

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.033

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.033

## 血管生成素样蛋白3在肾病综合征中的研究进展

李鑫, 吕慧妍 综述 郝丽荣 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院肾内科, 哈尔滨 150070)

**[摘要]** 血管生成素样蛋白3(angiotensin-like-3, ANGPTL3)是一种分泌蛋白, 是血管生成素样蛋白家族的成员。ANGPTL3主要表达于肝, 肾仅有少量表达。肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是以大量蛋白尿(>3.5 g/d)、低白蛋白血症(<30 g/L)、水肿及高脂血症为特点的临床综合征, 可表现为各种病理类型。近期研究发现肾ANGPTL3表达异常与NS的常见病变足细胞损伤和蛋白尿相关, 并参与NS高脂血症的调节。

**[关键词]** 血管生成素样蛋白3; 肾病综合征; 足细胞; 高脂血症

## Research progress of angiotensin-like-3 in nephrotic syndrome

LI Xin, LÜ Huiyan, HAO Lirong

(Department of Nephropathy, First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150070, China)

**Abstract** Angiotensin-like-3 (ANGPTL3) is a secreted protein with a characteristic angiotensin structure and it belongs to ANGPTL protein family. ANGPTL3 is mainly expressed in hepatocytes and only weakly expressed in normal kidney cell. Nephrotic syndrome (NS) is a clinical syndrome characterized by massive proteinuria (>3.5 g/d), hypoalbuminemia (<30 g/L), edema and hyperlipidemia. NS can involve various pathological types of kidney disease. Recent studies have found that the abnormal expression of ANGPTL3 in kidney is related to podocyte injury and proteinuria in NS, and is involved in the regulation of hyperlipidemia in NS.

**Keywords** angiotensin-like-3; nephrotic syndrome; podocyte; hyperlipidemia

足细胞损伤是肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)常见病理变化。足细胞作为肾小球滤过屏障的重要组成部分, 其损伤会引起蛋白尿, 而蛋白尿是NS发展的主要推动因素, 当蛋白尿达到特定阈值后, 即出现低蛋白血症、水肿

等表现<sup>[1]</sup>。高脂血症作为NS临床表现之一, 可导致患者血液高凝, 甚至引起栓塞等并发症, 危及患者生命。因此明确足细胞损伤和高脂血症出现的机制对于防治NS意义重大。而血管生成素样蛋白3(angiotensin-like-3, ANGPTL3)对NS的足细

收稿日期 (Date of reception): 2018-01-21

通信作者 (Corresponding author): 郝丽荣, Email: hao\_lirong@163.com

胞损伤及血脂异常起一定作用。

## 1 ANGPTL3 的结构、分布及生物学效应

ANGPTL3是一种分子量为70 kD的分泌型蛋白,属于血管生成素样蛋白家族<sup>[2]</sup>。ANGPTL3主要由肝细胞合成和分泌,作用于脂肪细胞的肝X受体(liver X receptor, LXR),参与LXR调节的脂代谢。此外,肾和肺中亦有少量ANGPTL3表达<sup>[2]</sup>。人ANGPTL3包含460个氨基酸,小鼠ANGPTL3包含455个氨基酸,其结构包括氨基端卷曲螺旋结构域、分泌信号肽、短的连接肽和羧基端球状纤维蛋白原样结构域(fibrinogen-like domain, FLD)。ANGPTL3的羧基端FLD通过与整合素 $\alpha V\beta 3$ 结合调节血管生成<sup>[3]</sup>,而氨基端螺旋样结构域参与调节脂代谢<sup>[4]</sup>。此外,ANGPTL3也在足细胞损伤<sup>[5]</sup>、胰岛素抵抗<sup>[6]</sup>、动脉粥样硬化<sup>[7]</sup>及肿瘤的发生及转移<sup>[8]</sup>等方面发挥重要作用。

## 2 ANGPTL3 与足细胞损伤及蛋白尿

2001年Jia等<sup>[9]</sup>使用基因芯片技术首先发现儿童NS患者肾组织中ANGPTL3 mRNA表达明显高于正常对照组,不同病理类型的NS患儿肾小球和肾小管ANGPTL3表达水平不同,以微小病变型肾病(minimal change disease, MCD),膜性肾病(membranous nephropathy, MN),局灶节段性肾小球硬化症(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)等足细胞损伤较重者肾小球ANGPTL3表达多;且MCD患者ANGPTL3主要位于足细胞胞质,其水平与尿蛋白肌酐比值及平均足突宽度呈正相关,说明肾小球ANGPTL3水平与蛋白尿程度和足突融合程度呈正相关。戴如凤等<sup>[10]</sup>研究发现:MCD, MN, FSGS这些以足细胞损伤为病理特征的肾病患者血清ANGPTL3水平明显高于健康对照组,且血ANGPTL3水平与患者的发病年龄、病程、24 h尿蛋白、尿蛋白肌酐比值呈正相关,提示血ANGPTL3可能是反映NS病情严重程度的重要标志。

受到临床实验的启发,武建文等<sup>[11]</sup>通过建立阿霉素肾病大鼠模型发现:正常大鼠及NS大鼠肾组织均有ANGPTL3 mRNA表达,表明肾本身可合成并分泌ANGPTL3;NS大鼠肾小球表达的ANGPTL3主要位于足细胞,且随足细胞ANGPTL3含量增多,蛋白尿程度加重。此后,有研究<sup>[12-13]</sup>应用嘌呤霉素或阿霉素处理离体足细胞,发现足

细胞ANGPTL3表达增多与足细胞损伤相关。Gao等<sup>[13]</sup>发现:ANGPTL3增多能上调足细胞肾病蛋白(Nephrin)的表达,从而增强足细胞能动性 and 渗透性,导致足突融合加重,引起大量蛋白尿。高霞等<sup>[14]</sup>应用miRNA构建ANGPTL3<sup>-/-</sup>小鼠,结果显示:ANGPTL3基因沉默并不影响足细胞骨架肌丝排列和肌动蛋白微丝(F-actin)的表达,而ANGPTL3基因过表达的鼠足细胞骨架排列明显失去极性,且相比于阿霉素处理的野生小鼠,阿霉素处理的ANGPTL3<sup>-/-</sup>小鼠蛋白尿和足突融合程度均减轻,说明生理水平ANGPTL3并非是维持足细胞稳定的必要条件,但病理状态下ANGPTL3高表达可引起足细胞骨架重排导致足突融合。此外,高霞等<sup>[14]</sup>发现:人和鼠肾小球中的ANGPTL3和整合素 $\beta 3$ 共定位于足细胞足突部,若整合素 $\beta 3$ 被抗体封闭,ANGPTL3则不能引起足细胞骨架重排,说明整合素 $\beta 3$ 在ANGPTL3引起的足细胞损伤中发挥关键作用,这与既往Lin等<sup>[15]</sup>的研究结果相符:ANGPTL3能与足细胞表面的整合素 $\alpha V\beta 3$ 结合,引起下游信号分子FAK和PI3K的磷酸化,并由此活化小GTP酶Rac1,磷酸化的FAK还能同时活化另一种Rho家族小GTP酶(即RhoA),引起足细胞内应力纤维形成,虽然起始阶段应力纤维能保护足细胞免受损伤,但此作用短暂且微弱;随后Rac1持续刺激足细胞引起F-actin重排,促进钉突和伪足形成,增强足细胞能动性,加重足突融合消失和引发蛋白尿。除上述途径外,ANGPTL3还能通过整合素 $\beta 3$ 活化下游信号分子 $\alpha$ 肌动蛋白4( $\alpha$ -actin4),引起 $\alpha$ -actin4表达异常而导致足细胞骨架重排和足突弥漫融合<sup>[5]</sup>。 $\alpha$ -actin4是一种肌动蛋白调节蛋白,能与F-actin相互交联来维持肌动蛋白束形成的必要性, $\alpha$ -actin4表达增多或缺失均会导致肾病的发生和发展。Liu等<sup>[5]</sup>在NS患者足细胞中检测到ANGPTL3-整合素 $\beta 3$ - $\alpha$ -actin4异常表达,因此沉默ANGPTL3基因可能减轻足细胞损伤和蛋白尿,延缓NS的发展。除引起足细胞骨架异常外,ANGPTL3还参与嘌呤霉素引起的足细胞脱落和凋亡,导致足细胞大量丢失,且脱落与凋亡几乎同时发生,此过程需要整合素 $\alpha 3\beta 1$ 下调,ILK及p53的活化,而非含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(caspase3)的活化<sup>[16]</sup>。上述研究表明:ANGPTL3表达增加会通过各种途径引起足细胞损伤。

但Rao等<sup>[12]</sup>发现:肾损伤后ANGPTL3代偿性增加可能具有一定保护作用;嘌呤霉素刺激正常足细胞会先出现基底膜蛋白多糖(perlecan)下调,再出现ANGPTL3上调,而嘌呤霉素刺激ANGPTL3

转染的足细胞会出现perlecan表达增多,且相比于正常足细胞,ANGPTL3过表达的足细胞和肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)的黏附率明显升高,说明ANGPTL3增多能在一定程度上缓解嘌呤霉素诱导的足细胞分离。Perlecan是肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)中硫酸乙酰肝素蛋白多糖的主要组成成分,可介导内皮细胞和足细胞与GBM的黏附。Wu等<sup>[11]</sup>研究阿霉素肾病时发现:先有尿蛋白出现,再有肾小球ANGPTL3 mRNA表达升高。鉴于ANGPTL3转染能增加足细胞perlecan的表达<sup>[12]</sup>,且Camenisch等<sup>[3]</sup>发现:重组ANGPTL3可与整合素 $\alpha V\beta 3$ 结合,诱导 $\alpha V\beta 3$ 依赖的血管内皮细胞的黏附、迁移及促进毛细血管修复,由此推测足细胞损伤后ANGPTL3表达增加是一种代偿反应,可能促进合成perlecan等GBM组织成分,加速肾小球滤过屏障的修复,有助于增强内皮细胞及足细胞与GBM的黏附。

### 3 ANGPTL3 与 NS 的高脂血症

高脂血症是NS患者的常见临床表现,其代谢紊乱主要为血Chol, TG, LDL, VLDL升高, HDL浓度降低或不变。研究<sup>[1]</sup>发现:脂蛋白分解代谢障碍是引起NS高脂血症的主要机制,而大量蛋白尿和低蛋白血症继发肝代偿性合成脂蛋白增多是次要因素。

迄今为止,关于ANGPTL3在肾病状态下如何参与脂代谢调节的研究较少。Wu等<sup>[11]</sup>应用阿霉素大鼠肾病模型发现:ANGPTL3表达在足细胞胞质和肾小管上皮细胞(tubular epithelial cell, TEC)胞质,随病程延长,肾组织表达ANGPTL3水平逐渐升高,且肾小管ANGPTL3的表达量与血Chol和TG水平呈正相关,并推测一方面TEC自身合成ANGPTL3增加,另一方面血液ANGPTL3经过肾小球滤过后被肾小管重吸收导致TEC的ANGPTL3水平升高。体外实验<sup>[17-19]</sup>发现:ANGPTL3可剂量依赖性抑制脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)活性。Shimizugawa等<sup>[17]</sup>检测到KK/snk小鼠(KK小鼠ANGPTL3基因第6外显子区移码突变形成,具有KK小鼠2型糖尿病和肥胖的特点)肝生成及分泌的VLDL并未比野生型鼠减少,但前者LPL降解VLDL增多,这与NS的脂蛋白分解障碍相符合。LPL是脂蛋白分解代谢的关键酶,固定在毛细血管内皮细胞并和糖基磷脂酰肌醇锚定的高密度脂蛋白结合蛋白1(glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein 1, GPIHBP1)结

合,负责清除循环中富含TG的脂蛋白(即乳糜微粒)和VLDL。还有研究<sup>[18]</sup>发现:Imai大鼠(类似NS常见病因局灶节段性肾小球硬化的模型)肝、心脏VLDL受体和LPL表达下调导致VLDL清除受阻,且蛋白尿越重、病程越长,VLDL受体和LPL下调越明显。此外,ANGPTL3还能抑制由内皮细胞合成的和LPL高度同源的內皮脂酶(endothelial lipase enzymes, EL),EL分解HDL-C作用强,ANGPTL3缺乏的鼠HDL-C水平降低<sup>[19]</sup>。

除影响脂蛋白分解外,ANGPTL3还能促进脂质合成、释放增加。Koshi等<sup>[20]</sup>发现:KK/snk小鼠中ANGPTL3表达减少,血Chol和TG水平较低,且人工ANGPTL3基因敲除鼠血脂亦明显降低<sup>[21]</sup>,而ANGPTL3基因过表达或静脉注射ANGPTL3会引起KK/snk小鼠血脂升高,特别是TG和游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)明显增高<sup>[20-21]</sup>。Shimamura等<sup>[22]</sup>还发现:ANGPTL3能特异性结合脂肪组织,促进脂肪细胞分解,导致FFA和TG大量释放入血。刘娇娇等<sup>[23]</sup>发现:与WT鼠相比,ANGPTL3<sup>-/-</sup>小鼠的肝、肾功能及体重无明显差异,但血Chol和TG均较低,说明生理状态下ANGPTL3有助于维持血脂稳定。应用阿霉素处理WT小鼠后出现大量蛋白尿和高脂血症等NS表现,随着疾病进展肾组织ANGPTL3 mRNA含量逐渐升高,且与血Chol, TG水平呈正相关;而阿霉素刺激的ANGPTL3<sup>-/-</sup>小鼠,在疾病的各个时间点血脂升高程度均显著低于WT鼠,说明肾病状态下ANGPTL3是参与高脂血症的重要分子,敲除ANGPTL3对缓解肾病的血脂紊乱有一定意义。ANGPTL3水平增加与血Chol, TG和FFA升高相关,结合基因芯片检测到嘌呤霉素诱导的NS模型大鼠Chol, TG, FFA合成基因表达上调和FFA氧化基因表达下降,推测ANGPTL3可能通过基因水平影响脂质合成和释放<sup>[24]</sup>。

NS的高脂血症亦和脂代谢相关酶异常有关,如羟甲基戊二酸辅酶A还原酶和二酯酰甘油酰基转移酶活性增强,肝脂肪酶和GPIHBP1表达减少,以及卵磷脂胆固醇酯转移酶丢失使HDL合成和成熟受阻等<sup>[24-25]</sup>。但目前为止尚不明确ANGPTL3是否通过影响上述酶引起NS的脂代谢紊乱。

ANGPTL3对判断NS的严重程度有一定价值。戴如凤等<sup>[10]</sup>应用ELISA法检测NS患者血ANGPTL3水平,结果显示:血ANGPTL3与血Chol, TG呈正相关,可能反映NS患者高脂血症的程度。以上研究<sup>[10-11,17-25]</sup>表明:ANGPTL3参与NS患者的脂代谢异常,但具体机制仍需深入研究。

## 4 结语

综上所述, ANGPTL3除与肾病的足细胞损伤和蛋白尿相关外, 还能调节NS状态下的脂代谢。目前NS病理诊断主要依靠肾活检, 但其有创性限制了其广泛使用。而激素及免疫抑制剂作为治疗NS的基本药物, 亦有诸多毒副作用。关于ANGPTL3的动物实验表明ANGPTL3基因敲除不影响肝、肾功能, 却能减轻足细胞损伤、蛋白尿及高脂血症; 临床研究发现无创ELISA法检测血ANGPTL3水平能反映足细胞损伤的严重程度和蛋白尿、血脂水平, 更与患者发病年龄、病程相关, 并在NS激素治疗过程中血ANGPTL3与尿蛋白变化趋势相同, 说明ANGPTL3可能对诊断MCD, MN等足细胞损伤为主的NS有一定价值, 可能成为反映NS严重程度的标志物。未来需进一步研究ANGPTL3引起肾损伤及高脂血症的发病机制, 同时收集多中心、大样本NS患者以明确ANGPTL3作为判断NS病情轻重标志物的敏感性及其价值, 为NS的诊治提供新途径。

## 参考文献

1. Macé C, Chugh SS. Nephrotic syndrome: components, connections, and angiopoietin-like-4-related therapeutics[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(11): 2393-2398.
2. Conklin D, Gilbertson D, Taft DW, et al. Identification of a mammalian angiopoietin-related protein expressed specifically in liver[J]. *Genomics*, 1999, 62(3): 477-482.
3. Camenisch G, Pisabarro MT, Sherman D, et al. ANGPTL3 stimulates endothelial cell adhesion and migration via integrin  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 and induces blood vessel formation in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(19): 17281-17290.
4. Ono M, Shimizugawa T, Shimamura M, et al. Protein region important for regulation of lipid metabolism in angiopoietin-like 3 (ANGPTL3): ANGPTL3 is cleaved and activated in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(43): 41804-41809.
5. Liu J, Gao X, Zhai Y, et al. A novel role of angiopoietin-like-3 associated with podocyte injury[J]. *Pediatr Res*, 2015, 77(6): 732-739.
6. Robciuc MR, Maranghi M, Lahikainen A, et al. Angptl3 deficiency is associated with increased insulin sensitivity, lipoprotein lipase activity, and decreased serum free fatty acids[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(7): 1706-1713.
7. Dewey FE, Gusarova V, Dunbar RL, et al. Genetic and pharmacologic inactivation of ANGPTL3 and cardiovascular disease[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(3): 211-221.
8. Koyama T, Ogawara K, Kasamatsu A, et al. ANGPTL3 is a novel biomarker as it activates ERK/MAPK pathway in oral cancer[J]. *Cancer Med*, 2015, 4(5): 759-769.
9. 饶佳, 徐虹, 孙利, 等. 儿童原发性肾病综合征中血管生成素样蛋白3的表达[J]. *中华肾脏病杂志*, 2006, 22(5): 286-290.
10. RAO Jia, XU Hong, SUN Li, et al. Expression of ANGPTL3 in children with primary nephrotic syndrome[J]. *Chinese Journal of Nephrology*, 2006, 22(5): 286-290.
11. 戴如凤, 方晓燕, 李国民, 等. 原发性肾病综合征患儿血清及尿液中血管生成素样蛋白3和4的临床意义[J]. *中华肾病杂志*, 2015, 31(10): 721-728.
12. DAI Rufeng, FANG Xiaoyan, LI Guomin, et al. Clinical significance of serum and urine angiopoietin-like 3 and 4 in children with primary nephrotic syndrome[J]. *Chinese Journal of Nephrology*, 2015, 31(10): 721-728.
13. 武建文, 徐虹, 吴滢, 等. 阿霉素肾病大鼠肾组织中血管形成素样蛋白3表达与蛋白尿及高脂血症的关系[J]. *中华肾脏病杂志*, 2005, 21(4): 207-212.
14. WU Jianwen, XU Hong, WU Ying, et al. Expression of ANGPTL3 in kidney and its relationship to proteinuria and hyperlipidemia in Adriamycin induced nephrotic rats[J]. *Chinese Journal of Nephrology*, 2005, 21(4): 207-212.
15. Jia R, Hong X, Li S, et al. Expression of angiopoietinlike 3 associated with puromycin-induced podocyte damage[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2010, 115(3): e38-e45.
16. Gao X, Xu H, Liu H, et al. Angiopoietin-like protein 3 regulates the motility and permeability of podocytes by altering nephrin expression in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 399(1): 31-36.
17. 高霞, 徐虹, 饶佳, 等. 血管生成素样蛋白3通过整合素 $\beta$ 3信号通路参与足细胞骨架重排[J]. *中华肾病杂志*, 2017, 33(1): 43-47.
18. GAO Xia, XU Hong, RAO Jia, et al. Angiopoietin-like protein 3 induces podocytes actin rearrangement via integrin  $\beta$ 3[J]. *Chinese Journal of Nephrology*, 2017, 33(1): 43-47.
19. Lin Y, Rao J, Zha XL, et al. Angiopoietin-like 3 induces podocyte F-actin rearrangement through integrin  $\alpha$ (V) $\beta$ 3/FAK/PI3K pathway-mediated Rac1 activation[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 135608.
20. Dai R, Yi L, Liu H, et al. A vital role for Angptl3 in the PAN-induced podocyte loss by affecting detachment and apoptosis in vitro[J]. *BMC Nephrol*, 2015, 16(1): 38-47.
21. Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, et al. ANGPTL3 decreases very low-density lipoprotein triglyceride clearance by inhibition of lipoprotein lipase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(37): 33742-33748.
22. Sato T, Liang K, Vaziri ND. Down-regulation of lipoprotein lipase and VLDL receptor in rats with focal glomerulosclerosis[J]. *Kidney Int*,

- 2002, 61(1): 157-162.
19. Hassan M. ANGPTL3: a novel modulator of lipid metabolism[J]. *Glob Cardiol Sci Pract*, 2017, 2017(1): e201706.
  20. Koishi R, Ando Y, Ono M, et al. Angptl3 regulates lipid metabolism in mice[J]. *Nat Genet*, 2002, 30(2): 151-157.
  21. Köster A, Chao YB, Mosior M, et al. Transgenic angiotensin-like (angptl)4 overexpression and targeted disruption of angptl4 and angptl3: regulation of triglyceride metabolism[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(11): 4943-4950.
  22. Shimamura M, Matsuda M, Kobayashi S, et al. Angiotensin-like protein 3, a hepatic secretory factor, activates lipolysis in adipocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301(2): 604-609.
  23. 刘娇娇, 徐虹, 戴如凤, 等. 血管生成素样蛋白3参与肾病综合征高脂血症发生的初步探索[J]. *中华肾病杂志*, 2015, 31(9): 669-673.
  24. LIU Jiaojiao, XU Hong, DAI Rufeng, et al. Potential function of angiotensin-like protein 3 in hyperlipidemia of nephrotic syndrome[J]. *Chinese Journal of Nephrology*, 2015, 31(9): 669-673.
  25. Su X, Peng DQ. New insights into ANGPTL3 in controlling lipoprotein metabolism and risk of cardiovascular diseases[J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 12.
  25. 郑秉暄, 李金存, 王慧, 等. 原发性肾病综合征高脂血症发生机制的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(8): 1572-1575.
  - ZHENG Bingxuan, LI Jincun, WANG Hui, et al. Research progress for the mechanism of hyperlipidemia in primary nephrotic syndrome[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2014, 14(8): 1572-1575.

**本文引用:** 李鑫, 吕慧妍, 郝丽荣. 血管生成素样蛋白3在肾病综合征中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(5): 1104-1108. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.033

**Cite this article as:** LI Xin, LÜ Huiyan, HAO Lirong. Research progress of angiotensin-like-3 in nephrotic syndrome[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(5): 1104-1108. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.05.033