

## · 综 述 ·

# 肾脏衰老机制的探讨

李典耕, 孙雪峰, 陈香美\*

(解放军总医院肾脏病科, 解放军肾脏病研究所, 肾脏疾病国家重点实验室, 国家慢性肾病临床医学研究中心, 北京 100853)

**【摘 要】**随着科学技术及医学的进步和发展, 人口老龄化已成为当今社会面临的重要问题, 预计到2030年,  $\geq 65$ 岁的老年人口将达到目前人数的2倍, 且与年龄相关疾病的发生率将随之升高。由于老龄化与发生肾脏疾病的风险相关, 因此研究肾脏衰老相关机制, 对于降低老年肾脏病发生率、延缓老年肾脏病发展有重要意义, 同时也可减轻家庭、社会经济负担。本文旨在回顾既往发表文献, 总结肾脏衰老的可能分子机制。

**【关键词】**衰老; 肾脏; 移植

**【中图分类号】** R592; R692

**【文献标识码】** A

**【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.04.072

## Underlying mechanism of renal aging

LI Dian-Geng, SUN Xue-Feng, CHEN Xiang-Mei\*

(Department of Nephrology, Chinese PLA Institute of Nephrology, State Key Laboratory of Kidney Diseases, National Clinical Research Center for Chronic Kidney Diseases, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

**【Abstract】** With the progress and development of science and technology, as well as medicine, aging population has become an important issue facing our society currently. It is estimated that by the year of 2030, the population 65 years and over will get nearly doubled, and the incidences of age-associated diseases will increase in parallel. As aging is associated with the risk of kidney diseases, it is of significance to study the mechanisms of renal aging in order to reduce the occurrence and delay the progression of senile kidney diseases, and reduce the economic burden at household and community levels at the same time. We aimed to review the published literature to sum up the possible molecular mechanisms of renal aging.

**【Key words】** aging; kidneys; transplantation

*This work was supported by the National Key Basic Research Program (973 Program, 2013CB530800) and the General Program of National Natural Science Foundation of China (81270819).*

*Corresponding author: CHEN Xiang-Mei, E-mail: xmchen301@126.com*

随着科学技术及医学的进步和发展, 人口老龄化已成为当今社会面临的重要问题, 研究发现衰老与心血管疾病、肿瘤以及慢性肾脏病的发生率升高密切相关, 肾脏衰老表型包括肾脏实质减少、肾脏血管阻力增加、肾血流量降低及滤过分数增加, 这些改变通常于50~60岁时开始发生。既往研究发现有多种因素参与肾脏衰老, 本文旨在回顾既往发表文献, 总结肾脏衰老的可能分子机制。

### 1 肾脏衰老表型

肾脏衰老表型包括特征性功能改变如肾血管阻力增加、肾血浆流量降低及肾小球滤过分数增

加。形态学变化包括皮质质量减少表现, 病理改变如肾小管萎缩、间质纤维化和肾小球硬化<sup>[1]</sup>。临床上发现肾脏衰老与急性肾损伤易感性增加相关, 急性肾损伤病程较严重、肾脏治愈较低<sup>[2]</sup>。急性肾损伤在衰老肾脏的高发生率可部分归因于高血压、糖尿病和其他系统性疾病所致的合并症高负荷及先前已存在的肾损伤<sup>[3]</sup>。然而, 越来越多的证据表明外在因素与肾脏本身随年龄变化而发生的改变一致<sup>[4-6]</sup>。

### 2 体细胞衰老

在导致肾脏衰老的生物机制中, 体细胞衰老

收稿日期: 2015-10-14; 修回日期: 2015-11-16

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2013CB530800); 国家自然科学基金面上项目(81270819)

通信作者: 陈香美, E-mail: xmchen301@126.com

(somatic cellular senescence, SCS)被认为是关键因素<sup>[4,7-9]</sup>。SCS是指细胞仍然存活并有代谢活性,但不能重新进入细胞周期。细胞衰老一词最早是50多年前由Hayflick提出,他发现人体细胞在体外培养时只能进行几次有限的细胞分裂,2009年发现这一现象可能与端粒缩短有关<sup>[10]</sup>。端粒是帽状核蛋白组成的重复DNA序列特异性蛋白,位于真核染色体末端。当端粒受损或缩短时端粒的保护功能失效同时触发细胞应答激活DNA修复机制。这一过程将使磷脂酰肌醇3-激酶样激酶激活,这类激酶将活化下游的阻止DNA复制和其他被p53磷酸化的细胞增殖的因素<sup>[7]</sup>。活化的p53可以通过上调凋亡基因或细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂视网膜母细胞瘤蛋白低磷酸化(p21CIP1/WAF1)启动细胞凋亡或衰老。在这种低磷酸化过程中,视网膜母细胞瘤蛋白抑制细胞周期进程。若非如此,一些应激因素(如氧化应激)可以加速端粒损伤或直接破坏DNA,从而通过共济失调-毛细血管扩张突变基因(ataxia-telangiectasia, ATM)/Rad-3相关蛋白(ATM and Rad-3 related, ATR)和p53诱导DNA损伤。还有一说法认为p53可以以应激依赖性方式被p19ARF感应或人类p14ARF激活,然后与小鼠双微体2(mouse double minute 2, MDM2)或人类双微体(human double minute 2, HDM2)结合从而抑制p53泛素化及降解。

SCS不会只通过端粒损伤或p53途径发生,小鼠胚胎成纤维细胞虽然表达端粒酶,但经过15~30代增殖即使发生生长停滞仍没有端粒损伤,这种被不同细胞应激(如氧化应激、代谢应激、癌基因)导致的不依赖端粒的生长停滞也被称为“刺激和应激引导的衰老样”停滞(stress-induced senescence-like arrest, STASIS)。STASIS通常与p16INK4a表达水平升高相关,p16INK4a是细胞周期依赖性激酶4、6的抑制剂,而细胞周期依赖性激酶4、6可以上调Rb(32-34)。SCS体外逆转仅被证明与p16INK4a低表达相关,一旦p16INK4a表达升高,将不再发生SCS逆转。衰老状态的不可逆转可能是由染色质结构的改变引起的,且p16INK4a也参与改变染色质结构<sup>[11]</sup>。

培养衰老细胞的特点是它们的共同表型,且不依赖于细胞是否发生端粒依赖性或非端粒依赖性衰老。衰老细胞表现典型的形态改变即外观肥大、扁平,发生形态学变化的同时还有衰老相关 $\beta$ 半乳糖苷酶(SA- $\beta$ -GAL)表达升高相关、Ph6和脂褐素颗粒

的沉积<sup>[12]</sup>。

根据当前的进化理论,机体衰老可能是由于多个基因激活引起的,这些基因是从祖先环境进化而来的,然而这种未受保护的进化环境抑制大多数人具有长的寿命,晚年已成为规律。因此,可能对现代人类生殖后期衰老不利基因的表达在进化过程中是无关紧要的,相反,那些在生命早期起有益作用的基因得到进化选择。根据拮抗多效性的衰老理论,一些基因表现时间顺序拮抗,虽然这些基因在生命早期起有益作用,但在晚年可能有危害作用。诱导SCS的基因可以解释为经典的多效权衡基因,在生命早期这些基因通过抑制有恶性转化风险的细胞增殖而成为肿瘤进展的内在屏障,然而,在生命后期这些基因通过使有活性的但不能促进器官稳定和修复的细胞聚积从而促进衰老。因此,SCS可对早期脊椎动物致癌应激起保护作用从而发挥生存优势,而衰老的SCS相关疾病即为这种生命早期的保护付出的代价。近期有研究发现慢性炎症参与影响集体衰老、寿命,单免疫球蛋白白介素1相关受体(SIGIRR)抑制TLR4/NF- $\kappa$ B通路诱导免疫应答<sup>[13]</sup>。

### 3 SCS在肾脏衰老表型

虽然哺乳动物肾脏在衰老过程中发现有衰老细胞的积聚,但将这种现象简单地与衰老相关的肾脏表型联系在一起仍很牵强。通常情况下小鼠和人类肾脏中细胞增殖率是非常低的<sup>[14]</sup>,虽然增殖率低,但人以及小鼠、大鼠肾脏中细胞周期调控因子p16INK4a的表达随着年龄的增长而增加,p16INK4a主要表达在肾小管上皮细胞中。与啮齿动物相反,人类肾脏表现为端粒随着年龄越长而缩短,但这些衰老细胞或将要衰老的细胞对肾脏功能和结构的影响很小。发生急性肾损伤时,肾小管上皮细胞脱落,存活的细胞通过快速进入细胞周期以恢复小管结构的完整性<sup>[14]</sup>。然而,当衰老肾脏发生急性肾损伤时,由于衰老肾脏有相当数量的衰老细胞,很难启动充足的细胞更新,从而导致细胞更新应答不充分。这一观点在急性肾损伤的动物实验中,通过老年野生小鼠及端粒酶缺陷小鼠表现肾脏衰老加快表型的数据得到进一步的证实<sup>[15,16]</sup>。在人类肾脏中,Ki-67表达与p16INK4a表达相反,说明细胞增殖与SCS呈负相关,肾脏p16INK4a的积聚不仅见于正常衰老肾脏,也可见于多种形式的肾损伤中<sup>[9,16]</sup>,如移植后应激可诱导衰老的发生,因此当

移植肾出现p16INK4a高表达时,可能提示移植肾恶化(如肾小管萎缩、间质纤维化),移植肾出现SCS高度聚积可能提示恶化加剧<sup>[17]</sup>。这种通过SCS介导的有限再生能力对衰老器官尤为重要,因为它不仅限制急性损伤恢复,还限制对持续应激的耐受。来自老年供体的肾脏不仅在移植后衰老加快,并且这种衰老是附加在移植前已经发生的一定程度的衰老过程。在两个独立研究中发现移植时SCS可以预测移植后1年的移植肾脏存活情况<sup>[18,19]</sup>。在这些研究中,移植肾脏活检p16INK4a的表达可以作为肾脏生理寿命和移植预后的生物标志物。但是,临床更需要能监测SCS发展以及指导临床治疗方案的无创标志物。随着时间的延长,SCS与移植肾脏恶化成强烈正相关,并且衰老的细胞不仅不会消失,而且会不断积累。然而一些证据表明在一些条件下衰老细胞可以在体内逆转,研究发现细胞衰老通过先天免疫系统而诱导清除机制<sup>[20]</sup>,由于免疫抑制剂治疗可能增加衰老细胞的积聚,因此移植治疗应注意这一过程。除了这一间接作用,免疫抑制剂也可能直接促进细胞衰老的进展。在细胞培养时,环孢素A可诱导肾小管上皮细胞衰老<sup>[21]</sup>,另外一项肾脏移植活检研究发现p16INK4a阳性细胞的比率在接受环孢素A治疗的患者中较高<sup>[22]</sup>,这些研究结果表明选择合适的免疫抑制剂可能有助于避免肾移植SCS的进展。

#### 4 非上皮细胞中的SCS

目前,我们认为SCS通过降低肾小管上皮细胞功能和修复能力而在肾脏衰老过程中起有害作用,然而一些证据表明可能存在细胞类型依赖性机制。当肾小管上皮细胞发生不可逆转的生长停滞时,将影响小管结构的完整性,然而当间质成纤维细胞发生生长停滞时,情况可能是不同的。由于活化的间质成纤维细胞可生成促纤维化因子和细胞外基质蛋白,从而被认为是介导肾脏纤维化的关键因素<sup>[23]</sup>。研究还发现衰老的成纤维细胞产生基质金属酶增加,因此诱导胶原降低从而抑制纤维化的进展<sup>[24]</sup>。在肝脏的研究中发现,星状细胞的SCS可通过减少细胞外基质成分分泌、促进蛋白酶分泌抑制肝脏纤维化<sup>[20]</sup>,另外Wolstein等<sup>[25]</sup>发现在单侧输尿管闭塞(unilateral ureteral occlusion, UUO)模型中,如果通过使p16INK4a拮抗衰老,间质细胞增殖增加、炎症和细胞外基质沉积增加,从而推测SCS可能通过p16INK4a减少炎症和细胞增殖从而抑制纤维化进

展<sup>[25]</sup>。从以上研究结果可见SCS相关的对肾脏衰老的生物效应主要取决于细胞类型相关的不同的分子途径。

线粒体是产生作为氧化磷酸化副产物活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要细胞器,根据衰老线粒体蛋白理论,由于脂质和DNA直接暴露于ROS,从而成为衰老过程中氧化性损伤的主要靶目标。核DNA可以受组蛋白保护,然而端粒和各种修复酶mtDNA对于ROS诱导的应激没有任何保护机制或明显的修复系统。因此,相对于核DNA,氧化应激主要影响mtDNA。如果mtDNA在ROS相关应激下发生突变,线粒体功能障碍将进一步增加ROS水平,从而造成恶性循环<sup>[26]</sup>。由于肾脏细胞消耗大量的线粒体产生的能量,因此线粒体衰老将可能影响肾脏稳态和肾脏衰老<sup>[6]</sup>。

#### 5 PGC1抑制关联端粒功能降低对线粒体的影响

Dpinho等研究发现端粒功能障碍与线粒体衰老之间存在直接的分子联系<sup>[27]</sup>,端粒功能障碍诱发的p53可直接抑制过氧化物酶体增殖活化受体 $\gamma$ 辅助活化因子1 $\alpha$ ( $\alpha$  subunit of peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1, PGC-1 $\alpha$ )和过氧化物酶体增殖活化受体 $\gamma$ 辅助活化因子1 $\beta$ ( $\beta$  subunit of peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1, PGC-1 $\beta$ )的表达<sup>[28]</sup>,这两个基因是转录共激活因子小家族成员,是调控线粒体生物合成和功能的主要调节因子<sup>[28]</sup>。通过活化p53抑制PGC网可导致衰老组织常见的改变,如线粒体生物功能受损、呼吸功能降低以及ROS生成增加<sup>[27]</sup>。因此,推测端粒因衰老发生的耗损是通过p53诱导转录子变化导致线粒体衰老,这一关联可解释细胞衰老是怎样影响器官(如肾脏)的能量供应。如果端粒功能障碍损害细胞的能量供应,那么就更容易发生肾小管变性及萎缩。因此,需要进一步研究端粒-线粒体同在肾脏生理、衰老和疾病过程中的作用。去乙酰化酶1(sirtuin type 1, SIRT1)作为依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)的组蛋白脱乙酰可以稳定PGC-1 $\alpha$ , SIRT1由于其抗衰老作用一直是衰老研究领域的一个重点,通过热量限制可以干预哺乳动物衰老,在这一过程中SIRT1在肾脏表达增加。He等发现药物SIRT1激动剂可以改善氧化应激下的细胞存活、减轻UUO肾脏损伤模型的肾脏病理改变,这些表明

SIRT1在肾脏衰老过程中充当关键的细胞保护因子,这与SIRT1稳定PGC网、维持充足的线粒体功能是一致的。

## 6 线粒体功能和肾素-血管紧张素-醛固酮系统

肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 是血压、血流稳态和心血管生理学的重要调节系统,RAAS参与心血管疾病的发生,RAAS阻滞剂可以用于治疗高血压、肾脏和心血管疾病。血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 是RAAS主要效应分子,可以刺激醛固酮释放肾上腺素并通过其血管收缩和储钠作用增加血压。在细胞水平, Ang II 可引起增殖、促炎、纤维化活化等病理变化, Ang II 与胞浆和线粒体ROS生成相关,这就可以DNA损伤通路解释细胞衰老与器官衰老之间的联系<sup>[6,29]</sup>。两种细胞表面受体即1型 (AT1R) 和2型 (AT2R) 可介导Ang II 反应,另外在很多器官包括肾脏上皮细胞中发现Ang II 参与细胞外通路和细胞外功能过程<sup>[30]</sup>,细胞外Ang II 不仅存在于细胞核中,也存在于线粒体中。Abadir等<sup>[31]</sup>早前已发现线粒体血管紧张素系统,研究证实Ang II 和AT2R位于线粒体内膜,且活化的受体可通过增加线粒体一氧化氮的生成抑制呼吸链功能<sup>[31]</sup>。虽然还需要对这些结果进行进一步的研究,但这些结果均表明, Ang II 活化免受呼吸过度和ROS过度产生导致线粒体AT2R起到失衡作用。Abadir等发现了与年龄相关的阈值开关,即老年小鼠出现线粒体AT2R表达降低或AT2R表达增加<sup>[31]</sup>,这一阈值开关可被长期药物AT1R阻断剂 (氯沙坦) 逆转。AT1R阻断剂可以显著增加心脏组织一氧化氮的生成,同时降低过氧化氢的形成。RAAS抑制剂可以保护肾脏组织线粒体由于ATP产生引起的与年龄相关的功能下降,同时降低线粒体气体剂释放的增加。另外, AT1R基因缺失可以通过改善肾小管上皮细胞年龄相关的线粒体全功能障碍而使这种小鼠的寿命延长。

SCS在肾脏衰老和肾脏疾病的发生发展中起重要作用,无论是临床研究和基础实验研究均发现SCS对实体器官移植的影响,抑制SCS进展的治疗可能改善肾移植的长期预后而成为新的治疗手段。

### 【参考文献】

- [1] Yang HC, Fogo AB. Fibrosis and renal aging[J]. *Kidney Int Suppl* (2011), 2014, 4(1): 75-78.
- [2] Ishani A, Xue JL, Himmelfarb J, *et al.* Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(1): 223-228.
- [3] Musso CG, Bellosso WH, Scibona P, *et al.* Impact of renal aging on drug therapy[J]. *Postgrad Med*, 2015, 127(6): 623-629.
- [4] Yang H, Fogo AB. Cell senescence in the aging kidney[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(9): 1436-1439.
- [5] Yang HC, Deleuze S, Zuo Y, *et al.* The PPARgamma agonist pioglitazone ameliorates aging-related progressive renal injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(11): 2380-2388.
- [6] Perico N, Remuzzi G, Benigni A. Aging and the kidney[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2011, 20(3): 312-317.
- [7] Jacobi C, Homme M, Melk A. Is cellular senescence important in pediatric kidney disease[J]? *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(12): 2121-2131.
- [8] Wills LP, Schnellmann RG. Telomeres and telomerase in renal health[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(1): 39-41.
- [9] Naesens M. Replicative senescence in kidney aging, renal disease, and renal transplantation[J]. *Discov Med*, 2011, 11(56): 65-75.
- [10] Varela E, Blasco MA. 2009 Nobel Prize in Physiology or Medicine: telomeres and telomerase[J]. *Oncogene*, 2010, 29(11): 1561-1565.
- [11] Pijacka W, Clifford B, Tilburgs C, *et al.* Protective role of female gender in programmed accelerated renal aging in the rat[J]. *Physiol Rep*, 2015, 3(4): e12342.
- [12] Terman A, Gustafsson B, Brunk UT. Autophagy, organelles and ageing[J]. *J Pathol*, 2007, 211(2): 134-143.
- [13] Xu XM, Ning YC, Wang WJ, *et al.* Anti-inflamm-aging effects of long-term caloric restriction via overexpression of SIGIRR to inhibit NF- $\kappa$ B; B signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(4): 1257-1270.
- [14] Humphreys BD, Czerniak S, DiRocco DP, *et al.* Repair of injured proximal tubule does not involve specialized progenitors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(22): 9226-9231.
- [15] Schmitt R, Marlier A, Cantley LG. Zag expression during aging suppresses proliferation after kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(12): 2375-2383.
- [16] Westhoff JH, Schildhorn C, Jacobi C, *et al.* Telomere shortening reduces regenerative capacity after acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(2): 327-336.
- [17] Melk A, Schmidt BM, Braun H, *et al.* Effects of donor age and cell senescence on kidney allograft survival[J]. *Am J Transplant*, 2009, 9(1): 114-123.

- [18] Koppelstaetter C, Schratzberger G, Perco P, *et al.* Markers of cellular senescence in zero hour biopsies predict outcome in renal transplantation[J]. *Aging Cell*, 2008, 7(4): 491–497.
- [19] McGlynn LM, Stevenson K, Lamb K, *et al.* Cellular senescence in pretransplant renal biopsies predicts postoperative organ function[J]. *Aging Cell*, 2009, 8(1): 45–51.
- [20] Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, *et al.* Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis[J]. *Cell*, 2008, 134(4): 657–667.
- [21] Jennings P, Koppelstaetter C, Aydin S, *et al.* Cyclosporine A induces senescence in renal tubular epithelial cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 293(3): F831–F838.
- [22] Furuzawa-Carballeda J, Lima G, Alberu J, *et al.* Infiltrating cellular pattern in kidney graft biopsies translates into forkhead box protein 3 up-regulation and p16INK4alpha senescence protein down-regulation in patients treated with belatacept compared to cyclosporin A[J]. *Clin Exp Immunol*, 2012, 167(2): 330–337.
- [23] Hewitson TD. Renal tubulointerstitial fibrosis: common but never simple[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296(6): F1239–F1244.
- [24] Pitiyage GN, Slijepcevic P, Gabrani A, *et al.* Senescent mesenchymal cells accumulate in human fibrosis by a telomere-independent mechanism and ameliorate fibrosis through matrix metalloproteinases[J]. *J Pathol*, 2011, 223(5): 604–617.
- [25] Wolstein JM, Lee DH, Michaud J, *et al.* INK4a knockout mice exhibit increased fibrosis under normal conditions and in response to unilateral ureteral obstruction[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(6): F1486–F1495.
- [26] Kelly DP. Cell biology: ageing theories unified[J]. *Nature*, 2011, 470(7334): 342–343.
- [27] Sahin E, Colla S, Liesa M, *et al.* Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise[J]. *Nature*, 2011, 470(7334): 359–365.
- [28] Sugden MC, Caton PW, Holness MJ. PPAR control: it's SIRTainly as easy as PGC[J]. *J Endocrinol*, 2010, 204(2): 93–104.
- [29] Cassis P, Conti S, Remuzzi G, *et al.* Angiotensin receptors as determinants of life span[J]. *Pflugers Arch*, 2010, 459(2): 325–332.
- [30] Gwathmey TM, Westwood BM, Pirro NT, *et al.* Nuclear angiotensin-(1–7) receptor is functionally coupled to the formation of nitric oxide[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(5): F983–F990.
- [31] Abadir PM, Foster DB, Crow M, *et al.* Identification and characterization of a functional mitochondrial angiotensin system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(36): 14849–14854.

(编辑: 周宇红)