

自噬：肾脏疾病治疗新靶点

蒋丽丽 王保兴

【摘要】 自噬是一种高度保守的细胞行为，是细胞降解自身受损细胞器及大分子物质的过程。该机制广泛存在于所有真核细胞内，细胞稳态因其存在而得以维持。过去的几十年中，国内外关于自噬的研究颇多。多个研究报道了自噬在哺乳动物不同器官中的生理作用以及自噬激活受损在老年病、异常糖脂代谢、神经退行性病变等一系列病理变化中的作用。目前，旨在调节自噬激活的新疗法受到期待。最近几年里，自噬在肾脏中的作用逐渐为人们所关注，一系列研究表明，自噬与多种肾脏疾病相关。现就自噬的分子机制，肾脏自噬相关研究的新进展以及有待解决的问题作一综述。

【关键词】 自噬； 肾脏疾病

Autophagy: a new therapeutic target for renal diseases Jiang Lili, Wang Baoxing. Department of Nephrology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China
Corresponding author: Wang Baoxing, Email: wbxing@vip.sina.com

【Abstract】 Autophagy is a highly reserved cell process which degrades damaged proteins and organelles in mammalian cells and plays a critical role in maintaining cellular homeostasis. In the past decades, studies on autophagy were carried out, the physiological role of autophagy in different organs of mammals was reported, as well as the role autophagy activation impairment plays in the development of geriatric diseases, abnormal glucose-lipid metabolism, and neurodegenerative disorders. Nowadays, studies were carried out to explore new therapies for regulating autophagy activation. The role of autophagy in the kidney has gradually been interpreted, and reports are indicating an association between autophagy and various kidney diseases. This paper targets on the molecular mechanisms regulating autophagy and new findings about autophagy research on the kidney, as well as issues which have yet to be resolved.

【Key words】 Autophagy; Renal disease

自噬一词 (autophagy) 来源于希腊语，auto意味着“自己”，而phagy的意思是“吃”，自噬的字面意思则是细胞吃掉了自己。这是一个高度保守的细胞行为，所有类型的细胞因其得以维持细胞稳态。在正常情况下，细胞需要基础水平的自噬来保证蛋白质质量并清除损坏的细胞器及大分子物质，如果没有自噬存在，体内废物无法得到清除则会损害正常的细胞功能^[1]。随着细胞老化，基础水平自噬效率逐渐下降。自噬水平降低就会导致损伤蛋白质的堆积、神经变性以及心血管疾病^[2-3]。

一、自噬的概述

细胞自噬这种生命现象广泛存在于从酵母至人类等真核细胞生物中，它分为三种类型：(1) 巨自噬：首先形成一个杯状双层分隔膜结构，即为自噬前体，其中包裹着含待降解成分的细胞质，闭

合为一个小泡，即自噬体。自噬体与溶酶体融合而后形成自噬溶酶体，溶酶体内水解酶对自噬体内细胞成分进行降解；(2) 微自噬：溶酶体膜内凹，直接包裹待降解细胞成分，并且在溶酶体内进行降解；(3) 分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA)：胞质内具有特殊序列蛋白被分子伴侣识别后，与溶酶体膜上特殊受体溶酶体相关膜蛋白结合 (lysosomal-associated membrane protein, LAMP)，进而转位进入溶酶体腔中被消化。巨自噬是自噬的主要形式，实际上，现今大多数文献将巨自噬称为自噬，而当谈及自噬时，我们通常所指的即为巨自噬。

当面临营养不良时，自噬扮演着不可或缺的角色。此时，自噬被诱导，通过降解细胞蛋白质及细胞器生成氨基酸，为细胞补充营养成分并阻止细胞死亡。研究发现，存在自噬缺陷的大鼠在出生后迅速死亡，且其血液中氨基酸水平下降^[4]。自噬的另一个重要作用则是清除细胞内的细胞器及异常蛋

白,如氧化应激的一个重要来源——异常的线粒体,异常线粒体堆积与疾病的进展密切相关^[5]。此外,自噬在正常生理状况及病理状况下调节细胞死亡^[6-7]。在低水平损伤时,自噬发生于凋亡之前,并在细胞存活中起到了初步尝试重建稳态的作用。然而,当损伤的严重程度超过了自噬可承受的范围时,凋亡随之触发^[8-9]。

二、细胞自噬的分子机制

目前普遍认为,自噬的诱导由哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mTOR)所调控,mTOR是一种非典型的丝氨酸激酶,在进化上十分保守,广泛存在于各种哺乳动物中。其位于人类染色体1p36.2,为一种生物大分子,可调节细胞增殖、生长以及自噬。当细胞处于营养充足或缺少应激信号的状态时,mTOR激活,自噬受到抑制。然而,一旦处于营养缺乏或者是应激状态,mTOR活性下降或受到抑制,自噬进程启动。自噬起始于自噬体膜的成核,当mTOR活性下降时,自噬相关蛋白(Atg)13去磷酸化,允许其与另一个Atg形成活化聚合物Atg1。该聚合物启动了自噬体膜的形成,然后自噬体膜延伸包裹待降解的内容物。该膜的延展包括了多种Atg蛋白,其中最重要的是蛋白轻链3(LC3)。微管相关蛋白I轻链3(LC3-I)存在于细胞质中,当其经过翻译后修饰,加上一个脂质基团(磷脂酰乙醇胺),LC3-I即转化为LC3-II,LC3-II特异性插入自噬体新形成的膜上,故细胞内LC3-II水平被普遍地用作自噬的标记物^[10],广泛地应用于免疫组化等实验方法中。当待降解的细胞内容物被自噬体膜完全包裹时,自噬体则与溶酶体融合形成自噬溶酶体。当内容物降解完成后,氨基酸被释放,自噬溶酶体分离,自噬减弱。

三、自噬与疾病

自噬相关分子不仅存在于酵母中,亦存在于哺乳动物中。研究人员建立了一系列的动物模型,这些动物模型的不同器官中分别存在自噬缺陷。通过对这些动物的研究发现,自噬活性减弱很可能导致多种疾病,例如胰岛素分泌减少^[11]、脂肪肝^[12]、肌肉发育失衡^[13]、神经退行性病变^[14]、感染加重^[15]、系膜细胞氧化损伤与衰老^[16]等。总而言之,自噬与哺乳动物多种疾病的进展紧密相连。

四、自噬与肾脏

肾脏由多种细胞组成。既往研究表明肾小球上皮细胞、肾小球系膜细胞以及近端小管细胞亦存在

自噬现象。Mizushima等^[17]制备的GFP-LC3转基因小鼠模型可以在活体中检测自噬。伴随着自噬的激活,LC3蛋白积聚于自噬体膜。因此,通过检测组织中的GFP-LC3信号即可观察到该组织中的自噬水平。禁食状态下,包括肾脏在内的多种器官中都发现了自噬的激活。禁食在心脏、肝脏、骨骼肌及肾近端小管细胞中均加速了自噬的发生。

五、肾脏疾病与自噬

1. 肾小球上皮细胞:肾小球上皮细胞是高度分化的细胞,其再分化能力极其有限,因此维持肾小球滤过屏障及快速清除细胞毒性物质的机制是非常重要的。如前所述,基础状态时,肾小球上皮细胞中存在着高水平的自噬激活。这有力地证明了自噬对于维持肾小球上皮稳态是有部分作用的。

最近几年,利用缺乏肾小球上皮细胞特异性Atg5的研究成果被报道,这些报道指出了肾小球上皮细胞中自噬活性降低的病理意义^[18],在缺乏肾小球上皮细胞特异性Atg5的小鼠中,内质网应激、蛋白尿增加、泛素蛋白积累及小球硬化损害恶化伴随着老化而来,最终导致肾小球上皮细胞损害。在嘌呤霉素氨基核苷(PAN)肾病模型中^[19],自噬激活标记物LC3-II蛋白的表达在PAN肾病早期明显下降,而在恢复期明显加强。综上所述,自噬在维持肾小球上皮细胞稳态方面具有重要作用。

2. 肾脏系膜细胞:自噬在肾小球系膜细胞损伤中报道相对较少,Ding等^[20]在研究中发现,TGF- β 1通过激活Akt途径诱导自噬,由此减轻了血清剥夺造成的系膜细胞凋亡,从而对系膜细胞起到了保护作用。还有学者研究发现,系膜细胞在衰老过程中自噬功能降低,氧化损伤水平增加;高糖可抑制系膜细胞自噬功能、引起系膜细胞氧化损伤和衰老;应用mTOR抑制剂西罗莫司干预可减轻高糖对系膜细胞自噬功能的抑制作用、减轻氧化损伤与衰老;而自噬抑制剂3-MA可增加高糖对系膜细胞自噬功能的抑制作用、进一步加重细胞氧化损伤与衰老。以上研究结果均表明,自噬激活对肾小球系膜细胞是具有保护作用的,增强自噬活性可能延缓肾脏疾病的进展。

3. 近端小管细胞:尽管基础水平时自噬存在于近端小管细胞,但这是一个比较低的水平。有大量的研究报道过急性肾损伤模型近端小管细胞中的自噬。Jiang等^[21]发现,在小鼠缺血再灌注模型中,缺血30 min里,LC3-II没有增加,甚至低于对照组,

再灌注后 48 h 内 LC3-II 及自噬体明显增加,但是,应用自噬抑制剂后,小鼠很快出现了血清尿素氮和血肌酐的增加,甚至出现中度肾衰竭。顺铂损伤^[22]亦可诱导急性肾损伤模型。以上模型中,应激诱导了自噬激活,而自噬活性下降却加剧急性肾损伤,这说明急性应激诱导的自噬具有肾脏保护作用。而在环孢素 A 通过影响线粒体呼吸所诱导的慢性代谢性应激中,自噬激活亦起到了对近端小管上皮细胞的保护作用^[23]。

此外,研究发现,缺乏近端小管上皮细胞特异性 Atg5 的小鼠随着老化会发展为肾小管损伤^[24-25],而自噬可以抑制伴随老化而来的肾小管损伤。随着老化越来越严重,肾小管细胞自噬活性逐步降低,导致异常线粒体堆积或氧化应激加剧,进而引起组织损伤。内质网应激及缺氧是肾小管细胞中促进自噬的刺激因子,在包括糖尿病在内的多种疾病状况下,这些应激发生于肾小管细胞中^[26-27],疾病初期自噬激活,一定程度上抵抗病程进展,保护肾小管上皮细胞。

Li 等^[28]发现,在单侧输尿管结扎诱导小鼠梗阻性肾病模型中,梗阻后 7~14 d 自噬体、LC3 和 beclin-1 显著增加,且其近端小管损伤的数量增加、程度加重,细胞的死亡百分比增加,因此作者认为,长时间的尿路梗阻极有可能导致了自噬性细胞死亡。然而, Kim 等^[29]经过更加深入的研究发现,在大鼠的梗阻性肾脏模型中,单侧输尿管梗阻(UUO)早期梗阻肾脏中自噬被诱导,且其发生在小管细胞凋亡及间质纤维化之前;UUO 后,用 3-甲基腺嘌呤抑制自噬促进小管细胞凋亡及肾间质纤维化;UUO 早期的对侧肾脏中,自噬被诱导并持续;应用自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤干预后,对侧肾脏中细胞增殖增强;由此,作者认为,在梗阻性肾病模型中,自噬对梗阻肾脏具有保护性的作用;对于对侧肾脏而言,自噬对于代偿性细胞增殖具有调节作用。而随着时间变化,细胞自噬水平也发生了变化,UUO 后第 3 天自噬显著增强,2 周时自噬回落至基线水平,故作者认为,梗阻肾中自噬具有时间依赖性,且自噬与 UUO 模型损伤严重程度相关:轻度损伤时,自噬发生在凋亡之前,重度损伤(超过自噬可承受的负荷)时,凋亡发生。作者认为,梗阻肾中自噬的诱导与 Akt-mTOR 信号通路有关,增强自噬活性或许可以减轻 UUO 后梗阻肾中的纤维化,如目前已有报道的 mTOR 抑制剂西罗莫司可减轻梗阻肾间质纤维化,但是目前并无文献证实应用此类

mTOR 抑制剂对于梗阻肾脏中自噬活性的影响程度究竟如何。

六、总结与展望

目前,人们对于自噬调节与内质网应激和缺氧之间关联的研究,正朝着更加深入的方向进行,对于自噬与肾脏疾病之间的联系以及深层分子机制的研究也将越来越透彻。自噬正成为未来治疗肾脏疾病甚至很多其他疾病的新靶点。未来我们可能会发现在老化、糖尿病肾病及肾毒性药物暴露、梗阻性肾病等多种疾病中保护肾脏功能的新疗法。然而,也有研究表明在某些疾病中,过度的自噬可能加剧肾脏损伤^[30-31]。如果将自噬作为新的治疗靶点,相关研究必须确定,哪些情况下自噬对肾脏是有保护作用的,而哪些情况下自噬可能造成肾脏损伤以及何种程度的自噬对肾脏疾病的治疗是最为有益的。

参 考 文 献

- [1] Klionsky DJ, Emr SD. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation[J]. *Science*, 2000, 290(5497): 1717-1721.
- [2] Sciarretta S, Zhai P, Volpe M, et al. Pharmacological modulation of autophagy during cardiac stress[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2012, 60(3): 235-241.
- [3] Kohli L, Roth KA. Autophagy: cerebral home cooking[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(3): 1065-1071.
- [4] Komatsu M, Waguri S, Ueno T, et al. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice[J]. *J Cell Biol*, 2005, 169(3): 425-434.
- [5] Kroemer G, Marino G, Levine B. Autophagy and the integrated stress response[J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 280-293.
- [6] Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(11): 931-937.
- [7] Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: An innocent convict?[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2679-2688.
- [8] Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword[J]. *Science*, 2004, 306(5698): 990-995.
- [9] Rodriguez-Enriquez S, He L, Lemasters JJ. Role of mitochondrial permeability transition pores in mitochondrial autophagy[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(12): 2463-2472.
- [10] Klionsky DJ, Abeliovich H, Agostinis P, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes[J]. *Autophagy*, 2008, 4(2): 151-175.
- [11] Wang S, Sun QQ, Xiang B, et al. Pancreatic islet cell autophagy during aging in rats[J]. *Clin Invest Med*, 2013, 36(2): E72-80.
- [12] Singh R, Kaushik S, Wang Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism[J]. *Nature*, 2009, 458(7242): 1131-1135.
- [13] Grumati P, Coletto L, Sabatelli P, et al. Autophagy is defective in collagen VI muscular dystrophies, and its reactivation rescues myofiber degeneration[J]. *Nat Med*, 2010, 16(11): 1313-1320.
- [14] Ambegaokar SS, Jackson GR. The downward spiral of tau and autolysosomes: a new hypothesis in neurodegeneration[J]. *Autophagy*,

- 2012, 8(7): 1144-1145.
- [15] Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(10): 767-777.
- [16] 李锦, 白雪源, 崔少远, 等. 雷帕霉素对高糖诱导的肾系膜细胞自噬抑制、氧化损伤和衰老的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2012, 32(4): 467-471.
- [17] 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.
- [18] Hartleben B, Godel M, Meyer-Schwesinger C, et al. Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1084-1096.
- [19] Asanuma K, Tanida I, Shirato I, et al. MAP-LC3, a promising autophagosomal marker, is processed during the differentiation and recovery of podocytes from PAN nephrosis[J]. *FASEB J*, 2003, 17(9): 1165-1167.
- [20] Ding Y, Kim JK, Kim SI, et al. TGF- β 1 protects against mesangial cell apoptosis via induction of autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(48): 37909-37919.
- [21] Jiang M, Liu K, Luo J, et al. Autophagy is a renoprotective mechanism during in vitro hypoxia and in vivo ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(3): 1181-1192.
- [22] Periyasamy-Thandavan S, Jiang M, Wei Q, et al. Autophagy is cytoprotective during cisplatin injury of renal proximal tubular cells[J]. *Kidney Int*, 2008, 74(5): 631-640.
- [23] Kimura T, Takahashi A, Takabatake Y, et al. Autophagy protects kidney proximal tubule epithelial cells from mitochondrial metabolic stress[J]. *Autophagy*, 2013, 9(11): 1876-1886.
- [24] Kimura T, Takabatake Y, Takahashi A, et al. Autophagy protects the proximal tubular from degeneration and acute ischemic injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(5): 902-913.
- [25] Liu S, Hartleben B, Kretz O, et al. Autophagy plays a critical role in kidney tubular maintenance, aging and ischemia-reperfusion injury[J]. *Autophagy*, 2012, 8(5): 826-837.
- [26] Kawakami T, Inagi R, Takano H, et al. Endoplasmic reticulum stress induces autophagy in renal proximal tubular cells[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(9): 2665-2672.
- [27] Mimura I, Nangaku M. The suffocating kidney: tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6(11): 667-678.
- [28] Li L, Zepeda-Orozco D, Black R, et al. Autophagy is a component of epithelial cell fate in obstructive uropathy[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(4): 1767-1778.
- [29] Kim WY, Nam SA, Song HC, et al. The role of autophagy in unilateral ureteral obstruction rat model[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2012, 17(2): 148-159.
- [30] Inoue K, Kuwana H, Shimamura Y, et al. Cisplatin-induced macroautophagy occurs prior to apoptosis in proximal tubulars in vivo[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2010, 14(2): 112-122.
- [31] Sansanwal P, Yen B, Gahl WA, et al. Mitochondrial autophagy promotes cellular injury in nephropathic cystinosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(2): 272-283.

(收稿日期: 2013-12-07)

(本文编辑: 张志巍)

蒋丽丽, 王保兴. 自噬: 肾脏疾病治疗新靶点 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8(2): 320-323.

中华医学会