

- Acad Sci USA, 2010, 107(16):7455-7460
- 16 Suzuki S, Tanaka T, Poyurovsky MV, *et al.* Phosphate activated glutaminase (GLS2), a p53 inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(16):7461-7466
 - 17 Hyeyoung K. Glutamine as an immunonutrient yansei [J]. Med J, 2011, 52(3):892-897
 - 18 Michael J, Kristin F, Richard A, *et al.* Therapeutic strategies impacting cancer cell glutamine metabolism [J]. Future Med Chem, 2013, 5(14):1685-1700
 - 19 Hyeyoung K. Glutamine as an Immunonutrient [J]. Yonsei Med J, 2011, 52(6):892-897
 - 20 曹婧然, 谢颖, 田粟, 等. 谷氨酰胺强化的营养支持对肿瘤患者营养状况影响的 Meta 分析 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 8(1):233-237
 - 21 Wang H, Zhang C, Wu G, *et al.* Glutamine enhances tight junction protein expression and modulates corticotropin-releasing factor signaling in the jejunum of weanling piglets [J]. J Nutr, 2015, 145(1):25-31
 - 22 Szpetnar M, Matras P, Boguszewska-Czubar A, *et al.* Is additional enrichment of diet in branched-chain amino acids or glutamine beneficial for patients receiving total parenteral nutrition after gastrointestinal cancer surgery? [J]. Adv Clin Exp Med, 2014, 23(3):423-431
 - 23 Kang K, Shu XL, Zhang YS, *et al.* Effect of glutamine enriched nutrition support on surgical patients with gastrointestinal tumor: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Chin Med J: Engl, 2015, 128(2):245-251
 - 24 Wang B, Wu G, Zhou Z, *et al.* Glutamine and intestinal barrier function [J]. Amino Acids, 2014, 26(6):24-28
 - 25 Dang CV. Links between metabolism and cancer [J]. Genes Dev, 2012, 26(9):877-890
 - 26 Huang W, Choi W, Chen Y, *et al.* A proposed role for glutamine in cancer cell growth through acid resistance [J]. Cell Res, 2013, 23(5):724-727 (收稿日期:2015-05-11)
(修回日期:2015-05-19)

细胞因子在慢性肾缺血与肾小管-间质纤维化过程中的作用

李立强 张 建 王 蓉 谷涌泉 李建新

摘 要 肾脏慢性缺血随着病情的进展会发展为肾小管间质纤维化。目前研究发现, 血管紧张素-Ⅱ(Ang Ⅱ)、低氧诱导因子-1(HIF-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、转化生长因子- β (TGF- β)、内皮素(ET-1)、血小板衍生生长因子(PDGF)、结缔组织生长因子(CTGF)在肾纤维化中发挥了重要作用, 阻断各细胞因子导致肾小管-间质纤维化的过程是当前的研究热点。

关键词 缺血性肾病 肾小管-间质纤维化 细胞因子

中图分类号 R692 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.050

缺血性肾病(ischemic nephropathy, IN)是指由于单侧或双侧肾动脉狭窄、肾内小动脉硬化、胆固醇结晶微栓塞导致的肾小球滤过率下降以及继发性肾脏损伤。慢性肾脏缺血作为独立因素可以导致肾小管-间质纤维化的病理改变, 主要病理特征为肾间质成纤维细胞增生和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度积聚^[1]。肾纤维化之前, 肾内/肾间质缺氧导致肾小管上皮细胞生化紊乱、代谢异常、结构功能受损, 并诱导炎症反应, 产生自由基, 引起或加重慢性缺氧性损伤。因此, 缺血、缺氧在肾纤维化的过程中起着十分重要的作用, 并导致肾功能持续恶化, 进

入终末期肾脏疾病。本文对缺血缺氧导致肾纤维化进程中发挥作用的几种重要的细胞因子及其作用机制进行综述。

一、血管紧张素Ⅱ

肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)在调节水电解质平衡以及血容量、血压和血管张力方面具有重要意义。肾素主要由肾近球细胞合成分泌, 可水解血管紧张素原使其成为无生理活性的血管紧张素Ⅰ(Ang Ⅰ)。血管紧张素Ⅰ在血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)的作用下, 转化成8肽的血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)。Ang Ⅱ是强力升压物质, 收缩小动脉平滑肌, 通过脑和自主神经系统间接升压, 并促进肾上腺球状带分泌醛固酮, 发挥潴

留水钠、增加血容量的作用。肾素、血管紧张素和醛固酮三者正常情况下处于动态平衡,互相反馈制约。肾脏血流灌注减少的情况下,RAAS 激活,Ang II 处于高表达状态。Ang II 已经被证实作用包括:①高表达的 Ang II 刺激钠的重吸收需要增加耗氧;②高表达的 Ang II 激活 NADPH 氧化酶需要耗氧,并产生过氧化阴离子(O_2^-);③高表达 Ang II 激活磷脂酶 A,使细胞膜磷脂池释放花生四烯酸,通过环氧化酶、脂氧化酶、细胞色素 P-450 等氧化酶系统参与耗氧的代谢;④高表达 Ang II 可抑制一氧化氮合酶(NOS)活性。综上所述,高表达 Ang II 会进一步增加肾组织的耗氧^[2]。

二、低氧诱导因子-1

慢性缺氧损害肾脏主要由低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)介导^[3]。HIF-1 是在细胞缺氧条件下产生的核蛋白,可以与超过 60 个靶基因结合,调节下游靶基因的转录,使机体对缺氧缺血产生适应,参与机体血管舒缩、血管代谢新生、肿瘤、炎症等一系列病理生理进程,并上调纤维化基因的表达。细胞氧浓度的改变是对 HIF-1 活性最主要的调节方式。同时,PI₃K-AKT-FRAP 和 ERK/MAPK 信号转导途径也能够调节^[4]。HIF-1 对肾脏细胞的起保护作用:①促进肾脏缺血后微循环重建: HIF-1 使 VEGF 基因的缺氧反应元件表达增强,增加了缺血组织的血流灌注及供氧量,促进肾脏缺血后的恢复;②作用于促红细胞生成素(erythropoietin, EPO):在肾脏组织中 HIF-1 作用于 EPO,增多的红细胞使血液中氧含量增加从而缓解缺血缺氧所致的肾脏损伤。另一方面,HIF-1 可以刺激如 TGF- β 、CTGF 等促纤维化因子的表达。

三、肿瘤坏死因子- α

肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在肾脏中由肾脏局部浸润的单核-吞噬细胞以及肾小球系膜细胞、近曲小管上皮细胞等产生,与分子质量为 55kDa 的 1 型受体(TNFR1)或分子质量为 75kDa 的 2 型受体(TNFR2)结合激活相应的信号转导途径发挥生物学效应。TNF- α 上调 MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1 等细胞因子,使吞噬细胞迁移至缺血缺氧受累的肾间质,而吞噬细胞又可以释放 TNF- α ,二者能够互相促进。同时,TNF- α 协同其他细胞因子如 ET-1、TGF- β 共同刺激肾间质成纤维细胞增殖和 ECM 沉积,导致肾小管萎缩以及肾小管周围毛细血管丧失,其机制可能为:①在肾小管上

皮细胞损伤修复过程中,TNF- α 合成分泌增多刺激肾小管上皮细胞和肾间质成纤维细胞的增殖分化^[5];②TNF- α 刺激肾小管-间质局部 C3 等补体过度表达从而介导免疫损伤^[6];③TNF- α 通过诱导脂质介质的合成使肾小球系膜细胞收缩,发生细胞形态和的骨架改变^[7];④TNF- α 使血管内皮细胞上 1、2 类主要组织相容性抗原复合体、ICAM-1、ECAM-1 的表达增强,促使中性粒细胞及单核细胞黏附等^[8];⑤TNF- α 刺激上皮细胞生成纤溶酶原激活剂,通过细胞毒作用溶解上皮细胞^[9]。

四、转化生长因子- β

转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)能够刺激肾小管上皮细胞、间质细胞、系膜细胞过度合成胶原纤维、纤维连接蛋白和层黏连蛋白,刺激成纤维细胞增殖并转分化为肌成纤维细胞,促进金属蛋白酶组织抑制物(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1)和纤溶酶原激活物抑制因子-1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)基因的表达,介导 Ang II、PDGF、CTGF 等细胞因子的致纤维化作用^[10]。Smad2、Smad3 是活化型 Smad 蛋白,为 TGF- β 下游调节因子。TGF- β 通过整联蛋白活化黏着斑激酶(FAK)和 ERK MAP 激酶通路磷酸化 Smad 介导了肾脏纤维化^[11]。TGF- β 激活 Smad2/Smad3 后,促进 Smad7 活化并上调 NF- κ B 的抑制因子 I- κ B α 的表达,抑制炎症因子 IL-1 和 TNF- α 诱导的 NF- κ B 的激活和促炎性反应^[12]。Smad7 是抑制型 Smad 蛋白,是内源性 TGF- β 拮抗剂,可与 Smad2/Smad3 竞争结合 TGF- β R-I 或 Smad4,抑制 Smad2/Smad3 磷酸化及向细胞核转移,Smad7 还可通过 E3 泛素连接酶-Smad 泛素化调节因子诱导 Smad2 与 TGF- β R-I 的泛素-蛋白酶体降解,抑制 TGF/Smad3 信号通路和肾小管上皮细胞 CTGF 表达,从而负性调节 TGF- β /Smad 通路抑制肾组织的炎症反应和纤维化过程,因此可以通过抑制 Smad3 通路来治疗肾脏纤维化^[13]。此外,AngII 与 AT1 受体结合物和糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)可通过 MAPK/ERK 和 MAPK/p38 信号通路促使 Smad2/Smad3 磷酸化发挥其生物学效应^[14-16]。

五、内皮素

内皮素(endothelin-1, ET-1)是一种具有强烈收缩血管作用的生物活性肽。肾脏内有广泛分布 ET-1 受体,肾缺血强效刺激肾脏 ET-1 基因的表达,促成了低灌注的产生^[17]。ET-1 通过自分泌和旁分

泌等多种作用形式参与肾纤维化的过程:①直接刺激肾小管上皮细胞增生并分泌 ET-1,并以自分泌的方式促进细胞增殖及扩大促纤维化效应;②参与 NF- κ B 通路,肾脏损伤后大量蛋白尿激活肾小管上皮细胞 NF- κ B 通路,刺激近曲小管上皮细胞分泌炎症及血管活性因子,加重肾组织损伤^[18];③ET-1 收缩肾血管,降低肾血流量,激活 RAAS。同时,ET-1 增加 ACE 活性,促进 Ang I 向 Ang II 转换^[19]。Ang II 的增加上调 ET-1 的 mRNA 在组织中的表达,升高血浆 ET-1 的水平;④ET-1 上调肾小管细胞凋亡刺激基因(Fas)的表达,促进小管细胞的凋亡,加重小管间质处微血管损伤^[20];⑤促进细胞外基质增生^[21]:其一,ET-1 刺激 TGF- β 产生,通过促进基质蛋白和基质降解蛋白酶抑制物的合成来促进 ECM 增生;其二,ET-1 上调 TIMP-1 和肾间质成纤维细胞 I 型胶原蛋白(Col I)的基因表达,导致 ECM 增生;其三,ET-1 作为最强的内源性缩血管肽,引起肾血管收缩、肾血流量下降,供血区域缺氧,增加 HIF-1 相关的下游因子表达及基质增生。

六、血小板衍生生长因子

血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)家族包括 PDGF-A、B、C、D 4 个成员,以及 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-AB 3 种二聚体形式,均通过结合 PDGF- α 或 β 受体发挥作用,他们持续性或诱导性地表达于肾脏细胞。研究发现,通过抑制 PDGF 的表达能减缓肾纤维化,保护肾脏^[22]。PDGF 与 PDGFR 特异性结合促进血管平滑肌细胞和单核细胞迁移、增殖,并导致受体自体磷酸化和酪氨酸激酶激活,继而激活细胞内 PI_3K 、PLC、Ras-MAPK、STAT 等信号转导通路发挥生物学效应参与细胞增殖迁移以及 ECM 沉积,抗炎因子的分泌调节,在肾间质纤维化、系膜增生改变和肾小球血管生成中发挥重要作用^[23-26]。在肾纤维化过程中,PDGF 作用如下:①直接诱导或加剧肾纤维化:PDGF-BB 和 DD 在肾小管间质瘢痕形成和肾小球硬化的进程中影响系膜细胞的增殖激活;激活 PDGF-CC 可强烈刺激间质成纤维细胞到肌成纤维细胞的增殖,且伴随 ECM 沉积、小管间质瘢痕的形成^[22];②间接致纤维化作用:PDGF 可通过刺激 TGF- β 、CTGF 等下游因子的表达间接促使细胞增生,ECM 积聚并抑制基质的降解^[27]。

七、结缔组织生长因子

结缔组织生长因子(connective tissue growth fac-

tor,CTGF)是由 349 个氨基酸残基构成的分泌型多肽,富含半胱氨酸。病理状态下,如高血糖、AGEs、Ang II 以及机械应力作用下肾脏中 CTGF 的表达明显增加,继而引起 ECM 积聚,尤其发生在细胞增生和纤维连接蛋白(FN)、胶原等细胞外基质合成的肾小球系膜和肾小管间质^[28]。CTGF 是 TGF- β 下游的效应因子,与 TGF- β 起协同作用,介导系膜细胞产生胶原蛋白,导致 ECM 沉积、肾小管上皮细胞转分化,而不影响 TGF- β 的免疫调节、抗炎等其他功能^[29]。因此,通过阻断 CTGF 抗肾纤维化同样是目前研究的热点。CTGF 主要通过旁分泌和自分泌的方式发挥其生物学效应。其机制可能为:①刺激肾细胞有丝分裂、增殖、肥大;②促进肾小球系膜细胞分泌 ECM 成分如 FN、Col-I、IV 等;③上调 TIMP-1 使 ECM 的降解减少;④介导肾小管小管上皮-肌成纤维细胞转分化的过程。

综上所述,慢性肾缺血是造成肾小管-间质纤维化的重要环节,肾纤维化加重慢性肾脏疾病进程,最终导致终末期肾病。从缺血缺氧导致肾小管-间质纤维化的一系列细胞因子的作用环节中寻找有效的治疗方法,延缓肾纤维化进程是目前的研究热点。随着分子生物学技术的不断发展和研究的不断深入,相信在临床上对于缺血性肾病和肾小管-间质纤维化能够得到更好的治疗方法。

参考文献

- 1 Khairoun M, van der Pol P, de Vries DK, *et al.* Renal ischemia-reperfusion induces a dysbalance of angiopoietins, accompanied by proliferation of pericytes and fibrosis [J]. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 2013, 305(6): F901-910
- 2 Lavozy C, Rodrigues-Diez R, Benito-Martin A, *et al.* Angiotensin II contributes to renal fibrosis independently of Notch pathway activation [J]. *LloS One*, 2012, 7(7): e40490
- 3 Zapata-Morales JR, Galicia-Cruz OG, Franco M, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) protein diminishes sodium glucose transport 1 (SGLT1) and SGLT2 protein expression in renal epithelial tubular cells (LLC-PK1) under hypoxia [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(1): 346-357
- 4 Zhang QL, Cui BR, Li HY, *et al.* MAPK and PI_3K pathways regulate hypoxia-induced atrial natriuretic peptide secretion by controlling HIF-1 α expression in beating rabbit atria [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 438(3): 507-512
- 5 Therrien FJ, Agharazii M, Lebel M, *et al.* Neutralization of tumor necrosis factor- α reduces renal fibrosis and hypertension in rats with renal failure [J]. *American Journal of Nephrology*, 2012, 36(2): 151-161
- 6 Wan J, Zhou X, Cui J, *et al.* Role of complement 3 in TNF- α

- induced mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells in vitro [J]. *Molecular Biotechnology*, 2013, 54(1): 92 - 100
- 7 Taal MW, Zandi - Nejad K, Weening B, *et al.* Proinflammatory gene expression and macrophage recruitment in the rat remnant kidney [J]. *Kidney International*, 2000, 58(4): 1664 - 1676
- 8 Perna AF, Sepe I, Lanza D, *et al.* Hydrogen sulfide reduces cell adhesion and relevant inflammatory triggering by preventing ADAM17 - dependent TNF - alpha activation [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013, 114(7): 1536 - 1548
- 9 Zhou Z, Gengaro P, Wang W, *et al.* Role of NF - kappaB and PI₃ - kinase/Akt in TNF - alpha - induced cytotoxicity in microvascular endothelial cells [J]. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 2008, 295(4): F932 - 941
- 10 Wang B, Jha JC, Hagiwara S, *et al.* Transforming growth factor - beta1 - mediated renal fibrosis is dependent on the regulation of transforming growth factor receptor 1 expression by let - 7b [J]. *Kidney International*, 2014, 85(2): 352 - 361
- 11 Wang L, Chi YF, Yuan ZT, *et al.* Astragaloside IV inhibits renal tubulointerstitial fibrosis by blocking TGF - beta/Smad signaling pathway in vivo and in vitro [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2014, 239(10): 1310 - 1324
- 12 Wu JS, Shi R, Lu X, *et al.* Combination of active components of Xiexin decoction ameliorates renal fibrosis through the inhibition of NF - kappaB and TGF - beta1/Smad pathways in db/db diabetic mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122661
- 13 Chung AC, Dong Y, Yang W, *et al.* Smad7 suppresses renal fibrosis via altering expression of TGF - beta/Smad3 - regulated microRNAs [J]. *Molecular Therapy*, 2013, 21(2): 388 - 398
- 14 Liu Z, Huang XR, Chen HY, *et al.* Loss of angiotensin - converting enzyme 2 enhances TGF - beta/Smad - mediated renal fibrosis and NF - kappaB - driven renal inflammation in a mouse model of obstructive nephropathy [J]. *Laboratory Investigation*, 2012, 92(5): 650 - 661
- 15 Wei J, Li Z, Chen W, *et al.* AEG - 1 participates in TGF - beta1 - induced EMT through p38 MAPK activation [J]. *Cell Biology International*, 2013, 37(9): 1016 - 1021
- 16 Cheng X, Gao W, Dang Y, *et al.* Both ERK/MAPK and TGF - Beta/Smad signaling pathways play a role in the kidney fibrosis of diabetic mice accelerated by blood glucose fluctuation [J]. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 2013:463740
- 17 Mazzuca MQ, Khalil RA. Vascular endothelin receptor type B: structure, function and dysregulation in vascular disease [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2012, 84(2): 147 - 162
- 18 Gerstung M, Roth T, Dienes HP, *et al.* Endothelin - 1 induces NF - kappaB via two independent pathways in human renal tubular epithelial cells [J]. *American Journal of Nephrology*, 2007, 27(3): 294 - 300
- 19 Hong HJ, Liu JC, Chan P, *et al.* 17beta - estradiol downregulates angiotensin - II - induced endothelin - 1 gene expression in rat aortic smooth muscle cells [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2004, 11(1): 27 - 36
- 20 Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics [J]. *Kidney International*, 2008, 74(7): 867 - 872
- 21 Tang L, Yi R, Yang B, *et al.* Valsartan inhibited HIF - 1alpha pathway and attenuated renal interstitial fibrosis in streptozotocin - diabetic rats [J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2012, 97(1): 125 - 131
- 22 Ostendorf T, Eitner F, Floege J. The PDGF family in renal fibrosis [J]. *Pediatric Nephrology*, 2012, 27(7): 1041 - 1050
- 23 Fan H, Ma L, Fan B, *et al.* Role of PDGFR - beta/PI₃K/AKT signaling pathway in PDGF - BB induced myocardial fibrosis in rats [J]. *American Journal of Translational Research*, 2014, 6(6): 714 - 723
- 24 LeBleu VS, Kalluri R. Blockade of PDGF receptor signaling reduces myofibroblast number and attenuates renal fibrosis [J]. *Kidney International*, 2011, 80(11): 1119 - 1121
- 25 Seikrit C, Henkel C, van Roeyen CR, *et al.* Biological responses to PDGF - AA versus PDGF - CC in renal fibroblasts [J]. *Nephrology, Dialysis Transplantation*, 2013, 28(4): 889 - 900
- 26 Boor P, Ostendorf T, Floege J. PDGF and the progression of renal disease [J]. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2014, 29(Suppl 1):45 - 54
- 27 Kok HM, Falke LL, Goldschmeding R, *et al.* Targeting CTGF, EGF and PDGF pathways to prevent progression of kidney disease [J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2014, 10(12): 700 - 711
- 28 Cheng M, Liu F, Peng Y, *et al.* Construction of a CTGF and RFP - coexpressed renal tubular epithelial cell and its application on evaluation of CTGF - specific siRNAs on epithelial - mesenchymal transition [J]. *Urology*, 2014, 83(6): 1443 - 1448
- 29 Cheng M, Liu H, Zhang D, *et al.* HMGB1 enhances the AGE - induced expression of CTGF and TGF - beta via RAGE - dependent signaling in renal tubular epithelial cells [J]. *American Journal of Nephrology*, 2015, 41(3): 257 - 266

(收稿日期:2015 - 05 - 13)

(修回日期:2015 - 05 - 26)