

· 综 述 ·

补体旁路途径在肾小球疾病中的作用

唐彬综述, 钟玲[△]审校

(重庆医科大学附属第二医院肾内科 400010)

关键词: 补体旁路途径; 肾小球疾病; 补体抑制剂

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.25.041

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)25-3050-03

补体旁路途径在肾小球疾病中的作用机制在近 10 年有突破性进展,过去认为这一途径仅仅在免疫复合物形成及沉积中起作用的观点受到挑战,新的研究发现补体旁路途径在肾小球疾病的发生、发展中有着其独立的作用,并得到动物实验及临床资料证实。对补体系统在肾小球疾病中的作用机制的深入研究显示,各类补体抑制药物可为相关疾病的治疗提供可能。现就补体旁路途径在肾小球疾病中的作用及新研究进展作一综述。

1 补体系统的激活及生物学作用

1.1 补体系统的组成及激活 补体系统是一复杂的蛋白网络,由 30 多种血浆蛋白和膜结合蛋白组成,在先天性和获得性免疫调节中均发挥着重要的作用。补体系统有 3 种激活方式:经典途径、凝集素途径、旁路途径。补体 3 条激活途径受不同的激活物激活后均形成具有酶活性的 C3 转化酶,再进一步激活 C3,形成 C5 转化酶,作用于 C5,最终形成攻膜复合物(membrane attack complex, MAC)。

1.2 补体系统的作用 一方面补体系统激活以后在靶细胞表面形成 MAC,导致靶细胞溶解,参与宿主早期抗感染免疫;另一方面补体系统可以与免疫复合物结合抑制免疫复合物的形成,同时 MAC 插入免疫复合物中从而溶解沉积的免疫复合物;再者多种补体成分可识别和结合凋亡的细胞,维护机体内环境稳定。

1.3 补体旁路途径的激活及调节 经典途径中产生或自发产生的 C3b 与 B 因子结合,血清中 D 因子继而将结合状态的 B 因子裂解成 Ba 和 Bb, Bb 与 C3b 附着形成旁路途径 C3 转化酶,再作用于 C5,最终形成 MAC。C3 硫酯键自发的水解,保持着低水平 C3b 的产生,使旁路途径保持持续低水平激活状态,机体内有着精细的调节方式,避免旁路途径过度激活,这些调节方式依赖于调节蛋白及抑制蛋白。包括 H 因子、I 因子、H 因子相关蛋白 1~5(CFHR1~5)、衰变加速因子、膜辅助蛋白、补体受体 1 等旁路途径抑制蛋白,通过作用于活性 C3b 使其裂解或者作用于 C3 转化酶使其失去活性从而抑制旁路途径的激活;备解素为旁路途径活化蛋白,备解素与 C3 转化酶结合后使 C3 转化酶半衰期延长,使旁路途径持续激活^[1]。

2 补体旁路途径激活对肾脏的保护作用

补体系统被激活后可在靶细胞表面形成攻膜复合物,从而导致靶细胞溶解,这是补体抵抗微生物感染的重要防御机制,从而保护肾脏免受感染性微生物损伤。补体对肾脏更重要的保护作用在于其抑制免疫复合物形成后清除或溶解体内免疫复合物^[2],从而抑制免疫复合物在肾脏的沉积,其中,抑制免疫复合物的作用比溶解免疫复合物作用强 10 倍。但补体旁路途径对肾脏的保护作用非常有限。

3 补体旁路途径激活对肾脏的损伤

3.1 旁路途径异常激活所致肾脏疾病 Verroust 等^[3]描述了

21 例肾炎患者,在免疫荧光下仅有补体 C3 的沉积,而没有免疫复合物、C1q、C4 等经典途径成分的沉积,提示这类疾病与补体旁路途径的激活有关。这类旁路途径对肾脏损伤引起的疾病统称为 C3 肾病^[4],包括致密物沉积病(dense deposit disease, DDD)、C3 肾小球肾炎、家族性 III 型膜增生性肾小球肾炎(membranous proliferative glomerulonephritis, MPGN)、CF-HR5 肾病。

DDD 最早由 Galle 在 1963 年提出,被认为是 MPGN II 型。在后来的研究中发现 DDD 在发病机制及形态结构上与 MPGN I 型和 III 型不同。Jansen 等^[5]最先建立 DDD 动物模型,通过免疫电镜证实肾小球基底膜有 C3 和 MAC 的大量沉积,伴随有补体调节蛋白的沉积,但未见免疫复合物,同时血液循环中有广泛的补体活化,提示 DDD 的发病机制可能与补体旁路途径的持续激活有关。旁路途径的失调导致 C3b 与终末补体因子等的生成,这些因子被任意转运至肾小球内皮表面,在系膜与内皮下区域沉积引发肾小球炎症,并导致基底膜区大量电子致密物沉积^[6]。

C3 肾小球肾炎在免疫荧光下与 DDD 相似,而在电镜下见内皮下和(或)系膜区电子致密物沉积,而无肾小球基底膜的沉积。Servais 等^[7]将 C3 肾小球肾炎分为两类,一类伴有系膜区增生,另一类仅有系膜及内皮下 C3 沉积而无系膜区增生。Setui 等^[8]假设 DDD 与 C3 肾小球肾炎是同一疾病的不同阶段,并得到一些病例的进一步支持,它们的共同特征介于 DDD 与 C3 肾小球肾炎之间,在电镜下一些毛细血管袢显示的是 DDD 基底膜内沉积,而另一些毛细血管袢显示的是肾小球肾炎的内皮下与上皮下沉积,推测可能由于补体旁路途径功能失调的程度及位点不同所致,但具体的分期及疾病的转归还在进一步研究中。

3.2 旁路途径调节因子改变致旁路途径异常激活 旁路途径抑制因子的缺失或遗传变异或者旁路途径活化因子过度活化均可导致旁路途径持续激活,产生大量活性 C3b 及终末期补体因子沉积于肾小球,引起肾小球结构及功能的改变。

3.2.1 旁路途径抑制蛋白基因突变致旁路途径异常激活 H 因子是旁路途径调节的关键因子, H 因子可与 B 因子或活化产物 Bb 竞争结合 C3b, 进而使 C3b 被 I 因子酶解失活, 从而抑制 C3 转化酶的形成, 抑制旁路途径激活。H 因子的基因突变或抗体产生致体内 H 因子缺乏, 使得 C3b 持续增多, 旁路途径持续激活。H 因子基因突变最先在溶血尿毒症综合征患者体内发现。Jansen 等^[5]利用 H 因子杂合突变的亲代小猪培育子代纯合突变小猪, H 因子纯合突变的小猪在出生后 4 d 即开始出现内皮下补体 C3 的沉积, 随后出现肾小球肾炎表现, 在 DDD 及 C3 肾小球肾炎患者血浆中也发现 H 因子基因突变^[9-10]。狼疮性肾炎因肾小球有 C1q、C2、C4 等的沉积认为与

补体经典途径介导有关, Bao 等^[11]在 H 因子缺乏的系统性红斑狼疮小鼠中发现 H 因子的缺乏可以加速狼疮性肾炎的发生, 提示 H 因子缺乏影响了免疫复合物的形成及加工。CFHR5 异常变化同样可以导致补体旁途径异常激活。Gale 等^[12]报道来自于塞浦路斯岛同一家族的 26 位患者, 以镜下血尿为主要临床表现, 在感染后加重为肉眼血尿, 对其基因分析发现为 CFHR5 基因突变, 病理表现为薄基底膜肾病、IgA 肾病、C3 肾小球肾炎^[13], 将这类疾病称作 CFHR5 肾病, 但目前发现具有 CFHR5 基因突变的患者仅仅来至塞浦路斯人。

I 因子为旁途径另一重要的抑制蛋白, I 因子裂解 C3b 为 iC3b 从而使其灭活, 当体内 I 因子缺乏致 C3b 不能裂解, 旁途径持续产生 C3b, 导致自身免疫性疾病。Rose 等^[14]发现 H 因子及 I 因子同时缺乏小鼠体内无 C3b 降解片段, C3 沉积于系膜区, 给予 I 因子后肾小球基底膜区出现补体 C3 及 iC3b 的沉积, 似 DDD 表现, 首次证实 I 因子在 DDD 的发生中的必要性。但至今未发现人类同时存在 H 因子与 I 因子的纯合突变。体内还存在其他一些旁途径因子突变, Martinez-Barricarte 等^[15]在一个 DDD 患者中发现 C3 基因突变, 该突变使得补体 C3 少 2 个氨基酸, 所形成 C3b 不受 H 因子调节, 从而使补体旁途径持续激活。

3.2.2 旁途径调节蛋白自身抗体导致旁途径异常激活

在 DDD 患者体内还检测到一些调节蛋白的自身抗体。Strobel 等^[16]在 DDD 患者血浆中发现 B 因子的自身抗体, 该抗体作用于 C3 转化酶使其稳固, 使 C3 转化酶持续活化, 导致旁途径持续激活。在一些 C3 肾病患者体内存在 C3 转化酶的自身抗体——C3Nef, 该抗体与 C3 转化酶结合后使其半衰期延长, 从而使得旁途径持续激活^[17]。C3Nef 在 86% 的 DDD 中发现, 仅在 49% 的 C3 肾小球肾炎中发现, C3Nef 阳性的 C3 肾炎患者通常伴有系膜区增生, 阴性的 C3 肾炎患者常仅仅只有 C3 沉积于系膜区^[9]。

4 治 疗

基于补体途径在肾小球疾病中的作用, 补体抑制剂也应应运而生。在过去的 10 年中诸多补体抑制剂已经在体外及动物实验中证实有效, 但仅有少部分药物开始一期临床和二期临床试验^[18]。补体抑制剂可以作用于补体系统的各个位点, 包括 C3、C5 及 MAC 等。抑制 C3 裂解的抑制剂因其抑制 C3b 的产生, 体内免疫复合物溶解受到抑制, 增加了免疫复合物介导组织损伤的风险, 限制了 C3 抑制剂的使用。作用于 C5 位点, 可以抑制强致炎因子 C5a 的产生而不影响 C3b 的调理作用, 故 C5 抑制剂使用相对安全。

Eculizumab 是人重组单克隆抗体, 直接作用于 C5 转换酶, 抑制 C5 裂解为 C5a 和 C5b, 从而抑制 MAC 的形成。Eculizumab 已经作为溶血尿毒症综合征的靶向治疗药物, 37 个 aHUS 患者的二期临床试验证实 Eculizumab 有效, 对儿童初次发作的溶血尿毒症综合征有望作为一线药物使用^[19]。C3 肾病主要认为是与补体旁途径异常激活有关, 对 C3 肾病的治疗主要是抑制 C3 转换酶, 但至今无补体 C3 转换酶抑制剂药物, 而 Eculizumab 可抑制 C5 转换酶形成, 从而抑制补体激活共同途径, 对 C3 肾病可能有效。Bomback 等^[20]报道了 6 例 C3 肾病患者使用 Eculizumab 后 4 例患者尿蛋白、肌酐均有所下降。但因肾小球疾病的发病机制的异质性, Eculizumab 在 C3 肾病中的治疗作用需要进一步研究, 而且对 Eculizumab 使用的剂量、对 C3 肾病亚型的有效性需要更多的临床研究。

5 展 望

补体系统在肾小球疾病中的作用机制复杂, 一方面补体系

统某一成分的缺失或某一途径受抑制可以导致免疫复合物清除受限, 致免疫复合物过度沉积引起肾小球持续的炎症反应, 另一方面补体系统某一途径的过分激活同样可以导致补体成分在肾小球的沉积, 引起肾小球系膜区或基底膜区结构的改变。补体系统在肾小球疾病中复杂的作用, 限制了补体抑制的应用, 因此, 补体抑制剂使用的时机、用量等有待进一步研究, 也需要进一步对补体系统在各类肾小球疾病中的作用机制进行深入研究才有利于补体抑制的广泛应用。

参 考 文 献:

- [1] Berger SP, Daha MR. Complement in glomerular injury [J]. *Semin Immunopathol*, 2007, 29(4): 375-384.
- [2] Sheerin NS, Springall T, Abe K, et al. Protection and injury: the differing roles of complement in the development of glomerular injury [J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31(4): 1255-1260.
- [3] Verroust PJ, Wilson CB, Cooper NR, et al. Glomerular complement components in human glomerulonephritis [J]. *J Clin Invest*, 1974, 53(1): 77-84.
- [4] Fakhouri F, Fremeaux-Bacchi V, Noel LH, et al. C3 glomerulopathy: a new classification [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6(8): 494-499.
- [5] Jansen JH, Hogasen K, Harboe M, et al. In situ complement activation in porcine membranoproliferative glomerulonephritis type II [J]. *Kidney Int*, 1998, 53(2): 331-349.
- [6] Appel GB, Cook HT, Hageman G, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease): an update [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(5): 1392-1403.
- [7] Servais A, Fremeaux-Bacchi V, Lequintrec M, et al. Primary glomerulonephritis with isolated C3 deposits: a new entity which shares common genetic risk factors with haemolytic uraemic syndrome [J]. *J Med Genet*, 2007, 44(3): 193-199.
- [8] Sethi S, Fervenza FC. Membranoproliferative glomerulonephritis—a new look at an old entity [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(12): 1119-1131.
- [9] Servais A, Noel LH, Roumenina LT, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies [J]. *Kidney Int*, 2012, 82(4): 454-464.
- [10] Sugimoto K, Fujita S, Miyazaki K, et al. C3 glomerulonephritis associated with a missense mutation in the factor H gene [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2012, 227(3): 211-215.
- [11] Bao L, Haas M, Quigg RJ. Complement factor H deficiency accelerates development of lupus nephritis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(2): 285-295.
- [12] Gale DP, de Jorge EG, Cook HT, et al. Identification of a mutation in complement factor H-related protein 5 in patients of cyprriot origin with glomerulonephritis [J]. *Lancet*, 2010, 376(9743): 794-801.
- [13] Athanasiou Y, Voskarides K, Gale DP, et al. Familial C3 glomerulopathy associated with CFHR5 mutations: clinical characteristics of 91 patients in 16 pedigrees [J]. *Clin J*

Am Soc Nephrol, 2011, 6(6):1436-1446.

- [14] Rose KL, Paixao-Cavalcante D, Fish J, et al. Factor I is required for the development of membranoproliferative glomerulonephritis in factor H-deficient mice[J]. J Clin Invest, 2008, 118(2):608-618.
- [15] Martinez-Barricarte R, Heurich M, Valdes-Canedo F, et al. Human C3 mutation reveals a mechanism of dense deposit disease pathogenesis and provides insights into complement activation and regulation[J]. J Clin Invest, 2010, 120(10):3702-3712.
- [16] Strobel S, Zimmering M, Papp K, et al. Anti-factor B autoantibody in dense deposit disease[J]. Mol Immunol, 2010, 47(7-8):1476-1483.
- [17] Paixao-Cavalcante D, Lopez-Trascasa M, Skattum L, et al. Sensitive and specific assays for C3 nephritic factors

clarify mechanisms underlying complement dysregulation [J]. Kidney Int, 2012, 82(10):1084-1092.

- [18] Thomas TC, Rollins SA, Rother RP, et al. Inhibition of complement activity by humanized anti-C5 antibody and single-chain Fv[J]. Mol Immunol, 1996, 33(17-18):1389-1401.
- [19] Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, et al. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies[J]. Nat Rev Nephrol, 2012, 8(11):643-657.
- [20] Bomback AS, Smith RJ, Barile GR, et al. Eculizumab for dense deposit disease and C3 glomerulonephritis[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2012, 7(5):748-756.

(收稿日期:2013-01-08 修回日期:2013-03-17)

· 综 述 ·

亲环素 A 与头颈部肿瘤的研究进展

薛 莲, 周建荣[△]

(重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科 400016)

关键词: 亲环素 A; PPIase; 肿瘤; 头颈部

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.25.042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)25-3052-02

亲环素家族(cyclophilins, Cyps)最先被认为是环孢素 A(cyclosporine A, CsA)的胞内结合蛋白,是由一组具有肽基脯氨酰顺反异构酶活性(peptidyl-prolyl cis-trans isomeras, PPIase)的蛋白质所组成,目前,已知人类中有 7 大类 16 种亲环素蛋白。亲环素 A(cyclophilin A, CypA)是亲环素家族中重要的一员,是最早被发现的亲环素,也是 Handschumacher 在 1984 年从小牛胸腺中最早被提纯的亲环素。CypA 在病毒感染、T 细胞功能、肌肉分化、免疫抑制等方面起着重要的作用。近年来,大量研究表明,CypA 与肿瘤的发生、发展有着必然的联系。本文就 CypA 在头颈部肿瘤中作用的相关进展及作用机制作一综述。

1 CypA 的结构特点与生物学功能

CypA 是相对分子质量约为 18×10^3 的胞质蛋白质,在原核生物和真核生物中广泛表达,估计占胞内总蛋白质的 0.1%~0.4%。CypA 具有亲环素家族的典型特征,其二级结构包含 8 条反向平行的 β 折叠片段,2 个 α 螺旋和一些无规则卷曲;2 个 α 螺旋围绕在由 β 折叠构成的桶型结构两端,成为桶状疏水性核心^[1]。

CypA 具有 PPIase 活性,对于含有脯氨酸的蛋白质空间结构的形成具有催化作用,同时 PPIase 也起分子伴侣作用。CypA 不仅促进蛋白的正确折叠,也参与错叠蛋白质的修复,如在细胞遇到诸如热损伤或者紫外线照射等不良刺激时,CypA 可参与损伤蛋白的修复^[2]。CypA 除了在肿瘤的形成过程中有重要作用,同时在人类免疫缺陷病毒、病毒感染、动脉粥样硬化及类风湿关节炎等免疫性疾病以及炎症反应中充当重要的角色。

2 CypA 在肿瘤发生、发展过程中的作用机制

2.1 CypA 与 CD147 的相互作用 CD147 是一种高度糖基化的跨膜糖蛋白,属免疫球蛋白超家族成员。基质金属蛋白酶

(MMPs)的产生受多种因素的影响,包括细胞外基质金属蛋白酶诱导物细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(EMMPRIN)/CD147。CD147 表达于多种肿瘤细胞的表面,刺激邻近成纤维细胞产生 MMPs,同时上调内皮细胞缺氧诱导因子-2 α (HIF-2 α)、血管内皮生长因子(VEGF)和血管内皮生长因子受体-2(VEGFR-2)水平,直接调节血管新生过程,促进肿瘤浸润和转移^[3]。Takahashi 等^[4]通过明胶酶谱分析发现 CypA 刺激 EMMPRIN 在头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)细胞株中的表达,进而诱导 MMP-9 的上调。并通过 3-(4,5-二甲基-2-炔基)-2,5-二苯基溴化染色法发现,CypA 诱导的 HNSCC 细胞增殖,而顺铂诱导的细胞凋亡。同时 EMMPRIN 的功能阻断抗体使肿瘤的高侵袭力减弱。这进一步证实了 CypA 通过与 EMMPRIN 的相互作用,促进头颈部肿瘤的形成。

2.2 CypA 与抑癌基因、缺氧诱导因子的相互作用 p53 和 HIF-1 α 在肿瘤发生过程中是最重要的调节因子。肿瘤细胞中 p53 或 HIF-1 α 控制 CypA 的正向调节。他们激活多种与转录基因相关的新生血管生成,肿瘤形成、转移、缺氧环境适应性及其他的促癌事件。虽然没有直接证据证实 CypA 使 p53 因子激活或失活,但运用比较氨基酸密码标记的量蛋白质组学质谱显示 CypA 的超表达和 p53 促使细胞凋亡二者之间存在必然联系^[5]。抑癌基因 p53 诱导细胞凋亡,使 CypA 呈正向调节,激活的 p53 调节 CypA 的转录^[6]。CypA 的 PPIase PIN 1 与 p53 的富含脯氨酸结构域(PRD)直接相互作用,CypA 的 PPIase 活性使激活的 PIN1-p53 稳定,激活 Bcl-2、Mdm-2 等,这些基因与细胞存亡、细胞周期调节密切相关^[7]。同样可以设想 CypA 的 PPIase 活性可能稳定抑癌基因 p53。CypA 可能在 HIF-1 α 与肿瘤发展过程中发挥重要作用。缺氧条件下,HIF-1 α 诱导激活 CypA 的启动子包括缺氧反应原件(HRE)。CypA 的调节与两个重要的转录因子 p53 和 HIF-1 α 密切相