

## · 综述 ·

## 足细胞自噬与糖尿病肾病

方钱华 李春君

**【摘要】** 自噬是机体主要防御机制之一,在代谢器官和疾病的发展中发挥重要的作用。高糖状态可抑制足细胞自噬活性,导致糖尿病肾病的发生、发展。研究表明,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、AMP 活化蛋白激酶(AMPK)、沉默信息调节因子 1(Sirt1)、内质网应激(ERS)和晚期糖基化终末产物(AGE)等营养信号通路对自噬有重要的调控作用,可能参与糖尿病肾病的发生、发展,有望成为糖尿病肾病防治新的靶点。

**【关键词】** 足细胞;自噬;糖尿病肾病

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(81300663)

**Relationship of podocyte autophagy and diabetic nephropathy** Fang Qianhua, Li Chunjun. Department of Endocrinology, Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, Tianjin Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, 300070 Tianjin, China

Corresponding author: Li Chunjun, Email: Li\_Chunjun@126.com

**【Abstract】** Autophagy, as one of the main defense mechanism of organism, plays an important role in metabolic organs and the development of diseases. The condition of hyperglycemia can reduce autophagy activity of podocyte, leading to the occurrence and development of diabetic nephropathy (DN). Studies show that the nutrient-sensing signal pathways, including mammalian target of rapamycin (mTOR), AMP-activated protein kinase (AMPK), silent information regulator 1 (Sirt1), endoplasmic reticulum stress (ERS) and advanced glycation end products (AGE) modulate autophagic activity and contribute to the occurrence and development of DN. These findings implied that the nutrient-sensing signal pathways could be a new therapeutic target to prevent DN. Thus they might be new therapeutic targets of DN.

**【Key words】** Podocyte; Autophagy; Diabetic nephropathy

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81300663)

糖尿病肾病(DN)的患病率逐年增加,在全世界范围内已成为一个严重的健康问题,因此对 DN 发病机制的研究势在必行。自噬是细胞内清除蛋白质、受损及衰老细胞器的有效途径,是维持细胞内环境稳定的保护性机制。足细胞在正常情况下即具备高水平自噬,维持细胞稳态<sup>[1]</sup>。大量研究表明,体内、外的足细胞在高糖状态下均表现出自噬活性的降低,并伴随自噬相关蛋白的降低<sup>[2]</sup>。一些脂肪化或者老化的器官中自噬活性下降,表明肥胖或与年龄相关的疾病可降低自噬活性<sup>[3]</sup>。另外,糖尿病时自噬活性降低,使得肾脏细胞易受到相关代谢应激

的损伤,因此调节自噬可能成为治疗 DN 新的靶点<sup>[4]</sup>。

## 1 自噬概述

目前已发现近 40 种自噬相关蛋白,为追踪、量化和调控自噬途径提供了强有力的手段,促使自噬成为相关领域的研究热点<sup>[5]</sup>。根据底物运送至溶酶体途径不同,自噬可分为 3 种:巨自噬、微自噬及分子伴侣介导自噬,其中巨自噬就是通常所说的“自噬”。自噬是胞质中大分子物质和细胞器在双膜囊泡中降解的生物学过程,其过程大致包括 4 个阶段:隔离膜、自噬体、自噬溶酶体的形成和自噬体内容物的降解<sup>[6]</sup>。在饥饿、细胞器损伤、感染等细胞应激情况下,自噬活性将增强,提示自噬在细胞适应环境过程中扮演重要角色<sup>[7]</sup>。自噬体起源于内质网膜,其形成包括启动、成核、延长和关闭,每个步

骤都受到编码自噬相关基因的严格调控<sup>[8]</sup>。

## 2 足细胞自噬与 DN 的关系

DN 是糖尿病的主要微血管并发症,已成为导致终末期肾病的主要原因<sup>[9]</sup>。然而目前尚无有效治疗方法,白蛋白尿是 DN 的主要标志,因此降低白蛋白尿成为临床改善肾病预后的主要治疗靶目标。糖尿病白蛋白尿的产生主要是由于肾小球滤过屏障(GFB)受损。足细胞是高度分化的终末细胞,是维持 GFB 完整性最关键的部分<sup>[10]</sup>。DN 时足细胞和足细胞足突功能障碍或死亡,导致 GFB 通透性增加,出现大量白蛋白尿<sup>[11]</sup>。研究显示,敲除哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)基因、前肾素原受体基因和mVps34基因,可导致足细胞溶酶体功能障碍,引起严重肾小球硬化,出现大量白蛋白尿<sup>[12]</sup>。持续高血糖状态可抑制自噬相关蛋白Beclin-1、Atg12和LC3的表达,使足细胞自噬减弱,从而导致足细胞的损伤<sup>[13]</sup>。Tagawa等<sup>[14]</sup>首次直接证明了足细胞自噬参与了DN进展,高糖状态下足细胞自噬特异性缺陷小鼠表现为足细胞减少并产生大量白蛋白尿。因此,维持足细胞内环境稳态可阻止高血糖损伤足细胞,延缓肾病综合征。另一研究小组证实,足细胞特异性自噬缺陷的小鼠DN进展加速,表现为足细胞受损,GFB通透性增加,大量白蛋白尿产生<sup>[15]</sup>。

## 3 DN 中自噬的调控

自噬与DN的发生共同受一些信号通路的调控,如mTOR、AMP活化蛋白激酶(AMPK)和沉默信息调节因子2相关酶1(Sirt1)等营养物质敏感信号通路。近期发现,内质网应激和晚期糖基化终末产物(AGE)等细胞内应激也是DN的发病机制。

**3.1 mTOR 信号通路** Xiao等<sup>[16]</sup>研究发现,雷帕霉素可增加足细胞微管相关蛋白LC3表达和足细胞自噬体数目,减轻足细胞损伤。在哺乳动物中,mTOR与其他蛋白结合,形成mTORC1和mTORC2,其中mTORC1对雷帕霉素敏感。mTOR超活化促使DN肾小球和肾小管肥大,并且与足细胞损伤和肾小球滤过率急剧下降有关<sup>[17]</sup>。营养缺乏时,mTORC1的表达受抑制,从而诱导自噬的发生<sup>[18]</sup>。过度激活mTORC1是引起肾小球损伤的原因之一,雷帕霉素可抑制mTORC1信号通路,具有肾脏保护作用,并且敲除足细胞特异性mTOR基因上游抑制因子TSC1,发现mTORC1高度活化,肾小球和足细胞受损<sup>[19]</sup>。

**3.2 AMPK 信号通路** AMPK是一种由 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 3个亚单位组成的异源三聚体蛋白,其对分解代谢起关键作用,是机体能量代谢平衡的总开关。1型和2型糖尿病动物模型的肾小球和肾小管中AMPK磷酸化减弱,活性受到抑制<sup>[2]</sup>。然而一些药物如二甲双胍和白藜芦醇可以通过激活AMPK信号通路,减轻糖尿病肾小球和肾小管的损伤<sup>[2]</sup>。研究显示,AMPK可通过结合、磷酸化和直接激活ULK1/2,诱导自噬<sup>[20]</sup>。AMPK在多个应激中发挥着核心作用,营养缺乏时,AMPK通过磷酸化Ser317和Ser777直接激活ULK1,促进自噬<sup>[20]</sup>。相反,在营养过剩的状态下,mTORC1高度活化,通过磷酸化ULK1Ser757和干扰ULK1和AMPK的相互作用抑制ULK1的活化,从而减弱自噬水平<sup>[20]</sup>。表明AMPK可正性调控自噬。因此,AMPK介导自噬激活可能起着肾脏保护作用,并与维持DN的内稳态有关。

**3.3 Sirt1 信号通路** 沉默信息调节因子2是在研究酵母菌转录沉默时发现的一个广泛存在于各种物种的基因,在DNA损伤修复、交配型基因的沉默、染色质稳定及延长寿命中起重要作用。目前哺乳动物中已发现7个Sir2同源基因,也称为沉默信息调节因子2样蛋白(Sirtuins),分别命名为Sirt1~7。Sirtuins最初被认为是存在于低等生物中依赖NAD<sup>+</sup>的脱乙酰酶,受营养不足和环境应激调控<sup>[21]</sup>。Sirt1缺乏及活性降低均与DN足细胞及近端小管的损伤有关,并且过表达Sirt1可改善小鼠DN。Sirt1可脱去自噬相关蛋白如Atg5、Atg7和LC3的乙酰基,诱导自噬<sup>[23]</sup>。有研究揭示,肥胖2型糖尿病大鼠如Wistar肥胖大鼠,其肾脏中p62/SQSTM1蓄积,导致肾近端小管线粒体形态学损伤,表明自噬机制受损可引起线粒体受损和肾损伤<sup>[24]</sup>。此外,Sirt1能与AMPK和mTOR信号通路相互作用,调节包括自噬在内的代谢功能<sup>[25-26]</sup>。因此,Sirt1的激活可能对DN有治疗作用。

**3.4 AGE** Kanwar等<sup>[27]</sup>发现,高血糖引起的肾损伤会造成细胞内代谢改变,AGE在肾脏中累积会造成DN。高糖环境中,细胞内、外的AGE相互作用,诱导并调控细胞氧化应激,如活性氧簇的产生和蛋白激酶C的活化<sup>[28]</sup>。AGE的自噬性清除作用可缓解糖尿病血管并发症<sup>[29]</sup>。应用肝细胞生长因子诱导剂,可通过激活自噬-溶酶体的活性,降低血清AGE

水平,改善糖尿病血管并发症。小鼠肝细胞生长因子重组体可加强内吞作用和AGE的自噬清除作用,改善肾功能<sup>[29]</sup>。这些研究表明,自噬对肾的保护作用主要通过增加AGE的清除和减少AGE在肾脏中蓄积实现。

**3.5 内质网应激** 内质网不仅涉及蛋白质的合成、折叠、组装、加工,而且也是自噬体隔离膜的主要来源<sup>[30]</sup>。内质网应激可诱导自噬并且与糖尿病和DN的发病机制有关<sup>[31]</sup>。内质网中大量蓄积折叠错误的蛋白质,可诱导未折叠蛋白反应<sup>[32]</sup>。高糖和游离脂肪酸可诱导足细胞内质网应激、未折叠蛋白反应及凋亡<sup>[33]</sup>。糖尿病或高糖状态下,内质网应激可减少自噬,介导足细胞功能障碍,导致DN的发生<sup>[24]</sup>。自噬缺陷导致DN的发展,而自噬活性降低可能导致内质网应激和组织损伤进一步加重。牛磺酸熊脱氧胆酸是一种改善蛋白折叠的化学分子伴侣,可阻断内质网应激诱导的凋亡通路,抑制足细胞凋亡<sup>[34]</sup>。牛磺酸熊脱氧胆酸治疗糖尿病小鼠可减少白蛋白,缓解足细胞和肾小球损伤,并修复自噬<sup>[2]</sup>。另外, $\beta$ -抑制蛋白、2-丙基戊酸、AGE、缺氧、肾素-血管紧张素系统等也被认为是DN的发病机制,而自噬在这些机制中同样起着重要作用。

#### 4 针对自噬的可能治疗

针对自噬通路中不同要素进行干预,可能成为治疗DN的方法。3个主要的营养信号通路(mTOR、AMPK、Sirt1)调控自噬活性,改变这些信号通路的活性可能成为治疗DN的靶点。尽管抑制mTOR通路可激活自噬,但过分抑制mTORC1也可导致足细胞功能不全<sup>[19]</sup>。因此应用雷帕霉素及其他mTOR抑制剂治疗是一把双刃剑,应当谨慎对待。白藜芦醇、二甲双胍和AICAR等可激活AMPK和Sirt1,AMPK和Sirt1均可正性调控自噬,从而保护肾功能。AMPK可与mTORC1相互作用,并通过抑制mTORC1活性诱导自噬。因此,保持AMPK和mTORC1的平衡对启动自噬非常重要,激活AMPK信号通路可能成为修复DN自噬活性的潜在治疗靶点。在雄性糖尿病Wistar肥胖(fa/fa)大鼠动物模型中,通过饮食控制可恢复近球肾小管细胞内Sirt1水平,继而改善细胞自噬失调以及线粒体功能异常,促进细胞自噬并保护肾脏<sup>[24]</sup>。Sirt1为具有广泛去乙酰化作用的效应酶,可通过多个信号通路调节高糖

环境中受损的肾脏细胞,减少肾纤维化及坏死,促进细胞稳态恢复,发挥肾保护作用。Sirt1有望成为治疗DN的新靶点,为延缓DN进程带来新希望。

综上所述,目前缺乏有效的治疗DN的方法,迫切需要寻找新的预防和治疗的药物或靶点。自噬是足细胞的一种自我保护机制,自噬体系失衡与DN的发生、发展密切相关。自噬可减少蛋白蓄积和细胞器的损伤,并维持细胞生存和组织内稳态。但过度的自噬也可导致细胞死亡或者在一定环境下,加重白蛋白尿。因此,必须进行深入研究,明确自噬在DN肾小球和肾小管损伤的确切功能,从而找到治疗和预防DN的新药物。

#### 参 考 文 献

- [1] Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, et al. *In vivo* analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15 (3): 1101-1111. DOI: 10.1091/mbc.E03-09-0704.
- [2] Fang L, Zhou Y, Cao H, et al. Autophagy attenuates diabetic glomerular damage through protection of hyperglycemia-induced podocyte injury [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (4): e60546. DOI: 10.1371/journal.pone.0060546.
- [3] Yoshizaki T, Kusunoki C, Kondo M, et al. Autophagy regulates inflammation in adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 417 (1): 352-357. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.114.
- [4] Kume S, Thomas MC, Koya D. Nutrient sensing, autophagy, and diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2012, 61 (1): 23-29. DOI: 10.2337/db11-0555.
- [5] Ge L, Baskaran S, Schekman R, et al. The protein-vesicle network of autophagy [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 29: 18-24. DOI: 10.1016/j.ceb.2014.02.005.
- [6] Cuervo AM, Wong E. Chaperone-mediated autophagy: roles in disease and aging [J]. *Cell Res*, 2014, 24 (1): 92-104. DOI: 10.1038/cr.2013.153.
- [7] Malaviya R, Laskin JD, Laskin DL. Oxidative stress-induced autophagy: role in pulmonary toxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 275 (2): 145-151. DOI: 10.1016/j.taap.2013.12.022.
- [8] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues [J]. *Cell*, 2011, 147 (4): 728-741. DOI: 10.1016/j.cell.2011.10.026.
- [9] Kato M, Natarajan R. MicroRNAs in diabetic nephropathy: functions, biomarkers, and therapeutic targets [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1353: 72-88. DOI: 10.1111/nyas.12758.
- [10] Kawachi H, Miyauchi N, Suzuki K, et al. Role of podocyte slit diaphragm as a filtration barrier [J]. *Nephrology (Carlton)*,

- 2006, 11 ( 4 ) : 274-281. DOI: 10. 1111/j. 1440-1797. 2006. 00583. x.
- [ 11 ] Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes [ J ]. J Clin Invest, 1997, 99 ( 2 ) : 342-348. DOI: 10. 1172/JCI119163.
- [ 12 ] Chen J, Chen MX, Fogo AB, et al. mVps34 deletion in podocytes causes glomerulosclerosis by disrupting intracellular vesicle trafficking [ J ]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24 ( 2 ) : 198-207. DOI: 10. 1681/ASN. 2012010101.
- [ 13 ] Kume S, Thomas MC, Koya D. Nutrient sensing, autophagy, and diabetic nephropathy [ J ]. Diabetes, 2012, 61 ( 1 ) : 23-29. DOI: 10. 2337/db11-0555.
- [ 14 ] Tagawa A, Yasuda M, Kume S, et al. Impaired podocyte autophagy exacerbates proteinuria in diabetic nephropathy [ J ]. Diabetes, 2016, 65 ( 3 ) : 755-767. DOI: 10. 2337/db15-0473.
- [ 15 ] Lenoir O, Jasiak M, Hénique C, et al. Endothelial cell and podocyte autophagy synergistically protect from diabetes-induced glomerulosclerosis [ J ]. Autophagy, 2015, 11 ( 7 ) : 1130-1145. DOI: 10. 1080/15548627. 2015. 1049799.
- [ 16 ] Xiao T, Guan X, Nie L, et al. Rapamycin promotes podocyte autophagy and ameliorates renal injury in diabetic mice [ J ]. Mol Cell Biochem, 2014, 394 ( 1-2 ) : 145-154. DOI: 10. 1007/s11010-014-2090-7.
- [ 17 ] Chen JK, Chen J, Neilson EG, et al. Role of mammalian target of rapamycin signaling in compensatory renal hypertrophy [ J ]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16 ( 5 ) : 1384-1391. DOI: 10. 1681/ASN. 2004100894.
- [ 18 ] Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing [ J ]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12 ( 1 ) : 21-35. DOI: 10. 1038/nrm3025.
- [ 19 ] Inoki K, Mori H, Wang J, et al. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice [ J ]. J Clin Invest, 2011, 121 ( 6 ) : 2181-2196. DOI: 10. 1172/JCI44771.
- [ 20 ] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1 [ J ]. Nat Cell Biol, 2011, 13 ( 2 ) : 132-141. DOI: 10. 1038/ncb2152.
- [ 21 ] Kitada M, Kume S, Takeda-Watanabe A, et al. Sirtuins and renal diseases: relationship with aging and diabetic nephropathy [ J ]. Clin Sci ( Lond ), 2013, 124 ( 3 ) : 153-164. DOI: 10. 1042/CS20120190.
- [ 22 ] Hasegawa K, Wakino S, Simic P, et al. Renal tubular Sirt1 attenuates diabetic albuminuria by epigenetically suppressing Claudin-1 overexpression in podocytes [ J ]. Nat Med, 2013, 19 ( 11 ) : 1496-1504. DOI: 10. 1038/nm. 3363.
- [ 23 ] Lee IH, Cao L, Mostoslavsky R, et al. A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy [ J ]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105 ( 9 ) : 3374-3379. DOI: 10. 1073/pnas. 0712145105.
- [ 24 ] Kitada M, Takeda A, Nagai T, et al. Dietary restriction ameliorates diabetic nephropathy through anti-inflammatory effects and regulation of the autophagy via restoration of Sirt1 in diabetic Wistar fatty ( fa/fa ) rats: a model of type 2 diabetes [ J ]. Exp Diabetes Res, 2011, 2011 : 908185. DOI: 10. 1155/2011/908185.
- [ 25 ] Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD<sup>+</sup> metabolism and SIRT1 activity [ J ]. Nature, 2009, 458 ( 7241 ) : 1056-1060. DOI: 10. 1038/nature07813.
- [ 26 ] Ghosh HS, McBurney M, Robbins PD. SIRT1 negatively regulates the mammalian target of rapamycin [ J ]. PLoS One, 2010, 5 ( 2 ) : e9199. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0009199.
- [ 27 ] 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. DOI: 10. 1146/annurev. pathol. 4. 110807. 092150.
- [ 28 ] Fiorentino L, Cavallera M, Menini S, et al. Loss of TIMP3 underlies diabetic nephropathy via FoxO1/STAT1 interplay [ J ]. EMBO Mol Med, 2013, 5 ( 3 ) : 441-455. DOI: 10. 1002/emmm. 201201475.
- [ 29 ] Peng KY, Horng LY, Sung HC, et al. Hepatocyte growth factor has a role in the amelioration of diabetic vascular complications via autophagic clearance of advanced glycation end products: Dispo85E, an HGF inducer, as a potential botanical drug [ J ]. Metabolism, 2011, 60 ( 6 ) : 888-892. DOI: 10. 1016/j. metabol. 2010. 08. 009.
- [ 30 ] Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, et al. Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites [ J ]. Nature, 2013, 495 ( 7441 ) : 389-393. DOI: 10. 1038/nature11910.
- [ 31 ] Zhang MZ, Wang Y, Pauksakon P, et al. Epidermal growth factor receptor inhibition slows progression of diabetic nephropathy in association with a decrease in endoplasmic reticulum stress and an increase in autophagy [ J ]. Diabetes, 2014, 63 ( 6 ) : 2063-2072. DOI: 10. 2337/db13-1279.
- [ 32 ] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation [ J ]. Science, 2011, 334 ( 6059 ) : 1081-1086. DOI: 10. 1126/science. 1209038.
- [ 33 ] Cao Y, Hao Y, Li H, et al. Role of endoplasmic reticulum stress in apoptosis of differentiated mouse podocytes induced by high glucose [ J ]. Int J Mol Med, 2014, 33 ( 4 ) : 809-816. DOI: 10. 3892/ijmm. 2014. 1642.
- [ 34 ] Chen Y, Liu CP, Xu KF, et al. Effect of taurine-conjugated ursodeoxycholic acid on endoplasmic reticulum stress and apoptosis induced by advanced glycation end products in cultured mouse-podocytes [ J ]. Am J Nephrol, 2008, 28 ( 6 ) : 1014-1022. DOI: 10. 1159/000148209.

( 收稿日期: 2016-10-19 )