

# TWEAK 及其受体 Fn14 在肾功能损伤中的研究进展

祁 昌 综述, 黄 玮 审校

(高淳人民医院检验科, 江苏南京 211300)

**关键词:**肿瘤坏死因子样凋亡弱诱导受体; 成纤维细胞生长因子; 早期反应蛋白; 肾功能损伤**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.044**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)03-0390-03

肿瘤坏死因子样凋亡弱诱导受体(Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)是肿瘤坏死因子超家族(Tumor necrosis factor super family, TNFSF)中的一种细胞因子<sup>[1]</sup>。TNFSF 在人体中表达广泛,在免疫应答,炎症反应,细胞稳态和组织修复中发挥重要作用<sup>[2-3]</sup>。TNFSF 是Ⅱ型跨膜转运蛋白,在某些情况下,可以裂解成小分子分泌蛋白而发挥生物学活性。TNFSF 细胞因子具有与 TNF 同源的,介导自身三聚体化及结合受体过程,每个配体可结合一个或多个肿瘤坏死因子超家族受体。TNFRSF 受体具有一个位于细胞外的配体结合域和一个细胞内的细胞质尾巴,后者可以结合一个或多个适配蛋白,激活细胞信号通路瀑布。

人类 TWEAK 基因编码一种 249 个氨基酸的Ⅱ型跨膜糖蛋白,全长又称为膜结合型 TWEAK (membrane-anchored TWEAK, mTWEAK),位于细胞外的 C-羧基末端结构域(206 个氨基酸)包含受体结合域和一个 N-糖基化域,可在一个或者一对碱基切割位点处被水解,成为 156 个氨基酸的可溶性 TWEAK(soluble TWEAK, sTWEAK)<sup>[1]</sup>。细胞内的 N-末端区域有 18 个氨基酸,包含一个蛋白激酶磷酸化区域和胞核定位序列(nuclear localization sequences, NLSs)。TWEAK 可定位于细胞核,在细胞内被 furin 蛋白酶裂解后分泌到细胞外发挥生物学作用<sup>[4]</sup>。

1999 年,有研究发现成纤维细胞生长因子诱导的早期反应蛋白 14(fibroblast growth factor-inducible-14, Fn14)是 TWEAK 的受体<sup>[5-7]</sup>。人类 Fn14 基因编码 129 个氨基酸的Ⅰ型跨膜蛋白,通过转录后加工、修饰等成为 102 个氨基酸的成熟蛋白质。Fn14 是 TNFRSF 中分子量最小的一个,细胞外区域包含 53 个氨基酸,含有 TWEAK 结合所必需的富含半胱氨酸的区域,细胞内区域包含 29 个氨基酸,它不具有死亡结构域,但包含 TNFSF 相关因子结合域。sTWEAK 和 mTWEAK 可以结和并激活 Fn14<sup>[4]</sup>。TWEAK 在许多组织和器官中均有表达,包括中枢神经系统、肝脏、肠道、血管、骨骼肌、心脏和肾脏等。但不同的病理状态下,包括同一疾病的不同阶段, TWEAK 的作用并不一致<sup>[8]</sup>。本文进一步阐述了 TWEAK/Fn14 在肾脏疾病中的意义。

## 1 TWEAK 对肾脏细胞的作用

现有研究表明肾小管细胞、系膜细胞和足突状细胞中 TWEAK 具有重要作用。了解 TWEAK 在肾脏细胞中的作用对于理解它在肾脏疾病中发挥的作用至关重要。

**1.1 促炎作用** TWEAK 在肾小管细胞中的促炎作用已经研究的较为透彻。肾小管细胞组成了肾实质的大部分并分泌多

种细胞因子、化学因子和黏附分子,参与间质的炎症细胞浸润。NF- $\kappa$ B 通路在这种炎症反应中发挥了重要作用<sup>[9]</sup>。人体中至少存在两种 NF- $\kappa$ B 通路,经典通路和非经典通路。每种通路激活的目的基因可能不同。在肾小管上皮细胞中, TWEAK/Fn14 主要激活经典通路,在早期(30 min)诱导核移位及 RelA 复合物与 DNA 结合,促进基因表达和单核细胞趋化蛋白 1、IL-6 和 RANTES 的分泌,促进正常肾脏间质巨噬细胞的浸润<sup>[10-11]</sup>。同时, TWEAK 也可激活非经典 NF- $\kappa$ B 通路(RelB/NF- $\kappa$ B2)<sup>[12]</sup>,但较经典 NF- $\kappa$ B 通路激活较迟(6~24 h 达到高峰),这种激活可以诱导 CCL21 和 CCL19 的表达<sup>[11]</sup>,促进肾脏 T 细胞和成纤维细胞的聚集。TWEAK 在促进系膜细胞和足突状细胞炎症介质的表达中也发挥重要作用,这种作用主要通过 NF- $\kappa$ B 介导<sup>[13]</sup>。MAPKs 参与系膜细胞和足突状细胞化学因子生成的调节<sup>[10,11,13]</sup>。

体内试验已证明 TWEAK 在肾脏中具有促炎作用。整体水平给予 TWEAK 可诱导肾小管细胞和其他肾脏细胞中经典和非经典 NF- $\kappa$ B 通路的激活以及化学因子的产生<sup>[13]</sup>。

**1.2 细胞凋亡** 急性肾损伤和慢性肾脏病时,肾小管细胞发生凋亡。许多 TNFSF,如 FasL、TNF $\alpha$  和 TRAIL 参与受损细胞凋亡的过程。早期的研究认为 TWEAK 诱导凋亡能力较弱,因为体外实验中 TWEAK 往往需要作用较长时间以及和 IFN $\gamma$  等强刺激因子共同作用才能诱导凋亡<sup>[14]</sup>。然而,近年的研究表明, TWEAK 单独作用也可刺激神经元细胞、单核细胞以及特定类型肿瘤细胞的凋亡<sup>[15-19]</sup>。TWEAK 单独作用于静止的肾小管细胞无促凋亡作用,但在急性肾损伤的情况下,大量分泌的炎症介质可与 TWEAK 共同作用诱导肾小管细胞的凋亡,已证明的炎症介质有 TNF $\alpha$  和 IFN $\gamma$  的联合作用<sup>[20]</sup>。TNF $\alpha$  和 IFN $\gamma$  促进肾小管细胞 Fn14 的表达,使其对于 TWEAK 的刺激增敏,有研究通过转染编码 hFn14 的序列成功地使 TWEAK 抵抗的非肾脏细胞变得敏感,从而支持了这一理论<sup>[21]</sup>。然而,上调 Fn14 表达水平并不是 TWEAK 增敏的唯一机制,因为血清能促进肾小管细胞的 Fn14 表达但对 TWEAK 和细胞凋亡无明显影响。另一方面, TWEAK 和 IFN $\gamma$  在正常情况下单独作用于系膜细胞仅有轻微的促凋亡作用,但联合时则有明显的协同作用<sup>[13]</sup>。

**1.3 细胞增殖** 机体通过调节细胞有丝分裂和凋亡的平衡精细调控肾脏细胞的数目。TWEAK 在内皮细胞、上皮细胞、肿瘤细胞、祖细胞中发挥促增殖作用,也可诱导静止的肾小管细胞增殖,在血清中有丝分裂因子的作用下这种作用可进一步放大。TWEAK 还可诱导系膜细胞和足突状细胞的增殖,可能在

肾小球增生性疾病如狼疮肾炎的发生中起一定的作用。在肾小管细胞中, TWEAK 可激活细胞外信号调节激酶 1/2、P38 MAPK、磷酸肌醇 3-激酶/Akt 和 NF $\kappa$ B, 这些信号分子共同参与 TWEAK 诱导的细胞增殖, 阻断其中的任一环节都可阻止肾小球的增殖<sup>[22]</sup>。在整体水平实验中, 注射外源性 TWEAK 的健康小鼠肾小管细胞可发生增殖效应<sup>[22]</sup>。TWEAK 对肾脏细胞的双向作用受细胞微环境调节, 其诱导的细胞增殖或凋亡通过 Fn14 受体介导。

## 2 TWEAK/Fn14 在肾损害模型中功能的研究

**2.1 急性肾损伤** 实验条件下的叶酸诱导小鼠肾损伤模型与人类肾损伤有很多共同点, 都存在肾小管细胞的凋亡, 代偿的肾小管细胞增生、重塑, 炎症细胞浸润, 以及慢性纤维化。叶酸诱导的小鼠肾损伤模型中, 肾小管细胞表达 TWEAK/Fn14 上调, 同时 TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$  等多种细胞因子释放增多<sup>[20]</sup>。急性肾损伤的细胞实验和人体试验表明, 整体水平给予 TWEAK 有双向作用。在炎症环境中, TWEAK 可能既诱导细胞凋亡, 也参与肾小管细胞和祖细胞的增生及募集巨噬细胞参与损伤组织再生。在人体试验中, 靶向干预 TWEAK 可降低肾小管细胞多种化学因子(单核细胞化学诱导蛋白 1、RANTES、CCL21)的表达, 并减少巨噬细胞和 T 淋巴细胞的浸润<sup>[10-11]</sup>, 从而减轻肾实质及间质的炎症, 降低血清肌酐峰浓度。

很多研究已证实 AKI 中经典 NF $\kappa$ B 途径的参与。有研究表明非经典 NF $\kappa$ B 途径, 包括 NF $\kappa$ B2 和 RelB 也可被 TWEAK 激活并参与 AKI 过程<sup>[11]</sup>。靶向干预 TWEAK 可阻止小管细胞非经典 NF $\kappa$ B 途径激活, 降低 NF $\kappa$ B2/RelB 基因, CCL21 的表达和 T 细胞的募集<sup>[11]</sup>。总而言之, 预先对 TWEAK 或 Fn14 进行靶向干预可以改善 AKI 的肾功能, 减少肾小管细胞的凋亡、代偿增生和间质炎症。

**2.2 ApoE 敲除小鼠的高脂血症性肾病** ApoE 敲除小鼠接受富含脂肪的食物可出现自发的高胆固醇和动脉粥样硬化。研究表明, ApoE 敲除的小鼠可随着年龄增长出现自发的肾小球损害, 主要表现为肾小球系膜扩张、肾小球炎症和肾小球硬化, 高脂、高胆固醇饮食可加速这种病变<sup>[23]</sup>。接受高脂饮食的 ApoE<sup>-/-</sup>肾病小鼠, 给予 9 天中和 TWEAK 抗体治疗可改善其肾小球和小管间质的病变。靶向干预 TWEAK 可降低肾脏 NF $\kappa$ B 通路的激活, 减少化学因子的表达和巨噬细胞浸润。相反的, 整体水平给予 TWEAK 可加重肾小球和小管间质的病变。

**2.3 单侧肾切除后的肾脏生长** TWEAK 可以促进多种细胞的增生, 可能参与急性损伤时的病理性或代偿性增生。在正常的小鼠肾脏, 整体水平给予 TWEAK 促进肾小管细胞的增殖<sup>[22]</sup>。单侧肾切除术后肾脏增长主要表现为肾损害基础之上的肾小管增生和肥大。单侧肾切除术后健侧肾脏的 Fn14 表达在数天内增高, 但 TWEAK 及其诱导的细胞凋亡相关的炎症因子, 如 TNF $\alpha$  和 IFN $\gamma$  无明显变化<sup>[22]</sup>。整体水平给予 TWEAK, 可促进单侧肾切除后残留肾脏的肾小管细胞增生<sup>[22]</sup>。相反的, 在 TWEAK 基因敲除的小鼠, 残留肾脏肾小管细胞的增生减弱。这些结果表明 Fn14 能够增强细胞对 TWEAK 的敏感性, 协同其他分裂素共同促进单侧肾切除后健侧肾脏肾小管细胞的增生和肾脏代偿性肥大。这为临床上急性非炎症性肾切除后促进健侧肾脏的生长提供了新的思路。

**2.4 狼疮肾炎** TWEAK 对于有肾小球系膜细胞和足突状细

胞有促炎作用<sup>[13,16]</sup>, 提示 TWEAK/Fn14 通路可能在肾小球损伤中发挥作用。在慢性移植抗宿主病的鼠狼疮肾炎模型中, 阻断 TWEAK 或 Fn14 能够减轻肾小球肾炎的严重程度, 包括蛋白尿、肾小球 IgG 沉积、肾脏炎症因子表达和巨噬细胞浸润及自身抗体产生。Fn14 表达只有在肾脏固有细胞中足以促进早期炎症反应并使蛋白尿迅速升高作为肾损害的指标, 而骨髓源性细胞的 Fn14 表达与疾病晚期的蛋白尿和炎症有关。肾脏固有细胞 Fn14 表达能够促进肾脏炎症细胞募集, 这和细胞培养及体内研究结果一致<sup>[10,13,16]</sup>, 表明 TWEAK 能够诱导肾脏炎症因子分泌及巨噬细胞趋化作用, 在肾炎晚期的病理变化中发挥重要作用。

## 3 小 结

现有研究数据表明 TWEAK/Fn14 可能是肾损伤的一个治疗靶点。然而其在肾损伤中发挥的功能仅在动物模型中有相关研究数据, 而在人类肾脏肾脏中的功能尚无充分的研究数据。TWEAK/Fn14 和高血压、足突状细胞损伤、肾脏蛋白尿的关系尚不明确。TWEAK/Fn14 领域的新药有待进一步开发, 包括 Fn14 特异性拮抗剂。测定血或尿中的 sTWEAK 可能为评估慢性肾脏病患者的预后和狼疮肾炎的活动性提供参考。

## 参考文献

- [1] Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, et al. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis[J]. Biol Chem, 1997, 272(51):32401-32410.
- [2] Foster D, Parrish-Novak J, Fox B, et al. Cytokine-receptor pairing: accelerating discovery of cytokine function[J]. Nat Rev Drug Discov, 2004, 3(2):160-170.
- [3] Grewal IS. Overview of TNF superfamily: a chest full of potential therapeutic targets[J]. Adv Exp Med Biol, 2009, 64(7):1-7.
- [4] Brown SA, Ghosh A, Winkles JA. Full-length, membrane-anchored TWEAK can function as a juxtacrine signaling molecule and activate the NF-kappaB pathway[J]. J Biol Chem, 2010, 285(23):17432-17441.
- [5] Wiley SR, Cassiano L, Lofton T, et al. A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis[J]. Immunity, 2001, 15(5):837-846.
- [6] Feng SL, Guo Y, Factor VM, et al. The Fn14 immediate-early response gene is induced during liver regeneration and highly expressed in both human and murine hepatocellular carcinomas[J]. Am J Pathol, 2000, 156(4):1253-1261.
- [7] Meighan-Mantha RL, Hsu DK, Guo Y, et al. The mitogen-inducible Fn14 gene encodes a type I transmembrane protein that modulates fibroblast adhesion and migration[J]. J Biol Chem, 1999, 274(46):33166-33176.
- [8] Winkles JA. The TWEAK-Fn14 cytokine-receptor axis: discovery, biology and therapeutic targeting[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(5):411-425.
- [9] Sanz AB, Sanchez-Nino MD, Ramos AM, et al. NF-kappaB in renal inflammation[J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(8):1254-1262.
- [10] Sanz AB, Justo P, Sanchez-Nino MD, et al. The cytokine TWEAK modulates renal tubulointerstitial inflammation[J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19(4):695-703.
- [11] Sanz AB, Sanchez-Nino MD, Izquierdo MC, et al. TWEAK activates the non-canonical NFkappaB pathway (下转第 424 页)

续表 3 待评系统与参比系统检测系统结果判断			
项 目	允许偏倚(%)	符合数量( <i>n</i> )	符合比例(%)
BUN	4. 50	20	100
GLU	5. 00	20	100
CREA	7. 50	20	100
URIC	7. 50	20	100
ALT	10. 00	20	100
TG	12. 50	20	100
TC	5. 00	20	100
CK	15. 00	20	100
γ-GT	10. 00	20	100

对待评系统与参比系统的数据进行相关与回归分析,见表 2,两检测系统的相关性较好,所有项目  $r^2$  均大于 0. 950。比对系统所有项目比对数据均小于 1/2 TEa,符合比例均大于 80%,见表 3。说明可以用它去估计试验检测系统在给定医学决定水平处的预期偏倚及 95%可信区间,对于给定的临床检验标本可以给出可靠的检验报告。

3 讨 论

不同仪器测同一项目存在着可比性问题,若不同仪器测定结果可比性差,则会影响检验科的工作及影响临床医生对检验结果的判断,如何保证检验结果具有溯源性和可比性将十分重要<sup>[3]</sup>。全自动干化学分析仪具有检测速度快、准确率高等优点,一般用于急诊检验。按照 ISO/15189(医学实验室质量和能力的专用要求)的相关规定,医学实验室应至少每年进行一次不同仪器间测定项目的比对工作,以确保测定结果的可比性<sup>[4]</sup>。而按照 CLSI EP9-A2 的要求,生化分析仪之间的比对是需要每天收集 8 份血清标本,样本浓度范围覆盖检测项目的可分析测量范围,连续 5 d,共计 40 份标本,这大大增加了检验

科的工作量及试剂消耗<sup>[5]</sup>。而本实验按照 CNAS-CL38(医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明)的要求,采用简化比对方案,选取 20 份标本,浓度覆盖测量范围,计算回归方程,计算在医学决定性水平下的系统误差(偏倚%),<1/2TEa 结果应大于 80%<sup>[1]</sup>。以强生全自动干化学分析仪 Virtos Fusion 5. 1 为参比系统,Virtos 250 为待评系统,对 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、BUN、GLU、CREA、URIC、ALT、TG、TC、CK 和 γ-GT 进行了检测,所有项目的结果在两个检测系统间差异有统计学意义( $P<0. 05$ )。直线回归分析的结果显示两检测系统相关性较好,在医学决定性水平下的系统误差小于 1/2 TEa 的项目数为 100%,两系统检测结果达到了很好的一致性,可以用于临床标本的检测。

参考文献

[1] 姚爱荣,张玲,倪莉. 两台 BECKMAN Dxi 800 化学发光分析系统对 9 项检测结果一致性比较[J]. 临床输血与检验,2013,15(2): 138-140.

[2] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL38 医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会.

[3] 陈文祥. 临床检验参考测量系统与临床检验分析质量保证[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(4): 478-480.

[4] 魏昊,丛玉隆,中国实验室国家认可委员会技术委员会医学分会. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京:中国计量出版社,2004:72-75.

[5] National committee for clinical laboratory. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples: Approved guideline[J]. Wayne,PA,USA:CLSI,2002.

(收稿日期:2014-10-01)

(上接第 391 页)

in murine renal tubular cells: modulation of CCL21. PLOS ONE, 2010, 5(1):8955.

[12] Saitoh T, Nakayama M, Nakano H, et al. TWEAK induces NF-kappaB2 p100 processing and long lasting NF-kappaB activation [J]. J Biol Chem,2003,278(38):36005-36012.

[13] Gao HX, Campbell SR, Burkly LC, et al. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells[J]. Cytokine,2009,46(1):24-35.

[14] Nakayama M, Kayagaki N , Yamaguchi N, et al. Involvement of TWEAK in interferon gamma-stimulated monocyte cytotoxicity [J]. J Exp Med,2000,192(9):1373-1380.

[15] Kaplan MJ, Lewis EE, Shelden EA, et al. The apoptotic ligands TRAIL, TWEAK, and Fas ligand mediate monocyte death induced by autologous lupus T cells[J]. J Immunol,2002,169(10): 6020-6029.

[16] Campbell S, Burkly LC, Gao HX, et al. Proinflammatory effects of TWEAK/Fn14 interactions in glomerular mesangial cells [J]. J Immunol,2006,176(3):1889-1898.

[17] Alderson MR, Armitage RJ, Maraskovsky E, et al. Fas transduces activation signals in normal human T lymphocytes [J]. J Exp Med,1993,178(6):2231-2235.

[18] Potrovita I, Zhang W, Burkly L, et al. Tumor necrosis factor-like

weak inducer of apoptosis-induced neurodegeneration[J]. J Neurosci,2004,24(38):8237-8244.

[19] Michaelson JS, Burkly LC. Therapeutic targeting of TWEAK/ Fn14 in cancer: exploiting the intrinsic tumor cell killing capacity of the pathway[J]. Results Probl Cell Differ,2009, 49(2):145-160.

[20] Justo P, Sanz AB, Sanchez-Nino MD, et al. Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: the role of TWEAK[J]. Kidney Int, 2006,70(10):1750-1758.

[21] Nakayama M, Ishidoh K, Kojima Y, et al. Fibroblast growth factor-inducible 14 mediates multiple pathways of TWEAK-induced cell death[J]. J Immunol,2003,170(1):341-348.

[22] Sanz AB, Sanchez-Nino MD, Izquierdo MC, et al. Tweak induces proliferation in renal tubular epithelium;a role in uninephrectomy induced renal hyperplasia[J]. J Cell Mol Med,2009,13(9):3329-3342.

[23] Buzello M, Haas CS, Hauptmann F, et al. No aggravation of renal injury in apolipoprotein E knockout mice (ApoE(-/-)) after subtotal nephrectomy[J]. Nephrol Dial Transplant,2004,19(3):566-573.

(收稿日期:2014-10-21)