

## 衣康酸对巨噬细胞炎症反应调控作用的研究进展

吴雨桐 郑莉 杨浩 吕欣

同济大学附属上海市肺科医院麻醉科, 上海 200433

通信作者: 吕欣, Email: xinlv@126.com

**【摘要】** 巨噬细胞是重要的先天性免疫细胞,在炎症刺激下,巨噬细胞可以迅速应答并通过代谢重编程产生大量代谢物。衣康酸是源于三羧酸循环的免疫调节衍生物,具有抗氧化和抗炎作用。近年研究证实衣康酸可促进巨噬细胞由 M1 型向 M2 型转化,但其机制复杂,可能与烷基化 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Keap1) 残基激活核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2),阻止核转录因子- $\kappa$ B 抑制因子  $\zeta$  (I $\kappa$ B  $\zeta$ ) 翻译,抑制琥珀酸脱氢酶 (SDH) 和活性氧 (ROS) 生成以及下调有氧糖酵解水平等有关。本文就衣康酸的代谢途径与免疫应答之间的关系,及其对巨噬细胞炎症反应调控机制的最新研究进展进行阐述,以为衣康酸的临床应用提供依据,并为与炎症相关疾病的治疗提供新思路和新策略。

**【关键词】** 衣康酸; 巨噬细胞; 免疫代谢; 炎症反应

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81871601, 82000085)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201127-00735

### Research progress of itaconate on the regulation of macrophage inflammation

Wu Yutong, Zheng Li, Yang Hao, Lyu Xin

Department of Anesthesiology, Shanghai Pulmonary Hospital of Tongji University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Lyu Xin, Email: xinlv@126.com

**【Abstract】** Macrophages are important innate immune cells. Under inflammatory stimulation, macrophages rapidly respond and subsequently produce large amounts of cellular metabolites through metabolic reprogramming. Itaconate is an immunomodulatory derivative from the tricarboxylic acid cycle which has antioxidative and anti-inflammatory effects. In recent years, it has been reported that itaconate promotes the transition of macrophage phenotype from M1 to M2 and the underlying mechanism may include the activation of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) by alkylation of Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1), inhibition of succinate dehydrogenase (SDH) and reactive oxygen species (ROS), blockade of the inhibitor  $\zeta$  of nuclear factor- $\kappa$ B (I $\kappa$ B  $\zeta$ ) translation and inhibition of aerobic glycolysis. In this review, we describe the metabolic pathways of itaconate, clarify the relationship between itaconate and the immune response, and summarize the latest researches about the roles of itaconate on regulating the inflammatory response in macrophages in order to provide the basis for the clinical use of itaconate and new strategies for the treatment of inflammatory diseases.

**【Key words】** Itaconate; Macrophage; Immunometabolism; Inflammation response

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81871601, 82000085)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201127-00735

巨噬细胞是参与先天性免疫的关键细胞,在病原体刺激下迅速应答并分泌出大量炎症细胞因子,吞噬杀灭病原体以及摄取、处理并呈递抗原,在机体的免疫防御和组织稳态维持中发挥重要作用。巨噬细胞在接受多种内源性或外源性刺激后,可迅速分化为功能截然不同的两种亚型,即经典激活的 M1 型细胞和替代激活的 M2 型细胞,上述过程被称为巨噬细胞的极化<sup>[1]</sup>。M1 型巨噬细胞是促炎表型,通过释放促炎细胞因子,如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (interleukins, IL-1、IL-12) 等,诱导辅助性 T 细胞 (T helper cells, Th1、Th17) 的免疫反应,促进炎症反应;而 M2 型巨噬细胞是抗炎表型,可以通过释放 IL-10 等抑制炎症反应,诱导 Th2 细胞的免疫反应,参与组织愈合和修复<sup>[2-3]</sup>。在炎症反应过程中 M1 型和 M2 型巨噬细胞可以相互转化,发挥不同功能<sup>[3]</sup>。因此,促进巨噬细胞从 M1 型向 M2 型转化是治疗炎症性疾病的一种新策略。

近年来,随着免疫代谢研究的兴起,越来越多的证据显示,免疫细胞内营养物质如糖、脂肪、蛋白质等的代谢过程不仅可为细胞生存提供三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 和多种生物合成原料,还可以参与调节免疫细胞的功能及分化<sup>[4]</sup>。免疫细胞功能的改变总是伴随着明显的代谢变化,从而为机体免疫功能的改变提供相应的能量物质。M1 型巨噬细胞内糖酵解增加、氧化磷酸化减少,可以促进 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  以及其他促炎介质的产生;而 M2 型巨噬细胞内氧化磷酸化和脂肪酸的  $\beta$  氧化增强,主要与组织修复过程有关<sup>[5]</sup>。

最近一系列研究表明,衣康酸是三羧酸循环的一种免疫调节衍生物,其可通过多种机制调节巨噬细胞的功能,如衣康酸可通过烷基化 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 的残基激活抗氧化转录因子核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor 2,

Nrf2)<sup>[6]</sup>; 另外, 衣康酸可以抑制琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)从而减少 IL-1 $\beta$  的产生<sup>[7]</sup>, 还能通过细胞转录激活因子 3(activating transcription factor 3, ATF3) 调节核转录因子- $\kappa$ B 抑制因子  $\zeta$  (the inhibitor  $\zeta$  of nuclear factor- $\kappa$ B, I $\kappa$ B  $\zeta$ ) 和 IL-6 的表达<sup>[8-9]</sup>。上述研究提示, 衣康酸可通过调节巨噬细胞内多种细胞因子的表达从而发挥对巨噬细胞极化的调节作用, 因此衣康酸是一种具有潜在临床应用价值的强效抗炎代谢衍生物。现就衣康酸的代谢过程和生物学功能, 及其调节巨噬细胞极化的研究进行综述, 总结其对炎症性疾病的治疗作用和相关机制。

## 1 衣康酸的发现

衣康酸是从线粒体三羧酸循环中获得的一种代谢产物。1836 年 Baup<sup>[10]</sup>首次通过柠檬酸热分解得到了衣康酸。早期对于衣康酸的研究大多数着重于其抗菌作用。异柠檬酸裂解酶是乙醛酸循环的限速酶, 与细菌生存密切相关; 而衣康酸通过抑制异柠檬酸裂解酶发挥抗细菌感染作用, 这是其主要的生物学功能<sup>[11-12]</sup>。近年来, 随着对衣康酸生物作用认识的不断深入, 越来越多的证据显示, 衣康酸具有强大的抗炎作用。2011 年 Strelko 等<sup>[13]</sup>研究揭示衣康酸是由顺乌头酸脱羧基后生成的, 而顺乌头酸是一种来源于柠檬酸的三羧酸循环中间产物。2013 年 Michelucci 等<sup>[14]</sup>在活化的巨噬细胞中发现了一种可被脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 诱导表达的免疫应答基因 1 蛋白(immunoresponsive gene 1 protein, IRG1), 该蛋白可以催化顺乌头酸的脱羧反应从而生成衣康酸, 揭示了巨噬细胞内衣康酸的合成途径。研究表明, 巨噬细胞可以在 LPS 和细菌刺激下产生衣康酸, 而且衣康酸的合成主要发生在巨噬细胞活化期间<sup>[14-15]</sup>。2016 年, Lampropoulou 等<sup>[16]</sup>研究发现, 衣康酸可以通过抑制 SDH 减轻炎症反应, 首次发现衣康酸具有抗炎作用。随后多项研究也提示, 衣康酸可以在 LPS 刺激活化的巨噬细胞中发挥抗炎作用<sup>[17-18]</sup>, 这成为衣康酸另一种重要的生物学作用, 拓展了研究人员对衣康酸生物学作用的了解和认识。

## 2 衣康酸的代谢途径

**2.1 衣康酸合成的关键酶 IRG1/ 顺乌头酸脱羧酶(cis-aconitate decarboxylase, CAD):** 衣康酸的代谢过程与三羧酸循环密切相关, 三羧酸循环主要发生于细胞的线粒体内, 是线粒体的代谢枢纽, 三大营养物质糖、蛋白质和脂肪可通过三羧酸循环生成二氧化碳及 ATP, 是机体能量供给的关键一环。巨噬细胞活化过程中, 三羧酸循环能够驱动能量产生从而发挥重要的调节作用。柠檬酸是三羧酸循环的一种中间代谢产物, 在顺乌头酸酶的催化下转化为顺乌头酸, 而顺乌头酸又在 CAD 的催化下发生脱羧基反应并产生衣康酸<sup>[19]</sup>。

CAD 又称 IRG1, 由乌头酸脱羧酶 1(aconitate decarboxylase 1, Aco1) 基因编码生成。Michelucci 等<sup>[14]</sup>研究发现, LPS 诱导的小鼠巨噬细胞株 RAW264.7 细胞中 Aco1 表达增加, 并且上调了衣康酸的合成, 而敲除 Aco1 可以显著降低 LPS 刺激的巨噬细胞中衣康酸水平; 同样, 肺癌细胞株 A549 细

胞中 Aco1 的过表达也可显著上调衣康酸的合成。另外有研究显示, 在过表达 IRG1 的 RAW264.7 细胞中, LPS 刺激后 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和  $\beta$ -干扰素(interferon- $\beta$ , IFN- $\beta$ ) 的释放明显减少<sup>[20]</sup>。在 LPS 刺激的小鼠骨髓来源的巨噬细胞(bone marrow-derived macrophage, BMDM) 中, 敲除 IRG1 基因会使细胞的炎症反应增强<sup>[16-17]</sup>。以上研究表明, 衣康酸合成关键酶 IRG1 可通过改变细胞内衣康酸水平参与调节炎症反应。研究显示, 在敲除 IRG1 基因的小鼠中, BMDM 在 LPS 或 IFN- $\gamma$  处理下皆无法合成和分泌衣康酸<sup>[16]</sup>, 由此可见, IRG1 是催化衣康酸合成不可缺少的酶。此外, 干扰素调控因子-1(interferon regulatory factor-1, IRF-1) 是 IRG1 的正性调控子<sup>[21]</sup>。LPS 通过激活 IFN- $\beta$ /IRF-1 信号通路上调小鼠 BMDM 中 IRG1 表达, 进而促进衣康酸产生, 并启动抗炎程序; 同时, 衣康酸又可通过抑制 LPS 诱导的 IFN- $\beta$  合成从而限制炎症反应<sup>[6]</sup>。上述结果表明, IRG1 在炎症刺激下表达明显上调, 催化生成大量衣康酸进而抑制炎症反应。

**2.2 丙酮酸脱氢酶:** 丙酮酸脱氢酶也与衣康酸的生物合成相关。细胞内充足的柠檬酸对于衣康酸的合成是不可避免的; 丙酮酸在丙酮酸脱氢酶催化下生成柠檬酸, 而丙酮酸脱氢酶激酶 1 可促进丙酮酸脱氢酶磷酸化并导致其失活<sup>[22]</sup>。研究表明, LPS 可以抑制丙酮酸脱氢酶激酶 1 的活性, 减少丙酮酸脱氢酶的磷酸化从而促进丙酮酸转化为柠檬酸, 最终使衣康酸生成增加<sup>[23-24]</sup>。因此, 增强丙酮酸脱氢酶活性也是促进衣康酸合成的一种途径。

**2.3 柠檬酸裂解酶  $\beta$  样亚基(citrate lyase subunit  $\beta$ -like, CLYBL):** 在哺乳动物细胞中, CLYBL 具有柠檬醛辅酶 A(citramalyl-CoA) 裂解酶的作用。研究表明, LPS 处理的 RAW264.7 细胞中, 维生素 B12 水平和衣康酸中间代谢产物衣康酸-辅酶 A(itaconyl-CoA) 水平显著下降<sup>[22]</sup>。另外, 衣康酸能够被依次分解为衣康酸-辅酶 A 和柠檬醛辅酶 A, 而 CLYBL 可以催化柠檬醛辅酶 A 产生丙酮酸和乙酰辅酶 A。缺乏 CLYBL 会导致血清中维生素 B12 水平下降和衣康酸-辅酶 A 蓄积<sup>[22, 25]</sup>。而这一过程中产生的乙酰辅酶 A 会再次进入三羧酸循环并用于合成衣康酸, 说明衣康酸可以被循环利用<sup>[22]</sup>。衣康酸转变为柠檬醛辅酶 A 的过程尚不明确, 有待于进一步深入探索。

## 3 衣康酸及其衍生物

衣康酸在线粒体合成后需进入细胞质才能发挥抗炎作用。但是衣康酸是一种具有较强极性的  $\alpha, \beta$ -不饱和羧酸, 不易透过细胞膜, 所以不适合进行代谢机制的研究。迄今为止, 尚未发现有可以将外源性衣康酸转运到细胞质中的转运蛋白或受体。研究显示, 细胞外衣康酸可以进入脂肪细胞和巨噬细胞的细胞质中, 但是细胞需要在高浓度的衣康酸中暴露 48~72 h。为了克服衣康酸不易通过细胞膜的缺点, 研究人员合成了衣康酸二甲酯(dimethyl itaconate, DI) 和 4-辛基衣康酸(4-octyl itaconate, 4-OI) 这两种膜渗透性良好的衣康酸衍生物, 它们都可以在没有转运蛋白的情况下透过细胞膜直接进入细胞内, 随后会在细胞内转化为衣康酸<sup>[26-27]</sup>。但

是衣康酸衍生物并不能完全代表内源性衣康酸,其结构的改变可能会产生部分与衣康酸无关的额外作用。

有研究表明,给予DI可提高脓毒症小鼠的存活率,降低血清中TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 水平<sup>[18]</sup>。然而,ElAzzouny等<sup>[28]</sup>利用C<sup>13</sup>标记的方法发现,给予RAW264.7细胞和BMDM DI处理后,细胞内增加的琥珀酸并不是由DI直接代谢的产物,提示DI并不能直接转化为衣康酸,而是以其他途径增加衣康酸的合成,所以DI能否作为衣康酸的模拟衍生物还有待进一步研究。

除DI外,4-OI的抗炎作用也得到了证实。作为衣康酸的另一种衍生物,4-OI进入细胞后能被胞质脂酶水解为衣康酸。有研究显示,4-OI可以抑制LPS处理的BMDM中IL-1 $\beta$  mRNA表达,降低IL-1 $\beta$ 前体、低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)和IL-10的蛋白表达水平;在LPS诱导的小鼠致死性模型中,4-OI可显著降低小鼠体内IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平,抑制全身炎症反应,提高小鼠存活率<sup>[6]</sup>。此外,4-OI可以通过激活Nrf2减少巨噬细胞和系统性红斑狼疮患者来源的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)内促炎细胞因子的生成<sup>[29]</sup>。4-OI还可以通过激活Nrf2抑制干扰素基因刺激蛋白(stimulator of interferon gene, STING)依赖性IFN-1表达,从而抑制炎症反应<sup>[30]</sup>。以上研究都直接证明了衣康酸及其衍生物是限制免疫病理过程的一种新颖且有前景的抗炎代谢产物。

DI和4-OI是否会带来与衣康酸无关的额外作用也值得探讨。衣康酸及其衍生物会表现出不同的亲电性,可以接受亲核试剂中的电子对。由于DI的羧基接近于碳碳双键,因此比衣康酸和4-OI拥有更强的亲电性;而4-OI因酯基的位置较远,亲电性较低<sup>[9]</sup>。考虑到DI的强亲电性可能带来意想不到的额外作用,4-OI可能更适合作为衣康酸的模拟衍生物进行实验。

#### 4 衣康酸的抗炎机制

**4.1 Keap1-Nrf2通路:** Nrf2属于转录因子CNC家族,是含有亮氨酸拉链结构的转录因子,可以调节氧化/异源性应激反应,从而发挥减轻氧化损伤、抑制炎症反应的细胞保护作用,被认为是疾病防治的潜在靶点<sup>[31]</sup>。在正常生理情况下,Keap1与Nrf2在细胞质中结合,并促进Nrf2被蛋白酶体降解的过程,此时Keap1对Nrf2发挥抑制作用;而当Keap1半胱氨酸残基发生烷基化时,会导致新合成的Nrf2蓄积,Nrf2随后迁移到细胞核内,与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合,激活与抗炎和抗氧化相关的Nrf2依赖性基因的转录,促进多种抗氧化、抗炎蛋白表达,从而发挥细胞保护作用<sup>[6, 31-33]</sup>。因此,Keap1-Nrf2通路对于调控炎症反应具有重要意义。

Mills等<sup>[6]</sup>研究证明,LPS对Nrf2的激活作用在敲除IRG1基因的巨噬细胞中明显减弱,提示衣康酸可参与调节巨噬细胞内Nrf2的活化。另一项研究表明,Nrf2是促炎细胞因子的负性调控子,可以直接结合促炎细胞因子基因(如IL-6、IL-8)的近端调节区域,抑制RNA聚合酶II在促炎细

胞因子基因转录起始位点(transcription start site, TSS)的聚集,从而抑制M1型巨噬细胞内IL-6、IL-8等多种促炎细胞因子的表达,最终减轻炎症反应<sup>[31]</sup>。进一步研究证实,衣康酸可增加Keap1上半胱氨酸残基151、257、288、273和297的烷基化,促进Keap1的降解并导致Nrf2进一步活化,从而抑制炎症反应<sup>[5]</sup>。衣康酸和DI可直接引起亲电应激并与谷胱甘肽反应,从而导致Nrf2活化<sup>[8]</sup>。在阿霉素处理的心肌细胞中,DI可通过激活Nrf2/血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)显著降低活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平,并抑制细胞氧化应激<sup>[34]</sup>。以上研究均表明,衣康酸具有显著的抗炎、抗氧化损伤的器官保护作用,且与其激活Keap1-Nrf2通路相关。

**4.2 ATF3和I $\kappa$ B $\zeta$ :** LPS通过与巨噬细胞表面的Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)结合触发细胞内炎症信号通路的激活,其中TLR4在诱导先天性免疫系统激活中起重要作用<sup>[35]</sup>。巨噬细胞对LPS的应答反应可以根据与TLR结合后激活的基因表达分为两类:第一类主要转录反应受核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)和IFN调节因子(IFN-regulatory factor, IRF)转录因子的调节,从而增强TNF- $\alpha$ 基因的转录;第二类次级转录反应主要由I $\kappa$ B $\zeta$ 蛋白调节,主要影响IL-6的释放<sup>[7, 35]</sup>。

I $\kappa$ B $\zeta$ 是一种含锚蛋白重复区域的核蛋白,由人染色体3q12.3上的Nfkbiz基因编码<sup>[36]</sup>。研究显示,敲除I $\kappa$ B $\zeta$ 会导致LPS处理的小鼠巨噬细胞内IL-6生成减少,提示抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 可减轻炎症反应<sup>[37]</sup>。另外,在IL-1处理的小鼠腹腔巨噬细胞中,敲除Nfkbiz基因会减少IL-6的表达,但不影响TNF- $\alpha$ 的产生,说明I $\kappa$ B $\zeta$ 特异性调控次级转录反应<sup>[38]</sup>。ATF3是公认的免疫调节抑制剂,可以调节细胞因子如IL-6和IL-12b的转录<sup>[39]</sup>。研究显示,小鼠胚胎成纤维细胞中ATF3基因被敲除后,I $\kappa$ B $\zeta$ 表达及促炎细胞因子的分泌水平均升高,表明ATF3可以抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 表达以及减轻炎症反应<sup>[40]</sup>。进一步研究表明,ATF3水平升高可使真核起始因子2 $\alpha$ (eukaryotic initiation factor 2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ )的一个亚基失活,从而抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 的表达<sup>[9]</sup>。

Bambouskova等<sup>[9]</sup>发现,在LPS处理的BMDM中,DI通过亲电应激反应与谷胱甘肽形成共轭物,抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 的翻译过程,进而降低IL-6水平。另有研究显示,敲除ATF3基因后,DI对LPS刺激的BMDM内I $\kappa$ B $\zeta$ 表达的抑制作用明显减弱,提示DI对I $\kappa$ B $\zeta$ 表达的抑制作用与ATF3有关<sup>[7]</sup>。为了明确Nrf2是否参与上述过程,研究人员建立了敲除Nrf2基因的小鼠模型,发现DI依然可以通过抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 表达来减少IL-6的产生<sup>[9]</sup>。综上所述,衣康酸可以通过上调ATF3使eIF2 $\alpha$ 失活,从而抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 的表达并减少炎症细胞因子的释放,减轻炎症反应,且衣康酸的这种作用与Nrf2的激活无关。

**4.3 抑制SDH和ROS:** SDH是三羧酸循环中的重要代谢酶,可催化琥珀酸转化为延胡索酸。衣康酸与SDH催化底物琥珀酸的结构相似,故其可竞争性结合SDH活性位点。此外,



SDH是线粒体电子传递链复合体II中的一种重要成分,能氧化蓄积的琥珀酸形成还原型辅酶Q,使电子返回复合体I,从而产生ROS<sup>[41]</sup>。ROS是炎症反应的正性调控子,参与巨噬细胞的激活和促炎细胞因子的产生,促进HIF-1 $\alpha$ 的产生,随后增强IL-1 $\beta$ 的转录,最终导致组织损伤<sup>[42]</sup>。

2016年Lampropoulou等<sup>[16]</sup>研究发现,LPS刺激后小鼠BMDM内Acod1表达升高,细胞内衣康酸大量生成进而直接抑制SDH活性,最终导致细胞内琥珀酸大量蓄积。为进一步证明衣康酸与SDH的关系,研究人员敲除了BMDM内的IRG1基因,结果显示,与未敲除IRG1的野生型细胞相比,LPS刺激的IRG1敲除细胞中琥珀酸明显减少,同时伴随着耗氧量的增加<sup>[43]</sup>。以上研究证明衣康酸是SDH的抑制剂。但是,衣康酸是一种相对较弱的SDH抑制剂,因为在实验中要实现抑制SDH的作用需要高浓度的衣康酸。因此,衣康酸可以通过抑制SDH、减少ROS产生,从而发挥抗炎作用。

**4.4 抑制糖酵解:**巨噬细胞免疫表型的不同会影响其代谢状态和细胞功能,并根据不同情况满足细胞的能量需求。根据刺激因素及细胞功能的不同,巨噬细胞可分为两种亚型:一是被LPS和IFN- $\gamma$ 激活的M1表型具有促炎作用,二是被IL-4和IL-10激活的M2表型表现出抗炎活性。M1型巨噬细胞内有氧糖酵解水平提高,而氧化磷酸化受阻,从而为M1型巨噬细胞增殖及快速反应提供所需的大量能量;而增殖较慢的M2型巨噬细胞的主要能量来源是氧化磷酸化<sup>[44-46]</sup>。因此,抑制有氧糖酵解可以抑制M1型巨噬细胞极化,减轻炎症反应,从而发挥器官保护作用。鉴于有氧糖酵解对巨噬细胞极化的影响,衣康酸能否通过抑制有氧糖酵解促进M1型巨噬细胞向M2型转化发挥抗炎作用成为新的探索方向。

先前研究表明,衣康酸与磷酸烯醇式丙酮酸具有结构相似性,所以衣康酸可以抑制果糖6磷酸激酶2,从而通过降低果糖-2,6-双磷酸水平来抑制糖酵解<sup>[47]</sup>。另外,最近的两项研究均表明,衣康酸与糖酵解之间存在负反馈关系,这可能与衣康酸的抗炎作用有关,其中一项研究报告,衣康酸通过抑制一种糖酵解关键酶果糖二磷酸醛缩酶A(fructose-bisphosphate aldolase A, ALDOA)来抑制糖酵解<sup>[48]</sup>;另一项研究表明,LPS刺激的RAW264.7细胞在4-OI处理下,可以诱导3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)的Cys22残基烷基化,在功能上抑制巨噬细胞的糖酵解和促炎细胞因子的产生,而且高浓度的葡萄糖可以抑制4-OI的抗炎作用,并且增强糖酵解,这表明4-OI的抗炎作用可能与其抑制糖酵解相关<sup>[49]</sup>。但也有研究得到了相反的结果,受微小RNA-93(microRNA-93, miR-93)调控的Acod1和衣康酸的减少触发了M2极化,可能是因为较低的衣康酸水平增加了氧化磷酸化作用<sup>[50]</sup>。以上研究都为衣康酸的炎症调节作用以及衣康酸与巨噬细胞极化之间的关系提供了新的研究方向,但具体机制尚不完全清楚。

## 5 结论

近年来衣康酸的抗炎作用被广泛关注,且多种抗炎机

制已经得到验证,如烷基化Keap1的残基从而激活Nrf2;抑制SDH和ROS从而减少IL-1 $\beta$ 的产生;诱导ATF3来抑制I $\kappa$ B $\zeta$ 蛋白表达;靶向作用于GAPDH和ALDOA来抑制糖酵解。除此之外,衣康酸及其衍生物的亲电性在研究过程中也是不可忽视的。目前对于衣康酸抗炎作用的研究主要来自体外实验和动物模型,在开始临床试验前,其潜在的代谢机制还需要进一步完善,以及衣康酸可能带来的不良反应也需要进一步探索。由于衣康酸是内源性代谢物,因此推测其用于治疗时产生的不良反应可能较少,临床应用的安全性值得期待。综上,衣康酸是一种重要的免疫代谢物,在巨噬细胞的免疫调节中发挥重要作用,是一种极具临床应用潜力的炎症性疾病治疗剂,完善衣康酸在调控巨噬细胞炎症反应中的作用及相关机制将为炎症性疾病的防治提供新的干预措施。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 屠国伟,任杨华,史懿.肺泡巨噬细胞亚型与急性肺损伤[J].中国临床医学,2017,24(3):470-475. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20160807.
- [2] Tu GW, Ren YH, Shi Y. Correlation between alveolar macrophage subtypes and acute lung injury [J]. Chin J Clin Med, 2017, 24 (3): 470-475. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20160807.
- [3] 王丹阳,刘美云,吕欣.脓毒症相关免疫细胞糖代谢重编程的研究进展[J].中华危重病急救医学,2019,31(9):1167-1169. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.023.
- [4] Wang DY, Liu MY, Lyu X. Research progress in glycogen metabolism reprogramming in sepsis associated immune cells [J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31 (9): 1167-1169. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.09.023.
- [5] 韩李念,陈旭林.巨噬细胞在急性肺损伤的作用[J/CD].中华损伤与修复杂志(电子版),2016,11(4):294-297. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2016.04.013.
- [6] Han LN, Chen XL. Role of macrophages in acute lung injury [J/CD]. Chin J Injury Repair Wound Healing (Electronic Version), 2016, 11 (4): 294-297. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2016.04.013.
- [7] Pålsson-McDermott EM, O'Neill LAJ. Targeting immunometabolism as an anti-inflammatory strategy [J]. Cell Res, 2020, 30 (4): 300-314. DOI: 10.1038/s41422-020-0291-z.
- [8] Torres A, Makowski L, Wellen KE. Immunometabolism: metabolism fine-tunes macrophage activation [J]. Elife, 2016, 5: e14354. DOI: 10.7554/eLife.14354.
- [9] Mills EL, Ryan DG, Prag HA, et al. Itaconate is an anti-inflammatory metabolite that activates Nrf2 via alkylation of KEAP1 [J]. Nature, 2018, 556 (7699): 113-117. DOI: 10.1038/nature25986.
- [10] Hooftman A, O'Neill LAJ. The immunomodulatory potential of the metabolite itaconate [J]. Trends Immunol, 2019, 40 (8): 687-698. DOI: 10.1016/j.it.2019.05.007.
- [11] O'Neill LAJ, Artyomov MN. Itaconate: the poster child of metabolic reprogramming in macrophage function [J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19 (5): 273-281. DOI: 10.1038/s41577-019-0128-5.
- [12] Bambouskova M, Gorvel L, Lampropoulou V, et al. Electrophilic properties of itaconate and derivatives regulate the I $\kappa$ B $\zeta$ -ATF3 inflammatory axis [J]. Nature, 2018, 556 (7702): 501-504. DOI: 10.1038/s41586-018-0052-z.
- [13] Baup S. Ueber eine neue pyrogen-citronensäure, und über benennung der pyrogen-säuren überhaupt [J]. Annalen der Pharmacie, 1836, 19 (1): 29-38. DOI: 10.1002/jlac.18360190107.
- [14] Rittenhouse JW, McFadden BA. Inhibition of isocitrate lyase from *Pseudomonas indigofera* by itaconate [J]. Arch Biochem Biophys, 1974, 163 (1): 79-86. DOI: 10.1016/0003-9861(74)90456-1.
- [15] Rao GR, McFadden BA. Isocitrate lyase from *Pseudomonas indigofera*. IV. Specificity and inhibition [J]. Arch Biochem Biophys, 1965, 112 (2): 294-303. DOI: 10.1016/0003-9861(65)90049-4.
- [16] Strelko CL, Lu WY, Dufort FJ, et al. Itaconic acid is a mammalian metabolite induced during macrophage activation [J]. J Am Chem Soc, 2011, 133 (41): 16386-16389. DOI: 10.1021/ja2070889.
- [17] Michelucci A, Cordes T, Ghelfi J, et al. Immune-responsive gene 1 protein links metabolism to immunity by catalyzing itaconic acid

- production [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110 (19): 7820–7825. DOI: 10.1073/pnas.1218599110.
- [15] Sugimoto M, Sakagami H, Yokote Y, et al. Non-targeted metabolite profiling in activated macrophage secretion [J]. Metabolomics, 2012, 8 (4): 624–633. DOI: 10.1007/s11306-011-0353-9.
- [16] Lampropoulou V, Sergushichev A, Bambouskova M, et al. Itaconate links inhibition of succinate dehydrogenase with macrophage metabolic remodeling and regulation of inflammation [J]. Cell Metab, 2016, 24 (1): 158–166. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.06.004.
- [17] Nair S, Huynh JP, Lampropoulou V, et al. Irg1 expression in myeloid cells prevents immunopathology during *M. tuberculosis* infection [J]. J Exp Med, 2018, 215 (4): 1035–1045. DOI: 10.1084/jem.20180118.
- [18] Xu MY, Jiang P, Sun HW, et al. Dimethyl itaconate protects against lipopolysaccharide-induced endometritis by inhibition of TLR4/NF- $\kappa$ B and activation of Nrf2/HO-1 signaling pathway in mice [J]. Iran J Basic Med Sci, 2020, 23 (9): 1239–1244. DOI: 10.22038/ijbms.2020.44151.10346.
- [19] Luan HH, Medzhitov R. Food fight: role of itaconate and other metabolites in antimicrobial defense [J]. Cell Metab, 2016, 24 (3): 379–387. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.08.013.
- [20] Li YK, Zhang P, Wang CC, et al. Immune responsive gene 1 (IRG1) promotes endotoxin tolerance by increasing A20 expression in macrophages through reactive oxygen species [J]. J Biol Chem, 2013, 288 (23): 16225–16234. DOI: 10.1074/jbc.M113.454538.
- [21] Tallam A, Perumal TM, Antony PM, et al. Gene regulatory network inference of immunoresponsive gene 1 (IRG1) identifies interferon regulatory factor 1 (IRF1) as its transcriptional regulator in mammalian macrophages [J]. PLoS One, 2016, 11 (2): e0149050. DOI: 10.1371/journal.pone.0149050.
- [22] Yu XH, Zhang DW, Zheng XL, et al. Itaconate: an emerging determinant of inflammation in activated macrophages [J]. Immunol Cell Biol, 2019, 97 (2): 134–141. DOI: 10.1111/imcb.12218.
- [23] Denko NC. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8 (9): 705–713. DOI: 10.1038/nrc2468.
- [24] Meiser J, Krämer L, Sapcariu SC, et al. Pro-inflammatory macrophages sustain pyruvate oxidation through pyruvate dehydrogenase for the synthesis of itaconate and to enable cytokine expression [J]. J Biol Chem, 2016, 291 (8): 3932–3946. DOI: 10.1074/jbc.M115.676817.
- [25] Shen HY, Campanello GC, Flicker D, et al. The human knockout gene CLYBL connects itaconate to vitamin B12 [J]. Cell, 2017, 171 (4): 771–782. e11. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.051.
- [26] Reid MA, Paik J, Locasale JW. A missing link to vitamin B12 metabolism [J]. Cell, 2017, 171 (4): 736–737. DOI: 10.1016/j.cell.2017.10.030.
- [27] Puchalska P, Huang XJ, Martin SE, et al. Isotope tracing untargeted metabolomics reveals macrophage polarization–state–specific metabolic coordination across intracellular compartments [J]. iScience, 2018, 9: 298–313. DOI: 10.1016/j.isci.2018.10.029.
- [28] ELAzzouny M, Tom CT, Evans CR, et al. Dimethyl itaconate is not metabolized into itaconate intracellularly [J]. J Biol Chem, 2017, 292 (12): 4766–4769. DOI: 10.1074/jbc.C117.775270.
- [29] Tang C, Wang XH, Xie YY, et al. 4-Octyl itaconate activates Nrf2 signaling to inhibit pro-inflammatory cytokine production in peripheral blood mononuclear cells of systemic lupus erythematosus patients [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51 (2): 979–990. DOI: 10.1159/000495400.
- [30] Olgarnier D, Brandt AM, Gunderstoft C, et al. Nrf2 negatively regulates STING indicating a link between antiviral sensing and metabolic reprogramming [J]. Nat Commun, 2018, 9 (1): 3506. DOI: 10.1038/s41467-018-05861-7.
- [31] 姚娟, 吴平安, 李芸, 等. Keap1–Nrf2–ARE 信号通路及其激活剂的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35 (10): 1342–1346. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.10.003.  
Yao J, Wu PA, Li Y, et al. Research progress of small molecule activators in Keap1–Nrf2–ARE signaling pathway [J]. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35 (10): 1342–1346. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.10.003.
- [32] Cui GY, Li L, Xu WX, et al. Astaxanthin protects ochratoxin A-induced oxidative stress and apoptosis in the heart via the Nrf2 pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 7639109. DOI: 10.1155/2020/7639109.
- [33] Han DD, Gu XL, Gao J, et al. Chlorogenic acid promotes the Nrf2/HO-1 anti-oxidative pathway by activating p21<sup>Waf1/Cip1</sup> to resist dexamethasone-induced apoptosis in osteoblastic cells [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 137: 1–12. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.014.
- [34] Shan Q, Li XY, Zheng M, et al. Protective effects of dimethyl itaconate in mice acute cardiotoxicity induced by doxorubicin [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 517 (3): 538–544. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.07.046.
- [35] 宋瑜婷, 彭彬, 王莹, 等. TLR4/MD2/NF- $\kappa$ B 信号通路及疾病的研究进展 [J]. 免疫学杂志, 2020, 36 (7): 633–638. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20200100.  
Song YT, Peng B, Wang Y, et al. TLR4/MD2/NF- $\kappa$ B signaling pathway and diseases: an advance [J]. Chin J Immunol, 2020, 36 (7): 633–638. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20200100.
- [36] 刘伟, 张敏龙, 薄丽艳, 等.  $\kappa$ B- $\zeta$  高表达在调控脂多糖诱导细胞炎症反应中的作用 [J/CD]. 中华肺部疾病杂志 (电子版), 2018, 11 (2): 139–143. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2018.02.002.  
Liu W, Zhang ML, Bo LY, et al. Effect of the high expression of  $\kappa$ B- $\zeta$  in lipopolysaccharide-induced inflammation in cells [J/CD]. Chin J Lung Dis (Electronic Edition), 2018, 11 (2): 139–143. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2018.02.002.
- [37] Kitamura H, Kanehira K, Okita K, et al. MAIL, a novel nuclear I kappa B protein that potentiates LPS-induced IL-6 production [J]. FEBS Lett, 2000, 485 (1): 53–56. DOI: 10.1016/s0014-5793(00)02185-2.
- [38] Yamamoto M, Yamazaki S, Uematsu S, et al. Regulation of Toll/IL-1-receptor-mediated gene expression by the inducible nuclear protein IkappaBzeta [J]. Nature, 2004, 430 (6996): 218–222. DOI: 10.1038/nature02738.
- [39] Gilchrist M, Thorsson V, Li B, et al. Systems biology approaches identify ATF3 as a negative regulator of Toll-like receptor 4 [J]. Nature, 2006, 441 (7090): 173–178. DOI: 10.1038/nature04768.
- [40] Kim EY, Shin HY, Kim JY, et al. ATF3 plays a key role in Kdo2-lipid A-induced TLR4-dependent gene expression via NF- $\kappa$ B activation [J]. PLoS One, 2010, 5 (12): e14181. DOI: 10.1371/journal.pone.0014181.
- [41] 杨雪, 杨勇. 代谢重编程对巨噬细胞的可塑性和功能的影响 [J]. 药学研究, 2019, 38 (8): 481–485. DOI: 10.13506/j.cnki.jpr.2019.08.011.  
Yang X, Yang Y. Metabolic reprogramming of macrophages and its functional effects [J]. J Pharm Res, 2019, 38 (8): 481–485. DOI: 10.13506/j.cnki.jpr.2019.08.011.
- [42] Tannahill GM, Curtis AM, Adamik J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 $\beta$  through HIF-1 $\alpha$  [J]. Nature, 2013, 496 (7444): 238–242. DOI: 10.1038/nature11986.
- [43] Cordes T, Wallace M, Michelucci A, et al. Immunoresponsive gene 1 and itaconate inhibit succinate dehydrogenase to modulate intracellular succinate levels [J]. J Biol Chem, 2016, 291 (27): 14274–14284. DOI: 10.1074/jbc.M115.685792.
- [44] 肖潇, 周莉, 徐艳, 等. 脓毒症时巨噬细胞代谢变化与其代谢调节研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32 (2): 249–252. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20191021-00049.  
Xiao X, Zhou L, Xu Y, et al. Advances in the changes of macrophage metabolism and the regulation of immunometabolism during sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2020, 32 (2): 249–252. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20191021-00049.
- [45] Alves-Filho JC, Pålsson-McDermott EM. Pyruvate kinase M2: a potential target for regulating inflammation [J]. Front Immunol, 2016, 7: 145. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00145.
- [46] Mills CD. Anatomy of a discovery: M1 and M2 macrophages [J]. Front Immunol, 2015, 6: 212. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00212.
- [47] Sakai A, Kusumoto A, Kiso Y, et al. Itaconate reduces visceral fat by inhibiting fructose 2,6-bisphosphate synthesis in rat liver [J]. Nutrition, 2004, 20 (11–12): 997–1002. DOI: 10.1016/j.nut.2004.08.007.
- [48] Qin W, Qin K, Zhang YL, et al. S-glycosylation-based cysteine profiling reveals regulation of glycolysis by itaconate [J]. Nat Chem Biol, 2019, 15 (10): 983–991. DOI: 10.1038/s41589-019-0323-5.
- [49] Liao ST, Han C, Xu DQ, et al. 4-Octyl itaconate inhibits aerobic glycolysis by targeting GAPDH to exert anti-inflammatory effects [J]. Nat Commun, 2019, 10 (1): 5091. DOI: 10.1038/s41467-019-13078-5.
- [50] Ganta VC, Choi MH, Kutateladze A, et al. A microRNA93–interferon regulatory factor–9–immunoresponsive gene–1–itaconic acid pathway modulates M2-like macrophage polarization to revascularize ischemic muscle [J]. Circulation, 2017, 135 (24): 2403–2425. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025490.