

基础研究

· 综述 ·

糖尿病肾脏病治疗的新靶点——补体系统

刘向阳 许朝飞 孙蓓 陈莉明

天津医科大学朱宪彝纪念医院, 天津市内分泌研究所, 国家卫生健康委员会激素与发育重点实验室, 天津市代谢性疾病重点实验室 300134

通信作者: 陈莉明, Email: xfx22081@vip.163.com

【摘要】 糖尿病肾脏病是糖尿病常见且严重的并发症之一, 但是目前针对糖尿病肾脏病的治疗仍然有限。补体系统是固有免疫的核心部分, 补体系统的过度激活可导致全身性疾病与炎症反应。越来越多的证据表明, 补体激活参与了糖尿病肾脏病的发生、发展。本文将介绍补体系统在糖尿病肾脏病中的作用, 以及补体靶向治疗作为糖尿病肾脏病治疗靶点的可能性。

【关键词】 糖尿病肾病; 补体系统; 补体激活酶; 膜攻击复合物

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20220209-02009

The complement system as a new target for the treatment of diabetic kidney disease Liu Xiangyang, Xu Chaofei, Sun Bei, Chen Liming. NHC Key Laboratory of Hormones and Development, Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, Chu Hsien- I Memorial Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300134, China

Corresponding author: Chen Liming, Email: xfx22081@vip.163.com

【Abstract】 Diabetes kidney disease is a common and serious complication of diabetes, but the treatment for diabetes kidney disease is still limited. The complement system is the core of innate immunity. The over activation of the complement system can lead to systemic diseases and inflammatory reactions. More and more evidence show that the complement system activation is involved in the occurrence and development of diabetes kidney disease. This article will introduce the role of the complement system in diabetes kidney disease and the possibility of taking the complement system targeted therapy as a therapeutic target for diabetes kidney disease.

【Keywords】 Diabetic nephropathies; Complement system; Complement activating enzymes; Complement membrane attack complex

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20220209-02009

糖尿病肾脏病(DKD)是糖尿病最常见和最严重的并发症之一,在世界范围内近一半的糖尿病患者最终会发展为DKD^[1]。因此,如何避免糖尿病发展为DKD是目前人类社会面临的重大课题。越来越多的证据表明,糖尿病患者中,存在补体通路激活。DKD患者与非糖尿病对照组肾脏差异转录组分析显示,补体通路在DKD患者中明显改变^[2-3]。同时,在DKD患者肾小管中也检测到C5a水平升高,且C5a染色强度与肾脏疾病进展呈正相关^[4]。以上发现均提示,补体系统激活可能参与了DKD的发生和发展。

1 补体系统概述

补体系统是固有免疫系统的主要效应机制之一,是抵御病原体入侵的第一道防线。它识别外来

细胞并诱导溶解/杀死细胞和引起炎症反应。不同的触发因素会激活3种不同的补体途径,包括经典途径(CP)、凝集素途径(LP)和旁路途径(AP)^[5]。

CP由IgM/IgG簇启动。多功能模式识别分子(PRM)C1q通过直接识别微生物和凋亡细胞表面上不同结构或通过内源性PRM(如免疫球蛋白和穿透素)激活补体。LP的激活过程与CP相似,甘露糖结合凝集素(MBL)和纤维胶凝蛋白作为PRM,主要识别碳水化合物模块。AP代表3个不同但部分重叠的过程。生理情况下,补体调节因子(如补体因子H、补体因子I和膜辅因子蛋白)持续抑制AP,但当炎症或细胞损伤下调这些调节因子时,AP就会迅速升级,使这种微调失去平衡。通过将C3切割成活性片段C3a和C3b激活补体,产生级联反

应。3 条途径的下游激活途径均相同:在 C3 转化酶和 C5 转化酶的作用下,产生 C5a 与 C3a 等过敏毒素,介导组织损伤,同时形成膜攻击复合物(MAC)介导溶细胞效应^[6](图 1)。

2 DKD 中补体因子的变化

有证据表明补体蛋白可作为早期 DKD 的生物标志物以及糖尿病进展至 DKD 的预测因子。研究发现,与尿蛋白阴性患者相比,伴有 DKD 的 1 型糖尿病(T1DM)的患者 MBL 水平显著升高,而且 T1DM 患者早期出现 MBL 水平升高与随后出现持续性微量蛋白尿或大量蛋白尿显著相关^[7]。在 T1DM 中,合并 DKD 患者的 MBL 水平明显高于正常白蛋白尿患者^[8],而且 MBL 水平单独或与超敏 C 反应蛋白联合可预测 T1DM 患者蛋白尿的进展。

关于 C3 在 T1DM 中的变化,目前存在争议^[9-10]。一项在一般人群中的研究提示,基线血浆 C3 浓度升高与人群中罹患 DKD 的风险增加显著相关,这表明 C3 与 DKD 之间可能存在因果关系。然而,一项来自中国经肾活检证实的 DKD 队列研究显示,C3 水平降低与患者肾功能恶化和肾小球损伤相关^[10],与之前结果不符。对于伴有 DKD 的 T1DM 患者血清 C3 下降的可能解释是补体的异常激活导致血清中 C3 的过度消耗和分解,并沉积在肾组织中,或作为蛋白尿的一部分通过受损的肾小球滤过屏障排出体外。另外,与无肾病的糖尿病患者相比,DKD 患者的血浆 C1q 和 Bb 均升高^[11]。其他补体激活标志物,如 C4d、C3a、C5a 和 C5b-9 在 DKD 患者中也同样上调^[11]。

与临床研究类似,在糖尿病的动物模型中发现,补体系统在肾脏中明显上调。在 24 周龄的 ob/ob 糖尿病小鼠模型的肾小球中发现,C3 是表达上调最明显的差异表达基因之一,而 Daf 和 Cd59 是下调最明显的差异表达基因^[12]。肥胖/糖尿病/自发性高

血压性心力衰竭的大鼠模型的肾脏转录组学分析显示,与正常大鼠相比,C3 是大鼠模型上调最显著的基因之一,而补体级联系统的其他成分包括 C1q、C2、C4、C6、C8 和 C9 也显著上调^[13]。

3 DKD 中,补体被激活的可能机制

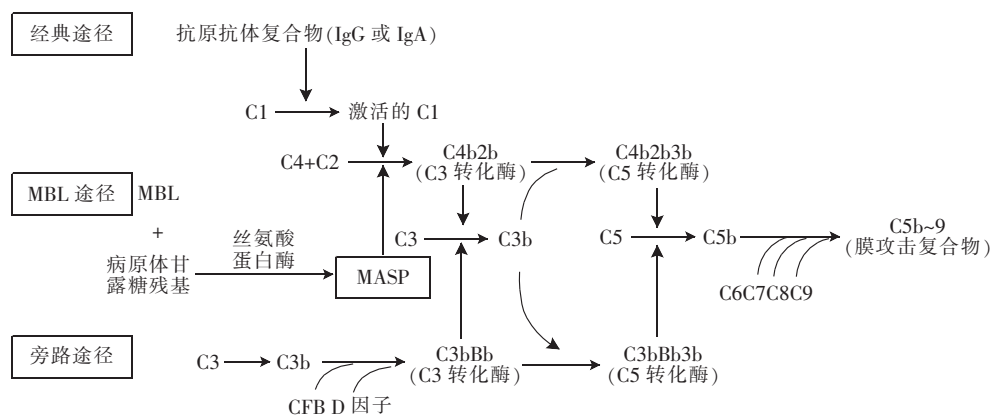
目前认为,有两个关键的机制参与了补体系统在 DKD 中的激活:首先,由于糖尿病中蛋白质糖基化加速,导致 LP PRM 与糖基化的蛋白质结合^[14],激活补体 LP。其次,由于高糖导致补体调节蛋白糖基化增加,调节能力降低,刺激补体自身攻击。正常情况下,CD59 通过限制 C9 聚合而特异性抑制 MAC 的形成。在人类内皮细胞中,CD59 的糖基化降低其 MAC 抑制功能,随后增加对 MAC 诱导的生长因子释放的敏感性^[15]。

4 补体激活导致 DKD 肾损害的机制

4.1 MAC MAC 及其裂解孔无疑是补体级联反应中最为公认的效应器。在有核细胞上,MAC 对质膜起溶解作用^[16]。同时,在有核细胞膜中以亚裂解水平组装的裂解孔可触发一系列促炎反应,包括释放诱导细胞活化和组织损伤的炎性细胞因子^[16]。此外,将 MAC 的亚裂解孔插入细胞膜可触发一系列生长因子和细胞因子的释放,如碱性成纤维细胞生长因子、白细胞介素(IL)-1、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1 和血小板衍生生长因子(PDGF)等^[17]。

4.2 过敏毒素 C3 和 C5 的作用 过敏毒素受体广泛表达于整个肾脏。C3aR 在正常人肾脏的肾小球上皮细胞和近端肾小管细胞中表达,但在系膜细胞或肾小球内皮细胞中不表达。C5aR1 在系膜细胞、足细胞和近端肾小管上皮细胞中表达。足细胞可以表达大多数补体成分,包括 C3、C3aR 和 C5aR,以及形成 MAC 的重要成分,如 C4、C5、C6、C8 和 C9 等^[18]。

C3a 和 C5a 可通过上调其各自的受体 C3aR 和



注:MBL,甘露糖结合凝集素;MASP,甘露糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白

图 1 补体激活途径示意图

C5aR1 以及人近端肾小管细胞中的转化生长因子- β 1 与结缔组织生长因子途径诱导肾小管上皮向成纤维细胞转化。体外实验表明, C3a 可以刺激近端肾小管细胞产生 I 型胶原^[19], C5a 可以刺激小鼠肾小管细胞分泌转化生长因子- β 。此外, C5a 是一种表观遗传介质, 可以触发那些参与或是部分参与 Wnt/ β -连环蛋白信号传导的基因的低甲基化, 如人肾小管上皮细胞中的 *BCL9*、*CYP11B1* 和 *CDK6*^[20]。

4.3 激活炎性小体 糖尿病患者补体激活可能与炎性小体有关。这个过程需要非溶解性 MAC 及补体激活产生的过敏毒素 C3a 和 C5a 参与。现已证实, 过敏毒素 C5a 是 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 33 (NLRP3) 炎性小体激活的调节剂。C5a 的作用有可能(至少部分)通过诱导核因子- κ B 活化以及激活和促进活性氧簇(ROS)的产生介导^[21-22]。

4.4 线粒体稳态与免疫代谢 有研究表明, 在线粒体氧化磷酸化解耦联剂刺激解耦联后, 用 C5a 刺激人类近端小管细胞可引起线粒体呼吸的变化^[23]。此外, 用特异性 C5aR1 拮抗剂 PMX53 治疗的链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠肾皮质的转录组学显示, 前 10 个受调节的信号途径中有 5 个参与细胞代谢, 包括糖酵解、线粒体脂肪酸 β -氧化和脂肪酰辅酶 A 生物合成^[23]。对脂质组学特征的研究显示糖尿病肾脏中的心磷脂重建异常, 这是线粒体结构和生物能量学破坏的主要标志, 这些变化可通过 PMX53 治疗得以恢复^[23]。

4.5 补体与氧化应激 另一个未被充分探讨的补体在糖尿病中介导肾损伤机制是氧化应激^[23-24]。线粒体被认为是细胞内 ROS 生成的主要场所, 在基础状态下呼吸链复合物贡献约 80% 的超氧化物^[25]。有研究显示, 细胞内 C5aR1 激活可通过线粒体 ROS 的产生在 CD4⁺T 细胞中诱导 NLRP3 炎性小体激活。然而, 关于补体调节线粒体内 ROS 生成的确切机制仍不得而知。

5 DKD 中针对补体途径的治疗措施

迄今为止, 很少有补体靶向治疗应用于临床, 主要是因为感染风险的增加。C1 酯酶抑制剂是目前已知的唯一一种既能通过 CP, 又能通过 LP 对补体系统进行调节的血浆蛋白酶抑制物, 目前应用范围包括遗传性血管性水肿^[26], 脓毒症与内毒素血症等, 另外有研究显示在缺血再灌注损伤、移植排斥反应^[26]、热损伤及视神经脊髓炎等疾病中也有作用。Narsoplimab 是一种靶向 MBL 相关丝氨酸蛋白酶-2 (MASP-2) 的单克隆抗体, 一项 III 期临床研究发现, Narsoplimab 可以显著降低 IgA 肾病患者的蛋白尿并维持肾小球滤过率的稳定^[27]。最著名的补体靶

向治疗药物是依库丽珠单抗, 目前已经被批准用于阵发性夜间血红蛋白尿 (PNH) 和非典型溶血性尿毒症综合征 (aHUS)^[28]。然而, 目前还没有考虑对人类 DKD 进行补体靶向治疗。

最近, 其他旨在抑制补体级联途径更下游效应子的补体靶向治疗已取得相当大的进展, 例如过敏毒素受体抑制剂 C3aR 和 C5aR1。阿瓦考班 (avacopan) 是一种口服 C5a 受体拮抗剂, 目前在日本和美国已被批准用于治疗显微镜下多血管炎 (MPA) 和肉芽肿伴多血管炎 (GPA), 一项随机对照试验证实, 中性粒细胞胞浆抗体相关小血管炎患者中, 阿瓦考班可以作为糖皮质激素的替代方案, 并且有更好的长期缓解率^[29]。

C3aR 拮抗剂 SB290157 被证明能减轻 T2DM 大鼠模型中的蛋白尿和改善肾纤维化, 并能抑制高糖条件下人肾小球内皮细胞的炎症和纤维化标志物^[30-31]。在 ob/ob 小鼠中, SB290157 对 C3aR 的抑制能减少足细胞的丢失并使足细胞线粒体正常化, 包括使影响线粒体 ATP 和 ROS 产生的 Atp5i 和 Sod2 表达恢复正常^[32]。然而, 非特异性 C3aR 拮抗剂 SB290157 已被证明在多种细胞系中对 C3aR 具有激动剂活性, 并且对 C5aR2 具有部分激动剂活性^[33]。

早期探索 C5a/C5aR1 在 DKD 发病机制中作用的研究使用了非特异性 C5a/C5aR 抑制剂。已证明 C5 和因子 I 的非特异性抑制剂 K-76 一元羧酸钠 (K-76 COONa) 在 T2DM 大鼠 OLETF 模型中可减少蛋白尿^[34]。随着更多特异性抑制剂的出现, C5aR1 在 DKD 中的作用越来越明显。这些临床前研究以及前面描述的临床研究的证据进一步强化了 C5a/C5aR1 信号可能是 DKD 关键介质的概念。

另外, 研究发现二肽基肽酶抑制剂可以抑制补体 LP。在 Ingeborg 等人的研究中, 所有临床上应用的二肽基肽酶抑制剂在细胞实验中均可以以一种剂量依赖的模式抑制补体 LP 的激活; 在体内实验中, 与安慰剂组相比, 应用西格列汀 100 mg 的患者血清中 MBL、可溶性 MAC 以及补体 C4b 均显著下降, 提示二肽基肽酶抑制剂可能通过独立于降糖作用之外的机制发挥肾脏保护及抗炎作用。

尽管临床前研究取得了令人满意的结果, 但迄今为止, 还没有应用过敏毒素受体抑制剂治疗 DKD 的临床研究^[35]。鉴于许多基础实验已表明 C3aR 和 C5aR1 抑制剂对 DKD 具有肾保护作用, 补体作为 DKD 治疗的一个可能的新靶点, 值得进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Alicie RZ, Cox EJ, Neumiller JJ, et al. Incretin drugs in diabetic kidney disease: biological mechanisms and clinical evidence [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2021, 17(4): 227-244. DOI: 10.1038/s41581-020-00367-2.
- [2] Woroniecka KI, Park AS, Mohtat D, et al. Transcriptome analysis of human diabetic kidney disease [J]. *Diabetes*, 2011, 60(9): 2354-2369. DOI: 10.2337/db10-1181.
- [3] Tan SM, Snelson M, Stergaard JA, et al. The complement pathway: new insights into immunometabolic signalling in diabetic kidney disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2022, [Epub ahead of print]. DOI: 10.1089/ars.2021.0125.
- [4] Yiu WH, Li RX, Wong DWL, et al. Complement C5a inhibition moderates lipid metabolism and reduces tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2018, 33(8): 1323-1332. DOI: 10.1093/ndt/gfx336.
- [5] Fan X, McCullough RL, Huang E, et al. Diagnostic and prognostic significance of complement in patients with alcohol-associated hepatitis [J]. *Hepatology*, 2021, 73(3): 983-997. DOI: 10.1002/hep.31419.
- [6] Van de Walle I, Silence K, Budding K, et al. ARGX-117, a therapeutic complement inhibiting antibody targeting C2 [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147(4): 1420-1429. e7. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.08.028.
- [7] Hovind P, Hansen TK, Tarnow L, et al. Mannose-binding lectin as a predictor of microalbuminuria in type 1 diabetes: an inception cohort study [J]. *Diabetes*, 2005, 54(5): 1523-1527. DOI: 10.2337/diabetes.54.5.1523.
- [8] Guan LZ, Tong Q, Xu J. Elevated serum levels of mannose-binding lectin and diabetic nephropathy in type 2 diabetes [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119699. DOI: 10.1371/journal.pone.0119699.
- [9] Fujita T, Hemmi S, Kajiura M, et al. Complement-mediated chronic inflammation is associated with diabetic microvascular complication [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2013, 29(3): 220-226. DOI: 10.1002/dmrr.2380.
- [10] Zhang J, Wang Y, Zhang R, et al. Implication of decreased serum complement 3 in patients with diabetic nephropathy [J]. *Acta Diabetol*, 2018, 55(1): 31-39. DOI: 10.1007/s00592-017-1060-4.
- [11] Li XQ, Chang DY, Chen M, et al. Complement activation in patients with diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Metab*, 2019, 45(3): 248-253. DOI: 10.1016/j.diabet.2018.04.001.
- [12] Chittka D, Banas B, Lennartz L, et al. Long-term expression of glomerular genes in diabetic nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2018, 33(9): 1533-1544. DOI: 10.1093/ndt/gfx359.
- [13] Kelly KJ, Liu Y, Zhang J, et al. Renal C3 complement component: feed forward to diabetic kidney disease [J]. *Am J Nephrol*, 2015, 41(1): 48-56. DOI: 10.1159/000371426.
- [14] Gedeberg A, Bjerre M, Kjaergaard AD, et al. Mannose-binding lectin and risk of cardiovascular events and mortality in type 2 diabetes: a danish cohort study [J]. *Diabetes Care*, 2020, 43(9): 2190-2198. DOI: 10.2337/dc20-0345.
- [15] Acosta J, Hettinga J, Flückiger R, et al. Molecular basis for a link between complement and the vascular complications of diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(10): 5450-5455. DOI: 10.1073/pnas.97.10.5450.
- [16] Morgan BP. The membrane attack complex as an inflammatory trigger [J]. *Immunobiology*, 2016, 221(6): 747-751. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.04.006.
- [17] Ghosh P, Sahoo R, Vaidya A, et al. Role of complement and complement regulatory proteins in the complications of diabetes [J]. *Endocr Rev*, 2015, 36(3): 272-288. DOI: 10.1210/er.2014-1099.
- [18] Li X, Ding F, Zhang X, et al. The expression profile of complement components in podocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 471. DOI: 10.3390/ijms17040471.
- [19] Braun MC, Reins RY, Li TB, et al. Renal expression of the C3a receptor and functional responses of primary human proximal tubular epithelial cells [J]. *J Immunol*, 2004, 173(6): 4190-4196. DOI: 10.4049/jimmunol.173.6.4190.
- [20] Castellano G, Franzin R, Sallustio F, et al. Complement component C5a induces aberrant epigenetic modifications in renal tubular epithelial cells accelerating senescence by Wnt4/ β -catenin signaling after ischemia/reperfusion injury [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(13): 4382-4406. DOI: 10.18632/aging.102059.
- [21] Arbore G, Kemper C. A novel "complement-metabolism-inflammasome axis" as a key regulator of immune cell effector function [J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(7): 1563-1573. DOI: 10.1002/eji.201546131.
- [22] Iyer SS, He Q, Janczy JR, et al. Mitochondrial cardiolipin is required for Nlrp3 inflammasome activation [J]. *Immunity*, 2013, 39(2): 311-323. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.08.001.
- [23] Tan SM, Ziemann M, Thallas-Bonke V, et al. Complement C5a induces renal injury in diabetic kidney disease by disrupting mitochondrial metabolic agility [J]. *Diabetes*, 2020, 69(1): 83-98. DOI: 10.2337/db19-0043.
- [24] Tsai IJ, Lin WC, Yang YH, et al. High concentration of C5a-induced mitochondria-dependent apoptosis in murine kidney endothelial cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4465. DOI: 10.3390/ijms20184465.
- [25] Coughlan MT, Sharma K. Challenging the dogma of mitochondrial reactive oxygen species overproduction in diabetic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2016, 90(2): 272-279. DOI: 10.1016/j.kint.2016.02.043.
- [26] Bhalla A, Alachkar N, Alasfar S. Complement-based therapy in the management of antibody-mediated rejection [J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2020, 27(2): 138-148. DOI: 10.1053/j.ackd.2019.12.002.
- [27] Lafayette RA, Rovin BH, Reich HN, et al. Safety, tolerability and efficacy of narsoplimab, a novel MASP-2 inhibitor for the treatment of IgA nephropathy [J]. *Kidney Int Rep*, 2020, 5(11): 2032-2041. DOI: 10.1016/j.ekir.2020.08.003.
- [28] Patriquin CJ, Kuo KHM. Eculizumab and beyond: the past, present, and future of complement therapeutics [J]. *Transfus Med Rev*, 2019, 33(4): 256-265. DOI: 10.1016/j.tmr.2019.09.004.
- [29] Jayne DRW, Merkel PA, Schall TJ, et al. Avacopan for the treatment of ANCA-associated vasculitis [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(7): 599-609. DOI: 10.1056/NEJMoa2023386.
- [30] Li L, Chen L, Zang J, et al. C3a and C5a receptor antagonists ameliorate endothelial-myofibroblast transition via the Wnt/ β -catenin signaling pathway in diabetic kidney disease [J]. *Metabolism*, 2015, 64(5): 597-610. DOI: 10.1016/j.metabol.2015.01.014.
- [31] Li L, Yin Q, Tang X, et al. C3a receptor antagonist ameliorates inflammatory and fibrotic signals in type 2 diabetic nephropathy by suppressing the activation of TGF- β /smad3 and IKK α pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113639. DOI: 10.1371/journal.pone.0113639.
- [32] Morigi M, Perico L, Corna D, et al. C3a receptor blockade protects podocytes from injury in diabetic nephropathy [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(5): e131849. DOI: 10.1172/jci.insight.131849.
- [33] Li XX, Kumar V, Clark RJ, et al. The "C3aR antagonist" SB290157 is a partial C5aR2 agonist [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 591398. DOI: 10.3389/fphar.2020.591398.
- [34] Fujita T, Ohi H, Komatsu K, et al. Complement activation accelerates glomerular injury in diabetic rats [J]. *Nephron*, 1999, 81(2): 208-214. DOI: 10.1159/000045278.
- [35] Hawksworth OA, Li XX, Coulthard LG, et al. New concepts on the therapeutic control of complement anaphylatoxin receptors [J]. *Mol Immunol*, 2017, 89: 36-43. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.05.015.

(收稿日期: 2022-02-09)