidney [J]. Diabetologia, 2015, 58(2): 233-241.
- [3] RIBEIRO-RODRIGUES TM, MARTINS-MARQUES T, MOREL S, et al. Role of connexin 43 in different forms of intercellular communication gap junctions, extracellular vesicles and tunnelling nanotubes [J]. J Cell Sci, 2017, 130(21): 3619-3630.
- [4] GUO CX, MAT NOR MN, DANESH-MEYER HV, et al. Connexin43 mimetic peptide improves retinal function and reduces inflammation in a light-damaged albino rat model [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 57(10): 3961-3973.
- [5] XUE Y, ZHAO R, DU SH, et al. Decreased mRNA levels of cardiac Cx43 and ZO1 in sudden cardiac death related to coronary atherosclerosis: a pilot study [J]. Int J Legal Med, 2016, 130(4): 915-922.
- [6] KIM Y, GRIFFIN JM, HARRIS PW, et al. Characterizing the mode of action of extracellular Connexin43 channel blocking mimetic peptides in an *in vitro* ischemia injury model [J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2017, 1861(2): 68-78.
- [7] BUO AM, TOMLINSON RE, EIDELMAN ER, et al. Connexin43 and runx2 interact to affect cortical bone geometry, skeletal development, and osteoblast and osteoclast function [J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(8): 1727-1738.
- [8] SHEN Y, LI Y, MA X, et al. Connexin 43 SUMOylation improves gap junction functions between liver cancer stem cells and enhances their sensitivity to HSVtk/GCV [J]. Int J Oncol, 2018, 52(3): 872-880.
- [9] DEY A, KUSLJIC S, LANG RJ, et al. Role of connexin 43 in the maintenance of spontaneous activity in the guinea pig prostate gland [J]. Br J Pharmacol, 2010, 161(8): 1692-1707.
- [10] Stewart MK, Gong XQ, Barr KJ, et al. The severity of mammary gland developmental defects is linked to the overall functional status of Cx43 as revealed by genetically modified mice [J]. Biochem J, 2013, 449(2): 401-413.
- [11] BEYER EC, KISTLER J, PAUL DL, et al. Antisera directed against connexin43 peptides react with a 43-kD protein localized to gap junctions in myocardium and other tissues [J]. J Cell Biol, 1989, 108(2): 595-605.
- [12] BARAJAS L, LIU L, TUCKER M. Localization of connexin43 in rat kidney [J]. Kidney Int, 1994, 46(3): 621-626.
- [13] HILLIS GS, DUTHIE LA, BROWN PA, et al. Upregulation and co-localization of connexin43 and cellular adhesion molecules in inflammatory renal disease [J]. J Pathol, 1997, 182(4): 373-379.
- [14] FIGUEROA XF, DULING BR. Gap junctions in the control of vascular function [J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(2): 251-266.
- [15] ZHANG J, YANG G, ZHU Y, et al. Relationship of Cx43 regulation of vascular permeability to osteopontin-tight junction protein pathway after sepsis in rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2018, 314(1): 1-11.
- [16] TOUBAS J, BECK S, PAGEAUD AL, et al. Alteration of connexin expression is an early signal for chronic kidney disease [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 301(1): 24-32.
- [17] PRAKOURA N, KAVVADAS P, CHADJICHRISTOS CE. Connexin 43: a new therapeutic target against chronic kidney disease [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(3): 985.
- [18] YAOITA E, YAO J, YOSHIDA Y, et al. Up-regulation of connexin43 in glomerular podocytes in response to injury [J]. Am J Pathol, 2002, 161(5): 1597-1606.
- [19] KAVVADAS P, ABED A, POULAIN C, et al. Decreased expression of connexin 43 blunts the progression of experimental GN [J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(10): 2915-2930.
- [20] BOYLE SC, LIU Z, KOPAN R. Notch signaling is required for the formation of mesangial cells from a stromal mesenchyme precursor during kidney development [J]. Development, 2014, 141(2): 346-354.
- [21] XIE X, CHEN C, HUANG K, et al. RhoA/rho kinase signaling reduces connexin43 expression in high glucose-treated glomerular mesangial cells with zonula occludens-1 involvement [J]. Exp Cell Res, 2014, 327(2): 276-286.
- [22] HILLS C, PRICE GW, WALL MJ, et al. Transforming growth factor beta 1 drives a switch in connexin mediated cell-to-cell communication in tubular cells of the diabetic kidney [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45(6): 2369-2388.
- [23] ABED A, TOUBAS J, KAVVADAS P, et al. Targeting connexin 43 protects against the progression of experimental chronic kidney disease in mice [J]. Kidney Int, 2014, 86(4): 768-779.
- [24] YUAN D, SUN G, ZHANG R, et al. Connexin 43 expressed in endothelial cells modulates monocyte-endothelial adhesion by regulating cell adhesion proteins [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(5): 7146-7152.
- [25] TARZEMANY R, JIANG G, JIANG JX, et al. Connexin 43 regulates the expression of wound healing-related genes in human gingival and

## 免疫异常流产机制研究进展

翟志成 综述 孙文霞 审校

长治医学院妇产科教研室,山西 长治 046000

**【摘要】** 复发性自然流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是指同一性伴侣连续发生2次及2次以上的自然流产,其发病率占育龄期妇女的1%~3%。其病因非常复杂,常见发病原因有胚胎染色体异常、黄体功能不足、生殖器官异常、内分泌失常和自身免疫异常几大方面,其中免疫异常所导致的习惯性流产的发病机制和治疗仍是一个相当棘手的问题。该病的发病机制及诊疗仍旧是当今围生医学界的热门研究之一,基于当前的实践报道和研究现状,本文主要就免疫异常对复发性流产作用机制的研究进展做一综述。

**【关键词】** 自然流产;免疫异常;自身抗体;发病机制;研究进展

**【中图分类号】** R714.21 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)08-1069-04

**Research progress on mechanism of abnormal immune abortion.** ZHAI Zhi-cheng, SUN Wen-xia. Department of Obstetrics and Gynecology, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shaanxi, CHINA

**【Abstract】** Recurrent spontaneous abortion (RSA) refers to repeated occurrence of two or more spontaneous abortions (with the same partner), occurring at a rate of 1% to 3% for women of childbearing age. The etiology is very complicated, and the common causes include embryonic chromosomal abnormalities, luteal dysfunction, reproductive organ abnormalities, endocrine disorders and autoimmune abnormalities. However, the pathogenesis and treatment of habitual abortion caused by immune abnormalities is still quite a difficult problem. The pathogenesis and diagnosis of the disease is still one of the hotspots in the perinatal medical field. Based on the current practice reports and research status, this paper reviews the research progress of immune abnormalities on the mechanism of recurrent spontaneous abortion.

**【Key words】** Spontaneous abortion (RSA); Immune abnormalities; Autoantibodies; Pathogenesis; Research progress

近代生殖免疫研究资料显示,约有近半数的复发性自然流产患者不能明确病因,并且临床上针对这部分患者的诊断和治疗都较为棘手,深入探究这些不明原因复发性流产患者的病因后发现在他们的发病机理中基本都有潜在的免疫学改变,且主要表现与胎儿-母体免疫耐受失败有关<sup>[1]</sup>。国内外大量研究资料显示免疫因素在妊娠过程中起着十分重要的作用,且育龄妇女不明原因的流产大多数都存在免疫异常<sup>[2]</sup>,复发性自然流产患者病因中更有约80%与自身免疫有关<sup>[3]</sup>。

复发性自然流产相关的自身抗体主要包括非器官特异性抗体和器官特异性抗体,前者主要有抗磷脂抗体(APA)、抗核抗体(ANA)、抗糖蛋白1(抗β2-GP-1Ab)抗体等;后者主要包括抗心肌抗体(HRA)、抗平滑肌抗体(SMA)、抗甲状腺抗体(ATA)等。研究表明,这些抗体的长时间存在是造成复发妊娠丢失、早产、死胎以及胎儿宫内窘迫、胎盘功能不足等众多并发症发生的起因,RSA对妊娠结局造成的不利影响愈发受到围生医学界的广泛重视,一般情况下,由于母-胎免疫耐受系统的作用,孕妇对胚胎的半同种异体抗

通讯作者:孙文霞,主任医师,副教授,E-mail:swxsxx@sina.com

\*\*\*\*\*

- skin fibroblasts [J]. Exp Cell Res, 2018, 367(2): 150-161.
- [26] KIM Y, GRIFFIN JM, NOR MNM, et al. Tonabersat prevents inflammatory damage in the central nervous system by blocking connexin43 hemichannels [J]. Neurotherapeutics, 2017, 14(4): 1148-1165.
- [27] TONKIN RS, MAO Y, O' CARROL SJ, et al. Gap junction proteins and their role in spinal cord injury [J]. Front Mol Neurosci, 2015, 7: 102.
- [28] YAN Q, GAO K, CHI Y, et al. NADPH oxidase-mediated upregulation of connexin43 contributes to podocyte injury [J]. Free Radic Biol Med, 2012, 53(6): 1286-1297.
- [29] GONZALEZ JP, RAMACHANDRAN J, XIE LH, et al. Selective connexin43 inhibition prevents isoproterenol-induced arrhythmias and lethality in muscular dystrophy mice [J]. Sci Rep, 2015, 5: 15315.
- [30] HAWAT G, HÉLIE P, BAROUDI G. Single intravenous low-dose injections of connexin 43 mimetic peptides protect ischemic heart in vivo against myocardial infarction [J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53(4): 559-566.
- [31] CHEN MJ, KRESS B, HAN X, et al. Astrocytic CX43 hemichannels and gap junctions play a crucial role in development of chronic neuropathic pain following spinal cord injury [J]. Glia, 2012, 60(11): 1660-1670.
- [32] O' CARROLL SJ, ALKADHI M, NICHOLSON LF, et al. Connexin 43 mimetic peptides reduce swelling, astrogliosis, and neuronal cell death after spinal cord injury [J]. Cell Commun Adhes, 2008, 15(1): 27-42.

(收稿日期:2019-01-15)