

HDAC 抑制剂治疗糖尿病肾病的研究进展

刘田燕, 李琦, 于舒凡, 葛俞霖, 张潇丹, 杨莹, 李露露, 范秋灵

中国医科大学附属第一医院肾内科, 辽宁 沈阳 110000

摘要: 糖尿病肾病(DN)是全球慢性肾脏衰竭最常见的病因。在寻找 DN 的新疗法中,研究者们最近聚焦于组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂等药物的重定位效应。HDAC 为可去除组蛋白和非组蛋白 ϵ -氨基乙酰化赖氨酸残基上乙酰基的一组酶,主要通过表观遗传和非表观遗传两种方式来影响细胞功能,而 HDAC 抑制剂则抑制蛋白质去乙酰化,以表观遗传途径来调控细胞功能,从而达到改善 DN 的结果。过去十年内有相当多的研究证明 HDAC 抑制剂可改善 DN,降低 DN 患者蛋白尿,抑制肾脏纤维化。目前美国食品和药物管理局(FDA)批准用于临床的 HDAC 抑制剂主要用于治疗血液恶性肿瘤等疾病,在本综述中非重点陈述;而其他已投入临床应用的药物,如丙戊酸钠、丁酸钠、阿托伐他汀等,被证明具有抑制 HDAC 的作用,即重定位药物。本综述简要介绍目前 FDA 已批准投入临床的 HDAC 抑制剂,着重介绍目前尚在开发探索中的可能改善 DN 的 HDAC 抑制剂以及近年发现的具有抑制 HDAC 效应的一些药物。HDAC 抑制剂可能为 DN 的发病机制及治疗途径提供新的思路 and 角度,新疗法的探索更加迫切。

关键词: 组蛋白; 表观遗传学; 肾脏疾病; 糖尿病肾病; 乙酰化

中图分类号: R 587.2 R 692.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)09-1286-06

糖尿病肾病(DN)是全球慢性肾衰竭最常见的原因^[1]。糖尿病肾病以蛋白尿、肾小球滤过率(GFR)下降、肾小球基底膜及肾小管间质细胞外基质(ECM)蛋白沉积为特点,最终发展至终末期肾脏疾病(ESRD)。多年来糖尿病患者 ESRD 的发病率虽有下降,但其绝对数量却持续上升^[2]。组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂引起关注,近年来大量临床前研究证明 HDAC 抑制剂对实验性 DN 有效。这为探究 DN 的发病机制提供了新线索,但 HDAC 抑制剂治疗 DN 是否有效还有待确定。本文介绍 HDAC 的生物学效应,报道 HDAC 抑制剂治疗实验性 DN 的临床前研究。

1 HDAC

组蛋白是环绕 DNA 形成核小体核心颗粒的蛋白质。HDAC 使组蛋白和非组蛋白 ϵ -氨基乙酰化赖氨酸残基去乙酰化,目前 HDAC 至少有 18 种,根据其同源性分为 4 类^[3]。经典 HDACs(I、II、IV 类)为 Zn^{2+} 依赖性: I 类 HDACs 包括异构体 HDAC1、2、3、8; II 类 HDACs 被分为 II a 类(HDACs 4、5、7 和 9)和 II b 类(HDACs 6 和 10); IV 类 HDACs 仅 HDAC11。III 类 HDACs 不同于 I、II、IV 类为 NAD^+ 依赖性,又称 sirtuins,哺乳动物包含 SIRT1-7。由于作用机制不同,目前已知的 I 类和 II 类 HDAC 抑制剂不能抑制 sirtuins^[4]。据记载 I 类 HDAC 在发育中的肾皮质、肾成纤维细胞以及肾小管细胞中均有表达; HDAC5(II a 类)和 HDAC6(II b 类)在肾小管被识别; SIRT1(III 类)在肾小管和肾成纤维细胞中均有表达;肾小管还存在 HDAC11(IV 类)表达^[4]。HDAC 参与多种细胞功能,如细胞增殖、生存、分化和免疫应答^[5]。

HDAC 可通过组蛋白翻译后修饰影响表观遗传基因转录。组蛋白乙酰化/去乙酰化可以至少以两种不同的方式影响基因转录。当组蛋白尾部的赖氨酸(或精氨酸)未乙酰化时,它们带正电使组蛋白能与带负电的核糖-磷酸 DNA 骨架更紧密地相互作用,使染色质致密而减少基因转录。而组蛋白乙酰转移酶(HAT)使组蛋白乙酰化,起相反作用。在细胞核中,HDAC 多与转录共遏因子形成大型复合物。部分 HDACs 也作用于非组蛋白,它们几乎完全存在于细胞质^[6],如 HDAC6 可使 α -微管蛋白等去乙酰化; MV4-11 细胞中鉴定出 1750 种乙酰化蛋白^[7]。HDAC6 除两个催化结构域外还具有与泛素化蛋白结合的 ZnF-UBP 结构域、结合动力蛋白的结构域,它们相互作用并协同 HDAC6 处理蛋白质错误折叠^[6]。组蛋白赖氨酸残基也可被其他酰基修饰,且他们可以为 HDAC 的底物,HDAC3 能使组蛋白去巴豆酰化^[8]。

2 HDAC 抑制剂

HDAC 抑制剂据其化学结构分为 5 类: 羟脂肪酸衍生物、短链脂肪酸(脂肪族类)、环肽、苯甲酰胺、sirtuin 抑制剂^[4,9-11]。大多 HDAC 抑制剂作用于 Zn^{2+} 结构域,能有效抑制多种不同的 HDAC,可能具有广谱效应、类效应或异构体特异性效应。

异羟脂肪酸衍生物是首先被批准的 HDAC 抑制剂,特异性较差。曲古菌素 A(TSA)属于羟脂肪酸类,目前临床尚未使用。伏立诺他也称为辛二酰苯胺异羟脂肪酸(SAHA),和 TSA 同为 I/II 类 HDACs 抑制剂^[12]。2006 年美国食品和药物管理局(FDA)批准 SAHA 应用于临床治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤,截至 2018 年其余 4 类 HDAC 抑制剂均在血液恶性肿瘤领域获得批

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2019.09.034

基金项目: 国家自然科学基金(81770724); 国家重点研发计划“精准医学研究”专项课题(2017YFC0907600); 辽宁省自然科学基金(201602821); 沈阳市中青年科技创新人才支持计划(RC170172); 沈阳市科学计划项目(F16-205-1-40)

通讯作者: 范秋灵, E-mail: cmufql@163.com

准。广谱 HDAC 抑制剂 Belinostat 和 Panobinostat, 目前 FDA 批准可分别用于外周 T 细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤的治疗^[13-14]。Romidepsin 为 I 类 HDAC 抑制剂, 是一种结构特殊的环肽, 目前被批准用于治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤和其他外周 T 细胞淋巴瘤^[15]。Chidamide 也是 I 类选择性 HDAC 抑制剂且属于苯甲酰胺类^[16], 中国批准其用于外周 T 细胞淋巴瘤治疗^[17]。

除专门开发的 HDAC 抑制剂外, 其他药物也有 HDAC 抑制效应, 但作用机制尚未明。丙戊酸钠用于治疗癫痫、双相障碍及预防偏头痛, 自被报道具有 HDAC 抑制作用后广受关注。临床中其他非 DN 治疗药也被报道有抑制 HDAC 作用, 可能为药物多向效应, 如降脂药阿托伐他汀^[18]。钠-葡萄糖共转运蛋白 2 (SGLT2) 抑制剂是阻止近端小管从尿滤液中重吸收葡萄糖以降低血糖的口服降糖药^[19]。SGLT2 抑制剂有肾脏保护作用, 它与肾素-血管紧张素系统 (RAS) 阻断剂可能是当前大多数 2 型糖尿病与肾病患者的最佳治疗药物。研究证明 SGLT2 抑制剂在抑制心脑血管疾病和肾病中的作用^[20-21]: 检测 2 型糖尿病心血管高风险个体心脑血管疾病的发病率和死亡率, 与安慰剂组相比, SGLT2 抑制剂恩格列净使初始终点 (心血管原因死亡, 非致死性心肌梗死或非致死性中风) 相对风险降低 14%^[21]; 肾脏终点的相对风险降低 39% 与恩格列净关联 (定义为白蛋白尿的进展, 尿白蛋白/肌酐 > 300 mg/g; 血清肌酐翻倍和 eGFR < 45 ml · min⁻¹ · 1.73 m⁻²; 或开始肾脏替代治疗; 或死于肾病) (危险比 0.61; 95% CI = 0.30 ~ 0.70, P < 0.01), 但 12.7% 的患者出现肾病或肾病恶化^[20]。

溴结构域是乙酰化赖氨酸特异的蛋白质相互作用模板, 存在于蛋白质中, 在基因转录调控中起关键作用^[22]。乙酰化组蛋白具有溴结构域识别点^[22-23], 可促进转录调控复合物的合成组装。最近发现小分子溴结构域和末端外结构域 (BET) 抑制剂显著破坏了溴结构域和乙酰化赖氨酸基团间的结合界面, 且具有良好的选择性和耐受性^[23]。特异性 BET 抑制剂在肿瘤等多个领域均有研究, 目前已进入临床试验阶段^[24]。

3 DN 改变 HDAC 活性的证据

用于其他适应证的 HDAC 抑制剂在临床的成功实践, 鼓励人们探索 DN 新疗法。DCCT/EDIC 研究表明, 一旦 DN 患者先前暴露于“代谢记忆”高血糖状态, 即使后来血糖得到控制, DN 仍持续发展^[25]。长期随访临床降糖试验的糖尿病患者, 发现在最初试验^[26-27]完成后多年, 最初强化血糖控制的个体发生糖尿病并发症 (包括肾病) 的风险持续降低^[28]。表观遗传学可能是“代谢记忆”的介质, 因而短暂的环境暴露可对细胞功能产生持久影响^[29]。主要表达于造血细胞和上皮细胞的一种胞浆酪氨酸磷酸酶 SHP-1, 能使参与细胞信号传递的多种磷酸化蛋白包括酪氨酸激酶家族受体去磷酸化。尽管目前血糖正常, 之前高血糖引起的 SHP-1 持续表达可协同 DN 患者血糖记忆效应, 使 H3K4me1 和 H3K9/14Ac 在肾小球和足细胞 SHP-1 启动子区富集^[30]。组蛋白去乙酰化可能为当前最适合的治疗, 许多研究探索了 HDAC 抑制剂在实验性糖尿病模型中的作用。

HDAC 抑制剂在癌症领域研究广泛, 与非癌细胞相比, 癌细胞对 HDAC 抑制剂表现出相对敏感性, 诱导细胞周期阻滞、分化、凋亡^[31], 但不适用于 DN。2009 年 Noh 等^[32]报道了 HDACs 在 DN 中的作用。该研究中, 链脲霉素 (STZ) 诱导的 2 型糖尿病 db/db 小鼠和暴露于转化生长因子-β1 (TGF-β1) 的近端小管谱系 NRK-52E 糖尿病大鼠肾脏中 HDAC2 活性增加。乙酰化组蛋白 H3 免疫染色阳性的小鼠肾小球核比例在 STZ 诱导糖尿病 18 周后减少^[33]。Wang 等^[34]报道了 STZ 糖尿病大鼠和 db/db 小鼠肾脏中 HDAC2、HDAC4 和 HDAC5 表达增加, DN 患者肾脏中 HDAC4 和 HDAC5 表达增加, 特异性沉默 HDAC4 可减轻足细胞损伤, 且 eGFR 与 HDAC2、HDAC4 或 HDAC5 的表达呈负相关。另外, HDAC9 的表达增加也被证明与 DN 有关^[35]。DN 患者肾脏中 HDAC9 mRNA 的表达显著, 敲除足细胞 HDAC9 可通过 JAK 2/STAT 3 途径减轻肾小球硬化、炎症细胞因子释放、足细胞凋亡和肾损伤^[35]。错误折叠的蛋白质聚集物或受损细胞器需要建立质量控制系统, 包括自噬溶酶体途径, 该途径本身是由转录因子 EB (TFEB) 的主调节转录因子控制的。有研究确定了 HDAC6 和 TFEB 间的调节关系, 抑制 HDAC6 可促进 TFEB 乙酰化和核定位, 延缓内质网应激相关的肾小管上皮细胞死亡, 减轻肾损伤^[36]。然而, 在 DN 中 HDAC 的表达/活性增加或蛋白乙酰化降低并不普遍。Cai 等^[37]报道 H3K9Ac 在糖尿病小鼠的肾脏中表达增加 (这可能表明 HAT 活性增加或 HDAC 活性降低) 及 Kosanam 等^[38]发现 STZ 糖尿病转基因 (mRen-2) 27 大鼠肾脏中蛋白质赖氨酸乙酰化的整体增加。值得注意的是 HDAC 表达/活性增加并不是 HDAC 抑制剂赋予正向治疗的先决条件。类似地, 糖尿病是低肾素状态, 但 RAS 阻滞剂是 DN 患者的标准治疗药物^[39]。实际上, 尽管血管紧张素转换酶 (ACE) 总体水平在糖尿病肾脏中可能降低, 但 ACE 重新分布可能增加局部 RAS 活性^[40]。如果 HDAC 对 DN 有促进作用, 那么其作用很可能比全肾 HDAC 更精确, 具有同型特异性、位点特异性、表观基因组特异性和/或蛋白底物特异性。因此, 需大量工作明确 HDAC 亚型在糖尿病肾脏单个细胞类型中的精确作用。

4 HDAC 抑制剂对实验性 DN 的作用

2003 年首次证明 HDAC 抑制剂对肾脏有益, 广谱 HDAC 抑制剂 TSA 可降低狼疮肾炎小鼠模型蛋白尿^[15]。此后大量研究探索了特定 HDAC 对肾病发展的影响, 尤其是对肾纤维化发展的影响^[4,9,41-42]。本综述着重于 DN 实验模型中 HDAC 抑制剂的作用。

4.1 异羟肟酸 TSA 为 I/II 类 HDAC 抑制剂。2007 年有文章称 HDAC 抑制剂可能对 DN 有效, 报道了广谱 HDAC 抑制剂 TSA 能降低 NRK-52E 细胞中 α-平滑肌肌动蛋白 (α-SMA) 和纤维连接蛋白的表达, 但增加过氧化氢诱导的 E-钙黏蛋白表达^[43]。2009 年他们更广泛地阐述了 HDACs 在糖尿病啮齿动物肾脏 NRK-52E 细胞中的作用, 即每天给糖尿病大鼠皮下注射 TSA (500 μg/kg) 4 周, 发现其蛋白尿减少, 肾脏中纤维连接蛋白、I 型胶原和 α-SMA 的表达上调受抑, 肾小管 E-钙黏蛋白表达下调^[32]。TSA 通过组蛋白乙酰化下调 TGF-β1 的表

达,从而抑制 NRK-52E 细胞基质蛋白上调^[32];同时增加 DNA 结合抑制因子 2(Id2)、骨形态蛋白 7(BMP-7)表达^[44],这些效应也可以通过 I 类选择性 HDAC 抑制剂 SK-7041^[45]和 I 类 HDAC 异构体 HDAC2 基因敲弱达到,表明 HDAC 抑制剂对特定基因有不同调控作用^[32]。

DN 中 ECM 蛋白沉积在肾小球系膜和肾小管间质,伴随着肾小球和肾小管基底膜的增厚,最终导致肾小球硬化症和肾小管间质纤维化^[4]。Noh 等^[32]2009 年报道了在 STZ 糖尿病大鼠 NRK-52E 细胞中,TGF- β 1 或 H₂O₂ 使 HDAC2 活性增加,抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸则抑制 TGF- β 1 诱导 HDAC2 激活以抑制 ECM 堆积和上皮-间充质细胞转化(EMT),保护肾小球改善肾纤维化,这也表明氧化应激与 HDAC 存在关联。氧化应激一直被认为与 DN 发生有关^[46]。它可通过增加活性氧(ROS)生成^[46]或降低抗氧化修复系统的酶活性来引发 DN^[47]。后一个过程涉及的关键蛋白之一为抑制抗氧化修复酶硫氧还蛋白的硫氧还蛋白相互作用蛋白(TxnIP)。TxnIP 在 DN 中的表达受表观遗传调控。TSA 增加了正常血糖下培养的人肾小球系膜细胞 TxnIP 的表达,而对高糖诱导的 TxnIP 上调无影响^[48]。在系膜细胞中观察到分泌型糖蛋白的基因表达和骨桥蛋白的表达有类似改变;正常血糖下 TSA 增加骨桥蛋白的表达,但对高糖诱导的上调作用无影响^[37]。这些观察结果共同强调了 HDAC 抑制剂的作用可能受高糖环境的影响,TxnIP 和骨桥蛋白的表达上调可能推动肾病的进展^[49-50]。

近年来,研究发现 TSA 还可降低顺铂造成的肾损伤,抑制缺血再灌注损伤、肾移植模型和单侧输尿管梗阻(UUO)模型模型的肾纤维化,抑制多囊肾囊肿生长,还可改善狼疮肾炎、肾毒性血清肾炎等免疫病的肾功能^[41]。

在人或动物模型中糖尿病最早的肾脏病变之一肾肿大很明显,肾肿大或许可预测未来肾衰的风险^[51]。虽然肾肿大的精确分子过程尚不清楚,但表皮生长因子(EGF)及其 ErbB 家族受体酪氨酸激酶、表皮生长因子受体(EGFR)可能起重要作用^[52]。Vorinostat 已投入其他适应证的临床应用,Vorinostat 抑制 HDAC 时其他细胞中 EGFR 表达下降^[53],故许多研究探索了该药对早期实验性糖尿病肾肿大的作用。Gilbert 等^[54]报道了 Vorinostat 下调 NRK-52E 细胞 EGFR 表达,减少细胞增殖,STZ 糖尿病大鼠口服(50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)Vorinostat 治疗 3 d 后可减少肾小管细胞增殖,4 周后抑制肾小球肥大和肾肿大。Advani 等^[33]发现 Vorinostat 可缓解 STZ 野生型小鼠的蛋白尿和系膜基质沉积。用 Vorinostat(50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)治疗 STZ 糖尿病小鼠 18 周观察到蛋白尿减轻及肾小球 IV 型胶原沉积和系膜基质积聚减少。但 50% Vorinostat 治疗的患者有血清肌酐和蛋白尿增加现象,大于 40% 的患者血清肌酐升高,但这在临床前肾病中尚未检测过^[41]。Advani 等^[33]注意到肾损伤的改善与氧化应激减弱有关,于是针对内皮型一氧化氮合酶(eNOS)解偶联探索其机制。eNOS 解偶联指能促进超氧化物生成的一组特殊分子反应。高血糖时,ROS 可能与 eNOS 衍生的一氧化氮(NO)反应,形成过亚硝酸盐,过亚硝酸盐又能氧化 eNOS 辅助因子四氢生物喋呤,使超氧化物优先 NO 生成^[55]。Advani 等^[33]还观察到 Vorinostat 降低小鼠肾中人脐静

脉内皮细胞 eNOS 的表达,这种 HDAC 抑制下的部分 eNOS 减少可能有利于抑制糖尿病 eNOS 解偶联和氧化应激。HDAC 抑制剂对 STZ 糖尿病 eNOS 敲除(eNOS^{-/-})小鼠无肾脏保护作用,eNOS 可能是糖尿病肾病中 HDAC 的关键靶点之一,其下调在 Vorinostat 对糖尿病小鼠肾脏保护作用中起因果作用。

4.2 短链脂肪酸 如前所述,丙戊酸盐(丙戊酸/丙戊酸钠)用于临床治疗癫痫、偏头痛和双相情感障碍多年,报道称其它可抑制 I 类和 II 类 HDAC^[18]。2015 年 Khan 等^[56]在两篇文章中报道了服用丙戊酸(VPA)8 周(150 mg·kg⁻¹·d⁻¹,300 mg·kg⁻¹·d⁻¹口服)的 STZ 糖尿病大鼠肾小管细胞损伤、肾纤维化^[44]及蛋白尿发展显著减轻,VPA 抑制组蛋白去乙酰化的同时减少了活化 B 细胞中糖尿病相关促炎转录因子[核因子 κ 轻链增强因子(NF- κ B)]的上调。此外,VPA 治疗 8 周后可使糖尿病大鼠肾自噬上调,通过促进 NF- κ B/诱导型一氧化氮合酶(iNOS)信号的自噬和失活,VPA 改善足细胞和肾损伤^[56]。这与另一结果一致,即 HDAC4 依赖于 STAT1 来抑制足细胞自噬,造成糖尿病肾损伤^[34]。在非糖尿病下把 HDAC 强化自噬效应和肾保护作用相联系,抑制 HDAC6 可减弱大鼠残肾模型蛋白尿,且可通过 TFEB 乙酰化来增强自噬^[36,57]。

丙戊酸钠的肾脏保护作用在 2016 年被报道。研究者给 STZ 糖尿病大鼠喂食 22 周的高脂饮食后,再进行丙戊酸钠治疗(200 mg·kg⁻¹·d⁻¹口服灌胃)持续 6 周,发现蛋白尿和肾小球基质沉积减少^[58]。这些结构、功能的改善及分子变化,都表明内质网应激和细胞凋亡减少。

Khan 等^[59]在 STZ 诱导糖尿病前/后 21 d 向大鼠腹腔注射丁酸钠 500 mg·kg⁻¹·d⁻¹。诱导后用丁酸钠治疗可降低血糖水平,而诱导前则无效,同丙戊酸钠,丁酸钠处理诱导糖尿病后大鼠也降低其 NF- κ B 表达,减轻肾损伤和抑制基质沉积。有趣的是,和用 Vorinostat 治疗糖尿病小鼠一样,丁酸钠使糖尿病大鼠肾脏 eNOS(和 iNOS)表达下降。研究指出,核因子红血球 2 相关因子 2(Nrf2)^[60]的激活在丁酸钠肾保护作用中起重要作用。Nrf2 是控制许多抗氧化基因表达的蛋白^[61],可被丁酸钠^[62]激活。Dong 等^[60]用丁酸钠(5 g·kg⁻¹·d⁻¹)喂食 STZ 糖尿病野生型和 Nrf2^{-/-}小鼠 20 周,观察到丁酸钠减轻了糖尿病相关的氧化损伤、炎症、细胞凋亡、纤维化和白蛋白尿,而对 Nrf2^{-/-}小鼠无明显作用。此外,在糖尿病野生型小鼠的肾脏中观察到 Nrf2 表达减少,丁酸钠可抑制该减少,其可能在转录水平上调调控 Nrf2^[63]。

5 其他 HDAC 抑制剂

5.1 较少研究的 HDAC 抑制剂 MS-275 抑制 HDAC1、2 活性,可抑制 TGF- β /Smad 信号通路,降低 UUO 鼠 EGFR 和 STAT3 的表达及磷酸化,从而减少 α -SMA、I 型胶原和纤维连接蛋白的表达^[63]。TubastatinA 抑制 HDAC6 可下调血管紧张素 II 诱导的高血压小鼠 Smad3 磷酸化,抑制 CTGF、 α -SMA、I 型胶原和 PAI-1 表达^[36]。2014 年文章报道 RNAi 抑制 HDAC4 从而抑制糖尿病小鼠细胞凋亡,但是具体机制尚未明了^[64]。

近年来对 sirtunes 抑制剂研究很多。SIRT1 抑制剂 EX527

可促进 H_2O_2 诱导的内皮祖细胞凋亡^[65]和脓毒症大鼠肾小管上皮细胞凋亡^[66]。Sirtinol 抑制酵母沉默调节蛋白 Sir2p 和人 SIRT1/2, 下调 UUO 小鼠肾纤维化^[67], 也抑制 H_2O_2 诱导的肾小管细胞凋亡^[68]。研究者正调控 SIRT1, TGF- β 处理的多克隆位点小鼠细胞凋亡可被抑制^[69]; HK-2 细胞中 Ho1、硫氧还蛋白和 IV 型胶原表达上调^[70]。敲除 SIRT1, 则 DN 患者细胞凋亡加剧, 足细胞损伤恶化, 这主要是因为 STAT3 乙酰化上调, 从侧面反映了 SIRT1 和 DN 肾损伤的关系^[71]。敲除 SIRT6 可上调 caspase-3 凋亡通路表达, 促进小鼠足细胞凋亡^[72]。更多 HDAC 抑制剂尚在研究中。

5.2 可能具有 HDAC 抑制效应的药物 有些药物作用可能对 HDAC 活性有干扰, 从而有 HDAC 抑制效应。如 3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂阿托伐他汀的肾保护作用就归因于他汀类的 HDAC 抑制作用^[18]。RVX208 与 BET 溴结构域竞争结合, 使 BET 蛋白与染色质的分离, 转录改变, 上调 ApoA-I 和 HDL。最近研究表明, RVX208 可延迟和减少口服葡萄糖吸收, 减少内源性葡萄糖产生, 对 2 型糖尿病可能有保护作用^[73]。BET 抑制剂 MS417 是一种表观基因读取器修饰剂, 可减轻实验性糖尿病蛋白尿和肾损伤^[71], 第三阶段临床试验 (BETonMACE, NCT 02586155) 正在评估 Apatalone (一种 BET 抑制剂) 对冠心病高危糖尿病患者心血管事件的影响^[73], 肾功能是次要的结果, 而在对第二阶段结果进行特别分析时, 观察到糖尿病患者的 eGFR 显著增加^[74]。

6 总结

综上所述, 众多文献证实广谱 HDAC 抑制剂对糖尿病鼠肾脏有保护作用, 均采用 STZ 模型使非 STZ 糖尿病模型研究下的证据不充足。已报道的 HDAC 抑制剂主要改善糖尿病早期肾脏病变, 如肾肿大、蛋白尿及促纤维化因子和基质蛋白过度表达。这可能是由于大多数糖尿病啮齿动物模型没有发生与 GFR 下降相关的晚期纤维化改变^[75]。而 HDAC 抑制剂在 UUO 模型^[63, 76-77] 和大鼠残肾模型^[36] 等非糖尿病啮齿动物肾纤维化模型中具有抗纤维化作用。

HDAC 抑制剂虽然对 DN 有效, 但临床上尤其重视其安全性和耐受性。目前可用的 HDAC 抑制剂耐受性不佳。为开发耐受性更好的 HDAC 抑制剂, 具有 HDAC 抑制作用的临床药物值得探索。除耐受性, HDAC 的选择性也值得关注。一些类特异性 HDAC 抑制剂目前还在临床试验评估^[78]。

临床前初步研究将 HDAC 抑制剂作为单一治疗进行探索。然而, 任何新药在临床上必须证明在当下标准治疗下有益处, 包括与 RAS 阻滞剂合用, 很可能现今也包括 SGLT2 抑制剂。因 HDAC 在糖尿病中的作用不限于肾脏, 治疗糖尿病时可能有其他代谢益处^[79-80]。例如抑制 I 类 HDAC 可增强骨骼肌和脂肪组织氧化代谢, 改善 db/db 小鼠的胰岛素敏感性^[81]; 抑制 HDAC3 可降低胰腺 β 细胞程序性凋亡, 增加 β 细胞增殖, 预防非肥胖型糖尿病小鼠糖尿病发病^[82]。

鉴于已开发出几种体内给药的小分子 HDAC 抑制剂, 可继续用来梳理 DN 的分子机制, 有利于推动 DN 新治疗进展。这些发现为观察表观遗传机制在糖尿病并发症和肾病中的作

用提供了线索。开发临床已有药物的 HDAC 抑制作用及耐受性更好的 HDAC 抑制剂可能是 DN 治疗的新途径。

参考文献

- [1] Reidy K, Kang HM, Hostetter T, et al. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6): 2333-2340.
- [2] Gregg EW, Li YF, Wang J, et al. Changes in diabetes-related complications in the United States, 1990-2010 [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(16): 1514-1523.
- [3] Taunton J, Hassig CA, Schreiber SL. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p [J]. *Science*, 1996, 272(5260): 408-411.
- [4] Liu N, Zhuang SG. Treatment of chronic kidney diseases with histone deacetylase inhibitors [J]. *Front Physiol*, 2015, 6: 121.
- [5] Van Beneden K, Geers C, Pauwels M, et al. Comparison of trichostatin A and valproic acid treatment regimens in a mouse model of kidney fibrosis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 271(2): 276-284.
- [6] Batchu SN, Brijmohan AS, Advani A. The therapeutic hope for HDAC6 inhibitors in malignancy and chronic disease [J]. *Clin Sci*, 2016, 130(12): 987-1003.
- [7] Choudhary C, Kumar C, Gnad F, et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions [J]. *Science*, 2009, 325(5942): 834-840.
- [8] Madsen AS, Olsen CA. Profiling of substrates for zinc-dependent lysine deacetylase enzymes: HDAC3 exhibits deacetylase activity in vitro [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51(36): 9083-9087.
- [9] Chun P. Therapeutic effects of histone deacetylase inhibitors on kidney disease [J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(2): 162-183.
- [10] West AC, Johnstone RW. New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(1): 30-39.
- [11] Eckschlagler T, Plch J, Stiborova M, et al. Histone deacetylase inhibitors as anticancer drugs [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): E1414.
- [12] Marks PA, Breslow R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(1): 84-90.
- [13] Foss F, Advani R, Duvic M, et al. A Phase II trial of Belinostat (PXD101) in patients with relapsed or refractory peripheral or cutaneous T-cell lymphoma [J]. *Br J Haematol*, 2015, 168(6): 811.
- [14] Richardson PG, Schlossman RL, Alsina M, et al. PANORAMA 2: panobinostat in combination with bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed and bortezomib-refractory myeloma [J]. *Blood*, 2013, 122(14): 2331-2337.
- [15] Mishra N, Reilly CM, Brown DR, et al. Histone deacetylase inhibitors modulate renal disease in the MRL-lpr/lpr mouse [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(4): 539-552.
- [16] Dong M, Ning ZQ, Xing PY, et al. Phase I study of chidamide (CS055/HBI-8000), a new histone deacetylase inhibitor, in patients with advanced solid tumors and lymphomas [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(6): 1413-1422.
- [17] Shi YK, Jia B, Xu W, et al. Chidamide in relapsed or refractory peripheral T cell lymphoma: a multicenter real-world study in China [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 69.

- [18] Singh RS, Chaudhary DK, Mohan A, et al. Greater efficacy of atorvastatin versus a non-statin lipid-lowering agent against renal injury: potential role as a histone deacetylase inhibitor [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:38034.
- [19] Vallon V, Thomson SC. Targeting renal glucose reabsorption to treat hyperglycaemia; the pleiotropic effects of SGLT2 inhibition [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(2):215–225.
- [20] Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, et al. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(4):323–334.
- [21] Zinman B, Wanner C, Lachin JM, et al. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(22):2117–2128.
- [22] Filippakopoulos P, Knapp S. Targeting bromodomains: epigenetic readers of lysine acetylation [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(5):337–356.
- [23] Belkina AC, Denis GV. BET domain co-regulators in obesity, inflammation and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(7):465–477.
- [24] Ghosh GC, Bhadra R, Ghosh RK, et al. RVX 208: a novel BET protein inhibitor, role as an inducer of apo A-I/HDL and beyond [J]. *Cardiovasc Ther*, 2017, 35(4):.
- [25] Scherthaner G. Diabetes and cardiovascular disease: is intensive glucose control beneficial or deadly? Lessons from ACCORD, ADVANCE, VADT, UKPDS, PROactive, and NICE-SUGAR [J]. *Wien Med Wochenschr*, 2010, 160(1/2):8–19.
- [26] de Boer IH, Rue TC, Cleary PA, et al. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria; an analysis of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications cohort [J]. *Arch Intern Med*, 2011, 171(5):412–420.
- [27] Holman RR, Paul SK, Bethel MA, et al. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(15):1577–1589.
- [28] Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(25):2643.
- [29] El-Osta A, Brasacchio D, Yao DC, et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(10):2409.
- [30] Lizotte F, Denhez B, Guay A, et al. Persistent insulin resistance in podocytes caused by epigenetic changes of SHP-1 in diabetes [J]. *Diabetes*, 2016, 65(12):3705–3717.
- [31] Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy [J]. *Cell*, 2012, 150(1):12–27.
- [32] Noh H, Oh EY, Seo JY, et al. Histone deacetylase-2 is a key regulator of diabetes- and transforming growth factor-beta1-induced renal injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297(3):F729–F739.
- [33] Advani A, Huang QL, Thai K, et al. Long-term administration of the histone deacetylase inhibitor vorinostat attenuates renal injury in experimental diabetes through an endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(5):2205–2214.
- [34] Wang XJ, Liu J, Zhen JH, et al. Histone deacetylase 4 selectively contributes to podocyte injury in diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2014, 86(4):712–725.
- [35] Liu F, Zong M, Wen XF, et al. Silencing of histone deacetylase 9 expression in podocytes attenuates kidney injury in diabetic nephropathy [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:33676.
- [36] Brijmohan AS, Batchu SN, Majumder S, et al. HDAC6 inhibition promotes transcription factor EB activation and is protective in experimental kidney disease [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:34.
- [37] Cai MY, Bompada P, Atac D, et al. Epigenetic regulation of glucose-stimulated osteopontin (OPN) expression in diabetic kidney [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(1):108–113.
- [38] Kosanam H, Thai K, Zhang YL, et al. Diabetes induces lysine acetylation of intermediary metabolism enzymes in the kidney [J]. *Diabetes*, 2014, 63(7):2432–2439.
- [39] Price DA, Porter LE, Gordon M, et al. The paradox of the low-renin state in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10(11):2382–2391.
- [40] Anderson S, Jung FF, Ingelfinger JR. Renal renin-angiotensin system in diabetes: functional, immunohistochemical, and molecular biological correlations [J]. *Am J Physiol*, 1993, 265(4 Pt 2):F477–F486.
- [41] Fontecha-Barriuso M, Martin-Sanchez D, Ruiz-Andres O, et al. Targeting epigenetic DNA and histone modifications to treat kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2018, 33(11):1875–1886.
- [42] Sun J, Wang YW, Cui WP, et al. Role of epigenetic histone modifications in diabetic kidney disease involving renal fibrosis [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017:7242384.
- [43] Lee HB, Noh H, Seo JY, et al. Histone deacetylase inhibitors: a novel class of therapeutic agents in diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int Suppl*, 2007(106):S61–S66.
- [44] Khan S, Jena G, Tikoo K. Sodium valproate ameliorates diabetes-induced fibrosis and renal damage by the inhibition of histone deacetylases in diabetic rat [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(2):230–239.
- [45] Kim DK, Lee JY, Kim JS, et al. Synthesis and biological evaluation of 3-(4-substituted-phenyl)-N-hydroxy-2-propenamides, a new class of histone deacetylase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2003, 46(26):5745.
- [46] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. *Nature*, 2001, 414(6865):813–820.
- [47] Advani A, Gilbert RE, Thai K, et al. Expression, localization, and function of the thioredoxin system in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(4):730–741.
- [48] De Marinis Y, Cai MY, Bompada P, et al. Epigenetic regulation of the thioredoxin-interacting protein (TXNIP) gene by hyperglycemia in kidney [J]. *Kidney Int*, 2016, 89(2):342–353.
- [49] Wu M, Li RY, Hou YJ, et al. Thioredoxin-interacting protein deficiency ameliorates kidney inflammation and fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction [J]. *Lab Invest*, 2018, 98(9):1211–1224.
- [50] Yoo KH, Thornhill BA, Forbes MS, et al. Osteopontin regulates renal apoptosis and interstitial fibrosis in neonatal chronic unilateral ureteral obstruction [J]. *Kidney Int*, 2006, 70(10):1735–1741.
- [51] Inomata S. Renal hypertrophy as a prognostic index for the progression of diabetic renal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus [J]. *J Diabetes Complicat*, 1993, 7(1):28–33.

- [52] Wassef L, Kelly DJ, Gilbert RE. Epidermal growth factor receptor inhibition attenuates early kidney enlargement in experimental diabetes [J]. *Kidney Int*, 2004, 66(5): 1805 – 1814.
- [53] Zhou Q, Shaw PG, Davidson NE. Inhibition of histone deacetylase suppresses EGF signaling pathways by destabilizing EGFR mRNA in ER-negative human breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 117(2): 443 – 451.
- [54] Gilbert RE, Huang QL, Thai K, et al. Histone deacetylase inhibition attenuates diabetes-associated kidney growth; potential role for epigenetic modification of the epidermal growth factor receptor [J]. *Kidney Int*, 2011, 79(12): 1312 – 1321.
- [55] Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace [J]. *Circulation*, 2006, 113(13): 1708 – 1714.
- [56] Khan S, Jena G, Tikoo K, et al. Valproate attenuates the proteinuria, podocyte and renal injury by Facilitating autophagy and inactivation of NF-KB/iNOS signaling in diabetic rat [J]. *Biochimie*, 2015, 110: 1 – 16.
- [57] Settembre C, Di Malta C, Polito VA, et al. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis [J]. *Science*, 2011, 332(6036): 1429 – 1433.
- [58] Sun XY, Qin HJ, Zhang Z, et al. Valproate attenuates diabetic nephropathy through inhibition of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1): 661 – 668.
- [59] Khan S, Jena G. Sodium butyrate, a HDAC inhibitor ameliorates eNOS, iNOS and TGF- β 1-induced fibrogenesis, apoptosis and DNA damage in the kidney of juvenile diabetic rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 73: 127 – 139.
- [60] Dong WP, Jia Y, Liu XX, et al. Sodium butyrate activates NRF2 to ameliorate diabetic nephropathy possibly via inhibition of HDAC [J]. *J Endocrinol*, 2017, 232(1): 71 – 83.
- [61] Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2013, 53: 401 – 426.
- [62] Liu H, Zhang JJ, Li X, et al. Post-occlusion administration of sodium butyrate attenuates cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 135: 53 – 59.
- [63] Liu N, He S, Ma L, et al. Blocking the class I histone deacetylase ameliorates renal fibrosis and inhibits renal fibroblast activation via modulating TGF-beta and EGFR signaling [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54001.
- [64] Lin CL, Lee PH, Hsu YC, et al. MicroRNA-29a promotion of nephrin acetylation ameliorates hyperglycemia-induced podocyte dysfunction [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(8): 1698 – 1709.
- [65] Wang YQ, Cao Q, Wang F, et al. SIRT1 protects against oxidative stress-induced endothelial progenitor cells apoptosis by inhibiting FOXO3a via FOXO3a ubiquitination and degradation [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(9): 2098 – 2107.
- [66] Xu SQ, Gao YG, Zhang Q, et al. SIRT1/3 activation by resveratrol attenuates acute kidney injury in a septic rat model [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 7296092.
- [67] Ponnusamy M, Zhou XX, Yan YL, et al. Blocking sirtuin 1 and 2 inhibits renal interstitial fibroblast activation and attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 350(2): 243 – 256.
- [68] Hasegawa K, Wakino S, Yoshioka K, et al. Sirt1 protects against oxidative stress-induced renal tubular cell apoptosis by the bidirectional regulation of catalase expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 372(1): 51 – 56.
- [69] Kume S, Haneda M, Kanasaki K, et al. SIRT1 inhibits transforming growth factor beta-induced apoptosis in glomerular mesangial cells via Smad7 deacetylation [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(1): 151 – 158.
- [70] Chang JW, Kim H, Baek CH, et al. Up-regulation of SIRT1 reduces endoplasmic reticulum stress and renal fibrosis [J]. *Nephron*, 2016, 133(2): 116 – 128.
- [71] Liu RJ, Zhong YF, Li XZ, et al. Role of transcription factor acetylation in diabetic kidney disease [J]. *Diabetes*, 2014, 63(7): 2440 – 2453.
- [72] Huang W, Liu H, Zhu S, et al. Sirt6 deficiency results in progression of glomerular injury in the kidney [J]. *Aging*, 2017, 9(3): 1069 – 1083.
- [73] Siebel AL, Trinh SK, Formosa MF, et al. Effects of the BET-inhibitor, RVX-208 on the HDL lipidome and glucose metabolism in individuals with prediabetes: a randomized controlled trial [J]. *Metab Clin Exp*, 2016, 65(6): 904 – 914.
- [74] Kulikowski E, Halliday C, Lebioda K, et al. Sp425 effects of apabetalone (rvx-208) on serum albumin in subjects with cvd, diabetes and chronic kidney disease; a post-hoc analysis of the assure and sustain clinical trials [J]. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2017, 32 suppl3: iii264.
- [75] Breyer MD. Drug discovery for diabetic nephropathy: trying the leap from mouse to man [J]. *Semin Nephrol*, 2012, 32(5): 445 – 451.
- [76] Nguyễn-Thanh T, Kim D, Lee S, et al. Inhibition of histone deacetylase 1 ameliorates renal tubulointerstitial fibrosis via modulation of inflammation and extracellular matrix gene transcription in mice [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 95 – 106.
- [77] Choi HS, Song JH, Kim IJ, et al. Histone deacetylase inhibitor, CG200745 attenuates renal fibrosis in obstructive kidney disease [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 11546.
- [78] Khan N, Jeffers M, Kumar S, et al. Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors [J]. *Biochem J*, 2008, 409(2): 581 – 589.
- [79] Sharma S, Taliyan R. Histone deacetylase inhibitors: future therapeutics for insulin resistance and type 2 diabetes [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 113(Pt A): 320 – 326.
- [80] Ye JP. Improving insulin sensitivity with HDAC inhibitor [J]. *Diabetes*, 2013, 62(3): 685 – 687.
- [81] Galmozzi A, Mitro N, Ferrari A, et al. Inhibition of class I histone deacetylases unveils a mitochondrial signature and enhances oxidative metabolism in skeletal muscle and adipose tissue [J]. *Diabetes*, 2013, 62(3): 732 – 742.
- [82] Dirice E, Ng RWS, Martinez R, et al. Isoform-selective inhibitor of histone deacetylase 3 (HDAC3) limits pancreatic islet infiltration and protects female nonobese diabetic mice from diabetes [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(43): 17598 – 17608.