

DOI: 10.13376/j.cbls/2020024

文章编号: 1004-0374(2020)02-0179-09

TGF- β 参与糖尿病肾病的发生发展的机制研究现状

张洪江^{1,2#}, 涂影叶^{2#}, 杜飞^{1,2}, 杨康鹏^{2*}

(1 延边大学附属医院, 延吉 133000; 2 延边大学医学院, 延吉 133000)

摘要: 糖尿病 (DM) 是一种以高血糖为主要特征的代谢性疾病。长期高血糖、胰岛素抵抗和血脂紊乱会引起肾脏等部位的微血管病变, 从而引发肾脏疾病, 称为糖尿病肾病 (diabetes nephropathy, DN)。在 DN 发生发展的过程中, 患者的肾脏通常会出现以肾小球硬化、肾小球及肾小管纤维化为主的病理损伤。DN 的发病机制十分复杂, 目前普遍认为其与代谢紊乱、血流动力学异常、炎症反应、氧化应激和遗传等多个方面的因素相关。而最新研究发现, 转化生长因子- β (TGF- β) 的高表达在包括 DN 在内的多种纤维化疾病中起到关键作用。TGF- β 可能分别或同时通过 Smad 蛋白、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、磷脂酰肌醇激酶 3 (PI3K) 参与的信号转导途径引起肾损伤, 参与 DN 的发生发展。该文就 TGF- β 参与 DN 发生发展机制的研究现状加以综述。

关键词: 糖尿病肾病; 转化生长因子 β ; Smad 蛋白; 磷脂酰肌醇激酶 3; 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号: Q71; R587.1 **文献标志码:** A

Research status of mechanism of TGF- β in the development of diabetic nephropathy

ZHANG Hong-Jiang^{1,2#}, TU Ying-Ye^{1#}, DU Fei^{1,2}, YANG KANG-Juan^{2*}

(1 Clinical College of Yanbian University, Yanji 133000, China; 2 Yanbian University, Yanji 133000, China)

Abstract: Diabetes mellitus (DM) is a kind of metabolic disease characterized by hyperglycemia. Long-term hyperglycemia, insulin resistance and dyslipidemia will cause microvascular lesions in kidney and other tissues, leading to kidney disease. This kind of disease is called diabetic nephropathy (DN). In the process of DN development, the kidneys of patients usually have pathological damage, mainly glomerulosclerosis, glomerular and tubule fibrosis. The pathogenesis of DN is very complicated, and it is generally believed that DN is related to metabolic disorders, hemodynamic abnormalities, inflammatory response, oxidative stress and genetics. However, recent research found that the high expression of transforming growth factor- β (TGF- β) plays a key role in a variety of fibrotic diseases including DN. TGF- β may be involved in renal injury and DN development through the signal transduction pathways participated by Smad protein, mitogen activated protein kinase (MAPK), phosphatidylinositol 3-kinase 3 (PI3K), respectively or simultaneously. In this paper, the mechanism of TGF- β participating in DN was reviewed.

Key words: diabetes nephropathy; transforming growth factor- β ; Smad protein; mitogen activated protein kinase; phosphatidylinositol 3-kinase

糖尿病肾病 (diabetes nephropathy, DN) 属于微血管病变, 作为糖尿病 (DM) 最常见的并发症及致死原因之一, 其早期表现为高血糖所导致的肾小球高滤过、肾小球系膜扩张、蛋白尿及肾小球毛细血管基膜增厚。随着病程的进展, 肾小球滤过率降低, 肾小球及肾小管间质纤维化, 最终导致肾功能衰竭

以至死亡^[1]。我国是糖尿病发病率最高的国家, 而 DN 作为其并发症发病率逐年上升。据统计, 1980 年,

收稿日期: 2019-08-20; 修回日期: 2019-11-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31060154, 81460158)

*通信作者: E-mail: yangkj@ybu.edu.cn

#共同第一作者

我国 14 个省市的调查显示 DM 的患病率为 0.67%^[2], 到 2013 年, 我国成年人 DM 患病率已达 10.4%^[3]。同时, 在 DM 患者中, DN 的发生率也从 25.4% 上涨到了 27.1%^[4]。

Sharma 等^[5]研究发现, 在链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的糖尿病大鼠体内, 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 及其 II 型受体的 mRNA 的表达均增加, 表明 TGF- β 1 是参与 DN 发病过程的主要细胞因子。它主要通过激活或抑制 Smad 蛋白 (small mothers against decapentaplegic, Smads)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPK) 和磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K) 这 3 条通路而参与 DN 的发生发展^[6-9]。本文将综述 TGF- β 分子结构、功能及如何通过 Smads、MAPK 和 PI3K 代谢通路参与或促进 DM 向肾病综合征发生的机制。

1 TGF- β 的结构

TGF- β 是一种由多效性多肽 (polypeptide with multiple validity) 组成的蛋白质家族, 参与细胞水平的调控与介导过程, 包括细胞增殖、分化、黏附和凋亡, 以及组织和机体水平的调控过程, 包括血管生成、伤口愈合、纤维化和血管生成等^[10]。TGF- β 超家族由配体和受体组成, 可细分为 4 个亚族, 分别为 TGF- β 亚族 (TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3)、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMPs) 亚族、活化素 / 抑制素亚族及苗勒管抑制物质 (Mullerian inhibitory substance, MIS) 亚族^[11]。TGF- β 1 和其他所有 TGF- β 超家族配体都是由 3 个二硫键结合在一起的二聚体^[12]。TGF- β 家族成员合成为前肽前体, 然后作为同二聚体或异二聚体进行加工和分泌^[13]。这个家族的大多数配体通过跨膜丝氨酸 / 苏氨酸激酶受体和 Smad 蛋白来调节细胞功能^[14]。

细胞表面 TGF- β 超家族受体共可分为 5 类, 分别为 I ~ V 型受体。目前, TGF- β I 型受体 (TGF- β type I receptor, T β R I) 与 II 型受体 (T β R II) 广泛存在于脊椎动物体内^[15]; III 型受体 (T β R III) 则作为一种含糖蛋白的蛋白聚糖, 与 T β R II 14 一同起到共受体的作用; TGF- β V 型受体 (T β R V), 也称为 IGFBP-3R 或 LRP-1, 是 TGF- β 和胰岛素样生长因子结合蛋白 3 (insulin-like growth factor binding protein 3, IGFBP-3) 的受体, 在大多数细胞类型中与 T β R I、T β R II 和 T β R III 共存; 而 T β R IV 目前则只在垂体细胞中发现^[16]。

2 TGF- β 参与体内多条信号通路的调节

2.1 TGF- β /Smad信号通路参与DN的发生发展

Smads 是一类蛋白质家族, 它们是 TGF- β 超家族受体的主要信号转导物, 对于调节细胞发育和生长至关重要。Smad 家族可分为 3 个亚家族, 分别为受体活化型 Smad (receptor-regulated Smad, R-Smad)、共同通路型 Smad (common Smad, Co-Smad) 以及抑制型 Smad (inhibitory Smad, I-Smad)。其中, R-Smad 又可以分为由 TGF- β 1 所激活的 AR-Smad (Smad2、Smad3) 和由骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMPs) 激活的 BR-Smad (Smad1、Smad5、Smad8、Smad9) 两个亚族^[17]。

位于细胞膜表面的 TGF- β 会与 TGF- β II 型受体结合, 后者募集 TGF- β I 型受体并将其磷酸化, 磷酸化的 T β R I 可招募并磷酸化 R-Smad, 并与 Co-Smad 结合, 形成异源二聚体^[18]。II 型受体是一类组成性活性丝氨酸 / 苏氨酸激酶, 与配体结合后导致构象变化, 诱导募集相应的 T β R I 并与其结合形成复合物。接着, II 型受体将会直接磷酸化 I 型受体中位于激酶结构域的 N 末端 GS 结构域 (富含甘氨酸与丝氨酸), 激活其丝氨酸 / 苏氨酸激酶活性^[19]。活化的 I 型受体通过 Smad 蛋白的相互作用和磷酸化来介导它们的细胞效应, Smad 蛋白是一类保守的转录因子, R-Smad 将直接被 I 型受体磷酸化。在磷酸化后, 两个活化的 R-Smad 与 Co-Smad (Smad 4) 形成复合物, 且该复合物将在细胞核中沉积, 并与各种转录因子、共激活因子或共抑制因子相互作用, 产生相应的生物学效应^[10] (图 1)。

在 DN 的发生发展中, TGF- β /Smad 信号通路主要通过以下两种方式造成肾脏的损伤: (1) 激活 TGF- β /Smad 促进肾小球及小管间质的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的集聚; (2) 促进上皮-间质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)。

2.1.1 促进ECM的集聚

Hills 和 Squires^[8]研究表明, TGF- β /Smad 信号通路的激活能够增加 ECM 中各种成分的表达, 包括纤维连接蛋白 (fibronectin) 和 I、III、IV 型胶原纤维等。已有的研究数据表明, DN 早期和晚期肾小管与肾小球 TGF- β 表达均增加, 且与 DN 患者的血糖控制呈负相关^[21]。而 TGF- β 1 能够促进肾小球及肾小管中的上皮细胞表达 α -平滑肌肌动蛋白 (alpha smooth muscle actin, α -SMA)^[22-23], 使其表型发生改变, 变为肌纤维母细胞, 而由于 α -SMA 阳性

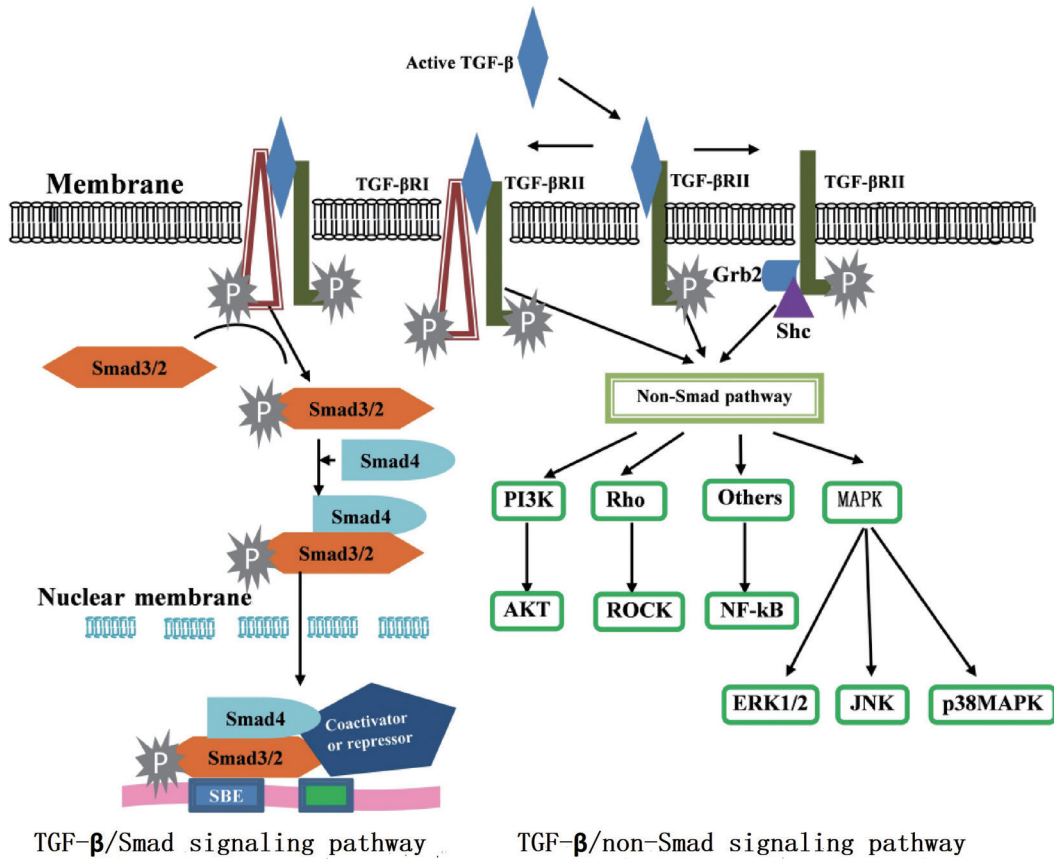


图1 TGF-β参与的信号通路^[20]

的肌纤维母细胞较普通的成纤维细胞能够分泌更多的 ECM 成分,故造成肾小球及小管间质的 ECM 集聚。

此外, 另有研究证实, TGF-β1 可能通过 TGF-β/Smad 信号通路引起肾小球系膜细胞 (glomerular mesangial cells, GMC) 中的 TRPC6 基因表达下调, 导致细胞中钙离子内流减少, GMC 的收缩功能因此降低, 这可能是 DN 早期肾小球滤过率增加的原因之一^[24]。而在 DN 后期, 细胞内钙离子内流出现持续性的异常, 进一步影响 GMC 的分泌功能, 最终导致 ECM 的分泌异常^[25]。此过程可能还与 PKC 信号通路的活化和细胞外信号调节激酶信号通路的活化有关, 但目前未有实验明确证实这一推测。

而在肾脏疾病的动物模型中, 阻断 TGF-β 的表达可减少成纤维细胞的活化及胶原成分的沉积^[26]。有研究证实, TGF-β1 可以下调肾小管上皮细胞中 N-myc 下游调节基因 (N-myc downstream-regulated gene-2, NDRG2) mRNA 及蛋白的表达^[27], 而 NDRG2 的沉默可以增加 TGF-β 诱导的 α-SMA 的 mRNA 及蛋白的表达。与此同时, Smad3 磷酸化程度明显增加, 这也进一步证明 TGF-β 通过 TGF-β/Smad 信号

通路介导肾脏 ECM 集聚及纤维化的发生。此外, 有实验室通过对 ECM 集聚的这一病理过程的研究, 发现醛糖还原酶 (aldose reductase, AR) 有可能通过 miR-200a 及 miR-141 对纤维连接蛋白和 TGF-β2 等促纤维化基因的沉默的方式, 促进肾脏组织中 ECM 的集聚及纤维化^[28]。

2.1.2 促进上皮-间质转化(EMT)

EMT 是肾小管间质纤维化 (tubulinterstitial fibrosis, TIF) 早期阶段的关键环节, 而 TGF-β/Smad 信号通路在 DN 早期肾小管上皮细胞的 EMT 中发挥重要作用^[29-30]。Smad 锚定蛋白 (Smad anchor for receptor activation, SARA) 是 TGF-β/Smad 信号通路中重要的衔接蛋白, 能够介导 Smad2 和 Smad3 与活化后的 TGF-β I 型受体结合, 上述过程可促进其磷酸化, 并介导 TGF-β1 的活化及核转位。SARA 中含有 1 个 SBD 结构域, 可与 Smad2 和 Smad3 结合, 并募集 Smad2 和 Smad3 与 TGF-β 受体结合^[31]。已有研究证实, 由高糖诱导的人肾小管上皮细胞 HK-2 细胞质中 Vimentin 蛋白 (间充质细胞标记物) 表达明显增加, 而 ZO-1 蛋白 (上皮细胞标记物) 表达则

出现下降的趋势,这一发现表明,在高葡萄糖诱导的肾脏细胞中发生了EMT^[32]。在上述过程中,研究人员还发现TGF- β 1的表达出现上调的现象,SARA表达下降。这些实验都证实高糖条件下肾脏细胞发生的EMT与TGF- β /Smad信号通路有关。在后续的实验,研究人员发现,虽然在高糖诱导30 min后,肾脏细胞中磷酸化的Smad2和Smad3水平均增高,但在90 min后,磷酸化的Smad2已降至正常水平,磷酸化的Smad3水平虽然发生下降,但仍高于正常水平^[33]。这一发现提示,TGF- β /Smad信号通路中的Smad3可能作为主要的诱导因子参与DN患者肾脏的EMT。而且,SARA的表达水平与 α -SMA呈负相关,DN患者体内 α -SMA水平的增高,将会导致SARA表达的下降,进而导致EMT的发生^[34]。此外,在人肾近曲小管上皮细胞(human proximal tubular epithelial cells, PTC)中,TGF- β 1/Smad3可下调E-钙黏蛋白的表达,破坏肾小管上皮细胞间的连接,进一步加剧EMT。

2.1.3 损伤足细胞

足细胞凋亡是DM造成肾损伤的一个重要因素,高糖条件下,足细胞的异常损害会促进肾小球系膜扩张,最终导致DN的发生。最近的研究发现,Smad7基因转染后可通过抑制TGF- β /Smad信号通路改善小鼠DN的发生发展。TGF- β /Smad信号通路激活时,Smad2/3磷酸化增多,而Smad7作为I-Smad,它可拮抗Smad2/3的作用,使TGF- β /Smad信号表达水平下降^[35],提示Smad7可能通过降低TGF- β /Smad信号表达而导致足细胞凋亡减少。

2.2 TGF- β /PI3K信号通路参与DN的发生发展

磷脂酰肌醇3激酶(PI3Ks)的活化是通过刺激受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)和受体-PI3K复合物的伴随装配而发生的^[36]。这些复合物定位在PI3K的p110亚基的膜上,该膜在亚基中起到了催化Ptdln(4,5)P2(PIP2)转化为Ptdln(3,4,5)P3(PIP3)的作用。PIP3作为第二信使激活Akt,活化后的Akt通过磷酸化介导多个靶点的活化与抑制,通过多种机制介导细胞的生长与增殖。其中,当人进食后,胰岛 β 细胞分泌胰岛素入血,通过血液循环,与肝细胞膜表面的胰岛素受体结合,这会使得胞浆内 β 亚基上的酪氨酸位点磷酸化,被激活后的胰岛素受体能够继续激活胰岛素受体底物-1/2(insulin receptor substrate-1/2, IRS-1/2),进而激活PI3K和Akt。而Akt作为其下游效应因子,则会调控GSK3等下游分子并使Foxo1磷酸化而失活,这一系列调

节增加肝糖原合成的同时抑制糖异生,从而起到调节血糖的作用^[37]。这表明PI3K/Akt信号通路的失调可能导致人体内的糖代谢紊乱,最终导致DN的发生。有研究证实,Akt激酶在DN患者的肾脏中被TGF- β 激活,TGF- β 有可能通过PI3K/Akt信号通路使Foxo3a的磷酸化程度增加并使其转录失活,这也表明TGF- β /PI3K/Akt信号通路参与了DN的发生发展^[38-39](图2)。

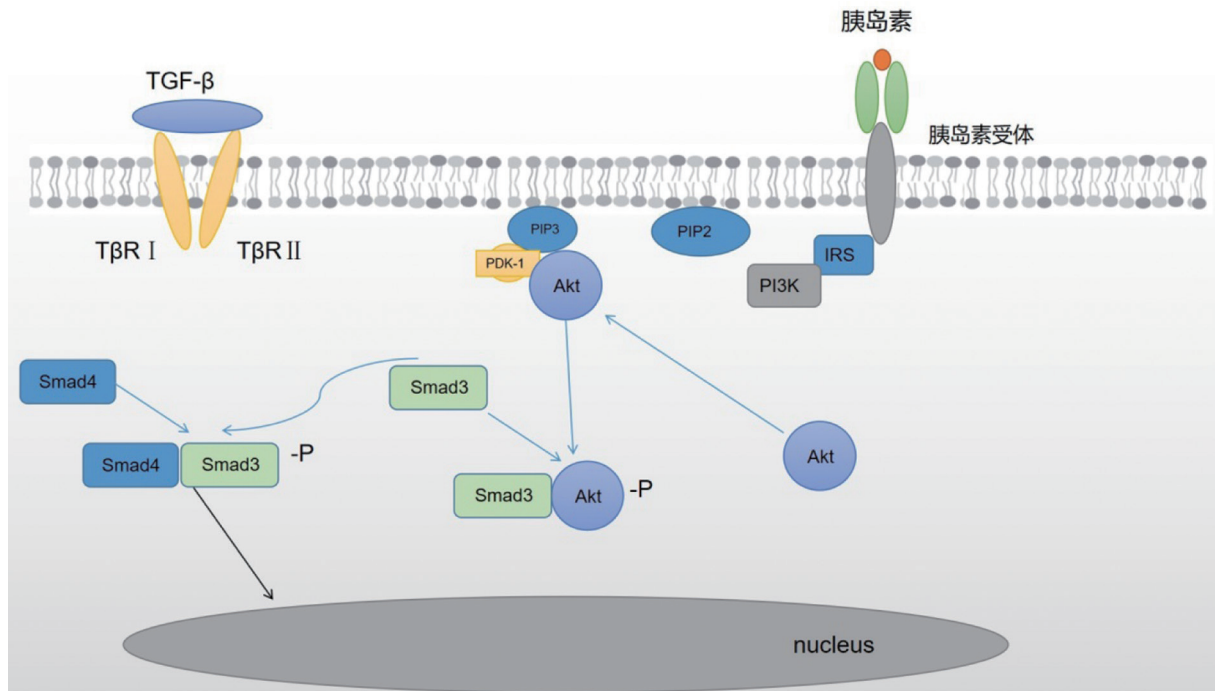
2.2.1 介导肾脏过度氧化应激及炎症反应

根据近年来的研究,TGF- β /PI3K/Akt信号通路还有可能与DN患者肾脏中过度的氧化应激有关^[40]。在糖尿病患者中,磷酸化Akt的表达增加,而在体外用Nac、Ly-294002和Sb-431542等抑制剂,则降低了Akt的磷酸化。这表明DN患者过多的ROS可能会激活TGF- β 1/PI3K/AKT通路。

此外,炎症因子分泌失调与TGF- β /PI3K信号通路可能也存在一定的联系。就目前的研究而言,炎症反应一直是DN患者肾脏损伤的一个重要原因^[41],也是一个研究重点。DN患者血清中C反应蛋白的分泌明显增加^[42-43],C反应蛋白可通过炎症反应,产生氧化应激,造成肾小球内皮细胞的损伤,增加单核细胞对肾血管内皮的黏附和浸润。而多种被证实能够缓解DN患者肾脏损伤的基因,包括白细胞介素-1受体相关激酶1(IL-1 receptor associated kinase, IRAK1)^[44]及TRB3基因^[45],在上调PI3K/Akt通路磷酸化程度的过程中,均伴随了促炎症因子(TNF- α 、IL-1、IL-6)的分泌减少及抗炎因子(IL-10)的分泌增加,提示炎症因子的分泌与释放可能与TGF- β /PI3K/Akt存在某种潜在联系。

2.2.2 参与肾脏纤维化的进展

TGF- β /PI3K/Akt介导肾脏纤维化的推测可在Kattla等^[9]的研究中得到证实:LY-294002(一种TGF- β 的抑制剂)和Akt抑制剂II均抑制TGF- β 1诱导的E-钙黏蛋白表达降低和 α -SMA表达增加,提示PKB/Akt为肾脏纤维化阶段TGF- β 诱导上皮细胞发生EMT的关键介质。Zhou等^[46]的研究也证实,Runt相关转录因子1(Runt-related transcription factor 1, RUNX1)通过增加PI3K亚基p110 δ 的转录,促进了TGF- β 诱导的部分EMT;而小鼠肾小管上皮细胞(renal tubular epithelial cells, RETC)中,Runx1的特异性缺失减轻了肾纤维化。此外,在Elabela蛋白降低PI3K及Akt磷酸化程度的同时, α -SMA的表达也下调,一定程度上减轻了肾脏的纤维化程度^[47]。

图2 TGF- β /PI3K/Akt信号转导途径

2.3 TGF- β /MAPK信号通路参与DN的发生发展

MAPK 是一类丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶家族, 能够接受细胞外的各种刺激, 并通过 MAPK 信号通路的三级激酶级联的结构, 将信号传入细胞核内, 产生相应的生物学效应。MAPK 信号通路主要包括 3 个部分, 按照信号级联的顺序依次为: 丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MKKK)——丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MKK)——MAPK^[48]。MAPK 主要可分为 3 个亚族, 即细胞外信号调节蛋白激酶 (extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)、c-jun 氨基末端激酶 (c-jun N-terminal kinase, JNK) 及 p38 MAPK。其中, ERK 亚族主要由 ERK1/2 组成, 接受来自细胞有丝分裂信号的刺激, 而 JNK 及 p38 MAPK 两个亚族则主要接受来自炎症反应和氧化应激的信号刺激^[49]。2018 年, 任晓梅等^[50]对 DN 患者与正常健康人群的两组差异表达基因进行对比分析, 结果显示, 两组差异表达基因涉及的 48 条信号通路中有 176 个共表达网络关联节点, 而涉及共表达网络关联节点最多的信号通路就是 MAPK 信号通路, 这表明 MAPK 信号通路的调节在 DN 的发生发展中起到重要作用。

2.3.1 促进ECM的过度集聚及肾脏纤维化的发生

Chin 等^[49]研究证实, TGF- β 1 能够介导 Pro-A1(I)

胶原纤维的 mRNA 的表达, 在系膜细胞中诱导 ECM 的合成。而在外源性的 TGF- β 1 的刺激下, 30 min 内 p38 MAPK 和 ERK 的磷酸化程度明显提高, 这一结果表明, TGF- β /MAPK 信号通路通过促进 ECM 的合成介导了 DN 的发生发展。在后续研究中, 为了进一步探究 p38 MAPK 和 ERK 信号通路是否参与了 TGF- β 1 诱导 Pro-A1(I) 胶原纤维表达的过程, 研究者采用了 SB-203580 (针对 p38 MAPK 的特异性抑制剂) 以及 PD-098059 (一种阻止 ERK1/ERK2 通路激活的 MEK1 特异性抑制剂), 结果证明, SB-203580 能够阻断 TGF- β 1 诱导 Pro-A1(I) 胶原纤维表达的过程, 而 PD-098059 则不能, 提示是 TGF- β /p38 MAPK 而非 TGF- β /ERK 在促进 ECM 合成方面起到重要作用。

Voloshenyuk 等^[51]研究表明, TGF- β 1 能够刺激赖氨酸氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 的表达, 增加 I、III 型胶原纤维的合成。LOX 是一种重要的细胞外酶, 负责 I、III 型胶原纤维的翻译后修饰, 指导其形成成熟的胶原纤维, LOX 的过度表达与纤维化有着密切的联系。实验数据表明, TGF- β 1 的表达上调后, LOX 表达明显增加, p38 MAPK、JNK 及 ERK1/2 的磷酸化程度均增高, 而使用 TGF- β 1 的抑制剂后, 上述 MAPK 的 3 个亚族磷酸化程度均下降, LOX 的表达也下调, 证实在 DN 患者体内, TGF- β 1

很有可能经由 MAPK 信号通路调节 LOX 的表达,进一步介导肾脏纤维化的发生。此外, ERK 的抑制剂 U1026 及 PD98059 均能够抑制 TGF- β 1 诱导的 HK-2 细胞中结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 表达增加^[52], 而 CTGF 可通过介导糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 的产生促进肾脏系膜细胞合成胶原蛋白和纤维黏结蛋白, 从而参与纤维化的发生^[53]。这同样也提示, TGF- β /MAPK 可能通过诱导 CTGF 的合成参与肾脏纤维化的发生发展。

3 基于 TGF- β 及其参与的多条信号通路的治疗靶点

TGF- β 在体内的多种信号转导通路, 也为治疗 DN 提供了治疗靶点。目前, 根据 TGF- β 及其参与的信号通路, 可将治疗靶点分为两大类: 靶向于 TGF- β 的抑制剂以及 TGF- β 所参与的信号通路的阻断剂。

3.1 靶向于 TGF- β 的抑制剂

靶向于 TGF- β 的抑制剂主要包括靶向 TGF- β 的抑制剂和靶向 TGF- β 受体的抑制剂。

3.1.1 靶向 TGF-1 的抑制剂

目前, 关于靶向 TGF- β 的小分子抑制剂研究较少, 吡非尼酮是较为常见的一种。吡非尼酮在体内可抑制 TGF- β 的增殖, 从而对成纤维细胞及胶原纤维的生成起抑制作用, 一定程度上治疗包括肺纤维化在内的各种纤维化疾病^[54], 而细胞分裂周期激酶抑制剂 7——XL413 则可以通过 Smad2/4 加强吡非尼酮的抗纤维化作用^[55]。2018 年, Sharma 等^[56]在随机、双盲的对照试验中证实, 吡非尼酮虽然确实可以改善患者的其他功能参数, 如肾小球基底膜扩张等, 但并不能改善 DN 患者的蛋白尿状况。基于目前的研究, 吡非尼酮对于早中期的肾脏纤维化会起到较好的疗效, 而对中晚期 DN 患者的治疗效果则不太理想, 只能延缓纤维化的发生。

此外, TGF- β 的单克隆抗体也是近年来的研究热点。但有学者发现, TGF- β 抗体的临床疗效并不理想, 在一项随机、双盲的对照试验中, 单抗治疗组与对照组患者的血清肌酐浓度并没有出现明显差异^[57-58], 这可能与目前研发的 TGF- β 抗体不能靶向至纤维化部位有关。2017 年, McGaraughty 等^[59]报道称有一种正在研发的药物可以靶向 TGF- β 的特异性 ECM 蛋白 FnEDA, 具有双重特异性, 一部分靶向 FnEDA, 另一部分中和 TGF- β , 在实验中该

药物只在肾脏纤维化区域高度集中, 而未发生纤维化的部位则无药物积聚。然而, 尽管有研究表明, 长期抑制 TGF- β 并不会对高糖诱导的小鼠产生明显的不良反应^[60], 但相关的临床试验仍然比较少, 长期使用全身性 TGF- β 抑制治疗可能会影响伤口愈合、组织修复和抗炎作用。在未有明确的研究结果发表之前, 长期阻断 TGF- β 仍然不是一个明智的决定。

3.1.2 靶向 TGF-2 受体的抑制剂

靶向 TGF- β 受体的抑制剂研究则较深入, 其中以 ALK5 激酶抑制剂的研究最为丰富, 目前已有 LY2157299、EW-7197 及 LY3200882 共 3 种抑制剂进入临床试验阶段, 其中只有 LY2157299 进入了临床试验 III 期阶段^[61], 它除对患者的血流动力学改善起到一定作用以外, 还对抑制肿瘤的侵袭与转移起到重要作用。

3.1.3 其他

有研究表明, Apelin-13 可通过调节组蛋白的乙酰化从而减轻 DN 造成的肾小球肥大、系膜扩张、蛋白尿及肾功能衰竭^[62]。此外, Apelin-13 还可以减轻肾缺血再灌注引起的 TGF- β 异常升高所造成的急性肾损伤^[63], 提示 Apelin-13 可能对 DN 的治疗有一定作用。2019 年, Li 等^[64]研究发现, Leftunomide 和 Benazepril 的联合应用可以降低 STZ 诱导的大鼠体内的 TGF- β 和 TRPC6 含量从而达到治疗效果, 但缺少临床试验的数据支撑。

3.2 TGF- β 参与的信号通路的阻断剂

在 TGF- β /Smad 信号通路的阻断剂方面, 主要是以雷公藤多苷等药物为主, 可抑制 TGF- β /Smad 的过度表达, 从而减轻肾脏损伤, 达到治疗 DN 的效果。临床上, 雷公藤多苷等可有效减轻 DN 中早期患者的 24 h 尿蛋白及血肌酐水平^[65]。而最近研究还发现, Gremlin 作为 BMP 拮抗剂家族中的一种高度保守的分泌蛋白, 在高糖条件下, Gremlin 的表达明显高于正常葡萄糖组, Gremlin 过表达显著抑制了 Nephron 和 Synaptopodin 的表达。在 Gremlin 高表达组中, 包括 Smad2/3 和 MKK 在内的典型 TGF- β 信号通路的磷酸化作用增强^[65]。这也为 DN 的治疗提供了一个新的靶点。

4 展望

TGF- β 是一个庞大的蛋白质超家族, 而 TGF- β /Smad、TGF- β /MAPK 及 TGF- β /PI3K 等信号通路又均为极其复杂的信号网络, 这从一定程度上决定了

TGF- β 在体内的调节作用具有多样性。基于这个原因, 目前对 TGF- β 与 DN 之间的关系还存在一些盲点, 如各个信号通路之间是否存在协同或抑制的作用等, 需要进一步探究。此外, 人体内还存在一些与 DN 发病机制相关的信号通路, 如 WNT 信号通路 (wingless-type MMTV integration site)^[67] 等, 但就目前研究而言, 尚未发现 TGF- β 与这些信号通路间存在相关性。

在基于 TGF- β 及其参与的信号通路的治疗靶点方面, 依然存在研究空间。例如, Smad7 属于抑制型 Smad, 是否可以阻断 TGF- β /Smad 信号通路的转导或抑制其产生的生物学效应, 从而缓解 DN 的症状或治疗 DN。这些治疗靶点可能对 DN 的治疗起到一定的作用, 但仍需大量的研究及临床试验。

综上所述, TGF- β 与体内多种信号通路的相互作用在 DN 的发生发展中发挥了重要的作用, 也为临床上治疗 DN 提供了一定的理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Reutens AT, Atkins RC. Epidemiology of diabetic nephropathy. *Contrib Nephrol*, 2011, 170: 1-7
- [2] Chan JCN, Malik V, Jia W, et al. Diabetes in Asia. *JAMA*, 2009, 301: 2129-40
- [3] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南: 2017年版. *中国实用内科杂志*, 2018, 38: 34-86
- [4] Guo K, Zhang L, Zhao F, et al. Prevalence of chronic kidney disease and associated factors in Chinese individuals with type 2 diabetes: cross-sectional study. *J Diabetes Complications*, 2016, 30: 803-10
- [5] Sharma K, Jin Y, Guo J, et al. Neutralization of TGF- β by anti-TGF- β antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice. *Diabetes*, 1996, 45: 522-30
- [6] Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A. Identification of novel TGF- β /Smad gene targets in dermal fibroblasts using a combined cDNA microarray/promoter transactivation approach. *J Biol Chem*, 2001, 276: 17058-62
- [7] Ji Y, Dou Y, Zhao Q, et al. Paeoniflorin suppresses TGF- β mediated epithelial-mesenchymal transition in pulmonary fibrosis through a Smad-dependent pathway. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37: 794-804
- [8] Hills CE, Squires PE. TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic intervention in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol*, 2010, 31: 68-74
- [9] Kattla JJ, Carew RM, Heljic M, et al. Protein kinase B/Akt activity is involved in renal TGF- β 1-driven epithelial-mesenchymal transition in vitro and in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295: F215-25
- [10] Gordon KJ, Blobel GC. Role of transforming growth factor- β superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782: 197-228
- [11] Wrighton KH, Lin X, Feng XH. Phospho-control of TGF- β superfamily signaling. *Cell Res*, 2009, 19: 8-20
- [12] Khalil N. TGF- β : from latent to active. *Microbes Infect*, 1999, 1: 1255-63
- [13] Hill CS. Transcriptional control by the SMADs. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8: a022079
- [14] Kastin AJ. Handbook of biologically active peptides[M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 2013: 2032
- [15] Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor- β and fibrosis. *World J Gastroenterol*, 2007, 13: 3056-62
- [16] Huang SS, Huang JS. TGF- β control of cell proliferation. *J Cell Biochem*, 2005, 96: 447-62
- [17] van de Laar IM, van der Linde D, Oei EH, et al. Phenotypic spectrum of the SMAD3-related aneurysms-osteoarthritis syndrome. *J Med Genet*, 2012, 49: 47-57
- [18] Budi EH, Duan D, Derynck R. Transforming growth factor- β receptors and Smads: regulatory complexity and functional versatility. *Trends Cell Biol*, 2017, 27: 658-72
- [19] Meng X, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF- β : the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12: 325-38
- [20] 王秋实, 李平. TGF- β 1受体1和2在TGF- β 1调节细胞增殖中的作用. *中国生物化学与分子生物学报*, 2017, 33: 122-7
- [21] Sharma K, McGowan TA. TGF- β in diabetic kidney disease: role of novel signaling pathways. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2000, 11: 115-23
- [22] Dai C, Liu Y. Hepatocyte growth factor antagonizes the profibrotic action of TGF- β 1 in mesangial cells by stabilizing Smad transcriptional corepressor TGIF. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15: 1402-12
- [23] Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol*, 2001, 159: 1465-75
- [24] Graham S, Ding M, Sours-Brothers S, et al. Downregulation of TRPC6 protein expression by high glucose, a possible mechanism for the impaired Ca^{2+} signaling in glomerular mesangial cells in diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 293: F1381-90
- [25] Young BA, Johnson RJ, Alpers CE, et al. Cellular events in the evolution of experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 1995, 47: 935-44
- [26] Neelisetty S, Alford C, Reynolds K, et al. Renal fibrosis is not reduced by blocking transforming growth factor- β signaling in matrix-producing interstitial cells. *Kidney Int*, 2015, 88: 503-14
- [27] Jin Z, Gu C, Tian F, et al. NDRG2 knockdown promotes fibrosis in renal tubular epithelial cells through TGF- β 1/Smad3 pathway. *Cell Tissue Res*, 2017, 369: 603-10
- [28] 刘慧丽, 袁立, 杨云青. 醛糖还原酶遗传缺失可显著减缓 C57BL/6小鼠糖尿病肾病进程. *中华糖尿病杂志*, 2010, 2: 354-61
- [29] Katsuno Y, Qin J, Osés-Prieto J, et al. Arginine methylation of SMAD7 by PRMT1 in TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition and epithelial stem-cell generation. *J Biol Chem*, 2018, 293: 13059-72
- [30] Sato Y, Harada K, Itatsu K, et al. Epithelial-mesenchymal

- transition induced by transforming growth factor- β /Snail activation aggravates invasive growth of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol*, 2010, 177: 141-52
- [31] Tsukazaki T, Chiang TA, Davison AF, et al. SARA, a FYVE domain protein that recruits Smad2 to the TGF β receptor. *Cell*, 1998, 95: 779-91
- [32] 唐文彬, 凌光辉, 孙林, 等. Smad锚着蛋白在糖尿病肾病肾小管上皮细胞转分化中的作用及机制研究. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28: 790-7
- [33] Phanish MK, Wahab NA, Colville-Nash P, et al. The differential role of Smad2 and Smad3 in the regulation of pro-fibrotic TGF β 1 responses in human proximal-tubule epithelial cells. *Biochem J*, 2006, 393: 601-7
- [34] Runyan CE, Hayashida T, Hubchak S, et al. Role of SARA (SMAD anchor for receptor activation) in maintenance of epithelial cell phenotype. *J Biol Chem*, 2009, 284: 25181-9
- [35] Ka SM, Yeh YC, Huang XR, et al. Kidney-targeting Smad7 gene transfer inhibits renal TGF- β /MAD homologue (SMAD) and nuclear factor κ B (NF- κ B) signalling pathways, and improves diabetic nephropathy in mice. *Diabetologia*, 2012, 55: 509-19
- [36] Zhang Z, Zhang X, Zhao D, et al. TGF- β 1 promotes the osteoinduction of human osteoblasts via the PI3K/AKT/mTOR/S6K1 signalling pathway. *Mol Med Rep*, 2019, 19: 3505-18
- [37] Liu P, Cheng H, Roberts TM, et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8: 627-44
- [38] 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 Am Soc Nephrol*, 2006, 17: 3325-5
- [39] Kato M, Putta S, Wang M, et al. TGF- β activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 881-9
- [40] Lu Q, Wang WW, Zhang MZ, et al. ROS induces epithelial-mesenchymal transition via the TGF- β 1/PI3K/Akt/mTOR pathway in diabetic nephropathy. *Exp Ther Med*, 2019, 17: 835-46
- [41] Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Muros-de-Fuentes M, et al. Inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 948417
- [42] Abrahamian H, Endler G, Exner M, et al. Association of low-grade inflammation with nephropathy in type 2 diabetic patients: role of elevated CRP-levels and 2 different gene-polymorphisms of proinflammatory cytokines. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2007, 115: 38-41
- [43] Bessa SS, Hamdy SM, Ali EM. Haptoglobin gene polymorphism in type 2 diabetic patients with and without nephropathy: an Egyptian study. *Eur J Intern Med*, 2007, 18: 489-95
- [44] Zhang Y, Chen X, Yuan L, et al. Down-regulation of IRAK1 attenuates podocyte apoptosis in diabetic nephropathy through PI3K/Akt signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506: 529-35
- [45] Ma Y, Chen F, Yang S, et al. Silencing of TRB3 ameliorates diabetic tubule interstitial nephropathy via PI3K/AKT signaling in rats. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 2816-24
- [46] Zhou T, Luo M, Cai W, et al. Runt-related transcription factor 1 (RUNX1) promotes TGF- β -induced renal tubular epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and renal fibrosis through the PI3K subunit p110 δ . *EBioMedicine*, 2018, 31: 217-25
- [47] Zhang Y, Wang Y, Luo M, et al. Elabela protects against podocyte injury in mice with streptozocin-induced diabetes by associating with the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Peptides*, 2019, 114: 29-37
- [48] Cao Y, Liu Y, Ping F, et al. miR-200b/c attenuates lipopolysaccharide-induced early pulmonary fibrosis by targeting ZEB1/2 via p38 MAPK and TGF- β /smad3 signaling pathways. *Lab Invest*, 2018, 98: 339
- [49] Chin BY, Mohsenin A, Li SX, et al. Stimulation of pro- α 1 (I) collagen by TGF- β 1 in mesangial cells: role of the p38 MAPK pathway. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, 280: F495-504
- [50] 任晓梅, 杨景锋, 刘启玲, 等. 基于基因组学探讨糖尿病肾病的发病原因及其与心血管疾病的关系. *西安交通大学学报: 医学版*, 2018, 39: 266-70
- [51] Voloshenyuk TG, Landesman ES, Khoutorova E, et al. Induction of cardiac fibroblast lysyl oxidase by TGF- β 1 requires PI3K/Akt, Smad3, and MAPK signaling. *Cytokine*, 2011, 55: 90-7
- [52] 陈楠, 邢静萍, 王伟铭. 丝裂原活化蛋白激酶类和蛋白激酶C在转化生长因子 β 1 诱导肾小管细胞结缔组织生长因子表达中的作用. *中华肾脏病杂志*, 2007, 23: 728-33
- [53] Ren X, Guan G, Liu G, et al. Irbesartan ameliorates diabetic nephropathy by reducing the expression of connective tissue growth factor and α -smooth-muscle actin in the tubulointerstitium of diabetic rats. *Pharmacology*, 2009, 83: 80-7
- [54] Noble PW, Albera C, Bradford WZ, et al. Pirfenidone for idiopathic pulmonary fibrosis: analysis of pooled data from three multinational phase 3 trials. *Eur Respir J*, 2016, 47: 243-53
- [55] Jin S, Ma H, Liu Z, et al. XL413, a cell division cycle 7 kinase inhibitor enhanced the anti-fibrotic effect of pirfenidone on TGF- β 1-stimulated C3H10T1/2 cells via Smad2/4. *Exp Cell Res*, 2015, 339: 289-99
- [56] Sharma K, Ix JH, Mathew AV, et al. Pirfenidone for diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22: 1144-51
- [57] Voelker J, Berg PH, Sheetz M, et al. Anti-TGF- β 1 antibody therapy in patients with diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 28: 953-62
- [58] Vincenti F, Fervenza FC, Campbell KN, et al. A phase 2, double-blind, placebo-controlled, randomized study of fresolimumab in patients with steroid-resistant primary focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int Rep*, 2017, 2: 800-10
- [59] McGaraughty S, Davis-Taber RA, Zhu CZ, et al. Targeting anti-TGF- β therapy to fibrotic kidneys with a dual specificity antibody approach. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28: 3616-26
- [60] Luangmonkong T, Suriguga S, Bigaeva E, et al. Evaluating

- the antifibrotic potency of galunisertib in a human ex vivo model of liver fibrosis. *Br J Pharmacol*, 2017, 174: 3107-17
- [61] Eli Lilly, Company. A study of galunisertib in participants with myelodysplastic syndromes[EB/OL]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02008318>
- [62] Chen H, Li J, Jiao L, et al. Apelin inhibits the development of diabetic nephropathy by regulating histone acetylation in Akita mouse. *J Physiol*, 2014, 592: 505-21
- [63] Chen H, Wan D, Wang L, et al. Apelin protects against acute renal injury by inhibiting TGF- β 1. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852: 1278-87
- [64] Li H, Wang Y, Zhou Z, et al. Combination of leflunomide and benazepril reduces renal injury of diabetic nephropathy rats and inhibits high-glucose induced cell apoptosis through regulation of NF- κ B, TGF- β and TRPC6. *Ren Fail*, 2019, 41: 899-906
- [65] Zhang Y, Liu G, Wang J, et al. Antioxidative effect of *Tripterygium wilfordii* polyglycosides on diabetic rats. *Chn J Pharmacology Toxicol*, 2014 : 358-61
- [66] Wang XB, Zhu H, Song W, et al. Gremlin regulates podocyte apoptosis via transforming growth factor- β (TGF- β) pathway in diabetic nephropathy. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 183-9
- [67] Zhou T, He X, Cheng R, et al. Implication of dysregulation of the canonical wingless-type MMTV integration site (WNT) pathway in diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 2012, 55: 255-66