



法尼酯衍生物 X 受体(FXR)在糖尿病肾病中的研究进展

熊浩君, 赵 凯, 陈 姗, 何凤田, 陈丙波

(第三军医大学实验动物中心, 第三军医大学生物化学与分子生物学教研室, 重庆 400038)

【摘要】 糖尿病肾病(DN)是糖尿病常见的慢性微血管并发症,最初是由高血糖引起的肾脏适应性高滤过率,进而导致肾脏细胞的代偿性增生、炎症以及纤维化。法尼酯 X 受体(FXR)被证明对糖尿病肾病有负性调节的作用,FXR 可以通过不同的方面(血糖、血脂、炎症以及纤维化)对糖尿病肾病进行调控,从而有效的控制糖尿病肾病的发生和发展。本文将对 FXR 以及 FXR 调控糖尿病肾病的不同方面予以综述。

【关键词】 糖尿病肾病;FXR;血糖;肾纤维化;炎症

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)07-0064-05

doi: 10.3969.j.issn.1671.7856.2012.007.016

The Role of Farnesoid X Receptor in Diabetic Nephropathy

XIONG Hao-jun, ZHAO Kai, CHEN Shan, HE Feng-tian, CHEN Bing-bo

(Laboratory animal center of Third Military Medicine University, Biochemistry and molecular biology laboratory of Third Military Medicine University, Chongqing 400037, China)

【Abstract】 Diabetic Nephropathy is well known as complication of microvessel disease caused by diabetes. High glucose leads to compensable high filtration rate of kidney, and then contribute to kidney cell growth, inflammation and fibrosis. Farnesoid X Receptor has been proved to ameliorate diabetic nephropathy. FXR can improve diabetic nephropathy through different aspects such as glucose, lipid, inflammation and fibrosis. How FXR improve diabetic nephropathy will be discussed in this review.

【Key words】 Diabetic Nephropathy;FXR;Glucose;Lipid;Inflammation

1 糖尿病肾病

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病常见的慢性微血管并发症,是慢性肾病(CKD)的一种,在欧美已成为导致终末期肾病的首要原因^[1]。在我国,糖尿病患者达4000万,其中约20%~30%进展为DN,严重危害人类健康^[2]。目前,糖尿病肾病的发病机制还不十分清楚。最初的损伤

机制是由于在高糖的环境下,肾脏的适应性高滤过率,肾小球基底膜均匀肥厚伴有肾小球系膜细胞基质增加、肾小球囊和肾小球系膜细胞呈结节性肥厚及通透性增加,进而引起肾纤维化、炎症等一系列肾单位的功能进行性损伤。在肾脏纤维化和炎症中,如TGF- β -smad3和NF- κ B通路起着重要作用。在肾纤维化过程中,转化生长因子(TGF- β)具有促进纤维化的作用:TGF- β_1 通过TGF- β -smad3通路介

[基金项目] 重庆市科技攻关重点项目(CSTC,2011AB1045);重庆市科技攻关重点项目(CSTC,2011GG10014)。

[作者简介] 熊浩君(1989-),男,硕士生,研究方向:实验动物分子遗传。E-mail: xionghaojun@yahoo.cn。

[通讯作者] 陈丙波,教授,硕士生导师,E-mail: chenbb81@126.com。

导胞外基质,如 1 型、4 型胶原等胞外基质(ECM)的生成,从而导致 ECM 的堆积,引发肾脏的纤维化;NF- κ B 通路则通过炎症介质的释放导致肾脏的炎症反应。另外,晚期糖基化终末产物(AGEs),肾素-血管紧张素系统(RAS),细胞因子,足细胞修复信号通路也有重要作用^[3]。

目前对糖尿病肾病(DN)的治疗仍然没有很好的办法,因为在 DN 早期,很难精确地诊断出来,在终末期又很难治愈,通常只能通过肾移植和透析进行治疗,但由于配型和肾源的关系,这一比例仍十分小。所以,寻求一种能从根本上预防、治疗糖尿病肾病的药物以及研究相应的机制对于糖尿病肾病的治疗及其重要。近年来随着对核受体如法尼酯衍生物 X 受体(FXR)等研究的逐渐深入,发现 FXR 在调控糖尿病肾病中有着重要的作用^[4],具有降低血糖、血脂,抑制肾纤维化、炎症的效应。但 FXR 抑制糖尿病肾病的具体机制还不十分清楚。

2 FXR 的基本介绍

核受体(NRs)属于配体激活的转录因子,在发育和维持正常生理机能方面具有重要的作用^[5],在人类中有 48 个核受体家族。由于核受体在不同代谢通路中的重要作用,所以它们成为了新药研究的重要靶点。法尼酯衍生物 X 受体(FXR;NR1H4)属于核受体超家族中的一员,作为一种多功能转录因子,通过调节诸多靶基因而发挥非常重要的作用,尤其在调节糖脂代谢方面,FXR 已作为一个新的治疗靶点应用于糖、脂相关性疾病治疗的临床研究,胆汁酸是其内源性配体^[6-8]。FXR 能单独地或者 FXR 与类维生素 X 受体(RXR)^[9,10]形成异二聚体与 DNA 上的 FXR 反应元件结合,进而调节靶基因的转录。编码 FXR 的基因有两个,FXR α 和 FXR β 。在人和啮齿动物中,编码 FXR α 的基因可以通过不同的启动子和 RNA 剪切编码四种不同的亚型,FXR α_1 、FXR α_2 、FXR α_3 和 FXR α_4 ^[11]。FXR β 在小鼠,大鼠,兔子和狗中是具有功能性的受体,但在人和灵长类动物中却是一个假基因。被 FXR α 调控的大多数基因都是识别亚型的,为了方便,我们将 FXR α 及其他亚型直接称为 FXR。

FXR 主要在肝脏、肾、肠和肾上腺中表达,在脂肪组织和心脏中表达较少,最先是作为法尼酯受体被发现的。胆汁酸是 FXR 的内源性配体的发现增加了人们对 FXR 的兴趣,因为胆汁酸在代谢中的作

用。尤其是 FXR 在糖尿病肾病中的作用。近年来发现,在对抗胆酸相关代谢病如,糖尿病肾病,调节 FXR 的活性的是一个可靠的和有趣的策略^[12]。FXR 能负性调控糖尿病肾病,所以研究 FXR 在糖尿病肾病中的具体机制对研究药物靶点以及糖尿病肾病的治疗,将产生较大的意义。

3 FXR 抑制糖尿病肾病

3.1 FXR 可抑制肾纤维化

糖尿病肾病的最主要的特征是肾纤维化。肾纤维化过程中纤维母细胞集聚,细胞外基质蛋白表达增加,伴随着肾单位功能的缺失进行性肾病的主要病理特征。许多研究表明多种因子介导进行性肾纤维化过程,包括生长因子(GF),细胞因子,代谢毒素和氧化应激分子。其中,转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 在肾纤维化中起着重要的作用。一方面,通过增加细胞外基质蛋白的表达,另一方面,可以抑制细胞外基质蛋白的降解。TGF- β_1 是 TGF β 超家族中的一员, TGF- β 超家族包括激活素(activins),抑制素(inhibits),生长因子等。它有 3 种亚型:TGF- β_1 , TGF- β_2 , TGF- β_3 。肾脏的所有细胞都能合成并分泌这三种亚型。刚分泌的 TGF- β_1 和潜在 TGF β 结合蛋白结合(latent TGF- β binding protein, LTBP),没有活性。当细胞受到刺激后, TGF β_1 通过水解作用从 LTBP 上解离下来从而具有活性。具有活性的 TGF- β 通过自分泌或旁分泌的方式和膜上的受体结合,通过 smad 依赖或非依赖两种途径,发挥其致纤维化和致炎的生物效应。Smad 依赖途径被认为是肾脏纤维化的最主要的途径^[13]。

近年来,随着对 FXR 研究的深入,发现 FXR 具有抗肾脏纤维化的功能。由于 FXR 在代谢方面的作用,进一步发现 FXR 激动剂在肾脏脂代谢和调控肾脏疾病方面的作用。结果表明,将用 FXR 激动剂处理的 C57BL/6J 小鼠能防止高脂饮食诱导的固醇反应元件结合蛋白-1(SREBP-1)的生成。另外,用 FXR 激动剂能阻止 db/db 小鼠蛋白尿,肾小球硬化症,肾脏甘油三酯的堆积,促纤维化因子的表达,促炎症因子的表达。在高糖培养下的体外细胞试验中显示,FXR 能抑制 SREBP-1 介导的脂肪酸合成和促纤维化因子、促炎症因子的表达。研究发现,FXR 基因敲除鼠将加剧糖尿病肾病的进程。而 FXR 激动剂则可以组织糖尿病肾病的发展。但对

于 FXR 抑制肾纤维化的机制仍没有说明。近期,有研究^[14]表明,SHp 可以通过抑制 TGF- β 信号通路进而抑制纤维化蛋白的表达。而 SHp 的表达受 FXR 的直接调控。通过小鼠单侧输尿管结扎(UUO)诱发的肾纤维化模型的建立,检测野生型和 SHp 敲出鼠中纤维化蛋白的表达情况。腺病毒介导的 SHp 在大鼠系膜细胞中和肾小管上皮细胞中的过表达抑制 TGF β 介导的纤维化蛋白(如 I 型胶原、纤连蛋白、PAI-1 等)的表达。SHp 抑制 TGF- β -smad3 诱导的纤维化蛋白的启动子活性,进而抑制纤维蛋白的表达,这就形成了 FXR-SHp-抑制纤维蛋白的抗纤维化通路。FXR 通过上调 SHp,SHp 竞争性结合 CBP 和 P300。在纤维化蛋白如纤连蛋白(FN)、PAI-1 等表达时,首先 smad3 募集协同转录因子 CBP 和 P300,然后才能启动纤维化蛋白的表达。而 SHp 竞争性结合 CBP 和 P300,这就导致了纤维化蛋白的表达受到抑制。但目前这方面的研究较少,还没有形成共识,FXR 调节纤维化的具体作用靶点和分子机制仍需要深入研究。

3.2 FXR 可抑制肾脏炎症

在糖尿病肾病进程中,炎症是一个重要的特征。肾脏纤维化形成共分 3 期:炎症反应期、纤维化形成期、斑痕形成期。炎症反应期是肾脏组织受各种致病原因损伤后,出现的炎症反应阶段,NF- κ B 是炎症反应的主要通路,它能介导白介素,肿瘤坏死因子等炎症介质的释放,进而导致炎症。所以,如果能对炎症反应期进行控制,糖尿病肾病也将得到抑制。

虽然胆汁酸在糖脂代谢、抗炎方面的作用已经发现了很多年,但 FXR 转录水平上发挥抗炎的通路直到最近才被发现。FXR 敲出鼠(FXR $-/-$)表现出炎症水平升高和易形成肝细胞癌,这一现象表明,FXR 可能在保护肝脏炎症和炎症介导的肿瘤方面起着关键的作用。但是其具体的分子机制仍然不清楚。另外,在肠道中,FXR 可能通过诱导抗菌因子如血管紧张素,诱导性一氧化氮合酶(iNOS),白介素-18(IL-18)来维持肠道的完整性,进而保护肝脏对抗肠源性的毒素。有关 FXR 和炎症的直接证据是,Wang 等在研究肝病过程中证明,FXR 可以直接和炎症因子 NF- κ B 直接结合进而调控炎症反应。NF- κ B 是介导炎症反应和细胞增殖的关键转录因子。在接受促炎症因子如细菌脂多糖(LPS)刺激的情况下,NF- κ B 能够被迅速激活参与炎症反应。

Wang 等^[15]在最近的实验中发现,(1)FXR 基因敲出鼠(FXR $-/-$)的肝脏对反正刺激(LPS)比野生型更敏感,(2)在肝细胞中,FXR 激动剂能抑制 NF- κ B 的靶基因如肿瘤坏死因子(TNF- α),iNOS 的表达,(3)FXR 的激活后抑制 NF- κ B 的活化,(4)炎症诱导的 NF- κ B 的活化可以反过来抑制 FXR 的活性以及抑制 FXR 靶基因的表达。目前,证明 FXR 与 NF- κ B 之间有联系不仅仅是在肝细胞中,FXR 曾被报道在内皮细胞和血管平滑肌细胞中能抑制 NF- κ B 的活性,可能是通过 SHp 来实现抗炎的。Raffaella M. Gadaleta 等^[16]在肠细胞中证明了,FXR 可以结合 NF- κ B 的两个亚基 P50/P65,进而抑制炎症反应。但在肾脏细胞中是否也纯在同样的调控机制,FXR 是否也通过结合 P50/P65 两个亚基发挥抗炎作用,至今还不清楚。

3.3 FXR 通过降低血糖来改善糖尿病肾病

糖尿病肾病的一个重要的发病原因就是由于糖尿病所导致。如果能找到一种有效的降低血糖的方法,无疑将对糖尿病肾病的治疗产生深远的意义。

SHp 是 FXR 的一个较重要的下游靶基因,FXR 激活后能促进 SHp 的表达,进而促进 Cyp7a1、糖皮质激素受体(GR)和 HNF-4 的转录。糖皮质激素受体(GR)和 HNF-4 在糖异生中具有重要作用,由此可推测胆汁酸(BAs)、FXR 在调节血糖稳定方面具有重要作用^[17]。因为磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPCK)和葡萄糖 6 磷酸酶(G6P)过表达后将导致循环血糖水平上升,所以 FXR 对这两种酶的水平调控对于血糖维持正常水平至关重要。最近,两个独立的科研小组在体内和体外实验中,都证明了 FXR 在胰腺 β 细胞中的功能,激活 FXR 以后将导致胰腺 β 细胞胰岛素的释放和细胞对脂毒性的抵抗^[18]。有趣的是,有研究表明,FXR 激活后导致糖分解降低和低密度脂蛋白的输出速率降低。所以,激活 FXR 导致了整体循环血糖的降低,对治疗糖尿病大有益处。FXR 在调节糖储存中也有重要的作用。糖在体内通过糖原合成形成糖原,该过程被糖原合成酶调控。糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β)可以通过磷酸化来调控糖原合成酶的活性。因此,GSK-3 β 在维持血糖的稳定方面具有重要的作用。最近的一些研究表明,FXR 可能调控 GSK3 β 的活性。用 FXR 激动剂 GW4064 喂养肥胖小鼠(ob/ob)后,糖原合成和糖储存量将增加^[19]。另外,在 FXR 基因

敲除鼠表现出高糖血症,这是因为增加了糖异生和抑制了糖原合成所致;饥饿的 FXR 基因敲除鼠表现出低血糖症,这是因为不能激活糖异生所致^[20]。这些都表明了 FXR 在维持血糖稳定方面的作用,如果能阐明其调节血糖的机制,那么在对于治疗糖尿病肾病将有一定的帮助。

3.4 FXR 可降低血脂来改善糖尿病肾病

FXR 具有重要的调节脂代谢的作用^[21],FXR 敲除或 FXR 激动剂处理后小鼠表现出显著的脂质代谢改变,因此 FXR 的这种抑制血脂的作用是对血浆脂蛋白表达的直接调控,还是仅限于糖尿病肾脏中通过调节脂类代谢进而改变脂毒性等病理生理机制来实现的尚不清楚。在 FXR 基因敲除鼠中发现,血清中高密度脂蛋白(HDL)和甘油三酯水平升高,相反,能将 HDL 胆固醇清除的 HDL 受体清除受体家族 SREB1 却降低^[22]。FXR 也调控与脂代谢有关的蛋白的合成,如磷脂转移蛋白(PLTP)和载脂蛋白。另外,在高脂肪饮食下,FXR 基因敲除鼠比野生型具有较高水平的游离脂肪酸(FFA),这可能是由于增加了脂肪分解酶的活性所致。FXR 的激动剂能降低血脂这一现象在正常大鼠、非肥胖大鼠和非糖尿病大鼠中都得到了证实。有研究表明,FXR 激动剂能调控肾脏固醇反应元件结合蛋白-1(SREBP-1)的表达。在肾小管间质细胞中,过表达 FXR 或者用 GW4064 处理后,SREBP-1 和其他的脂合成的基因将被抑制。关于 FXR 降低 SREBP-1 的机制目前还不是很清楚,可能的机制是 FXR 通过调控 SHP 的生成,进而调控 SREBP-1 的生成。在糖尿病小鼠(db/db, C57BL/6)模型中,长期的用胆汁酸将显著改善糖尿病肾病。但还需对机制做进一步的研究。

4 结语

目前关于肾脏纤维化的研究较多,但仍尚未找到有效的治疗靶分子。由于 FXR 在控制糖尿病肾病的发展方面有着重要的作用,所以对 FXR 在糖尿病肾病方面的深入研究有助于糖尿病肾病的攻克。FXR 具有降低肾纤维化、炎症、血糖和血脂等各个方面的作用,这无疑使人们期望其在糖尿病肾病中的巨大治疗潜力。如果能对 FXR 在糖尿病肾病的各个通路研究清楚,那无疑将将会为糖尿病肾病防治靶点的选择提供了新的可能,也将是攻克糖尿病肾病过程中的一个里程碑。

参考文献:

- [1] 《中国糖尿病防治指南》编写组. 中国糖尿病防治指南[M]. 北京:北京大学医学出版社,2004. 6.
- [2] 张浩军,李平,赵静波等. 糖肾方对糖尿病肾病大鼠肾组织 TGF- β 1 及 MMP-9 表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志 2009,10(4): 290-294.
- [3] Ronald Pyram, Abhishek Kansara, Mary Ann Banerji. Chronic kidney disease and diabetes[J]. *Maturitas*, 2012,71: 94-103.
- [4] Devasmita Choudhury, Moshe Levi. Kidney aging-inevitable or preventable? [J]*Nephrol*, 2011, 7:706-717.
- [5] Chawla A. Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files[J]. *Science*, 2001,294:1866-1870.
- [6] Makishima M, Okamoto A Y, Repa J J, et al. Identification of a nuclear receptor for bile acids [J]. *Science*, 1999, 284: 1362-1365.
- [7] Parks D J, Blanchard S G, Bledsoe R K, et al. Bile acids; natural ligands for an orphan nuclear receptor[J]. *Science*, 1999, 284: 1365-1368.
- [8] Wang H, Chen J, Hollister K, et al. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR [J]. *Mol. Cell*, 1999, 3: 543-553.
- [9] Forman B M, Goode E, Chen J, et al. Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites [J]. *Cell*, 1995, 81: 687-693.
- [10] Seol W, Choi H S, Moore D D. Isolation of proteins that interact specifically with the retinoid X receptor: two novel orphan receptors[J]. *Mol. Endocrinol*, 1995, 9:72-85.
- [11] Claudel T, Staels B, Kuipers F. The farnesoid X receptor-A molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism[J]. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 2005, 25: 2020-2031.
- [12] Duran - Sandoval D, Cariou B, Fruchart JC, et al. Potential regulatory role of the farnesoid X receptor in the metabolic syndrome[J]. *Biochimie*, 2005, 87:93-98.
- [13] Schnaper HW, Hayashida T, Poncelet AC. It's a Smad world: regulation of TGF-beta signaling in the kidney [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13: 1126-8.
- [14] Gwon - Soo Jung, Mi-Kyung Kim, Mi Sun Choe. The Orphan Nuclear Receptor SHP Attenuates Renal Fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20:2162-2170.
- [15] Wang YD, Chen W-D, Wang M, et al. Farnesoid X receptor antagonizes NF - κ B in hepatic inflammatory response [J]. *Hepatology*, 2008, 48(5): 1632-1643.
- [16] Gadaleta Raffaella M, Oldenburg Bas, Willemsen Ellen C. L., et al. Activation of bile salt nuclear receptor FXR is repressed by pro-inflammatory cytokines activating NF - κ B signaling in the intestine [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1812: 851-858.
- [17] Shen Hong, Zhang Yu, Ding Hong, et al. Farnesoid X receptor

- induces GLUT4 expression through FXR response element in the GLUT4 promoter[J]. *Cell. Physiol. Biochem*, 2008, 22; 1 - 14.
- [18] Popescu Iuliana Ristea, Helleboid-Chapman Audrey, Lucas Anthony, et al. The nuclear receptor FXR is expressed in pancreatic β -cells and protects human islets from lipotoxicity[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584; 2845 - 2851.
- [19] Zhang YQ, Lee FY, Barrera G, et al. Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic mice[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 2006, 103; 1006 - 1011.
- [20] Cariou B, van Harmelen K, Duran-Sandoval D, et al. The farnesoid X receptor modulates adiposity and peripheral insulin sensitivity in mice [J]. *J. Biol. Chem*, 2006, 281; 11039 - 11049.
- [21] Leiss O, von Bergmann K. Different effects of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on serum lipoprotein concentrations in patients with radiolucent gallstones [J]. *Scand. J. Gastroenterol*, 1982, 17; 587 - 592.
- [22] Lambert G, Amar MJA, Guo G, et al. The farnesoid X-receptor is an essential regulator of cholesterol homeostasis [J]. *J. Biol. Chem*, 2003, 278; 2563 - 2570.

[修回日期]2012-07-06