糖尿病肾病与自噬相关信号通路关系的研究进展

单翔宇,曹爱丽,王利,王浩,彭文*

(上海中医药大学附属普陀医院肾内科,上海 200062)

摘要: 糖尿病肾病(DN)是与糖代谢异常有关的慢性肾脏微血管并发症,是引起慢性肾病和终末期肾衰竭(ESRD)的一个主要因素,同时也是I型和II型糖尿病患者的主要死因之一。目前关于DN的具体发病机制尚未清楚。自噬是普遍存在于真核生物体内的一种生命现象,主要通过降解和循环利用细胞内的蛋白质以及去除受损的细胞器来维持细胞内环境稳态,近来越来越多的研究表明自噬在DN的发生发展过程中起到重要作用,本文将从自噬相关信号通路与DN发生发展的角度进行探讨。

关键词: 糖尿病肾病; 细胞自噬; 磷酸腺苷活化蛋白激酶; 雷帕霉素靶蛋白; SIRT1

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

糖尿病肾病是糖尿病的主要并发症之一,大约30-40%的I型和II型糖尿病患者会发展成DN,同时,糖尿病也被认为是引起心血管疾病的重要危险因素之一。近年来,随着糖尿病发病率的升高,DN的发病率也随之升高。尽管临床上可以通过控制血糖和血压的方式来控制病情,但仍有很多糖尿病肾病患者会发展成为终末期肾病。临床研究表明,超过40%的终末期肾病患者是由DN进展而来^[1]。DN不仅在临床表现和疾病进程方面有别于其他免疫介导的肾脏疾病,且多数DN患者一旦出现肾功能的损害,其进展速度远快于其他非DN患者,因此由DN进展成的终末期肾病的患者往往预后皆差,这使得寻求能够控制DN病情发展的有效靶点变得愈加重要。自噬属于细胞的一种应激反应,而糖尿病肾病状态下,肾脏中高糖高脂等复杂的病理条件都会使自噬受到抑制,足细胞的自噬活性降低,磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)信号通路阻断及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路活化,这些现象都说明自噬与糖尿病肾病的发病机制具有极大联系。因此,通过调控自噬相关的信号通路来改善肾脏内自噬受损情况可能是阻止糖尿病肾病的发生发展进程的一种有效方法。

1 细胞自噬

自噬(源于希腊语“self-eating”)是广泛存在于真核细胞中的一种特有的生命现象,主要通过溶酶体途径降解和循环利用细胞内的蛋白质,以及去除受损的细胞器来维持细胞稳态和完整性。早期的研究表明自噬是在细胞外环境(营养不足、缺血缺氧、生长因子浓度等)和细胞内环境(代谢压力、细胞器损坏)的情况下,细胞自身产生的一种应激适应性反应应答,是通过对细胞内物质的再利用来为应激状态下的细胞提供营养和能量的一种分解代谢过程^[2]。近年来许多的研究表明自噬参与机体内许多的生理过程和疾病的发生过程,包括炎症和自身免疫、发育和衰老、肾脏病变和肿瘤等^[3-4]。

根据细胞内底物运送到溶酶体方式的不同,自噬分为微自噬、巨自噬和分子伴侣介导的自噬,其中巨自噬是细胞自噬的主要类型,本文中提及的自噬皆指巨自噬。自噬的过程简要分为四个阶段:吞噬泡形成、自噬体形成并成熟、自噬溶酶体形成和底物降解。即最先在胞浆内形成一种杯状双层膜结构的吞噬泡,随后通过逐渐延长和弯曲来包绕需被降解的蛋白质或细胞器形成自噬体,接着自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体,最后自噬溶酶体内成分被酸性水解酶分解,用于细胞内物质的再循环^[5]。

自噬是一个多步骤调节的过程,由多个蛋白激酶复合体和自噬相关基因(Autophagy related Gene, Atg)共同协调完成。蛋白激酶复合体主要包括ULK(UNC-51 like kinase)复合体(ULK1/2-Atg13-

收稿日期:2018-03-21;修回日期:2018-06-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473480);上海市医学重点专科(ZK2015A18)。

* 通信作者, E-mail: pengwen01@vip.sina.com.

FIP200)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase, PI3K) 复合体 (PI3K/Vps34-Vps15-Beclin1-Barkor)、Atg12-Atg5-Atg16L 和 Atg8/LC3, 其中 ULK 复合体参与自噬的启动, PI3K 复合体膜泡的成核和自噬体的形成, Atg12-Atg5-Atg16L 和 Atg8/LC3 共同调节自噬体的延伸以及自噬溶酶体的形成, 在此步骤中, LC3 会在 Atg4 作用下形成 LC3 I, 紧接着 LC3 I 会在磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 等作用下转变成 LC3 II; p62 是自噬的重要标志蛋白, 能与 LC3 II 形成复合物, 因此通常用细胞内 LC3 I/II 和 p62 的表达情况来共同评价自噬流量。另外, 细胞自噬的整个过程除了以上提及的自噬相关基因外, 还有其他 Atg 的参与, 到目前为止, 已有三十余种 Atg 已被确定^[6]。

2 DN 与自噬相关的信号通路

自噬不足是有害的, 过度的自噬同样有害。因此, 在所有真核生物细胞中, 自噬受到严密的调控, 有多个信号通路参与细胞自噬过程调控, 目前比较公认的信号通路是 mTOR 通路和 AMPK 通路。此外, 沉默信息调节因子 (silent information regulator 1, SIRT1) 通路也参与自噬的调控, 但其机制目前还未完全清楚。糖尿病条件下这些自噬通路状态的改变可以调控由胞内压力引起的机体自噬反应, 从而导致细胞内环境紊乱的情况加剧, 最终导致 DN 的发生。因此, 研究清楚自噬相关信号通路 with DN 发生机制的具体联系具有重大意义。

2.1 DN 与 mTOR 信号通路 mTOR 是存在于真核生物体内的一种与细胞内营养状态和氧化还原相关丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 因与不同的蛋白结合形成两个结构和功能不同的复合物, 即 mTORC1 和 mTORC2, mTORC1 对雷帕霉素极为敏感^[7]。mTORC1 主要参与细胞生长、增殖和凋亡过程, 其活性可通过整合许多信号进行调节, 包括生长因子、胰岛素、营养以及细胞胁迫因子 (如缺氧、活性氧类和病毒感染等), mTORC1 可通过直接磷酸化 ULK1 和 Atg13 来抑制自噬发生^[8], 被认为是细胞自噬的负性调控因子。

研究表明, DN 的发病机制可能与 mTORC1 的过度活化导致的自噬受损有关。临床发现无论是在 I 型还是 II 型糖尿病导致的 DN 患者中均可见到 mTORC1 的活性增强^[9]。结节性硬化复合物 1 和 2 (Tuberous sclerosis complex 1/2, TSC1/2) 是 mTORC1 的负性调控因子, 体内实验发现, 在特异性

敲除足细胞 TSC1 基因后, 实验小鼠出现了许多 DN 的病理表现, 如系膜扩张、基底膜增厚、足细胞损伤以及蛋白尿等, 表明活化 mTORC1 后激活的相关通路与 DN 的发生息息相关。Xiao^[10] 等人研究发现, 在应用抑制剂雷帕霉素后, 链脲佐菌素 (Streptozocin, STZ) 诱导的糖尿病小鼠的肾功能及足细胞损伤均得到改善, 同时, 足细胞内 LC3 II 的表达也升高, 证实抑制 mTOR 可以改善自噬受损进而提高保护肾脏; 另外, 应用螺内酯干预应激状态下的足细胞, 通过 PI3K/AKT/mTOR 通路下调 mTOR 后发现, 足细胞内 LC3 II 以及 Atg5 的表达升高, 足细胞自噬活性得到改善, 这表明通过调控 mTOR 相关信号通路可以有效改善自噬受损, 进而起到保护足细胞和肾脏的作用^[11]。值得一提的是, 在实际临床治疗中, 尽管可以通过使用雷帕霉素等 mTOR 抑制剂抑制 mTOR 通路, 但过度抑制 mTOR 通路可导致肾小球足细胞功能不全^[10]。由此可见, mTOR 信号通路在 DN 的发生发展中起到重要的作用, 如何精确的调控该通路仍需要进一步深入的研究。

2.2 DN 与 AMPK 信号通路 磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 是一种十分重要的能量感受器, 由 α 、 β 、 γ 3 种亚基组成, 其中 α 亚基是 AMPK 的主要催化亚基。AMPK 的活性主要受细胞内 AMP 和 ATP 的相对数量调控, AMPK 调控自噬的机制是当细胞处于饥饿、缺氧等不利条件时, 细胞内 AMP/ATP 的比值会升高, 引起一些 AMPK 的上游蛋白如肝素酶 B1 (liver kinase B1, LKB1) 和钙/钙调蛋白激酶 β (calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase beta, CaMKK β) 的活化, 进而磷酸化 AMPK, 激活自噬^[12]。

前文提到, AMPK 会在细胞能量缺失状态下活化, 而在糖尿病高糖环境下, 其活性必然受到抑制, 导致自噬受损, 因此 AMPK 的失活与糖尿病肾病的发生发展有很大的关联。大量动物实验表明, 在由 STZ 诱导的 I 型糖尿病动物模型的肾脏内, AMPK 活性和自噬水平均显著降低, 与此同时, 动物出现肾脏肥大、蛋白尿和肾功能不全等病理表现, 而在应用 AMPK 激动剂后, 上述症状得到明显改善, Lim, 等^[13] 人发现, 西那卡赛可以通过上调 CaMKK β -LKB1-AMPK 通路改善 db/db 小鼠体内的自噬受损, 并且小鼠肾脏的硬化和纤维化程度得到改善, 这一结论在高糖诱导的足细胞损伤模型中得到验证。一方面, 作为细胞自噬的正性调控蛋白, AMPK 可以通过磷酸化 TSC1/2 或 Raptor 来抑制 mTORC1 活化; 另一方面, AMPK 也可以通过直接磷

酸化 ULK1 来促进自噬。Jin, 等^[14] 在研究小鼠足细胞时发现, 高糖条件下 AMPK 活性被抑制后, 足细胞自噬水平同样受到抑制, 在给与药物干预后, AMPK 活性升高的同时 ULK1 的活性也随之升高, 表明 AMPK 被活化后进一步激活了下游的 ULK 复合物以及下游的自噬通路来激活自噬。需要注意的是, mTORC1 和 AMPK 通路都可以通过磷酸化 ULK1 复合物来介导各自的作用, 但因其磷酸化位点不同而作用不同, 前者磷酸化 Ser757 位点, 后者磷酸化 Ser317 和 Ser777 位点^[15]。以上的研究表明, 糖尿病可以导致 AMPK 信号通路的阻断, 进而使得肾脏内的细胞自噬水平降低, 机体出现各种病理表现, 最终导致 DN 的发生。

2.3 DN 与 SIRT1 信号通路 沉默信息调控因子 1 (SIRT1) 是一种 NAD⁺ 依赖的去乙酰化酶, 属于沉默信息调节因子 2 家族, 是自噬第二种主要正调控因子。但是, 有关其诱导自噬的具体机制目前还未研究清楚。有学者认为, SIRT1 形成了一种大分子复合物, 这种大分子复合物包含像 Atg5、Atg7 和 LC3 这类的自噬相关蛋白, 通过 NAD 依赖的方式直接脱乙酰化来诱导自噬^[16]; 另一方面, Liqun Ma^[17] 等人研究发现, II 型糖尿病大鼠体内的 SIRT1 mRNA 的表达减少, 与此同时, Foxo3 和 Bnip3 以及一些 Atg5 和 Atg7 等自噬相关基因的表达也随之减少, 而这些指标在应用 SIRT1 激动剂白藜芦醇之后均同时得到改善, 表明 SIRT1 可能通过与 Foxo3 作用, 来增强 Bnip3 的表达, 进而诱导自噬增加^[18]。

在肾脏中, SIRT1 主要在肾髓质和肾间质中表达, 之前的研究表明 SIRT1 可以通过对抗氧化应激反应来保护肾脏, 而在自噬角度而言, 目前大多数的研究都认为 SIRT1 与 AMPK 的作用相似, 是自噬的正向调节蛋白。这一观点在实验中得到了验证, 研究发现, 在糖尿病肾病动物模型中, 伴随着自噬水平明显受损, SIRT1 的表达和活性均明显降低。同样, 在糖尿病肾病患者的肾小球内, SIRT1 的活性也明显降低^[19]。另一方面, 在应用 SIRT1 激动剂白藜芦醇后, 糖尿病肾病大鼠体内的 SIRT1 表达升高, 自噬受损情况得到改善, 蛋白尿明显减少, 肾功能得到改善; 体外方面, 白藜芦醇也可以通过激活 SIRT1 改善高糖诱导的肾小球系膜细胞损伤^[17, 20]。由此可见, SIRT1 除了具有与 AMPK 相似的自噬调节作用外, 还具有明显的肾脏保护作用。

3 小结与展望

糖尿病肾病是世界范围内引起终末期肾病的

最主要原因, 也是糖尿病患者的主要死因之一, 目前临床上只能通过控制血压和血糖的方法来控制病情。糖尿病的高发病率和终末期肾病的高死亡率使得寻找新且有效的 DN 防治手段成为目前临床上的一个迫切需要。目前已有大量研究证实细胞自噬在 DN 的发病机制以及病程发展过程中都起到十分重要的作用, 但其具体机制仍有待探究。随着对自噬相关的 mTOR、AMPK 以及 SIRT1 通路的深入研究, 将有可能对 DN 的治疗提供新的治疗思路。综上所述, 充分了解细胞自噬及其相关的信号通路对于调控 DN 时期肾脏内的自噬受损具有重要意义, 也能为未来的临床治疗糖尿病肾病提供有力的理论依据。

参考文献:

- [1] KITADA M, OGURA Y, MONNO I, et al. Regulating Autophagy as a Therapeutic Target for Diabetic Nephropathy[J]. *Current Diabetes Reports*, 2017, 17(7):53.
- [2] WANG Z, CHOI ME. Autophagy in kidney health and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(3):519-37.
- [3] TAKAHAMA M, AKIRA S, SAITOH T. Autophagy limits activation of the inflammasomes[J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1):62-73.
- [4] SINGH SS, VATS S, CHIA AY, et al. Dual role of autophagy in hallmarks of cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(9):1142-58.
- [5] YANG Z, KLIONSKY DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(9):814-22.
- [6] LI Z, YUAN Y, MENG Y, et al. Autophagy upregulation ameliorates cell injury in Sequestosome 1 knockout podocytes in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2):98-103.
- [7] KUME S, YAMAHARA K, YASUDA M, et al. Autophagy: Emerging Therapeutic Target for Diabetic Nephropathy[J]. *Seminars in Nephrology*, 2014, 34(1):9-16.
- [8] PUENTE C, HENDRICKSON RC, JIANG X. Nutrient-regulated Phosphorylation of ATG13 Inhibits Starvation-induced Autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(11):6026-35.
- [9] GODEL M, HARTLEBEN B, HERBACH N, et al. Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6):2197-209.
- [10] XIAO T, GUAN X, NIE L, et al. Rapamycin promotes podocyte autophagy and ameliorates renal injury in diabetic mice[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 394(1-2):145-54.
- [11] LI D, LU Z, XU Z, et al. Spironolactone promotes autophagy via inhibiting PI3K/AKT/mTOR signalling pathway and reduce adhesive capacity damage in podocytes under mechanical stress[J]. *Biosci Rep*, 2016, 36(4):8-15.
- [12] HARDIE DG. AMPK: positive and negative regulation, and its role in whole-body energy homeostasis[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 33:1-7.

(下转第 560 页)

MKS 缺乏特异性表现,影像学改变常被误诊为支气管扩张,而反复的下呼吸道感染,且抗感染有效,极易导致大多数临床医师更关注症状及疗效,却对病史的深究有所忽略,造成了 MKS 的漏诊、误诊,因此 MKS 实际发病率及好发年龄与现有的文献报道中数据可能会有一定差异,正如本例患者尽管此次发病才诊断为 MKS,但由于无法收集患者既往临床资料,故其实际从何时发病,最初发病情况如何,气管、支气管的改变如何均难以评估。

MKS 的原发病目前缺乏根治手段,主要是提高对该病的认识,预防和控制感染,关键在于保持呼吸道引流通畅以及有效抗生素的使用,从而改善预后。对于早期无症状的患者,无需特异性的治疗,主要是戒烟、预防感染;在急性加重期,应给予积极的抗生素治疗,并以物理方法和体位引流促进分泌物排出^[3]。亦有文献报道可行气管内支架植入术改善症状^[8]或通过激光治疗 MKS^[9],若病变范围广泛,可行姑息性气管造瘘术或肺移植治疗,但均还需进一步研究。根据本例患者病变类型,建议患者积极预防和控制感染,加强气道管理,对于远期预后尚不乐观。

综上所述,对反复下呼吸道感染的患者,除考虑肺炎、慢性支气管炎、支气管扩张症等常见病外,还应警惕 MKS 的可能,必要时完善肺部 HRCT。对于 MKS 而言,早发现、早诊断、早治疗可以明显提高患者治疗效果,显著改善患者临床症状、生活质量以及远期预后,降低患者并发症发生率,在减少患者住院天数、住院次数以及住院费用等方面均有一定意义。对于发生室性心律失常,除了心血管系统

本身的器质及(或)功能性病变、电解质紊乱等,还应该注意是否合并呼吸系统疾病甚至其他系统疾病,对症处理的基础上对因治疗,才能更好地解决患者的疾患。整体由局部组成,各个局部相辅相成,而局部亦包含于整体内,亦应被看成一个整体,不可分割而来。

参考文献:

- [1] SMITH DL, WITHERS N, HOLLOWAY B, et al. Tracheobronchomegaly: an unusual presentation of a rare condition [J]. *Thorax*, 1994, 49(8):840-1.
- [2] CELIK B, BILGIN S, YUKSEL C. Mounier-Kuhn syndrome: a rare cause of bronchial dilation [J]. *Tex Heart Inst J*, 2011, 38(2):194-6.
- [3] 刘晶晶,李园园,黄璩,等.气管支气管巨大症 1 例并文献复习 [J]. *国际呼吸杂志*, 2015, 35(1):39.
- [4] JOHNSTON RF, GREEN RA. Tracheobronchiomegaly. Report of five cases and demonstration of familial occurrence [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1965, 91(1):35-50.
- [5] 何晨韵,骆健,杨小东,等.Mounier-Kuhn 综合征一例 [J]. *华西医学*, 2015, 30(2):397.
- [6] 张向荣,张侠,于俊.气管、支气管巨大症 1 例报道及文献复习 [J]. *临床肺科杂志*, 2004, 9(6):701.
- [7] 苏萍,杨文杰,马瑞.气管、支气管巨大症 1 例报道 [J]. *中国中医药咨讯*, 2011, 3(4):251.
- [8] ODELL DD, SHAH A, GANGADHARAN SP, et al. Airway stenting and tracheobronchoplasty improve respiratory symptoms in Mounier-Kuhn syndrome [J]. *Chest*, 2011, 140(4):867-73.
- [9] DUTAU H, MALDONADO F, BREEN DP, et al. Endoscopic successful management of tracheobronchomalacia with laser: apropos of a Mounier-Kuhn syndrome [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2011, 39(6):186-8.

(本文编辑:蒋湘莲)

(上接第 546 页)

- [13] LIM JH, KIM HW, KIM MY, et al. Cinacalcet-mediated activation of the CaMKK β -LKB1-AMPK pathway attenuates diabetic nephropathy in db/db mice by modulation of apoptosis and autophagy [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):270.
- [14] JIN Y, LIU S, MA Q, et al. Berberine enhances the AMPK activation and autophagy and mitigates high glucose-induced apoptosis of mouse podocytes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 794:106-14.
- [15] YUAN J, ZHAO X, HU Y, et al. Autophagy regulates the degeneration of the auditory cortex through the AMPK-mTOR-ULK1 signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4):2086-98.
- [16] LEE IH, CAO L, MOSTOSLAVSKY R, et al. A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(9):3374-9.

- [17] MA L, FU R, DUAN Z, et al. Sirt1 is essential for resveratrol enhancement of hypoxia-induced autophagy in the type 2 diabetic nephropathy rat [J]. *Pathol Res Pract*, 2016, 212(4):310-8.
- [18] NG F, TANG BL. Sirtuins' modulation of autophagy [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(12):2262-70.
- [19] GUCLU A, ERDUR FM, TURKMEN K. The Emerging Role of Sirtuin 1 in Cellular Metabolism, Diabetes Mellitus, Diabetic Kidney Disease and Hypertension [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2016, 124(3):131-9.
- [20] KIM MY, LIM JH, YOUN HH, et al. Resveratrol prevents renal lipotoxicity and inhibits mesangial cell glucotoxicity in a manner dependent on the AMPK-SIRT1-PGC1 α axis in db/db mice [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(1):204-17.

(本文编辑:秦旭平)