

DOI: 10.13376/j.cbls/2023119

文章编号: 1004-0374(2023)08-1089-09

# 细胞周期停滞标志物在AKI的诊断及预后中的研究进展

易香伶, 罗 佳, 陈客宏, 陈 佳\*, 何娅妮\*

(陆军特色医学中心, 重庆 400042)

**摘 要:** 急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是住院患者常见且严重的并发症, 目前临床上缺乏 AKI 早期诊断及预后评估的生物标志物。近期研究表明, 细胞周期停滞在 AKI 发生发展中发挥重要作用, 其生物标志物金属蛋白酶组织抑制因子 2 (tissue inhibitor of metalloproteinase 2, TIMP2) 和胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7) 可用于早期诊断 AKI 及预后评估。该文对细胞周期停滞在 AKI 中的作用机制进行论述, 为干预细胞周期停滞改善 AKI 预后提供潜在治疗靶点; 同时对细胞周期停滞标志物 TIMP2 和 IGFBP7 在 AKI 中的研究进行综述, 为 AKI 早期诊断及预后评估提供潜在生物标志物。  
**关键词:** 细胞周期停滞; 急性肾损伤; 生物标志物; 金属蛋白酶组织抑制因子 2; 胰岛素样生长因子结合蛋白 7

中图分类号: Q253; R692 文献标志码: A

## Advances in research on biomarkers of cell cycle arrest in diagnosis and prognosis of acute kidney injury

YI Xiang-Ling, LUO Jia, CHEN Ke-Hong, CHEN Jia\*, HE Ya-Ni\*

(Army Medical Center of PLA, Chongqing 400042, China)

**Abstract:** Acute kidney injury (AKI) is a common and severe complication in hospitalized patients. Currently, biomarkers for early diagnosis and prognosis of AKI are lacking in clinic. Recent studies have shown that cell cycle arrest plays an important role in the occurrence and development of AKI, and the biomarkers tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP2) and insulin-like growth factor binding protein 7 (IGFBP7) can be used for early diagnosis and prognosis of AKI. This review described the mechanism of cell cycle arrest in AKI, which will provide potential therapeutic targets for intervening cell cycle arrest to improve the prognosis of AKI. Meanwhile, the studies on cell cycle arrest markers TIMP2 and IGFBP7 in AKI were referred, which will provide potential biomarkers for the early diagnosis and prognosis of AKI.

**Key words:** cell cycle arrest; acute kidney injury; biomarker; tissue inhibitor of metalloproteinase 2; insulin like growth factor-binding protein 7

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是一种由多种病因引起的临床常见急危重症, 临床上主要表现为肾功能在短期内急剧下降, 体内代谢产物滞留, 水、电解质及酸碱平衡紊乱。在 COVID-19 大流行背景下, 重症 COVID-19 患者中 AKI 发生率为

35.6%<sup>[1]</sup>。据全球性前瞻性研究报道, AKI 在成人和儿童中的发生率分别高达 39% 和 53%<sup>[2]</sup>。国外研究报道约 15%~25% 的 AKI 患者 2~3 年后进展为慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD), 其中约 20% 患者为新发 CKD 患者<sup>[3-4]</sup>。国内报道 300 万 AKI 成

收稿日期: 2023-03-03; 修回日期: 2023-05-04

基金项目: 重庆市科卫联合医学科研项目青年项目(2023QNXM011); 第三军医大学创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室项目(SKLF202202); 陆军军医大学科技创新能力提升专项项目青年培育项目(2019XQN15)

\*通信作者: 何娅妮, E-mail: heynmail@163.com; 陈佳, E-mail: chenjiasnk@163.com; Tel: 023-68729577

年住院患者, 其中 50% 可进展为 CKD, 给家庭和社会带来了沉重的医疗负担<sup>[5]</sup>, 早期精准诊断 AKI 是当前改善临床患者预后的关键。目前研究显示细胞周期停滞在 AKI 发生发展过程中发挥重要作用, 一方面短暂的细胞周期停滞有利于防止 DNA 损伤的细胞发生分裂, 达到损伤细胞修复的目的, 但另一方面, 持续的细胞周期停滞则导致细胞肥大、衰老和纤维化<sup>[6]</sup>。近年来许多研究从细胞周期停滞角度探寻 AKI 的早期诊断及预后评估的标志物, 主要集中在金属蛋白酶组织抑制剂 2 (tissue inhibitor of metalloproteinase 2, TIMP2) 和胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7), 这两个标志物在 AKI 发生的早期尿液中迅速升高, 可作为临床检测早期 AKI 的生物标志物<sup>[7]</sup>, 为 AKI 早期的临床决策提供支持并改善预后。本文主要对肾小管细胞周期停滞在 AKI 中的作用机制及细胞周期停滞相关标志物的临床研究进行综述, 旨在为早期诊断及干预 AKI 进展提供重要依据。

## 1 细胞周期停滞

### 1.1 细胞周期及其调控

真核细胞中的细胞周期分为两个主要阶段: 间期 (G1、S 和 G2 期) 和有丝分裂期 (M 期)。当细胞周期结束后细胞退出 M 期, 子代细胞进入下一轮细胞周期或暂时退出细胞周期 (G0 期)。G0 期是一个可逆的静止非分裂状态<sup>[8]</sup>。在正常肾脏中, 肾小管上皮细胞维持在 G1 期, 以确保其在遇到损伤时可启动细胞增殖<sup>[9-11]</sup>。

细胞周期调控依赖于细胞周期蛋白 (cyclin) 及其催化部分细胞周期蛋白依赖激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs)。不同的细胞 cyclin-CDK 激酶在细胞周期的特定阶段被激活并磷酸化其靶蛋白<sup>[12]</sup>。同时细胞周期进程受周期蛋白依赖性激酶抑制剂 (cyclin-dependent kinase inhibitors, CKIs) 负向调控, CKI 分为两个家族<sup>[13]</sup>: (1) CDK 相互作用蛋白/激酶抑制蛋白 (CDK interacting protein/kinase inhibitory protein, CIP/KIP) 家族, 包括 p21<sup>CIP1</sup>、p27<sup>KIP1</sup> 和 p57<sup>KIP2</sup>, 广泛影响 cyclin D、cyclin E 和 cyclin A 依赖的激酶复合物的活性; (2) CDK4 抑制因子 (inhibitors of CDK4, INK4) 家族, 包括 p16<sup>INK4a</sup>、p15<sup>INK4b</sup>、p18<sup>INK4c</sup> 和 p19<sup>INK4d</sup>, 其特异性针对 CDK4 和 CDK6 (图 1)。

### 1.2 细胞周期停滞

细胞周期停滞是指在损伤作用下细胞周期的中

断, 使细胞无法从当前阶段进入下一阶段。短暂的细胞周期停滞有利于防止 DNA 损伤的细胞发生分裂, 达到损伤细胞修复的目的, 但持续的细胞周期停滞则会导致细胞肥大、衰老和纤维化<sup>[6]</sup>。目前发现的检查点主要包括 G1/S 期检查点和 G2/M 期检查点。G1/S 期检查点决定细胞是否进行分裂, 启动凋亡程序或进入 G0 期。G2/M 期检查点阻止损伤细胞进入有丝分裂期。

#### 1.2.1 G1/S 细胞周期停滞

在 G1/S 期检查点, 细胞周期停滞涉及两种途径: 其中一条途径涉及复制性衰老和转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ), 诱导 p16 蛋白产生, p16 与 CDK4/6 结合, 使得细胞停滞于 G1 期<sup>[14-15]</sup>; 另一条途径是启动毛细血管扩张性共济失调突变蛋白 (ataxia telangiectasia mutated, ATM) 和 (或) 毛细血管扩张性共济失调和 Rad3 相关蛋白 (ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, ATR) 通路, 促进 p53 和检查点激酶 2 (checkpoint 2, CHK2) 在内的几个下游目标磷酸化<sup>[16]</sup>。随后 CHK2 使细胞分裂周期基因 25 (cell division cycle gene 25, CDC25) 磷酸酶磷酸化, CDC25 不能再激活 CDK2/cyclin E, 细胞停滞于 G1 期<sup>[17]</sup>。磷酸化的 p53 促进 p21 的产生, 这种 CKI 通过促进 cyclin E 的降解而抑制 CDK2/cyclin E 的结合, 并且与 CDK4/6 结合, 阻断 CDK4/6 与 cyclin D 的相互作用, 使细胞无法进入 S 期, 停滞于 G1 期<sup>[18]</sup>。

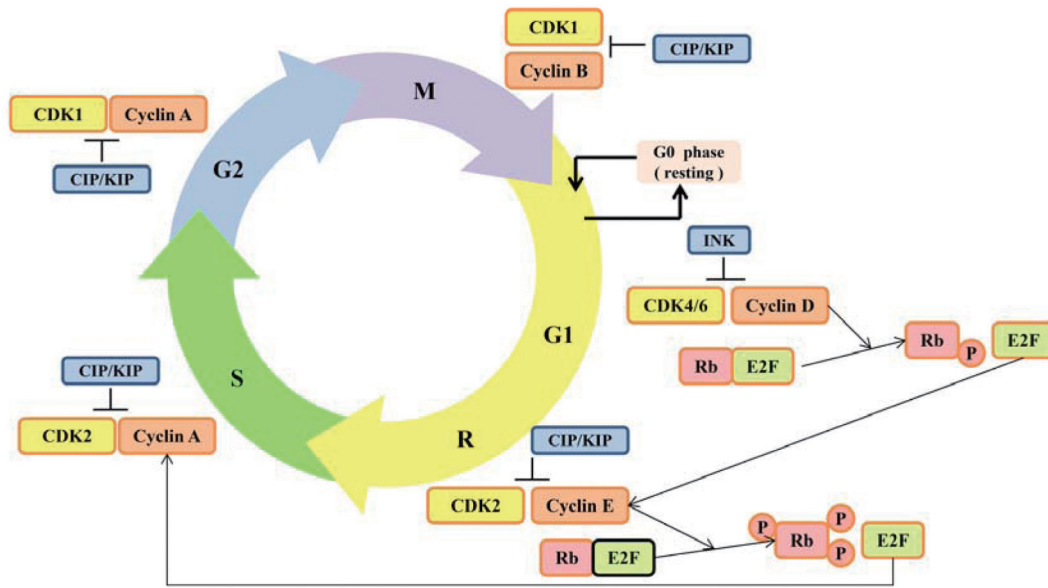
#### 1.2.2 G2/M 细胞周期停滞

G2/M 期检查点涉及 ATM/ATR 通路<sup>[19]</sup>、p38-丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路<sup>[20]</sup> 及 WEE1 (即有丝分裂抑制剂蛋白激酶) 通路<sup>[21]</sup>。ATM/ATR 通路激活后, 促进下游靶蛋白磷酸化进而诱导 p21 产生, 抑制 CDK1 导致 G2/M 停滞<sup>[19, 22]</sup>。各种应激性刺激 (细胞因子、高渗及紫外线照射) 激活 p38-MAPK 通路, 通过抑制 CDC25 活性阻止 G2/M 期细胞周期进程。还有一重要途径是 DNA 损伤信号直接或通过检查点激酶 1 (checkpoint 1, CHK1) 间接激活 WEE1, 通过酪氨酸残基磷酸化使 CDK1 保持非活性状态, 从而抑制 G2/M 期转换<sup>[23]</sup>。

## 2 细胞周期停滞及其标志物在 AKI 中的研究

### 2.1 细胞周期停滞在 AKI 中的作用

肾小管细胞是 AKI 中最容易受损的靶细胞, 在缺血缺氧、肾毒性药物等各种损伤应激下极易发



注: Cyclin D与CDK4/6结合, 促进视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, Rb)磷酸化, 细胞从G0期进入G1期。紧接着cyclin E与CDK2结合, 进一步促进Rb高度磷酸化, 解除Rb对转录因子E2F的抑制, 启动靶基因转录, 细胞完成G1/S转换。Cyclin A与CDK2结合推动S期进程。G2/M期转换则需要cyclin A与CDK1形成的复合物, 在M期cyclin B与CDK1结合, 参与细胞有丝分裂。Cyclin: 细胞周期蛋白; CDK: 细胞周期蛋白依赖激酶; INK: CDK4抑制因子; CIP/KIP: CDK相互作用蛋白/激酶抑制蛋白; Rb: 视网膜母细胞瘤蛋白

图1 细胞周期进展示意图

生细胞周期停滞。在缺血性 AKI 后 24 h, 肾小管细胞 p53 和 p21 表达增加, 通过抑制 CDK/cyclin 复合物活性促进肾小管上皮细胞停滞于 G1 期, 有利于防止 DNA 损伤的细胞发生分裂<sup>[24]</sup>。研究发现, 在 AKI 早期, 损伤肾小管上皮细胞分泌的 IGFBP7 和 TIMP2 增加, 导致 p53 上调, 抑制 CDK4/6/cyclin D 和 CDK2/cyclin E 复合物形成, 使得肾小管细胞暂时停滞于 G1 期<sup>[25-26]</sup>, 从而为细胞损伤修复提供时间保障<sup>[27]</sup>。在顺铂或缺血再灌注 (ischemia reperfusion, I/R) 诱导的 AKI 小鼠模型中, 给予 CDK4/6 的小分子抑制剂 palbociclib 和 ribociclib 抑制 CDK4/6, 可诱导短暂的 G0/G1 阻滞, 保护小管上皮细胞免受 DNA 损伤和 caspase 激活以减轻损伤, 减少细胞凋亡及肾间质炎症细胞浸润<sup>[28-30]</sup>。上述研究证明 AKI 后短暂的细胞周期停滞具有一定的保护性效应。然而, 持续的 G1 期停滞会导致细胞肥大、衰老, 释放炎症因子、趋化因子等衰老相关分泌表型, 加重肾脏损伤<sup>[6]</sup>; 同时停滞于 G1 期的肾小管上皮细胞通过 TGF-β/Smad3-p21/p27 途径上调 TGF-β 表达, 促进肾纤维化进展<sup>[31-32]</sup>, 而当用 Smad7 抑制上述信号途径后, 使肾小管上皮细胞免受 G1 细胞周期停滞的影响, 并通过 CDK1/cyclin E 机制促进肾小管上皮

细胞 G1/S 转换, 从而改善了肾纤维化<sup>[33]</sup>。以上表明, 持续的细胞周期停滞将导致细胞凋亡或增生失衡、修复不良及持续损伤, 从而促进 AKI 进展至慢性肾脏疾病。

近年研究发现, G2/M 期细胞周期阻滞是 AKI 后肾纤维化的重要机制。Yang 等<sup>[34]</sup>在 I/R、肾毒性及梗阻性 AKI 模型中均发现肾小管上皮细胞停滞于 G2/M 期, 通过激活 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 信号通路, 上调 TGF-β1 和结缔组织因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 等促纤维化因子的表达, 促进肾间质炎症浸润和细胞外基质沉积, 导致肾间质纤维化; 当给予 p53 抑制剂处理后, 通过抑制 G2/M 期阻滞可明显改善肾纤维化<sup>[35]</sup>; 以上表明 G2/M 期阻滞及其下游信号可作为抑制 AKI 后肾纤维化的干预靶点。研究发现非典型细胞周期蛋白 G1 和雷帕霉素自噬空间耦合腔的靶点 (target of rapamycin-autophagy spatial coupling compartments, TASCCs) 能调节肾小管上皮细胞 G2/M 期阻滞和纤维化适应不良性修复; 而敲除细胞周期蛋白 G1 通过减少肾小管上皮细胞 G2/M 期阻滞和 TASCCs 形成, 可抑制肾脏纤维化的发生<sup>[36]</sup>。然而, 最新采用单细胞测序研究发现, 在 AKI 后期修复失败的肾小管细胞并不

具有 G2/M 期细胞周期阻滞的特征, 而是具有促炎的衰老相关分泌表型<sup>[37]</sup>, 表明 AKI 后期 G2/M 期停滞可能并不是肾脏修复障碍的最主要原因。

## 2.2 细胞周期停滞标志物在 AKI 中的研究

### 2.2.1 细胞周期停滞标志物 TIMP2 和 IGFBP7

TIMP2 属于 TIMPs 家族, 是基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的内源性抑制剂, 相对分子质量约为 24 kDa<sup>[38]</sup>。TIMP2 通过抑制 MMPs 的活性调节细胞外基质的代谢, 抑制血管内皮细胞增殖进而抑制血管形成<sup>[39-41]</sup>; 还通过非 MMP 依赖性途径参与细胞增殖、分化、凋亡、迁移等生命过程。正常情况下, TIMP2 在多个器官中表达, 常见表达于生殖系统及膀胱中, 而肾脏中较少<sup>[42]</sup>。IGFBP7 是 IGFBP 超家族成员, 是相对分子质量约为 29 kDa 的分泌性蛋白<sup>[38]</sup>, 与胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factors, IGF) 亲和力低<sup>[43]</sup>, 但与胰岛素结合能力较高<sup>[44]</sup>, 其生物学作用分为 IGF 依赖和独立于 IGF 两方面<sup>[45]</sup>。一方面 IGFBP7 通过丝氨酸/苏氨酸的磷酸化, 激活多种肿瘤细胞 MAPK 与磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 途径, 调控细胞活性、增殖分化、分裂、迁移及蛋白质合成等生物学过程<sup>[45]</sup>; 另一方面, 在不同类型的癌症中, IGFBP7 通过抑制增殖和诱导细胞凋亡和衰老而发挥抑制作用<sup>[46]</sup>。IGFBP7 分布广泛, 在外周神经、消化道、生殖系统等均有表达, 肾脏表达最多<sup>[42]</sup>。

研究发现 TIMP2 通过激活蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 及 PI3K 信号途径促进细胞生长<sup>[47]</sup>。TIMP2 还可以通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路来抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[41]</sup>。在调控细胞周期方面, TIMP-2 通过耦合  $\alpha$ 3 $\beta$ 1 整合蛋白诱导 Shp-1 调节 CKI p27<sup>KIP1</sup> 合成增加, 进而抑制 CDK4 和 CDK2, 最终使细胞停滞于 G1 期<sup>[48]</sup>。IGFBP7 与 Activin 形成复合物后, 调节腺体生长发育和卵泡刺激素生成<sup>[40]</sup>; IGFBP7 刺激脐静脉内皮细胞对 IV 型胶原蛋白的黏附, 诱发形态学改变<sup>[49-50]</sup>。在肿瘤领域, IGFBP7 可以通过抑制 cyclin D1 和 p21 的表达, 并促进 cyclin A、cyclin E、p16、p27 表达<sup>[51-53]</sup>, 或通过抑制 Akt 的激酶活性, 引起 CDK 抑制因子 p27 和 p21 上调<sup>[54]</sup>, 诱导细胞停滞于 G0/G1 期。细胞内 IGFBP7 水平增高后, 可以通过非 IGF-I 受体、Akt、ERK 途径诱导细胞停滞于 G2 期, 进而导致细胞凋亡<sup>[55]</sup>。在脓毒症引起的 AKI 中, IGFBP7 通过激活 ERK1/2 及通路相关蛋白, 包括 cyclin D、

p21、Bax (BCL2 associated X) 和 Bcl-2, 诱导细胞停滞于 G0/G1 期<sup>[56]</sup>。在 AKI 患者中, 肾小管细胞表达及分泌 TIMP2 和 IGFBP7 水平增高, 可作为肾小管细胞早期损伤的 G1 期细胞周期停滞标志物<sup>[57]</sup>。AKI 后肾小管细胞早期应激期间, TIMP2 刺激 p27 表达, IGFBP7 直接增加 p53 和 p21 表达, p27、p53 和 p21 阻断 CDK-cyclin 复合物形成, 阻止细胞周期进展, 导致短暂的 G1 期细胞周期停滞。以上表明, TIMP2 和 IGFBP7 可作为细胞周期停滞的生物标志物。

### 2.2.2 尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 在 AKI 早期诊断中的研究

尿液 TIMP2 和 IGFBP7 浓度的乘积 ([TIMP2]•[IGFBP7]) 在 AKI 早期显著升高, 在预测 AKI 发生方面, 其 340 种血、尿标志物优于其他, 其受试者工作特征曲线下面积 (area under the receiver operating curve, AUC) 达 0.80<sup>[9]</sup>。随后 Opal 研究<sup>[58]</sup> 及 Topaz 研究<sup>[59]</sup> 也对尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 预测中重度 AKI 进行了验证, AUC 分别为 0.79 和 0.82。自这 3 项研究 (表 1) 发表后, 2014 年, 美国食品和药物管理局 (FDA) 批准 "NephroCheck" ([TIMP2]•[IGFBP7]) 上市, 用于 AKI 的早期诊断<sup>[60]</sup>。鉴于 AKI 是一种多病因疾病, 尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 在不同病因的 AKI 中的截断值不同, 但均具有较好的预测价值 (AUC 0.78~0.85), 详见表 2。

### 2.2.3 尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 在 AKI 中的预后研究

尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 不仅可作为早期诊断 AKI 的生物标志物, 而且还可用于评估 AKI 预后。在心血管手术后 AKI 的预后分析中, 24 h 尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 预测 CSA-AKI 患者术后 1 年死亡的 AUC 为 0.81<sup>[61]</sup>; 术后每增加 0.1 mg/dL 的 [TIMP2]•[IGFBP7], 术后 1 年死亡风险增加 10%<sup>[62]</sup>; 即使没有 AKI 的心脏手术后的患者中, 尿 [TIMP2]•[IGFBP7] 水平升高与 3 个月后肾功能下降相关<sup>[63]</sup>。对急性失代偿性心力衰竭的 AKI 患者, [TIMP2]•[IGFBP7]>2.0 的患者 1 年后的死亡率是 [TIMP2]•[IGFBP7]≤2.0 的患者的 3.9 倍<sup>[64]</sup>。当脓毒症患者 [TIMP2]•[IGFBP7]≥0.3 时, 一年生存率及透析风险均增高<sup>[65]</sup>。SAPPHIRE 研究对 692 名重症监护病房的 AKI 患者分析发现, 入院时尿 [TIMP2]•[IGFBP7] > 2.0 的患者于 9 个月时的死亡风险或需要肾脏替代治疗的百分率明显升高<sup>[66]</sup>。以上研究结果显示出在相同病因诱导发生的 AKI 结局分析中, [TIMP2]•[IGFBP7] 预测不良结局的效能不同。

表1 [TIMP2]·[IGFBP7]作为早期诊断AKI的生物标志物的临床研究

研究目的	研究人群及人数	主要终点	研究结果
<b>Sapphire研究</b>			
观察队列 确定AKI的新型蛋白标志物	ICU患者≥18岁, 至少有1个AKI危险因素; 纳入522人	样本采集后12 h内发展为中度至重度AKI (KDIGO2~3期)	对340种潜在生物标志物进行检测, 发现IGFBP7和TIMP2是最好的标志物(AUC分别为0.76、0.79)
验证队列 验证[TIMP-2]·[IGFBP7]早期诊断AKI的效能	ICU患者>21岁, 危重症患者, 排除2-3期AKI; 纳入728人		14%的患者达到研究主要终点; 当[TIMP2]·[IGFBP7]>0.3时, AKI发生的风险显著升高
Opal研究 推导并验证[TIMP-2]·[IGFBP7]的截断值	ICU患者≥21岁, 在ICU留置尿管至少48 h; 纳入154人	在样本采集后12 h内发展为中度或重度AKI (KDIGO 阶段2 或 3)	18%的患者达到研究主要终点; AUC为0.79; 当临界值=0.3, 灵敏性为89%, NPV为97%; 当临界值=2.0, 特异性为95%, PPV为49%
Topaz研究 临床判断及验证[TIMP-2]·[IGFBP7]的性能	患者≥21岁, 24 h内进入ICU的危重症患者, 排除2-3期AKI患者; 纳入420人	由3名肾科医师诊断入组后发展为中度至重度AKI的患者(KDIGO 阶段2~3期)	17.4%的患者达到研究主要终点; AUC为0.82; 当临界值=0.3, 敏感性为92%, 特异性为46%; 当临界值=2.0, 敏感性为37%, 特异性为95%。 [TIMP2]·[IGFBP7]与临床模型相结合时仍然显示出预测AKI的显著性

表2 [TIMP2]·[IGFBP7]在不同病因导致AKI中的诊断研究

AKI病因	研究人群及数量	研究结果中位数(范围)	总体AUC (95% 置信区间)	截断值中位数(范围)	总体灵敏度(95% 置信区间)	总体特异度(95% 置信区间)
心血管相关手术	进行心血管相关手术的成人患者2 232例, 新生儿36例	32.1%研究对象发生(中重度) AKI (8.2%~74.0%)	0.78 (0.73~0.83)	0.30 (0.02~1.065)	0.75 (0.65~0.84)	0.81 (0.74~0.87)
其他大手术	AKI高风险手术患者482例	52.8%研究对象术后发生AKI 25.7%研究对象发生(中重度) AKI (9.3%~42.1%)	0.85 0.85 (0.78~0.91)	0.16 0.30	0.68 0.88 (0.75~1.00)	0.88 0.61 (0~1.00)
肾移植	进行肾移植患者153例	31.1%研究对象移植肾功能恢 复延迟(21.2%~39.3%)	0.82 (0.68~0.95)	0.30 (0.06~1.39)	0.77 (0.55~0.98)	0.78 (0.65~0.91)
失代偿性心力衰竭	诊断为ADHF患者40例	27.5%研究对象达到终点	0.84	0.30	0.72	0.81
心脏骤停	OHCA患者243例	54.9%研究对象发生(中重度) AKI (45.1%~64.6%)	/	0.30 (0.24~0.36)	/	/
脓毒症	脓毒症患者1 420例	32.6%研究对象发生(中重度) AKI或死亡(11.1%~58.0%)	0.80 (0.73~0.87)	0.70 (0.04~2.30)	0.73 (0.61~0.85)	0.76 (0.69~0.83)
肾毒性药物	应用肾毒性药物患者302例	14.7%研究对象发生AKI (12.5%~16.3%)	0.85 (0.67~1.00)	0.30 (0.10~0.33)	0.68 (0.29~1.00)	0.79 (0.38~1.00)

### 3 结论

细胞周期停滞是 AKI 进展为 CKD 的重要细胞生物学事件, 从细胞周期停滞角度探寻早期诊断 AKI 及评估预后的生物标志物具有重要临床意义。[TIMP-2]·[IGFBP7] 是较早且用于诊断 AKI 发生的细胞周期停滞生物标志物, 目前已在许多领域的多项研究中证明了其有效性和准确性, 然而其灵敏度及特异度在不同病因导致的 AKI 中波动较大, 截断值亦有较大波动; 此外, [TIMP2]·[IGFBP7] 还可用于评估 AKI 预后, 但亦需要开展大规模、多中心的临床研究进一步证实。未来探寻 AKI 后肾小管细胞特异性的细胞周期停滞标志物, 以及开展细胞周期停滞的机制研究, 对于早期诊断 AKI 及干预细胞周期停滞对改善 AKI 预后具有重要意义。

#### [参 考 文 献]

- [1] Hirsch JS, Ng JH, Ross DW, et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int*, 2020, 98: 209-18
- [2] Mehta RL, Burdman EA, Cerda J, et al. Recognition and management of acute kidney injury in the International Society of Nephrology 0by25 Global Snapshot: a multinational cross-sectional study. *Lancet*, 2016, 387: 2017-25
- [3] Chawla LS, Kimmel PL. Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome. *Kidney Int*, 2012, 82: 516-24
- [4] Horne KL, Packington R, Monaghan J, et al. Three-year outcomes after acute kidney injury: results of a prospective parallel group cohort study. *BMJ Open*, 2017, 7: e015316
- [5] He L, Wei Q, Liu J, et al. AKI on CKD: heightened injury, suppressed repair, and the underlying mechanisms. *Kidney Int*, 2017, 92: 1071-83
- [6] Moonen L, D'Haese PC, Vervaeke BA. Epithelial cell cycle behaviour in the injured kidney. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 2038
- [7] Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Crit Care*, 2013, 17: R25
- [8] Sun Y, Liu Y, Ma X, et al. The influence of cell cycle regulation on chemotherapy. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 6923
- [9] Lee K, Gusella GL, He JC. Epithelial proliferation and cell cycle dysregulation in kidney injury and disease. *Kidney Int*, 2021, 100: 67-78
- [10] Vogetseder A, Picard N, Gaspert A, et al. Proliferation capacity of the renal proximal tubule involves the bulk of differentiated epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294: C22-8
- [11] Iwakura T, Fujigaki Y, Fujikura T, et al. A high ratio of G1 to G0 phase cells and an accumulation of G1 phase cells before S phase progression after injurious stimuli in the proximal tubule. *Physiol Rep*, 2014, 2: e12173
- [12] Price PM, Safirstein RL, Megyesi J. The cell cycle and acute kidney injury. *Kidney Int*, 2009, 76: 604-13
- [13] Suski JM, Braun M, Strmiska V, et al. Targeting cell-cycle machinery in cancer. *Cancer Cell*, 2021, 39: 759-78
- [14] Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 2004, 432: 316-23
- [15] Russo AA, Tong L, Lee JO, et al. Structural basis for inhibition of the cyclin-dependent kinase Cdk6 by the tumour suppressor p16INK4a. *Nature*, 1998, 395: 237-43
- [16] Hirao A, Kong YY, Matsuoka S, et al. DNA damage-induced activation of p53 by the checkpoint kinase Chk2. *Science*, 2000, 287: 1824-7
- [17] Matsuoka S, Huang M, Elledge SJ. Linkage of ATM to cell cycle regulation by the Chk2 protein kinase. *Science*, 1998, 282: 1893-7
- [18] Dulic V, Kaufmann WK, Wilson SJ, et al. p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblasts during radiation-induced G1 arrest. *Cell*, 1994, 76: 1013-23
- [19] Yan M, Tang C, Ma Z, et al. DNA damage response in nephrotoxic and ischemic kidney injury. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 313: 104-8
- [20] Astuti P, Pike T, Widberg C, et al. MAPK pathway activation delays G2/M progression by destabilizing Cdc25B. *J Biol Chem*, 2009, 284: 33781-8
- [21] Vera J, Raatz Y, Wolkenhauer O, et al. Chk1 and Wee1 control genotoxic-stress induced G2-M arrest in melanoma cells. *Cell Signal*, 2015, 27: 951-60
- [22] Pabla N, Bhatt K, Dong Z. Checkpoint kinase 1 (Chk1)-short is a splice variant and endogenous inhibitor of Chk1 that regulates cell cycle and DNA damage checkpoints. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 197-202
- [23] Matheson CJ, Backos DS, Reigan P. Targeting WEE1 kinase in cancer. *Trends Pharmacol Sci*, 2016, 37: 872-81
- [24] Yang QH, Liu DW, Long Y, et al. Acute renal failure during sepsis: potential role of cell cycle regulation. *J Infect*, 2009, 58: 459-64
- [25] Aregger F, Uehlinger DE, Witowski J, et al. Identification of IGFBP-7 by urinary proteomics as a novel prognostic marker in early acute kidney injury. *Kidney Int*, 2014, 85: 909-19
- [26] Emler DR, Shaw AD, Kellum JA. Sepsis-associated AKI: epithelial cell dysfunction. *Semin Nephrol*, 2015, 35: 85-95
- [27] Allison SJ. Contribution of dedifferentiated proximal tubule cells to repair in acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16: 65
- [28] Pabla N, Gibson AA, Buege M, et al. Mitigation of acute kidney injury by cell-cycle inhibitors that suppress both CDK4/6 and OCT2 functions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: 5231-6
- [29] DiRocco DP, Bisi J, Roberts P, et al. CDK4/6 inhibition induces epithelial cell cycle arrest and ameliorates acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306: F379-88
- [30] Kim JY, Jayne LA, Bai Y, et al. Ribociclib mitigates

- cisplatin-associated kidney injury through retinoblastoma-1 dependent mechanisms. *Biochem Pharmacol*, 2020, 177: 113939
- [31] Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF- $\beta$  signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat Genet*, 2001, 29: 117-29
- [32] Matsuura I, Denissova NG, Wang G, et al. Cyclin-dependent kinases regulate the antiproliferative function of Smads. *Nature*, 2004, 430: 226-31
- [33] Fu S, Tang Y, Huang XR, et al. Smad7 protects against acute kidney injury by rescuing tubular epithelial cells from the G1 cell cycle arrest. *Clin Sci (Lond)*, 2017, 131: 1955-69
- [34] Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, et al. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Med*, 2010, 16: 535-43, 1p following 143
- [35] Ying Y, Kim J, Westphal SN, et al. Targeted deletion of p53 in the proximal tubule prevents ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25: 2707-16
- [36] Canaud G, Brooks CR, Kishi S, et al. Cyclin G1 and TASC regulate kidney epithelial cell G<sub>2</sub>-M arrest and fibrotic maladaptive repair. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaav4754
- [37] Gerhardt LMS, Liu J, Koppitch K, et al. Single-nuclear transcriptomics reveals diversity of proximal tubule cell states in a dynamic response to acute kidney injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118: e2026684118
- [38] Emllet DR, Pastor-Soler N, Marciszyn A, et al. Insulin-like growth factor binding protein 7 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2: differential expression and secretion in human kidney tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312: F284-96
- [39] Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1803: 55-71
- [40] Seo DW, Li H, Qu CK, et al. Shp-1 mediates the antiproliferative activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human microvascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 2006, 281: 3711-21
- [41] Xia Y, Wu S. Tissue inhibitor of metalloproteinase 2 inhibits activation of the  $\beta$ -catenin signaling in melanoma cells. *Cell Cycle*, 2015, 14: 1666-74
- [42] Fagerberg L, Hallstrom BM, Oksvold P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13: 397-406
- [43] Burger AM, Leyland-Jones B, Banerjee K, et al. Essential roles of IGFBP-3 and IGFBP-rP1 in breast cancer. *Eur J Cancer*, 2005, 41: 1515-27
- [44] Rajah R, Valentinis B, Cohen P. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor- $\beta$ 1 on programmed cell death through a p53- and IGF-independent mechanism. *J Biol Chem*, 1997, 272: 12181-8
- [45] Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev*, 1999, 20: 761-87
- [46] Jin L, Shen F, Weinfeld M, et al. Insulin growth factor binding protein 7 (IGFBP7)-related cancer and IGFBP3 and IGFBP7 crosstalk. *Front Oncol*, 2020, 10: 727
- [47] Wang T, Yamashita K, Iwata K, et al. Both tissue inhibitors of metalloproteinases-1 (TIMP-1) and TIMP-2 activate Ras but through different pathways. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 296: 201-5
- [48] Beck MT, Chen NY, Franek KJ, et al. Prolactin antagonist-endostatin fusion protein as a targeted dual-functional therapeutic agent for breast cancer. *Cancer Res*, 2003, 63: 3598-604
- [49] Pietenpol JA, Lengauer C, Jordan J, et al. Mammalian cells resistant to tumor suppressor genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93: 8390-4
- [50] St Croix B, Rago C, Velculescu V, et al. Genes expressed in human tumor endothelium. *Science*, 2000, 289: 1197-202
- [51] Sato Y, Chen Z, Miyazaki K. Strong suppression of tumor growth by insulin-like growth factor-binding protein-related protein 1/tumor-derived cell adhesion factor/mac25. *Cancer Sci*, 2007, 98: 1055-63
- [52] Sprenger CC, Vail ME, Evans K, et al. Over-expression of insulin-like growth factor binding protein-related protein-1(IGFBP-rP1/mac25) in the M12 prostate cancer cell line alters tumor growth by a delay in G1 and cyclin A associated apoptosis. *Oncogene*, 2002, 21: 140-7
- [53] Zuo S, Liu C, Wang J, et al. IGFBP-rP1 induces p21 expression through a p53-independent pathway, leading to cellular senescence of MCF-7 breast cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138: 1045-55
- [54] Zhang L, Lian R, Zhao J, et al. IGFBP7 inhibits cell proliferation by suppressing AKT activity and cell cycle progression in thyroid carcinoma. *Cell Biosci*, 2019, 9: 44
- [55] Verhagen HJ, de Leeuw DC, Roemer MG, et al. IGFBP7 induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells and synergizes with chemotherapy in suppression of leukemia cell survival. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1300
- [56] Wang X, Li Y, Zhao Z, et al. IGFBP7 regulates sepsis-induced epithelial-mesenchymal transition through ERK1/2 signaling. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51: 799-806
- [57] Ortega LM, Heung M. The use of cell cycle arrest biomarkers in the early detection of acute kidney injury. Is this the new renal troponin? *Nefrologia (Engl Ed)*, 2018, 38: 361-7
- [58] Hoste EA, McCullough PA, Kashani K, et al. Derivation and validation of cutoffs for clinical use of cell cycle arrest biomarkers. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 29: 2054-61
- [59] Bihorac A, Chawla LS, Shaw AD, et al. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189: 932-9
- [60] Vijayan A, Faubel S, Askenazi DJ, et al. Clinical use of the urine biomarker [TIMP-2] x [IGFBP7] for acute kidney injury risk assessment. *Am J Kidney Dis*, 2016, 68: 19-28
- [61] 谢彩蝶, 刘康, 严陈燕, 等. 尿胰岛素样生长因子结合蛋



- 白7和金属蛋白酶2组织抑制剂联合检测对心脏术后急性肾损伤早期诊断及预后的价值. 中华肾脏病杂志, 2021, 37: 95-104
- [62] Alam A, Jamil AK, Van Zyl JS, et al. Urinary cell-cycle arrest biomarkers as early predictors of acute kidney injury after ventricular assist device implantation or cardiac transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2022, 36: 2303-12
- [63] Husain-Syed F, Ferrari F, Sharma A, et al. Persistent decrease of renal functional reserve in patients after cardiac surgery-associated acute kidney injury despite clinical recovery. *Nephrol Dial Transplant*, 2019, 34: 308-17
- [64] Schanz M, Shi J, Wasser C, et al. Urinary [TIMP-2] x [IGFBP7] for risk prediction of acute kidney injury in decompensated heart failure. *Clin Cardiol*, 2017, 40: 485-91
- [65] Fiorentino M, Xu Z, Smith A, et al. Serial measurement of cell-cycle arrest biomarkers [TIMP-2] . [IGFBP7] and risk for progression to death, dialysis, or severe acute kidney injury in patients with septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 202: 1262-70
- [66] Koyner JL, Shaw AD, Chawla LS, et al. Tissue inhibitor metalloproteinase-2 (TIMP-2) IGF-binding protein-7 (IGFBP7) levels are associated with adverse long-term outcomes in patients with AKI. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26: 1747-54