

© П.Галишон, А.Гертиг, 2013
УДК 616.61-002.7-02:575.17

П. Галишон^{1,2,3}, А. Гертиг^{1,2,3}

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ КАК БИОМАРКЕР ПОЧЕЧНОГО ФИБРОЗА: ГОТОВЫ ЛИ МЫ ПРИМЕНИТЬ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ЗНАНИЯ НА ПРАКТИКЕ?

P. Galichon, A. Hertig

EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION AS A BIOMARKER IN RENAL FIBROSIS: ARE WE READY FOR THE BEDSIDE?

¹ Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM), UMR S702, 4 rue de la Chine, Paris, 75020, France; ² Université Pierre et Marie Curie, Sorbonne Universités, 4 place Jussieu, Paris, 75005, France; ³ Urgences néphrologiques et transplantation rénale de l'hôpital Tenon, assistance publique des hôpitaux de Paris, 4 rue de la Chine, Paris, 75020, France.

РЕФЕРАТ

За последние 20 лет концепция эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ), которая ранее была ограничена рамками эмбриологии и онкологии, была применена к фиброзу и, в частности, к почечному фиброзу. Интерес к ЭМТ в контексте почечного фиброза проистекает из наблюдений, показавших, что эпителиальные клетки могут претерпевать фенотипические изменения, делающие их похожими на фибробласты. Гипотеза о том, что ЭМТ является источником интерстициальных фибробластов, стала предметом ожесточенных дебатов, что, в свою очередь, привело к недооценке ЭМТ как биомаркера почечного фиброза. В этом обзоре мы описываем эволюцию методов распознавания ЭМТ при заболеваниях почек, протекающих с формированием фиброза, и коснёмся клинического значения этих методов в диагностике различных заболеваний почек. Ввиду большого разнообразия этих методик и необходимости их стандартизации, мы предостерегаем от некорректного использования маркеров ЭМТ. Мы предлагаем совместное использование β -катенина и виментина для диагностики ЭМТ в нефрологии, поскольку этот метод одновременно является чувствительным, и имеет прогностическое значение, что удовлетворяет критериям скринингового теста. И наконец, мы обсуждаем потенциальный интерес диагностики ЭМТ для понимания механизмов почечного фиброза и клинической практики в целом.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальная трансформация, фибробласт, фиброз, β -катенин, виментин.

ABSTRACT

Over the past two decades, the concept of the epithelial to mesenchymal transition (EMT) has been imported from embryology and oncology to fibrosis, particularly in the kidney. This interest in EMT in the context of renal fibrosis stems from observations of epithelial cells undergoing phenotypic changes reminiscent of fibroblasts. Whether EMT is actually a source of interstitial fibroblasts has been the subject of heated debate, and this controversy has caused physicians to neglect the value of EMT as a biomarker in renal fibrosis. In this review, we describe the evolution of the techniques used to detect EMT during fibrosing renal diseases, and what information they provide in the diagnosis of various renal diseases. Highlighting the great heterogeneity of these techniques and the need to standardize them, we warn against some misleading uses of EMT markers. We suggest using the association of vimentin and β -catenin for the diagnosis of EMT in renal pathology because it is both sensitive and prognostic, thus satisfying the properties required for a screening test. Finally, we discuss the potential interests to diagnose EMT for the comprehension of renal fibrosis and for clinical practice.

Key words: epithelial to mesenchymal transition, fibroblast, fibrosis, β -catenin, vimentin.

Вступление: концепция эпителиально-мезенхимальной трансформации

*Простое всегда ложно,
а сложное бесполезно.
Поль Валери (1941)*

С того момента как эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) была впервые описана

Pierre Galichon Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM), UMR. S702, 4 rue de la Chine, Paris, 75020, France, E-mail: galichon@orange.fr

Elisabeth Hay, интерес к этому явлению продолжает расти. Одна из причин, по которой это происходит, заключается в том, что концепция более не ограничивается эмбриологией и онкологией. Первоначально ЭМТ была описана в эмбриологии как инструмент органогенеза, при котором клетки теряли свой эпителиальный фенотип и приобретали особенности, присущие мезенхимальным клеткам, после чего мигрировали для формирования новых органов во время внутриутробного развития [1].

Этот феномен, сейчас называемый ЭМТ тип 1 [2], похож на ЭМТ тип 3, которая обеспечивает раковым клеткам способность к метастазированию и резистентность к химиотерапии [3]. ЭМТ тип 2 описывает поразительную способность эпителиальных клеток под действием повреждающих факторов претерпевать схожие трансформации и тем самым приводить к образованию новых интерстициальных фибробластов.

ЭМТ впервые была ассоциирована с фиброгенезом 15 лет назад при исследовании клеток почечных канальцев, aberrantly экспрессирующих фибробласт-специфичный протеин (FSP)1 в модели болезни антител к тубулярной мембране мышей [4]. Это позволило Strutz и соавт. выдвинуть гипотезу, согласно которой некоторые фибробласты имеют эпителиальное происхождение. Это предположение было подтверждено, когда Iwano показал, что эпителиоциты почечных канальцев, содержащие ген-репортер *lacZ*, в большом количестве представлены среди пула интерстициальных фибробластов (более 36% всех фибробластов) в мышинной модели почечного фиброза, индуцированного двусторонней уретральной обструкцией [5]. Еще больший интерес к ЭМТ был проявлен нефрологическим сообществом год спустя, когда Zeisberg и соавт. показали, что костный морфогенетический протеин (BMP)7 может вызывать обратное развитие ЭМТ у мышей, подвергавшихся действию нефротоксичной сыворотки и даже почечного фиброза [6].

Однако несколько исследований оспаривают реальность существования ЭМТ при почечном фиброзе. В экспериментах на эпителиоцитах почечных канальцев в различных экспериментальных моделях (Nabivenom plus angiotensin₂ у крыс, унilaterальная уретральная обструкция или ишемия – реперфузия у мышей) не удалось идентифицировать одиночный фибробласт, произошедший от эпителиоцита почечного канальца [7, 8]. На данный момент существование 2-го типа ЭМТ обсуждается так ожесточенно, что сторонники и противники этой гипотезы выглядят непримиримыми [9].

Параллельно этому поиск доказательства существования ЭМТ при патологии почек у человека проводился используя в основном иммуногистохимию. Очевидно, что исследования на пациентах не позволяют точно определить ЭМТ в соответствии со всеми необходимыми критериями (особенно возможность миграции через базальную мембрану). Вот почему некоторые авторы, включая нас, используют более «мягкие» термины, такие как «частичная ЭМТ», «ЭМТ-подобные изменения», «эпителиальные фенотипические изменения»

или «экспрессия маркеров ЭМТ», таким образом избегая наиболее спорного аспекта ЭМТ. Однако число данных, свидетельствующих об экспрессии маркеров ЭМТ в условиях почечного фиброза растет, и мы верим, что на основании наличия по крайней мере некоторых черт ЭМТ в условиях фиброза ткани может быть достигнут консенсус, что, в свою очередь, даст нам возможность использовать часть фундаментальной концепции ЭМТ как клинического биомаркера.

ЭМТ: неправильно понятая концепция

Неправильное толкование эпителиальной пластичности возможно проистекает из мнения о том, что эпителиальная клетка, претерпевающая ЭМТ, должна стать новым фибробластом. Однако для того, чтобы установить факт ЭМТ, не нужно, чтобы эпителиоцит стал какой-либо другой специфической клеткой. ЭМТ устанавливается при наличии фенотипических и функциональных изменений, которые делают клетку похожей на мезенхимальную клетку.

Это ни в коей мере не означает, что эпителиальная клетка станет фибробластом. Строго говоря, термин «мезенхима» является синонимом примитивной соединительной ткани, т.е. любой ткани, которая:

- 1) не является ни эпителиальной, ни мышечной, ни нервной (смотри Ross и соавт., стр. 54 и 115 [10]);
- 2) функция которой заключается в выработке экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), служащего опорой для других типов клеток для обеспечения нормального их функционирования.

Как было недавно подчеркнуто, миграция эпителиальных клеток из канальцевых структур в интерстиций, где они будут продуцировать матрикс (и таким образом действовать как новые фибробласты), является «крайней» формой ЭМТ и не является необходимым критерием для диагностики ЭМТ [9, 11].

ЭМТ отражает глобальный фиброгенез

Термин «ЭМТ», по определению, ограничен молекулярными событиями, происходящими в эпителиальных клетках, но наличие ЭМТ отражает более общий процесс, вовлекающий другие клеточные популяции. Так, увеличение экспрессии эпителием мезенхимальных генов наблюдается и в почечном интерстиции. При IgA-нефропатии, фокально-сегментарном гломерулосклерозе или при диабетической нефропатии экспрессия в интерстиции α -гладкомышечного актина (α -SMA) и FSP1 коррелирует с прогрессированием заболевания вне зависимости от происхождения FSP1-позитивных клеток [12–14]. Причиной, по которой

иммуногистохимия оказывает неоценимую помощь и является важным диагностическим инструментом, является то, что она обладает крайне высокой чувствительностью в определении экспрессии мезенхимальных протеинов, особенно в высокодифференцированных эпителиальных клетках, подверженных той или иной форме повреждения. Выявление структурных маркеров намного проще, когда они экспрессируются в клетках *de novo*, и сложнее, если экспрессия этих маркеров увеличена только в мезенхимальных клетках, таких как фибробласты, у которых имеется базальная экспрессия этих маркеров, в эндотелиальных клетках с виртуальной цитоплазмой или в плохо определяемых типах клеток, таких как перициты. Согласно концепции о ЭМТ, как о части глобального фиброгенеза, использование ДНК-микрочипов сделало возможным количественное измерение экспрессии мезенхимальных генов внутри всего коркового вещества, полученного из биопсийного материала, и оказалось, что, «как правило», суммарная экспрессия повышена в трансплантатах с развивающимся фиброзом [15–17]. Аналогичным образом, предварительные результаты показывают, что мРНК-экспрессия ЭМТ-генов может быть использована как неинвазивный суррогатный маркер ренального фиброза в моче, даже если происхождение исследуемых клеток мочи неизвестно [18].

FSP1: исторически установленный, но неоднозначный маркер ЭМТ

Вехой в изучении второго типа ЭМТ была идентификация FSP1 by Strutz и соавт., что дало возможность изучать эпителий как активный участник тканевого фиброгенеза [4]. На данный момент экспрессия FSP1 эпителием канальцев считается неопровержимым критерием в постановке «диагноза» ЭМТ. Мы убеждены, что этот тезис будет пересмотрен по трем причинам. Первое, чувствительность FSP1, как маркера фибробластов, была поставлена под сомнение, так как многие аутентичные фибробласты не экспрессируют его [14, 19–21]. Второе, его специфичность также остается предметом дискуссий, так как в некоторых исследованиях было показано, что FSP1 может экспрессироваться лейкоцитами, в частности, макрофагами [19, 21–26]. Даже если антитела, использованные для выявления лейкоцитов в некоторых из этих исследований, сами имеют перекрестную/перекрывающую специфичность, тем не менее, последняя публикация, использующая мышиную модель повреждения печени, показала, что большинство FSP1-позитивных клеток являются F4/80-позитивными, при том что F4/80 служит

наиболее специфичным маркером макрофагов [21]. Даже если aberrантная экспрессия FSP1 почечным эпителием является высокоспецифичной для болезней почек с формированием фиброза, это не обязательно означает, что FSP1-позитивные клетки образуют неофибробласты (впрочем, это верно для всех маркеров ЭМТ). Таким образом, хотя было показано, что FSP1 индуцирует ЭМТ *in vitro* [4, 27, 28], способствуя метастазированию опухолевых клеток, последствия экспрессии FSP1 в тубулярном эпителии в условиях фиброгенеза еще предстоит определить [29]. И последнее, определение FSP1 путем использования иммуногистохимии в образцах, содержащих эпителий, претерпевающий ЭМТ, происходит редко [4, 14, 30] и иногда затруднено (к примеру, оно будет отрицательно в случае, если в качестве фиксажа используется смесь этилового спирта, формалина и уксусной кислоты [30]). В итоге, учитывая вышеперечисленные наблюдения, FSP1 не может использоваться как маркер в исследовании биопсионного материала почки.

Диагностика ЭМТ в тубулярных структурах: практические соображения

Важно использовать несколько маркеров одновременно для того, чтобы определить скоординированные изменения, ассоциированные с ЭМТ в эпителиальных структурах [31]. В исследованиях образцов почечной ткани человека, миграция канальцевых клеток за пределы базальной мембраны не может быть обнаружена. Кроме того, свидетельства того, что в тубулярных клетках снижена экспрессия эпителиальных маркеров, всегда diskutabelны, в связи с тем, что различные сегменты канальцев даже в физиологических условиях по-разному экспрессируют классические эпителиальные протеины, такие как кадгерины, цитокератины и др. [32, 33]. К примеру, E-кадгерин минимально экспрессируется в проксимальном канальце, таким образом, утверждение, что E-кадгерин снижен или не экспрессируется, подразумевает, что исследуются дистальные канальцы [30].

В отличие от исследований на животных, правомерный клинический диагноз ЭМТ означает скорее не потерю эпителиального фенотипа, а aberrантное приобретение мезенхимальных свойств, обнаруживаемых в эпителиальных клетках. У человека могут быть использованы два вида маркеров ЭМТ, которые можно классифицировать в соответствии с их структурным (к примеру изменения в формировании цитоскелета) или функциональным (к примеру продукция экстрацеллюлярного матрикса) значением. Излагая кратко, экспрессия структурных протеинов (к примеру виментина)

Различные комбинации маркеров ЭМТ, использованные в исследованиях у человека

Исследование	Использованные маркеры ЭМТ ¹
Jinde [45]	α -SMA ¹⁺ , цитокератины ⁺ , коллагены ⁺
Rastaldi [46]	Виментин ⁺ , α -SMA ⁺ , цитокератин ⁻ , ZO1 ⁻ , P4H ⁺ , HSP47 ²⁺ , коллаген1 ⁺
Vongwiwatana [47]	E-кадгерин ⁻ , цитокератин ⁻ , виментин ⁺ , S100A4 ⁺ , α -SMA ⁺ , HSP47 ⁺
Vitalone [56]	E-кадгерин ⁺ , α -SMA ⁺ или E-кадгерин ⁺ , S100A4 ⁺
Hertig [30, 52, 57]	Виментин ⁺ , транслокация β -катенина ⁺

¹ Неполный список различных комбинаций маркеров для определения ЭМТ у человека. Обратите внимание на противоречивые критерии ЭМТ, касающиеся эпителиальных маркеров;

² актин гладкомышечных клеток; ³ белок теплового шока.

присуща покоящимся мезенхимальным клеткам, в то время как экспрессия функциональных протеинов свойственна активированным мезенхимальным клеткам. Гетерогенность этих маркеров может быть использована, так как она позволяет фиксировать ЭМТ-подобные изменения на разных стадиях, в зависимости от особенности болезни и чувствительности и специфичности, необходимых для диагноза (таблица).

К примеру виментин является промежуточным филаментом, компонентом цитоскелета мезенхимальных клеток. Его экспрессия ассоциирована с фенотипом клетки, в частности, с формой, подвижностью, адгезией [34]. При опухолях он играет роль при апоптозе, инвазии и метастазировании и, таким образом, является новой мишенью для терапии [35–37]. Для виментин-нокаутных мышей характерно замедленное заживление ран [38]. Виментин, по-видимому, играет роль в некоторых, хотя не во всех, моделях почечного повреждения и репарации [39, 40]. Он не экспрессируется нормальными зрелыми тубулярными клетками, но выраженно экспрессируется интерстициальными клетками, ножковыми отростками подоцитов и незначительно эндотелиальными клетками [41, 42]. Это в тоже время служит внутренним положительным контролем. Виментину не хватает специфичности как мезенхимальному маркеру, но он очень чувствителен, так как неизменные клетки почечного канальцевого эпителия при окрашивании на виментин дают абсолютно негативный результат и положительный – уже на самой ранней стадии почечного повреждения. Важно то, что экспрессия виментина не исключает возможность обратимого повреждения эпителия; экспрессия виментина эпителием была продемонстрирована в модели преходящего почечного повреждения с последующим полным восстановлением ткани

[43, 44]. В любом случае, высокая чувствительность методов выявления делает его отличным кандидатом на место маркера раннего повреждения канальцевого аппарата.

С другой стороны – α -SMA, маркер активированных фибробластов, и белок теплового шока (HSP)47, маркер продукции коллагена, являются менее чувствительными, но более четко связаны с фиброзом [45–47]. β -Катенин является маркером, вызывающим особый интерес в данном контексте; в зависимости от его локализации в клетке он может быть или структурным эпителиальным маркером, или функциональным мезенхимальным маркером. Таким образом, поскольку β -катенин соединяет E-кадгерин с молекулами актина в цитоскелете эпителиальных клеток, они ведут себя как эпителиальные клетки, но он может перемещаться в цитозоль, а затем в ядро, где действует как мезенхимальный транскрипционный фактор в клетках, претерпевающих ЭМТ. В различных экспериментальных моделях, таких как уретральная обструкция, модель трансплантации почки Fisher – Lewis, адриамициновая нефропатия, было показано, что β -катенин является ключевым активатором ЭМТ, особенно внутри Wnt-пути [48–51]. Хотя любое повреждение, по-видимому, должно приводить к экспрессии структурных протеинов, характерных для фибробластов, только продолжительное и повторное повреждение приводит к активации функциональной ЭМТ, тем самым активируя продукцию ЭМТ интактным эпителием.

ЭМТ при болезнях почек у человека

Экспрессия маркеров ЭМТ в нативных почках была исследована Jinde у 127 пациентов с IgA-нефропатией, быстро прогрессирующим гломерулонефритом и болезнью минимальных изменений (БМИ) [45]. Через год было проведено другое исследование, материалом послужили 133 биопсии с девятью различными диагнозами [46]. Впечатляет, что в этих двух исследованиях была обнаружена частая экспрессия маркеров ЭМТ при всех болезнях почек, кроме БМИ, при которой маркеры ЭМТ либо экспрессируются редко, либо вообще не экспрессируются. Оказалось, что появление маркеров ЭМТ является не просто сопутствующим болезням почек феноменом, а ассоциировано с выраженностью интерстициального фиброза и нарушения функции почки [45, 46]. У пациентов с множественной миеломой и крайне фиброгенной цилиндрической нефропатией экспрессия маркеров ЭМТ была самой высокой, в том числе при морфологически сохранных канальцах [52].

Напротив, экспрессия маркеров ЭМТ не была обнаружена у пациентов с явной протеинурией при БМИ [45, 46, 52]. Данные согласуются с тем, что высокая протеинурия, наблюдаемая при БМИ, редко ассоциирована с интерстициальным фиброзом или почечной недостаточностью [53]. Это решительно поддерживает идею использования ЭМТ как биомаркера почечного фиброгенеза. Более того, в исследовании, выполненном Rastaldi и соавт., маркеры ЭМТ коррелировали с функцией почки в подгруппе из 45 человек с легкой степенью почечного фиброза или инфильтрации, что подчеркивает великолепную чувствительность этих маркеров [46]. Другие исследования фокусировались на пациентах с одним определенным заболеванием. В оригинально задуманном исследовании Yamaguchi и соавт. показали корреляцию между экспрессией маркеров ЭМТ подоцитами мочи и тяжестью диабетической нефропатии [54]. В конечном счете, на примере почечных трансплантатов лучше всего документирована взаимосвязь между маркерами ЭМТ и тяжестью заболевания почек. Vongwiwatana и соавт. показали взаимосвязь между сывороточным креатинином, протеинурией и историей Т-клеточного отторжения [47]. В другой группе пациентов со стабильной функцией почек в течение 3 мес после трансплантации нами была показана ассоциация между маркерами ЭМТ и более высокими креатинином сыворотки, временем холодовой ишемии и субклиническим острым отторжением [30].

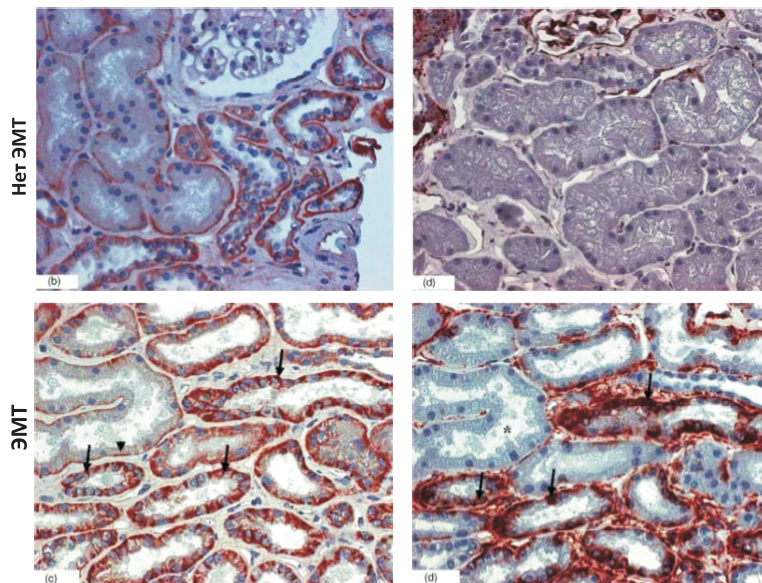
Маркеры ЭМТ имеют прогностическое значение для почечных трансплантатов

По определению, для изучения корреляции между экспрессией маркеров ЭМТ с фиброгенезом, т.е., с прогрессированием фиброза во времени, необходимы последовательные биопсии. Эта информация может быть получена при трансплантации почек, так как реципиенты подвергаются повторным протокольным биопсиям после трансплантации [55]. Прогностический потенциал экспрессии маркеров ЭМТ в почечных трансплантатах был оценен в двух исследованиях, но их выводы оказались противоречивыми. Первое исследование показало отсутствие корреляции между экспрессией маркеров ЭМТ через 1 мес после трансплантации и наличием тубуло-интерстициального повреждения через 3 мес [56]. Наша интерпретация этих результатов заключается в следующем, экспрессия маркеров ЭМТ в течение месяца после трансплантации связана с острыми и транзиторными факторами, сопряженными с ишемическим – реперфузионным повреждением или с хирургической процедурой трансплантации,

что не имеет существенного значения для отдаленного прогноза выживаемости трансплантата. Кроме того, в этом исследовании ЭМТ определялась по окрашиванию или FSP1, или α -SMA в тубулярных клетках, одновременно окрашенным на Е-кадгерин. Этот диагностический критерий спорен, потому что 1) экспрессия Е-кадгерина классически подавляется во время ЭМТ и отсутствует после её завершения и 2) как было отмечено ранее, чувствительность α -SMA и FSP1, как маркеров ЭМТ, низка, потому что при ЭМТ у человека они экспрессируются поздно и/или редко. Такой выбор маркеров возможен для небольшой популяции клеток. В другом исследовании мы обнаружили, что экспрессия двух других маркеров ЭМТ, упомянутых выше, виментина и β -катенина, через 3 мес после трансплантации действительно имеет прогностическое значение и связана с более быстрым прогрессированием интерстициального фиброза в трансплантате и снижением почечной функции через 12 мес. Более того, при использовании мультивариантного анализа экспрессия маркеров ЭМТ и интерстициальное или канальцевое воспаление были единственными факторами, ассоциированными с возникновением фиброза через 12 мес после трансплантации [57]. Эти результаты были подтверждены недавним исследованием, в котором экспрессия виментина тубулярными клетками ассоциировалась с более выраженным интерстициальным фиброзом и атрофией канальцев, а также худшей функцией трансплантата при среднем сроке наблюдения 5 лет [58]. Мы полагаем, что выбор β -катенина и виментина является верным, так как в случае повреждения канальцев они экспрессируются рано [43, 44], а иммуногистохимические способы их определения являются надежными (рисунок).

Перспективы

Хотя ЭМТ является патологическим процессом, общим для многих нефропатий, сопровождающихся фиброзом, тем не менее остается вопрос это один или несколько видов ЭМТ? Так как исследования, изучающие экспрессию маркеров ЭМТ при различных почечных патологиях, немногочисленны, на данный момент неизвестно, существуют ли высокоспецифичные маркеры ЭМТ для разных болезней почек. Теоретически, однако, ЭМТ может быть вызвана различными основными молекулами, каждая из которых способна активизировать процесс [59, 60]. Например, гликогенсинтетаза 3 β служит эффектором множества путей индукции ЭМТ, увеличивая эффективность Snail и β -катенина как про-ЭМТ-транскрипционных факторов [61]. Гипоксия может вызывать ЭМТ посредством ин-



	β катенин		виментин		
% (+) канальцев:	0	<10%	10-24%	25-50	>50%
Полуколичественная оценка:	0	1	2	3	4
Статус ЭМТ	-	-	+	+	+

Определение эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) с помощью иммуногистохимического окрашивания β-катенина и виментина, а также определение последующего прогностического значения шкалы ЭМТ. Экспрессия маркеров ЭМТ β-катенина и виментина в почечном трансплантате во время имплантации (нет ЭМТ) и через 3 мес после имплантации (ЭМТ). Нормальная базальная линейная экспрессия β-катенина стала нерегулярной и распространилась на цитоплазму, а виментин экспрессировался *de novo* в ЭМТ-положительных канальцах.

дукции Snail, но Snail не специфичен для гипоксии, и другие основные гены, задействованные в ЭМТ, каждый отдельно могут быть индуцированы гипоксией [62–64]. Хотя идентификация уникального «основного запускающего механизма» [60] почечного фиброза была бы важным этапом в создании препаратов для таргетной терапии, но множественные и специфичные для болезней молекулы были бы предпочтительнее как биомаркеры.

Стратегия борьбы с ЭМТ ассоциируется с возможным лечением фиброза. Так как оба процесса тесно связаны, то сложно определить, является лечение анти-ЭМТ или антифибротическим. Так, TGF-β, известный как индуктор ЭМТ и как профибротическая молекула, был предметом исследования Zeisberg и соавт., в котором использовался BMP7 для подавления ЭМТ; было показано, что канальцевая ЭМТ и фиброз могут быть обратимыми, однако это не позволяет сделать вывод, что фиброз обратим через анти-ЭМТ-эффект [6]. Тем не менее, это была, возможно, самая многообещающая экспериментальная терапия за последние несколько десятилетий; в которой маркеры ЭМТ эффективно использовали для мониторинга повреждения эпителия *in vivo*. Были протестированы так же и другие стратегии лечения фиброза, в связи с их анти-ЭМТ-эффектом (к примеру, фактор роста гепатоцитов [65], парикальцитол [49] и юглон [66–68]).

Выводы

Существует достаточно доказательств того, что, по крайней мере, некоторые маркеры ЭМТ экс-

прессируются во время формирования фиброза в почечной ткани. Такие биомаркеры очень полезны по сравнению с традиционным гистологическим исследованием, так как они выявляют фиброгенез, в отличие от фиброза. Они очень чувствительны и экспрессируются на ранней стадии болезни. Эта чувствительность особенно очевидна для экспрессии виментина, который недавно был использован в клиническом исследовании (clinical trial NCT#01079143), в котором осуществлялся скрининг раннего повреждения канальцев в почечных трансплантатах с помощью определения виментина и β-катенина в канальцах. Подобные ранние маркеры также очень полезны в нефрологических исследованиях, так как они позволяют характеризовать и определять стадию различных вариантов поражения почек на начальном этапе развития болезни. Кроме того, эти маркеры имеют значимое прогностическое значение. При внедрении антифибротических молекул в фармакопею, маркеры ЭМТ помогут в идентификации пациентов с высоким риском и предоставят краткосрочный и окончательный критерий эффективности терапевтических стратегий. И в заключение концепция ЭМТ стимулирует исследовательскую деятельность в отношении фиброгенеза в зрелых тканях и помогает лучше понять профибротическую молекулярную среду.

Вклад авторов

Оба автора участвовали в замысле и одобрили окончательный вариант рукописи. P. Galichon написал статью. A. Hertig редактировал текст.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Hay ED. The mesenchymal cell, its role in the embryo, and the remarkable signaling mechanisms that create it. *Developmental Dynamics* 2005; 233:706-720
- Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119:1420-1428
- Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139:871-890
- Strutz F, Okada H, Lo CW, Danoff T, Carone RL, Tomaszewski JE, Neilson EG. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. *J Cell Biol* 1995; 130:393-405
- Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest* 2002; 110:341-350
- Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med* 2003; 9:964-968
- Faulkner JL, Szyckalski LM, Springer F, Barnes JL. Origin of interstitial fibroblasts in an accelerated model of angiotensin II-induced renal fibrosis. *Am J Pathol* 2005; 167:1193-1205
- Humphreys BD, Lin SL, Kobayashi A, Hudson TE, Nowlin BT, Bonventre JV, Valerius MT, McMahon AP, Duffield JS. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Am J Pathol* 2010; 176:85-97
- Zeisberg M, Duffield JS. Resolved: EMT produces fibroblasts in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:1247-1253
- Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histology. A text and atlas 1995
- Hertig A, Flier SN, Kalluri R. Contribution of epithelial plasticity to renal transplantation-associated fibrosis. *Transplant Proc* 2010; 42:S7-12
- Essawy M, Soylemezoglu O, Muchaneta-Kubara EC, Shortland J, Brown CB, eNahas AM. Myofibroblasts and the progression of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:43-50
- Giannico G, Yang H, Neilson EG, Fogo AB. Dystroglycan in the diagnosis of FSGS. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:1747-1753
- Nishitani Y, Iwano M, Yamaguchi Y, Harada K, Nakatani K, Akai Y, Nishino T, Shiiki H, Kanauchi M, Saito Y, Neilson EG. Fibroblast-specific protein 1 is a specific prognostic marker for renal survival in patients with IgAN. *Kidney Int* 2005; 68:1078-1085
- Scherer A, Gwinner W, Mengel M, Kirsch T, Raulf F, Szustakowski JD, Hartmann N, Staedtler F, Engel G, Klupp J, et al. Transcriptome changes in renal allograft protocol biopsies at 3 months precede the onset of interstitial fibrosis/tubular atrophy (IF/TA) at 6 months. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:2567-2575
- Rodder S, Scherer A, Raulf F, Berthier CC, Hertig A, Couzi L, Durrbach A, Rondeau E, Marti HP. Renal allografts with IF/TA display distinct expression profiles of metzincins and related genes. *Am J Transplant* 2009; 9:517-526
- Einecke G, Reeve J, Sis B, Mengel M, Hidalgo L, Famulski KS, Matas A, Kasiske B, Kaplan B, Halloran PF. A molecular classifier for predicting future graft loss in late kidney transplant biopsies. *J Clin Invest* 2010; 120:1862-1872
- Muthukumar T, Ding R, Snopkowski C, Hummel A, Sharma VK, Dadhania D, Seshan S, Suthanthiran M, Anglicheau D. Non-invasive diagnosis of renal interstitial fibrosis and tubular atrophy (IF/TA) by measurement of epithelial to mesenchymal transition (EMT) genes in urine. *American Journal of Transplantation* 2009; 9:226-227
- Le Hir M, Hegyi I, Cueni-Loffing D, Loffing J, Kaissling B. Characterization of renal interstitial fibroblast-specific protein 1/S100A4-positive cells in healthy and inflamed rodent kidneys. *Histochem Cell Biol* 2005; 123:335-346
- Okada H, Ban S, Nagao S, Takahashi H, Suzuki H, Neilson EG. Progressive renal fibrosis in murine polycystic kidney disease: an immunohistochemical observation. *Kidney Int* 2000; 58:587-597
- Osterreicher CH, Penz-Osterreicher M, Grivennikov SI, Guma M, Koltsova EK, Datz C, Sasik R, Hardiman G, Karin M, Brenner DA. Fibroblast-specific protein 1 identifies an inflammatory subpopulation of macrophages in the liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108:308-313
- Gibbs FE, Barraclough R, Platt-Higgins A, Rudland PS, Wilkinson MC, Parry EW. Immunocytochemical distribution of the calcium-binding protein p9Ka in normal rat tissues: variation in the cellular location in different tissues. *J Histochem Cytochem* 1995; 43:169-180
- Inoue T, Plieth D, Venkov CD, Xu C, Neilson EG. Antibodies against macrophages that overlap in specificity with fibroblasts. *Kidney Int* 2005; 67:2488-2493
- Flatmark K, Maeldandsmo GM, Mikalsen SO, Nustad K, Varaas T, Rasmussen H, Meling GI, Fodstad O, Paus E. Immunofluorometric assay for the metastasis-related protein S100A4: release of S100A4 from normal blood cells prohibits the use of S100A4 as a tumor marker in plasma and serum. *Tumour Biol* 2004; 25:31-40
- Grigorian M, Tulchinsky E, Burrone O, Tarabykina S, Georgiev G, Lukanidin E. Modulation of mts1 expression in mouse and human normal and tumor cells. *Electrophoresis* 1994; 15:463-468
- Cabezón T, Celis JE, Skibshøj I, Klingelhofer J, Grigorian M, Gromov P, Rank F, Myklebust JH, Maeldandsmo GM, Lukanidin E, Ambartsumian N. Expression of S100A4 by a variety of cell types present in the tumor microenvironment of human breast cancer. *Int J Cancer* 2007; 121:1433-1444
- Okada H, Danoff TM, Kalluri R, Neilson EG. Early role of Fsp1 in epithelial-mesenchymal transformation. *Am J Physiol* 1997; 273:F563-574
- Schneider M, Hansen JL, Sheikh SP. S100A4: a common mediator of epithelial-mesenchymal transition, fibrosis and regeneration in diseases? *J Mol Med* 2008; 86:507-522
- Boye K, Maeldandsmo GM. S100A4 and metastasis: a small actor playing many roles. *Am J Pathol* 2010; 176:528-535
- Hertig A, Verine J, Mougenot B, Jouanneau C, Ouali N, Sebe P, Glotz D, Ancel PY, Rondeau E, Xu-Dubois YC. Risk factors for early epithelial to mesenchymal transition in renal grafts. *Am J Transplant* 2006; 6:2937-2946
- Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clinical Investigation* 2009; 119:1429-1437
- Prozialeck WC, Lamar PC, Appelt DM. Differential expression of E-cadherin, N-cadherin and beta-catenin in proximal and distal segments of the rat nephron. *BMC Physiol* 2004; 4:10
- Robertson D, Savage K, Reis-Filho JS, Isacke CM. Multiple immunofluorescence labelling of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue. *BMC Cell Biol* 2008; 9:13
- Mendez MG, Kojima S, Goldman RD. Vimentin induces changes in cell shape, motility, and adhesion during the epithelial to mesenchymal transition. *Faseb J* 2010; 24:1838-1851
- Zhu QS, Rosenblatt K, Huang KL, Lahat G, Brobey R, Bolshakov S, Nguyen T, Ding Z, Belousov R, Bill K, et al. Vimentin is a novel AKT1 target mediating motility and invasion. *Oncogene* 2011; 30:457-470
- Lahat G, Zhu QS, Huang KL, Wang S, Bolshakov S, Liu J, Torres K, Langley RR, Lazar AJ, Hung MC, Lev D. Vimentin is a novel anti-cancer therapeutic target; insights from in vitro and in vivo mice xenograft studies. *PLoS One* 2010; 5:e10105
- Wei J, Xu G, Wu M, Zhang Y, Li Q, Liu P, Zhu T, Song A, Zhao L, Han Z, et al. Overexpression of vimentin contributes to prostate cancer invasion and metastasis via src regulation. *Anticancer Res* 2008; 28:327-334
- Eckes B, Colucci-Guyon E, Smola H, Nodder S, Babinet C, Krieg T, Martin P. Impaired wound healing in embryonic and adult mice lacking vimentin. *J Cell Sci* 2000; 113(Pt 13):2455-2462
- Terzi F, Henrion D, Colucci-Guyon E, Federici P, Babinet C, Levy BI, Briand P, Friedlander G. Reduction of renal mass is lethal in mice lacking vimentin. Role of endothelin-nitric oxide imbalance.

J Clin Invest 1997; 100:1520-1528

40. Terzi F, Maunoury R, Colucci-Guyon E, Babinet C, Federici P, Briand P, Friedlander G. Normal tubular regeneration and differentiation of the post-ischemic kidney in mice lacking vimentin. *Am J Pathol* 1997; 150:1361-1371

41. Maretta M, Marettova E. Immunohistochemical demonstration of vimentin and S-100 protein in the kidneys. *Gen Physiol Biophys* 1999; 18(1):100-102

42. Holthofer H, Miettinen A, Lehto VP, Lehtonen E, Virtanen I. Expression of vimentin and cytokeratin types of intermediate filament proteins in developing and adult human kidneys. *Lab Invest* 1984; 50:552-559

43. Grone HJ, Weber K, Grone E, Helmchen U, Osborn M. Coexpression of keratin and vimentin in damaged and regenerating tubular epithelia of the kidney. *Am J Pathol* 1987; 129:1-8

44. Witzgall R, Brown D, Schwarz C, Bonventre JV. Localization of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos, and clusterin in the postischemic kidney. Evidence for a heterogeneous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and dedifferentiated cells. *J Clin Invest* 1994; 93:2175-2188

45. Jinde K, Nikolic-Paterson DJ, Huang XR, Sakai H, Kurokawa K, Atkins RC, Lan HY. Tubular phenotypic change in progressive tubulointerstitial fibrosis in human glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:761-769

46. Rastaldi MP, Ferrario F, Giardino L, Dell'Antonio G, Grillo C, Grillo P, Strutz F, Muller GA, Colasanti G, D'Amico G. Epithelial-mesenchymal transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies. *Kidney Int* 2002; 62:137-146

47. Vongwiwatana A, Tasanarong A, Rayner DC, Melk A, Halloran PF. Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants: the role of tubular cells in fibrogenesis. *Am J Transplant* 2005; 5:1367-1374

48. He W, Dai C, Li Y, Zeng G, Monga SP, Liu Y. Wnt/beta-catenin signaling promotes renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20:765-776

49. He W, Kang YS, Dai C, Liu Y. Blockade of Wnt/beta-catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22:90-103

50. Surendran K, Schiavi S, Hruska KA. Wnt-dependent beta-catenin signaling is activated after unilateral ureteral obstruction, and recombinant secreted frizzled-related protein 4 alters the progression of renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2373-2384

51. vonToerne C, Schmidt C, Adams J, Kiss E, Bedke J, Porubsky S, Gretz N, Lindenmeyer MT, Cohen CD, Grone HJ, Nelson PJ. Wnt pathway regulation in chronic renal allograft damage. *Am J Transplant* 2009; 9:2223-2239

52. Hertig A, Bonnard G, Uliniski T, Colombat M, Jouanneau C, Baugey E, Bensman A, Ronco P, Rondeau E, Xu-Dubois Y-C. Tubular nuclear accumulation of snail and epithelial phenotypic changes in human myeloma cast nephropathy. *Human Pathology* 2011

53. Brenner BM. *The Kidney* 2008; 1: 995-996

54. Yamaguchi Y, Iwano M, Suzuki D, Nakatani K, Kimura K, Harada K, Kubo A, Akai Y, Toyoda M, Kanauchi M, et al. Epithelial-mesenchymal transition as a potential explanation for podocyte depletion in diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2009; 54:653-664

55. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M,

Halloran PF, Baldwin W, Banfi G, Collins AB, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8:753-760

56. Vitalone MJ, O'Connell PJ, Jimenez-Vera E, Yuksel A, Wavamunno M, Fung CL, Chapman JR, Nankivell BJ. Epithelial-to-mesenchymal transition in early transplant tubulointerstitial damage. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:1571-1583

57. Hertig A, Anglicheau D, Verine J, Pallet N, Touzot M, Ancel PY, Mesnard L, Brousse N, Baugey E, Glotz D, et al. Early Epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2008

58. de Matos AC, Camara NO, Tonato EJ, Durao Junior Mde S, Franco MF, Moura LA, Pacheco-Silva A. Vimentin expression and myofibroblast infiltration are early markers of renal dysfunction in kidney transplantation: an early stage of chronic allograft dysfunction? *Transplant Proc* 2010; 42:3482-3488

59. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003; 112:1776-1784

60. Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:212-222

61. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7:131-142

62. Peinado H, Del Carmen Iglesias-de la Cruz M, Olmeda D, Csiszar K, Fong KS, Vega S, Nieto MA, Cano A, Portillo F. A molecular role for lysyl oxidase-like 2 enzyme in snail regulation and tumor progression. *Embo J* 2005; 24:3446-3458

63. Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM, Shrimanker N, Akai Y, Hohenstein B, Saito Y, Johnson RS, Kretzler M, Cohen CD, et al. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2007; 117:3810-3820

64. Sun S, Ning X, Zhang Y, Lu Y, Nie Y, Han S, Liu L, Du R, Xia L, He L, Fan D. Hypoxia-inducible factor-1alpha induces Twist expression in tubular epithelial cells subjected to hypoxia, leading to epithelial-to-mesenchymal transition. *Kidney Int* 2009; 75:1278-1287

65. Yang J, Liu Y. Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:96-107

66. Reese S, Vidyasagar A, Jacobson L, Acun Z, Esnault S, Hullett D, Malter JS, Djamali A. The Pin 1 inhibitor juglone attenuates kidney fibrogenesis via Pin 1-independent mechanisms in the unilateral ureteral occlusion model. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2010; 3:1

67. Hills CE, Squires PE. TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic intervention in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2009; 31:68-74

68. Bedi S, Vidyasagar A, Djamali A. Epithelial-to-mesenchymal transition and chronic allograft tubulointerstitial fibrosis. *Transplant Rev (Orlando)* 2008; 22:1-5

Перевод И.И. Трофименко

Поступила в редакцию 14.06.2013 г.

Принята в печать 02.07.2013 г.