

# 葡萄糖代谢异常参与 RA 发病的研究进展

徐孜翀\*, 张海扬\*, 陈广洁

(上海交通大学医学院 免疫学与微生物学系, 上海 200025)

**摘要:** RA 是一种全身性自身免疫系统疾病, 主要侵犯关节滑膜, 致残率极高, 但发病机制至今未明。近年来, 随着免疫代谢研究领域的兴起, RA 发病与细胞代谢的关系正被广泛研究。文章主要概括了葡萄糖代谢异常参与 RA 发病的研究进展, 以关节滑膜细胞与 CD4<sup>+</sup>T 细胞为主要研究对象, 从糖酵解和磷酸戊糖 2 个主要代谢途径分别展开分析。这一研究进展的归纳有利于从免疫代谢角度认识 RA 的发病机制, 为该病的临床治疗提供新的思路。

**关键词:** 类风湿关节炎; 葡萄糖代谢; 糖酵解途径; 磷酸戊糖途径

**中图分类号:** R392.11

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-2478(2019)04-0318-04

RA 是一种以侵袭性关节炎为主要表现的全身性自身免疫系统疾病, 除关节滑膜及血管受累外, 也可损害肌腱、软骨和骨骼, 加速心血管疾病进程, 缩短患者的预期寿命。RA 的发病机制至今并未明确, 免疫紊乱被认为是导致 RA 的主要原因, 活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 HLA II 阳性的抗原提呈细胞浸润受累的关节滑膜, 产生大量促炎的细胞因子, 滑膜的巨噬细胞也因此而活化, 进一步加剧了组织破坏。

20 世纪以来, 机体的代谢过程被逐渐阐明, 人们开始研究与机体免疫应答有关的代谢过程, 并逐渐发展出免疫代谢学这一新的学科领域。近年来 RA 的免疫代谢正被广泛研究, 目前相关研究涉及的代谢途径主要包括: 糖的相关代谢、脂质代谢和脂肪合成、氨基酸的摄取和生物合成途径等。

糖类是生命体维持生命活动的主要能量来源, 其代谢对于 RA 免疫代谢的研究至关重要, 其中最重要的是葡萄糖代谢。为了了解葡萄糖代谢与 RA 发病机制的关系, 本团队检索阅读了相关文献, 总结出了葡萄糖代谢中与 RA 发病关系最为密切的 2 条通路: 糖酵解途径和磷酸戊糖途径。现以滑膜细胞与 CD4<sup>+</sup>T 细胞为主要研究对象, 就这 2 条途径中葡萄糖代谢异常参与 RA 发病的研究进展进行

综述。

## 1 糖酵解途径

糖酵解是葡萄糖在细胞质中一系列酶的作用下转化为丙酮酸及乳酸, 并生成腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)和还原型辅酶 I (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)的代谢过程, 一般在无氧条件下进行。在有氧条件下, 糖酵解途径受到抑制, 但对于快速增殖的细胞, 包括肿瘤细胞和活化的免疫细胞、滑膜细胞等, 为了迅速获得能量, 即便在有氧条件下也能快速地进行糖酵解, 此过程被称为“Warburg 效应”<sup>[1]</sup>。

多项研究证明, RA 的进展与受累关节滑膜中各相关细胞代谢特点的变化密切相关。由于 RA 患者的炎性关节滑膜腔是一个相对低氧的局部微环境, 以及“Warburg 效应”的存在, 导致包括滑膜细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞在内的多种细胞都发生了代谢转化, 主要依赖糖酵解而非线粒体氧化磷酸化获得能量<sup>[2]</sup>。近来研究还发现, TLR2 的异常活化进一步促进了 RA 中滑膜细胞的代谢转化, 加剧炎症反应<sup>[3]</sup>。试验已证明, 糖酵解活性的上调可导致 RA 患者关节滑膜增生、血管翳形成, 加剧炎症和骨质破坏, 而抑制糖酵解可以缓解滑膜细胞的炎症反应<sup>[4]</sup>。

RA 病灶处滑膜细胞和免疫细胞糖酵解代谢异常活跃的分子机制及其与疾病表现的联系体现在以下几个方面:

**1.1 糖酵解中相关的酶** RA 患者滑膜细胞中可检测到多种糖酵解酶, 包括 6-磷酸葡萄糖异构酶

收稿日期: 2018-04-08

基金项目: 国家自然科学基金(81771731)

作者简介: 徐孜翀(1998—), 女, 本科生, 主要从事自身免疫系统研究; 张海扬(1998—), 男, 本科生, 主要从事自身免疫系统研究; \* 为共同第一作者

通信作者: 陈广洁(E-mail: guangjie\_chen@163.com)

(glucose-6-phosphate isomerase, GPI)、磷酸丙糖异构酶、烯醇化酶、醛缩酶等,这些酶被证实均可作为自身抗原,刺激机体免疫应答,造成组织损伤<sup>[5]</sup>。其中 GPI 还可上调基质金属蛋白酶 3 在 RA 滑膜细胞中的表达,参与降解细胞外基质中的蛋白质,破坏骨组织,加重病情<sup>[5]</sup>。国内有研究表明, GPI 对 RA 有较高的诊断价值,并能在一定程度上反映 RA 的临床病情,可作为 RA 的血清学指标<sup>[6]</sup>。

最近的一项研究表明,己糖激酶 2(hexokinase 2, HK2)在 RA 患者的滑膜细胞中高表达,该酶在调控滑膜细胞增殖、介导关节损伤和骨破坏中发挥了重要作用<sup>[7]</sup>。HK2 可能成为未来 RA 治疗的潜在靶点。

6-磷酸果糖激酶-2/果糖双磷酸酶-2 同工酶 3 (6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase 3, PFKFB3)能有效地催化糖酵解途径的关键反应步骤, RA 患者的 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 PFKFB3 合成不足,导致能量代谢更多地偏向磷酸戊糖途径,产生的大量还原型辅酶 II (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)过量消耗活性氧类(reactive oxygen species, ROS),造成 T 细胞能量缺乏、自噬受阻,从而使 CD4<sup>+</sup> T 细胞更易于衰老和凋亡,呈现出 RA 中 T 细胞特有的表型<sup>[8]</sup>。另外, RA 患者的成纤维样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocyte, FLS)与肿瘤细胞类似,具有侵袭性,表现出抗凋亡、迁移性和失去接触抑制等特点<sup>[9]</sup>。有研究显示,在 RA 患者的 FLS 中, PFKFB3 表达量偏高,致使糖酵解代谢非常活跃,进而引起滑膜炎症和关节损伤等病理改变<sup>[10]</sup>。

**1.2 糖酵解与细胞信号通路** 多个信号通路的异常转导可能导致糖酵解的上调,其中一个研究较为深入的途径是 PI3K/Akt 信号通路。在炎症滑膜细胞中,缺氧环境和一些细胞因子能激活 PI3K/Akt 通路<sup>[11]</sup>。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是该信号通路下游的一种重要的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,能够促进缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1 $\alpha$ 的产生,加速葡萄糖摄取和糖酵解所需的酶的基因转录,使糖酵解增强<sup>[12]</sup>。

初始 T 细胞分化成为致炎性的 Th17 或者分化为参与形成免疫耐受的 Treg 受到一系列转录因子的共同影响,包括维甲酸相关孤儿核受体  $\gamma$ t(retinoid

related orphan nuclear receptor  $\gamma$ t, ROR $\gamma$ t)、叉头样转录因子 3(forkhead box P3, Foxp3)、叉头样转录因子 O 亚家族 1(forkhead transcription factor O1, FoxO1)和 FoxO3a 等,其中 FoxO1 和 FoxO3a 调控 Foxp3 的表达, Foxp3 和 ROR $\gamma$ t 互相拮抗<sup>[13]</sup>。近来一项研究指出,通过药物抑制糖酵解可以实现 FoxO3a 表达的上调,使得其间接拮抗的 ROR $\gamma$ t 受抑制,初始 T 细胞分化偏向 Treg 一方,从而减轻 RA 关节炎症病情<sup>[14]</sup>。

c-Myc 是影响 T 细胞活化的重要的转录因子之一,对糖酵解、谷氨酰胺分解等代谢途径有重要影响<sup>[15]</sup>。c-Myc 靶向调节多种糖代谢基因,一方面上调葡萄糖转运蛋白(glucose transporter, GLUT)基因、己糖激酶基因的表达,以增加葡萄糖摄入量,另一方面促进多种糖酵解酶基因的转录,提高糖酵解通量<sup>[16]</sup>。当 RA 患者滑膜浸润的 T 细胞中 c-Myc 被激活时,已表达的多种代谢相关基因会增强转录活性,以满足细胞生长增殖的生物能量需求<sup>[17]</sup>。

**1.3 糖酵解产物** RA 的一个显著特征是滑膜组织中异常的血管增生,这跟糖酵解的产物丙酮酸和乳酸密不可分。丙酮酸可以刺激成纤维细胞生长因子受体 2 和血管内皮生长因子 mRNA 的转录,从而促进肿瘤组织中新血管的形成,导致血管增生和血管翳的形成<sup>[18]</sup>。乳酸能够诱导 CD4<sup>+</sup> T 细胞产生 IL-17,促进 Th17 的亚群转换,同时细胞外大量乳酸的堆积能够刺激 CD4<sup>+</sup> T 细胞表面的乳酸协同转运体 Slc5a12,降低 T 细胞迁移的动力,形成慢性炎症<sup>[19]</sup>。

**1.4 糖酵解与微环境** 微环境是指浸润各种细胞的细胞间质及体液在细胞的增殖分化和生理功能中发挥重要作用的细胞环境。在 RA 中,主要体现为酸性微环境和缺氧微环境 2 个方面。

**1.4.1 酸性微环境** RA 组织细胞糖酵解速率的增加会产生更多的乳酸,乳酸的堆积可引起酸中毒,形成细胞毒性<sup>[5]</sup>,从而更适合肿瘤细胞以及同样具有 p53 突变特征的 RA 滑膜细胞的生存和增殖<sup>[20]</sup>。此外,酸性微环境还可引起基因突变、细胞凋亡异常等,进一步诱导 RA 中滑膜细胞的异常分化和滑膜增生<sup>[5]</sup>。

**1.4.2 缺氧微环境** RA 组织中滑膜增生和免疫细胞的浸润造成局部耗氧增多,形成缺氧微环境,使 HIF 大量产生,最终造成滑膜炎症、血管新生和

软骨破坏<sup>[21]</sup>。HIF 不仅诱导 GLUT1 和 GLUT3 的表达增加,增强葡萄糖的摄取,还上调了炎症滑膜细胞中多种糖酵解酶的活性<sup>[5]</sup>。缺氧微环境还能诱导滑膜细胞中 ROS 大量产生,诱发滑膜细胞的氧化应激,加速糖酵解代谢,加剧 RA 的炎症反应<sup>[2]</sup>。在 T 细胞分化层面,一方面 HIF-1 $\alpha$  能促进初始 T 细胞向 Th17 分化,产生大量 IL-17,诱导炎症反应和大量促炎因子的产生;另一方面,IL-1 $\beta$  和 TNF 等促炎因子又可通过激活 MAPK 和 PI3K/Akt 信号转导通路增加 HIF 的表达,形成缺氧和炎症的恶性循环<sup>[22]</sup>。

近来还有研究表明,RA 患者关节滑膜中堆积的各种代谢中间产物可作为信号分子,参与滑膜内各细胞间的信号交流,促进炎症信号及异常分化信号的传递与扩散<sup>[23]</sup>。

## 2 磷酸戊糖途径

磷酸戊糖途径是葡萄糖代谢的另一条途径,由 6-磷酸葡萄糖(glucose-6-phosphate, G-6-P)在细胞质中经一系列酶作用转化为 NADPH 和磷酸核糖,可分为 2 个阶段,氧化阶段主要生成 NADPH,非氧化阶段则生成磷酸核糖。该代谢途径与糖酵解途径形成竞争关系。

Yang 等<sup>[24]</sup>在研究中发现,RA 滑膜中浸润的初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 NADPH 高于正常组织细胞的 50%,验证了 RA 组织中磷酸戊糖途径的快速进行。这样的免疫代谢特点以及磷酸戊糖途径异常导致的疾病症状与 RA 中一系列相关蛋白的含量及活性特点有关,包括 PFKFB3、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-P-dehydrogenase, G6PD)等<sup>[8]</sup>。

**2.1 PFKFB3** 果糖-2, 6-二磷酸是调节糖酵解流量的关键酶,受到 PFKFB 家族的调控,在快速增殖的细胞中,主要受 PFKFB3 的影响<sup>[25]</sup>。Yang 等<sup>[24]</sup>的研究证明,RA 患者 T 细胞中 PFKFB3 的合成功能被削弱,导致 T 细胞不能有效地通过糖酵解途径利用葡萄糖,而是转向磷酸戊糖途径。

此外,PFKFB3 还对细胞自噬有调控作用,RA 患者 T 细胞内 PFKFB3 的缺乏限制了细胞利用自噬为生物合成提供能量的能力。RA 患者 T 细胞的代谢重编程造成 PFKFB3 相对缺乏,T 细胞中能量的匮乏、ROS 的过量消耗以及自噬的削弱促进了其衰老与凋亡<sup>[8]</sup>,加速了免疫细胞的更替<sup>[26]</sup>。此外,RA 患者中 T 细胞 PFKFB3 的减少所导致

的自噬能力减弱还与 T 细胞的分化、功能异常有关<sup>[26]</sup>。

**2.2 G6PD** 催化磷酸戊糖途径中 G-6-P 转化利用的 G6PD 是调节 T 细胞增殖的关键酶之一,在 RA 患者 T 细胞中含量较高。RA 患者 T 细胞中高 G6PD 含量催化磷酸戊糖途径高速进行,另外 PFKFB3 的不足也致使 G-6-P 不能有效通过糖酵解途径被消耗,G-6-P 更多涌向磷酸戊糖途径,代谢产物磷酸核糖和 NADPH 在 RA 患者的 T 细胞中增加和积累,加速细胞增殖过程。

磷酸核糖是核酸的重要合成原料,为生物合成提供大分子结构单元,从而增强 T 细胞的增殖能力<sup>[27]</sup>。NADPH 主要为生物合成提供还原当量,可将氧化型的谷胱甘肽还原为还原型,后者可以还原清除体内的 ROS。在体内,ROS 作为第二信使广泛参与信号转导通路,促进 T 细胞的扩增,延长细胞寿命,故 RA 患者的 T 细胞中 ROS 的减少将引起 T 细胞凋亡率的增加<sup>[24]</sup>。有试验证实,RA 患者的 T 细胞中 ROS 含量的下降与细胞的异常增殖相关,并加速 T 细胞转变为记忆性 T 细胞的过程<sup>[24]</sup>,最终造成关节炎症严重程度的增加<sup>[1]</sup>。

NADPH 大量合成、ROS 急速减少的还原性环境阻碍了细胞周期中共济失调性毛细血管扩张突变体(ataxia telangiectasia mutated kinase, ATM)的激活,使得细胞中 ATM 转录蛋白含量远少于正常细胞,造成初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞绕过 G2/M 细胞周期检查点,异常分化为产生 IFN- $\gamma$  和 IL-17 的细胞,形成包括 Th1 和 Th17 等细胞在内的促炎细胞亚群<sup>[24]</sup>。

## 3 结语

在 RA 的糖代谢研究过程中,人们最为关注 CD4<sup>+</sup> T 细胞和滑膜细胞(以 FLS 为代表)的代谢方式和特点,主要侧重于研究糖酵解和磷酸戊糖途径。实际上,RA 组织中各种细胞都有不同的代谢特点,代谢方式也绝不限于本综述主要讨论的 2 种,各种代谢途径相互关联、交织成网,无论是对每一条途径的局部深入探索,还是对各种途径与 RA 的密切关联的宏观把握,都尚待进一步研究。针对免疫代谢的靶向药物研究,也将为 RA 的治疗提供新的思路。

## 参考文献

- [1] Yang Z, Matteson EL, Goronzy JJ, et al. T-cell metabolism

- in autoimmune disease[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17: 29.
- [2] Balogh E, Veale DJ, McGarry T, *et al*. Oxidative stress impairs energy metabolism in primary cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 95.
- [3] McGarry T, Biniecka M, Gao W, *et al*. Resolution of TLR2-induced inflammation through manipulation of metabolic pathways in Rheumatoid Arthritis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43165.
- [4] Garcia-Carbonell R, Divakaruni AS, Lodi A, *et al*. Critical role of glucose metabolism in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(7): 1614-1626.
- [5] Chang X, Wei C. Glycolysis and rheumatoid arthritis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2011, 14(3): 217-222.
- [6] 何东仪, 钟丽民, 沈杰, 等. 葡萄糖 6-磷酸异构酶检测在类风湿关节炎中的意义[J]. *现代免疫学*, 2008, 28(4): 326-330.
- [7] Bustamante MF, Oliveira PG, Garcia-Carbonell R, *et al*. Hexokinase 2 as a novel selective metabolic target for rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(11): 1-8.
- [8] Yang Z, Fujii H, Mohan SV, *et al*. Phosphofructokinase deficiency impairs ATP generation, autophagy, and redox balance in rheumatoid arthritis T cells[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(10): 2119-2134.
- [9] Ahn JK, Kim S, Hwang J, *et al*. GC/TOF-MS-based metabolomic profiling in cultured fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis[J]. *Jt Bone Spine*, 2016, 83(6): 707-713.
- [10] Zou Y, Zeng S, Huang M, *et al*. Inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase suppresses fibroblast-like synoviocytes-mediated synovial inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(9): 893-908.
- [11] Roberts DJ, Miyamoto S. Hexokinase II integrates energy metabolism and cellular protection: Acting on mitochondria and TORCing to autophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(2): 248-257.
- [12] Shi LZ, Wang R, Huang G, *et al*. HIF1 $\alpha$ -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(7): 1367-1376.
- [13] Bodur C, Karakas B, Timucin AC, *et al*. AMP-activated protein kinase couples 3-bromopyruvate-induced energy depletion to apoptosis via activation of FoxO3a and upregulation of proapoptotic Bcl-2 proteins[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(11): 1584-1597.
- [14] Okano T, Saegusa J, Nishimura K, *et al*. 3-bromopyruvate ameliorate autoimmune arthritis by modulating Th17/Treg cell differentiation and suppressing dendritic cell activation[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42412.
- [15] Wang R, Dillon CP, Shi LZ, *et al*. The transcription factor Myc controls metabolic reprogramming upon T lymphocyte activation[J]. *Immunity*, 2011, 35(6): 871-882.
- [16] Hsieh AL, Walton ZE, Altman BJ, *et al*. MYC and metabolism on the path to cancer[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 43: 11-21.
- [17] Stine ZE, Walton ZE, Altman BJ, *et al*. MYC, metabolism, and cancer[J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(10): 1024-1039.
- [18] Lee MS, Moon EJ, Lee SW, *et al*. Angiogenic activity of pyruvic acid in in vivo and in vitro angiogenesis models[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(8): 3290-3293.
- [19] Haas R, Smith J, Rocher-Ros V, *et al*. Lactate regulates metabolic and pro-inflammatory circuits in control of T cell migration and effector functions[J]. *PLoS Biol*, 2015, 13(7): e1002202.
- [20] Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(11): 891-899.
- [21] Hua S, Dias TH. Hypoxia-inducible factor (HIF) as a target for novel therapies in rheumatoid arthritis[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 184.
- [22] Palazon A, Goldrath AW, Nizet V, *et al*. HIF transcription factors, inflammation, and immunity[J]. *Immunity*, 2014, 41(4): 518-528.
- [23] Weyand CM, Goronzy JJ. Immunometabolism in early and late stages of rheumatoid arthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(5): 291-301.
- [24] Yang Z, Shen Y, Oishi H, *et al*. Restoring oxidant signaling suppresses proarthritogenic T cell effector functions in rheumatoid arthritis[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(331): 331ra38.
- [25] Klarer AC, O'Neal J, Imbert-Fernandez Y, *et al*. Inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase (PFKFB3) induces autophagy as a survival mechanism[J]. *Cancer Metab*, 2014, 2(1): 2.
- [26] Yang Z, Goronzy JJ, Weyand CM. The glycolytic enzyme PFKFB3/phosphofructokinase regulates autophagy[J]. *Autophagy*, 2014, 10(2): 382-383.
- [27] Tsokos GC. Metabolic control of arthritis: Switch pathways to treat[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(331): 331fs8.