抗菌肽类药物的开发及应用研究进展

Development and progress of peptide antibiotics

周小林[1,2],王军平[1] (第三军医大学:1. 军事预防医学院防原医学教研室,全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室;2. 卫勤训练基地医学综合教研室,重庆 400038)

[关键词] 抗菌肽;药物;开发;抗菌活性;应用
[中图分类号] R945;R978.16 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2013)06-0659-04

抗菌肽是一类广泛存在于动物、植物、昆虫及人体内,由基因编码并具有特定空间结构的小分子多肽。这种多肽是机体天然免疫的组成部分。抗菌肽具有广谱高效的抗微生物学活性、水溶性好、热稳定等优点。作为新型药物,抗菌肽在人类治疗和预防疾病过程中具有广阔的开发应用前景。目前只有比较少量的抗菌肽药物进入临床,多数药物均在不同的试验阶段。要将抗菌肽真正应用于临床,仍有大量工作要做。现将抗菌肽药物的相关研究现状及开发应用进展综述如下。

1 概述

抗菌肽得名于最初发现这种物质对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有较强的抑杀作用,后来逐步发现这类物质不只对细菌有作用,对真菌、病毒、原虫等病原体,甚至对肿瘤均有拮抗作用,因而认为抗微生物肽(ant-imicrobial peptides, AMP)[1]这个名字比抗菌肽更适合。随着研究的深入,两大人源性抗菌肽—防御素(defensins)与穿孔素(cathelicidins)也一度成为抗菌肽的代名词,后来的研究逐步发现,抗菌肽的作用远比我们了解的要复杂、多样。2007 年,Bowdish 教授的实验室合成了一种肽,这种肽自身并没有直接抑杀作用,但它可以通过免疫调节作用清除和杀灭耐药的金黄色葡萄球菌。后来这个实验室还相继合成了很多种这种肽,因此他们将它命名为固有免疫调节肽(innate defense regulator peptide, IDR)[2-3]。抗菌肽目前已经发现的有很多种,这些抗菌肽由基因编码,存在于不同物种和各种组织内,数目较多,而人源性抗菌肽数量相对较少。目前得到验证的人源性抗菌肽主要有防御素(defensins)家族、组织蛋白酶抑制素(cathelicidins)家族、富含组氨酸蛋白家族(histatins)和富含甘氨酸的可能抗菌肽(hGlyrichi)家族。其中 defensins 家族是人体非常重要的内源性抗菌肽,根据半胱氨酸残基的位置及二硫键的连接方式的不同,可分为 a 和 β 防御素两类。迄今已发现 12 种人源性抗菌肽,其中 6 种 a 防御素,分别是分布于中性粒细胞内的 4 种髓源性防御素和 2 种分布于潘氏细胞和小肠上皮细胞内的肠源性防御素[4]。

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201306033
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30771892,81271898);全军"十二"后勤科研重点项目(NO. BWS11J009)
[通讯作者] 王军平,E-mail:pingsw2005@126.com
[收稿日期] 2013-05-04 [修回日期] 2013-05-31

2 抗菌肽的结构及生物学活性

2.1 抗菌肽的结构

抗菌肽的一级结构是由 12 ~ 50 个氨基残基组成的肽链,分子量约为 3 ~ 6 KD,其 N 端通常是一些阳离子型氨基酸,如赖氨酸和精氨酸等,具有清水性,认为这个与其发挥生物学活性有很大关系。而 C 端则通常是一些非极性氨基酸,如丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸等,具有疏水性,认为这个结构使抗菌肽具有抗菌活性,中间部分富含脯氨酸。一些比较保守的氨基酸残基存在于肽链的特定位置,这些结构是抗菌肽具有抗菌活性的重要结构。抗菌肽的一级结构可能千差万别,但他们都有两个共同特点:①都是小分子阳离子肽,带正电荷;②具有水和脂的双亲性结构,这也是抗菌活性的结构基础。抗菌肽的二级结构是肽链在一定条件下形成的一些 α-螺旋和 β-折叠。抗菌肽根据结构特征有多种分类方式,1966 年,Hoffmann 根据抗菌肽空间结构的不同将抗菌肽分为线肽和环肽两类。后来 Bomalm 根据其对抗菌肽的基因研究成果将其分为 5 类,分别是:①线性单链 α-螺旋结构,或由无规则卷曲连接的两段 α-螺旋组成的肽,无半胱氨酸残基,如天蚕素(cecropins)、爪蟾抗菌肽(magainins)等;②富含某些氨基酸残基但不含半胱氨酸残基的抗菌肽,如富含甘氨酸残基的 alloferon;③含 1 个二硫键的抗菌多肽,如来源于蛙的 brevinins 和 Esculentin;④含 2 个或 2 个以上二硫键、具有 β-折叠结构的抗菌肽,如防御素;⑤来源于其它具有已知功能的大分子蛋白具有抗菌活性的肽,如组蛋白来源的抗菌肽。

2.2 抗菌肽的生物学活性

传统抗生素只对细菌有效,而对真菌、病毒等病原体无效,而抗菌肽可同时拮抗革兰氏阳性阴性菌、真菌、病毒和原虫等多种病原体。大量的研究证实多种抗菌肽对细菌具有很强的抑杀作用,可以直接快速地杀伤各类细菌,如天蚕素、人源乳铁蛋白 B 和乳酸链球菌素具有抗大肠杆菌和铜绿假单胞菌(绿脓杆菌)的活性。依赖药物剂量及种类因素,某些抗菌肽也表现出对真菌的杀伤作用。如天蚕素在 25 ~ 100 mg/L 时可以杀灭曲霉菌属和镰刀菌属病原菌;另外,研究发现存在于人类和灵长类动物唾液的组蛋白具有抗真菌活性,可以通过阻止白色念珠菌粘附到义齿上减轻齿龈炎症状。某些抗菌素可杀伤寄生虫,如 dennaseptin 家族中有的能够拮抗枯氏锥虫,有的通过作用于疟原虫的卵囊期和子孢子期杀灭寄生在血液红细胞内的

恶性疟原虫。让人们最感兴趣的是抗菌肽对肿瘤细胞具有的杀伤作用,而不影响人体正常细胞。目前已有抗菌肽杀伤肝癌细胞、直肠癌细胞及宫颈癌细胞的相关报道。杂合抗癌肽就是人们以某一种抗菌肽为蓝本经过人工设计进行改造得到的各种杂合肽,这些肽比蓝本具有相似或者更高的活性,而毒副作用降低。较多的杂合肽选用的是用 Cecropin A 的 N 端片段(CA)作为杂合肽的 N 端与 Melittin 或 Magainin2 的不同片段(ME 或 MA)杂合,得 CA-ME 或 CA-MA 的一系列衍生物。P18(主要氨基酸序列 KWKLFKKIPKFLHLAKKF2NH2)是基于 CA(1-8)-MA(1-12)的结构设计的一种杂合肽,它能选择性地作用于包括 A375 黑色素瘤细胞、MDA-MB-361 乳腺癌细胞和 K562 髓细胞性白血病细胞等在内的许多人源肿瘤细胞,且不引起溶血作用[5-6]。此外,抗菌肽作为机体重要的免疫屏障,可以起到调节免疫的作用。另外,也有研究显示,抗菌肽可促进伤口愈合、诱导血管生成,可参与趋化中性粒细胞、T 细胞等多种生物学过程。

3 抗菌肽的作用机制

对于抗菌肽作用机理的研究,从抗菌肽发现以来就开始了,目前关于这方面的报道有很多。以抗菌机理为例,大量体内体外实验已经证实抗菌肽可通过破坏细菌细胞膜的结构和功能,导致细菌死亡,因此具有较强的抗菌活性。认为带正电荷的抗菌肽可与细胞壁表面带有负电荷的磷壁酸通过静电作用结合,使抗菌肽很容易穿过细胞壁,接近细胞膜,从而改变细胞膜的通透性,在细胞膜上形成穿膜孔洞,进而使细胞内容物外漏,导致细菌死亡。目前有很多关于抗菌肽与细菌细胞膜作用的模型,比较有名的有桶板模型(barrel-stave mode1)、地毯模型(carpet mode1)和环孔模型(toroidal-pore mode1)。桶板模型认为抗菌肽作用于细胞膜上,多个抗菌肽排列在一起,其疏水侧链朝向外部膜脂,亲水侧链向内形成一个类似于桶状的通道结构[7],可使膜内物质外漏,导致细菌死亡。地毯模型认为抗菌肽通过静电作用与膜磷脂头部结合,像地毯一样平行排列于脂双层表面,疏水侧朝向磷脂膜,当抗菌肽分子达到一定浓度后,使质膜不稳定形成裂缝,释放内容物从而导致细胞死亡。Lockey 等[8]在观察从烟芽夜蛾幼虫中分离、鉴定的 cecropin 拮抗大肠杆菌活性时,在大肠杆菌胞膜上看到直径约为 9.6 nm 的病灶,形成的孔洞直径约为 4.2 nm。该孔洞可导致胞质内容物泄漏及细菌死亡。另外,还有一部分抗菌肽是直接穿过细菌胞膜作用于胞内靶点,影响细菌的新陈代谢,从而发挥抗菌作用。例如 Pyrrhocidin 就是进入细菌胞内,通过抑制某些酶的活性,阻止胞内蛋白质正确折叠,导致细菌死亡的[9]。环孔模型则是指抗菌肽直接插入胞内,引起细菌胞膜双层磷脂分子排列方向改变,从而形成跨膜环孔,胞内容物外漏,致细菌死亡。以此推测抗菌肽对于抗病毒、真菌和寄生虫的机理都是差不多的,总结起来有两个方面:一是作用于细胞壁和膜,阻挠壁膜的生物学作用;第二就是穿膜进入细胞内部,干扰新陈代谢。需要说明的是:研究发现抗菌肽在有效剂量内可不对正常真核生物细胞起作用。原因可能是真核细胞膜中含有大量能使膜结构趋于稳定的胆固醇,而原核生物膜结构中没有。另外,研究发现某些抗菌肽还对肿瘤细胞有抑杀作用,原因可能是癌细胞没有与正常细胞一样发达的细胞骨架。

4 抗菌肽药物的开发及应用研究现状

4.1 抗菌肽作为药物开发的优势

4.1.1 抗菌肽可用于治疗感染 与传统抗生素比较,抗菌肽可以同时拮抗多种病原体,且在有效剂量内不产生耐药性。研究证实抗菌肽可用于治疗系统感染,如研究发现抗菌肽制剂多黏菌素(主要是多黏菌素 B 和多黏菌素 E)和短杆菌肽 S(gramicidin S)能够有效治疗多药耐药铜绿假单胞菌和不动杆菌引起的感染,因此这类抗菌肽很早就被制作并应用于临床了,临床上常将两种药物混合用于局部抗感染治疗。人工合成的抗菌肽 CAP-18 对绿脓杆菌引起的腹部感染有较好疗效,protegrin 则能抑杀耐二甲氧基苯青霉素的金黄色葡萄球菌,及耐万古霉素的肠道球菌和绿脓杆菌;indolicidin 可抵御曲霉菌感染。同时抗菌肽也有抗病毒作用,近年来有研究提示抗菌肽甚至对人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus,HIV)也有作用,如 P-113 就是用于 HIV 患者的抗菌肽制剂,P-113 在体外试验中对白假丝酵母菌杀伤作用很好,同时对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有很好的抑杀作用[10]。目前,P-113 已经被制成口腔清洁剂,用于预防和治疗 HIV 患者口腔念珠菌病,并可通过吞咽药物起到预防食道感染的作用。

4.1.2 抗菌肽可促进伤口愈合和血管生成 研究发现多种抗菌肽有促进血管生成、促进伤口愈合的功能。LL-37 是唯一表达于人体的 Cathelicidin 家族的抗菌肽 hCAP-18 酶解后所释放出的 C 端片断,Byeield 等[11]研究发现人脐静脉内皮细胞(HUVEs)、牛主动脉内皮细胞(BAECs)、人肺微血管内皮细胞及鼠动脉在用 LL-37 作用后刚度有所增加,同时用 P2X7 受体拮抗剂及胞内钙离子螯合剂均可阻断此现象,说明 LL-37 可对创伤区血管发挥一定的修复和保护作用,而这个过程是通过作用于血管内皮细胞表面的 P2X7 受体实现的。Carretero 等[12]研究发现 LL-37 可诱导 Snail 和 Slug 转录因子表达,上调基质金属蛋白酶、有丝分裂蛋白酶,激活磷酸激酶信号转导途径,反式激活内皮生长因子和角质成形生长因子等生长因子,促进表皮细胞再生或上皮细胞迁移。同时诱导角质成形细胞的增殖、迁入以及成纤维稀细胞和上皮细胞的增殖,使创伤得到修复。研究还发现这种促进作用呈剂量依赖性[13]。

4.1.3 抗菌肽可应用于治疗肿瘤 研究证实某些抗菌肽可以特异性地拮抗某些异常细胞(如肿瘤细胞)的生长,而对人体正常细胞不产生影响,不产生耐药性,这给肿瘤的治疗带来了新的希望。肿瘤的治疗一直是人类医学史上的难点和热点,迄今也没有发现非常有效的预防或治疗性药物。通常给晚期肿瘤患者使用的化疗药物在抑杀肿瘤细胞的同时也破坏了正常细胞,同时给造血系统和消化系统也带来了损害,免疫系统也不可避免地受到了打击。让人气馁的是尽管机体受到了如此巨大的伤害,还是无法确认可以将肿瘤细胞完全清除。而抗菌肽在杀伤肿瘤细胞时能识别正常细胞,因而不会损害到人体正常的造血系统和免疫系统等。目前,已经有关于抗菌肽杀伤宫颈癌细胞、直肠癌细胞及肝癌细胞的报道[14]。一些抗菌肽,如

天蚕素、爪蛙素、鼠抗菌肽 NP21 和 NP22 及人抗菌肽 HNP21 均表现出对肿瘤细胞如宫颈癌细胞、纤维瘤细胞、肺癌细胞等的杀伤活性。美国 MacroChem 公司现已开发出 2 种用于肿瘤治疗的抗菌肽类新药,目前已进入临床Ⅲ期研究[15]。

4.2 抗菌肽药物的临床应用现状

尽管抗菌肽的研究历史并不长,但其无可替代的优越性和独特性已经预示了其作为新型药物的可观前景。人们对抗菌肽经过近二十年的研究,目前已经证实有超过 1 000 种肽具有广谱的抗菌和免疫调节活性,但真正要将抗菌肽推向市场还有一段漫长的极具挑战性的路要走。目前,主要从以下几个方面研究抗菌肽作为药物发挥作用:①就像其他抗生素一样单独作为抗感染药物发挥作用;②和传统抗生素协同发挥抗菌作用,增强抗菌效果,减少药物用量;③刺激机体产生和增强自身的免疫力;④中和内毒素,减轻细菌毒素引起的败血症及休克等症状。抗菌肽药物生产成本高、毒副作用大、体内药代动力学资料缺乏、研究过程中的瓶颈问题未得到解决等问题严重制约了药物的开发应用,因此,目前已经批准上市的抗菌肽药物并不多,已经批准上市和正在开发的抗菌肽见表 1[16]。迄今为止,多数抗菌肽药物目前还在进行临床Ⅰ期和Ⅱ期试验中[17],只有少量几种药物批准上市,可以应用于全身治疗的药物更是稀少,但是相信随着研究的深入,一定可以发掘出更加高效安全的新型抗菌肽药物。

前面已经阐释了抗菌肽的结构和功能有很大关系,天然的抗菌肽数量少、获取困难,因此人们通过对抗菌肽结构的认识选择人工合成,同时应用现有知识对肽链结构进行重新设计,以增强它的抗菌活性或改变靶病原体特异性位点形成抗菌肽变异体。尽管抗菌肽在动物疾病模型上已经证实了其效率和作用,但是药物应用于具体临床诊疗中仍存在不小的挑战。由于人体内存在大量酶类,药物在进入体内后会很容易被降解。另外体内反应是否具有毒性或存在其他不良反应等问题没有得到解决,因此,到目前为止,抗菌肽几乎没有被全身运用。另外,有些问题仍然是我们目前所没有解决的,那些分子量大、带电荷较多的抗菌肽是否具有毒性? 如何使抗菌肽在一定电解质浓度、PH 值和血清条件下保持较高活性? 那些进入临床试验的抗菌肽显示出了一定的优越性。

表 1 部分抗菌肽药物的开发现状

抗菌肽名称	来源	治疗应用	开发阶段
多黏菌素类	由多黏芽孢杆菌产生的一组多肽类抗生素	用于 G-感染,如铜绿假单胞菌和不动杆菌属等	已上市
达托霉素	玫瑰孢链霉菌发酵产物脂肽类化合物 A21978C 的 N-癸酰基衍生物	用于皮肤感染和脓毒血症(由 G + 引起)	已上市
Glutoxim/NOV-002	合成的氧化型谷胱甘肽基化合物	用于结核病和非小细胞型肺癌	已上市
Enfuvirtide	人工合成的由 36 个氨基酸组成的链状肽	艾滋病	已上市
DiaPep277	源自人热休克蛋白 HSP60 含有 24 种氨基酸的肽段	Ⅰ型糖尿病	Ⅲ期
Pexiganan(MSI-78)	合成的 magainin 类抗生素,由 22 个氨基酸组成	糖尿病患者足部溃疡	Ⅲ期
rBPI21	杀菌增透性蛋白(BPI)与其 N 端的 21 个氨基酸片段的重组蛋白	细菌性脑膜炎	Ⅲ期
Iseganan(IB-367)	人工合成的抗菌肽 indolicidin 衍生物	化疗患者的口腔黏膜炎	Ⅲ期
MBI-226(CPI226)	牛中性粒细胞抗菌肽	导管相关的感染	ⅢB 期
MX-594AN	是牛中性粒细胞抗菌肽 indolicidin 衍生物	痤疮、红斑	Ⅱ期
P-113	组蛋白衍生物,是唾液中天然抗菌肽组蛋白的结构类似物	艾滋病患者口腔念珠菌病	ⅡB 期
PAC-113	化学合成的阳离子宿主防御肽 protegrirr 1 衍生物,含 17 个氨基酸	抗真菌	Ⅱ期
hLF 1-11	来源于人乳铁蛋白的乳铁素	骨髓干细胞移植患者的术后感染	Ⅱ期
XOMA-629	来源于蛋清细菌通透性蛋白的抗菌肽衍生物,含 9 个氨基酸	小脓疱疹	ⅡA 期
Opebacan	来源于蛋清细菌通透性增强蛋白的抗菌肽衍生物,含 21 个氨基酸	骨髓干细胞移植患者的术后感染	Ⅱ期
PMX-30063	模拟人宿主防御蛋白(HDPs)活性而设计开发的小分子化合物	抗细菌感染	IB 期
Plectasin	在北欧松树林的腐生子囊菌中分离出来的首例真菌防御素类抗菌肽	葡萄球菌和链球菌引起的全身感染	Ⅰ期
PG-1(Protegrirr 1)	猪内源性抗菌肽	腹膜感染(金黄色酿脓葡萄球菌等引起)	Ⅲ期

5 结语与展望

抗菌肽广泛分布于自然界中,且不断有新的抗菌肽家族成员被发现。研究证实,抗菌肽无论是天然的还是人工合成的抗菌肽均具有广谱的抗微生物活性,包括抗细菌、抗真菌、抗病毒、抗原虫,甚至对肿瘤细胞也表现出一定的杀伤作用,迄今为止抗菌肽仍不断有新的活性被发现。更令人兴奋的是,抗菌肽在有效剂量内可不损伤正常的真核细胞。因为具备已知的这些特性,抗菌肽一跃成为炙手可热的最具开发价值的潜能药物。尽管已经做了不少研究,也取得了一些研究成果,然而,抗菌肽真正要走向临床还需要解决许多问题:①用药安全性问题,尤其是全身用药安全性;如抗菌肽体内外毒性等资料至今尚未见报道,且许多天然抗菌肽都有一定的溶血作用。②体内用药稳定性的问题;已知抗菌肽容易受各种酶类及 PH 值等因素影响,因此,用药剂量无法掌控,目前主要以局部用药为主。③抗菌肽作为药物在全身应用时,其代谢产物是否对人体有害,是否有其他副作用等情况还不清楚。④依然没有找到活性足够理想的抗菌肽。⑤抗菌肽的来源也是一个不容忽视的问题,天然抗菌肽比较少,而人工合成成本过高,因此迫切需要找到一种稳定的低成本的制备方法。无可厚非抗菌肽作为药物的巨大开发应用价值,相信随着相关研究的不断深入,最终会有越来越多的抗菌肽药物进入临床。

[参考文献]

[1] Hiemstra PS, Fernie-King BA, McMichael J, et al. Antimicrobial peptide: mediators of innate immunity as templates for the development of novel anti-infective and immune therapeutics[J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(23): 2891 – 2905.

[2] Nijnik A, Madera L, Ma S, et al. Synthetic cationic pep-tide IDR-1002 provides protection against bacterial infectionsthrough chemokine induction and enhanced leukocyte recruitment[J]. J Immunol, 2010, 184(5): 2539 – 2550.

[3] Ueno S, Kusaka K, Tamada Y, et al. An enhancer peptide for membrane-disrupting antimicrobial peptides[J]. BMC Microbiol, 2010, 10: 46.

[4] Schneider JJ, Unholzer A, Schaller M, et al. Human defensins[J]. J Mol Med(Berl), 2005, 83(8): 587 – 595.

[5] Huang WL, LU L, Shao XM, et al. Anti-melanoma activity of hybrid peptide P18 and itsmechanism of action[J]. Biotechnol Letters, 2009, 32(4): 463 – 469. DOI: 10. 1007/s10529 – 009 – 0175 – 2.

[6] Tang CK, Shao XS, Sun BB, et al. Anticancerm echanismof peptide P18 in human leukemia K562 cells[J]. Org Biomol Chem, 2010, 8(5): 984 – 987. DOI: 10. 1039/b920762g.

[7] Yang L, Harroun TA, Weiss TM, et al. Barrel-stave model or toroidal model A case study on melittin pores[J]. Biophys J, 2001, 81(3): 1475 – 1485.

[8] Lockey TD, Ourth DD. Formation of pores in Esc^e chia colicell membranes by a ceeropin isolated from hemolymph of heliothisviresccns larvae[J]. Eur J Biochem, 1996, 236(1): 263 – 271. DOI: 10. 1111/j. 1432 – 1033. 1996. 00263. x

[9] Kragol G, Lovas S, Varadi G, et al. The antibacterial peptide pyrrhocoricin inhibits the ATPase actions of DnaK and prevents chaperone-assisted protein folding[J]. Biochemistry, 2001, 40(10): 3016 – 3026.

[10] Rothstein DM, Spacciapoli P, Tran LT, et al. Anticandida Activity Is Retained in P-113, a 12-Amino-Acid Fragment of Histatin 5 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(5): 1367 – 1373. doi: 10. 1128/AAC. 45. 5. 1367. 2001

[11] Byfield FJ, Wen Q, Leszczynska K, et al. Cathelicidin LL-37 peptide regulates endothelial cell stiffness and endothelisl barrier permeability[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2011, 300(1): C105 – C112.

[12] Carretero M, Escamez MJ, Garcia M, et al. In vitro and In vivo wound healing-promoting activities of human cathelicidin LL-37[J]. J Invest Dermatol, 2008, 128 (1): 223 – 236.

[13] Otte JM, Zdebik A E, Brand S, et al. Efects of the Cathelicidin-LL-37 on Intestinal Epithelial Barrier IntegTity [J]. Regul Pept, 2009, 156(1,3): 104 – 117

[14] 邱晓燕. 抗菌肽的分布及其药用前景[J]. 生物学通报, 2002, 37(5): 4.

[15] 孟 硕, 王凤山. 抗肿瘤活性抗菌肽的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 3(3): 241 – 244.

[16] 井晓兰. 抗菌肽 plectasin 在大肠杆菌中的高效表达[D]. 天津科技大学, 2010.

[17] Frecer V, Ho B, Ding JL. Denovo design of potent antimicrobial peptides[J] Antimicrob Agents Chemother. 2004, 48(9): 3349 – 3357.

(编辑:杨 颖)

(上接第 658 页)

[4] Sprague SM, Moe SM. The case for routine parathyroid hormone monitoring[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2013, 8(2): 313 – 318.

[5] Siedlecki AM, Jin X, Muslin AJ. Spironolactone attenuates experimental uremic cardiomyopathy by antagonizing marinobufagenin [J]. Hypertension, 2009, 54(6): 1313 – 1320.

[6] Kennedy DJ, Elkareh J, Shidyak A, et al. Partial nephrectomy as a model for uremic cardiomyopathy in the mouse [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2008, 294(2): 450 – 454.

[7] Chen YT, Cheng BC, Ko SF, et al. Value and level of circulating endothelial progenitor cells, angiogenesis factord and mononuclear cell apoptosis in patients with chronic kidney disease[J]. Clin Exp Nephrol, 2013, 17(1): 83 – 91.

[8] Erbs S, Linke A, Adams V, et al. Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion: firet randomized and placebo-controlled study[J]. Circ Res, 2005, 97(8): 756 – 762.

[9] Isakova T, Xie H, Yang W, et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease [J]. JAMA, 2011, 305(23): 2432 – 2439.

[10] Xiao H, Ma X, Feng W, et al. Metformin attenuates cardiac fibrosis by inhibiting the TGFbeta1-Smad3 signaling pathway[J]. Cardiovasc Res, 2010, 87(3): 504 – 513.

[11] Song Y, Xu J, Li Y, et al. Cardiac ankyrin repeat protein attenuates cardiac hypertrophy by inhibition of ERK1/2 and TGF – β signaling pathways[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e50436.

[12] Periyasamy SM, Chen J, Cooney D, et al. Effects of uremic serum on isolated cardiac myocyte calcium cycling and contractile function[J]. Kidney Int, 2001, 60(6): 2367 – 2376.

[13] Baylis C. Nitric oxide synthase derangements and hypertension in kidney disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2012, 21(1): 1 – 6.

[14] Sato B, Yoshikawa D, Ishii H, et al. Relation of plasma indoxyl sulfate levels and estimated glomerular filtration rate to left ventricular diastolic dysfunction[J]. Am J Cardiol, 2013, 111: 712 – 716.

[15] Lekawanvijit S, Adrahtas A, Kelly DJ, et al. Does indoxyl sulphate, a uraemic toxin, have direct effects on cardiac fibroblasts and myocytes? [J]. Eur Heart J, 2010, 31(14): 1771 – 1779.

[16] Veringa SJ, Nanayakkara PW, van Ittersum FJ, et al. Effect of a treatment strategy consisting of pravastatin, vitamin E, and homocysteine lowering on arterial compliance and distensibility in patients with mild-to-moderate chronic kidney disease[J]. Clin Nephrol, 2012, 78(4): 263 – 272.

[17] 胡瑞海, 贾微微, 李新伦, 等. 不同血液净化治疗模式对尿毒症患者毒素清除的效果观察[J]. 人民军医, 2013, 56(3): 311 – 314

[18] 郭安民, 杜威宇, 邝慧瑜, 等. 肾移植前后左心功能对比分析及评价[J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(17): 110 – 111

[19] Watson AM, Li J, Schumacher C, et al. The endothelin receptor antagonist avosentan ameliorates nephropathy and atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E knockout mice[J]. Diabetoloqia, 2010, 53(1): 192 – 203.

(编辑:左艳芳)