

· 综述 ·

Akt/FoxOs 信号通路与糖尿病肾脏疾病

徐瑶 王秋月

【摘要】 蛋白激酶 B(PKB/Akt)/叉头转录因子(FoxO)信号通路是广泛存在于肾脏的重要信号通路。近年来,多种研究表明 Akt/FoxO 信号通路通过影响氧化应激、细胞增殖和凋亡、细胞外基质堆积、细胞自噬等方面,促进糖尿病肾脏疾病(DKD)的病理生理改变,在 DKD 的发生、发展中起重要作用。

【关键词】 蛋白激酶 B; 叉头转录因子; 糖尿病肾脏疾病

基金项目:辽宁省高等学校“高端人才队伍建设工程”项目([2014]187);辽宁省自然科学基金(201602862)

Akt/FoxOs signal pathway and diabetic kidney disease Xu Yao, Wang Qiuyue. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: Wang Qiuyue, Email: wqycmu123@163.com

【Abstract】 Protein kinase B(PKB/Akt)/forkhead transcription factor(FoxO) signal pathway is a vital signal pathway which is widely present in kidney. In recent years, a variety of studies have shown that Akt/FoxO signal pathway affected the pathophysiological changes of diabetic kidney disease through affecting oxidative stress, cell proliferation and apoptosis, extracellular matrix deposition, autophagy and so on, which plays an important role in the development and progression of diabetic kidney disease.

【Key words】 Protein kinase B; Forkhead transcription factor; Diabetic kidney disease

Fund program: Project of Higher School "High-end Talent Team Construction" in Liaoning Province of China ([2014]187); Natural Science Foundation of Liaoning of China (201602862)

糖尿病肾脏疾病(DKD)是糖尿病的慢性并发症,是终末期肾病的主要成因之一。DKD 的病理学特征为肾小球系膜细胞肥大、增生,基底膜增厚,细胞外基质堆积等^[1]。近些年研究表明多种信号通路参与其中。蛋白激酶 B(PKB/Akt)/叉头转录因子(FoxO)信号通路激活,通过影响氧化应激、系膜增生、细胞外基质堆积、调节炎症反应细胞因子的表达,从而促进 DKD 的病理生理改变。本文主要对 Akt/FoxO 信号通路与 DKD 的相关关系进行综述。

1 FoxO 家族简介

FoxO 家族最先由 Weigel 及其同事在果蝇中发现,其命名源于叉头结构域,是保守的 100 个氨基酸的 DNA 结合区域。FoxO 亚群包括 FoxO1、FoxO3、FoxO4、FoxO6,其中前 3 个广泛表达于心脏、脑、肝

脏、骨骼肌等组织器官, FoxO6 仅在中枢神经系统中表达。从结构上讲, FoxO 蛋白由 4 个区域组成:氨基末端高度保守的 DNA 结合结构域、核定位信号、核输出信号和羧基末端反式激活结构域^[2]。从功能上讲, FoxO 通过激活三大类基因:抗氧化基因、细胞周期阻滞基因和凋亡基因,从而发挥促进细胞周期停滞和凋亡以及活性氧簇的清除和受损 DNA 修复的作用,在维持机体稳态、调节衰老、凋亡等方面起着重要作用^[1,3]。

2 Akt/FoxO 信号通路

FoxO 家族存在多种共价修饰调节其活性,包括磷酸化修饰、乙酰化修饰和泛素化修饰。其中磷酸化是其易位和活性的主要调节剂,大多数磷酸化修饰对 FoxO 定位具有负向调节的作用,如 Akt、核因子抑制蛋白激酶、血清和糖皮质激素调节蛋白激酶、细胞外信号调节激酶、酪蛋白激酶 1、双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶 1A;但还有小部分激酶,如 AMP

活化蛋白激酶、c-Jun 氨基末端激酶可以促进 FoxO3 定位至细胞核,增强其转录活性和抗应激能力^[4]。

通常认为 Akt 通过保守的信号通路调节 FoxO 活性: Akt/FoxO 信号通路由胰岛素/胰岛素样生长因子-1 信号转导,通过磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)介导 Akt 激活, Akt 直接在 3 个保守残基磷酸化 FoxO 因子, FoxO 在细胞核中与 14-3-3 结合诱导 FoxO 蛋白的构象变化, 14-3-3 进一步封闭 FoxO 的核输出信号, 导致 FoxO 蛋白保留在细胞质中, 促进核排斥和转录失活, 抑制 FoxO 的功能^[5]。

3 Akt/FoxO 在 DKD 中的作用机制

3.1 Akt/FoxO 与氧化应激 高血糖可以诱导肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞产生活性氧簇, 伴内源性抗过氧化物酶减少, 氧化应激水平增加, 加快进展至终末期肾病。在正常情况下, 抗氧化酶包括锰超氧化物歧化酶(MnSOD)、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶等可以清除活性氧簇^[6]。

Kato 等^[7]发现, 在链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病小鼠中, 转化生长因子- β (TGF- β)通过 PI3K/Akt 信号通路, 抑制 FoxO3 的转录活性, 下调抗氧化基因 MnSOD 水平, 增加肾脏氧化应激的发生。在肾小球近曲小管细胞中, 尼古丁促进肾脏脂毒性产物游离脂肪酸的堆积并通过转录激活促氧化基因 p66shc, 抑制 FoxO3a 的活性, 间接抑制 MnSOD 的转录^[8]。p66shc 的缺失可上调 FoxO1 活性, 导致 MnSOD 的表达增强, 对活性氧簇的抵抗力更强。Venkatesan 等^[9]研究表明, 在培养的肾小球系膜细胞中过氧化氢通过 PI3K/Akt 信号通路作用于 FoxO1, 抑制 FoxO1 活性, 进一步下调抗氧化基因过氧化氢酶的表达。

过氧化物酶体增殖物活化受体(PPAR) γ 协同刺激因子-1 α (PGC-1 α)是调节线粒体功能的转录共激活因子。已有研究证实, FoxO3a/PGC-1 α 通过相互作用调节线粒体氧化应激。在 STZ 诱导的糖尿病小鼠中, FoxO1/PGC-1 α 通路激活, 通过改善线粒体功能障碍和减少细胞活性氧簇的产生, 在体内和体外抵抗高葡萄糖诱导的肾小球系膜细胞损伤^[5,10]。

因此可以推测, 多种炎症因子通过 Akt/FoxOs 信号通路上调其抗氧化靶基因的表达和调节线粒体

功能, 在 DKD 抗氧化应激中发挥着作用。

3.2 Akt/FoxO 与炎症反应 在其他组织器官中, FoxO 家族已被广泛证实参与炎症反应, 但是涉及 DKD 领域的机制尚不明确。

肾脏 PPAR α 表达降低, 促进 PI3K/Akt/FoxO3a 的失活, 而且抑制 PGC-1 α 和 雌激素相关受体 α 水平, 导致其下游信号转导的 MnSOD 和 B 淋巴细胞瘤-2 基因失活, 造成肾脏脂质积聚, 促进肾组织炎症反应和细胞凋亡的发生^[11]。在 PPAR α 缺陷的 STZ 诱导糖尿病小鼠模型中, 肾小球系膜细胞黏附的白细胞数量增加, 而 PPAR α 激动剂非诺贝特可抑制白细胞黏附^[12]。还有研究称, PPAR α 抑制胰岛素诱导的 NADPH 氧化酶同源物 NOX4, 从而抑制其产生活性氧簇, 并通过调节活性氧簇/Akt/FoxO1 和核因子- κ B 信号通路, 减弱年龄相关的肾组织炎症反应^[13]。脂联素是脂肪细胞产生的蛋白质, 其与脂联素受体 1 和脂联素受体 2 结合后, 发挥重要的抗炎作用。白芦藜醇通过激活糖尿病肾脏中的 FoxO1, 增加脂联素受体 1 的表达, 降低脂质过氧化物丙二醛、纤连蛋白和胶原蛋白 IV 的表达, 从而发挥抗炎作用^[14]。由此可见, 脂代谢异常可以通过 FoxO, 在 DKD 的炎症反应中发挥作用, 具体机制还有待研究。

近来有研究表明, 巨噬细胞促炎作用的新机制主要是: FoxO1 增强 Toll 样受体(TLR)4 的信号转导, 增加脂多糖诱导的 TLR4 下游信号转导蛋白 c-Jun 氨基末端激酶和核因子- κ B 的磷酸化, 以及主要炎症反应效应分子如诱导型一氧化氮合酶和肿瘤坏死因子- α 的基因表达增加, 从而促进白细胞介素-1 β 、干扰素 γ 诱导型蛋白-10 等炎症因子的表达^[6,15]。研究表明, DKD 患者肾小管上皮细胞 TLR4 表达上调, 表明 TLR4 参与肾小管间质炎症反应过程^[16]。体外实验中, 高糖可促进足细胞和肾小管上皮细胞中的 TLR4 表达和活性以及核因子- κ B 活化, 加重炎症和纤维化反应。推测 FoxO1 可能通过 TLR4 途径, 调节炎症因子, 参与 DKD 的炎症反应。

3.3 Akt/FoxO 与细胞外基质堆积 在肾小球系膜细胞中, TGF- β 诱导的 PI3K/Akt 的激活和 Smad3 的磷酸化与 I 型胶原基因的上调相关, 表明 TGF- β 诱

导的系膜细胞的细胞外基质堆积可通过 PI3K/Akt 途径调节^[7]。在 STZ 诱导糖尿病大鼠肾皮质中, FoxO1 活性下降, 细胞外基质蛋白组分胶原蛋白 IV 及纤连蛋白表达升高; 白藜芦醇通过上调 FoxO1 活性, 减少细胞外基质堆积, 改善肾小球病变^[17]。另一组研究表明, FoxO1 过表达后, 降低了激活素受体样激酶 5 表达, 增加了 Smad3 水平, 不仅可使肾小球系膜细胞细胞外基质减少、胶原蛋白 I mRNA 水平表达及分泌减少; 也促进纤溶酶原激活物抑制因子-1 的 mRNA 及蛋白水平的降低, 提示细胞外基质降解增多^[18]。也有学者提出, FoxO1 可能是通过上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂, 发挥细胞周期停滞作用, 影响细胞外基质堆积^[8,19]。

在高糖诱导的肾小管上皮细胞中, FoxO1 磷酸化可引起固醇调节元件结合蛋白-1 (SREBP-1) 上调和细胞内脂质聚集。在高糖环境下, PI3K/Akt 信号通路激活 Akt, 并伴有 SREBP-1 上调和细胞内脂质聚集, 导致人肾小管上皮细胞细胞外基质堆积。应用 LY294002 抑制剂阻断 Akt 磷酸化后, SREBP-1 的上调和细胞内脂质堆积均有明显改善^[20]。但 PI3K/Akt 通路是否通过 FoxO1 磷酸化影响 DKD 脂代谢及细胞外基质堆积, 还有待进一步研究^[9]。

因此, FoxO 影响细胞外基质堆积主要有两条途径: (1) 大量细胞外基质成分合成增多。 (2) 纤溶酶原激活物抑制因子过度表达, 细胞外基质降解减少^[10]。

3.4 Akt/FoxO 与系膜增生 高糖诱导下, 系膜细胞增殖、肥大, 并分泌包括 TGF- β 在内的细胞因子, 加速肾小球硬化及纤维化。

在 STZ 诱导的 DKD 小鼠中, TGF- β 通过 PI3K/Akt 通路, 抑制 FoxO3 活性, 下调凋亡基因 Bim 的表达, 从而促进系膜细胞增生^[7]。另一项研究表明, 血小板衍生生长因子通过 PIK3/Akt/FoxO3 通路下调 FoxO3 的转录活性, 抑制促凋亡基因 Fas 配体表达, 促进肾小球系膜细胞增殖^[21]。Liu 等^[22]发现, FoxO1 过表达后可能通过 Akt/FoxO1/p27kip1 信号通路, 上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 p27kip1 的水平, 并下调细胞周期蛋白 D1 和细胞周期蛋白依赖性激酶 4 的表达, 使大鼠肾小球系膜细胞阻滞于 G1 期, 抑制其增殖。

在高糖诱导下, Akt/FoxO1 信号通路通过降低过氧化氢酶靶基因表达, 抑制雷帕霉素靶蛋白复合体的激活, 促进纤连蛋白和纤溶酶原激活物抑制因子-1 的表达, 最终导致活性氧簇水平增加、肾小球系膜细胞肥大和基质扩张。FoxO1 也可促进真核细胞始动因子 4E 结合蛋白 1 的失活和核糖体 S6 蛋白激酶的激活, 参与高葡萄糖刺激的蛋白质合成和肾小球膜细胞肥大^[23]。

综上所述, FoxO 家族是调节细胞增殖和凋亡的重要参与者。而 Akt/FoxO 调节 DKD 系膜增生主要通过两条路径: (1) 对细胞周期的调控。 (2) 对凋亡基因的调控。

3.5 Akt/FoxO 与自噬 自噬是在炎症反应或氧化应激等病理条件下, 伴随细胞凋亡的过度反应。在 STZ 诱导糖尿病大鼠模型中研究发现, 系膜细胞自噬增强, 巨噬细胞浸润。FoxO1 可调控 3 种自噬相关基因 vps34、Atg12 和 Gabarapl1 的表达。Liu 等^[24]发现, 胰岛素可能通过哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, 经 Akt/S6k 通路, 下调 FoxO1 活性, 从而抑制自噬。有体外研究发现, 在原代培养系膜细胞中, 基质金属蛋白酶抑制剂 3 可通过基因沉默抑制自噬基因的表达, 加快 DKD 的进展^[12]。在 STZ 诱导糖尿病小鼠模型和 DKD 患者系膜细胞中基质金属蛋白酶抑制剂 3 降低, 下调 FoxO1 水平, 使信号转导和转录激活因子 1 表达增加, 进而抑制自噬, 导致白蛋白尿和肾小球损伤^[25]。因此可以得出结论, Akt/FoxO1 信号通路可能通过调控自噬相关基因, 参与 DKD 的病理过程。

4 小结与展望

FoxO 家族参与调控细胞的自噬与凋亡, 是重要的信号转录因子, FoxO 的转录活性受多种途径调节, 目前研究最广泛的仍是 PI3K/Akt 途径, 在 DKD 环境下, 合理调控 FoxO 的活性, 将为进一步了解 DKD 的发病机制及制定临床治疗方案提供广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] Soler MJ, Riera M, Batlle D. New experimental models of diabetic nephropathy in mice models of type 2 diabetes: efforts to replicate human nephropathy[J]. Exp Diabetes Res, 2012, 2012:616313.

- DOI:10.1155/2012/616313.
- [2] Furuyama T, Nakazawa T, Nakano I, et al. Identification of the differential distribution patterns of mRNAs and consensus binding sequences for mouse DAF-16 homologues [J]. *Biochem J*, 2000, 349 (Pt 2): 629-634.
- [3] Accili D, Arden KC. FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation, and transformation [J]. *Cell*, 2004, 117 (4): 421-426.
- [4] Yang JY, Hung MC. Deciphering the role of forkhead transcription factors in cancer therapy [J]. *Curr Drug Targets*, 2011, 12 (9): 1284-1290.
- [5] Storz P. Forkhead homeobox type O transcription factors in the responses to oxidative stress [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14 (4): 593-605. DOI:10.1089/ars.2010.3405.
- [6] Bhattacharjee N, Barma S, Konwar N, et al. Mechanistic insight of diabetic nephropathy and its pharmacotherapeutic targets: an update [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791: 8-24. DOI:10.1016/j.ejphar.2016.08.022.
- [7] Kato M, Yuan H, Xu ZG, et al. Role of the Akt/FoxO3a pathway in TGF- β 1-mediated mesangial cell dysfunction: a novel mechanism related to diabetic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17 (12): 3325-3335. DOI:10.1681/ASN.2006070754.
- [8] Arany I, Hall S, Reed DK, et al. The pro-oxidant gene p66shc increases nicotine exposure-induced lipotoxic oxidative stress in renal proximal tubule cells [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14 (3): 2771-2777. DOI:10.3892/mmr.2016.5543.
- [9] Venkatesan B, Mahimainathan L, Das F, et al. Downregulation of catalase by reactive oxygen species via PI 3 kinase/Akt signaling in mesangial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 211 (2): 457-467. DOI:10.1002/jcp.20953.
- [10] Wu L, Wang Q, Guo F, et al. Activation of FoxO1/PGC-1 α prevents mitochondrial dysfunction and ameliorates mesangial cell injury in diabetic rats [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 413: 1-12. DOI:10.1016/j.mce.2015.06.007.
- [11] Rangwala SM, Li X, Lindsley L, et al. Estrogen-related receptor alpha is essential for the expression of antioxidant protection genes and mitochondrial function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357 (1): 231-236. DOI:10.1016/j.bbrc.2007.03.126.
- [12] Park CW, Zhang Y, Zhang X, et al. PPARalpha agonist fenofibrate improves diabetic nephropathy in db/db mice [J]. *Kidney Int*, 2006, 69 (9): 1511-1517. DOI:10.1038/sj.ki.5000209.
- [13] Kim YR, Lee EK, Kim DH, et al. PPAR α activation by MHY908 attenuates age-related renal inflammation through modulation of the ROS/Akt/FoxO1 pathway [J]. *Exp Gerontol*, 2017, 92: 87-95. DOI:10.1016/j.exger.2017.03.015.
- [14] Ji H, Wu L, Ma X, et al. The effect of resveratrol on the expression of AdipoR1 in kidneys of diabetic nephropathy [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41 (4): 2151-2159. DOI:10.1007/s11033-014-3064-2.
- [15] Fan W, Morinaga H, Kim JJ, et al. FoxO1 regulates Tlr4 inflammatory pathway signalling in macrophages [J]. *EMBO J*, 2010, 29 (24): 4223-4236. DOI:10.1038/emboj.2010.268.
- [16] Lin M, Yiu WH, Wu HJ, et al. Toll-like receptor 4 promotes tubular inflammation in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23 (1): 86-102. DOI:10.1681/ASN.2010111210.
- [17] Wu L, Zhang Y, Ma X, et al. The effect of resveratrol on FoxO1 expression in kidneys of diabetic nephropathy rats [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39 (9): 9085-9093. DOI:10.1007/s11033-012-1780-z.
- [18] 郭丰, 王庆祝, 秦贵军, 等. 过表达 FoxO1 对高糖诱导下大鼠肾小球系膜细胞细胞外基质分泌的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2014, 94 (24): 1899-1904. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2014.24.015.
- [19] Qin G, Zhou Y, Guo F, et al. Overexpression of the FoxO1 ameliorates mesangial cell dysfunction in male diabetic rats [J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29 (7): 1080-1091. DOI:10.1210/me.2014-1372.
- [20] Hao J, Liu S, Zhao S, et al. PI3K/Akt pathway mediates high glucose-induced lipogenesis and extracellular matrix accumulation in HKC cells through regulation of SREBP-1 and TGF- β 1 [J]. *Histochem Cell Biol*, 2011, 135 (2): 173-181. DOI:10.1007/s00418-011-0777-3.
- [21] Chuang TD, Guh JY, Chiou SJ, et al. Phosphoinositide 3-kinase is required for high glucose-induced hypertrophy and p21WAF1 expression in LLC-PK1 cells [J]. *Kidney Int*, 2007, 71 (9): 867-874. DOI:10.1038/sj.ki.5002155.
- [22] Liu F, Ma XJ, Wang QZ, et al. The effect of FoxO1 on the proliferation of rat mesangial cells under high glucose conditions [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 29 (10): 1879-1887. DOI:10.1093/ndt/gfu202.
- [23] Das F, Ghosh-Choudhury N, Dey N, et al. High glucose forces a positive feedback loop connecting Akt kinase and FoxO1 transcription factor to activate mTORC1 kinase for mesangial cell hypertrophy and matrix protein expression [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (47): 32703-32716. DOI:10.1074/jbc.M114.605196.
- [24] Liu HY, Han J, Cao SY, et al. Hepatic autophagy is suppressed in the presence of insulin resistance and hyperinsulinemia: inhibition of FoxO1-dependent expression of key autophagy genes by insulin [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (45): 31484-31492. DOI:10.1074/jbc.M109.033936.
- [25] Fiorentino L, Cavalera 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.

(收稿日期:2017-06-06)