

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.05.045

外泌体在糖尿病肾病中的研究进展^{*}

赖丽莎^{1,2}综述,徐军发^{1△},付文金^{2▲}审核

1. 广东医科大学检验医学研究所,广东东莞 523808;2. 广东医科大学
附属厚街人民医院检验科,广东东莞 523945

关键词:糖尿病肾病; 外泌体; 病理机制

中图分类号:R587.2;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)05-0708-03

糖尿病肾病(DN)为糖尿病常见的微血管并发症,是导致糖尿病患者终末期肾衰竭的主要原因,也是糖尿病的主要死因之一^[1]。DN 发病机制复杂多样,目前临床尚无有效手段能阻止 DN 的发生与发展。因此,深入了解其发病机制,对早期诊断和防治 DN 具有重要的临床意义。外泌体作为细胞与细胞间信号传递的重要载体,参与多种肾脏疾病的发生、发展,本文主要就外泌体在 DN 中的研究进展予以综述。

1 外泌体的形成和释放

外泌体在真核细胞内的多泡体(MVB)中形成,是分泌囊泡的一种亚型,为直径 40~200 nm 的脂质双分子层膜性囊泡。外泌体产生途径如下:首先,细胞膜向内凹陷,形成一种特殊类型的脂质囊泡称为内体,内体通过出芽形成 MVB;随后,蛋白质与 RNA [包括长非编码 RNA(lncRNA)、信使 RNA(mRNA)、微小 RNA(miRNA)和环状 RNA(cirRNA)]通过选择性包装进入 MVB,MVB 中的囊泡可分为早期内体、晚期内体和回收内体。早期内体经过一系列转换成为晚期内体;部分晚期内体通过与溶酶体融合而降解,而另一部分晚期内体则通过 Rab27 介导的质膜融合,将 MVB 内的囊泡以胞吐的形式释放到胞外,所释放的膜性小囊泡即为外泌体^[2-4]。目前,不同的分子家族已被证明参与外泌体的细胞内形成及分泌,这表明在外泌体中也存在不同的亚型。

外泌体含有丰富的蛋白质、mRNA 和 miRNA 等生物信息分子,并可将信息分子靶向运输到远端组织,结合到靶细胞膜上,通过直接与质膜融合或被靶细胞内吞的形式于靶细胞内释放内容物。通过这种方式,外泌体完成细胞间信息和核酸等物质的交流。外泌体通过将 miRNA 传递到靶细胞胞质中,再特异性结合靶基因 mRNA 的 3'非翻译区(3'-UTR),诱导 mRNA 降解或抑制蛋白质的翻译,从而调节特定靶蛋白在细胞内的表达,改变靶细胞的基因表达或信号转导途径。这种细胞间交互作用的新方式,在 DN 的发

生、发展过程中发挥着重要作用^[5-6]。

2 外泌体在 DN 病理机制中的研究

DN 的基本病理改变为肾小球肥大、基底膜增厚、细胞外基质积聚、肾小球系膜扩张、肾小管间质纤维化、足细胞足突融合及消失等^[7]。目前普遍认为高血糖、转化生长因子-β1(TGF-β1)是 DN 的关键信号转导和基因调控机制。近年来,随着研究的不断深入,有大量研究报道了外泌体及其 miRNA 广泛调控肾小球、肾小管及肾间质的病变过程,而该过程是影响 DN 预后的重要因素。外泌体及其 miRNA 通过介入炎症、纤维化和氧化应激等病理过程参与 DN 的发生与发展。

2.1 参与肾小球系膜细胞损伤 系膜细胞肥大及 ECM 堆积是肾小球系膜细胞在 DN 状态下最重要的病理改变^[8]。BARUTTA 等^[9]通过使用高糖刺激肾小球系膜细胞发现,虽然系膜细胞外泌体分泌量明显下降,但过量表达了外泌体源 miR-145,后者可能通过促进 TGF-β1 过度表达,在系膜细胞肥大、肾小球基底膜增厚、肾小管间质纤维化及表皮生长因子受体下调等方面发挥作用。提示外泌体 miR-145 可作为 DN 早期诊断的潜在指标。

2.2 参与肾小球足细胞损伤 足细胞损伤也是 DN 发生、发展的关键环节,足细胞损伤发生在慢性肾脏病的早期阶段。当肾小球发生功能障碍时常伴有足细胞脱落,并随尿液排出。有研究提示,源于外泌体的蛋白标志物比全尿分析更能准确反映 DN 患者肾损伤改变,更适合作为 DN 病情的监测指标^[10]。ABE 等^[11]检测了糖尿病患者尿液外泌体肾母细胞瘤-1(WT-1)蛋白发现,WT-1 蛋白水平可有效反映糖尿病患者肾小球足细胞的损害,随着肾功能的下降其表达水平逐渐升高,可作为 DN 早期诊断的非侵入性标记物。SAKURAI 等^[12]研究证实,骨形成蛋白(BMP)4 可诱导糖尿病患者足细胞中 E1f 蛋白的表达;尿液外泌体 E1f 蛋白可作为一种新型的预测足突细胞损伤的早期无创标志物。同时,该研究显示 E1f 蛋白通过激

^{*} 基金项目:广东省东莞市社会科技发展(重点)项目(201950715023090)。

[△] 通信作者,E-mail:xujunfa@gdmu.edu.com。 [▲] 共同通信作者,E-mail:332689892@qq.com。

活足细胞中的 Smad3 而独立地调控 WT1 蛋白的表达。LIN 等^[13]研究发现, KDM6A(一种组蛋白赖氨酸去甲基化酶)和足细胞中的 KLF10 蛋白在 DN 患者的尿液外泌体中显著升高。KDM6A 通过上调其下游靶标 KLF10, 产生正反馈回路, 加重糖尿病足细胞功能障碍, 同时 KLF10 蛋白的上调也能增加 KDM6A 的蛋白表达。而小鼠 KDM6A 或 KLF10 的失活或敲除可显著抑制糖尿病诱导的蛋白尿和肾损伤。研究显示, KDM6A-KLF10 强化反馈机制可加重糖尿病足细胞功能障碍, 靶向抑制 KDM6A-KLF10 反馈环可能有利于减轻糖尿病引起的肾损伤^[13]。

2.3 参与肾小球内皮细胞损伤 肾小球内皮功能障碍在早期 DN 的发病机制中发挥着重要作用, 早期 DN 的一个重要特征为肾小球内皮细胞增殖和毛细血管表面积增加导致肾小球肥大、硬化^[14-15]。WU 等^[16-17]研究发现, 经高糖处理的肾小球内皮细胞来源的外泌体数量增加且触发了足细胞的功能紊乱, 通过旁分泌引起足细胞的上皮-间质转化(EMT); 此外, 这些外泌体还可活化系膜细胞, 促使肾纤维化的发生。其研究证实了含有高水平 TGF- β 1 mRNA 的外泌体可使靶细胞 TGF- β 1 高水平表达, 通过激活 Smad3 信号通路参与 EMT, 使足细胞表型发生改变, 影响肾小球滤过膜的通透性, 从而加快 DN 的发展。这表明了 DN 状态下的外泌体参与了肾小球内皮细胞与足细胞之间的相互作用, 提示在高糖环境下, 肾脏各细胞间能够通过外泌体产生相互作用, 进而引发肾脏病变。这为外泌体在 DN 中的作用研究提供了新的视角。

2.4 参与肾小管上皮细胞损伤 肾小管损伤及其标志物的改变在 DN 早期即可出现, 且可先于肾小球病变, 并与 DN 的预后密切相关^[18-19], 提示肾小管损伤可能是 DN 发病机制中的早期事件。对肾小管损伤的研究常常以 HK-2 细胞株作为研究对象。LV 等^[20]研究显示, 肾小管上皮细胞外泌体 miR-19b-3p 可通过肾小管间质炎症介导肾脏炎症中巨噬细胞的激活, 促进肾小管间质炎症级联放大, 参与 DN 的疾病进展。在 DN 发展过程中, 外泌体在清蛋白诱导的炎症反应中起关键作用。JIA 等^[21]研究发现, 肾小管上皮细胞吸收的清蛋白可诱导炎症反应并在促进 DN 进展中发挥关键作用。他们将人血清蛋白(HSA)诱导的 HK-2 细胞与巨噬细胞共同培养, 发现 HSA 刺激 HK-2 细胞衍生的细胞外囊泡(EVs)在脂多糖存在下可诱导巨噬细胞 M1 极化, EVs 的 miR-199a-5p 通过靶向 Klotho/TLR4 途径诱导巨噬细胞 M1 极化, 进一步加速 DN 的发展。

3 外泌体在 DN 治疗中的应用

目前 DN 的治疗仅限于控制血压或血糖。一旦肾脏疾病进展到不可逆转的阶段, 血液透析等替代治疗将不可避免。干细胞分泌的外泌体可能具有治疗

DN 损伤的作用。JIANG 等^[22]研究发现, 人尿源性干细胞外泌体(USCs-Exo)可减少 DN 大鼠的尿量和尿微量清蛋白的排泄, 减少足细胞、肾小管上皮细胞凋亡, 并增加肾小球内皮细胞增殖。USCs-Exo 内包含的生长因子、TGF- β 、血管生成素及 BMP7 等可能参与了这一过程, 而这些产物被认为与血管再生和细胞生存密切相关。然而, 另 1 项研究显示, 干细胞治疗未能改善 DN 动物模型和临床患者的肾功能, 且可能促进肾脏纤维化^[23]。因此, 干细胞在 DN 中的治疗作用目前还存在争议, 干细胞来源外泌体的安全性和有效性有待进一步研究。最新研究发现, 用巨噬细胞源性囊泡作为载体, 向炎症肾脏递送地塞米松, 可提高细胞对糖皮质激素的敏感性, 并降低慢性糖皮质激素治疗的不良反应(如高血糖症、下丘脑-垂体-肾上腺轴的抑制); 该治疗方法可有效抑制肾脏的炎症反应和纤维化, 且未出现明显的糖皮质激素不良反应, 对肾脏疾病的治疗有很好的借鉴意义^[24]。

4 结论与展望

外泌体可作为早期 DN 诊断和治疗的标志物, 也可通过旁分泌途径靶向作用于效应细胞, 在 DN 病理生理过程中发挥重要作用。外泌体源性 miRNA 能够被外泌体膜结构较好的保护而避免被降解, 其作为 DN 早期诊断的新指标表现出极大的优势, 不仅有助于为 DN 的早期治疗开辟新的靶点, 还将延缓甚至逆转终末期肾脏病。

另一方面, 由于 DN 的发病机制复杂, 有关外泌体 miRNA 与 DN 的分子作用机制仍有待进一步深入研究。此外, 目前用于分离外泌体的方法烦琐, 需要探索更适用于临床推广应用的外泌体分离方法。

参考文献

- [1] XUE R, GUI D K, ZHENG L Y, et al. Mechanistic insight and management of diabetic nephropathy: recent progress and future perspective[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 1-7.
- [2] KOWAL J, TKACH M, THERY C. Biogenesis and secretion of exosomes[J]. Curr Opin Cell Biol, 2014, 29: 116-125.
- [3] VAN NIEL G, D'ANGELO G, RAPOSO G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(4): 213-228.
- [4] ZHANG D, LEE H, WANG X, et al. A potential role of microvesicle-containing miR-223/142 in lung inflammation[J]. Thorax, 2019, 74(9): 865-874.
- [5] KATO M, NATARAJAN R. MicroRNAs in diabetic nephropathy: functions, biomarkers, and therapeutic targets[J]. Ann N Y Acad Sci, 2015, 1353: 72-88.
- [6] 李露露, 蒲实, 范秋灵, 等. 糖尿病肾病患者循环 miRNA 表达谱的分析[J]. 中国医科大学学报, 2019, 48(8): 694-698.

- [7] WANG M, WANG S, YAO D, et al. A novel long non-coding RNA CYP4B1-PS1-001 regulates proliferation and fibrosis in diabetic nephropathy[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 426: 136-145.
- [8] QIAN Y, FELDMAN E, PENNATHUR S, et al. From fibrosis to sclerosis: mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1439-1445.
- [9] BARUTTA F, TRICARICO M, CORBELLI A, et al. Urinary exosomal MicroRNAs in incipient diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e73798.
- [10] GUDEHITHLU K P, GARCIA-GOMEZ I, VERNIK J, et al. In diabetic kidney disease urinary exosomes better represent kidney specific protein alterations than whole urine[J]. *Am J Nephrol*, 2015, 42(6): 418-424.
- [11] ABE H, SAKURAI A, ONO H, et al. Urinary exosomal mRNA of WT1 as diagnostic and prognostic biomarker for diabetic nephropathy[J]. *J Med Invest*, 2018, 65(3/4): 208-215.
- [12] SAKURAI A, ONO H, OCHI A, et al. Involvement of E1f3 on Smad3 activation-dependent injuries in podocytes and excretion of urinary exosome in diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2019, 14(5): e0216788.
- [13] LIN C L, HSU Y C, HUANG Y T, et al. A KDM6A-KLF10 reinforcing feedback mechanism aggravates diabetic podocyte dysfunction[J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(5): e9828.
- [14] FAN Y, FEI Y, ZHENG L, et al. Expression of endothelial cell injury marker Cd146 correlates with disease severity and predicts the renal outcomes in patients with diabetic nephropathy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(1): 63-74.
- [15] SATCHELL S C. The glomerular endothelium emerges as a key player in diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2012, 82(9): 949-951.
- [16] WU X, GAO Y, XU L, et al. Exosomes from high glucose-treated glomerular endothelial cells trigger the epithelial-mesenchymal transition and dysfunction of podocytes[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9371-9382.
- [17] WU X M, GAO Y B, CUI F Q, et al. Exosomes from high glucose-treated glomerular endothelial cells activate mesangial cells to promote renal fibrosis[J]. *Biol Open*, 2016, 5(4): 484-491.
- [18] FU W J, XIONG S L, FANG Y G, et al. Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study[J]. *Endocrine*, 2012, 41(1): 82-88.
- [19] FU W J, LI B L, WANG S B, et al. Changes of the tubular markers in type 2 diabetes mellitus with glomerular hyperfiltration[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 95(1): 105-109.
- [20] LV L L, FENG Y, WU M, et al. Exosomal miRNA-19b-3p of tubular epithelial cells promotes M1 macrophage activation in kidney injury[J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(1): 210-226.
- [21] JIA Y, ZHENG Z, XUE M, et al. Extracellular vesicles from albumin-induced tubular epithelial cells promote the M1 macrophage phenotype by targeting klotho[J]. *Molecular Therapy*, 2019, 27(8): 1452-1466.
- [22] JIANG Z Z, LIU Y M, NIU X, et al. Exosomes secreted by human urine-derived stem cells could prevent kidney complications from type I diabetes in rats[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 24-36.
- [23] WANG B Y, JIA H Y, ZHANG B, et al. Pre-incubation with hucMSC-exosomes prevents cisplatin-induced nephrotoxicity by activating autophagy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 75-88.
- [24] TANG T T, LV L L, WANG B, et al. Employing macrophage-derived microvesicle for kidney-targeted delivery of dexamethasone: an efficient therapeutic strategy against renal inflammation and fibrosis[J]. *Theranostics*, 2019, 9(16): 4740-4755.

(收稿日期: 2019-06-29 修回日期: 2019-10-16)

(上接第 649 页)

- [13] 殷耀义. 高压氧联合美金刚、安理申治疗老年血管性痴呆患者血清学指标及内皮功能分析[J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(10): 999-1002.
- [14] 方旭明, 漆伟男, 张安妮, 等. 经颅电刺激对血管性痴呆大鼠认知功能的改善作用及机制探讨[J]. *神经损伤与功能重建*, 2016, 11(5): 381-384.
- [15] 王学红. 奥拉西坦联合重复经颅磁刺激治疗血管性痴呆的疗效观察[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 19(7): 57-58.
- [16] 王金彩, 吉四辈, 宋志秀, 等. 丁苯酞软胶囊联合重复经颅磁刺激对血管性痴呆患者血清 Ang-I、MMP-9 水平变化的影响[J]. *中国合理用药探索*, 2018, 15(6): 70-72.
- [17] 刘远文, 潘翠环, 胡楠, 等. 重复经颅磁刺激治疗脑卒中后执行功能障碍的研究进展[J]. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(10): 1132-1136.
- [18] 杨志刚, 张玲玲, 李巷, 等. 生长抑素、神经元特异性烯醇化酶与早期血管性痴呆的关系[J]. *心血管康复医学杂志*, 2017, 26(2): 159-162.
- [19] 刘艳丽, 李婷婷, 王艳, 等. 血清神经元特异性烯醇化酶对非痴呆性血管性认知障碍患者进展至血管性痴呆的预测价值[J]. *中国医药导报*, 2017, 14(4): 106-109.
- [20] 陆冰, 刘洲, 林智君, 等. 外周血内皮祖细胞及血清 Ang II、Ang1-7 与血管性痴呆的相关性研究[J]. *西部医学*, 2018, 30(8): 21-24.

(收稿日期: 2019-07-16 修回日期: 2019-10-27)