

· 综述 ·

内质网与线粒体相互作用在糖尿病心肌病中的作用

钟祯 张霄旦 李万根

广州医科大学附属第二医院 510260

通信作者:李万根, Email:liwg660@126.com

【摘要】 糖尿病心肌病一种独立于高血压、冠心病等疾病的特异性心肌病变,是 2 型糖尿病患者致死的主要原因,但目前糖尿病心肌病的发病机制尚未完全阐明。内质网和线粒体是细胞内重要的细胞器,参与细胞各项生命活动,这两种细胞器间的相互作用与细胞内各种信号转导密切相关。最近一些研究表明,高糖可致细胞内内质网与线粒体连接松散,相互作用减弱,内质网与线粒体之间相互作用的变化可通过调节内质网应激、细胞缺氧应激、 Ca^{2+} 稳态等,参与糖尿病心肌病的发生、发展。

【关键词】 糖尿病心肌病;线粒体;内质网;线粒体结合内质网膜

基金项目:广东省自然科学基金(2017A030310257);广州市科技计划项目(201707010045);广州市医药卫生科技项目(20171A011299);广州医科大学博士、留学回国人员科研项目(2015C10)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.014

Roles of the interactions between endoplasmic reticulum and mitochondria in diabetic cardiomyopathy

Zhong Zhen, Zhang Xiaodan, Li Wangen. Department of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, China

Corresponding author: Li Wangen, Email:liwg660@126.com

【Abstract】 Diabetic cardiomyopathy is one of the main causes of death in patients with type 2 diabetes mellitus, which is independent of hypertension and coronary heart disease. However, the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy has not been fully elucidated yet. Endoplasmic reticulum and mitochondria are important intracellular organelles involved in cellular activities. The interactions between these two organelles are closely correlated with various cell signaling pathways. Recent studies have shown that high glucose can lose the interaction between endoplasmic reticulum and mitochondria. The change of the interactions between endoplasmic reticulum and mitochondria are involved in the development of diabetic cardiomyopathy by regulating endoplasmic reticulum stress, cellular hypoxia stress, and Ca^{2+} homeostasis.

【Key words】 Diabetic cardiomyopathy; Mitochondria; Endoplasmic reticulum; Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes

Fund program: Natural Science Foundation of Guangdong Province of China(2017A030310257); Science and Technology Program of Guangzhou of China(201707010045); The Project of Medical and Health Science and Technology of Guangzhou(20171A011299); Scientific Research Program for Doctor and Returned Students of Guangzhou Medical University(2015C10)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.014

糖尿病是一种全身性代谢性疾病,可引起显著的器官功能障碍,导致各类糖尿病急、慢性并发症的发生,最终可导致患者死亡。2013 年中国成人糖尿病患病率为 10.9%,糖尿病前期患病率为 35.7%^[1]。可见我国糖尿病的严峻形势不容乐观。糖尿病是慢性心功能不全的高危因素,在糖尿病相关性死亡事件中,心血管相关性的死亡比例高达 65%^[2]。糖尿病心肌病(DCM)是常见的糖尿病心血管并发症,是

糖尿病的一种独立并发症,1972 年被 Rubler 等^[3]首次发现并报道。目前对于 DCM 发病机制的研究涉及糖、脂代谢、能量代谢紊乱、氧化应激、内质网应激、线粒体结构功能异常、 Ca^{2+} 转运、自噬、炎症反应等各个方面。

内质网是细胞内最大的膜性细胞器,它可通过膜性接触与其他膜性细胞器相互作用。线粒体与内质网在细胞生命调节过程中关系密切,研究发现,线

粒体外膜与内质网膜通过线粒体结合内质网膜(MAM)紧密接触。在应激情况下,内质网和线粒体可通过MAM相互传递危险信号,加强细胞器之间信号传递,触发多样的协同应答^[4]。Marchi等^[4]研究发现,2型糖尿病患者胰岛 β 细胞中内质网与线粒体之间的相互作用减弱,提示内质网、线粒体之间相互作用的改变可能会影响糖尿病的发生、发展。而近期对DCM的进一步研究表明,内质网与线粒体间相互作用的改变也存在于DCM的病理生理过程中。这可能会成为未来DCM研究的新热点。本文拟对内质网-线粒体的相互作用及其在DCM中的作用及其机制作一综述。

1 内质网-线粒体相互作用的结构基础

20世纪90年代初,Vance^[5]通过生物化学技术在大鼠肝脏线粒体中分离得到内质网与线粒体相互耦联的膜片段,并将其命名为MAM。此后,电子显微镜和活细胞荧光显微镜的联合应用揭示了MAM的显微结构^[6]。电子显微镜下显示,在内质网与线粒体之间的耦联总长度中,滑面内质网为10 nm,粗面内质网为25 nm^[7]。内质网与线粒体的完全分离需通过蛋白水解作用,这是因为在内质网与线粒体的相互耦联中存在一个长度小于5 nm的合成连接子,该蛋白质参与的物理连接使两个细胞器之间的联系更加紧密^[7]。研究发现,MAM中存在大量蛋白信号分子的募集,大约有几十种蛋白分子以蛋白复合物的形式结合在MAM上,MAM通过这些蛋白复合物的相互作用对细胞的各项生命活动进行调节。

2 内质网-线粒体相互作用参与DCM发生的相关机制

2.1 内质网应激(ERS) 内质网是细胞内重要的细胞器之一,与蛋白质合成与运输密切相关。内质网中的蛋白折叠对蛋白质合成率、钙平衡、氧化应激等各种刺激因素敏感。这些刺激因素的变化可能影响蛋白质折叠,并导致错误折叠的蛋白质在内质网中堆积,这种蛋白质折叠的平衡失调被称为ERS^[8]。ERS贯穿了DCM的发生、发展过程。研究发现,当发生DCM时,ERS的相关通路被激活,正常情况下,定位于内质网的糖调节蛋白78(GRP78)与蛋白激酶R样内质网激酶(PERK)、肌醇需求激酶-1(IRE-1)、活化转录因子-6(ATF-6)紧密结合形成无活性复合体。而在ERS时,大量未折叠或者错误折叠的蛋白在内质网中堆积,与GRP78结合,启动未折叠蛋白反应(UPR),导致这3种跨膜蛋白从复

合物中解离并激活各自下游的信号通路。UPR的启动旨在清除错误折叠的蛋白,减少未折叠蛋白与错误折叠的蛋白在内质网的聚集,从而减轻过剩的蛋白质负荷。但在病理情况下,ERS可持续存在,持续激活的UPR将通过影响线粒体功能,介导凋亡相关基因表达的上调,最终可导致细胞凋亡。心肌细胞为不可再生细胞,ERS引起心肌细胞凋亡,将加速心肌病变的进程。

线粒体融合蛋白-2(Mfn-2)是内质网-线粒体相互作用的重要参与者之一。内质网表面的Mfn-2与线粒体外膜上的线粒体融合蛋白-1(Mfn-1)或Mfn-2形成异型或同型复合物,富集于MAMs上,作为内质网与线粒体连接的桥梁。近期研究表明,下调Mfn-2的表达将诱导ERS,活化UPR。Mfn-2基因沉默细胞在ERS下,UPR的3个分支(PERK、IRE-1和ATF-6)均过度活化。正常情况下,Mfn-2与PERK相结合,处于稳定非活化状态。在离体细胞中将Mfn-2基因沉默,PERK与Mfn-2解离并持续活化,诱导ERS。研究表明,Mfn-2作为PERK的上游调节剂对细胞ERS发挥调节作用^[9]。Gao等^[10]通过对糖尿病大鼠左心室组织蛋白及mRNA水平的检测发现,糖尿病大鼠左心室组织中的Mfn-2、超氧化物歧化酶表达量下降,丙二醛、caspase-3表达量较正常大鼠升高。根据以上的研究结果推测,高糖环境下心肌细胞Mfn-2表达水平的下调,可能导致PERK的解离及持续活化,启动UPR,诱发ERS的发生。而持续ERS的存在,将加速心肌细胞的损伤,最终可能促使DCM的发生与发展。在这个过程中,连接内质网与线粒体的桥梁蛋白可能有助于减轻细胞损伤,但具体的分子机制尚不明确。

2.2 缺氧 高糖环境下心肌细胞缺氧及由此所导致的活性氧簇升高被认为是DCM最主要的始动因素^[11]。心肌细胞中富含的线粒体是活性氧簇的重要来源,也是活性氧簇介导氧化应激信号通路的下游靶。在缺氧环境下,存在于细胞线粒体外膜上的线粒体自噬受体FUNDC1,可以与自噬相关蛋白LC3相互作用,介导缺氧诱导的线粒体自噬^[12]。最新的研究进一步揭示,缺氧条件下FUNDC1可与内质网膜蛋白钙黏蛋白结合,聚集于MAM上。但当缺氧刺激持续存在时,FUNDC1与Calnexin的相互作用松散解离,暴露的FUNDC1与动力相关蛋白1相互作用,将动力相关蛋白1招募至MAM上,诱导线粒体分裂,分裂的线粒体释放活性氧簇,将持续介导

缺氧应激^[13]。

Yang 等^[11]通过对链脲佐菌素诱导的 1 型糖尿病大鼠进行超声心动图评估,建立 DCM 模型。他们发现,糖尿病大鼠心肌细胞中的 ERS 及线粒体凋亡相关蛋白表达量升高,而外源性的硫化氢可以通过抑制 MAM 上 Mfn-2 的表达来减少活性氧簇介导的心肌细胞凋亡。Verfaillie 等^[14]研究表明,细胞内活性氧簇的增加可诱导 ERS,PERK 作为 ERS 传感器在 MAM 上大量表达。而敲除 PERK 基因后,细胞表现出不稳定的内质网形态,线粒体与内质网耦联松散,失去原有的紧密连接状态。活性氧簇诱导 ERS 时,PERK 增加活性氧簇在内质网与线粒体之间的转运,维持 CHOP 高水平激活,从而促进细胞凋亡。另一项研究也发现,DCM 大鼠心肌细胞凋亡与细胞内活性氧簇密切相关。提取 DCM 模型中心肌细胞的 MAMs 亚细胞片段,可检测到 PERK 蛋白在其中的富集,并发现其参与了活性氧簇介导的心肌细胞凋亡^[15-16]。提示内质网-线粒体相互作用中的相关蛋白参与调控高糖环境下活性氧簇介导的心肌细胞凋亡。

2.3 Ca^{2+} 调节紊乱 Ca^{2+} 是细胞内信号转导中重要的第二信使,也是心肌兴奋-收缩耦联中重要的调节因子,调控细胞多项重要的生命活动。内质网作为细胞中最大的 Ca^{2+} 储藏库,对维持细胞内钙稳态意义重大。心肌细胞 Ca^{2+} 平衡失调,将导致心肌收缩功能障碍和心肌电生理传导异常,加速心肌损伤。目前的研究已表明,DCM 的发生、发展与细胞内 Ca^{2+} 通道异常密切相关。高糖环境下,心肌细胞内 Ca^{2+} 含量升高,增多的 Ca^{2+} 转运到线粒体,使得线粒体内钙超载,活性氧簇生成增加,导致线粒体功能障碍,进而引起细胞凋亡^[16]。早期 Rizzuto 等^[17]通过荧光显微镜观察到内质网与线粒体耦联结构之间存在局域性的高 Ca^{2+} 区域。当内质网上的三磷酸肌醇受体被打开时,与分子伴侣 GRP75、线粒体电压依赖性阴离子通道蛋白(VDAC)结合形成复合物,介导内质网释放的 Ca^{2+} 向线粒体内流动,使线粒体内 Ca^{2+} 浓度升高^[18]。内质网与线粒体之间也可以通过 Ryanodine 受体和 VDAC 通路实现 Ca^{2+} 交换。研究表明,心肌细胞中 VDAC2 与 Ryanodine 受体的耦联在 Ca^{2+} 由内质网向线粒体的转运过程中是不可少的,而内质网与线粒体之间的 MAM 为维持内质网-线粒体间高钙浓度提供了一个稳固的平台,使得线粒体能更加高效的摄取 Ca^{2+} ^[19]。

2.4 其他 高糖环境中细胞内内质网与线粒体相互的耦联作用减弱,与体内胰岛素抵抗也关系密切,胰岛素抵抗能引起心肌能量代谢障碍。Theurey 等^[20]发现,葡萄糖通过戊糖磷酸蛋白磷酸酶 2A 途径降低了内质网与线粒体间的相互作用,引起线粒体分裂及呼吸链受损。胰岛素抵抗模型小鼠的肝细胞中 MAM 的完整性被破坏,提示 MAM 在肝能量转换进程中参与线粒体功能的调节,MAM 的慢性破坏是导致胰岛素抵抗相关的线粒体损伤的原因之一。

综上所述,内质网与线粒体之间的信号传递参与并影响了细胞的多种生命活动,现有的许多研究也提示两者之间的相互作用可能在 DCM 的发生、发展中起重要作用。MAM 上聚集着数十种蛋白分子,其中涉及的信号通路和分子机制十分复杂,仍有待进一步研究。此外,内质网与线粒体之间亦存在不依赖 MAM 的相互作用,其生物学特性和相关调控机制仍需进一步研究,以解读其在 DCM 中的作用,并为治疗 DCM 的靶向药物开发及相关临床研究奠定科研基础。未来相关机制的揭示将有望为 DCM 的预防及治疗带来新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013[J]. JAMA, 2017, 317(24): 2515-2523. DOI: 10.1001/jama.2017.7596.
- [2] Pappachan JM, Varughese GI, Sriraman R, et al. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology, diagnostic evaluation and management[J]. World J Diabetes, 2013, 4(5): 177-189. DOI: 10.4239/wjd.v4.i5.177.
- [3] Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu YZ, et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis[J]. Am J Cardiol, 1972, 30(6): 595-602.
- [4] Marchi S, Patergnani S, Pinton P. The endoplasmic reticulum-mitochondria connection: one touch, multiple functions[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1837(4): 461-469. DOI: 10.1016/j.bbabi.2013.10.015.
- [5] Vance JE. Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria[J]. J Biol Chem, 1990, 265(13): 7248-7256.
- [6] Phillips MJ, Voeltz GK. Structure and function of ER membrane contact sites with other organelles[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, 17(2): 69-82. DOI: 10.1038/nrm.2015.8.
- [7] Csordás G, Renken C, Várnai P, et al. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria[J]. J Cell Biol, 2006, 174(7): 915-921. DOI: 10.

- 1083/jcb.200604016.
- [8] Ozcan L, Tabas I. Calcium signalling and ER stress in insulin resistance and atherosclerosis [J]. J Intern Med, 2016, 280 (5): 457-464. DOI:10.1111/joim.12562.
- [9] Muñoz JP, Ivanova S, Sánchez-Wandelmer J, et al. Mfn2 modulates the UPR and mitochondrial function via repression of PERK [J]. EMBO J, 2013, 32 (17): 2348-2361. DOI:10.1038/emboj.2013.168.
- [10] Gao Q, Wang XM, Ye HW, et al. Changes in the expression of cardiac mitofusin-2 in different stages of diabetes in rats [J]. Mol Med Rep, 2012, 6 (4): 811-814. DOI:10.3892/mmr.2012.1002.
- [11] Yang F, Yu X, Li T, et al. Exogenous H2S regulates endoplasmic reticulum-mitochondria cross-talk to inhibit apoptotic pathways in STZ-induced type I diabetes [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2017, 312 (3): E190-E203. DOI:10.1152/ajpendo.00196.2016.
- [12] Chen M, Chen Z, Wang Y, et al. Mitophagy receptor FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics and mitophagy [J]. Autophagy, 2016, 12 (4): 689-702. DOI:10.1080/15548627.2016.1151580.
- [13] Wu W, Lin C, Wu K, et al. FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics at the ER-mitochondrial contact site under hypoxic conditions [J]. EMBO J, 2016, 35 (13): 1368-1384. DOI:10.15252/emboj.201593102.
- [14] Verfaillie T, Rubio N, Garg AD, et al. PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress [J]. Cell Death Differ, 2012, 19 (11): 1880-1891. DOI:10.1038/cdd.2012.74.
- [15] Liu ZW, Zhu HT, Chen KL, et al. Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) signaling pathway plays a major role in reactive oxygen species (ROS)-mediated endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in diabetic cardiomyopathy [J]. Cardiovasc Diabetol, 2013, 12: 158. DOI:10.1186/1475-2840-12-158.
- [16] Kumar S, Kain V, Sitasawad SL. High glucose-induced Ca^{2+} overload and oxidative stress contribute to apoptosis of cardiac cells through mitochondrial dependent and independent pathways [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820 (7): 907-920. DOI:10.1016/j.bbagen.2012.02.010.
- [17] Rizzuto R, Pinton P, Carrington W, et al. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses [J]. Science, 1998, 280 (5370): 1763-1766.
- [18] Thoudam T, Jeon JH, Ha CM, et al. Role of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane in inflammation-mediated metabolic diseases [J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 1851420. DOI:10.1155/2016/1851420.
- [19] Min CK, Yeom DR, Lee KE, et al. Coupling of ryanodine receptor 2 and voltage-dependent anion channel 2 is essential for Ca^{2+} transfer from the sarcoplasmic reticulum to the mitochondria in the heart [J]. Biochem J, 2012, 447 (3): 371-379. DOI:10.1042/BJ20120705.
- [20] Theurey P, Tubbs E, Vial G, et al. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes allow adaptation of mitochondrial metabolism to glucose availability in the liver [J]. J Mol Cell Biol, 2016, 8 (2): 129-143. DOI:10.1093/jmcb/mjw004.

(收稿日期:2018-05-19)

(本文编辑:刘欣)

《国际内分泌代谢杂志》第三届编委会名单

总 编 辑 方佩华

副总编辑 冯 凭 矫叔华 曾正陪 陈祖培

顾 问 陈家伦 史轶蘩 潘长玉

编 委(按姓氏笔画排列):

于德民 王 坚 邓华聪 宁 光 白悦心 吴从愿 李光伟 李江源 李秀钧 杨文英 杨立勇
 杨明功 邱明才 邹大进 单忠艳 周智广 孟迅吾 林丽香 罗 敏 施秉银 胡 玲 胡仁明
 项坤三 倪安民 徐焱成 贾伟平 高 妍 高 硕 高 鑫 傅祖植 程 桦 董砚虎 廖二元
 谭 建 樊继援

本刊编辑部