

# 琥珀酸受体 91/琥珀酸信号通路对肾素分泌的调控作用

陈 刚 于海涛 李静平 邱长春

**摘要** 近年来,局部内源代谢中间产物对肾素合成和释放的直接调控作用已成为肾素-血管紧张素醛固酮系统(RAAS)研究的新热点。2004年美国研究者首次描述了琥珀酸受体91的细胞定位和信号通路特征,确认GPR91可作为一个新的直接连接高血糖和RAS活化的链节。当机体发生生理(病理)变化和代谢应激时,GPR91/琥珀酸信号通路便成为肾素分泌的主要调节者。本文概述近年来有关内源代谢中间物,特别是GPR91对肾素分泌调控作用的相关知识与进展。

**关键词** 低氧 G-偶联蛋白受体 琥珀酸/琥珀酸受体通路 肾素代谢 肾素-血管紧张素-醛固酮系统

[中图分类号] R692 [文献标识码] A

肾素由近肾小球细胞(juxtaglomerular apparatus)合成并释放,是肾素-血管紧张素系统(RAS)活化的第一限速酶,参与体液、电解质平衡和血压的调节作用,也是人体病理生理状态的主要调节因子。肾素控制包括系统和局部的作用因子扮演者,梅库拉斑机制和近肾小球细胞(JGA)内某些激素的作用4种机制。有关经典通路已有较详细综述<sup>[1,2]</sup>。而转基因小鼠在上述通路的改变为我们更好地了解肾素分泌控制网络作出了重要贡献<sup>[3]</sup>。

本综述内容是肾素-血管紧张素系统研究出现的新领域,即细胞和线粒体代谢产生的内源分子对肾素合成与释放的直接控制作用。RAS与机体代谢间的许多环节已确定,而且外周与脑RAS在代谢速度调节中的作用已分别在相关研究中阐述。本文将讨论当代谢应激产生过量三羧酸循环中间产物琥珀酸时其细胞表面受体琥珀酸受体91的作用,以及其他内源代谢分子与肾素调控的关系<sup>[4]</sup>。

## 一、琥珀酸与代谢应激反应

早在1960年,Krebs<sup>[5]</sup>的研究已证实,短时间缺氧可导致组织内琥珀酸选择性地升高,并与三羧酸循环中其他中间产物降低形成明显对比。过去几十年,

氧化应激和活性氧(ROS)积累,作为主要代谢副产物和线粒体应激信号备受关注。正常状态,在肾脏内有害的低氧组织环境中,线粒体和低氧应激对器官功能的调节至关重要。大量证据表明肾脏疾病和高血压都与氧化应激和ROS增加强相关<sup>[6]</sup>。而且,当生理(病理)状态线粒体应激时琥珀酸与ROS相伴平行积累。事实上,两者密切相关,ROS可抑制某些线粒体酶,致使三羧酸循环缩短加速关闭和琥珀酸生成。同样也确认心脏和肾脏代谢状态变化都有琥珀酸生成<sup>[7]</sup>。

过去10年来,人们不仅较好地认识了琥珀酸在细胞应激和低氧反应中的重要性,也间接地确认了低氧诱导因子(Hif)对琥珀酸的依赖性,低氧诱导因子和正常低氧反应状态下,琥珀酸不仅存在于线粒体,而且在循环系统中也检测出琥珀酸,血浆中平均水平为1~20 μmol/L<sup>[8,9]</sup>。然而,已观察到在低氧、糖尿病和癌症等生理(病理)状态下,由于机体能量需求和食物与氧气供应间的高度失衡可导致线粒体、胞质和胞外环境中琥珀酸积累<sup>[1,9~11]</sup>。琥珀酸积累是线粒体应激的信号。然而,迄今为止,琥珀酸积累的作用未能揭晓。过去8年间,已有数十篇论文报告了琥珀酸和其GPR91受体在脂肪组织、肝、免疫系统、视网膜和肾脏中的作用<sup>[9,10,12]</sup>。其结果表明,琥珀酸/GPR91受体信号参与糖尿病肾病、视网膜病变、肥胖、心肌梗死和高血压、肝病、免疫和血液系统疾病的发病病理,可能也与衰老和癌症相关<sup>[9,11~17,21]</sup>。最近研究发现,琥珀酸/GPR91通路是脂解作用的强抑制因子。GPR91这一新功能及其在碳水化合物和脂肪

基金项目:“十一五”科技支撑计划项目(2006ABI19B07);国家自然科学基金资助项目(30393132,31171146,31371208);齐齐哈尔医学院重大项目基金资助项目(2012002)

作者单位:161006 齐齐哈尔医学院(陈刚、于海涛、李静平、邱长春);100005 中国医学科学院/北京协和医学院基础医学研究所(邱长春)

通讯作者:邱长春,电子信箱:Changchun Qiu@163.com

代谢主要部位脂肪细胞和肝细胞的高表达,也表明琥珀酸与机体代谢速率调节和某些疾病(如糖尿病、肥胖等)发生的直接相关。

## 二、琥珀酸与糖尿病高血糖和肾素释放直接相关

继 He's 等关于 GPR91 具有里程碑意义的文章发表后,又鉴定出 GPR91 作为琥珀酸受体在肾性高血压和糖尿病中的作用,并阐述了 GPR91 的定位和信号通路及在糖尿病肾病发生发展中的作用,确认在糖尿病患者中 GPR91 可作为直接连结高血糖和 RAS 活化的一个新链节。动物模型研究结果表明,STZ 诱发 1 周后的糖尿病大鼠尿液和肾脏匀浆物中琥珀酸水平较对照组高 1~2 个数量级,并与肾脏线粒体高水平应激相符<sup>[12]</sup>。但是,因为琥珀酸在细胞内再吸收和局部外周组织环境的代谢致使血浆琥珀酸水平变化很小,且不一致,所以,相关实际信息所知甚少。

STZ 诱发小鼠糖尿病的重要标志是肾内和血浆中肾素或肾素前体物浓度升高,而在 GPR91 缺陷小鼠中这一标志即消失<sup>[1]</sup>。1976 年,Baumbach 等<sup>[16]</sup>首次报告琥珀酸对肾素释放的影响,提出 GPR91 的介导作用不仅对复杂的系统也可对局部组织,在体外可应用微灌注的新鲜肾脏 JGA 组织切片实验予以证明。特别是通过三羧酸循环酶抑制剂实验更证实高血糖对肾素释放的影响是通过琥珀酸/GPR91 信号通路实现的。更有趣的是 GPR91 表达不是在 JG 细胞而是在两种 JGA 传感细胞,即梅库拉斑和血管内皮细胞<sup>[1,17]</sup>。因此,琥珀酸/GPR91 以旁分泌方式引起梅库拉斑增加肾素和内皮衍生细胞前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)和一氧化氮(NO)释放,PGE<sub>2</sub> 和 NO 合成与释放是通过内皮或促细胞内梅库拉斑的分裂素活化的蛋白激酶 P<sup>38</sup> 和 PERK1/2 的钙介导的。虽然,尚未知晓糖尿病细胞内可激活 GPR91 的琥珀酸是在局部以自分泌/旁分泌机制生成还是由上游孤独(个别)片段衍生而来,但间接证据已表明琥珀酸在糖尿病细胞内可积累而且在局部可以自分泌/旁分泌方式作用而不是从近小管细胞或螺旋凸出部分裂解的溢出物。葡萄糖摄入、糖酵解作用和三羧酸循环的加速,可导致高代谢速率和线粒体,胞质及胞间质组织琥珀酸明显积累。GPR91 信号可参与细胞对低氧和高血糖应激反应,导致正常保护性信号通路活化的同时,也会造成肾素-血管紧张素系统和与病理学相关系统的活化。

应用糖尿病模型 MM 和 DD1 细胞培养,可以观察 GPR91 的表达部位和活性信号。此外,ERK1/2 依

赖 GPR91 的活化作用虽然未能显示出其对 GPR91 生成上游反应,但也可作为 GPR91 生成下游孤立事件的证据。

Janos 等研究表明,在糖尿病和其他病理状态下,除 JGA 外,高表达 GPR91 的远肾小球孤立/集尿管细胞也是肾素原的主要来源。要了解肾内诸多解剖部位可能需受益于影像技术,应用显微照相手段不仅可直接定量观察大、小鼠肾脏结构部位,而且可在体内监测肾脏基本功能参数,如肾素原含量,释放和组织活性<sup>[18,19]</sup>。

## 三、GPR91-肾素分泌的生理(病理)介导物

最初通过糖尿病相关病理生理变化确认琥珀酸通过 GPR91 信号通路可引起肾素释放导致 RAS 激活和高血压<sup>[1,13,17]</sup>。因为器官血流供应减少和低氧可引起琥珀酸积累以及静脉快速注射琥珀酸可引发肾素释放和依赖 RAS 型高血压。He 等预言 GPR91 信号在肾血管高血压的重要性,但尚未在相关实验动物模型验证。

此后,在低盐诱导的肾小管梅库拉斑细胞中进一步确认琥珀酸/GPR91 通过同样细胞内信号级联机制引起肾素释放,其信号级联包括 ERK1/2, P<sup>38</sup> 和 COX-2 激活和 PGE<sub>2</sub> 生成与释放,PGE<sub>2</sub> 是增加肾素合成与释放的主要旁分泌诱导因子。这些结果表明改变细胞内琥珀酸/GPR91 分子水平,就可有效地通过梅库拉斑机制介导肾素分泌并激活对其他生理病理刺激的反应。与上述介导作用一致,Peti - Peterdi 等<sup>[17]</sup>又发现 GPR91 基因敲除小鼠经低盐诱导后肾素分泌量较野生型小鼠明显减少。

复杂的心血管和代谢性疾病,可能与线粒体的能量和氧气的供应与需求明显失衡相关,也就是与肾脏和其他器官局部高水平琥珀酸有关。据此,已检测出自发性高血压大鼠,ob/ob, db/db 小鼠和 fa/fa 大鼠较对照组琥珀酸水平明显升高,其水平与 GPR91 活化相符<sup>[11]</sup>。目前, GPR91、肾素和 RAS 在不同病理状态下的致病作用正在研究中。

高功能组织对能量的高需求可能也导致线粒体应激和琥珀酸积累。最近,Singh 等报告了部分肾切除合并缺血性再灌注模型动物的残留肾单元的血流动力学和分子适应,这种模型具抗缺血损伤能力。异常肾小管间反馈可增加 GFR,说明前肾小球内血管强力的舒张和在这种条件下低氧反应和 HIF-1 $\alpha$  表达的激活与糖尿病早期琥珀酸/GPR91 信号激活的分子和功能效应相似。尽管该研究未测定琥珀酸水

平也未阐明琥珀酸/GPR91 的作用,但是,由于高能量需求与低氧引起的极端线粒体应激也强烈地表明琥珀酸信号参与这种状态和适应机制。

#### 四、参与调控肾素分泌的其他代谢物分子

琥珀酸结合到 G - 偶联蛋白受体(GPR91)可启动肾素释放的发现导致一个新概念的产生,即内源代谢物(除传统功能外)可作为肾素分泌和RAS活化的直接代谢调控因子。三羧酸循环中有功能且与琥珀酸密切相关的 $\alpha$ -酮戊二酸,也是GPR99的配体,它可以在肾脏和位于远端肾单元表达,但在调节肾素分泌或肾血流及电解质再吸收的作用尚未知晓。

肾脏利用确定代谢物或化学感受器直接调控琥珀酸分泌和肾素释放的概念被Pluznick等进一步证实,他定位并描述了一种与远端肾单元顶端表面(包括梅库拉)一起的嗅觉信号系统的成分,至少,有一种嗅觉受体,与嗅觉相关的腺苷环化酶AC3和嗅觉G-蛋白(Gol5)被定位。

重要的是已发现在AC3缺陷小鼠改变COX-2的表达和活性及nNosin梅库拉斑细胞都可减少胞质肾素水平,提示嗅觉机制直接参与调控肾素分泌。未来,研究的兴趣应当是进一步观察单一嗅觉受体在肾素分泌中的作用和鉴定使梅库拉斑细胞可嗅到味道的化学物质。此外,除了琥珀酸和嗅觉物质外,其他代谢途径分子也可能直接诱导肾素分泌,例如已知食物果糖和细胞嘌呤尿酸类代谢产物,都可以增加肾素水平并活化肾内RAS系统。该实验室最初报告已指出在离体的显微灌注JGA切片上尿酸可通过依赖梅库拉斑机制快速地开启肾素释放<sup>[15]</sup>。

#### 五、展望

过去几年,出现一个新的研究领域便是鉴定出代谢中间产物可通过GPRS直接影响肾脏的肾素合成与释放功能。这一新出现的特征性主要信号通路就是三羧酸循环中间产物琥珀酸及其细胞膜受体,它们与多种病理生理状态和许多器官机制相关联。在诸多功能中,JGA的GPR91在局部组织环境对肾素分泌的直接调控作用尤为重要。期望在未来进一步鉴定琥珀酸/GPR91和其他代谢中间产物在糖尿病肾病和(肾性)高血压发生发展中的重要性。研究GPR91不仅可为临床诊断提供更多有用信息,为研发GPR91化学抑制剂提供新靶标,也为开发治疗糖尿病和高血压新药提供了新思路<sup>[20,21]</sup>。

#### 参考文献

1 He W, Miao FJ, Lin DC, et al. Citric acid cycle intermediates as lig-

- ands for orphan G - protein - coupled receptors [J]. Nature, 2004, 429(6988):188 - 193
- 2 Schweda F, Friis U, Wagner C, et al. Renin release [J]. Physiology, 2004, 22(5):310 - 319
- 3 Castrop H, Höcherl K, Kurtz A, et al. Physiology of kidney renin [J]. Physiol Rev, 2010, 90(2):607 - 673
- 4 Schnermann J, Briggs JP. Synthesis and secretion of renin in mice with induced genetic mutations [J]. Kidney Int, 2012, 81(6):529 - 538
- 5 Krebs HA. Rate control of the tricarboxylic acid cycle [J]. Adv Enzyme Regul, 1970, 8:335 - 353
- 6 Deen PMT, Robben JH. Succinate receptors in the kidney [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2011, 22(8):1416 - 1422
- 7 Fodotecheva NL, sokolov AP, kondrashova MN. Nonenzymatic formation of succinate in mitochondria under oxidative stress [J]. Free Radic Biol Med, 2006, 41(1):56 - 64
- 8 Koivunen P, Hirsila M, Remes AM, et al. Inhibition of hypoxia - inducible factor(HIF) hydroxylase by citric acid cycle intermediates [J]. J Biol Chem, 2007, 282(7):4524 - 4532
- 9 Hakak Y, Lehmann-Bruinsma K, Phillips S, et al. The role of the GPR91 ligand succinate in hematopoiesis [J]. J Leukoc Biol, 2009, 85(5):837 - 843
- 10 Tang JJ, Toma I, Sipos A, et al. The collecting duct is the major source of prorenin in diabetes [J]. Hypertension, 2008, 51(6):1597 - 1604
- 11 Kang JJ, Toma I, Sipos A, et al. Quantitative imaging of basic functions in renal (patho) physiology [J]. Am J Physiol Ren Physiol, 2006, 291(2):F495 - F502
- 12 Nangaku M, Eckardt KU. Hypoxia and the HIF system in kidney disease [J]. J Mol Med, 2007, 85(12):1325 - 1330
- 13 Peti-Peterdi J. High glucose and renin release: the role of succinate and GPR91 [J]. Kidney Int, 2010, 78(12):1214 - 1217
- 14 Correa PR, Kruglov EA, Thompson M, et al. Succinate is a paracrine signal for liver damage [J]. J Hepatol, 2007, 47(2):262 - 269
- 15 Rubic T, Lametschwandner G, Jost S, et al. Triggering the succinate receptor GPR91 on dendritic cells enhances immunity [J]. Nat Immunol, 2008, 9(11):1261 - 1269
- 16 Baumbach L, Leyssac PP, Skinner SL. Studies on renin release from isolated superfused glomeruli: effects of temperature, urea, ouabain and ethacrynic acid [J]. J Physiol, 1976, 258(1):243 - 256
- 17 Peti-Peterdi J, Kang JJ, Toma I. Activation of the renal renin - angiotensin system in diabetes—new concepts [J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(10):3047 - 3049
- 18 Peti-Peterdi J, Gevorgyan H, Lam L, et al. Metabolic control of renin secretion [J]. Pflugers Arch, 2013, 465(1):53 - 58
- 19 Sapieha P, Sirinyan M, Hamel D, et al. The succinate receptor GPR91 innervates has a major role in retinal angiogenesis [J]. Nat Med, 2008, 14(10):1067 - 1076
- 20 Komers R. Renin inhibition in the treatment of diabetic kidney disease [J]. Clin Sci, 2013, 124:553 - 566
- 21 Ariza AC, Dean PM, Robben JH. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress - related conditions [J]. Endocrinology, 2012, 153(22):1 - 8

(收稿日期:2013-10-14)

(修回日期:2014-02-13)