

SphK/S1P 信号通路与肾脏炎症研究进展

马雷雷 孙卫卫 刘忠杰 王莹 刘笑慈 刘玉宁 王耀献

摘要 肾小球肾炎是慢性肾脏病发展到肾衰竭所经历的慢性的、逐步进展性的肾脏局部炎性反应,包括肾小球系膜细胞增殖、系膜基质合成增多、炎性因子合成增加等。抑制或减轻肾脏炎性反应可以延缓慢性肾炎发展到慢性肾衰竭的病程。近年来发现 SphK/S1P 信号通路在肾脏炎性反应的过程中发挥了一定的作用,SphK/S1P 信号通路可能是临床干预以及治疗肾小球肾炎的另一靶点。

关键词 鞘氨醇激酶 1-磷酸鞘胺醇 肾小球肾炎

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.048

肾小球肾炎是一组临床以血尿、蛋白尿为主要特征的肾脏疾病,病理表现主要为肾小球内的炎性反应,可以为原发性肾脏病也可以由继发性肾脏病如糖尿病肾病、系统性红斑狼疮等引起。肾小球肾炎目前在我国是导致终末期肾脏病的主要原因之一,而在肾小球肾炎的病程中,系膜细胞的增殖起着重要的作用^[1]。系膜细胞位于肾小球内毛细血管之间的间隙中,对于维持肾小球结构的完整性以及调节肾脏血流量非常重要,系膜细胞一旦被激活就会启动并促进细胞迁移,细胞增殖,促炎性因子合成增加,同时细胞外基质成分合成增加等一系列炎性反应进程,而这些炎症事件在很多慢性炎症性肾脏病中都可以出现。最近在分子水平的研究发现,1-磷酸鞘胺醇(sphingosine 1-phosphate S1P)在激活的系膜细胞中异常活跃,推测其很有可能参与了肾小球肾炎的病程,本文主要对鞘氨醇激酶/1-磷酸鞘胺醇(sphingosine kinase/sphingosine 1-phosphate SphK/S1P)信号通路在慢性炎症性肾脏病中的研究进展做一综述。

一、SphK/S1 概述

早在1874年,德国外科学家Johann Ludwig Wilhelm Thudichum首次发表了关于鞘脂类物质的研究,但直到1个多世纪以后才发现鞘脂类物质的生物功能。在目前已知的400多种鞘脂类化合物中,S1P是其中具有多元性的重要细胞生物功能成员之一,S1P对于免疫功能和血管系统具有重要的调节功能,其中也包括肾脏^[2-4]。S1P大多数的生物学效应是由5

种特异的高亲和力G-蛋白偶联受体介导的,这5种受体被命名为S1P₁₋₅受体,S1P受体介导的生物学效应包括调节细胞的存活、增殖以及迁移。除了这些细胞外的功能之外,有关S1P的细胞内的生物学功能也有所报道,细胞核内的S1P对组蛋白去乙酰化酶HDAC1和HDAC2的直接抑制作用提示S1P可能参与了基因表达的修饰过程。同时S1P与TRAF2绑定后也参与了NF- κ B信号通路。

由于S1P高度多样性的生物功能,S1P需要一个严密的生成与降解调控系统,这个调控系统是由S1P合成酶即鞘氨醇激酶(sphingosine kinases, SphK)、S1P磷酸酶和S1P裂解酶构成的。SphK有两种结构亚型SphK1和SphK2,它们的位置分布以及表达模式不同,也发挥着不同的生物学功能。在系膜细胞中,SphK1能够介导细胞增殖与存活,而SphK2却发挥着促细胞凋亡的功能^[5]。体内的神经酰胺(ceramide, Cer)在酰胺酶的脱酰基作用下生成鞘胺醇(sphingosine, Sph),SphK能够使Sph的1-羟基位置发生磷酸化,从而生成S1P,同样的,S1P可以在S1P磷酸酶的脱磷酸作用下生成Sph。而S1P在S1P裂解酶的作用下被裂解生成十六烷基癸烯和磷酸乙醇胺。这个S1P生成与降解系统共同维持着体内S1P水平,使其发挥其正常的生理学功能。

二、SphK/S1P与肾脏炎症反应

肾小球内炎症反应是各种原发以及继发肾脏病的主要病理表现之一,其最显著的特征是系膜细胞增殖导致的肾小球损伤。近年来的许多研究都发现SphK/S1P信号通路参与了肾脏炎症反应过程。Zhang等^[6]首次报道了S1P在细胞增殖中的作用,他们以Swiss 3T3成纤维细胞为研究对象,在加入外源

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273633)

作者单位:100700 北京中医药大学东直门医院肾病中心

通讯作者:王耀献,电子信箱:727431936@qq.com

性的 S1P 后能够提高细胞 DNA 合成和细胞分裂,同时也发现 S1P 能够促进系膜细胞的增殖和迁移,从而参与了肾小球肾炎的疾病发展过程。

SphK/S1P 信号通路在炎症反应中的作用是多方面的。S1P 能够刺激淋巴细胞从次级淋巴组织外出通过血液循环到达炎症部位从而发挥一系列促炎性反应。淋巴细胞能够通过 S1P 受体“感知”S1P 的浓度梯度(淋巴结中低浓度而循环中高浓度)获得迁移信号,从而从淋巴器官迁移到血流中。S1P 的这种效应能够被 FTY720 所阻断,FTY720 是一种鞘胺醇类似物,在体内,FTY720 能够被 SphK2 磷酸化从而作用于 S1P 受体的其中 4 种类型($S1P_{1,3,4,5}$),而且 FTY720 与 S1P 竞争性结合受体位点而触发 $S1P_1$ 的降解,诱导淋巴细胞归巢。基于 FTY720 的这种免疫调节功能,美国 FDA 已批准该药口服用于治疗反复复发-缓解型的多发性硬化症^[7]。现在很多研究也认为 FTY720 在一系列炎症性疾病中也具有保护作用,对于肾脏病领域,FTY720 在一些实验动物模型也被证实具有肾保护作用,例如在抗肾小球基膜肾炎、急、慢性肾小球肾炎,以及糖尿病肾病的大鼠模型中,FTY720 不仅能通过使肾脏浸润的淋巴细胞减少同时也可以减少外周循环中淋巴细胞数量来发挥肾保护作用^[8,9]。

Pedregosa 等^[10]在缺血再灌注大鼠肾损伤模型研究中发现,FTY720 发挥肾脏保护作用的同时还伴随着肾脏局部浸润细胞的 TLR2 和 TLR4 受体表达降低以及肾脏细胞促炎性物质 IL-6 蛋白的低表达。同样,在抗肾小球基膜抗体介导的肾炎模型中,FTY720 能够介导脾脏 $S1P_{1,2,5}$ 受体以及 Th1 型细胞因子 IFN γ 和 IL-2 的下调并同时伴随着脾细胞 Th2 型细胞因子 IL-4 的上调。Th1/Th2 比例在免疫应答的调节中起重要作用,Th1 细胞可抑制 Th2 细胞的活性,加速免疫排斥反应;而 Th2 细胞则可抑制 Th1 细胞作用,诱导免疫耐受,因此 FTY720 也被用于肾脏移植后的免疫排斥反应。

S1P 受体激动剂发挥肾保护作用可能不止是通过 $S1P_1$ 1 个受体,因为在 Awad 等^[9]的研究中,他们通过对大鼠腹腔注射 STZ 制作糖尿病肾病模型,9 周以后发现模型组的尿白蛋白排泄率,肾小管损伤程度以及尿液中 TNF- α 均增加,但在给予 FTY720 以及 SEW2871 (选择性的 $S1P_1$ 激动剂)之后,上述指标都有所恢复。而且他们还发现只有 FTY720 组大鼠的血淋巴细胞水平降低。SEW2871 在 6 周后能够同时降低 Rag-1 大鼠(T 细胞和 B 细胞缺失)以及野

生型大鼠糖尿病模型的尿蛋白排泄率,这表明 SEW2871 的肾保护作用独立于淋巴细胞所产生的。在对肾脏的缺血再灌注损伤模型研究中也发现不仅 $S1P_1$ 参与了肾脏保护作用,拮抗 $S1P_2$ 及 $S1P_3$ 也都能够降低肾脏的损伤及炎症反应^[11,12]。

S1P 合成酶 SphK1 在炎症过程中也有着重要的作用,在很多炎症性肾脏病模型中发现 SphK1 的表达均有所上调,比如糖尿病肾病和多囊肾^[13,14]。一些细胞研究也证实某些炎性因子比如 IL-1, IFN γ , LPS 等均可诱导 SphK1 表达的上调,以上结果都进一步证实 SphK1/S1P 信号通路在炎症进程中的作用^[15]。但是值得注意的是在炎症条件下上调的 SphK1 并不是意味着一定会促进炎症反应,相反可能会发挥抑制炎症的功能。Ren 等^[13]研究了 SphK1 在肾脏纤维化以及对 CTGF 表达的作用机制,当给予培养的人永生化足细胞系 TGF- β 2 因子刺激时,SphK1 通路激活,SphK1 mRNA 及其蛋白表达均上调。进一步当采用 siRNA 技术或者 SphK1 抑制剂耗尽 SphK1 时会加剧足细胞 CTGF 的表达,而过表达的 SphK1 却降低 CTGF 生成。在体内实验研究发现,与肾癌患者肾脏病理切片的足细胞相比,糖尿病肾病患者肾脏病理切片的足细胞 SphK1 表达增加。同样在链脲霉素诱导的糖尿病肾病大鼠模型中也发现足细胞 SphK1 以及 CTGF 表达均上调。而在 SphK1 基因缺失的糖肾大鼠模型中,大鼠白蛋白排泄以及 CTGF 表达增加。因此认为 SphK1 活性在肾脏纤维化进程中可能起到保护作用,而其抑制剂可能会加重纤维化疾病。同样的一些研究也发现 SphK1 活性的缺失会导致 PKD 大鼠模型囊肿的恶化以及明显增加缺血再灌注大鼠模型的肾损伤程度^[14,16]。

三、SphK/S1P 与肾脏纤维化

肾脏纤维化是以肾脏细胞外基质过度生成以及沉积为主要病理表现,逐渐导致肾脏瘢痕形成以及肾功能丧失,肾小球硬化以及肾间质纤维化是肾脏纤维化的主要病理特点,是大多数慢性炎症性肾脏病的最终病理转归。TGF- β /Smad 信号通路已经被证实在肾纤维化进程中发挥着重要的作用,目前的多项研究都证实 SphK/S1P 信号通路能与其发生“串话”。通过交叉激活 TGF- β /Smad 信号通路,从而加重肾脏纤维化程度。S1P 通过激活肾小球系膜细胞 S1P 受体可以诱导促纤维化因子例如 CTGF 以及纤粘连蛋白等的产生^[17,18]。CTGF 是 TGF- β 信号通路下游的调节因子,而且能够加剧 ECM 的生成和积聚。Lan

等^[19]的研究也证实了 SphK1 在糖尿病肾病大鼠模型中的促纤维化作用,他们发现糖尿病肾病大鼠体内的 SphK1 蛋白表达与纤粘连蛋白表达高度相关。在体外高糖条件下培养的系膜细胞同样也发现上述关系,然而通过 siRNA 技术沉默 SphK1 却能够减少纤粘连蛋白的生成。这个结果说明 SphK1 会加速肾纤维化进程。然而也有研究证实 SphK1 表达上调并不是有害的,甚至还具有肾保护作用^[13]。因为与野生型大鼠相比,SphK1 缺失的糖尿病肾病大鼠模型表现出了更高水平的蛋白尿和肾小球 CTGF 的表达增加。在体外培养的人足细胞也发现,TGF- β 能够诱导 SphK1 和 CTGF 的表达,但是当 SphK1 被 siRNA 下调之后或者其活性被 SKI ~ II(SphK1 抑制剂)阻断后,CTGF 表达会明显增加,这些结果似乎表明,SphK1 在 TGF- β 依赖的纤维化进程中发挥了一定的阻断作用。而对于细胞内 S1P 的研究也发现其可以减少 CTGF 表达,与细胞外 S1P 上调 CTGF 表达的功能正好相反。除此之外,一项研究也发现噻唑烷二酮类药物(PPAR γ 激动剂)可以通过增加 SphK1 的表达来降低 CTGF 的分泌,从而阐明了此类药物的抗纤维化效应^[20]。

基于以上研究,目前有观点认为,S1P 可能因为其位置的不同从而发挥不同的生物学效应。细胞外的 S1P 通过细胞膜表面 S1P 受体发挥促纤维化的作用,而细胞内 S1P 则通过抑制促纤维化因子 CTGF 等发挥抗纤维化功能,但是其抑制 CTGF 的进一步机制还不甚明确。

四、治疗现状

根据美国肾脏数据系统最新发布的终末期肾脏病的发生率和流行病学数据来看,终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD)在过去 10 年呈现出明显的增长速度,而且也是导致患者住院时间延长,病死率明显增加主要原因之一^[21]。文中也提到肾小球肾炎是导致 ESRD 的主要原因之一,而且目前针对肾小球肾炎仍然缺少合适的以及有效的治疗手段。在过去 50 年中,针对肾小球肾炎的治疗主要以糖皮质激素和细胞毒药物为主,大多数也只能达到临床缓解并不能治愈,而且其不良反应也不容忽视。因此很多研究者试图从干预 SphK1/S1P 信号通路来找到新的针对慢性炎症性肾脏病治疗方法。目前已经获得批准的芬戈莫德(FTY720)已经被用于多发性硬化症的治疗。FTY720 是非选择性的 S1P 受体激动剂,最初是由日本学者从中药冬虫夏草中提取的 1 种鞘胺醇物质多球壳菌素(ISP-1)并对其进行化学修饰后得

到的化合物。FTY720 已经引起肾脏病领域的重视。由于 S1P 在纤维化过程中具有双面性,因为其既可以依赖细胞内机制产生抗纤维化作用又能依赖细胞外机制发挥促纤维化作用^[22]。这就要求药物的作用以及调节部位必须严格而又精确。FTY720 由于其 S1P 受体的非选择性,在针对肾移植的 III 期临床试验中由于其明显的不良反应而且与传统治疗方法相比并没有明显的优势从而宣告失败,这提示在药物选择方面必须找到针对 S1P 受体的选择性较强的药物^[23]。尽管目前很多实验数据表明 S1P 受体慢性激活可以通过抑制促炎性因子产生和细胞外基质的生成来改善肾小球肾炎以及糖尿病肾病,但是想通过调节 S1P 受体作为治疗目标仍然有很大的局限性,因为体内不同的细胞在不同的疾病状态下细胞内表达模式是不同的。针对目前这个局限也已经出现了抗 S1P 单克隆抗体,该抗体已经被证实可以减轻大鼠激光诱导的眼底脉络膜新生血管形成的视网膜下纤维化。该药目前已经进入治疗肾细胞癌和老年相关黄斑变性的有效性和安全性 II 期临床试验。

SphK1/S1P 信号通路与肾脏炎症以及纤维化有着密切的关系,在肾脏炎症反应中可以刺激系膜细胞增殖,促进炎症介质合成以及细胞外基质积聚,也成为治疗肾脏炎症的一个新的突破口,但是,目前仍然缺乏针对 SphK 亚型以及 S1P 受体亚型的精确研究,对于 SphK1/S1P 信号通路精确的干预靶点仍然不是很明确,同时,由于 S1P 位置的不同,其也会发挥促纤维化和抗纤维化相反作用,因此,在今后笔者也期待能够有针对 S1P 受体高选择性的药物出现,以期肾脏治疗找到新的方法。

参考文献

- 1 Sethi S, Fervenza FC. Membranoproliferative glomerulonephritis - a new look at an old entity[J]. N Engl J Med, 2012, 366(12):1119 - 1131
- 2 Jo SK, Bajwa A, Awad AS, et al. Sphingosine - 1 - phosphate receptors: biology and therapeutic potential in kidney disease[J]. Kidney Int, 2008, 73(11):1220 - 1230
- 3 Maceyka M, Harikumar KB, Milstien S, et al. Sphingosine - 1 - phosphate signaling and its role in disease[J]. Trends Cell Biol, 2012, 22(1):50 - 60
- 4 Koch A, Pfeilschifter J, Huwiler A. Sphingosine 1 - phosphate in renal diseases[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 31(6):745 - 760
- 5 Hofmann LP, Ren S, Schwalm S, et al. Sphingosine kinase 1 and 2 regulate the capacity of mesangial cells to resist apoptotic stimuli in an opposing manner[J]. Biol Chem, 2008, 389(11):1399 - 1407
- 6 Zhang H1, Desai NN, Olivera A, et al. Sphingosine - 1 - phosphate,

- a novel lipid, involved in cellular proliferation [J]. J Cell Biol, 1991, 114(1):155-167
- 7 Chun J, Brinkmann V. A mechanistically novel, first oral therapy for multiple sclerosis; the development of fingolimod (FTY720, Gilenya) [J]. Discov Med, 2011, 12(64):213-228
 - 8 Sui M, Zhou J, Xie R, *et al.* The sphingosine-1-phosphate receptor agonist FTY720 prevents the development of anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(1):389-397
 - 9 Awad AS, Rouse MD, Khutishvili K, *et al.* Chronic sphingosine 1-phosphate 1 receptor activation attenuates early-stage diabetic nephropathy independent of lymphocytes[J]. Kidney Int, 2011, 79(10):1090-1098
 - 10 Pedregosa JF, Haidar AA, Hirata AE, *et al.* TLR2 and TLR4 expression after kidney ischemia and reperfusion injury in mice treated with FTY720[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(9):1311-1318
 - 11 Jo SK, Bajwa A, Ye H, *et al.* Divergent roles of sphingosine kinases in kidney ischemia-reperfusion injury[J]. Kidney Int, 2009, 75(2):167-175
 - 12 Park SW, Kim M, Brown KM, *et al.* Inhibition of sphingosine 1-phosphate receptor 2 protects against renal ischemia-reperfusion injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(2):266-280
 - 13 Ren S, Babelova A, Moreth K, *et al.* Transforming growth factor-beta2 upregulates sphingosine kinase-1 activity, which in turn attenuates the fibrotic response to TGF-beta2 by impeding CTGF expression[J]. Kidney Int, 2009, 76(8):857-867
 - 14 Natoli TA, Husson H, Rogers KA, *et al.* Loss of GM3 synthase gene, but not sphingosine kinase 1, is protective against murine nephronophthisis-related polycystic kidney disease[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(15):3397-3407
 - 15 Snider AJ, Orr Gandy KA, Obeid LM. Sphingosine kinase: role in regulation of bioactive sphingolipid mediators in inflammation [J]. Biochimie, 2010, 92(6):707-715
 - 16 Park SW, Kim M, Kim M, *et al.* Sphingosine kinase 1 protects against renal ischemia-reperfusion injury in mice by sphingosine-1-phosphate receptor activation[J]. Kidney Int, 2011, 80(2):1315-1327
 - 17 El-Shewy HM, Sohn M, Wilson P, *et al.* Low-density lipoprotein induced expression of connective tissue growth factor via transactivation of sphingosine-1-phosphate receptors in mesangial cells [J]. Mol Endocrinol, 2012, 26(5):833-845
 - 18 Huang K, Huang J, Chen C, *et al.* AP-1 regulates sphingosine kinase 1 expression in a positive feedback manner in glomerular mesangial cells exposed to high glucose[J]. Cell Signal, 2014, 26(3):629-638
 - 19 Lan T, Liu W, Xie X, *et al.* Sphingosine kinase-1 pathway mediates high glucose-induced fibronectin expression in glomerular mesangial cells[J]. Mol Endocrinol, 2011, 25(12):2094-2105
 - 20 Koch A, Volzke A, Wunsche C, *et al.* Thiazolidinedione-dependent activation of sphingosine kinase 1 causes an anti-fibrotic effect in renal mesangial cells[J]. Br J Pharmacol, 2012, 166(3):1018-1032
 - 21 Collins AJ, Foley RN, Herzog C, *et al.* US renal data system 2012 annual data report[J]. Am J Kidney Dis, 2013, 61(1):7
 - 22 Schwalm S, Pfeilschifter J, Huwiler A. Sphingosine-1-phosphate: a Janus-faced mediator of fibrotic diseases[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1831(1):239-250
 - 23 Hoitsma AJ, Woodle ES, Abramowicz D, *et al.* FTY720 combined with tacrolimus in de novo renal transplantation: 1-year, multicenter, open-label randomized study[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(11):3802-3805

(收稿日期:2015-04-05)

(修回日期:2015-04-28)

谷氨酰胺在消化道肿瘤患者中的应用进展

谢琦 金贵成

摘要 消化道肿瘤患者常伴有不同程度的蛋白质热量缺乏和免疫功能抑制。肿瘤细胞过度摄取、手术创伤、蛋白质分解增加等原因导致体内的谷氨酰胺不能满足机体需要,可引起肠道绒毛的缩短稀疏,黏膜通透性增高,屏障功能降低,细菌异位导致肠源性感染。近年来,免疫营养在临床上广泛应用,谷氨酰胺作为最主要的免疫营养素,在消化道肿瘤患者中的应用研究有了许多进展。

关键词 谷氨酰胺 消化道肿瘤 免疫营养 进展

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.049

基金项目:浙江省医学会临床科研基金资助项目(2011ZYC-A28)

作者单位:310000 杭州市第一人民医院胃肠外科

通讯作者:谢琦,电子信箱:5447710@qq.com