·综 述·

P38MAPK 信号通路、p-P42/P44MAPK、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白在肾脏纤维化过程中的作用

加慧卫 综述 黄 晨 审校

肾脏纤维化是所有慢性肾脏疾病进展至终末期肾衰竭的共同通路。近年的研究显示，肾小管间质病变在慢性肾衰竭进展中与肾小球疾病发挥着同样重要作用。目前，对肾间质纤维化中信号转导的研究表明，P38MAPK 信号通路参与了其发生和发展过程。P42MAPK 和 P44MAPK 活化后可以激活多种核转录因子，影响目的基因的表达，与细胞生长、分化和增殖的调控关系密切，参与了多种肾脏疾病的病理生理进展。目前认为中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白（neutrophil gelatinase-associated lipocalin，NGAL；也被称作 SIP24、24p3、or Lipocalin2）是 lipocalin 家族的新成员[1]，具有运输疏水性小分子、调节金属蛋白酶 9 活性等功能[2]，NGAL 也在肾脏纤维化过程中起着重要作用。

1 P38MAPK 与肾脏纤维化

肾脏纤维化即肾脏正常组织结构被细胞外基质（extracellularmatrix，ECM）所取代，导致肾小球硬化和肾间质纤维化，肾脏纤维化发生机制与转化生长因子 β1（tuansforming growth factor-β1，TGF-β1）、血管紧张素Ⅱ（angiotensinⅡ，AngⅡ）、肾脏固有细胞表型转化以及肾小管上皮细胞凋亡等有关。研究表明，P38MAPK 在肾脏纤维化过程中起一定作用。

1.1 P38MAPK 在 TGF-β1 致肾脏纤维化中的作用 TGF-β 是一种多功能的细胞因子，其在肾脏中含量最多的是 TGF-β1。肾脏病变时主要表达于纤维增生的肾间质、受损肾小管上皮细胞以及肾小球内。TGF-β1 是一种强致纤维化因子，TGF-β1 通过刺激基质蛋白合成及增加蛋白酶抑制物的活性和降低蛋白酶的量，降低基质的降解。同时，刺激基质蛋白受体合成，而导致肾间质纤维化的发生。另外，TGF-β1 在肾小球硬化中也起着重要作用，可诱导肾脏固有细胞如肾小球系膜细胞、肾间质成纤维细胞发生表型转化而活化为肌成纤维细胞（myofibroblast，MFB），MFB 通过合成 ECM 而促进纤维化的形成，同时，TGF-β1 抑制 ECM 的降解酶系，如 TGF-β1 抑制胶原酶和基质溶解素的活性，促进金属蛋白酶组织抑制物（tissue inhibitor of metalloproteinase，TIMPs）的表达，造成 ECM 堆积，加重肾纤维化。近年研究发现，P38MAPK 在 TGF-β1 致肾脏纤维化中起重要作用。TGF-β 通过 Smad-2 和 P38MAPK 途径可诱导肾小管上皮细胞凋亡[3]。以 TGF-β1 刺激 MKK3 基因阳性小鼠（MKK3 +/+），发现肾小球系膜细胞 P38MAPK 被快速激活，而刺激 MKK3 基因阴性小鼠（MKK3-/-）则未见 P38MAPK 激活[4]。说明 P38MAPK 可能是 TGF-β1 系统下游的一个通路，介导 TGF-β1 引致肾小球硬化，同时，TGF-β1 激活 P38MAPK 必须有 MKK3 的存在。P38MAPK 活化可能使调控 TGF-β1 诱导的系膜细胞纤维连接蛋白表达。TGF-β1 除激活 MAPK 通路外，还激活 Smad 通路，MAPK 与 Smad 两条通路之间存在交叉对话（Cross talk）现象[5]。MAPK 通路可直接介导 TGF-β1 的生物学效应，也可能通过与 Smad 通路的串话调节 Smad 介导的 TGF-β1 的生物学效应。P38MAPK 有 p38α、p38β、p38γ、p38δ 四个亚型，每个亚型在不同组织的选择性表达是不同的。p38α 在白细胞和骨髓表达水平高，p38α 作为 TGF-β1 系统下游信号分子，在肾间质纤维化中起重要作用[6]。

1.2 P38MAPK 在 AngⅡ介导肾脏纤维化中的作用 AngⅡ在肾脏损害中起重要作用，如介导血液流变学变化、细胞增殖、分化和纤维化。有人曾研究在高肾素纯合子小鼠体内完全阻断 P38MAPK[7]，可显著阻止肾小球基膜基质沉积，延缓肾小球硬化。

收稿日期：2008-05-29

作者单位：710032 西安市，解放军第四军医大学西京医院肾内科
通讯作者：黄晨，Tel：029-84775193，E-mail：xjhbzr@fmmu.edu.cn

万方数据

提示 P38MAPK 参与了 Ang Ⅱ 介导的肾小球损害过程。有研究显示，AngⅡ可剂量依赖性地增加肾间质纤维连接蛋白(fibronectin，FN)沉积及 FN mRNA 表达[8]，同时激活 P38MAPK 信号通路，用血管紧张素1型受体(AT_1受体)阻断剂(angiotensin receptor blocker，ARB)可明显降低 FN 及 FN mRNA 表达，且 P38MAPK 活性受到抑制；P38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 具有同样的效果。提示 Ang Ⅱ 与 AT_1 受体结合激活 P38MAPK 信号通路，引起 FN 及 FN mRNA 表达，ARB 可有效防止肾纤维化发生。

1.3 P38MAPK 在肾脏固有细胞表型转化中的作用 细胞表型转化是在特定的生理或病理情况下发生的细胞分化或去分化。影响慢性肾脏疾病进展的因素是多方面的，其中肾脏固有细胞的表型转化和生物学反应异常是导致病变持续进展的重要因素之一[12]。α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin，α-SMA)是多种肾脏固有细胞表型转化的标志物。正常肾脏肾小球上皮细胞、内皮细胞、局部浸润的单核细胞等有微量的 α-SMA 表达。病理情况下，肾小球系膜细胞表达 α-SMA 增多，提示其由静止表型转化为增殖分泌表型，此时，系膜细胞可表现为异常增殖，细胞外基质合成增加并分泌多种炎症介质，加重肾小球硬化[9]。P38MAPK 在肾小球系膜细胞转分化过程中起一定作用。以 P38MAPK 特异性阻断剂 SB203580 处理后，α-SMA 表达明显减弱，说明 P38MAPK 在肾系膜细胞转分化过程中起重要作用[10]。肾小管上皮细胞表达 α-SMA 时提示其被活化，可异常增殖，表达炎症趋化因子，分泌 ECM 成分，说明肾小管上皮细胞转化成为肌成纤维细胞[11]。

2 磷酸化 P42/P44MAPK(p-P42/P44MAPK)在慢性肾功能衰竭大鼠肾组织表达特征

无论何种病因所致的肾脏病变进入终末期肾病阶段时，其肾组织的病理变化均表现为弥漫性肾小球硬化，肾小管萎缩、消失及间质的纤维化[13]。5/6肾切除大鼠模型，肾小球硬化，肾小管萎缩，肾间质纤维化，比较符合人类肾纤维化的病理改变，是研究抗慢性肾衰竭、肾纤维化的较理想动物模型[14]。MAPK 是一类丝/苏氨酸蛋白激酶家族，是调控炎症增殖、分化、凋亡等多种细胞生物学效应的关键细胞信号转导通路，其 ERK1/2 即 P42/P44MAPK 是细胞信号中传递丝裂原信号的关键激酶。它处于细胞信号传递通路的中心，可被多肽类生长因子、细胞因子(肿瘤坏死因子 α、白细胞介素-1)、内毒素、激素、应激刺激等激活，通过调节转录因子活性，促进细胞增殖和蛋白质合成，在细胞增殖以及在细胞分化、发育、恶性转化中起重要作用。曾报告 P42/P44MAPK 在所有肾单位都有表达，在肾小球肾炎动物模型中，MAPK 通路中的不同信号蛋白在病理情况下的分布和活性均会发生相应的改变。TGF-β1，Ang Ⅱ 等可通过一定的信号转导途径激活 P42/P44MAPK。在5/6肾切除构建的慢性肾衰竭的大鼠模型肾组织中 p-P42/P44 MAPK 被显著激活，表达较对照组明显增加，提示 P42/P44MAPK 可能作为慢性肾功能衰竭多种致病因素的共同信号通路的交汇点参与了慢性肾衰竭的发生和发展过程。阻断 P42/P44MAPK 的活性可能有助于阻断慢性肾衰竭的发生和发展，为临床防治慢性肾衰竭提供了新的思路[15]。

3 NGAL 和肾脏纤维化

近年来研究表明，NGAL 参与肾小管上皮的形成与修复。损伤后的肾小管上皮细胞表达的 NGAL 可诱导肾小管间质中浸润的中性粒细胞发生凋亡以保护肾组织免受炎细胞的侵害，同时 NGAL 可诱导肾间充质细胞向肾小管上皮细胞的转化，从而诱导肾小管上皮细胞的再生。动物实验发现：体内注射重组的 NGAL 可减轻小鼠肾脏缺血-再灌注所引起的肾小管损伤，这可能是因为 NGAL 作为一个铁转运蛋白参与了损伤后肾小管上皮细胞内的铁转运和诱导血红素加氧酶的生成，从而有利于损伤肾小管的再生，为如何保护损伤的肾小管提供了重要的思路。NGAL 主要通过以下途径影响肾脏纤维化。

3.1 NGAL 通过 Ras-MAPK 信号通路调控肾脏纤维化 研究发现，在 4T1 细胞(同基因型自发迁移乳腺癌模型)中[16]，使用纯化的 NGAL 作用于 R 细胞(4T1-Ras cell)，发现 Ras 诱导的 Raf、MEK、ERK1/2 的磷酸化消失了，但 Ras 的表达没有改变，提示 NGAL 可以调节 Ras-MAPK 途径。同时发

万方数据

现，NGAL对MEK的激活作用在MEK的上游区，而NGAL可以下调Raf的磷酸化水平而不改变Ras的表达水平，说明NGAL对Ras-MAPK信号通路的作用位点在Ras和Raf之间。另外，用NGAL干预Ras-MAPK以外的信号通路不足以抑制Ras介导的肾小管上皮细胞向间充质细胞转化(epithelial mesenchymal transition，EMT)，进一步证明了NGAL可以通过Ras-MAPK信号通路抑制Ras介导的EMT。而EMT是肾脏纤维化的关键环节，提示NGAL可以抑制肾脏纤维化。cAMP反应序列结合蛋白(cAMP-responsive element binding protein，CREB)是NGAL中一个顺式作用元件所对应的反式作用因子，cAMP-PKA-磷酸化CREB、Ras-Raf-MAPK通路、PI3K/Akt通路、应激状态下诱导的P38MAPK及磷酸酶方向调节通路等都可使CREB磷酸化而使其活化。活化后的CREB可以降低上皮细胞的黏附，促使肾小管上皮细胞向EMT而引起肾脏纤维化。

3.2 NGAL通过上皮细胞钙蛋白E-cadherin(E-cad)影响肾脏纤维化的发生和发展 E-cad是一种钙依赖性跨膜糖蛋白，参与形成和维护正常细胞间连接。E-cad基因定位于16q22.1，包含16个外显子和15个内含子，广泛存在于机体上皮细胞内，特别是上皮细胞膜的侧缘和细胞间黏附区，其不仅在维持上皮细胞形态完整和极性中起重要作用，同时还促进旁分泌信号的传递，起信息传递和细胞稳定作用。新近报道NGAL也对E-cad的表达具有重要调节作用。研究发现小鼠的输尿管芽中表达24P3/NGAL，还发现在胚胎人肾小管上皮细胞的形成中，NGAL通过促进E-cad的表达而促进胚胎间质细胞向肾小管上皮细胞分化。这些均提示NGAL是调节E-cad表达的一个重要分子。最近研究发现，在4T1细胞中，NGAL可抑制Ras诱导E-cad的磷酸化和降解，增加E-cad蛋白的表达水平。在这一过程中，NGAL既不影响E-cad的mRNA水平，也不增加E-cad启动子的转录活性，说明这一过程是通过转录后效应实现的[17]。

3.3 肾脏纤维化中NGAL对金属蛋白酶/金属蛋白酶抑制物的影响 NGAL具有运输疏水性小分子、调节金属蛋白酶9(matrix metallo proteinase-9，MMP-9)活性等功能[18]。MMP-9是金属蛋白酶家族成员，在肾小球高度表达，可特异性降解Ⅳ型胶原[19]。正常肾小球固有细胞表达微量MMP-9，对维持肾小球基底膜的正常代谢具有重要作用，MMP-9可使Ⅳ型胶原释放可溶性羟脯氨酸，并对完整的肾小球基底膜有降解作用，因而MMP-9活性的高低直接影响着肾小球Ⅳ型胶原的表达量与局部沉积，调节着肾小球、微血管的硬化过程和肾脏纤维化的过程。MMP-9除受其组织金属蛋白酶抑制物1(tissue inhibitors of metalloprotein-1，TIMP-1)调节外，还受到NGAL的调节。NGAL可结合于MMP-9上保护MMP-9不被降解。一般情况下，MMP-9是以前体的形式(Pro-MMP9)贮存于细胞内，分泌到细胞外之后，只有切去N端的一段序列，MMP-9才表现活性。NGAL/Pro-MMP-9被激活时，其活性同单体和同源二聚体的基本一样；而NGAL/Pro-MMP-9/TIMP-1这种三元复合物中，Pro-MMP-9仍可被激活为有活性的MMP-9，但活性会有所降低。然而当此三元复合物中的TIMP-1通过它的游离N-端结构域去结合和抑制其他的MMPs时，又可形成NGAL/Pro-MMP-9/TIMP-1/MMPs四元复合物。而当这种四元复合物被活化时，Pro-MMP-9被激活成MMP-9的活性反而比三元复合物时的活性高许多倍。很显然NGAL明显具有调节这些复合物的能力，从某种程度上来讲，NGAL具有抵消复合物中TIMP-1抑制MMP-9活性的作用而抑制肾脏纤维化。以上所述通路如图1所示。

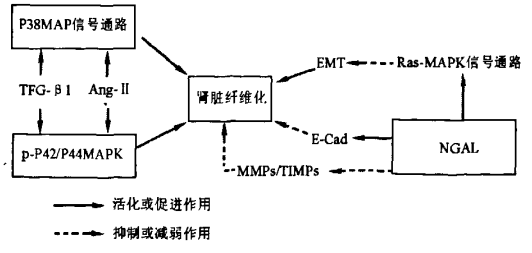

图1 P38MAPK信号通路、p-P42/P44MAPK、NGAL与肾脏纤维化的作用示意图

4 结 论

肾脏纤维化是各种原因引起的慢性肾脏疾病进展至终末期肾衰的共同途径。目前研究显示P38MAPK可能是TGF-β系统下游的信号介质，在

万方数据

肾脏纤维化发生中具有重要作用。因此，抑制P38MAPK的活化及分泌有望成为阻止或延缓肾脏纤维化的途径之一。MAPK是一类丝/苏氨酸蛋白激酶家族，是调控炎症增殖、分化、凋亡等多种细胞生物学效应的关键细胞信号转导通路，其ERK1/2即P42/P44MAPK是细胞信号中传递丝裂原信号的关键激酶。NGAL在抑制肾脏纤维化中起了一定作用，从NGAL着手进行研究可望成功抑制肾小管上皮细胞向肌成纤维细胞转分化，从而达到防止和修复肾脏纤维化的目的，为临床治疗肾脏纤维化开拓新的途径。

参考文献

[1] Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengelov H, et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. J Biol Chem, 1993, 268: 10425-10432.

[2] Gwira JA, Feng W, Ishibe S, et al. Expression of neutron philgelatinase associated lipocalin regulates epithelial morphogenesis *in vitro*. J Biol Chem, 2005, 280: 7875-7882.

[3] Dai C, Yang JW, Liu YH. Transforming growth factor-beta1 potentiates renal tubular epithelial cell death by a mechanism independent of Smad signaling. J Biol Chem, 2003, 278: 12537-12545.

[4] Wang L, Ma R, Flavell RA, et al. Requirement of mitogen activated protein kinase kinase 3 (MKK3) for activation of p38 alpha and p38 delta MAPK isoforms by TGF-β1 in murine mesangial cells. J Biol Chem, 2002, 277: 47257-47262.

[5] Schnaper HW, Hayashida T, Hubchak SC, et al. TGF-β signal transduction and mesangial cell fibrogenesis. Am J Physiol Renal Physiol, 2003, 284: 243-249.

[6] Chang LF, Karin M. Mammalian MAP kinasc signaling cascades. Nature, 2001, 410: 37-40.

[7] De Borst MH, Navis G, De Boer RA, et al. Specific MAPKinase blockade protects against renal damage in homozygous TGR(mRen2)27 Rats. Lab Invest, 2003, 83: 1761-1770.

[8] Sekine S, Nitta K, Uchida K, et al. Possible involvement of mitogen activated protein kinase in the angiotensinⅡ-induced fibronectin synthesis in renal interstitial fibroblasts. Arch Biochem Biophys, 2003, 415: 63-68.

[9] 李素敏，段惠军. P38MAPK信号通路与肾脏纤维化，国际泌尿系统杂志，2007，27：92-95.

[10] Matsuda M, Shikata K, Makino H, et al. Glomerular expression of macrophage colony stimulating factor and granulocyte macrophage colony stimulating factor in patients with various forms of glomerulonephritis. Lab Invest, 1996, 75: 403-412.

[11] 王玉，李晓玫，王海燕. 白介素-1β通过JNK/P38信号转导通路调控肾系膜细胞表达α-平滑肌肌动蛋白. 生理学报，2002，54：244-250.

[12] Groma V. Demonstration of collagen type Ⅵ and alpha smooth muscle actin in renal fibrotic injury in man. Nephrol Dial Transplant, 1998, 13: 305-312.

[13] Hinojosa-Laborde C, Frolich B, Cowley AW Jr. Whole body autoregulation in reduced renal mass hypertension. Hypertension, 1992, 20: 659-665.

[14] Yang N, Wu LL, Nikolic-Paterson DJ, et al. Local macrophage and myofibroblast proliferation in progressive renal injury in the rat remnant kidney. Nephrol Dial Transplant, 1998, 13: 1967-1974.

[15] 涂玲，邓娟娟，赵刚，等. P-P42/p44在慢性肾功能不全大鼠肾组织表达特征及其作用. 中国组织化学与细胞化学杂志 2007，16：215-218.

[16] Junichi H, Tadanori, Pankaj S, et al. Lipccalin 2 diminishes invasiveness and metastasis of ras transformed cells. J Biol Chem, 2005, 208: 13641-13647.

[17] 樊力，陈明. NGAL和肾脏纤维化. 国际泌尿系统杂志，2007，27：848-851.

[18] Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinase. J Biol Chem, 1999, 274: 21491-21494.

[19] Bachorzewska - Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and renal funcation after precutaneous coronary interventions. Am J Nephrol, 2006, 26: 287-292.

万方数据