

肾小球固有细胞损伤在狼疮肾炎发病机制中的研究进展

孔杰, 陆智敏, 达展云

(南通大学附属医院 风湿免疫科, 南通 226001)

摘要: 肾脏是 SLE 常见的受累部位之一, 几乎所有 SLE 患者均有不同程度的肾脏病变。狼疮肾炎(lupus nephritis, LN)是免疫复合物型肾炎, 主要累及肾小球固有细胞。肾小球固有细胞分为肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cell, GMC)、肾小球内皮细胞(glomerular endothelial cell, GEC)和足细胞。多项研究表明, 肾小球固有细胞损伤促进了 LN 的发生、发展, 因此, 研究肾小球固有细胞发生损伤的机制能够进一步了解 LN, 可能为 LN 的治疗提供新的靶点。文章将近几年国内外有关 GMC、GEC 和足细胞损伤在 LN 发病机制中的研究进展进行综述, 为探讨 LN 的发病机制和治疗提供新思路。

关键词: 狼疮肾炎; 肾小球系膜细胞; 肾小球内皮细胞; 足细胞

中图分类号: R593.24

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)06-0510-04

SLE 是一种多器官受累的自身免疫性疾病, 几乎 100% 的患者有肾脏受累, 约一半的患者发展为狼疮肾炎(lupus nephritis, LN)。根据免疫复合物沉积在肾小球的部位和数量, LN 可分为 6 型。免疫复合物或抗 dsDNA 抗体与肾小球固有细胞结合促进 LN 的发生、发展, 累及的固有细胞主要有肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cell, GMC)、肾小球内皮细胞(glomerular endothelial cell, GEC)和足细胞。研究肾小球固有细胞发生损伤的机制能够更好地了解 LN, 可能为 LN 的治疗提供新靶点。

1 LN 的发病机制

1.1 肾内免疫复合物形成 免疫复合物主要由自身抗体与相应抗原结合形成, 引起 LN 的自身抗体主要有抗核抗体、抗 C1q 抗体和抗肾小球抗体, 抗 dsDNA 抗体是最重要的一种, 几乎出现在所有类型的 LN 中, 而且和疾病活动度密切相关^[1]。抗 dsDNA 抗体除了能够形成免疫复合物沉积于肾小球, 还能与肾小球固有细胞表面抗原(如膜联蛋白 II 和 α 胶原蛋白等)产生交叉反应, 对肾小球固有细胞造成损伤^[2]。免疫复合物通过与肾小球固有细胞的 Fc 受体结合, 激活 C1q 介导的补体经典激活

途径, 产生化学趋化因子 C5a 招募免疫细胞, 导致肾脏炎症和损伤^[3]。免疫复合物分为 IgM、IgA 和 IgG 3 类, 根据 LN 组织学亚型不同, 沉积于肾小球的部位不同: I 型和 II 型 LN, 免疫复合物主要沉积在系膜区; III、IV 和 V 型 LN, 免疫复合物开始沉积于内皮下和上皮下; VI 型 LN, 免疫复合物沉积于整个肾小球^[4]。

1.2 肾内固有免疫应答 免疫复合物通过结合肾小球固有细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)引起固有免疫应答, TLR 是 PRR 的一种, 参与自身免疫性疾病如 SLE 的发生发展, 通过识别核酸等自身抗原引起固有免疫应答, 促进肾脏的炎症反应。在 LN 中, TLR3、TLR7、TLR9 表达增加, 其中 TLR9 与疾病活动度呈正相关^[5]。免疫复合物通过损伤相关分子模式(danger-associated molecular pattern, DAMP)与肾小球固有细胞的 TLR 结合, 促进肾脏炎症反应^[6-8]。除了免疫复合物, DNA 和 RNA 类抗原也能直接与肾小球固有细胞表面受体结合, 引起固有免疫应答。外源性 RNA 与 GMC 的黑色素瘤分化相关蛋白 5(melanoma differentiation-associated protein 5, MDA5)结合, 导致 I 型 IFN 增加, 与 GMC 的 TLR3 结合, 导致 CXCL1 增加^[7]。双链 RNA 与 GEC 的维甲酸诱导基因 1(retinoic acid-inducible gene 1, RIG-1)结合, 导致 I 型 IFN 和 IL-6 增加^[8]。DNA 和 RNA 类抗原与足细胞 TLR4 结合, 促进炎症因子的产生^[6]。

1.3 肾内炎性细胞浸润 肾脏炎性因子增多招募免疫细胞进入肾脏, NZB/W 小鼠肾脏中自身反应

收稿日期: 2018-12-19

基金项目: 国家自然科学基金(81601410); 江苏省卫生和计划生育委员会项目(H201623); 南通市科技局社会事业科技创新与示范项目(HS2014071); 南通市科技局临床医学中心项目(HS2016003)

作者简介: 孔杰(1993—), 男, 硕士, 主要从事风湿免疫学研究

通信作者: 达展云(E-mail: dazhanyun@163.com)

性抗 dsDNA 抗体的免疫细胞比例比正常组明显升高; LN 患者自身反应性浆细胞主要集中在肾脏, 在严重的病例中, 尤其是增殖型和膜型 LN, 自身反应性浆细胞开始分布于肾髓质^[9]。T 细胞增加、Th17 与 Treg 比例失衡在 SLE 的发病中起着重要作用^[10]。当 DC 的某些亚型或巨噬细胞出现在肾实质中时, LN 预后不良。在 LN 中, CXCL1 表达增加, 招募中性粒细胞进入肾脏, 通过 DAMP 释放炎性因子及活性氧类(reactive oxygen species, ROS)造成肾脏损伤^[7]。

免疫复合物的沉积, 引起异常的固有免疫应答和炎性细胞浸润, 导致肾小球固有细胞损伤, 最终发展为 VI 型 LN。

2 GMC 损伤在 LN 中的发病机制

GMC、GEC 与足细胞紧密联系构成了肾小球的功能单位。GMC 是特殊的平滑肌细胞, 血管活性因子(血管紧张素 II 和内皮素 1)能够引起 GMC 舒缩, 通过调节毛细血管血流量及滤过膜的滤过功能, 调节肾小球滤过率^[11]。当 GMC 被自身抗体(主要是抗 dsDNA 抗体)、免疫复合物、CXCL13、IL-6、TNF、集落刺激因子 1(colony stimulating factor 1, CSF-1)刺激时, 产生级联反应, 分泌大量炎性因子, 导致肾小球损伤^[12-13]。在这些致病因素中, 抗 dsDNA 抗体起到了重要的作用。

2.1 抗 dsDNA 抗体形成免疫复合物对 GMC 的损伤 由于肾脏脱氧核糖核酸酶 I (deoxyribonuclease I, DNase1)活性降低和染色质沉积, 导致大量抗 dsDNA 抗体向肾脏移动^[14]。抗 dsDNA 抗体与凋亡或坏死细胞释放的染色质结合形成免疫复合物, 首先沉积在系膜区, 随着疾病进展向基底膜移动, 最后分布到整个肾脏。GMC 受到免疫复合物的刺激, 分泌大量炎性因子, 如人单核细胞趋化蛋白 1 (human monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)、CCL5、基质金属蛋白酶 2(matrix metalloprotein 2, MMP2)、MMP9、转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、IFN- γ 和 IL-12 等。其中 MCP-1 和 CCL5 能够引起炎性细胞聚集^[15]; MMP2、MMP9 能够导致肾小球基底膜降解^[14]; TGF- β 1 能够引起肾小球纤维化^[16]; IFN- γ 和 IL-12 能够招募 Th1^[17]。GMC 受到免疫复合物的刺激时, B 细胞淋巴瘤 2(B-cell lymphoma 2, BCL-2)和 Fas/FasL 表达增加^[18], 引起 GMC 增殖及凋亡异常; 纤黏连蛋白表达增加, 导致系膜

基质增生^[19]。

2.2 抗 dsDNA 抗体对 GMC 的损伤 抗 dsDNA 抗体除了与染色质结合形成免疫复合物外, 还有 20% 与肾小球固有细胞表面抗原发生交叉反应, 如 α 肌动蛋白和膜联蛋白 2 等。

2.2.1 α 肌动蛋白 α 肌动蛋白存在于 GMC 和足细胞表面, 一共有 4 个亚型, GMC 和足细胞上的分别为 1 型和 4 型。抗 dsDNA 抗体与 α 肌动蛋白的水平密切相关, 与 GMC 的 α 肌动蛋白 1 结合, 导致诱导型一氧化氮合酶增加^[20]。用 α 肌动蛋白刺激正常小鼠, 将出现抗 dsDNA 抗体增加、肾小球免疫复合物沉积和蛋白尿现象^[21]。

2.2.2 膜联蛋白 2 膜联蛋白 2 是钙离子依赖的磷脂结合蛋白, 表达于巨噬细胞、GEC 和 GMC 表面。在 LN 中, IgG、C3、C1q 与膜联蛋白 2 结合沉积于肾小球引起细胞凋亡^[2]。抗 dsDNA 抗体与 GMC 表面的膜联蛋白 2 结合, 导致膜联蛋白 2 表达增加; 把膜联蛋白 2 敲低, 抗 dsDNA 抗体也随之降低^[22]。

在 LN 中, 抗 dsDNA 抗体通过形成免疫复合物或直接与 GMC 结合损伤 GMC, 影响肾小球滤过率。

3 GEC 损伤在 LN 中的发病机制

GEC 具有维持肾小球毛细血管结构完整性的屏障功能, 它的形态扁平且具有窗孔结构。在 LN 中, 免疫复合物沉积于内皮下, 引起 GEC 活化和损伤, 黏附分子表达增加, 内皮下及系膜区白细胞的黏附能力增强^[23]。当自身抗体、免疫复合物及白细胞分泌的细胞因子刺激 GEC 时, GEC 受到损伤并且增殖, 伴随着 GMC 的增殖和新月体的形成, 引起毛细血管内增生型 LN。

引起 GEC 损伤的自身抗体主要有抗内皮细胞抗体和抗 dsDNA 抗体。抗内皮细胞抗体在肌动蛋白和层黏连蛋白的作用下通过胞吞的方式进入细胞, 表达于 50%~80% 的 LN 患者, 尤其是活动性 LN。抗内皮细胞抗体与疾病活动度密切相关, 并且是 GEC 功能紊乱的一个血清学指标^[24]。血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A) 表达降低引起 GEC 活化, 导致血小板源生长因子 β (platelet derived growth factor β , PDGF- β) 增多, 引起 GMC 及细胞外基质增生; 内皮素 1 分泌增加, 通过线粒体的应激作用使肾脏受损^[25]。当 IL-1 α 、TNF- α 和组胺刺激 GEC

时,与GEC结合的抗dsDNA抗体数量增加,进而促进抗内皮细胞抗体产生。抗dsDNA抗体通过2种方式对GEC造成损伤:(1)形成免疫复合物沉积于内皮下;(2)与GEC表面受体结合^[1]。当抗dsDNA抗体刺激GEC时,血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1)、细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule 1, ICAM-1)和细胞因子(IL-1、IL-6、IL-8、IFN- α 和IFN- γ)增加^[26]。

在LN中,免疫复合物和自身抗体(主要是抗内皮细胞抗体和抗dsDNA抗体)损伤GEC,导致肾小球滤过屏障受损,促进LN的发展。

4 足细胞损伤在LN中的发病机制

足细胞是高度分化的具有极性的上皮细胞,有着很长的突起,称为足突,裂孔隔膜覆盖于相邻足突之间,与内皮细胞、基底膜一起构成肾小球的滤过屏障。几乎所有LN患者都有蛋白尿,尤其是IV型和V型LN患者。自身抗体、固有免疫及适应性免疫应答导致足细胞损伤,使足细胞突触素、去氧肾上腺素和膜蛋白等的表达下降,导致其对裂孔隔膜的调节减弱,最终形成蛋白尿^[27-28]。

4.1 自身抗体对足细胞的损伤 抗dsDNA抗体与足细胞表面的 α 肌动蛋白4结合激活补体造成足细胞损伤,形成蛋白尿。在LN合并肾病综合征的患者中,肾脏并没有出现免疫复合物沉积,说明抗dsDNA抗体与足细胞直接结合造成足细胞损伤^[29]。

4.2 固有免疫及适应性免疫应答对足细胞的损伤

足细胞能够表达免疫细胞的受体:MHC-II、B7-1(CD80, T细胞活化所必需的分子)和FcRn(抗原提呈细胞的受体)。足细胞通过MHC-II和FcRn对抗原进行吞噬和处理,形成MHC-II类复合物并把它们提呈给CD4⁺T细胞。在狼疮鼠模型中,敲除足细胞的MHC-II,足细胞的抗原提呈能力降低^[30];敲除足细胞的CD80,能够缓解LN的症状^[31]。Ichinose等^[32]发现在LN中,IgG能够进入足细胞,使钙调蛋白依赖性蛋白激酶4(calmodulin-dependent protein kinase 4, CaMK4)表达升高,导致足细胞损伤和T细胞活化,抑制足细胞CaMK4活化能延缓LN的进展。足细胞表达各种各样的PRR,这些受体通过DAMP或病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)引起固有免疫应答,主要有TLR、NOD样受体家族蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)、RIG-1和晚期糖基化终产物受体(advanced glyca-

tion end product receptor, RAGE)。足细胞的TLR主要为TLR4,用LPS刺激后,通过NF- κ B信号通路,使CCL2、CCL7、CXCL11和CXCL13表达升高^[33]。NLRP3、凋亡相关蛋白ASC和caspase-1经过LPS或ROS刺激后表达上调^[34];RIG-1在LN中表达升高,通过NF- κ B信号通路和转录因子干扰素调节因子3(transcription factor interferon regulatory factor 3, IRF-3)导致足细胞损伤^[35];RAGE在LN中表达升高,通过晚期糖基化终产物导致足细胞损伤^[36]。

抗dsDNA抗体、固有免疫及适应性免疫应答对足细胞造成损伤,形成蛋白尿,促进LN的进展。

5 结语

自身抗体(主要为抗dsDNA抗体)的直接损伤、免疫复合物的沉积、免疫细胞的浸润、细胞因子的促炎作用以及非免疫途径都能造成肾小球固有细胞损伤,引起LN,其中免疫复合物的沉积是导致LN的重要因素。在LN中,GMC受损,影响肾小球的滤过率;GEC受损,影响肾小球滤过屏障功能;足细胞受损,出现蛋白尿。本文主要对能够造成肾小球固有细胞损伤的机制进行综述,从而为LN的治疗提供新思路。

参考文献

- [1] Yung S, Chan TM. Anti-dsDNA antibodies and resident renal cells - Their putative roles in pathogenesis of renal lesions in lupus nephritis[J]. Clin Immunol, 2017, 185: 40-50.
- [2] Yung S, Cheung KF, Zhang Q, *et al.* Anti-dsDNA antibodies bind to mesangial annexin II in lupus nephritis[J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(11): 1912-1927.
- [3] Sakuma Y, Nagai T, Yoshio T, *et al.* Differential activation mechanisms of serum C5a in lupus nephritis and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus[J]. Mod Rheumatol, 2017, 27(2): 292-297.
- [4] Liu Y, Anders HJ. Lupus nephritis: From pathogenesis to targets for biologic treatment[J]. Nephron Clin Pract, 2014, 128(3-4): 224-231.
- [5] Conti F, Spinelli FR, Truglia S, *et al.* Kidney expression of Toll like receptors in lupus nephritis: Quantification and clinicopathological correlations[J]. Mediators Inflamm, 2016: 7697592.
- [6] Sha WG, Shen L, Zhou L, *et al.* Down-regulation of miR-186 contributes to podocytes apoptosis in membranous nephropathy[J]. Biomed Pharmacother, 2015, 75: 179-184.
- [7] Imaizumi T, Aizawa T, Segawa C, *et al.* Toll-like receptor 3 signaling contributes to the expression of a neutrophil che-

- moattractant, CXCL1 in human mesangial cells[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015, 19(5): 761-770.
- [8] Hägele H, Allam R, Pawar RD, *et al*. Double-stranded RNA activates type I interferon secretion in glomerular endothelial cells via retinoic acid-inducible gene (RIG)-1[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(11): 3312-3318.
- [9] Espeli M, Bökens S, Giannico G, *et al*. Local renal autoantibody production in lupus nephritis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(2): 296-305.
- [10] Schmidt T, Paust HJ, Krebs CF, *et al*. Function of the Th17/interleukin-17A immune response in murine lupus nephritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(2): 475-487.
- [11] Seret G, Le Meur Y, Renaudineau Y, *et al*. Mesangial cell-specific antibodies are central to the pathogenesis of lupus nephritis[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 579670.
- [12] Geng W, Wei R, Liu S, *et al*. Shenhua tablet inhibits mesangial cell proliferation in rats with chronic anti-Thy-1 nephritis[J]. *Biol Res*, 2016, 49: 17.
- [13] Da Z, Li L, Zhu J, *et al*. CXCL13 promotes proliferation of mesangial cells by combination with CXCR5 in SLE[J]. *J Immunol Res*, 2016, 2016: 2063985.
- [14] Fenton K, Fisman S, Hedberg A, *et al*. Anti-dsDNA antibodies promote initiation, and acquired loss of renal dnase1 promotes progression of lupus nephritis in autoimmune (NZBxNZW)F1 mice[J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8474.
- [15] Kanapathipillai P, Hedberg A, Fenton CG, *et al*. Nucleosomes contribute to increase mesangial cell chemokine expression during the development of lupus nephritis[J]. *Cytokine*, 2013, 62(2): 244-252.
- [16] Chen X, Jiang DS, Wang J, *et al*. Prostaglandin E2 EP1 receptor enhances TGF-beta 1-induced mesangial cell injury[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(1): 285-293.
- [17] Suzuki Y, Gómez-Guerrero C, Shirato I, *et al*. Susceptibility to T cell-mediated injury in immune complex disease is linked to local activation of renin-angiotensin system; The role of NF-AT pathway[J]. *J Immunol*, 2002, 169(8): 4136-4146.
- [18] Im SR, Im SW, Chung HY, *et al*. Cell- and nuclear-penetrating anti-dsDNA autoantibodies have multiple arginines in CDR3 of VH and increase cellular level of pERK and Bcl-2 in mesangial cells[J]. *Mol Immunol*, 2015, 67(2 Pt B): 377-387.
- [19] Tveita AA, Rekvig OP, Zytkova SN. Increased glomerular matrix metalloproteinase activity in murine lupus nephritis[J]. *Kidney Int*, 2008, 74(9): 1150-1158.
- [20] Jiang T, Tian F, Zheng H, *et al*. Nrf2 suppresses lupus nephritis through inhibition of oxidative injury and the NF- κ B-mediated inflammatory response[J]. *Kidney Int*, 2014, 85(2): 333-343.
- [21] Seret G, Cañas F, Pougnet-Di Costanzo L, *et al*. Anti-alpha-actinin antibodies are part of the anti-cell membrane antibody spectrum that characterize patients with lupus nephritis[J]. *J Autoimmun*, 2015, 61: 54-61.
- [22] Nielsen CT. Circulating microparticles in systemic lupus erythematosus[J]. *Dan Med J*, 2012, 59(11): B4548.
- [23] Yung S, Chan TM. Autoantibodies and resident renal cells in the pathogenesis of lupus nephritis: Getting to know the unknown[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 139365.
- [24] Wang MX, Walker RG, Kincaid-Smith P. Clinicopathologic associations of anti-endothelial cell antibodies in immunoglobulin A nephropathy and lupus nephritis[J]. *Am J Kidney Dis*, 1993, 22(3): 378-386.
- [25] Edelbauer M, Kshirsagar S, Riedl MA, *et al*. Soluble VEGF receptor 1 promotes endothelial injury in children and adolescents with lupus nephritis[J]. *Pediatr Nephrol*, 2012, 27(5): 793-800.
- [26] Chiche L, Jourde-Chiche N, Whalen E, *et al*. Modular transcriptional repertoire analyses of adults with systemic lupus erythematosus reveal distinct type I and type II interferon signatures[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(6): 1583-1595.
- [27] Perico L, Conti S, Benigni A, *et al*. Podocyte-actin dynamics in health and disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(11): 692-710.
- [28] Yang SH, Choi JW, Huh D, *et al*. Roles of fluid shear stress and retinoic acid in the differentiation of primary cultured human podocytes[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 354(1): 48-56.
- [29] Kimura J, Ichii O, Otsuka S, *et al*. Close relations between podocyte injuries and membranous proliferative glomerulonephritis in autoimmune murine models[J]. *Am J Nephrol*, 2013, 38(1): 27-38.
- [30] Kwok SK, Tsokos GC. New insights into the role of renal resident cells in the pathogenesis of lupus nephritis[J]. *Korean J Intern Med*, 2018, 33(2): 284-289.
- [31] Novelli R, Gagliardini E, Ruggiero BA, *et al*. Another piece of the puzzle of podocyte B7-1 expression; lupus nephritis[J]. *Nephron*, 2016, 133(2): 129-138.
- [32] Ichinose K, Ushigusa T, Nishino A, *et al*. Lupus nephritis IgG induction of Calcium/Calmodulin-Dependent protein kinase IV expression in podocytes and alteration of their function[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(4): 944-952.
- [33] Wei M, Li ZG, Xiao L, *et al*. Effects of ROS-relative NF-kappa B signaling on high glucose-induced TLR4 and MCP-1 expression in podocyte injury[J]. *Mol Immunol*, 2015, 68(2 Pt A): 261-271.
- [34] Fu R, Guo C, Wang S, *et al*. Podocyte activation of NLRP3 inflammasomes contributes to the development of proteinuria in lupus nephritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(8): 1636-1646.
- [35] Yamashita M, Millward CA, Inoshita H, *et al*. Antiviral innate immunity disturbs podocyte cell function[J]. *J Innate Immun*, 2013, 5(3): 231-241.
- [36] Zhang S, Wang D, Xue N, *et al*. Nicotinamide protects kidney podocyte by inhibiting the TGF β receptor II phosphorylation and AGE-RAGE signaling[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(1): 115-125.