

G 蛋白偶联胆汁酸受体 TGR5 在炎症及炎性疾病中的作用

颜 勇 李旭忠 王时光 周 舟 胡 承 张学利

摘 要 G 蛋白偶联胆汁酸受体 TGR5 是一种胆汁酸膜受体,表达于多种组织细胞中,研究结果表明胆汁酸通过激活 TGR5 信号通路,在调控能量代谢、炎症反应、细胞增殖与凋亡中具有作用。近年研究发现,TGR5 介导的细胞信号可通过调控炎症反应影响炎性疾病的发生、发展,本文综述了 TGR5 在炎症及相关炎性疾病中的研究进展。

关键词 TGR5 炎症 动脉粥样硬化 代谢综合征

中图分类号 R543 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.049

祖国医学早在 1 千年前就认识到了胆汁酸的药用价值,并有熊胆作为中药材用于治疗多种疾病的记载^[1]。直到 1999 年,受胆汁酸激活的法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)被发现,胆汁酸作为信号分子的角色才被确定^[2]。随后胆汁酸的另一受体,G 蛋白偶联胆汁酸受体 TGR5 亦被发现,进一步明确了胆汁酸的内分泌调控作用^[3]。研究结果表明胆汁酸通过激活 FXR 及 TGR5 信号通路,在调控糖脂及能量代谢、炎症反应、细胞增殖与凋亡中具有重要作用^[4]。近年研究发现,TGR5 介导的细胞信号可通过调控炎症反应影响炎性疾病的发生、发展,本文就 TGR5 在炎症及相关炎性疾病中的研究进展做一综述。

一、TGR5 的结构与激动剂

TGR5(Takeda G-protein-coupled receptor 5)即 G 蛋白偶联胆汁酸受体 1(G-protein-coupled bile acid receptor 1, GPBAR1),又称 M-BAR、BG37、GPR131,由 Maruyama 等^[3]于 2002 年,首次报道,是继 FXR 后发现的另一胆汁酸受体。作为胆汁酸膜受体的 TGR5 在结构及作用方式上均不同于胆汁酸核受体 FXR,TGR5 由 330 个氨基酸组成含 7 个跨膜结构域的肽链,细胞内部分与 G 蛋白结合,具有 G 蛋白偶联受体的典型结构及作用方式^[5]。TGR5 在人和

哺乳动物中普遍表达,在人类其基因位于染色体 2q35,且同源性在人和哺乳动物中高度保守(> 80%)^[6]。TGR5 高度表达于胎盘、脾、淋巴结、骨髓、肺、棕色脂肪、骨骼肌、肠、胆囊、单核-吞噬细胞、肝窦内皮细胞、Kupffer 细胞、胆管上皮等组织细胞^[7]。

胆汁酸是 TGR5 的天然配体,其中石胆酸对其亲和力最强,其次为脱氧胆酸、鹅脱氧胆酸、胆酸,结合胆汁酸与游离胆汁酸均能激活 TGR5,其中牛磺酸结合胆汁酸较甘氨酸结合胆汁酸亲和力强^[8]。齐墩果酸主要提取自齐墩果叶,被发现是一种非固醇类 TGR5 特异激动剂,已作为肝炎治疗的辅助药物应用于临床^[9]。此外,INT-777 是一种半合成的胆汁酸衍生物,被证明是高效的 TGR5 特异激动剂,并被广泛应用于实验研究^[10]。

二、TGR5 与炎性细胞

白细胞是参与机体炎性反应的主要炎性细胞,巨噬细胞是位于组织内的白细胞,源自单核细胞,巨噬细胞和单核细胞皆为吞噬细胞。单核细胞和由其分化而来的具有吞噬功能的细胞称为单核-吞噬细胞系统,该系统包括单核-吞噬细胞、神经组织的小胶质细胞、肝 Kupffer 细胞、肺巨噬细胞等,在机体免疫、防御反应中具有重要作用。TGR5 表达于单核细胞及多种巨噬细胞,单核-吞噬细胞能分泌多种炎性介质,在调控炎症反应中具有重要作用。Kawamata 等^[11]发现胆汁酸能抑制兔肺泡巨噬细胞的吞噬功能及促炎细胞因子分泌;用 TGR5 过表达载体转染 THP-1 单核细胞,发现在过表达 TGR5 的 THP-1 单核细胞中,胆汁酸能显著抑制由脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激的肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis

作者单位:201499 上海,南方医科大学附属奉贤区中心医院普外科(颜勇、王时光、张学利);215000 苏州大学临床医学院(李旭忠);200233 上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科、上海市糖尿病研究所(周舟、胡承)

通讯作者:张学利,教授,博士生导师,电子信箱:lejing1996@aliyun.com

factor- α , TNF- α)分泌,且这一作用与细胞内升高的 cAMP 水平相关。Keitel 等^[12]的研究结果表明,胆汁酸或 TGR5 激动剂激活肝脏 Kupffer 细胞 TGR5 后,细胞内 cAMP 水平升高,由 LPS 诱导的 TNF- α 、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α)等促炎细胞因子表达水平明显下降。近期 Hogenauer 等^[13]的研究发现,用 TGR5 激动剂激活人单核细胞 TGR5 后,炎症反应中其 TNF- α 、白介素-12(interleukin-12, IL-12)等促炎细胞因子分泌显著减少;在小鼠体内的研究表明,TGR5 激动剂的这种抗炎作用主要存在于 TGR5^{+/+}小鼠,而不存在于 TGR5^{-/-}小鼠。以上研究结果表明,激活单核-吞噬细胞 TGR5 可抑制其促炎细胞因子表达,产生抗炎效应。

TGR5 激活后可通过多种信号通路抑制单核-吞噬细胞的促炎细胞因子表达。配体与 TGR5 结合后引起 G 蛋白构象改变,活化的 G 蛋白 α 亚基激活腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC),导致细胞内第 2 信使环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)浓度升高进而激活蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA),发挥生物学作用。在炎症反应过程中,LPS 诱导核因子- κ B 抑制因子激酶(I- κ B kinase, IKK)激活后可导致核因子- κ B 抑制因子 α (I- κ B α)磷酸化,磷酸化的 I- κ B α 被水解释放,导致核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)易位进入细胞核,促进促炎细胞因子表达。一方面,细胞内 cAMP 浓度升高可通过抑制 IKK 的活性,阻止 NF- κ B 的激活,从而抑制促炎细胞因子表达^[14]。另外,PKA 能促进 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)磷酸化,磷酸化的 CREB 通过与 NF- κ B 竞争辅因子 CREB 结合蛋白(CREB binding protein, CBP)而抑制 NF- κ B 的功能,最终抑制促炎细胞因子表达^[15]。此外,PKA 还可通过促进 c-Fos 基因表达而减弱 NF- κ B 活性,抑制促炎细胞因子表达^[16]。

炎性细胞浸润是炎症反应的重要特征,其中血管内皮细胞在炎性细胞迁移中具有重要作用。TGR5 亦表达于多种内皮细胞,肝窦内皮细胞 TGR5 激活可增强内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的活性,增加一氧化氮(nitric oxide, NO)产量,进而抑制黏附分子表达,减少单核细胞黏附及炎性细胞浸润^[17]。

三、TGR5 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心血管系统

疾病中常见的一种疾病,也是危害人类健康的常见病之一。AS 主要累及大中动脉,基本病变是动脉内膜的脂质沉积、内膜灶状纤维化、粥样斑块形成,致管壁变硬、管腔狭窄,并引起一系列继发性病变。AS 被认为是一种慢性炎性疾病,其中血管壁的慢性炎症反应是该病发生、发展过程中的核心因素,炎症反应不仅参与 AS 病变的形成过程,而且可引发血栓、斑块破裂等并发症,造成心肌梗死、脑卒中等严重后果。单核-吞噬细胞在 AS 形成发展中具有重要作用,并影响粥样斑块稳定性。在动脉粥样硬化中,损伤的血管内皮细胞分泌多种细胞因子,吸引单核细胞聚集、黏附内皮,并迁移进入内皮下间隙,转化为巨噬细胞,经其细胞表面的清道夫受体 A(scavenger receptor-A, SR-A)、CD36 等介导大量吞噬血管内膜下的氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, OX-LDL),吞噬大量 OX-LDL 的巨噬细胞随即转化为泡沫细胞,泡沫细胞最终坏死崩解,释放出粥样坏死物并在血管壁形成粥样斑块。

Pols 等^[18]用 TGR5 激动剂 INT-777 分别刺激 TGR5^{+/+}和 TGR5^{-/-}小鼠巨噬细胞,结果发现 TGR5 激活通过 cAMP 依赖的方式抑制 TGR5^{+/+}巨噬细胞内的 NF- κ B 转录活性,使 LPS 诱导的 TNF- α 、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、IL-6、IL-1 β 等促炎细胞因子表达水平下降。同时,TGR5^{+/+}小鼠巨噬细胞 SR-A、CD36 表达水平下降,对 OX-LDL 吞噬减少,从而减轻巨噬细胞脂质负荷,抑制其转化为泡沫细胞。进一步用添加 INT-777 的高脂饲料喂养 TGR5^{+/+}和 TGR5^{-/-}低密度脂蛋白受体缺陷小鼠,发现在 TGR5^{+/+}小鼠 INT-777 能减少斑块内的巨噬细胞数量及促炎细胞因子表达量,从而减轻小鼠动脉粥样硬化病变,而在 TGR5^{-/-}小鼠却没有这种作用。近期 Kida 等^[19]在小鼠体内的研究表明,腹腔注射 LPS 后肠系膜血管内皮细胞黏附分子表达水平升高,单核细胞黏附显著增多,而同时应用牛磺石胆酸后,黏附分子表达及单核细胞黏附明显受到抑制,且这种作用依赖于激活 TGR5 促进 NO 产生。综上所述,激活 TGR5 一方面能抑制单核细胞黏附于血管内皮,减少炎性细胞浸润,另一方面能通过诱导巨噬细胞内 cAMP 信号,减弱 NF- κ B 的转录活性,抑制促炎细胞因子表达,并减少巨噬细胞对 OX-LDL 的摄取,从而减轻 AS 病变。

四、TGR5 与代谢综合征

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是多种代

谢紊乱集于一身的症候群,包括肥胖、高血糖、高血脂、胰岛素抵抗、高血压等,这些代谢紊乱是 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 和非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 的主要危险因素。T2DM 和 NAFLD 都是严重威胁人类健康的代谢性疾病,尽管确切病因不明,但发现肥胖、糖脂代谢紊乱、胰岛素抵抗及机体炎症等是重要的危险因素。近年来的研究表明,肥胖和有关的代谢病理变化伴有的慢性低度炎症反应,通过产生过多的促炎细胞因子和急性期反应产物,激活炎症信号通路,不但可导致胰岛素抵抗,还直接参与动脉粥样硬化发生的全过程,故肥胖、T2DM 和 NAFLD 亦被认为是炎症疾病^[20]。单核-吞噬细胞 TGR5 激活不仅可通过抑制机体炎症反应改善 MS,在动物模型中 TGR5 激动剂还可通过多种机制改善肥胖、T2DM 及 NAFLD 症状^[21]。

肥胖、T2DM 及 NAFLD 患者存在胰岛素抵抗以及慢性炎症反应,单核-吞噬细胞 TGR5 激活不仅可通过抑制炎症反应,减轻胰岛素抵抗而缓解代谢症状。此外,肠道 TGR5 激活尚可促进肠内分泌 L 细胞分泌胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1) 而改善代谢症状,GLP-1 是一种肠降血糖素,可通过刺激 β 细胞分泌胰岛素、抑制胰高血糖素分泌、延缓胃排空、降低食欲、促进 β 细胞增殖及改善外周组织胰岛素敏感度等多种机制改善代谢症状。Thomas 等^[22]的研究表明,肠道内分泌 L 细胞 TGR5 激活使细胞内 cAMP 水平升高,可通过增强线粒体氧化磷酸化及钙内流而促进细胞分泌 GLP-1。予高脂诱导肥胖小鼠添加 TGR5 激动剂 INT-777 喂养 10 周,发现 TGR5 激活可减轻肥胖,减少肝脏脂质累积,预防脂肪肝变性纤维化。分别予高脂诱导肥胖及 db/db 糖尿病小鼠添加 INT-777 喂养,发现 INT-777 组小鼠空腹血糖及胰岛素水平降低,葡萄糖刺激的胰岛素分泌增加,糖耐量改善;在高脂诱导肥胖小鼠行正糖高胰岛素钳夹实验表明,INT-777 显著改善肝脏和骨骼肌胰岛素敏感度。对比 TGR5^{+/+} 和 TGR5^{-/-} 高脂诱导肥胖小鼠,发现 INT-77 显著改善 TGR5^{+/+} 小鼠糖耐量,而在 TGR5^{-/-} 小鼠这种作用消失。近期研究发现,胰岛 β 细胞亦存在 TGR5 受体,且其 TGR5 激活能促进胰岛素分泌,表明 TGR5 介导的信号通路尚可直接影响胰岛功能而改善糖代谢^[23]。

在棕色脂肪组织和骨骼肌中,TGR5 激活使细胞内 cAMP 升高,可通过激活 2 型脱碘酶 (type 2 iodo-

thyronine deiodinase, D2), 使甲状腺素 (T_4) 转化为活性更强的三碘甲状腺原氨酸 (T_3), 进而促进解偶联蛋白 (uncoupling protein, UCP) 表达, UCP 通过在电子传递链中消除质子梯度差而抑制 ATP 合成,增加机体基础代谢和能量消耗。Watanabe 等^[24]用高脂饲料添加胆酸喂养小鼠,发现胆酸组小鼠棕色脂肪组织 D2 及 UCP 表达水平增加,基础代谢及能量消耗增加,肥胖及胰岛素抵抗明显改善,且这种作用依赖 cAMP 和 D2 的存在。综上所述,在产热组织中 TGR5 激动剂尚可激活 TGR5-cAMP-D2-T3-UCP 信号通路促进能量代谢,从而缓解肥胖及胰岛素抵抗。

五、展 望

尽管已有较多研究表明,激活 TGR5 具有改善代谢免疫的作用,但对其功能及机制方面的认识尚有较多争议之处,如近期亦有研究表明激活单核细胞 TGR5 能促进机体炎症反应。相信随着对 TGR5 信号通路研究的深入,未来对 TGR5 在生理与病理方面的作用会有更完整的认识。在 TGR5 配体方面的研究,目前已发现多种 TGR5 激动剂,特别是特异性激动剂 INT-777,具有治疗代谢及炎症疾病的潜在应用价值,有望成为治疗动脉粥样硬化、肥胖、T2DM、NAFLD 等疾病的新药物,这也成为近年来药学中新药开发的研究热点之一。值得一提的是,日前对于 TGR5 的认识还不完整,尤其是 TGR5 在炎症反应中的作用,主要来自于对体外细胞的研究,尚需要更多的体内研究进一步明确。此外,研究发现 TGR5 在细胞增殖及凋亡方面也有作用,表明 TGR5 对肿瘤的发生、发展也可能有影响。因此,笔者对 TGR5 及其激动剂有可能存在的对机体的负面作用认识尚不足,需要更深入研究进一步明确。

参考文献

- 崔莲,舒秀明,林殷. 熊胆在明代以前的临床应用特点考探[J]. 中医药导报,2013(2):1-3
- Wang H, Chen J, Hollister K, *et al.* Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR[J]. *Mol Cell*, 1999, 3(5): 543-553
- Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, *et al.* Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR)[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 298(5): 714-719
- Stepanov V, Stankov K, Mikov M. The bile acid membrane receptor TGR5: a novel pharmacological target in metabolic, inflammatory and neoplastic disorders[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2013, 33(4): 213-223
- Hov JR, Keitel V, Laerdahl JK, *et al.* Mutational characterization of the bile acid receptor TGR5 in primary sclerosing cholangitis[J].

PLoS One, 2010, 5(8):e12403

- 6 Duboc H, Tache Y, Hofmann AF. The bile acid TGR5 membrane receptor: from basic research to clinical application[J]. Dig Liver Dis, 2014, 46(4):302–312
- 7 Kuipers F, Bloks VW, Groen AK. Beyond intestinal soap – bile acids in metabolic control[J]. Nat Rev Endocrinol, 2014, 10(8):488–498
- 8 Schaap FG, Trauner M, Jansen PL. Bile acid receptors as targets for drug development[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(1):55–67
- 9 Sato H, Genet C, Strehle A, *et al.* Anti – hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 362(4):793–798
- 10 Pellicciari R, Gioiello A, Macchiarulo A, *et al.* Discovery of 6alpha – ethyl – 23(S) – methylcholic acid (S – EMCA, INT – 777) as a potent and selective agonist for the TGR5 receptor, a novel target for diabetes[J]. J Med Chem, 2009, 52(24):7958–7961
- 11 Kawamata Y, Fujii R, Hosoya M, *et al.* A G protein – coupled receptor responsive to bile acids[J]. J Biol Chem, 2003, 278(11):9435–9440
- 12 Keitel V, Donner M, Winandy S, *et al.* Expression and function of the bile acid receptor TGR5 in Kupffer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 372(1):78–84
- 13 Hogenauer K, Arista L, Schmiedeberg N, *et al.* G – protein – coupled bile acid receptor 1 (GPBAR1, TGR5) agonists reduce the production of proinflammatory cytokines and stabilize the alternative macrophage phenotype[J]. J Med Chem, 2014, 57(24):10343–10354
- 14 Pols TW. TGR5 in inflammation and cardiovascular disease[J]. Biochem Soc Trans, 2014, 42(2):244–249
- 15 Haselow K, Bode JG, Wammers M, *et al.* Bile acids PKA – dependently induce a switch of the IL – 10/IL – 12 ratio and reduce proinflammatory capability of human macrophages[J]. J Leukoc Biol,

2013, 94(6):1253–1264

- 16 Yoneno K, Hisamatsu T, Shimamura K, *et al.* TGR5 signalling inhibits the production of pro – inflammatory cytokines by in vitro differentiated inflammatory and intestinal macrophages in Crohn’s disease[J]. Immunology, 2013, 139(1):19–29
- 17 Keitel V, Reinehr R, Gatsios P, *et al.* The G – protein coupled bile salt receptor TGR5 is expressed in liver sinusoidal endothelial cells[J]. Hepatology, 2007, 45(3):695–704
- 18 Pols TW, Nomura M, Harach T, *et al.* TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading[J]. Cell Metab, 2011, 14(6):747–757
- 19 Kida T, Tsubosaka Y, Hori M, *et al.* Bile acid receptor TGR5 agonism induces NO production and reduces monocyte adhesion in vascular endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(7):1663–1669
- 20 Saponaro C, Gaggini M, Gastaldelli A. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes: common pathophysiologic mechanisms[J]. Curr Diab Rep, 2015, 15(6):607
- 21 Ma H, Patti ME. Bile acids, obesity, and the metabolic syndrome[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2014, 28(4):573–583
- 22 Thomas C, Gioiello A, Noriega L, *et al.* TGR5 – mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis[J]. Cell Metab, 2009, 10(3):167–177
- 23 Kumar DP, Rajagopal S, Mahavadi S, *et al.* Activation of transmembrane bile acid receptor TGR5 stimulates insulin secretion in pancreatic beta cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 427(3):600–605
- 24 Watanabe M, Houten SM, Matak C, *et al.* Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation[J]. Nature, 2006, 439(7075):484–489

(收稿日期:2015–07–03)

(修回日期:2015–07–03)

(上接第 163 页)

- 7 朱男, 韩雅玲, 闫承慧, 等. 血管紧张素(1~7)在高盐高脂饮食诱导的代谢综合征小鼠肾脏损伤中的作用[J]. 解放军医学杂志, 2013, 38(10):787–791
- 8 Dilauro M, Burns KD. Angiotensin – (1–7) and its effects in the kidney[J]. Sci World J, 2009, 9:522–535
- 9 Joyner J, Neves LA, Granger JP, *et al.* Temporal – spatial expression of ANG – (1–7) and angiotensin – converting enzyme 2 in the kidney of normal and hypertensive pregnant rats[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007, 293(1):R169–177
- 10 Shi Y, Lo CS, Padda R, *et al.* Angiotensin – (1–7) prevents systemic hypertension, attenuates oxidative stress and tubulointerstitial fibrosis, and normalizes renal angiotensin – converting enzyme 2 and Mas receptor expression in diabetic mice[J]. Clin Sci: Lond, 2015, 128(10):649–663
- 11 Liu J, Mao W, Ding B, *et al.* ERKs/p53 signal transduction pathway is involved in doxorubicin – induced apoptosis in H9c2 cells and car-

diomyocytes[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 295(5):H1956–1965

- 12 Poizat C, Puri PL, Bai Y. *et al.* Phosphorylation – dependent degradation of p300 by doxorubicin – activated p38 mitogen – activated protein kinase in cardiac cells[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(7):2673–2687
- 13 Kim DS, Woo ER, Chae SW, *et al.* Plantainoside D protects adriamycin – induced apoptosis in H9c2 cardiac muscle cells via the inhibition of ROS generation and NF – kappa B activation[J]. Life Sci, 2007, 80(4):314–323
- 14 Yamagishi S, Takeuchi M. Telmisartan is a promising cardiometabolic sartan due to its unique PPAR – gamma – inducing property[J]. Med Hypoth, 2005, 64(3):476–478
- 15 Morrissey JJ, Klahr S. Effect of AT₂ receptor blockade on the pathogenesis of renal fibrosis[J]. Am J Physiol, 1999, 276(1):F39–F45

(收稿日期:2015–06–21)

(修回日期:2015–09–14)