

· 综述 ·

LPA/LPA₁ 信号通路与糖尿病肾脏疾病

袁紫东 王秋月

中国医科大学附属第一医院内分泌与代谢病科, 沈阳 110001

通信作者: 王秋月, Email: wqycmu123@163.com

【摘要】 糖尿病肾脏疾病 (DKD) 是糖尿病常见的微血管并发症之一, 是导致终末期肾病 (ESRD) 的主要原因。溶血磷脂酸/溶血磷脂酸受体 1 (LPA/LPA₁) 信号通路通过引发下游信号级联介导一系列病理过程, 是多种疾病的重要调节通路。在 DKD 方面, LPA/LPA₁ 信号通路可能在系膜细胞增殖、纤维化、足细胞损伤、炎症反应及氧化应激等多个环节发挥作用, 进而促进 DKD 的疾病进展, 但关于该通路在 DKD 发病的具体分子机制方面的报道有限。深入研究 LPA/LPA₁ 信号通路的作用对 DKD 的诊治具有重要意义。

【关键词】 溶血磷脂酸; 信号通路; 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)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2020.01.013

LPA/LPA₁ signaling pathway and diabetic kidney disease Yuan Zidong, Wang Qiuyue. Department of Endocrinology and Metabolism, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

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

【Abstract】 Diabetic kidney disease (DKD) is one of the common microvascular complications of diabetes mellitus and is the leading cause of end-stage renal disease (ESRD). Lysophosphatidic acid/lysophosphatidic acid receptor 1 (LPA/LPA₁) signaling pathway mediates a series of pathological processes by triggering downstream signaling cascade and is an important regulatory pathway for many diseases. In terms of DKD, LPA/LPA₁ signaling pathway may play a role in mesangial cell proliferation, fibrosis, podocyte injury, inflammation and oxidative stress to promote the progression of DKD. However, there are limited reports on the specific molecular mechanism of this pathway in the pathogenesis of DKD. In-depth study of the role of LPA/LPA₁ signaling pathway is of great significance for the diagnosis and treatment of DKD.

【Key words】 Lysophosphatidic acid; Signaling pathway; Diabetic kidney disease

Fund program: Liaoning Provincial Colleges and Universities "High-end Talents Team Construction Project" ([2014]187); National Natural Science Foundation of Liaoning Province (201602862)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2020.01.013

糖尿病肾脏疾病 (DKD) 的发病机制复杂, 涉及多种细胞、分子途径, 多种因素共同作用。目前认为, 与 DKD 发病相关的因素包括血流动力学改变、高血糖、晚期糖基化终末产物 (AGEs)、蛋白激酶 C (PKC) 途径、多元醇途径、氧化应激、炎症反应、过氧化氢酶体增殖物活化受体 γ (PPAR γ) 活化等诸多方面^[1-2]。

溶血磷脂酸 (LPA) 是一种小分子生物活性甘油磷脂, 其通过至少 6 种 G 蛋白耦联受体 (GPCRs), 即 LPA₁₋₆, 调节不同的细胞效应。LPA/LPA₁ 信号通

路可能在系膜细胞增殖、纤维化、足细胞损伤、炎症反应及氧化应激等环节发挥作用, 进而促进 DKD 的疾病进展, 而抑制 LPA₁ 可以减轻肾脏损伤。笔者认为, LPA/LPA₁ 信号通路可能为研究 DKD 的发病机制提供新思路, 成为治疗 DKD 的新靶点。因此, 通过查阅文献, 本文就 LPA/LPA₁ 信号通路与 DKD 发病机制研究新进展进行综述。

1 LPA/LPA₁ 信号通路概述

LPA 的相对分子质量为 430 000 ~ 480 000, 具有一条脂肪酸链和一个磷酸基团作为其极性头端。

LPA 是甘油脂质从头合成的关键代谢中间体,而且是质膜的组成成分^[3]。20 世纪 60 年代初期,Vogt 等发现 LPA 诱导了离体兔十二指肠的收缩。从那时起,大量研究发现 LPA 具有生物活性,可以调节多种细胞效应,诱导多种细胞过程,包括平滑肌细胞收缩、血小板聚集、细胞增殖、细胞迁移、细胞转化、预防细胞凋亡、减少细胞因子和趋化因子分泌等^[3-5]。

LPA 通过至少 6 种 7 次跨膜 GPCRs 介导的细胞外信号转导,发挥功能作用,这些 LPA 受体被命名为 LPA₁₋₆: 蛋白质名称 LPA₁~LPA₆, 基因名称 LPAR₁~LPAR₆ (人类)和 Lpar₁~Lpar₆ (非人类)。其中, LPA₁~LPA₃ (也分别称为 vzg-1/Edg2、Edg4、Edg7) 是内皮细胞分化基因 (endothelial cell differentiation gene, Edg) 家族的成员; LPA₄ (P2Y9/GPR23)、LPA₅ (GPR92/93) 和 LPA₆ (P2Y5) 属于嘌呤能受体 (P2Y) 家族^[3]。这些 GPCRs 与 4 种 Gα 蛋白 (G_{12/13}、G_{q/11}、G_{i/o} 和 G_s) 中的一种或多种耦联,引发多种信号级联,下游信号级联涉及诸多介质,如 Ras、Rho、Rac、蛋白激酶 B、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、PKC 和腺苷酸环化酶^[4]。

1996 年, LPA₁ 成为第一个被确认的溶血磷脂受体,是 6 种 LPA 受体中研究最为广泛的。哺乳动物 LPAR1 基因编码含有 364 个氨基酸具有 7-TM 结构域的相对分子质量为 41 000 的蛋白质。在小鼠和人类中, LPA₁ 在心脏、脑、胎盘、骨骼肌、肾脏、胰腺、脾脏、前列腺、睾丸、卵巢、小肠和结肠中广泛表达^[6]。研究发现, Lpar1^{-/-} 小鼠显示出 50% 的围产期致死率、存活者体型缩小、颅面畸形和坐骨神经施万细胞凋亡增加,提示 LPA/LPA₁ 信号通路在胚胎发育过程中的重要作用^[7]。近年来,大量研究发现 LPA/LPA₁ 信号转导的异常可能介导一系列病理过程,如神经及精神系统疾病、疼痛、心血管疾病、纤维化、骨骼疾病、癌症、不育和肥胖等^[5-6]。

2 LPA/LPA₁ 信号通路 with DKD 的相关机制

2.1 LPA/LPA₁ 信号通路 with 系膜细胞增殖

肾小球系膜细胞是肾脏固有细胞的主要类型之一,参与 DKD 的发病过程。DKD 早期的病理改变是系膜细胞增殖,随后,细胞的生长停滞,细胞发生肥大。因此,系膜细胞增殖是早期 DKD 病理生理机制的关键因素,最终导致慢性肾功能不全^[8-9]。各种致病因素,包括高血糖、血脂异常、高血压、ACEs、某些细胞因子 (如转化生长因子 β) 均可诱导肾小球系膜细

胞过度增殖和 (或) 肥大,从而导致细胞外基质蛋白 (ECM) 的聚积和肾小球基底膜 (GBM) 增厚^[9]。因此,抑制系膜细胞增殖是早期控制 DKD 进展的方法之一。

LPA 诱导不同类型细胞的增殖,包括系膜细胞,而人们对 LPA 在系膜细胞增殖方面涉及的分子机制知之甚少。Kim 等^[8]通过动物模型和体外实验研究发现, LPA 通过细胞周期调节蛋白刺激肾小球系膜 (SV40 MES13) 细胞的增殖。Krüppel 样因子 5 (KLF5) 的表达在 db/db 小鼠的肾皮质和 LPA 处理的 SV40 MES13 细胞中上调。通过 siRNA 转染下调 KLF5 的表达则抑制了 LPA 诱导的 SV40 MES13 细胞增殖。在 LPA 处理的 SV40 MES13 细胞和 db/db 小鼠的肾皮质中, MAPK 被激活,随后早期生长反应因子 1 (Egr1) 的表达增加。另外, LPA 显著增加 SV40 MES13 细胞中 Ras 相关 C3 肉毒杆菌毒素底物 (Rac1) GTP 酶的活性, LPA 诱导的过度增殖通过抑制 Rac1 活性而减弱。基于这些结果,可得出结论, Rac1/MAPK/KLF5 信号通路是 LPA 在 DKD 模型中诱导系膜细胞增殖的机制之一。该研究并未讨论 LPA₁ 的表达水平以及 LPA₁ 与 Rac1/MAPK/KLF5 信号通路的作用关系。曾有研究发现,在肿瘤细胞中, Rac1 激活由 LPA₁ 信号通路介导^[10]。因此,推测在系膜细胞中, LPA 诱导的 Rac1 活化由 LPA₁ 介导。未来关于 LPA/LPA₁ 信号通路促进系膜细胞增殖及其分子机制方面应进行进一步实验研究。

2.2 LPA/LPA₁ 信号通路 with 足细胞损伤

足细胞、内皮细胞和 GBM 构成肾小球滤过屏障。在 DKD 早期即观察到足细胞结构及功能异常。足细胞的修复和 (或) 再生能力有限,是高度分化的终末细胞,足细胞损伤将导致蛋白尿和进行性肾小球硬化,足细胞损伤的程度是 DKD 的主要预后决定因素之一^[11-12]。内皮型一氧化氮合酶基因敲除 (eNOS^{-/-}) db/db 小鼠模型为加速型 DKD 模型,其具有与人类 DKD 相似的进行性肾病的独特特征,包括早期明显的蛋白尿、系膜溶解、小动脉玻璃样变性、局灶节段性肾小球硬化和结节性肾小球硬化以及中度高血压。在 eNOS^{-/-} db/db 小鼠 8 周龄时即可观察到足细胞损伤的超微结构证据,如空泡聚积、假性囊肿、足突消失和胞浆内电子致密液滴^[5,13]。Zhang 等^[5]研究发现,在非糖尿病小鼠中, LPA₁ 和 LPA₃ 主要在肾小管上皮细胞中表达,在肾小球中极少表达。然

而,在 $eNOS^{-/-}$ db/db 小鼠的肾小球中, LPA_1 和 LPA_3 表达均增加。用nephlin(足细胞标志物)进行双重免疫荧光染色表明,肾小球中 LPA_1 和 LPA_3 的表达增加主要发生在足细胞,但也存在于其他肾小球细胞类型。而通过BMS002(LPA_1/LPA_3 拮抗剂)处理,可明显减轻小鼠足细胞损伤。因此,推测 LPA/LPA_1 可能参与介导足细胞损伤而在 DKD 进展中发挥作用,但由于相关报道有限,仍需进一步探讨其具体机制。

2.3 LPA/LPA_1 信号通路与纤维化 纤维化可被看作是一个不受控制的愈合过程,其导致 ECM 的过度聚积。各种刺激(感染、自身免疫反应、机械损伤等)可导致组织损伤,从而产生修复过程替换受损细胞。在慢性组织损伤中,促纤维化介质持续产生会导致不受控制的愈合过程,与过度 ECM 重塑相关的结缔组织替代受损细胞,最终导致瘢痕形成^[14]。

近年来研究发现, LPA 与肾脏、肺、皮肤纤维化密切相关^[15-18]。而肾脏纤维化是慢性肾病发展为终末期肾病的主要过程。肾脏纤维化的发展涉及一系列进行性过程,包括肾小球硬化、肾小管间质纤维化(TIF)和肾脏血管系统的变化(肾小球和肾小管周围毛细血管的丢失),进而导致肾功能持续下降,最终导致终末期器官衰竭。在单侧输尿管梗阻动物模型(该模型以加速的方式模拟肾脏纤维化的进展)中发现,单侧输尿管梗阻后, LPA 的细胞外释放增加约 3 倍, LPA_1 的表达明显上调,而 $LPA_1^{-/-}$ 小鼠与 $LPA_1^{+/+}$ 小鼠相比,肾纤维化的发展明显降低;应用 LPA_1/LPA_3 拮抗剂 Ki16425,可显著抑制纤维化并降低促纤维化细胞因子结缔组织生长因子和转化生长因子 β 在肾脏中的表达^[17]。使用高度选择性 LPA_1 拮抗剂 AM095 获得了类似的抗纤维化活性^[18]。类似地,肾毒性血清模型是另一种肾脏纤维化模型,其特点为快速进行性肾小球肾炎,其后缓慢出现肾小管-间质纤维化。在肾毒性血清模型中也观察到肾脏表达 LPA_1 显著增加^[17]。总之,通过以上不同的实验研究可以证实 LPA/LPA_1 在纤维化中的作用。因此, LPA_1 拮抗剂是否可以应用于临床领域,成为治疗肾脏纤维化的药物靶点,将是未来的研究方向。

2.4 LPA/LPA_1 信号通路与炎症反应、氧化应激 慢性低度炎症反应和免疫反应在 DKD 发病机制中起着至关重要的作用。据报道,DKD 患者的肾脏组

织中存在炎症细胞浸润以及细胞黏附分子、趋化因子和促炎细胞因子的表达增加^[19]。此外,氧化应激在 DKD 的发生和发展中也起重要作用。过度的氧化应激激活多种细胞内信号通路,刺激转录因子,从而导致 ECM 沉积增加,基质降解减少,最终导致肾小球硬化和肾脏纤维化^[20]。Toll 样受体(TLRs)是一类模式识别受体,介导炎症反应和免疫反应,TLR4通常由免疫细胞中的脂多糖或非免疫细胞中的内源性配体(如热休克蛋白)激活。核因子- κB 是 TLR4信号通路的下游效应蛋白,是一种核转录因子,可介导多种炎症反应过程^[21-22]。据报道,TLR4/核因子- κB 信号通路与糖尿病和 DKD 的进展有关^[23]。活性氧簇是氧化应激的关键物质,NADPH 氧化酶是在各种病理条件下产生活性氧簇的重要酶促来源,而研究发现,TLR4也可以激活NADPH氧化酶,从而导致活性氧簇产生^[20,24]。Lee等^[25] 研究发现,在 SV40 MES13 细胞以及糖尿病小鼠肾脏中, LPA 处理增加了TLR4和NADPH氧化酶的表达,进而增加活性氧簇的产生。 LPA 诱导的炎症反应因子和纤维化因子的表达由TLR4和NADPH氧化酶介导。在链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠肾脏中, LPA_1 的表达与氧化应激呈正相关。而特异性 LPA_1 拮抗剂 AM095,通过抑制 TLR4/核因子- κB 和NADPH氧化酶系统,从而抑制糖尿病小鼠肾脏组织炎症反应信号级联反应,有效预防 DKD 的发病,提示 LPA_1 拮抗剂可能为 DKD 潜在的治疗靶点。目前关于 LPA/LPA_1 在 DKD 炎症反应与氧化应激方面的报道有限,未来有待更全面的研究。

3 LPA/LPA_1 信号通路与 DKD 在临床方面的进展

在临床研究方面,Shimizu等^[26]通过回顾性、单中心队列研究发现,2 型糖尿病合并 DKD 患者的血清 ATX(一种产生 LPA 的酶)水平与蛋白尿和 DKD 有关。而Saulnier-Blache等^[27]发现,DKD 患者尿液中 LPA 含量增加,说明其参与人类 DKD 的发生。Michalczyk等^[17]研究发现,慢性肾脏疾病患者中,进行保守治疗、腹膜透析以及接受肾移植患者的血浆 LPA 水平与健康志愿者相比明显升高,证实慢性肾脏疾病与血浆 LPA 水平升高有关。然而,在 DKD 中尚未查阅到关于血液 LPA 水平的定量信息。

4 结语

LPA/LPA_1 信号通路可能通过调节系膜细胞增殖、纤维化、足细胞损伤、炎症反应及氧化应激等过

程参与 DKD 的进展。尽管 LPA/LPA₁ 通路在 DKD 发病的具体分子机制有待深入研究, LPA/LPA₁ 通路对于进一步理解 DKD 的发病机制具有重要意义, 它可能成为 DKD 治疗的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Lin YC, Chang YH, Yang SY, et al. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease[J]. J Formos Med Assoc, 2018, 117(8): 662-675. DOI: 10. 1016/j. jfma. 2018. 02. 007.
- [2] Ilyas Z, Chaiban JT, Krikorian A. Novel insights into the pathophysiology and clinical aspects of diabetic nephropathy[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2017, 18(1): 21-28. DOI: 10. 1007/s11154-017-9422-3.
- [3] Valdés-Rives SA, González-Arenas A. Autotaxin-lysophosphatidic acid: from inflammation to cancer development[J]. Mediators Inflamm, 2017, 2017: 9173090. DOI: 10. 1155/2017/9173090.
- [4] Hernández-Araiza I, Morales-Lázaro SL, Canul-Sánchez JA, et al. Role of lysophosphatidic acid in ion channel function and disease[J]. J Neurophysiol, 2018, 120(3): 1198-1211. DOI: 10. 1152/jn. 00226. 2018.
- [5] Zhang MZ, Wang X, Yang H, et al. Lysophosphatidic acid receptor antagonism protects against diabetic nephropathy in a type 2 diabetic model[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(11): 3300-3311. DOI: 10. 1681/ASN. 2017010107.
- [6] Gonzálezgil I, Zian D, Vázquez-Villa H, et al. The status of the lysophosphatidic acid receptor type 1 (LPA₁R)[J]. Med Chem Comm, 2015, 6(1): 13-23. DOI: 10. 1039/C4MD00333K.
- [7] Yung YC, Stoddard NC, Mirendil H, et al. Lysophosphatidic acid signaling in the nervous system[J]. Neuron, 2015, 85(4): 669-682. DOI: 10. 1016/j. neuron. 2015. 01. 009.
- [8] Kim D, Li HY, Lee JH, et al. Lysophosphatidic acid increases mesangial cell proliferation in models of diabetic nephropathy via Rac1/MAPK/KLF5 signaling[J]. Exp Mol Med, 2019, 51(2): 18. DOI: 10. 1038/s12276-019-0217-3.
- [9] Wang D, Guan MP, Zheng ZJ, et al. Transcription factor Egr1 is involved in high glucose-induced proliferation and fibrosis in rat glomerular mesangial cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(6): 2093-2107. DOI: 10. 1159/000430177.
- [10] Ray U, Roy SS. Aberrant lipid metabolism in cancer cells-the role of oncolipid-activated signaling[J]. FEBS J, 2018, 285(3): 432-443. DOI: 10. 1111/febs. 14281.
- [11] Ilatovskaya DV, Levchenko V, Lowing A, et al. Podocyte injury in diabetic nephropathy: implications of angiotensin II-dependent activation of TRPC channels[J]. Sci Rep, 2015, 5: 17637. DOI: 10. 1038/srep17637.
- [12] Nagata M. Podocyte injury and its consequences[J]. Kidney Int, 2016, 89(6): 1221-1230. DOI: 10. 1016/j. kint. 2016. 01. 012.
- [13] Azushima K, Gurley SB, Coffman TM. Modelling diabetic nephropathy in mice[J]. Nat Rev Nephrol, 2018, 14(1): 48-56. DOI: 10. 1038/nrneph. 2017. 142.
- [14] Humphreys BD. Mechanisms of renal fibrosis[J]. Annu Rev Physiol, 2018, 80: 309-326. DOI: 10. 1146/annurev-physiol-022516-034227.
- [15] Palmer SM, Snyder L, Todd JL, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial of BMS-986020, a lysophosphatidic acid receptor antagonist for the treatment of Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Chest, 2018, 154(5): 1061-1069. DOI: 10. 1016/j. chest. 2018. 08. 1058.
- [16] Castellino FV, Bain G, Pace VA, et al. An autotaxin/lysophosphatidic acid/interleukin-6 amplification loop drives scleroderma fibrosis[J]. Arthritis Rheumatol, 2016, 68(12): 2964-2974. DOI: 10. 1002/art. 39797.
- [17] Michalczyk A, Dołęgowska B, Heryć R, et al. Associations between plasma lysophospholipids concentrations, chronic kidney disease and the type of renal replacement therapy[J]. Lipids Health Dis, 2019, 18(1): 85. DOI: 10. 1186/s12944-019-1040-5.
- [18] Stoddard NC, Chun J. Promising pharmacological directions in the world of lysophosphatidic acid signaling[J]. Biomol Ther (Seoul), 2015, 23(1): 1-11. DOI: 10. 4062/biomolther. 2014. 109.
- [19] Pichler R, Afkarian M, Dieter BP, et al. Immunity and inflammation in diabetic kidney disease: translating mechanisms to biomarkers and treatment targets[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2017, 312(4): F716-F731. DOI: 10. 1152/ajprenal. 00314. 2016.
- [20] Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, et al. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 119. DOI: 10. 1038/s41419-017-0135-z.
- [21] Vidya MK, Kumar VG, Sejian V, et al. Toll-like receptors: significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals[J]. Int Rev Immunol, 2018, 37(1): 20-36. DOI: 10. 1080/08830185. 2017. 1380200.
- [22] Garibotto G, Carta A, Picciotto D, et al. Toll-like receptor-4 signaling mediates inflammation and tissue injury in diabetic nephropathy[J]. J Nephrol, 2017, 30(6): 719-727. DOI: 10. 1007/s40620-017-0432-8.
- [23] Zhu L, Han J, Yuan R, et al. Berberine ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting TLR4/NF-κB pathway[J]. Biol Res, 2018, 51(1): 9. DOI: 10. 1186/s40659-018-0157-8.
- [24] Nadeem A, Ahmad SF, Bakheet SA, et al. Toll-like receptor 4 signaling is associated with upregulated NADPH oxidase expression in peripheral T cells of children with autism[J]. Brain Behav Immun, 2017, 61: 146-154. DOI: 10. 1016/j. bbi. 2016. 12. 024.
- [25] Lee JH, Sarker MK, Choi H, et al. Lysophosphatidic acid receptor 1 inhibitor, AM095, attenuates diabetic nephropathy in mice by downregulation of TLR4/NF-κB signaling and NADPH oxidase[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865(6): 1332-1340. DOI: 10. 1016/j. bbadis. 2019. 02. 001.
- [26] Shimizu M, Furuichi K, Toyama T, et al. Serum autotaxin levels are associated with proteinuria and kidney lesions in Japanese type 2 diabetic patients with biopsy-proven diabetic nephropathy[J]. Intern Med, 2016, 55(3): 215-221. DOI: 10. 2169/internal-medicine. 55. 5473.
- [27] Saulnier-Blache JS, Feigerlova E, Halimi JM, et al. Urinary lysophospholipids are increased in diabetic patients with nephropathy[J]. J Diabetes Complications, 2017, 31(7): 1103-1108. DOI: 10. 1016/j. jdiacomp. 2017. 04. 024.

(收稿日期: 2019-06-24)

(本文编辑: 饶颖)