

## · 综述 ·

## 巨噬细胞与糖尿病肾病

李雅 王志斌 刘玮晔 仝令畅 李玲 张立超

**【摘要】** 糖尿病肾病是一种慢性炎症性疾病,而巨噬细胞是重要的炎性细胞,在糖尿病肾病的发生、发展中起重要作用。血液中的单核细胞在选择素、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及骨桥蛋白等细胞黏附分子或趋化因子作用下经历滚动、黏附、迁移等过程,浸润于肾组织而分化成巨噬细胞,体内持续高血糖等因素使其活化,释放转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-1、IL-6、IL-18等细胞因子,促进肾小球系膜细胞分泌细胞外基质及成纤维细胞增殖,引起系膜细胞外基质沉淀、肾小球硬化及间质纤维化等肾损伤,从而促进糖尿病肾病的发展。调控巨噬细胞的浸润与活化可能是防治糖尿病肾病的新途径。

**【关键词】** 巨噬细胞;糖尿病肾病;炎症

**Macrophages and diabetic nephropathy** Li Ya\*, Wang Zhibin, Liu Weiye, Tong Lingchang, Li Ling, Zhang Lichao. \* College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750000, China  
Corresponding author: Zhang Lichao, Email: changhaishkin@163.com

**【Abstract】** Diabetic nephropathy is a chronic inflammatory disease while macrophages are the key inflammatory cells and play important roles in the development and progression of diabetic nephropathy. The adhesion molecules or chemotactic factors, such as selectins, intercellular cell adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, monocyte chemotactic protein-1, and osteopontin, induce peripheral blood monocytes rolling, adhesion and migration to kidney. Then most of these monocytes differentiate into macrophages. Under the sustained hyperglycemia, the infiltrative macrophages are activated, and release some cytokines such as transforming growth factor- $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1, interleukin-6 and interleukin-18. These cytokines lead to the deposition of mesangial extracellular matrix, glomerular sclerosis and interstitial fibrosis through promoting the secretion of extracellular matrix from glomerular mesangial cells and the proliferation of fibroblast. Thus, the development of diabetic nephropathy is promoted. Regulating the infiltration and activation of macrophages may provide a new therapeutic approach for diabetic nephropathy.

**【Key words】** Macrophages; Diabetic nephropathy; Inflammation

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34:393-396)

糖尿病肾病是糖尿病患者最主要的致死性微血管并发症之一,是导致终末期肾功能衰竭的常见病因。糖尿病肾病的确切发病机制至今尚不完全清楚。除糖代谢及脂代谢紊乱、肾小球血流动力学改变、氧化应激、细胞因子及遗传易感性等因素共同介导糖尿病肾病的发生及发展外,近年来研究发现炎症反应在糖尿病肾病的发生、发展中也起了重要作

用。巨噬细胞是炎症反应中主要的调节细胞。巨噬细胞在肾组织广泛浸润是糖尿病肾病进展的重要组织学特点,与间质纤维化、新月体形成等肾脏组织学损害、白蛋白尿程度及肾功能衰退密切相关。因此,巨噬细胞在糖尿病肾病发生、发展中的重要作用受到越来越多的关注。

### 1 巨噬细胞与糖尿病肾病的相关性

单核-巨噬细胞是重要的自体免疫细胞,包括骨髓中的前单核细胞、外周血中的单核细胞以及组织内的巨噬细胞。血液中的单核细胞随血流进入肝、肺、脾、淋巴结及全身结缔组织中,分化成巨噬细胞,参与机体的非特异性和特异性免疫反应。

早在 20 世纪 70 年代,有研究者利用电镜在新

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2014.06.009

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81402941)

作者单位:750000 银川,宁夏医科大学药学院(李雅);200433 上海,第二军医大学药学院药理教研室(李雅,王志斌,刘玮晔,仝令畅,李玲);200137 上海市第七人民医院(李雅,张立超)

通信作者:张立超,Email:changhaishkin@163.com

月体肾炎兔模型的肾小球内观察到巨噬细胞。随后,有文献报道在肾炎等原发性肾小球疾病患者的肾小球内有大量巨噬细胞浸润,而且巨噬细胞的浸润程度与白蛋白尿、肾功能、肾小球及小管-间质损伤密切相关。1993 年, Furuta 等对 28 例非胰岛素依赖型糖尿病性肾小球硬化症患者肾活检后发现,巨噬细胞在肾小球硬化发展中的浸润量较早期和晚期多,并造成不可逆性肾小球结构损伤。此后,大量临床与动物实验研究发现,几乎所有的糖尿病肾病患者或动物肾组织内均伴有不同程度的巨噬细胞浸润,并可能参与白蛋白尿形成、小管-间质损伤以及肾功能下降等过程,从而促进糖尿病肾病的发展。2004 年, Chow 等发现巨噬细胞在 8 月龄 db/db 糖尿病小鼠的肾小球和间质的浸润数量分别是对照组小鼠的 7 倍和 3 倍,且浸润数量与高血糖严重程度、白蛋白尿程度、肾功能(血肌酐)以及肾纤维化(肌成纤维细胞数量与 IV 型胶原沉积)的进展程度成显著正相关,表明糖尿病肾病的进展与肾脏巨噬细胞浸润增加有关。随后, Nguyen 等<sup>[1]</sup>连续 5 年对 20 例糖尿病肾病患者进行临床诊断和肾组织学检查发现,患者肾组织中巨噬细胞浸润量与血肌酐水平、白蛋白尿及间质纤维化程度呈正相关,表明肾组织中巨噬细胞浸润量增加与肾功能的下降密切相关。最近,有研究者连续 6 周每周给予链脲佐菌素诱导的 CD11b-DTR 糖尿病小鼠腹腔注射 25 ng/g 白喉毒素剔除小鼠肾组织内巨噬细胞后发现,小鼠的血肌酐浓度、白蛋白尿程度及肾小球的组织学改变程度较对照组均明显降低,说明巨噬细胞直接参与或促进糖尿病肾病的发展<sup>[2]</sup>。总之,这些研究结果均提示巨噬细胞在人和动物糖尿病肾病发展过程中具有重要作用。

## 2 巨噬细胞在糖尿病肾病发展中的作用机制

### 2.1 巨噬细胞浸润过程及其对肾损伤的作用机制

巨噬细胞由多种细胞黏附分子和趋化因子介导而浸润于炎症反应组织,主要经历滚动、黏附、迁移等过程。具体介绍如下。

(1)滚动:单核细胞在肾血管内皮表面滚动是巨噬细胞浸润的第一步,该过程主要由选择素介导。选择素是细胞黏附分子中的一个家族,由 P-选择素、L-选择素、E-选择素构成,参与单核细胞与血管内皮细胞之间的识别和黏附。炎症反应环境下,单核细胞高度表达 P-选择素糖蛋白配体-1、CD15s 等选择素配体,与肾血管内皮细胞表面 P-选择素、E-选择素相结合,促进单核细胞在肾血管内皮表面

滚动,有利于单核细胞黏附<sup>[3]</sup>。检测 80 例 2 型糖尿病患者的白蛋白尿程度、血肌酐及 P-选择素的表达量发现,患者血浆中 P-选择素表达水平显著升高,约为健康对照者的两倍,其促进巨噬细胞黏附于肾组织血管内皮细胞进而介导炎症反应,并与糖尿病肾病的严重程度呈正相关<sup>[4]</sup>。最近, Tang 等<sup>[5]</sup>对 90 例糖尿病肾病患者治疗 52 周后发现,药物治疗组患者血清 E-选择素水平明显低于安慰剂组,并且血清 E-选择素与血肌酐水平、白蛋白尿程度呈正相关,提示 E-选择素可作为评价糖尿病肾病发展程度的检测指标。

(2)黏附:单核细胞黏附于肾血管内皮表面是巨噬细胞浸润的重要步骤,主要由细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)介导。ICAM-1 和 VCAM-1 均可促进单核细胞的黏附,以便进一步浸润于肾组织。ICAM-1 主要由肾小球内皮细胞、上皮细胞和系膜细胞分泌,而 VCAM-1 由肾小球内皮细胞和平滑肌细胞分泌<sup>[3]</sup>。

在糖尿病患者体内,持续高血糖引起体内多种蛋白质非酶糖基化并由此形成晚期糖基化终末产物。在体外培养人肾小球内皮细胞实验中,高糖和晚期糖基化终末产物刺激后 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达量均明显增加。有研究证实,在健康兔体内连续每天 16 mg/kg 静脉注射晚期糖基化终末产物 4 个月,肾动脉血管内皮 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达增加。另外,糖尿病患者肾病变初期常伴随肾小球高滤过,导致肾小球内皮细胞表面剪应力增加,也可促进 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达。随着糖尿病肾病的发展,一些肾内细胞被激活或受损,释放白细胞介素-1(IL)-1、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  等炎症反应因子,增加 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,促进单核细胞黏附于肾小管内皮。

(3)迁移:单核细胞穿越肾血管内皮进入肾实质是巨噬细胞浸润的关键,是在单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和骨桥蛋白等趋化因子的作用下进行。MCP-1 由肾小球系膜细胞、足细胞及肾小管细胞等多种细胞产生,主要功能是趋化和激活单核细胞迁移至肾组织,进一步参与炎症反应。趋化因子受体 2 是位于单核细胞表面的 MCP-1 受体,二者结合后,促使单核细胞穿越肾小管内皮迁移至小管间质。骨桥蛋白则主要是通过通过与单核细胞表面整合素受体结合,促进单核细胞的迁移<sup>[6-7]</sup>。

有研究证实,在伴有白蛋白尿的糖尿病患者体内,肾、血浆、尿液中 MCP-1 和骨桥蛋白的表达水平

显著升高。其中,患者血浆中骨桥蛋白和尿液中 MCP-1 的表达量与糖尿病肾病的进展呈正相关,可作为评价糖尿病肾病患者肾组织中巨噬细胞聚集水平的标记物<sup>[6-8]</sup>。在体外培养肾小管细胞实验中,高糖和晚期糖基化终末产物刺激后 MCP-1 表达量增加,高糖和血管紧张素 II 刺激后骨桥蛋白表达量增加<sup>[8]</sup>。有研究报道,连续 9 周给予 6 周龄糖尿病 db/db 小鼠 2 mg/(kg·d) 的趋化因子受体 2 拮抗剂 RS102895 后,免疫组织化学结果显示巨噬细胞在小鼠肾小球的浸润和炎性反应明显减轻<sup>[9]</sup>。另外, Nicholas 等<sup>[10]</sup>采用单剂量腹腔注射 2.5 mg/kg 链脲佐菌素诱导小鼠糖尿病肾病 12 周后发现,基因敲除小鼠肾间质巨噬细胞浸润程度较对照组明显降低,且糖尿病肾病发展进程明显减慢,提示骨桥蛋白可通过影响巨噬细胞的浸润而延缓糖尿病肾病的发展。

巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)主要存在于骨髓腔内,对单核细胞的增殖、分化及维持其活性有重要作用。在糖尿病患者体内,肾小球内皮细胞、系膜细胞和肾小管平滑肌细胞分泌 M-CSF,识别 M-CSF 受体后导致巨噬细胞增殖,促进巨噬细胞在肾组织的浸润<sup>[11]</sup>。有文献报道,对 118 例肾小球肾炎患者进行肾组织活检后,分别采用 M-CSF 抗体和 Ki67、增殖细胞核抗原抗体作为 M-CSF 蛋白和巨噬细胞增殖标记物进行分析发现,在受损严重的肾小球、小管间质及新月体有大量巨噬细胞增殖、浸润和 M-CSF 表达,二者在肾小球和小管间质的分布显著相关,说明肾内细胞分泌 M-CSF 可能通过调节巨噬细胞增殖而促进炎性反应的发展。有研究报道,连续 6 周每隔 1 天给予已出现白蛋白尿的糖尿病 db/db 小鼠腹腔注射 25 mg/kg 的 M-CSF 受体抗体 AFS98,结果显示巨噬细胞在肾小球和小管间质的浸润量较对照组减少,肾组织的炎性反应损伤明显降低<sup>[12]</sup>。

此外,巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是活化的 T 淋巴细胞分泌的一种可溶性细胞因子,对巨噬细胞的黏附、迁移、吞噬起促进作用。Watanabe 等<sup>[13]</sup>检测到 2 型糖尿病 db/db 小鼠肾小球和尿液中 MIF 的表达量均有增加,免疫组化结果显示 MIF 受体 CD74 在肾小管细胞和足细胞的表达量较正常组高,MIF 与 CD74 结合促进巨噬细胞浸润并参与炎性反应,引起肾小管细胞和足细胞受损,导致白蛋白尿的形成,从而促进糖尿病肾病的发展。

**2.2 巨噬细胞的活化促进肾损伤** 在糖尿病患者体内,持续高血糖促使肾小球上皮细胞、系膜细胞及

近端小管上皮细胞对葡萄糖的摄取增加,启动机体氧化应激机制,激活肾组织中浸润的巨噬细胞内辅酶 II,使其产生过多的活性氧簇,引起巨噬细胞内氧化应激反应,导致巨噬细胞活化<sup>[14-15]</sup>。有研究检测链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠第 0,1,4,12 及 24 周后肾组织中巨噬细胞活化标志物——CD169 的表达量发现,从第 4 周起 CD169 的表达量不断增加,并与系膜细胞外基质沉淀及白蛋白尿程度呈正相关,从而证实活化的巨噬细胞可促进糖尿病肾病的发展<sup>[16]</sup>。

此外,在糖尿病患者体内,持续高血糖导致血液动力学发生改变,激活交感神经系统,升高血压,增加肾素-血管紧张素-醛固酮系统活性,促进内皮素-1、血管紧张素 II 等活性物质的释放,与巨噬细胞表面相应的受体结合促使巨噬细胞活化<sup>[17]</sup>。有文献报道,给予 10 周龄雄性兔子 40 mg/kg 的链脲佐菌素后,次日在治疗组的肾被膜下植入溶有 0.5 mg 血管紧张素 II 受体阻断剂——缬沙坦的胶原蛋白海绵,21 d 后发现治疗组肾小球的巨噬细胞浸润量明显低于对照组,有效地延缓了糖尿病肾病的发展<sup>[17]</sup>。

**2.3 巨噬细胞释放细胞因子诱导肾损伤** 巨噬细胞活化后,激活蛋白激酶 C、p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、p42/p44 MAPK、核因子- $\kappa$ B 等信号通路,释放转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ ),TNF- $\alpha$ ,IL-1,IL-6,IL-18 等细胞因子,直接或间接作用于肾小球内皮细胞、系膜细胞、上皮细胞及近端小管上皮细胞,导致这些细胞损伤或坏死,从而促进糖尿病肾病的发展。

TGF- $\beta$  在肾脏中主要由肾小球内皮细胞、系膜细胞及上皮细胞分泌,活化的巨噬细胞也可产生 TGF- $\beta$ ;而 TNF- $\alpha$  主要由活化的巨噬细胞产生,肾小球系膜细胞、内皮细胞、小管间质细胞等肾组织内细胞也可少量分泌 TNF- $\alpha$ 。TNF- $\alpha$  可促进成纤维细胞的生长,加快肾间质纤维化的形成<sup>[18]</sup>。TGF- $\beta$  可通过对血小板衍生因子基因转录的调节,促进成纤维细胞的产生,使其分泌大量的胶原蛋白、纤连蛋白等物质,导致肾小球硬化及间质纤维化。Gilbert 等<sup>[19]</sup>连续 16 周给予链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠 200 mg/(kg·d) 的 TGF- $\beta$  抑制剂 FT011 后发现,与未给药的对照组小鼠相比,其血清 TGF- $\beta$  的表达量明显降低,巨噬细胞在肾间质的浸润量减少,小管间质纤维化及肾小球硬化的发展进程明显减慢。

IL-1 主要由浸润的巨噬细胞产生,可促进 E-选

择素、ICAM-1、VCAM-1 及 MCP-1 的表达,刺激肾小球系膜细胞和成纤维细胞的增殖,促进系膜细胞外基质沉淀,还可使肾小球内皮细胞通透性增加,改变肾小球血流动力学状态,促进白蛋白尿的形成。有研究通过 IL-1 受体拮抗剂刺激兔骨髓源巨噬细胞(在含有糖尿病兔血清的培养基中培养),证实 IL-1 受体拮抗剂可减缓成纤维细胞的增殖速度,延缓肾间质纤维化的进程<sup>[20]</sup>。

IL-6 在肾脏中主要由浸润的巨噬细胞产生,在肾小球系膜、肾小管及小管间质都有分布,可促进肾小球系膜细胞增殖和纤连蛋白的表达,加快肾系膜基质沉积速度,导致肾小球的硬化和肥大;可改变肾小球内皮细胞的通透性,促进白蛋白尿的形成<sup>[1,21]</sup>。

IL-18 在肾脏中主要表达于浸润的巨噬细胞,在肾小球上皮细胞及近端小管上皮细胞少量表达,可上调 ICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 等因子的表达水平,并诱导肾小球内皮细胞凋亡<sup>[3,20]</sup>。

### 3 展望

目前,有研究应用 MCP-1 受体阻断剂及免疫抑制治疗 2 型糖尿病动物模型,发现肾组织巨噬细胞浸润数量减少,从而减缓肾损伤。此外,经动物实验证实循环系统药物西立伐他汀、血管紧张素 II 受体阻断剂缬沙坦等也可减少肾组织巨噬细胞的浸润数量而延缓糖尿病肾病的发展。总之,深入研究巨噬细胞在糖尿病肾病发生、发展中的作用及机制,可能对糖尿病肾病的防治提供新的思路。

### 参 考 文 献

- [1] Nguyen D, Ping F, Mu W, et al. Macrophage accumulation in human progressive diabetic nephropathy [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2006, 11(3): 226-231.
- [2] You H, Gao T, Cooper TK, et al. Macrophages directly mediate diabetic renal injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(12): F1719-F1727.
- [3] Navarro-González JF, Mora-Fernández C, Muros de Fuentes M, et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 7(6): 327-340.
- [4] Wang F, Xing T, Wang N, et al. Clinical significance of plasma CD146 and P-selectin in patients with type 2 diabetic nephropathy [J]. *Cytokine*, 2012, 57(1): 127-129.
- [5] Tang WH, Lin FH, Lee CH, et al. Cilostazol effectively attenuates deterioration of albuminuria in patients with type 2 diabetes: a randomized, placebo-controlled trial [J]. *Endocrine*, 2014, 45(2): 293-301.
- [6] Nagao T, Okura T, Irita J, et al. Osteopontin plays a critical role in interstitial fibrosis but not glomerular sclerosis in diabetic nephropathy [J]. *Nephron Extra*, 2012, 2(1): 87-103.
- [7] Wang JC, Zhao Y, Chen SJ, et al. AOPPs induce MCP-1 expression by increasing ROS-mediated activation of the NF- $\kappa$ B pathway in rat mesangial cells: inhibition by sesquiterpene lactones [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(6): 1867-1877.
- [8] Sasai Y, Iwakawa K, Yanagida K, et al. Advanced glycation end-products stimulate renal epithelial cells to release chemokines that recruit macrophages, leading to renal fibrosis [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2012, 76(9): 1741-1745.
- [9] Seok SJ, Lee ES, Kim GT, et al. Blockade of CCL2/CCR2 signalling ameliorates diabetic nephropathy in db/db mice [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(7): 1700-1710.
- [10] Nicholas SB, Liu J, Kim J, et al. Critical role for osteopontin in diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(7): 588-600.
- [11] Choi HK, Kim TH, Jhon GJ, et al. Reactive Oxygen species regulate M-CSF-induced monocyte/macrophage proliferation through SHP1 oxidation [J]. *Cell Signal*, 2011, 23(10): 1633-1639.
- [12] Lim AK, Ma FY, Nikolic-Paterson DJ, et al. Antibody blockade of c-fms suppresses the progression of inflammation and injury in early diabetic nephropathy in obese db/db mice [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(8): 1669-1679.
- [13] Watanabe T, Tomioka NH, Doshi M, et al. Macrophage migration inhibitory factor is a possible candidate for the induction of microalbuminuria in diabetic db/db mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(5): 741-747.
- [14] Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes [J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1446-1454.
- [15] Wang Z, Wei M, Wang M, et al. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor reduces diabetic nephropathy in type II diabetes mice [J]. *Inflammation*, 2014, 37(3): 847-858.
- [16] Nagase R, Kajitani N, Shikata K, et al. Phenotypic change of macrophages in the progression of diabetic nephropathy; sialoadhesin-positive activated macrophages are increased in diabetic kidney [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2012, 16(5): 739-748.
- [17] Kamal F, Yanakieva-Georgieva N, Piao H, et al. Local delivery of angiotensin II receptor blockers into the kidney passively attenuates inflammatory reactions during the early phases of streptozotocin-induced diabetic nephropathy through inhibition of calpain activity [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2010, 115(3): e69-e79.
- [18] Fernández-Real JM, Vendrell J, García I, et al. Structural damage in diabetic nephropathy is associated with TNF- $\alpha$  system activity [J]. *Acta Diabetol*, 2012, 49(4): 301-305.
- [19] Gilbert RE, Zhang Y, Williams SJ, et al. A purpose-synthesised anti-fibrotic agent attenuates experimental kidney diseases in the rat [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47160.
- [20] Ota T, Takamura T, Ando H, et al. Preventive effect of cerivastatin on diabetic nephropathy through suppression of glomerular macrophage recruitment in a rat model [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(6): 843-851.
- [21] Shalbaya S, Amer H, Seddik S, et al. Study of the role of interleukin-6 and highly sensitive C-reactive protein in diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2012, 16(2): 176-182.

(收稿日期: 2014-06-12)