

自噬在急性肾损伤中作用机制的研究进展

段 君 刘新艳

摘 要 急性肾损伤是一种肾功能在短期内快速下降的临床常见疾病,而其发病机制目前尚未完全明确。自噬是细胞受到外部损伤时为适应环境而进行自我降解的主动过程。已有众多研究报道了自噬在急性肾损伤发生、发展中发挥的重要作用及自噬参与的多条信号通路,并提出了治疗急性肾损伤的新靶点。其中大部分研究均认为自噬在急性肾损伤中能够通过多种信号通路发挥改善肾功能、抗炎、抗氧化应激、抗凋亡等保护作用,但也有研究认为过强的自噬导致了急性肾损伤的发生。本文对自噬在急性肾损伤中的作用机制进行综述,以提供急性肾损伤研究和治疗上的新思路。

关键词 急性肾损伤 自噬 机制

中图分类号 R692.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.02.039

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是一种临床常见的、威胁全球公共卫生安全的疾病,其临床特点是肾功能(肾小球滤过率)在短期内迅速降低,表现为血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)及肌酐(creatinine, Cr)水平的迅速升高。尽管大多数 AKI 患者经治疗后可在 1 个月内得到缓解,但仍有部分患者肾功能持续恶化,最终进入肾脏替代治疗阶段。据估算,全球每年约有 1300 万例新发 AKI 患者,并有约 1700 万例死于 AKI 相关疾病^[1]。而院内获得性 AKI 较社区获得性 AKI 发生率更高且预后更差,一项回顾了 312 个大型队列研究的系统 Meta 分析显示,住院期间 AKI 的综合发生率为成人 21.6%,儿童 33.7%,AKI 患者总病死率为成人 23.9%,儿童 13.8%^[2]。AKI 的常见危险因素分为肾前性、肾性及肾后性 3 种类型。主要包括血容量不足、药物、感染、手术、尿路梗阻等因素。有研究显示,缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)、炎症(inflammation)、自噬(autophagy)、凋亡在 AKI 的发病机制过程中发挥着重要作用^[3]。近年来,越来越多的研究关注到了自噬在 AKI 中发挥的重要作用,本文将对该内容进行综述。

一、自 噬

1963 年 Christian de Duve(溶酶体发现者)描述了在溶酶体内部存在细胞器的现象,并将该现象命名

为自噬,意即“自食(self-eating)”。1990 年后,随着大隅良典在酵母中发现了自噬相关基因(autophagy-related gene, ATG)及自噬相关蛋白,人们对自噬的研究兴趣逐渐增加。自噬是一种受到毒物、缺氧、感染、应激等外界环境改变时,机体为适应环境而进行的自我降解细胞器及高分子物质的主动过程^[4]。溶酶体介导的自噬可分为巨自噬、微自噬以及伴侣介导的自噬 3 种类型,其中巨自噬(即通常所指的自噬)研究最为普遍。在巨自噬过程中,损伤的蛋白质和细胞器被自噬小泡包裹,形成自噬小体,之后自噬小体与溶酶体融合,在溶酶体的作用下消化为低分子物质供机体继续利用。在上述过程中,自噬小体的形成需要多种蛋白复合体的共同参与:ULK1(unc-51 like kinase 1)复合体、Beclin-1 复合体、ATG9 和空泡膜蛋白 1(vacuolar membrane protein 1, VMP1)复合体以及 ATG12-ATG5-ATG16 蛋白复合体和微管相关蛋白 1 轻链 3-II(microtubule associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II)泛素样蛋白共轭系统。自噬小体组装完成后与溶酶体融合形成自噬溶酶体,但融合过程的详细机制仍未完全明确,目前已知脂滴相关 Rab 蛋白 7 可能通过标记自噬体参与了融合的过程^[5]。此外,自噬过程并不是盲目地包裹所有蛋白,而是在 p62 的标记作用下有选择的进行。

二、自噬在 AKI 中的作用机制

通过选择性敲除小鼠近端肾小管上皮细胞的 ATG7 基因,人们发现即便是正常饮食饲养情况下的小鼠,其肾小管细胞在缺失 ATG7 后 LC3 和 p62 蛋白发生聚积并且肾脏损伤分子 1(kidney injury molecule-1, KIM-1)表达也增加^[6],这提示自噬的缺失可以

基金项目:山西省自然科学基金资助项目(201901D000379)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第二临床医学院(段君);

030001 太原,山西医科大学第二医院肾内科(刘新艳)

通信作者:刘新艳,电子信箱:xinyanliu7011@163.com

导致肾脏的损伤。另一项研究通过在 IRI、顺铂诱导、单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 3 种 AKI 小鼠模型中敲低和过表达 Beclin - 1 发现, Beclin - 1 在 AKI 损伤后的肾脏功能恢复过程中具有重要意义, 而外源性注射 Beclin - 1 也可以减轻肾脏纤维化且有助于肾脏从 AKI 中恢复^[7]。由此可见自噬在 AKI 中发挥着至关重要作用。但自噬在 AKI 中的作用机制尚未完全明确, 本文以下内容将就这一问题进行阐述。

1. AMPK/mTOR 通路: 腺苷酸激活蛋白激酶 (AMP - activated protein kinase, AMPK) 是一种广泛存在于各种细胞及组织中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 主要受到 AMP/ATP 比值水平的调控^[8]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 也是细胞内的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 其主要在细胞生长增殖以及受到外界环境改变时做出反应中发挥作用^[9]。AMPK 和 mTOR 是两个主要的自噬调控分子。其中, mTOR 通过使 ULK1 复合体磷酸化抑制自噬的激活, 而 AMPK 通过抑制 mTOR 复合体 1 起到激活自噬的作用, 此外, AMPK 也可以直接与 ULK1 复合体结合来激活自噬^[9]。也就是说, AMPK 和 mTOR 在自噬的起始阶段分别发挥着正向和负向的作用, 二者共同调控着自噬的激活。有研究表明, 在金属铋诱导的 AKI 中, mTOR 复合体 1 的抑制剂雷帕霉素 (rapamycin, RAPA) 通过增强自噬水平可以降低受损小鼠血清 BUN 及 Cr 水平, 该过程中的自噬主要是由 AMPK/mTOR 通路来调控, 可以对 AKI 起到保护性作用^[10]。另外, 锌指 E - 盒结合同源异型盒蛋白 1 (Zinc - finger E - box - binding homeobox 1, ZEB1) 也可以通过 AMPK/mTOR 通路激活自噬从而减轻了盲肠穿孔所致的 AKI, 过表达 ZEB1 组大鼠的血清 BUN 及 Cr 均明显降低^[11]。这些研究均表明, AMPK/mTOR 通路通过调控自噬水平在 AKI 中发挥了重要作用。

2. PI_3K /Akt/mTOR 通路: 磷脂酰肌醇 3 - 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (phosphatidylinositol - 3 - kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin, PI_3K /Akt/mTOR) 也是一条调节自噬的重要通路, 其中 PI_3K 是细胞膜的组成成分, Akt 是 PI_3K 下游的直接信号分子, PI_3K 将 Akt 磷酸化后即可激活 mTOR, 从而发挥抑制自噬的作用^[12]。Zhao 等^[13]采用 LPS 构建大鼠 AKI 模型, 实验结果显示, 与对照组比较, 用右美托咪定预处理的大鼠在注射 LPS

后, BUN 及 Cr 水平、尿液中的 KIM - 1、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白 (neutrophil gelatinase - associated lipocalin, NGAL)、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 均有所下降。他们认为 LPS 可以通过激活 PI_3K /Akt/mTOR 通路抑制自噬体的形成, 从而导致受损的细胞器及高分子不能被及时清除, 之后 ROS 以及细胞色素 C 从受损细胞器中释放, 进而诱导氧化应激及凋亡的发生。而右美托咪定可以通过与肾上腺素能受体 α_2 结合来抑制 PI_3K /Akt/mTOR 通路, 进而增强自噬发挥其肾脏保护作用。这项研究也提示了右美托咪定在 AKI 治疗中的潜在价值, 但仍有待进一步的研究来证实。在顺铂诱导的 AKI 模型^[14]中, 顺铂在导致肾脏损伤的同时也激活了 Toll 样受体 2 (toll - like receptor 2, TLR2), 随后 TLR2 将 PI_3K /Akt 磷酸化来提高肾小管上皮细胞中的自噬水平, 从而在顺铂导致的 AKI 中起到保护肾脏的作用。而在敲除 TLR2 后保护作用则消失, 小鼠血清中 BUN 和 Cr 水平也较对照组明显升高。综上, 抑制 PI_3K /Akt/mTOR 通路可以上调自噬从而在 AKI 中发挥积极的保护作用, 进而缓解肾脏的受损情况。

3. SIRT6 家族: Sirtuins (SIRT6) 家族是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的组蛋白去乙酰酶的保守分子家族^[15]。SIRT6 在应激、新陈代谢以及衰老方面发挥重要作用, SIRT1 ~ 7 在哺乳动物中表达, 其中 SIRT3 ~ 5 定位于线粒体中^[16]。有报道称 SIRT3 在盲肠结扎穿刺术所诱导的 AKI 模型中可以发挥保护肾脏的作用, 具体机制为 SIRT3 通过对 AMPK/mTOR 通路的调控上调自噬水平进而减轻凋亡及炎性细胞因子在细胞内的聚积^[17]。此外, SIRT1 及其激动剂白藜芦醇在脓毒症诱导的 AKI 中可以通过使 Beclin - 1 以及 p53 去乙酰化而上调自噬水平来发挥保护作用^[18,19]。SIRT6 在 LPS 诱导的 AKI 中也可以发挥保护作用, 在 HK - 2 细胞中过表达 SIRT6 减轻了 LPS 所诱导的炎症及凋亡, 并且增强了自噬水平, 而敲除 SIRT6 后上述保护作用均消失^[20]。这些研究均证实了 SIRT 家族在 AKI 中可以通过增强自噬来发挥保护肾功能的作用。

4. 叉头转录因子 O 亚型家族: 叉头转录因子 O 亚型 (forkhead box class O transcription factors, FoxO) 是一种在自噬基因表达中发挥重要调控作用的转录因子家族, FoxO 可以通过转录和转录后调控以及表观遗传调控来调节自噬基因的转录活性, FoxO - 自噬轴在肝脏、肾脏以及大脑的稳态维持方面起着关键

作用^[21]。研究发现在 UUO 小鼠模型和低氧诱导的肾小管细胞损伤模型中,与对照组比较,损伤组的 FoxO3 和自噬相关基因及蛋白表达均增加,而敲除 FoxO3 后自噬水平明显下降。该研究证明在低氧诱导的肾小管损伤中 FoxO3 可以上调自噬表达,但对于 FoxO3 是如何被调控的仍未阐明^[22]。目前关于 FoxO - 自噬轴在 IRI、顺铂等 AKI 模型中的研究报道仍较少,FoxO - 自噬轴在 AKI 中的作用仍需要更多的研究来阐明。

5. 核转录因子 2:核转录因子 2(nuclear factor - erythroid 2 - related factor 2,Nrf2)是一种调控抗氧化应激的转录因子,在机体的抗氧化过程中起着重要作用^[23]。血红素氧合酶 1(heme oxygenase - 1,HO - 1)是 Nrf2 下游的信号分子。有研究表明,在肾脏的 IRI 中,夹闭肠系膜上动脉进行缺血后再适应可以激活 Nrf2/HO - 1 信号通路,随后发挥激活自噬流、抗炎以及抗氧化的作用^[24]。其中,实验组较对照组的血清 BUN、Cr 和 NGAL 均有所下降。这项研究提出了一个 AKI 损伤后新的干预措施,即进行肠系膜上动脉的缺血再灌注适应,但这项干预措施能否应用于临床仍需要进一步的深入研究。还有研究指出,原花青素 B2 可以促进 Nrf2 从胞质进入胞核中,使 HO - 1、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽等抗氧化物质表达增加,降低细胞 ROS 水平,增强线粒体自噬从而保护线粒体功能^[25]。综上所述,Nrf2/HO - 1 通路可以通过激活自噬发挥保护肾脏的功能。

6. TGF - β 活化激酶 1:TGF - β 活化激酶 1(TGF - β activated kinase 1,TAK1)是一种细胞内的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。其生物学功能主要是调控细胞的生长分化、自噬、凋亡和免疫炎症反应。Zhou 等^[26]研究发现,TAK1 在顺铂诱导的 AKI 中被激活,随后 TAK1 通过使 p38 和 ERK 磷酸化,激活自噬通路,过强的自噬反应导致了 AKI 的发生。该团队还发现小鼠在注射 TAK1 抑制剂后,较对照组血清 BUN 和 Cr 水平均有所下降。该项研究与其他证实自噬在 AKI 中具有保护作用的观点有所不同,该团队认为,顺铂诱导的 AKI 中过强的自噬水平是造成肾脏损伤的原因,当抑制 TAK1 从而抑制自噬通路后,小鼠的肾脏功能(血清 BUN 和 Cr 水平)均有所恢复。这也提示自噬在 AKI 中可能发挥的是一种“双刃剑”的作用。过强的自噬水平可能会导致 AKI 的发生,而一定水平内的自噬可以发挥保护作用。此外,这种两面作用也可能是由于实验条件、建模方法以及药物剂量

等因素所造成的。关于自噬在 AKI 中究竟是一种保护机制还是损伤的原因,仍需要更多的研究来证实。

7. PINK1/Parkin 通路和 HIF - 1 α /BNIP3 通路:PTEN 诱导激酶 1(PTEN - induced putative kinase,PINK1)/帕金森病相关基因(Parkin)通路是介导线粒体自噬的一种途径^[27]。在肾脏受到 IRI 及造影剂损伤后,PINK1/Parkin 通路被激活,之后自噬小体形成,对受损的线粒体进行降解,减少了 ROS 和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(nucleotide binding oligomerization domain - like receptor protein 3,NLRP3)炎症小体的形成,进而抑制其下游有活性的 caspase 以及白细胞介素的形成,减轻了细胞凋亡的发生,保护了肾小管细胞及肾脏功能。

低氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor - 1 α ,HIF - 1 α)/Bcl - 2/腺病毒 E1B 相互作用蛋白 3(Bcl - 2/adenovirus E1B interacting protein 3,BNIP3)通路也参与了线粒体自噬的过程。Fu 等^[28]研究表明,敲除 HIF - 1 α 使 IRI 处理的肾脏和缺氧复氧损伤处理的 HK - 2 细胞自噬表达减弱、凋亡及 ROS 表达增多,而过表达 HIF - 1 α 的下游分子 BNIP3 可使自噬增强、凋亡及 ROS 减弱,从而起到阻止肾脏受损的作用。该研究证实,在肾脏受到 IRI 后,使线粒体受损的同时也激活了 HIF - 1 α /BNIP3 介导的线粒体自噬信号通路,从而清除了受损线粒体,抑制了胞质内 ROS 的产生及细胞凋亡的发生,进而在 AKI 中起到保护肾脏的作用。所以,线粒体结构及功能的完整对于肾脏正常功能的保护有着重要意义。

三、展 望

综上所述,自噬是一种在细胞受到外界损伤时能够清除受损细胞器及蛋白的主动过程,在 AKI 中,自噬可以通过 AMPK/mTOR、PI₃K/Akt/mTOR、PINK1/Parkin、HIF - 1 α /BNIP3、SIRT、FoxO、Nrf2 以及 TAK1 等多种信号通路及蛋白分子发挥调控功能。大多数研究均认为自噬在 AKI 中能够发挥减轻肾脏损伤的保护作用,但也有研究认为过强的自噬是造成 AKI 的原因。因此,希望看到更多该方面内容的报道来进一步明确自噬在 AKI 中的作用。此外,笔者还希望看到更多基于调控自噬水平的药物在 AKI 方面的研究报道,这也能够为治疗 AKI 提供新的可能方向。

参考文献

- 1 Mehta RL, Cerdá J, Burdmann EA, *et al.* International society of nephrology's 0by25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology [J]. *Lancet*, 2015, 385(9987): 2616 - 2643

- 2 Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, *et al.* World incidence of AKI: a Meta – analysis [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2013, 8(9): 1482 – 1493
- 3 Gong L, Pan Q, Yang N. Autophagy and inflammation regulation in acute kidney injury [J]. Front Physiol, 2020, 11: 576463
- 4 Dikic I, Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(6): 349 – 364
- 5 Kaushal GP, Shah SV. Autophagy in acute kidney injury [J]. Kidney Int, 2016, 89(4): 779 – 791
- 6 Suzuki C, Tanida I, Oliva TJA, *et al.* Autophagy deficiency in renal proximal tubular cells leads to an increase in cellular injury and apoptosis under normal fed conditions [J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1): 155
- 7 Shi M, Maique J, Shepard S, *et al.* In vivo evidence for therapeutic applications of beclin 1 to promote recovery and inhibit fibrosis after acute kidney injury [J]. Kidney Int, 2022, 101(1): 63 – 78
- 8 Jiang S, Li T, Yang Z, *et al.* AMPK orchestrates an elaborate cascade protecting tissue from fibrosis and aging [J]. Ageing Res Rev, 2017, 38: 18 – 27
- 9 Wang Y, Liu Z, Shu S, *et al.* AMPK/mTOR signaling in autophagy regulation during cisplatin – induced acute kidney injury [J]. Front Physiol, 2020, 11: 619730
- 10 Liu Y, Yu H, Zhang X, *et al.* The protective role of autophagy in nephrotoxicity induced by bismuth nanoparticles through AMPK/mTOR pathway [J]. Nanotoxicol, 2018, 12(6): 586 – 601
- 11 Sun D, Liu X, Zhu L, *et al.* Zinc – finger E – box – binding homeobox 1 alleviates acute kidney injury by activating autophagy and the AMPK/mTOR pathway [J]. Mol Med Rep, 2021, 23(6): 443
- 12 Bahrami A, Khazaei M, Shahidsales S, *et al.* The therapeutic potential of PI₃K/Akt/mTOR inhibitors in breast cancer: rational and progress [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(1): 213 – 222
- 13 Zhao Y, Feng X, Li B, *et al.* Dexmedetomidine protects against lipopolysaccharide – induced acute kidney injury by enhancing autophagy through inhibition of the PI₃K/Akt/mTOR pathway [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 128
- 14 Shen Q, Zhang X, Li Q, *et al.* TLR2 protects cisplatin – induced acute kidney injury associated with autophagy via PI₃K/Akt signaling pathway [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 4366 – 4374
- 15 Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance [J]. Annu Rev Pathol, 2010, 5: 253 – 295
- 16 Lombard DB, Tishkoff DX, Bao J. Mitochondrial sirtuins in the regulation of mitochondrial activity and metabolic adaptation [J]. Handb Exp Pharmacol, 2011, 206: 163 – 188
- 17 Zhao W, Zhang L, Chen R, *et al.* SIRT3 protects against acute kidney injury via AMPK/mTOR – regulated autophagy [J]. Front Physiol, 2018, 9: 1526
- 18 Deng Z, Sun M, Wu J, *et al.* SIRT1 attenuates sepsis – induced acute kidney injury via Beclin1 deacetylation – mediated autophagy activation [J]. Cell Death & Disease, 2021, 12(2): 217
- 19 Sun M, Li J, Mao L, *et al.* p53 deacetylation alleviates sepsis – induced acute kidney injury by promoting autophagy [J]. Front Immunol, 2021, 12: 685523
- 20 Zhang Y, Wang L, Meng L, *et al.* Sirtuin 6 overexpression relieves sepsis – induced acute kidney injury by promoting autophagy [J]. Cell Cycle, 2019, 18(4): 425 – 436
- 21 Cheng Z. The FoxO – autophagy axis in health and disease [J]. Trends Endocrinol Metab, 2019, 30(9): 658 – 671
- 22 Li L, Zviti R, Ha C, *et al.* Forkhead box O3 (FoxO3) regulates kidney tubular autophagy following urinary tract obstruction [J]. J Biol Chem, 2017, 292(33): 13774 – 13783
- 23 Shokeir AA, Hussein AM, Barakat N, *et al.* Activation of nuclear factor erythroid 2 – related factor 2 (Nrf2) and Nrf – 2 – dependent genes by ischaemic pre – conditioning and post – conditioning: new adaptive endogenous protective responses against renal ischaemia/reperfusion injury [J]. Acta Physiol: Oxf, 2014, 210(2): 342 – 353
- 24 Chen R, Zeng Z, Zhang YY, *et al.* Ischemic postconditioning attenuates acute kidney injury following intestinal ischemia – reperfusion through Nrf2 – regulated autophagy, anti – oxidation, and anti – inflammation in mice [J]. FASEB J, 2020, 34(7): 8887 – 8901
- 25 Xing J, Liu CY, Liu ZJ, *et al.* Protection of procyanidin B2 on mitochondrial dynamics in sepsis associated acute kidney injury via promoting Nrf2 nuclear translocation [J]. Aging, 2020, 12(15): 15638 – 15655
- 26 Zhou J, Fan Y, Zhong J, *et al.* TAK1 mediates excessive autophagy via p38 and ERK in cisplatin – induced acute kidney injury [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(5): 2908 – 2921
- 27 Dai XG, Xu W, Li T, *et al.* Involvement of phosphatase and tensin homolog – induced putative kinase 1 – Parkin – mediated mitophagy in septic acute kidney injury [J]. Chin Med J, 2019, 132(19): 2340 – 2347
- 28 Fu ZJ, Wang ZY, Xu L, *et al.* HIF – 1alpha – BNIP3 – mediated mitophagy in tubular cells protects against renal ischemia/reperfusion injury [J]. Redox Biol, 2020, 36: 101671

(收稿日期: 2022 – 04 – 24)

(修回日期: 2022 – 05 – 22)