

肾损伤因子-1 与肾癌的研究进展*

杨嘉祺¹ 任玉林^{2△} 赵立明² 刘军伟¹

[摘要] 肾癌占全球所有癌症的 3%，其中肾透明细胞癌(ccRCC)是肾癌的常见类型，肾损伤因子-1(Kim-1)是一种跨膜型 I 型蛋白，在泌尿系统中仅在起源于近端小管的 ccRCC 和乳头状肾癌的免疫组织化学中表达，基质金属蛋白酶对该分子外部片段的切割导致出现可溶形式的 Kim-1，可在尿液或循环血液中表达阳性，且在肾肿瘤的研究中有特异性、敏感性高的特点，本文就 Kim-1 与 ccRCC 相关研究作一综述。

[关键词] 肾癌；肾损伤因子-1；肾损伤因子-1 检测方式

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2021.08.017

[中图分类号] R737.11 **[文献标志码]** A

Research progress of kidney injury molecule-1 and renal carcinoma

YANG Jiaqi¹ REN Yulin² ZHAO Liming² LIU Junwei¹

(¹Medical College of Northwest Minzu University, Lanzhou, 730030, China; ²Department of Urology, Affiliated Hospital of Northwest Minzu University)

Corresponding author: REN Yulin, E-mail: renyulin1104@163.com

Abstract Renal cell carcinoma accounts for 3% of all cancers in the world. Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is a common type of renal cell carcinoma. Kidney injury molecule-1 (Kim-1) is a transmembrane type I protein, which is only expressed in the immunohistochemistry of ccRCC and papillary renal cell carcinoma originating from proximal tubules. The cleavage of the outer fragment of the molecule by matrix metalloproteinases leads to the positive expression of soluble Kim-1 in urine or circulating blood. And it has the characteristics of high specificity and sensitivity in the study of renal tumors. This paper reviews the relationship between Kim-1 and ccRCC.

Key words renal carcinoma; kidney injury molecule-1; detection methods of kidney injury molecule-1

肾癌占全球所有癌症的 3%，同时也是泌尿系统第二常见的癌症，每年估计有 338 000 例新病例和 102 000 例死亡，其中肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是最常见的(75%)，也是肾细胞癌的主要致死性组织亚型。大约 80% 的肾脏肿瘤是在通过腹部影像检查无关主诉的过程中偶然发现的^[1-2]，而典型的血尿、疼痛、腹部包块临床表现少见，这加大了诊疗难度。有数据显示，肾癌患者的总体 5 年生存率从 1954 年的 34% 提高到 1996 年的 62%，随后从 2005—2011 年这 7 年中提高到 73%^[3-4]。这一趋势在很大程度上可以归因于更早地发现肿瘤，检测到的肿瘤的平均大小从 1993 年的 4.1 cm 下降到 2003 年的 3.6 cm^[5]。虽然早期肾癌检出率不断增高，但仍有 16% 的患者首诊时肿瘤即处于局部进展期^[6]。对于局限性肾癌以外科手术为主，治疗效果较好，晚期肾癌的治疗有靶向抗血管生成治疗或免疫治疗。肾癌的诊断和监测需要昂贵和频繁的影像学检查，给患者带来沉重负担，因此有必要寻找一种诊断和预后的生物标志物来筛查、早期诊断和监测肾癌的发展。

*基金项目:2020 年西北民族大学中央高校基本科研业务费资助(No:31920200026)

¹ 西北民族大学医学部(兰州,730030)

² 西北民族大学附属医院泌尿外科

△ 审校者

通信作者:任玉林, E-mail: renyulin1104@163.com

1 肾损伤因子-1(kidney injury molecule-1, Kim-1)

1.1 Kim-1 的结构

Kim-1 又称 Tim-1(T 细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域)或 HAVcr1(甲型肝炎病毒细胞受体),是参与天然免疫和获得性免疫调节的 Tim 蛋白家族成员,在 NCBI 数据库中,HAVCR 的大鼠正位基因被定义为 Kim-1,是 HAVCR1 基因(ID:26762)的别名。Kim-1 是一种跨膜型 I 型蛋白,由 334 个氨基酸序列构成,分为胞内区、胞外区、跨膜区 3 部分,其中具有 N 端 Ig 样胞外区,在基质金属蛋白酶(MMPs)对该分子外部片段的切割导致出现可溶形式的 Kim-1,可在尿液或循环血液中检测到^[7-8],根据在肿瘤中观察到的结果^[9],脱落 Kim-1 的能力与肿瘤恶性程度存在相关性,并增强表达活化脱落突变体 HAVCR/Kim-1 蛋白的肾癌细胞株 786-0 细胞的侵袭能力,该研究清楚地表明脱落的 Kim-1 浓度可在一定程度上反映体内肿瘤组织侵袭性的高低,并在体外可促进肿瘤细胞生长,同时他们还证实了 HAVCR/Kim-1 在健康人的肾小管上皮细胞中不表达,在急性肾小管坏死期间表达于近端肾小管细胞,这一概念在微小病变患者的针刺活检中得到证实。Cuadros 等^[8]证实了 HAVCR/Kim-1 不仅在 ccRCC 肿瘤中表达,而且在 ccRCC 肿瘤患者的正常肾组织中也表达,且 HAVCR/Kim-1 表达仅限于近端小管细胞,此外还证明了

ccRCC非肿瘤性近端小管中HAVCR/Kim-1的表达与手术或肿瘤生长相关的缺血无关,也与HAVCR/Kim-1肿瘤表达细胞的旁分泌作用无关。因此,在ccRCC患者的正常近端小管中,HAVCR/Kim-1表达可能是发生这些类型肿瘤的个体的内源性状态,故HAVCR/Kim-1基因可能是肾细胞癌的遗传易感基因。

1.2 Kim-1的功能

1.2.1 鉴别肾癌类型 在正常肾组织中,近端小管上皮细胞有2种类型。1型近端肾小管上皮细胞角蛋白-7-/CD133(祖细胞标记物)阴性,代表大多数上皮细胞,而2型近端肾小管上皮细胞表达细胞角蛋白-7+/CD133+,它们约占近端肾小管上皮细胞的10%^[10]。在一般情况下,正常近端小管的Kim-1染色完全阴性^[11]。发生损伤后,肾小管上皮细胞经历了以波形蛋白过度表达为特征的修复过程,这是上皮向间充质转化(EMT)的特征。ccRCC(细胞角蛋白-7-/CD133-/波形蛋白+)和乳头状肾细胞癌(细胞角蛋白-7+/CD133+/波形蛋白+)是起源于近端小管(可能分别来自1型和2型近端肾小管上皮)而嫌色肾细胞癌(CD117+/细胞角蛋白-7+)和嗜酸细胞瘤(CD117+,但细胞角蛋白-7散在阳性染色)则起源于远端肾小管,后两者的波形蛋白阴性说明了发生损伤事件时(炎症、肿瘤等),近端肾小管在肾小管的损伤-修复过程中扮演着重要角色。与此同时,来源于近端小管的肿瘤对Kim-1染色阳性,后两者对Kim-1染色均为阴性^[12-14],可以推测出在肾小管损伤时,大量Kim-1表达在近端小管细胞中。后续的RNA分析显示,ccRCC和乳头状肾细胞癌中都有大量的Kim-1,但在嫌色细胞癌和嗜酸细胞瘤中只发现了少量的Kim-1 RNA(低于在正常肾脏中的发现)^[14],这支持前面提到的Kim-1在免疫组织化学染色的结果。因Kim-1仅在起源于近端小管的ccRCC和乳头状肾癌的免疫组织化学中表达,利用这一特性,它是鉴别近端肾小管原发性肾细胞癌和远端肾单位原发性肾细胞癌的可靠标记物^[15]。

1.2.2 潜在的免疫机制及在肾癌生长中的作用

通过对Kim-1蛋白的结构研究发现其细胞质部分有一个潜在的磷酸化位点,暗示Kim-1可能是一个信号分子^[15]。Ichimura等^[16]通过动物实验及共聚焦图像证实,在活体大鼠肾小管损伤后,Kim-1赋予上皮细胞高度吞噬细胞(或半专业吞噬细胞)的特性,让损伤在小管腔中的凋亡和坏死细胞被表达Kim-1的存活上皮细胞吞噬,观察到的凋亡小体内化在表达Kim-1的上皮细胞内证实了这一点。这种特性通过与凋亡细胞表面的磷脂酰丝氨酸(PS)和氧化脂质表位特异性结合来介导这一过程,这对于肾小管损伤时组织修复和功能恢复至关重要。

最初人们认为,Kim-1激活的肾小管上皮的吞噬作用减少了上皮碎片对抗原提呈细胞(APC)和T淋巴细胞的抗原暴露,从而减少了急性肾损伤后的炎症反应^[17]。来自Ichimura等^[16]、Brooks等^[18]、Yang等^[19]三组研究结果进一步支持这样一个概念,即Kim-1活化上皮细胞的吞噬功能可以清除受损近端小管中的凋亡小体,从而减少感染细胞的抗原暴露,防止免疫系统的过度反应。凋亡小体也可以被树突状细胞(APC)吞噬,随后激活调节性T细胞和细胞毒性T淋巴细胞攻击靶细胞^[20]。近期有研究表明,来自近端小管的ccRCC和乳头状肾细胞癌同时表达Kim-1和巨噬细胞溶酶体标记CD68^[21-22],间接暗示肾癌细胞具有一定的吞噬活性^[12]。因此可推测Kim-1的活化吞噬功能可能被肾癌细胞利用,以清除肿瘤凋亡小体,防止APC和T淋巴细胞激活攻击肾癌细胞。综上,Kim-1可能在肾癌中发挥清除潜在免疫反应的作用,可能是肿瘤微环境中影响肾癌生存和发展的关键因素^[15]。此外,已有报道称,Kim-1可以激活受损肾上皮细胞中NF- κ B的生长途径^[19]。Kim-1可通过PI3K/Akt通路刺激细胞生长^[23],而体外研究发现STAT3通路是Kim-1介导的肾癌细胞的主要生长途径^[24]。Xu等^[1]通过抑制Kim-1表达是否影响肾癌细胞株786-0的增殖实验中观察到Kim-1 RNAi(RNA干扰)将786-0细胞周期阻滞在G₀/G₁期、诱导786-0细胞凋亡并通过小鼠体内实验成功抑制了体内786-0细胞的生长,从而突显了Kim-1基因作为ccRCC治疗靶点的应用潜力,为ccRCC治疗提供了新思路。

2 Kim-1的检测方式及研究进展

2.1 Kim-1在肿瘤组织中的检测

董迎春等^[25]对136例肾肿瘤患者肿瘤组织Kim-1染色后证实Kim-1表达于损伤的非正常的近曲小管,对ccRCC和乳头状细胞癌具有极高的特异性和敏感性,而且其弥漫表达与透明细胞癌Furhman细胞核分级呈正相关,在Mijuskovic等^[26]对40例肾细胞癌患者的研究中发现,肿瘤组织中Kim-1(tKim-1)的免疫组织化学染色在所有分析的组织样本中都显示为阳性,同时证明tKim-1的表达与Furhman分级呈正相关,在Furhman分级较高的样本中,G₃的得分明显高于G₂,同样TNM分期与tKim-1表达显著相关,TNM分期较晚患者的tKim-1表达明显强于早期患者,结果与之前Cudroas等^[8]先前研究tKim-1在ccRCC分级和分期中的结果一致。

2.2 Kim-1在尿中的检测

尿中存在的Kim-1数量可能与几个因素有关,如肿瘤细胞产生Kim-1数量、肿瘤大小以及将Kim-1排泄到尿中的途径。尿标本中检测肾癌

Kim-1 的方法只有 2 种,一种是通过肾小球滤过,另一种是通过肿瘤侵袭尿液收集系统。理论上,90kD(中等蛋白大小)时脱落的可溶性 Kim-1 蛋白可以通过肾小球滤过膜部分过滤,但部分过滤后的 Kim-1 蛋白会被近端小管重新吸收,这取决于肾功能正常时的过滤量^[12]。Han 等^[13]使用他们内部开发的 Kim-1 试剂盒在回顾性研究中证明 42 例肾癌患者的尿液 Kim-1(uKim-1)水平显著高于 30 例对照组患者,数据表明经年龄调整后的尿中 Kim-1(uKim-1)与尿肌酐(UCR)比值超过 0.1 ng/mg 的患者,罹患肾癌的风险是普通人的 36 倍,这项比值在实验中的敏感性为 82%,特异性为 90%。2011 年 Morrissey 等^[27]证明,手术干预局限性肾癌患者 uKim-1 水平($n=51$)在 1 个月后显著降低至接近正常水平,这对于评估手术效果及预后提供了一个可以检测的方式。近期有研究证明,40 例 ccRCC 患者术前 uKim-1 数值与肿瘤大小、分级、分期、淋巴血管浸润程度呈显著正相关,以上表明 uKim-1 不仅可预测肾肿瘤的发生、发展,同时对肾癌术后监测及评估预后也有帮助^[26]。

2.3 Kim-1 在血浆中的检测

Seelo 等^[28]用 5 年时间对 190 例肾癌患者和 190 例对照血浆中的 Kim-1 浓度进行了测量,在该项前瞻性队列研究中证实了血浆 Kim-1 浓度与接下来的 5 年内被诊断为肾癌的风险密切相关,并估计与队列中检测不到的血浆 Kim-1(pKim-1)浓度相比,大约 200 pg/mL 的浓度(样本中血浆 Kim-1 分布的第 80 个百分位数)罹患肾癌的风险高 63 倍。他们还显示,肾癌患者诊断前血浆 Kim-1 浓度升高与较高的死亡风险相关。Kushlinskii 等^[29]通过对 99 例 ccRCC 患者的 pKim-1 测定研究中提出,以 pKim-1 浓度为 84 pg/mL 为临界值检测肾癌的敏感性为 84%,特异性为 90%,并推测,随着肿瘤面积的增大和肿瘤恶性程度的增高,肿瘤标志物浓度明显升高。

3 总结

Kim-1 在多种检测方法中具有高敏感性,高特异性等特点,但也有其局限性,需要更深入的研究。Kim-1 在多种类型的肾脏损伤患者的尿液中过表达和排泄,例如肾小球硬化、IgA 肾病、多囊肾病以及糖尿病、肾病毒物和缺血后的肾脏疾病^[30-32]。Lin 等^[14]研究证明在少数非原发性肿瘤中,人肾损伤因子-1(hKim-1)阳性率为 11.8%(26/221),26 例阳性者中,21 例为卵巢和子宫透明细胞癌,在 16 例卵巢透明细胞癌(CCCO)中,hKim-1 阳性 15 例(93.8%),免疫阳性 4 例(27%)。相比之下,18 例子宫透明细胞癌中仅有 6 例(33.3%)呈局灶性阳性(不到肿瘤细胞的 10%),其余 5 例(5/40)浸润性结肠腺癌均为阳性,仅 4 例(占肿瘤细胞的 5%以

下)有灶性染色。1 例(25%的肿瘤细胞)呈 2+ 免疫反应,hKim-1 在大多数 CCCO 患者(93.8%)中的表达是一个意想不到的发现,并有潜在的诊断价值。卵巢和子宫浆液性癌和子宫内膜样癌均无 hKim-1 表达。因此,hKim-1 可作为一种阳性标记物,用于确定 CCCO 的诊断,如混合透明细胞癌和浆液性癌、癌内透明细胞改变和转移性透明细胞癌,并推测 hKim-1 在 ccRCC 和卵巢 CCCO 发生发展中的作用可能相似。更重要的是,抗 hKim-1 抗体可能在 CCCO 靶向肿瘤治疗中发挥潜在作用。这种变异可能的原因在于卵巢和子宫的一部分来自中肾,而肾脏则是在中肾分化为男性或女性性腺之后从中肾产生的,相同的组织胚胎来源造成 Kim-1 表达^[15]。有趣的是,在 40 例结肠腺癌中有 5 例 hKim-1 呈局灶性阳性染色,在肿瘤腺体的顶端部分呈显性染色,所有病例邻近的非肿瘤性结肠黏膜 hKim-1 均为阴性。由于 AKG7 抗 hKim-1 单克隆抗体是直接针对细胞外黏蛋白结构域产生的,这一发现可以解释为结肠腺癌发光部分的黏液成分与 hKim-1 细胞外黏蛋白结构域之间的交叉反应,局限性阳性仅见于高度和中度分化的结肠腺癌^[33]。目前 Kim-1 在卵巢 CCCO 中的研究较少,需要后期大量病例完善证实。在非肾癌中的表达对 Kim-1 能否作为 ccRCC 的分子检测手段带来了挑战,也为其他疾病提供了新的诊断、治疗思路,但需要更多的临床样本、更深入的分子及胚胎学研究。

综上所述,Kim-1 在肾癌发生、发展中扮演重要角色,目前研究通过多种检验方法将 Kim-1 作为检测肾癌的可靠生物学标志物,根据 Zhang 等^[15]的研究和临床实践,Kim-1 已被批准作为鉴别转移性肾癌与其他转移性肿瘤的生物标志物,具体 Kim-1 在肾癌中的作用及机制还需更多研究,期待 Kim-1 能为肾癌的诊治提供新的方案。

参考文献

- [1] Xu J, Sun L, Sun W, et al. Targeted Silencing of Kim-1 Inhibits the Growth of Clear Cell Renal Cell Carcinoma Cell Line 786-0 In Vitro and In Vivo[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(7):997-1003.
- [2] Cohen Herbert T, McGovern Francis J. Renal-cell carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(23):2477-2490.
- [3] Cancer Stat Facts: Kidney and Renal Pelvis Cancer [OL]. 2019. Available from: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/kidrp.html>.
- [4] Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma[J]. *J Urol*, 2001, 166(5):1611-1623.
- [5] Kane CJ, Mallin K, Ritchey J, et al. Renal cell cancer stage migration; analysis of the National Cancer Data Base[J]. *Cancer*, 2008, 113(1):78-83.

- [6] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1):7-30.
- [7] Bailly V, Zhang Z, Meier W, et al. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(42):39739-39748.
- [8] Cuadros T, Trilla E, Vilà MR, et al. Hepatitis A virus cellular receptor 1/kidney injury molecule-1 is a susceptibility gene for clear cell renal cell carcinoma and hepatitis A virus cellular receptor/kidney injury molecule-1 ectodomain shedding a predictive biomarker of tumour progression [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(8):2034-2047.
- [9] Han WK, Bailly V, Abichandani R, et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury [J]. *Kidney Int*, 2002, 62(1):237-244.
- [10] Zhang P, Hafron JM. Progenitor/stem cells in renal regeneration and mass lesions [J]. *Int Urol Nephrol*, 2014, 46(11):2227-2236.
- [11] Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, et al. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury [J]. *Kidney Int*, 2008, 73(5):608-614.
- [12] Zhang PL, Mashni JW, Sabbisetti VS, et al. Urine kidney injury molecule-1: a potential non-invasive biomarker for patients with renal cell carcinoma [J]. *Int Urol Nephrol*, 2014, 46(2):379-388.
- [13] Han WK, Alinani A, Wu CL, et al. Human kidney injury molecule-1 is a tissue and urinary tumor marker of renal cell carcinoma [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(4):1126-1134.
- [14] Lin F, Zhang PL, Yang XJ, et al. Human kidney injury molecule-1 (hKIM-1): a useful immunohistochemical marker for diagnosing renal cell carcinoma and ovarian clear cell carcinoma [J]. *Am J Surg Pathol*, 2007, 31(3):371-381.
- [15] Zhang KJ, Wilson GD, Kara S, et al. Diagnostic role of kidney injury molecule-1 in renal cell carcinoma [J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(11):1893-1902.
- [16] Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(5):1657-1668.
- [17] Ichimura T, Brooks CR, Bonventre JV. Kim-1/Tim-1 and immune cells: shifting sands [J]. *Kidney Int*, 2012, 81(9):809-811.
- [18] Brooks CR, Yeung MY, Brooks YS, et al. KIM-1/TIM-1-mediated phagocytosis links ATG5-/ULK1-dependent clearance of apoptotic cells to antigen presentation [J]. *EMBO J*, 2015, 34(19):2441-2464.
- [19] Yang L, Brooks CR, Xiao S, et al. KIM-1-mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(4):1620-1636.
- [20] Sánchez-Paulete AR, Teijeira A, Cueto FJ, et al. Antigen cross-presentation and T-cell cross-priming in cancer immunology and immunotherapy. [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28:xii44-xii55.
- [21] da Silva RP, Gordon S. Phagocytosis stimulates alternative glycosylation of macrophage-specific endosomal protein [J]. *Biochem J*, 1999, 11(Pt 3):687-694.
- [22] Holness CL, Simmons DL. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins [J]. *Blood*, 1993, 81(6):1607-1613.
- [23] de Souza AJ, Oak JS, Jordanhazy R, et al. T cell Ig and mucin domain-1-mediated T cell activation requires recruitment and activation of phosphoinositide 3-kinase [J]. *J Immunol*, 2008, 180(10):6518-6526.
- [24] Cuadros Thaïs, Trilla Enric, Sarró Eduard, et al. HAVCR/KIM-1 activates the IL-6/STAT-3 pathway in clear cell renal cell carcinoma and determines tumor progression and patient outcome [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5):1416-1428.
- [25] 董迎春, 吴波, 王建东, 等. 肾损伤因子-1在肾上皮性肿瘤中的表达及临床意义 [J]. *中华病理学杂志*, 2010, 39(1):35-39.
- [26] Mijuskovic M, Stanojevic I, Milovic N, et al. Tissue and urinary KIM-1 relate to tumor characteristics in patients with clear renal cell carcinoma [J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(1):63-70.
- [27] Morrissey JJ, London AN, Lambert MC, et al. Sensitivity and specificity of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney injury molecule-1 for the diagnosis of renal cell carcinoma [J]. *Am J Nephrol*, 2011, 34(5):391-398.
- [28] Scelo G, Muller DC, Riboli E, et al. KIM-1 as a Blood-Based Marker for Early Detection of Kidney Cancer: A Prospective Nested Case-Control Study [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(22):5594-5601.
- [29] Kushlinskii NE, Gershtein ES, Naberezhnov DS, et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) in Blood Plasma of Patients with Clear-Cell Carcinoma [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2019, 167(3):388-392.
- [30] Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury [J]. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 2008, 241:78-83.
- [31] Ferguson MA, Vaidya VS, Bonventre JV. Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury [J]. *Toxicology*, 2008, 245(3):182-193.
- [32] Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008, 48:463-493.
- [33] Bailly V, Zhang Z, Meier W, et al. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(42):39739-39748.