

## Epac-Rap1 与糖尿病肾病

任慧雯 王秋月

**【摘要】** Epac-Rap1 通路是蛋白激酶 A 经典通路以外 cAMP 重要的效应通路,它在肾脏中的广泛表达,能够增强肾脏血管内皮细胞的屏障功能,影响细胞的连接、黏附和迁移,对肾脏的生理活动起到不可或缺的作用。近年研究表明,Epac-Rap1 信号通路激活下游信号级联系统,通过促进细胞肥大、介导肾间质纤维化、上调炎性反应细胞因子的表达,促进糖尿病肾病的病理生理改变。相关研究为理解糖尿病肾病状态下 Epac-Rap1 通路的作用拓宽了视野,有助于发现分子水平治疗糖尿病肾病的新靶点。

**【关键词】** 糖尿病肾病; Epac; Rap1

**Epac-Rap1 and diabetic nephropathy** Ren Huiwen, Wang Qiuyue. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital, Chinese Medical University, Shenyang 110001, China  
Corresponding author: Wang Qiuyue, Email: wqycmu@163.com

**【Abstract】** Epac-Rap1 pathway is a vital signal pathway of cAMP apart from classic protein kinase A pathway, and its widely expression in kidney enhances the barrier function of renal vascular endothelial cells and affects cell connection, adhesion and migration, which plays a vital role in the physiological activity of the kidney. Recent studies have found that Epac-Rap1 signaling pathway, which activates downstream signaling cascade systems, plays a significant role in the pathophysiology of diabetic nephropathy by promoting cell hypertrophy, mediating renal interstitial fibrosis and up-regulating the expression of inflammatory cytokines. Related studies have broadened our understanding of Epac-Rap1 pathway and its function in diabetic nephropathy, which is helpful to find out a new target in the molecular level for the treatment of diabetic nephropathy.

**【Key words】** Diabetic nephropathy; Epac; Rap1

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35: 170-172)

糖尿病肾病(DN)是终末期肾病的主要原因,也是糖尿病微血管病变的重要并发症之一。cAMP 作为细胞的第二信使,对 DN 的调节具有广泛而重要的生理作用。既往观点认为蛋白激酶 A(PKA)是 cAMP 的唯一效应分子。但近年研究发现, cAMP 的另一效应分子(Exchange proteins directly activated by cAMP, Epac)可以活化小分子 G 蛋白酶 Rap1,使其与下游效应分子结合,参与调节多种生理过程。加之 Epac 在肾组织的高表达性,此通路可能对 DN 的发病机制起到一定的作用。本文将对 Epac-Rap1 通路与 DN 的关系进行综述。

### 1 Epac-Rap1 通路简介

Epac 是由 cAMP 直接激活的鸟嘌呤核苷酸交换因子。它的两种形式 Epac1 和 Epac2,在真核细胞中分别由 RAPGEF3 和 RAPGEF4 编码,在肾脏均有

广泛而高度的表达<sup>[1]</sup>。Epac 能够独立激活 cAMP 的信号转导通路,发挥生理作用<sup>[2]</sup>。Ras 样小分子 GTP 酶 Rap1 具有 Rap1a 和 Rap1b 两种亚型,作为 Epac 的“分子开关”,在 Epac 和 GTP 酶激活蛋白分别催化下, Rap1 循环于活性状态 Rap1-GTP 和非活性状态 Rap1-GDP 两种形式,激活下游效应分子,介导细胞各种生理反应<sup>[1,3]</sup>。Epac-Rap1 信号通路是 cAMP-PKA 经典途径以外的新级联信号途径, cAMP 的区室化作用使其能够参与多种细胞反应,如细胞增殖、细胞分化、整合素介导的细胞黏附、细胞连接形成、细胞分泌、钙离子流入与流出、心肌肥大和细胞凋亡等<sup>[4-8]</sup>。

### 2 Epac-Rap1 在肾脏中的生理作用

**2.1 增强血管内皮细胞的屏障功能** 肾小球内皮细胞具有维持肾小球毛细血管功能完整,调节肾小球滤过系统的血流动力学平衡的功能。研究表明, Epac 是 cAMP 增强血管内皮细胞屏障功能的关键媒介<sup>[9]</sup>。干扰素- $\beta$  可激活 Rap1,显著增强体外培养的肾小球内皮细胞的屏障功能,而 Rap1 抑制剂显著降低干扰素- $\beta$  介导的这种效果<sup>[10]</sup>。由此推测, Epac-Rap1 通路在肾小球内皮细胞中的调节机制可

能参与多种肾脏疾病的蛋白尿形成,但 Epac 与肾小球内皮细胞屏障功能的关系仍有待研究<sup>[11]</sup>。

**2.2 影响细胞的连接、黏附和迁移** 研究发现, Rap1 在鸟嘌呤核苷酸释放蛋白 C3G 和 PDZ 结构域的鸟嘌呤核苷酸交换因子的介导下,对血管细胞-细胞的连接有重要作用,并参与整合素介导的细胞黏附<sup>[5]</sup>。在大鼠肾小球系膜细胞中,鸟嘌呤交换因子 C3G 的过表达可以增加 Rap1 的活化,刺激内皮素-1 和应力纤维形成,影响系膜细胞的迁移,表明 C3G-Rap1 可能与缓解系膜增生有关<sup>[12]</sup>。C3G 在抗基底膜型肾小球肾炎模型中过表达,并调节肾小球上皮细胞的形态和行为<sup>[13]</sup>。胰岛素样生长因子-1 可以通过 C3G-Rap1-Fascin 蛋白-肌动蛋白轴促进细胞运动,由此发现基础水平的 Rap1 维持细胞的黏附,而胰岛素样生长因子-1 受体对 C3G 和 GTP 酶激活蛋白的调节可将 Rap1 的功能从维持黏附转到促进迁移,但此机制是否与新月体的形成有关仍有待研究<sup>[5]</sup>。

### 3 Epac-Rap1 在 DN 中的作用

**3.1 细胞肥大** 细胞肥大是 DN 间质纤维化早期的重要步骤,是 DN 前期的主要表现<sup>[14]</sup>。研究表明在心肌细胞中,Epac 可激活 Ras 介导  $\beta$  肾上腺素能受体,导致细胞肥大,该作用独立于 PKA 经典效应<sup>[15]</sup>。另有研究发现,Epac1 的表达主要局限于糖尿病小鼠 HK-2 细胞、肾小管上皮细胞和肾髓质 mIMCD3 细胞系。Sun 等<sup>[16]</sup>观察到高糖环境下的 HK-2 细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期比例增加,而转染 Epac1-siRNA 或 Epac1 突变的细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 的比例降低,接近于基础水平,此高糖作用的效果与低糖情况下转染 cAMP 类似物 8-pCPT-2 或 Epac1 cDNA 的效果类似,从而表明肥大反应和 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞周期阻滞可能是相通的。他们还发现高糖环境导致磷酸化蛋白激酶 B 表达增加,其中可检测到 p21 基因和 p27 基因表达增加,细胞周期依赖性激酶-4 的活性在低糖状态下也可以被 cAMP 类似物 8-pCPT-2 或 Epac1 cDNA 转染模仿,表明高糖环境诱导的信号通路可能与 cAMP 刺激的心肌肥大的信号通路相似。由此可见高糖可以增加 Epac1 转录,导致细胞周期停滞和细胞肥大。

**3.2 间质纤维化** 肾间质纤维化是引起进行性肾损害的主要病理特征,也是导致终末期肾病的根本病理改变之一<sup>[14]</sup>。已证实在大鼠心肌成纤维细胞的核周和核区域,磷酸二酯酶 1A 介导调控 cAMP-Epac-Rap1 信号,参与胶原蛋白的合成<sup>[17]</sup>。在小鼠肾小球系膜细胞 MES-13 中,血管紧张素 II 可以抑制胶原蛋白合成,这种机制可分别被血管紧张素 II 1 型受体抑

制剂、磷脂酰肌醇 3 激酶抑制剂、蛋白激酶 B 抑制剂或蛋白激酶 B 负显性突变抑制。Epac 类似物 8-pHPT-2'-O-Me-cAMP 显著升高磷脂酰肌醇 3 激酶活性,而 PKA 类似物则无此现象。其机制是通过血管紧张素 II/血管紧张素 II 1 型受体-表皮生长因子受体-磷脂酰肌醇 3 激酶通路介导系膜基质中胶原蛋白的合成,这种转录是依赖于 cAMP/Epac 而非 PKA 的<sup>[18]</sup>。研究发现,在糖尿病小鼠的肾组织中 Rap1b 的表达上调,且上调的 Rap1b mRNA 表达程度与血糖水平成正比,表明其可能与 DN 有关<sup>[19]</sup>。糖尿病大鼠肾小球系膜基质中 Rap1b 的表达呈血糖剂量依赖性,这种效果可由蛋白激酶 C 和 B-Raf 介导,但不依赖血小板衍生生长因子,并且可刺激纤连蛋白的合成,表明了高糖通过一种新的蛋白激酶 C-Rap1b-B-Raf 途径增加系膜基质的合成,而系膜基质合成则是 DN 的一个标志,但 Epac 是否参与其中尚有待研究<sup>[20]</sup>。

**3.3 炎症反应细胞因子** DN 是一种慢性进展性炎症性疾病,炎症反应是 DN 持续发展的关键因素<sup>[14]</sup>。研究发现在肾小管细胞系的 LLC-PK1 细胞中,血管紧张素 II 通过鸟嘌呤交换因子(Epac1-Rap1a-NHE3)参与肾小管细胞炎症细胞因子(如白细胞介素-1 $\beta$ 、白细胞介素-6、白细胞介素-8 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ )的上调。此 Epac1-Rap1a-NHE3 途径的划分突出了血管紧张素 II 对炎症细胞因子的诱导,可能与各种肾脏疾病相关的肾小管间质病理学有一定的关系<sup>[21]</sup>。该信息可为 DN 等肾小管间质炎症性疾病制定早期诊疗策略,但该途径如何调节转录、翻译以及转录后的下游分子将是未来研究的课题。

### 4 结语

Epac-Rap1 通路作为被 cAMP 激活的新途径,在介导肾小球滤过的屏障功能和影响细胞的连接、黏附和迁移等方面,对调节肾脏的生理功能具有重要作用。Epac-Rap1 通路介导不同的信号转导通路,使细胞周期停滞进而肥大,介导系膜基质增多引起肾间质纤维化,使炎症反应因子表达上调引起炎症反应,从而参与 DN 的病理生理过程。虽然 Epac-Rap1 通路的具体分子机制仍有待进一步研究和扩展,但相信随着对 Epac-Rap1 通路 with DN 相关性的不断研究,它可能成为 DN 药物治疗的一个新靶点。

### 参 考 文 献

- [1] Bos JL. Epac: a new cAMP target and new avenues in cAMP research [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4(9): 733-738.

- [2] Kawasaki H, Springett GM, Mochizuki N, et al. A family of cAMP-binding proteins that directly activate Rap1 [J]. *Science*, 1998, 282(5397): 2275-2279.
- [3] Rehmann H, Das J, Knipscheer P, et al. Structure of the cyclic-AMP-responsive exchange factor Epac2 in its auto-inhibited state [J]. *Nature*, 2006, 439(7076): 625-628.
- [4] Ji Z, Mei FC, Cheng X. Epac, not PKA catalytic subunit, is required for 3T3-L1 preadipocyte differentiation [J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2010, 2: 392-398.
- [5] Guvakova MA, Lee WS, Furstenau DK, et al. The small GTPase Rap1 promotes cell movement rather than stabilizes adhesion in epithelial cells responding to insulin-like growth factor I [J]. *Biochem J*, 2014, 463(2): 257-270.
- [6] Wilson CW, Parker LH, Hall CJ, et al. Rasip1 regulates vertebrate vascular endothelial junction stability through Epac1-Rap1 signaling [J]. *Blood*, 2013, 122(22): 3678-3690.
- [7] Cyphert HA, Alonge KM, Ippagunta SM, et al. Glucagon stimulates hepatic FGF21 secretion through a PKA- and EPAC-dependent posttranscriptional mechanism [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94996.
- [8] Ponsioen B, Gloerich M, Ritsma L, et al. Direct spatial control of Epac1 by cyclic AMP [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(10): 2521-2531.
- [9] Spindler V, Peter D, Harms GS, et al. Ultrastructural analysis reveals cAMP-dependent enhancement of microvascular endothelial barrier functions via Rac1-mediated reorganization of intercellular junctions [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(5): 2424-2436.
- [10] Aslam M, Schluter KD, Rohrbach S, et al. Hypoxia-reoxygenation-induced endothelial barrier failure: role of RhoA, Rac1 and myosin light chain kinase [J]. *J Physiol*, 2013, 591(Pt 2): 461-473.
- [11] Sehrawat S, Hernandez T, Cullere X, et al. AKAP9 regulation of microtubule dynamics promotes Epac1-induced endothelial barrier properties [J]. *Blood*, 2011, 117(2): 708-718.
- [12] Rufanova VA, Alexanian A, Ostendorf T, et al. Endothelin signaling via guanine exchange factor C3G in renal glomerular mesangial cells [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2010, 88(8): 808-816.
- [13] Rufanova VA, Lianos E, Alexanian A, et al. C3G overexpression in glomerular epithelial cells during anti-GBM-induced glomerulonephritis [J]. *Kidney Int*, 2009, 75(1): 31-40.
- [14] Kanwar YS, Sun L, Xie P, et al. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 395-423.
- [15] Métrich M, Lucas A, Gastineau M, et al. Epac mediates beta-adrenergic receptor-induced cardiomyocyte hypertrophy [J]. *Circ Res*, 2008, 102(8): 959-965.
- [16] Sun L, Kondeti VK, Xie P, et al. Epac1-mediated, high glucose-induced renal proximal tubular cells hypertrophy via the Akt/p21 pathway [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(4): 1706-1718.
- [17] Miller CL, Cai Y, Oikawa M, et al. Cyclic nucleotide phosphodiesterase 1A: a key regulator of cardiac fibroblast activation and extracellular matrix remodeling in the heart [J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106(6): 1023-1039.
- [18] Yano N, Suzuki D, Endoh M, et al. A novel phosphoinositide 3-kinase-dependent pathway for angiotensin II/AT-1 receptor-mediated induction of collagen synthesis in MES-13 mesangial cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(26): 18819-18830.
- [19] Lin S, Chugh S, Pan X, et al. Identification of up-regulated Ras-like GTPase, Rap1b, by suppression subtractive hybridization [J]. *Kidney Int*, 2001, 60(6): 2129-2141.
- [20] Lin S, Sahai A, Chugh SS, et al. High glucose stimulates synthesis of fibronectin via a novel protein kinase C, Rap1b, and B-Raf signaling pathway [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(44): 41725-41735.
- [21] Xie P, Joladarashi D, Dudeja P, et al. Modulation of angiotensin II-induced inflammatory cytokines by the Epac1-Rap1A-NHE3 pathway: implications in renal tubular pathobiology [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306(11): F1260-F1274.

(收稿日期: 2015-01-08)

## · 读者 · 作者 · 编者 ·

### 《国际内分泌代谢杂志》对参考文献著录的要求

本刊参考文献著录格式基本执行 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出, 并将序号置于方括号中, 排列于文后。尽量避免引用摘要作为参考文献。引用文献(包括文字和表达的原意)务请作者与原文核对无误。日文汉字请按日文规定书写, 勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人者, 全部著录; 超过 3 人者, 可以只著录前 3 人, 后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前, 名字在后, 国外作者的名字采用首字母缩写形式, 缩写名后不加缩写点; 不同作者姓名之间用逗号隔开, 不用“和”、“and”等连词。外文期刊名称用缩写, 以《Index Medicus》中的格式为准; 中文期刊使用刊名全称。每条参考文献均须著录起止页。自 2014 年起, 文献题名项后用中括号增加标注文献类型标志项目和期号。

示例如下:

- [1] 卢绮萍, 裘法祖, 吴在德, 等. 不同肝缺血时限肝硬变及非肝硬变肝组织基因差异表达及其意义 [J]. *中华外科杂志*, 2007, 45(1): 50-53.
- [2] Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(4): 284-287.
- [3] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. *Medical microbiology* [M]. 4th ed. St. Louis: Mosby, 2002.
- [4] 褚骏仁. 昏厥与休克 // 董承琅, 陶寿淇, 陈灏珠. *实用心脏病学* [M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 561-585.
- [5] 余建斌. 我们的科技一直在追赶: 访中国工程院院长周济 [N/OL]. *人民日报*, 2013-01-12(2). [2013-3-20]. [http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb\\_20130112\\_5-02.htm](http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm).

本刊编辑部