

邹婷,王淑君,唐皓璇,等. 溶酶体与肾固有细胞病理生理研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 124-127.  
Zou T, Wang SJ, Tang HX, et al. Progress in research on lysosome and pathophysiology of intrinsic renal cells [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(2): 124-127.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.02.021

# 溶酶体与肾固有细胞病理生理研究进展

邹 婷,王淑君,唐皓璇,杨 陈,潘庆军,刘华锋\*

(湛江市慢性肾脏病防控重点实验室,广东医科大学附属医院肾脏疾病研究所,广东 湛江 524001)

**【摘要】** 溶酶体是一种富含酸性水解酶的细胞器,是胞内主要的降解工厂,参与物质分泌、质膜修复、细胞信号传导和能量代谢等过程,其功能异常与多种疾病相关。近年发现,肾固有细胞溶酶体功能障碍参与慢性肾病的发生发展:溶酶体功能障碍可导致足细胞自噬受阻,诱发足细胞的转分化和损伤;近端小管上皮细胞溶酶体损伤可通过诱导氧化应激诱导其凋亡;系膜细胞溶酶体损伤可导致其 I 型胶原蛋白降解减少;溶酶体组织蛋白酶-S 及  $\alpha$ -半乳糖苷酶-A 表达异常与肾内皮细胞功能障碍密切相关。综上,溶酶体功能障碍与肾固有细胞的病理生理过程密切相关,阐明溶酶体在肾固有细胞的作用,有望为明确慢性肾病肾固有细胞的损伤机制提供新思路。

**【关键词】** 溶酶体;足细胞;近端小管上皮细胞;系膜细胞;内皮细胞;病理生理

**【中图分类号】** R-33      **【文献标识码】** A      **【文章编号】** 1671-7856(2019) 02-0124-04

## Progress in research on lysosome and pathophysiology of intrinsic renal cells

ZOU Ting, WANG Shujun, TANG Haoxuan, YANG Chen, PAN Qingjun, LIU Huafeng\*  
(Key Laboratory of Prevention and Management of Chronic Kidney Disease of Zhanjiang City, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

**【Abstract】** The lysosome, an organelle rich in acidic hydrolase, is the main degradation organelle in the cell and is involved in cell processes such as secretion, plasma membrane repair, cell signaling, and energy metabolism. Lysosomal dysfunction may be related to the development of various diseases. In recent years, studies have shown that lysosomal dysfunction may be involved in the development of chronic kidney disease (CKD): lysosomal dysfunction of podocytes interrupts autophagy, inducing transdifferentiation and damage of podocytes. Lysosomal damage mediates apoptosis in proximal tubule epithelial cells via oxidative stress. Lysosomal damage leads to reduced degradation of type I collagen in mesangial cells. Renal endothelial cell dysfunction is closely related to the abnormal expression of lysosomal cathepsin-S and  $\alpha$ -galactosidase-A. In summary, lysosomal dysfunction is closely linked to the pathology of intrinsic renal cells. Elucidation of the function of the lysosome in intrinsic renal cells should provide new ideas for clarifying the mechanism of intrinsic renal cell damage in chronic kidney disease.

**【Keywords】** lysosome; podocyte; proximal tubular epithelial cell; mesangial cell; endothelial cell; pathophysiology

慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 作为一个全世界的重要公共卫生问题,严重威胁着公众健康。最新流行病学研究表明,我国 CKD 的患病率为 10.8%,CKD 中约有 2% 会发展为终末期肾病,增加患者家庭及国家的医疗卫生支出。因此,迫切需要明确 CKD 的病因和机制。系膜细胞、足细胞、内

**【基金项目】** 国家自然科学基金 (81670654, 8170067); 广东省医学科学技术研究基金项目 (A2018473)。  
**【作者简介】** 邹婷 (1992—), 女, 内科学硕士研究生, 研究方向: 肾小管疾病。E-mail: 879659874@qq.com  
**【通信作者】** 刘华锋 (1969—), 男, 博士, 研究方向: 肾小管-间质损伤及防治研究。E-mail: hf-liu@263.net

皮细胞主要参与肾小球滤过膜构成及功能调节,肾小管上皮细胞主要参与物质重吸收与分泌,上述肾固有细胞的损伤与 CKD 的发生发展密切相关。溶酶体最初由 Christian de Duve 在 20 世纪 50 年代首次提出,其参与分泌、质膜修复、细胞信号传导和能量代谢等细胞的过程,是维持细胞稳态的关键细胞器<sup>[1]</sup>。溶酶体功能障碍与多种疾病(如溶酶体贮积症、神经退行性疾病及心血管疾病等)密切相关<sup>[2]</sup>。肾是体内细胞溶酶体含量最丰富的脏器,近年,研究表明,溶酶体功能障碍与法布里肾病及糖尿病肾病等慢性肾病的发生相关<sup>[3-4]</sup>。因此,本文通过对溶酶体与肾固有细胞的病理生理研究进展进行综述,希望了解 CKD 发病机制提供新思路。

## 1 溶酶体概述

溶酶体是哺乳动物细胞中一种具有单层膜结构富含酸性水解酶的细胞器,是细胞内的主要降解工厂,许多降解途径在溶酶体水平汇合,包括内吞,吞噬及自噬,通过降解进入细胞的外源性大分子物质和细胞内异常的大分子物质,为细胞提供氨基酸、脂质(从蛋白质和大分子中分解)等营养物质<sup>[5]</sup>,并且参与多种细胞过程,包括物质分泌,质膜修复,细胞信号传导和能量代谢。溶酶体-蛋白降解系统分为异噬和自噬两条路径,其中自噬途径是指自噬体形成后与溶酶体结合而形成自噬溶酶体 (autolysosome),最后在溶酶体酶的作用下,自噬泡膜和其包含物被溶酶体降解<sup>[6-7]</sup>。而溶酶体功能障碍将导致溶酶体-蛋白降解系统受阻,使多泛素化蛋白在细胞中蓄积,继而损伤细胞,参与疾病的发生发展<sup>[8-9]</sup>。

## 2 溶酶体与肾固有细胞的病理生理

### 2.1 溶酶体与肾小球足细胞损伤

足细胞在维持肾小球滤过屏障起着关键作用,足细胞形态异常或缺失可使滤过屏障受损而导致大量蛋白尿,临床和实验证据表明,溶酶体功能障碍导致足细胞损伤和大量蛋白尿<sup>[10-11]</sup>,与 CKD 发生发展密切相关。

法布里病 (Fabry disease, FD) 是一种 X 染色体连锁隐性遗传的溶酶体贮积症,引起  $\alpha$ -半乳糖苷酶-A 失活性或缺陷,导致鞘糖脂(尤其是酰基鞘醇三己糖 (Gb3)) 不能降解从而在细胞中的溶酶体蓄积,肾受累称法布里肾病。积累在肾细胞溶酶体的

鞘糖脂可引发肾小球炎症和纤维化,导致终末期肾病的发生<sup>[12]</sup>。研究表明,足细胞溶酶体的异常沉积 Gb3,可通过导致足细胞表面所带的负电荷丢失,触发足细胞足突融合,从而导致蛋白尿的发生<sup>[13]</sup>。此外,鸟苷三磷酸酶发动蛋白通过与足细胞足突中的肌动蛋白群相互作用,可使足细胞足突的形态处于恒定状态以维持肾小球的滤过。而鸟苷三磷酸酶发动蛋白异常使足细胞足突发生改变,从而使肾小球滤过屏障受损。研究表明,鸟苷三磷酸酶发动蛋白含有组织蛋白酶 L (cathepsin L, CL) 的切割位点,在 CKD 临床表现为蛋白尿时,足细胞溶酶体的 CL 异常增多,CL 通过切割鸟苷三磷酸酶发动蛋白,使鸟苷三磷酸酶发动蛋白失活,导致足细胞肌动蛋白细胞骨架解体以及足细胞足突消失,加重蛋白尿<sup>[14]</sup>。此外,在特异性敲除足细胞组织蛋白酶 D (cathepsin D, CD) 的小鼠也发现,12~20 个月小鼠出现肾小球足细胞明显丢失,导致滤过屏障受损及蛋白尿发生<sup>[15]</sup>。

足细胞的标记蛋白如肾病蛋白 (nephrin)、P-钙黏蛋白 (P-cad) 和紧密连接蛋白-1 (ZO-1) 降低,肌间线蛋白、成纤维细胞特异性蛋白-1 (FSP-1) 和  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 等间充质细胞特征蛋白增加称上皮细胞向间充质细胞转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)<sup>[16]</sup>,足细胞发生 EMT 可致其结构破坏,最终导致肾小球滤过屏障受损及硬化<sup>[17]</sup>。有研究表明,溶酶体抑制剂 (V-ATPase 抑制剂,巴弗洛霉素 Al (Baf Al) 和特异性 V-ATP 酶 siRNA) 抑制溶酶体功能导致自噬通量不足,并伴随足细胞内上皮标志物 P-cad 和 ZO-1 降低以及充质标志物 FSP-1 和  $\alpha$ -SMA 的表达增加,而在此基础上使用 spaudin-1 抑制自噬体形成显著抑制 EMT 的发生<sup>[18]</sup>。说明足细胞溶酶体功能障碍使其自噬受阻,并促进足细胞上皮细胞向间充质细胞转分化。

以上研究结果表明,溶酶体功能障碍与足细胞形态及功能异常密切相关,在 CKD 的蛋白尿的形成及肾小球的硬化中起重要作用。

### 2.2 溶酶体与肾小管近端上皮细胞损伤

肾近端小管可重吸收大部分肾小球滤过的水和溶质,研究表明,肾小管的重吸收的溶质需要溶酶体酶降解。近端小管上皮细胞 (proximal tubular epithelial cells, PTECs) 通过其表面受体 megalin 和 cubilin 串联形成复合物介导肾小球滤过的低分子量蛋白质的重吸收<sup>[19]</sup>。溶酶体-蛋白降解系统是重吸

收蛋白质降解的主要途径<sup>[20]</sup>,溶酶体损伤导致溶酶体-蛋白降解系统受阻,与 PTECs 的损伤密切相关。

糖尿病肾病是终末期肾病的主要病因之一。高糖状态下,葡萄糖与蛋白质进行糖基化反应从而形成糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs),AGEs 肾小管上皮细胞沉积在糖尿病肾病的发生发展起关键作用<sup>[21]</sup>。研究发现,AGEs 刺激下,PTECs 的溶酶体组织蛋白酶表达量及溶酶体组织蛋白酶 B、L 和 H 活性下降<sup>[4]</sup>,而有研究表明,溶酶体酶活性的下降,可抑制细胞内 AGEs 降解,进而引起氧化应激及激活炎症导致 PTECs 损伤,促进糖尿病肾病的发生发展<sup>[22]</sup>。同时,体外实验也发现,AGEs 刺激下,人肾小管上皮细胞系 HK-2 细胞出现 LAMP1 标志的溶酶体体积增大不规则聚集在核周,说明溶酶体形态异常,并且溶酶体酸化功能及降解能力受损<sup>[4]</sup>,而溶酶体降解功能异常导致泛素化蛋白在细胞蓄积可以通过诱导氧化应激导致细胞凋亡<sup>[23]</sup>,甚至还通过激活 NF- $\kappa$ B 核信号诱导肾炎症及间质纤维化的发生<sup>[24]</sup>。说明,溶酶体损伤是导致糖尿病肾病近端小管上皮细胞受损的一个重要原因。

铅是一种环境中广泛存在的重金属污染物,能通过空气、土壤和水进入人体,体内铅蓄积可造成多个系统及器官损伤,肾是 Pb 最敏感的靶器官之一,而近端小管是 Pb 诱导肾损伤的主要部位。研究表明,Pb 可以通过抑制 V-AT-Pase 引起溶酶体碱化,影响组织蛋白酶 B 和组织蛋白酶 D 的成熟来抑制溶酶体降解能力,导致自噬体在原代大鼠近端小管细胞中积聚,加重原代大鼠近端小管细胞中 Pb 诱导的肾毒性<sup>[25]</sup>。

以上研究表明,溶酶体损伤可使 PTECs 细胞溶酶体-蛋白降解系统受阻,损伤 PTECs 细胞,参与 CKD 的发生发展。

### 2.3 溶酶体损伤降低系膜细胞 I 型胶原蛋白降解

系膜细胞是一种位于系膜区的可收缩细胞,系膜细胞增多与系膜基质增多是多种慢性肾疾病共同的病理改变,而 I 型胶原蛋白是系膜细胞产生细胞外基质的主要成分,与 CKD 发展密切相关<sup>[26-27]</sup>。研究表明,溶酶体抑制剂巴弗洛霉素 A1(bafilomycin A1)可通过抑制自噬溶酶体降解能力,使小鼠系膜细胞 I 型胶原蛋白及其与溶酶体相关膜蛋白 1(lysosomal associated membrane protein 1, LAMP1)共定位增加,但并不增加 I 型胶原 mRNA 的表达,

说明溶酶体抑制剂巴弗洛霉素 A1 主要影响 I 型胶原蛋白的降解但不影响其生成,并且,进一步的实验发现蛋白酶体抑制剂 MG132 抑制小鼠系膜细胞中 I 型胶原 mRNA 的表达,且减少 I 型胶原的生成,说明小鼠系膜细胞 I 型胶原蛋白主要通过溶酶体-蛋白降解系统进行降解<sup>[28]</sup>。因此,溶酶体在调节系膜细胞 I 型胶原的降解,防止过量胶原蛋白在肾小球系膜区蓄积中起重要作用。

### 2.4 溶酶体酶表达异常与肾小球内皮细胞功能失调

肾小球微血管系统在许多生理活动中起重要作用,肾内皮细胞功能障碍促进肾纤维化,参与 CKD 的发生发展。有研究表明,肾内皮细胞功能障碍与血液循环中的溶酶体组织蛋白酶-S 升高密切相关。组织蛋白酶-S 通过剪切血管内皮细胞腔膜上的蛋白酶而活化蛋白酶激活受体-2 的细胞外结构域,导致炎症相关内皮功能的标记物血清可溶性肿瘤坏死因子- $\alpha$  受体(sTNFR1 和 sTNFR2)增加,导致微血管通透性增加和白细胞粘附,从而导致内皮细胞功能障碍<sup>[29]</sup>。此外,有研究表明,溶酶体  $\alpha$ -半乳糖苷酶-A 失活性或缺陷导致鞘糖脂(尤其是酰基鞘鞘醇三己糖)在肾小球内皮细胞溶酶体的蓄积,可以通过诱导氧化应激损伤内皮细胞,改变肾小球滤过屏障的通透性,导致蛋白尿的发生<sup>[30]</sup>。综上,溶酶体组织蛋白酶-S 及  $\alpha$ -半乳糖苷酶-A 表达异常可导致肾内皮细胞的功能失调,因此,溶酶体在维持肾内皮细胞功能正常中起重要作用。

## 3 结语

溶酶体-蛋白降解系统在维持肾固有细胞的正常生理状态起重要作用,溶酶体损伤与肾固有细胞的病理过程密切相关,阐明溶酶体在肾固有细胞的作用,有利于加深对溶酶体与 CKD 发生的了解和认识,对明确 CKD 的发病机制具有重要意义。但目前对肾固有细胞溶酶体的研究较少,有待进一步探究溶酶体与肾固有细胞的病理生理关系,以及肾固有细胞溶酶体损伤的机制。

### 参考文献:

- [1] Settembre C, Fraldi A, Medina DL, et al. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(5): 283-296.
- [2] Ashoor R, Yafawi R, Jessen B, et al. The contribution of lysosomotropism to autophagy perturbation[J]. PLoS One, 2013,

- 8(11):e82481.
- [3] Prabakaran T, Nielsen R, Satchell SC, et al. Mannose 6-phosphate receptor and sortilin mediated endocytosis of alpha-galactosidase A in kidney endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39975.
- [4] Liu WJ, Shen TT, Chen RH, et al. Autophagy-lysosome pathway in renal tubular epithelial cells is disrupted by advanced glycation end products in diabetic nephropathy[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(33):20499–20510.
- [5] Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9):623–635.
- [6] Cacciola E, Giustolisi R, Guglielmo P, et al. Persistent generalized lymphadenopathy (transfusion-related) in an HIV-seropositive heterosexual man with sickle-cell beta-thalassemia[J]. *Eur J Haematol*, 1990, 45(2):116–117.
- [7] Hannigan AM, Gorski SM. Macroautophagy: the key ingredient to a healthy diet? [J]. *Autophagy*, 2009, 5(2):140–151.
- [8] Varga RE, Khundadze M, Damme M, et al. In vivo evidence for lysosome depletion and impaired autophagic clearance in hereditary spastic paraplegia type SPG11[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(8):e1005454.
- [9] Dowling JJ, Moore SA, Kalimo H, et al. X-linked myopathy with excessive autophagy: a failure of self-eating [J]. *Acta Neuropathol*, 2015, 129(3):383–390.
- [10] Oshima Y, Kinouchi K, Ichihara A, et al. Prorenin receptor is essential for normal podocyte structure and function[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(12):2203–2212.
- [11] Cina DP, Onay T, Paltoo A, et al. Inhibition of MTOR disrupts autophagic flux in podocytes[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(3):412–420.
- [12] Martinez P, Aggio M, Rozenfeld P. High incidence of autoantibodies in Fabry disease patients[J]. *J Inherit Metab Dis*, 2007, 30(3):365–369.
- [13] Surendran K, Vitiello SP, Pearce DA. Lysosome dysfunction in the pathogenesis of kidney diseases[J]. *Pediatr Nephrol*, 2014, 29(12):2253–2261.
- [14] Sever S, Altintas MM, Nankoe SR, et al. Proteolytic processing of dynamin by cytoplasmic cathepsin L is a mechanism for proteinuric kidney disease [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(8):2095–2104.
- [15] Yamamoto-Nonaka K, Koike M, Asanuma K, et al. Cathepsin D in podocytes is important in the pathogenesis of proteinuria and CKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(9):2685–2700.
- [16] Li CX, Xia M, Han WQ, et al. Reversal by growth hormone of homocysteine-induced epithelial-to-mesenchymal transition through membrane raft-redox signaling in podocytes [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2011, 27(6):691–702.
- [17] Xiong J, Xia M, Xu M, et al. Autophagy maturation associated with CD38-mediated regulation of lysosome function in mouse glomerular podocytes[J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(12):1598–1607.
- [18] Li G, Li CX, Xia M, et al. Enhanced epithelial-to-mesenchymal transition associated with lysosome dysfunction in podocytes: role of p62/Sequestosome 1 as a signaling hub [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(5):1773–1786.
- [19] Liu D, Wen Y, Tang TT, et al. Megalin/Cubulin-Lysosome-mediated albumin reabsorption is involved in the tubular cell activation of NLRP3 inflammasome and tubulointerstitial inflammation[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(29):18018–18028.
- [20] Settembre C, Fraldi A, Jahreiss L, et al. A block of autophagy in lysosomal storage disorders[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(1):119–129.
- [21] Sanajou D, Ghorbani HA, Argani H, et al. AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: Current status and future directions[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 833:158–164.
- [22] Tan A L, Forbes JM, Cooper ME. AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy [J]. *Semin Nephrol*, 2007, 27(2):130–143.
- [23] Yu C, Huang X, Xu Y, et al. Lysosome dysfunction enhances oxidative stress-induced apoptosis through ubiquitinated protein accumulation in Hela cells[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2013, 296(1):31–39.
- [24] Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies[J]. *N Engl J Med*, 1998, 339(20):1448–1456.
- [25] Song XB, Liu G, Liu F, et al. Autophagy blockade and lysosomal membrane permeabilization contribute to lead-induced nephrotoxicity in primary rat proximal tubular cells [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(6):e2863.
- [26] Yoshioka K, Tohda M, Takemura T, et al. Distribution of type I collagen in human kidney diseases in comparison with type III collagen[J]. *J Pathol*, 1990, 162(2):141–148.
- [27] Kim SI, Kwak JH, Zachariah M, et al. TGF-beta-activated kinase 1 and TAK1-binding protein 1 cooperate to mediate TGF-beta1-induced MKK3-p38 MAPK activation and stimulation of type I collagen[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292(5):F1471–F1478.
- [28] Kim SI, Na HJ, Ding Y, et al. Autophagy promotes intracellular degradation of type I collagen induced by transforming growth factor (TGF)-beta1 [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(15):11677–11688.
- [29] Steubl D, Kumar SV, Tato M, et al. Circulating cathepsin-S levels correlate with GFR decline and sTNFR1 and sTNFR2 levels in mice and humans[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:43538.
- [30] Prabakaran T, Nielsen R, Satchell SC, et al. Mannose 6-phosphate receptor and sortilin mediated endocytosis of alpha-galactosidase A in kidney endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39975.