

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.01.024

综述

足细胞相关突变基因致激素耐药型 肾病综合征的机制研究进展

张黎雯 综述 王乐平 审校

(南京中医药大学附属常州市中医医院儿科, 江苏常州 213003)

[摘要] 激素耐药型肾病综合征的治疗十分棘手, 其发病机制尚未完全阐明。近年来, 相关研究发现一些足细胞突变基因可能在激素耐药型肾病综合征病例的发病过程中起到了重要作用, 研究较为深入的突变基因有 NPHS2、NPHS1、WT1、TRPC6、MDR-1、PLCE1、LMX1B、LAMB2 等, 本文就以上突变基因的致病特性加以概述, 以期为早期明确肾病类型并采取正确治疗措施, 同时对预后判断和产前诊断提供帮助。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(1): 99-102]

[关键词] 突变基因; 足细胞; 激素耐药; 肾病综合征

Recent advances in the research on mechanisms underlying podocyte-specific gene mutation-related steroid-resistant nephrotic syndrome

ZHANG Li-Wen, WANG Le-Ping. Department of Pediatrics, Changzhou Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Changzhou, Jiangsu 213003, China (Wang L-P, zyywlp@126.com)

Abstract: Steroid-resistant nephrotic syndrome poses a significant clinical challenge. Its pathogenesis has not been fully elucidated. In recent years, numerous studies have shown that podocyte-specific gene mutations may play important roles in the development of steroid-resistant nephrotic syndrome. Among the identified genes mutated in podocytes include NPHS2, NPHS1, WT1, TRPC6, MDR1, PLCE1, LMX1B, and LAMB2. This review aims to summarize the characteristics of these mutated genes in podocytes. The putative role for these podocyte-specific mutated genes in the pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis of steroid-resistant nephrotic syndrome is also discussed.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(1): 99-102]

Key words: Mutant gene; Podocyte; Steroid-resistant; Nephrotic syndrome

儿童原发性肾病综合征(PNS)的治疗首选糖皮质激素, 患儿对糖皮质激素的敏感程度往往决定PNS的预后。寻找导致糖皮质激素耐药型肾病综合征(SRNS)的根源一直是研究的热点, 已明确多种基因突变可导致SRNS, 尤其是编码足细胞相关蛋白的单基因突变在SRNS中发挥重要的作用^[1-3]。且部分突变基因之间可相互影响, 致病机制较为复杂, 现概述如下。

1 NPHS2

NPHS2是足细胞蛋白podocin的编码基因^[4],

而podocin是肾小球滤过屏障结构中的裂孔隔膜蛋白, 它与nephrin、CD2AP、TRPC6等相互作用, 共同参与足细胞间的信号传导、细胞极化和稳定骨架结构等生理功能^[5]。研究表明, SRNS患者发生NPHS2突变的机率非常高, 先后在胎儿、儿童及成人SRNS病例中均得到证实^[6-7]。几乎所有携带致病性NPHS2突变型的患者均在6岁前即罹患肾病综合征, 病理学则证实此类患者大多数表现为局灶节段肾小球硬化(FSGS), 对免疫抑制剂产生明显耐药性, 激素治疗基本无效, 10岁内即可进展为终末期肾病(ESRD), 而对此类SRNS患儿进行肾移植后, FSGS的复发率则显著降低^[8-9]。

[收稿日期] 2013-05-28; [接受日期] 2013-06-30

[作者简介] 张黎雯, 女, 硕士, 住院医师。

关于 NPHS2 基因的突变位点, Santin 等^[10]通过对西班牙 SRNS 患者调查后发现与发病年龄有关, 在儿童早期 (<6 岁) 发病的患者存在两个突变位点, 儿童晚期 (6~18 岁) 发病的患者存在一个或两个突变位点, 多为杂合位点 p.R229Q 的变异, 在晚期发病患者中, p.R229Q 多与杂合位点 p.A284V 联合突变, 在欧洲和南美洲患者中 p.R229Q 同样多见^[7]。我国尚缺乏对 SRNS 患者进行 NPHS2 基因的大规模筛查, 管娜等^[11]曾对 23 例散发性 SRNS 患儿进行 NPHS2 基因突变分析, 发现 1 例存在 NPHS2 基因突变, 突变发生率为 4.3%, 较国外同类研究阳性率偏低^[6-7], 可能与种群、受检对象、检测技术等因素相关, 值得深入研究。

2 NPHS1

NPHS1 是 nephrin 的编码基因, 如前所述, nephrin 亦为足细胞结构的主要蛋白之一^[4]。研究发现多个种族 SRNS 患者中存在 NPHS1 突变现象, 包括土耳其人、阿拉伯人、欧洲人、高加索人, 还有我国南方一些汉族人群等^[12-13]。NPHS1 突变所致 SRNS 的发病年龄呈现低龄化, 在先天性和后天获得性肾病中均可出现^[14], 且基本对糖皮质激素和环孢素 A 治疗不敏感, 仅极少数患者部分敏感^[12]。

NPHS1 基因突变位点较多, Schoeb 等^[12]从全世界 62 组不同家庭中筛选出 67 名 SRNS 患儿进行了基因检测, 其中有 36 名 (58%) 患儿存在等位基因突变现象, 这其中约 50% 由 NPHS1 突变引起; 同时, 该研究共检测出 37 种不同的突变基因型, 其中 19 种突变类型与 NPHS1 基因密切相关 (包括 11 项错义突变, 4 项连接突变, 3 项无义突变和 1 项基因缺失), 突变位点主要集中于外显子 1、3、4、8、9、10、13、14、15、17、19 和 21 等部位, 突变后的 NPHS1 基因可能影响了 nephrin 的糖基化, 降低了机体对糖皮质激素的敏感性, 进而导致 SRNS 病例的出现。我国亦有学者在 SRNS 患者中发现了 NPHS1 纯合子突变现象, 并证实突变位点为 3250insG (V1084fsX1095)^[15]。此外, 尚有学者通过对 NPHS1 突变型与 NPHS2 突变型进行比较分析后发现 NPHS1 突变型更易加重肾组织的损害^[16-17]。

3 WT1

WT1 是一种锌酯蛋白调控的肿瘤抑制基因, 在泌尿系统及其他器官中均发挥着重要作用^[18]。近年来, 关于 WT1 基因与 SRNS 发病关系的研究逐渐增多, 认为通过影响足细胞 nephrin 的功能而致病, 已先后在希腊、韩国、中国等 SRNS 患者中均被证实为高突变基因, 尤其在女性及儿童患者中多见^[19-21]。有学者对 27 名希腊 SRNS 患儿 (19 例散发型, 8 例家族型) 进行基因检测, 发现 4 名散发型 SRNS 女性患者携带 WT1 突变型, 包括 2 例 p.R394W, 另 2 例分别为 p.R366H 和 n.1228+5G>A^[22]。尚有学者对 70 名韩国 SRNS 患儿 (39 名女孩, 31 名男孩) 同时进行了 WT1 和 NPHS2 基因学检测, 结果检测出 4 名患者 (3 名女孩, 1 名男孩) 存在 WT1 突变基因型, 分别为内含子 IVS9+4 C>T 和 IVS9+5 G>A, 其中 3 名患者经肾活检证实为 FSGS^[19]。我国亦有学者对 36 名 3 岁以下的 SRNS 患儿进行了 WT1 检测, 突变率为 16.7%, 且具有一定的年龄阶段性 (WT1 突变率: ~1 岁为 26.3%, ~2 岁为 6.3%, ~3 岁为 0)^[20]。另外, 有研究认为 WT1 突变型可联合其他突变基因共同致病, 也有学者认为 WT1 突变体的致病性具有一定的种族差异, 如非裔美国 SRNS 患儿中几乎没有 WT1 突变型^[21-23]。

WT1 突变位点主要集中于外显子 8 和 9, 导致 SRNS 发生的主要机制可能是转录激活 NPHS1 的增长, 引起 nephrin mRNA 的上调, 进而破坏了足细胞正常生理结构^[15-16]。值得指出的是, 亦有学者认为 WT1 突变型病例中表型-基因型的关系并不明显, 可能与肾病的临床表现多样化有一定的关系^[23-24]。

4 TRPC6

人 TRPC6 基因定位于染色体 11q21-q22, 编码的 TRPC6 蛋白属于瞬时受体电位通道蛋白 TRPC 家族的一员, 主要集中于脑和肾组织中, 可通过调节钙离子通道使可溶性钙离子进入细胞内, 同时还与足细胞裂孔隔膜的结构有关^[24-25]。有研究证实家族型和散发型 SRNS 患儿均可出现 TRPC6 突变, 主要表现为 3 种纯合子的缺失 (c.374A>G_p.N125S、

c.653A>T_p.H218L 和 c.2684G>T_p.R895L), 该研究在 1 名 18 岁男性 SRNS 患者身上检测出突变型 p.H218L, 在 1 名女性 SRNS 患者身上检测出突变型 p.R895L, 此 2 例患者均为早发型 FSGS, 肾组织免疫荧光法检测进一步显示 TRPC6 突变型阳性者缺乏足细胞中 nephrin 的表达, 可迅速进展为尿毒症^[26]。而 TRPC6 p.Arg175Gln 的功能性突变可能引起迟发型 FSGS, 多表现为常染色体显性遗传^[27-28]。另有学者对 25 名土耳其 SRNS 患儿进行了 TRPC6 基因检测, 结果 1 名患者有 L395A 型突变, 6 名患者存在核酸置换 (c.171 + 16 A>G 和 c.171 + 86 G>C), 9 名患者存在基因缺失 (A404V; rs36111323) 和同义突变 (N561N; rs12366144), 其中 5 名患者是呈家族型, 11 名患者为散发型, 平均发病年龄为 2.6 ± 1.7 岁, 7 例患者 (3 名家族型, 4 名散发型) 进展为 ESRD, 平均时间 10.2 ± 2.9 年, 呈家族型、低龄化发病及进展迅速的趋势^[29]。

5 MDR-1

MDR-1 即多药耐药型基因, Jafar 等^[30] 通过检测 216 名肾病综合征志愿者 (137 名激素敏感型, 79 名 SRNS) MDR-1 三个外显子的突变情况 (G3435C、G2677T/A 和 C1236T), 发现携带单一纯合子 G2677T/A 突变型的肾病患者更易进展为 SRNS。而 G2677T/A 和 C3435T 的不同组合突变型均可增加进展为 SRNS 的危险性。另外, 有学者发现低密度脂蛋白吸附疗法可增强机体对免疫抑制剂包括激素的敏感性, 其主要机制则是通过抑制 MDR-1 的表达^[31], 值得借鉴。

6 PLCE1

PLCE1 基因在足细胞发育的任何阶段均有表达, 法国学者对 78 名 SRNS 患者研究发现 6 名表现为 FSGS 患者存在 PLCE1 突变型, 认为 PLCE1 突变是导致弥漫肾小球系膜硬化的主要因素, 在 FSGS 病例中占据重要的比例, 但是缺乏固定的突变表型^[32]。尚有报道认为 PLCE1 突变型 SRNS 多为早期发病, 预后较差^[33]。

7 LAMB2

LAMB2 基因主要编码层黏连蛋白 (LAMB2), 后者是黏连蛋白 -521 的主要组成部分, 为构成肾小球基底膜的重要成分, 研究发现编码 LAMB2 的基因发生无效突变可导致严重的先天性肾病, 对激素和环孢素等免疫抑制剂均不敏感^[34]。Mbarek 等^[35] 也在 7 名 SRNS 突尼斯儿童中发现 2 名携带 LAMB2 突变型, 并证实其突变位点集中于 p.E705X 和 p.D1151fsX23, 均呈明显的激素耐药现象。

8 LMX1B

LMX1B 系专门表达于足细胞中的转录因子, 其缺失可致肾小球毛细血管网稀疏, 内皮细胞窗大量减少, 肾小球基底膜开裂, 使足细胞结构发生立方型变化, 导致足突消失, 出现蛋白尿。研究表明 LMX1B 可在 3 种疾病中出现并导致肾损害: 甲髌综合征、SRNS 和 Alport 综合征, 对激素治疗不敏感, 抗蛋白尿治疗对部分病例有效, 如依那普利和氯沙坦可使某些患病儿童完全缓解^[36]。尚有研究认为 LMX1B 可调控 NPHS2 的表达, 引起 nephrin 缺失, 间接导致肾病的发生^[37]。

9 其他

和 SRNS 有关的足细胞蛋白分子相关基因还有 ACTN4、CD2AP 和 INF2 等。ACTN4 在我国 FSGS 患者中已被检出^[38]。CD2AP 是维持裂孔隔膜结构和功能的关键蛋白, CD2AP 突变可以改变裂孔隔膜的结构组成^[39-40]。ACTN4 和 CD2AP 突变的表型多为 FSGS 或微小肾小球病变^[41]。INF2 突变多引起散发型 FSGS^[44], 且易致 ESRD^[42], 但 INF2 突变所致的 SRNS 临床表现呈多样性, 可至 40 岁以后仍只表现为轻度蛋白尿而无明显肾功能损害, 也可于幼年即表现为中到重度蛋白尿, 或者 ESRD^[43]。

综上所述, 足细胞相关突变基因在 SRNS 发病中发挥了重要作用, 但突变基因种类繁多, 且如 WT1、NPHS1 等突变型尚存在突变位点不定、联合突变等现象, 使得 SRNS 发病机制甚为复杂。

然而,足细胞相关基因所致SRNS也可归纳出一些共性:发病年龄偏低、一定的家族遗传性、病理学以FSGS为主、激素耐药性明显、预后不佳等。值得指出的是,NPHS2、WT1、TRPC6等突变型均有在成人检出的报道^[6-7],可以认为足细胞相关基因突变可能在不同类型肾病的SRNS的发病中均起到一定的作用,值得深入研究。因此,对各类型SRNS病例均应尽可能的进行基因学检测,尤其对儿童SRNS病例更应积极进行,一旦明确基因突变现象应尽可能寻求基因学治疗,及时调整免疫抑制方案,避免长时间使用激素等免疫抑制剂,同时在判断预后、产前诊断等方面均存在一定的积极意义。

[参 考 文 献]

- [1] McCarthy HJ, Bierzynska A, Wherlock M, et al. Simultaneous sequencing of 24 genes associated with steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8(4): 637-648.
- [2] Ren HQ, Chen GF, Zhou X, et al. The clinical efficacy of low-dose tacrolimus combined with tripterygium to treat the steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Open J Nephrol*, 2012, 6(2): 97-104.
- [3] Jaffer AT, Ahmed WU, Raju DS, et al. Foothold of NPHS2 mutations in primary nephrotic syndrome[J]. *J Postgrad Med*, 2011, 57(4): 314-320.
- [4] Otukesh H, Ghazanfari B, Fereshtehnejad SM, et al. NPHS2 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Iran J Kidney Dis*, 2009, 3(2): 99-102.
- [5] Huber TB, Schermer B, Benzing T. Podocin organizes ion channel-lipid supercomplexes: implications for mechanosensation at the slit diaphragm[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2007, 106(2): 27-31.
- [6] Kerti A, Csohany R, Szabo A, et al. NPHS2 p.V290M mutation in late-onset steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2013, 28(5): 751-757.
- [7] Santin S, Tazon-Vega B, Silva I, et al. Clinical value of NPHS2 analysis in early- and adult-onset steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(2): 344-354.
- [8] Caridi G, Bertelli R, Carrea A, et al. Prevalence, genetics, and clinical features of patients carrying podocin mutations in steroid-resistant nonfamilial focal segmental glomerulosclerosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12(12): 2742-2746.
- [9] Troyanov S, Wall CA, Miller JA, et al. Focal and segmental glomerulosclerosis: definition and relevance of a partial remission[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(2): 1061-1068.
- [10] Santin S, Tazon-Vega B, Silva I, et al. Clinical value of NPHS2 analysis in early and adult-onset steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(2): 344-354.
- [11] 管娜,丁洁. 儿童肾病综合征激素耐药发生机制研究进展[J]. *临床儿科杂志*, 2005, 23(4): 199-201.
- [12] Schoeb DS, Chernin G, Heeringa SF, et al. Nineteen novel NPHS1 mutations in a worldwide cohort of patients with congenital nephrotic syndrome (CNS) [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(9): 2970-2976.
- [13] 孟大川,王道静,余自华,等. 中国南方汉族人3个家族性激素耐药型肾病综合征家系CD2AP和NPHS1基因突变分析[J]. *实用儿科临床杂志*, 2011, 26(5): 329-344.
- [14] Santin S, Bullich G, Tazon-Vega B, et al. Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(5): 1139-1148.
- [15] Yu ZH, Wang DJ, Meng DC, et al. Mutations in NPHS1 in a Chinese child with congenital nephrotic syndrome[J]. *Genet Mol Res*, 2012, 11(2): 1460-1464.
- [16] Machuca E, Benoit G, Nevo F, et al. Genotype-phenotype correlations in non-Finnish congenital nephrotic syndrome[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(7): 1209-1217.
- [17] Abid A, Khaliq S, Shahid S, et al. A spectrum of novel NPHS1 and NPHS2 gene mutations in pediatric nephrotic syndrome patients from Pakistan[J]. *Gene*, 2012, 502(2): 133-137.
- [18] Abid A, Khaliq S, Shahid S, et al. The effects of the WT1 gene on apoptosis and development-related gene expression in porcine kidney fibroblasts and swine testis cells[J]. *Mol Reprod Dev*, 2013, 80(5): 414-425.
- [19] Cho HY, Lee JH, Choi HJ, et al. WT1 and NPHS2 mutations in Korean children with steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2008, 23(1): 63-70.
- [20] Li J, Ding J, Zhao D, et al. WT1 gene mutations in Chinese children with early onset nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Res*, 2010, 68(2): 155-158.
- [21] Chernin G, Heeringa SF, Gbadegesin R, et al. Low prevalence of NPHS2 mutations in African American children with steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2008, 23(9): 1455-1460.
- [22] Megremis S, Mitsioni A, Fylaktou I, et al. Broad and unexpected phenotypic expression in Greek children with steroid-resistant nephrotic syndrome due to mutations in the Wilms' tumor 1 (WT1) gene[J]. *Eur J Pediatr*, 2011, 170(12): 1529-1534.
- [23] Anochie IC, Eke FU, Okpere AN. Familial focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) in a Nigerian family and exclusion of mutations in NPHS2, WT1 and APOL1[J]. *West Afr J Med*, 2012, 31(4): 273-276.
- [24] Xu P, Xu J, Li Z, et al. Expression of TRPC6 in renal cortex and hippocampus of mouse during postnatal development[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38503.
- [25] D'Esposito M, Strazzullo M, Cuccurese M, et al. Identification and assignment of the human transient receptor potential channel 6 gene TRPC6 to chromosome 11q21→q22 [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1998, 83(1-2): 46-47.
- [26] Gigante M, Caridi G, Montemurno E, et al. TRPC6 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome and atypical phenotype[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011, 6(7): 1626-1634.
- [27] Heeringa SF, Moller CC, Du J, et al. A novel TRPC6 mutation that causes childhood FSGS[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): 7771.
- [28] Hofstra JM, Lainez S, van Kuijk WH, et al. New TRPC6 gain-of-function mutation in a non-consanguineous Dutch family with late-onset focal segmental glomerulosclerosis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(1): 324-328.

- [29] Mir S, Yavascan O, Berdeli A, et al. TRPC6 gene variants in Turkish children with steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(1): 205-209.
- [30] Jafar T, Prasad N, Agarwal V, et al. MDR-1 gene polymorphisms in steroid-responsive versus steroid-resistant nephrotic syndrome in children[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(12): 3968-3974.
- [31] Ueda S, Sugimoto K, Yanagida H, et al. Low-density lipoprotein adsorption therapy can restore drug sensitivity for immunosuppressants via inhibitory effects upon MDR-1 gene expression[J]. *Ther Apher Dial*, 2011, 15(5): 499-503.
- [32] Boyer O, Benoit G, Gribouval O, et al. Mutational analysis of the PLCE1 gene in steroid resistant nephrotic syndrome[J]. *J Med Genet*, 2010, 47(7): 445-452.
- [33] Ismaili K, Pawtowski A, Boyer O, et al. Genetic forms of nephrotic syndrome: a single-center experience in Brussels[J]. *Pediatr Nephrol*, 2009, 24(2): 287-294.
- [34] Chen YM, Kikkawa Y, Miner JH. A missense LAMB2 mutation causes congenital nephrotic syndrome by impairing laminin secretion[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(5): 849-858.
- [35] Mbarek IB, Abroug S, Omezzine A, et al. Novel mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome diagnosed in Tunisian children[J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(2): 241-249.
- [36] Rohr C, Prestel J, Heidet L, et al. The LIM-homeodomain transcription factor Lmx1b plays a crucial role in podocytes[J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(8): 1073-1082.
- [37] Harendza S, Stahl RA, Schneider A. The transcriptional regulation of podocin (NPHS2) by Lmx1b and a promoter single nucleotide polymorphism[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2009, 14(4): 679-691.
- [38] Dai S, Wang Z, Pan X, et al. ACTN4 gene mutations and single nucleotide polymorphisms in idiopathic focal segmental glomerulosclerosis[J]. *Nephron Clin Pract*, 2009, 111(2): c87-c94.
- [39] Gigante M, Pontrelli P, Montemurro E, et al. CD2AP mutations are associated with sporadic nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(6): 1858-1864.
- [40] Tossidou I, Niedenthal R, Klaus M, et al. CD2AP regulates SUMOylation of CIN85 in podocytes[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(6): 1068-1079.
- [41] Benoit G, Machuca E, Nevo F, et al. Analysis of recessive CD2AP and ACTN4 mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2010, 25(3): 445-451.
- [42] Barua M, Brown EJ, Charoonratana VT, et al. Mutations in the INF2 gene account for a significant proportion of familial but not sporadic focal and segmental glomerulosclerosis[J]. *Kidney Int*, 2013, 83(2): 316-322.
- [43] Lee HK, Han KH, Jung YH, et al. Variable renal phenotype in a family with an INF2 mutation[J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(1): 73-76.

(本文编辑: 万静)