

· 综述 ·

线粒体相关内质网膜在 2 型糖尿病中的作用

柯孟婷 徐焱成

武汉大学中南医院内分泌科 430071

通信作者:徐焱成, Email: xjl100901@whu.edu.cn

【摘要】 线粒体相关内质网膜调控内质网与线粒体之间钙和脂质转运,且通过调控钙转运而影响内质网应激、线粒体功能,从而调控细胞自噬、细胞凋亡等。胰岛细胞内钙离子稳态对胰岛细胞功能的维持十分重要,所以糖尿病的发生、发展与线粒体相关内质网膜密切相关,其不仅在胰岛细胞活性及功能方面起重要作用,而且与肝脏、骨骼肌、脂肪组织的胰岛素抵抗密切相关,所以改善线粒体相关内质网膜的结构和功能可能是恢复和维持体内葡萄糖稳态的有效策略。

【关键词】 线粒体相关内质网膜;糖尿病;线粒体功能;内质网应激

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20200101-01001

The role of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in type 2 diabetes mellitus

Ke Mengting, Xu Yancheng. Department of Endocrinology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Corresponding author: Xu Yancheng, Email: xjl100901@whu.edu.cn

【Abstract】 The mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes (MAMs) regulates the calcium and lipid transport between the endoplasmic reticulum and mitochondria, and it can regulate autophagy and apoptosis for the reason that it can affect endoplasmic reticulum stress and mitochondrial function by regulating the calcium transport. The calcium homeostasis in islet cell is very important for its function, so diabetes is closely related with MAMs. MAMs plays an important role in the activity of islet cell, and it's also largely associated with insulin resistance in the liver, skeletal muscle and adipose tissue, so improving the function of MAMs may be an effective strategy to restore and maintain glucose homeostasis *in vivo*.

【Key words】 Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes; Diabetes mellitus; Mitochondrial function; Endoplasmic reticulum stress

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20200101-01001

随着人们生活水平不断提高,糖尿病发病率逐渐上升,糖尿病患者数量从 1980 年的 1.08 亿增加到 2014 年的 4.22 亿。成人糖尿病患病率从 4.7% 上升到 8.5%,表明全球糖尿病患病率从 1980 年到 2014 年几乎翻了 1 倍^[1]。近年来发现线粒体相关内质网与糖尿病发生、发展密切相关,下面将详细述之。

1 线粒体相关内质网膜(MAM)

1.1 MAM 的形成 线粒体和内质网作为真核细胞重要细胞器,在细胞生命活动中紧密联系,两者以并列方式排列,线粒体外膜和内质网距离在 10 ~ 100 nm^[2]。即使这两种细胞器离得很近,它们的膜也不会融合,因此两者可以保留自己独特的结构和功能^[3]。线粒体融合蛋白 1(Mfn1)和线粒体融合蛋白 2(Mfn2)是位于线粒体表面且调节线粒体融合的蛋

白,绝大多数 Mfn2 位于线粒体外膜,但内质网中同样表达一部分 Mfn2;内质网膜上 Mfn2 与线粒体外膜上 Mfn1/2 凭借蛋白自身构象可塑性相互缠绕、密切接触,从而连接内质网与线粒体形成 MAM, MAM 对于维持细胞生理功能具有重要意义^[4]。

1.2 MAM 的生理功能 MAM 可以调控内质网与线粒体之间信号分子的转运,目前研究较多的钙转运,1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP3R)是内质网释放钙离子通道之一,一般与三磷酸肌醇结合,允许钙离子由内质网进入细胞质;钙离子释放至细胞质后,经过线粒体外膜上电压依赖性阴离子通道(VDAC)进入线粒体膜间隙,再通过线粒体内膜上线粒体钙单向转运体(MCU),从线粒体膜间隙向线粒体基质单向移动。当内质网上 IP3R 通过分子伴侣葡萄糖调节蛋白 75 (GRP75)与线粒体外膜上 VDAC 相互连接

时,内质网钙离子可直接经 IP3R 释放,而不需要三磷酸肌醇与 IP3R 结合^[5]。IP3R-GRP75-VDAC 复合物是一种与线粒体内质网耦联密切相关的多蛋白结构,敲除 GRP75 基因可以破坏 MAM 耦联,从而减少线粒体 Ca^{2+} 摄取^[6]。

MAM 上某些蛋白如 Mfn2 缺失后,MAM 完整性的改变可致内质网应激^[7],且内质网应激早期阶段内质网线粒体耦联增加,内质网转移至线粒体钙通量增加,从而促进线粒体呼吸,但内质网应激持续激活,导致线粒体 Ca^{2+} 积累,可引起线粒体功能障碍致细胞凋亡^[8]。除了 Ca^{2+} ,MAM 也可以通过影响活性氧簇,从而影响线粒体功能;MAM 结构破坏可减少活性氧簇从内质网至线粒体的转移,保护细胞免受活性氧簇介导的线粒体凋亡^[9]。内质网上的囊泡相关膜蛋白相关蛋白 B (VAPB) 和线粒体外膜上酪氨酸磷酸酶相互作用蛋白-51 (PTPIP51) 相互作用,也参与线粒体与内质网耦联形成,MAM 上 VAPB-PTPIP51 蛋白复合物通过促进内质网线粒体 Ca^{2+} 交换,参与自噬的调控^[10]。因此,MAM 结构改变可通过影响内质网应激、线粒体功能,从而调控细胞自噬、细胞凋亡等。

2 MAM 与 2 型糖尿病 (T2DM)

近几十年来对 T2DM 患者胰岛素抵抗和胰岛细胞功能障碍进行了深入研究,但仍未完全阐明其分子机制;MAM 耦联处发现许多胰岛素信号蛋白,如蛋白激酶 B、蛋白质磷酸酶 2A (PP2A)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 2、磷酸酶紧张素同源蛋白和糖原合成酶激酶 (GSK)3 β ;MAM 作为一种葡萄糖传感器,可能有助于细胞适应体内营养状态变化^[11]。葡萄糖浓度升高可通过激活磷酸戊糖-PP2A 通路,破坏 MAM 的完整性和功能,从而导致线粒体分裂和呼吸功能受损^[12]。

2.1 MAM 与胰岛素抵抗 MAM 与肝脏、骨骼肌、脂肪组织的胰岛素抵抗密切相关:(1)在糖耐量异常小鼠肝脏中 MAM 数量减少,在遗传肥胖或高脂高糖饮食诱导的糖尿病小鼠模型中,肝细胞 MAM 完整性也会发生改变^[13-14]。肝细胞短时间暴露于棕榈酸环境下使内质网向线粒体的钙通量减少,随后 MAM 接触面积显著减少^[15]。也有研究发现,小鼠肝脏中通过破坏内质网线粒体间的相互作用致 IP3R 介导 Ca^{2+} 信号通路中断,导致肝脏损伤,出现肝脏胰岛素抵抗^[16]。特异性敲除肝细胞 Mfn2 基因可致内质网应激和胰岛素抵抗,且 Mfn2 过表达可改善棕榈酸诱导的胰岛素抵抗^[17]。以上均表明 MAM

作用减弱在肝脏胰岛素抵抗中可能发挥促进作用。(2)IP3R 介导 Ca^{2+} 释放是骨骼肌葡萄糖摄取所必需,提示 MAM 在骨骼肌葡萄糖稳态中的潜在作用^[18]。在糖尿病患者骨骼肌和棕榈酸所致骨骼肌细胞胰岛素抵抗模型中,均发现内质网线粒体耦联减弱,且两者耦联中断也可致骨骼肌细胞胰岛素抵抗发生^[19]。(3)CDGSH 铁硫结构域 2 (Cisd2) 是一类定位于 MAM 界面的蛋白,在白色脂肪组织中,Cisd2 突变导致线粒体缓冲能力丧失,白色脂肪组织分化,胰岛素刺激葡萄糖转运减少,有力地支持 MAM 功能失调会促进白色脂肪组织出现胰岛素抵抗^[20]。

以上研究证据表明,MAM 功能减弱可促进胰岛素抵抗的发生,然而在肥胖小鼠肝脏中可出现内质网线粒体相互作用增强,且通过使 IP3R1 过表达,可增强肝脏 MAM 的作用,从而诱导胰岛素抵抗,而降低这些蛋白在肥胖小鼠肝脏中的表达可改善胰岛素敏感性^[21]。丙酮酸脱氢酶激酶 4 (PDK4) 在 MAM 耦联处与 IP3R1-GRP75-VDAC1 复合物相互作用并使其稳定,肥胖患者体内 PDK4 活性增加,促进 MAM 形成并抑制胰岛素信号转导。相反,减弱 PDK4 活性可以抑制 MAM 形成,从而通过改善线粒体 Ca^{2+} 超载、线粒体功能障碍和内质网应激来改善骨骼肌细胞胰岛素信号转导^[22]。这些发现证实,内质网线粒体过度耦联是肥胖小鼠细胞器功能障碍的一个重要组成部分,这可能导致代谢紊乱,如胰岛素抵抗。内质网与线粒体接触减少或增加,可能取决于代谢压力刺激如高血糖适应性反应时间,这可能代表一种新的重要机制^[23]。

2.2 MAM 与胰岛 β 细胞功能紊乱 胰岛细胞内钙离子稳态对胰岛细胞功能的维持十分重要,胰岛细胞具有一种细胞特异性的内质网 Ca^{2+} 流出方式, Ca^{2+} 流出后直接转运至线粒体内,且这种钙转运方式受 GSK3 β 调节^[24]。线粒体功能异常及内质网应激与胰岛 β 细胞功能紊乱密切相关,参与糖尿病的发生与发展^[25]。2 型糖尿病患者 β 细胞中 IP3R2 表达增加,但 VDAC-1 表达下降致 IP3R2-VDAC-1 复合物数量明显降低;用棕榈酸处理小鼠胰岛细胞后内质网应激增强,同时内质网与线粒体的相互作用显著减少,表明内质网和线粒体相互作用减少,与 T2DM 的发生密切相关^[26]。高糖短时间 (22.5 mmol/L, 30 min) 培养大鼠胰岛细胞可以增强内质网和线粒体的相互作用以及两者之间 Ca^{2+} 的转运,从而刺激细胞胰岛素分泌;MAM 耦联破坏可以减少胰岛素分泌,因此内质网线粒体动态耦合参与了胰

岛细胞分泌胰岛素的过程,内质网-线粒体之间 Ca^{2+} 转移破坏可能是糖毒性导致 β 细胞功能障碍的一个新机制。长时间用同一浓度的高糖(22.5 mmol/L, 48 h)培养大鼠胰岛细胞或人胰岛细胞,虽然增加了两种细胞器的耦联位点,但减少内质网-线粒体 Ca^{2+} 转运以及其胰岛素分泌。进一步研究发现,这种糖毒性引起 Ca^{2+} 信号改变与内质网应激、线粒体呼吸改变和线粒体分裂有关,这些细胞器应激反应可能刺激线粒体和内质网结构连接点增加,从而作为一种应对糖毒性的保护机制,但在功能方面相互作用并没有增加,如内质网-线粒体之间 Ca^{2+} 转运以及其刺激的胰岛素分泌减少,另一方面用合成的连接剂直接增加内质网-线粒体连接,该连接剂可明显增加细胞器的接触表面,从而影响所有接触点距离,但并没有使两者之间 Ca^{2+} 转移增加,反而诱导线粒体分裂和减少胰岛素分泌,这些证据表明内质网与线粒体之间的距离增加,但两者之间的信号分子转运不一定增加,其中机制并不清楚,可能是高糖诱导内质网应激,使内质网 Ca^{2+} 耗损致内质网 Ca^{2+} 释放能力减弱,导致从内质网直接转移至线粒体的 Ca^{2+} 减少^[27]。总之,MAM 在胰岛细胞功能方面起重要作用,且内质网与线粒体之间 Ca^{2+} 直接转运是胰岛细胞中调控胰岛素分泌的一个新位点。

综上所述,MAM 为内质网和线粒体之间的相互作用提供了一个很好的平台,在细胞内稳态的各种信号通路中发挥重要作用。越来越多的证据表明,内质网与线粒体耦联部位结构或者功能改变会导致糖尿病发生,所以改善 MAM 的结构和功能,可能是恢复和维持人类和动物体内葡萄糖稳态的有效策略^[28]。因此,进一步探究 MAM 的结构和功能改变的分子机制十分重要, Ca^{2+} 稳态失调可能是其中的一个靶点,但仍需更多研究来探索其具体机制。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global report on diabetes[J]. World Health Organization, 2016.
- [2] Filadi R, Theurey P, Pizzo P. The endoplasmic reticulum-mitochondria coupling in health and disease: molecules, functions and significance[J]. Cell Calcium, 2017, 62: 1-15. DOI: 10.1016/j.ceca.2017.01.003.
- [3] 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.
- [4] Basso V, Marchesan E, Peggion C, et al. Regulation of ER-mitochondria contacts by Parkin via Mfn2[J]. Pharmacol Res, 2018, 138: 43-56. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.09.006.
- [5] Janikiewicz J, Szymański J, Malinska D, et al. Mitochondria-associated membranes in aging and senescence: structure, function, and dynamics[J]. Cell Death Dis, 2018, 9 (3): 1-12. DOI: 10.1038/s41419-017-0105-5.
- [6] Kerkhofs M, Bultynck G, Vervliet T, et al. Therapeutic implications of novel peptides targeting ER-mitochondria Ca^{2+} -flux systems[J]. Drug Discov Today, 2019, 24 (5): 1092-1103. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.03.020.
- [7] Rieusset J, Fauconnier J, Paillard M, et al. Disruption of calcium transfer from ER to mitochondria links alterations of mitochondria-associated ER membrane integrity to hepatic insulin resistance[J]. Diabetologia, 2016, 59 (3): 614-623. DOI: 10.1007/s00125-015-3829-8.
- [8] Bravo R, Vicencio JM, Parra V, et al. Increased ER-mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress[J]. J Cell Sci, 2011, 124 (Pt 13): 2143-2152. DOI: 10.1242/jcs.080762.
- [9] 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.
- [10] Gomez-Suaga P. The ER-mitochondria tethering complex VAPB-PTPIP51 regulates autophagy[J]. Curr Biol, 2017, 27 (3): 371-385. DOI: 10.1016/j.cub.2016.12.038.
- [11] Theurey P, Rieusset J. Mitochondria-associated membranes response to nutrient availability and role in metabolic diseases[J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28 (1): 32-45. DOI: 10.1016/j.tem.2016.09.002.
- [12] Theurey P. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane allows 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.
- [13] Tubbs E, Axelsson AS, Vial G, et al. Sulforaphane improves disrupted ER-mitochondria interactions and suppresses exaggerated hepatic glucose production[J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 461: 205-214. DOI: 10.1016/j.mce.2017.09.016.
- [14] Tubbs E, Theurey P, Vial G, et al. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (MAM) integrity is required for insulin signaling and is implicated in hepatic insulin resistance[J]. Diabetes, 2014, 63 (10): 3279-3294. DOI: 10.2337/db13-1751.
- [15] Shinjo S, Jiang S, Nameta M, et al. Disruption of the mitochondria-associated ER membrane (MAM) plays a central role in palmitic acid-induced insulin resistance[J]. Exp Cell Res, 2017, 359 (1): 86-93. DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.08.006.
- [16] Rieusset J, Fauconnier J, Paillard M, et al. Disruption of calcium transfer from ER to mitochondria links alterations of mitochondria-associated ER membrane integrity to hepatic insulin resistance[J]. Diabetologia, 2016, 59 (3): 614-623. DOI: 10.1007/s00125-015-3829-8.

- ABCG2 and SLC22A12 genes associated with gout risk in Vietnamese population [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55 (1): 8. DOI:10.3390/medicina55010008.
- [20] Cheng ST, Wu S, Su CW, et al. Association of ABCG2 rs2231142-A allele and serum uric acid levels in male and obese individuals in a Han Taiwanese population[J]. *J Formos Med Assoc*, 2017, 116(1):18-23. DOI:10.1016/j.jfma.2015.12.002.
- [21] Zhou D, Liu Y, Zhang X, et al. Functional polymorphisms of the ABCG2 gene are associated with gout disease in the Chinese Han male population [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15 (5): 9149-9159. DOI:10.3390/ijms15059149.
- [22] Tu HP, Ko AM, Chiang SL, et al. Joint effects of alcohol consumption and ABCG2 Q141K on chronic tophaceous gout risk [J]. *J Rheumatol*, 2014, 41 (4): 749-758. DOI: 10.3899/jrheum.130870.
- [23] Li Z, Zhou Z, Hou X, et al. Replication of gout/urate concentrations GWAS susceptibility loci associated with gout in a Han Chinese population[J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 4094. DOI: 10.1038/s41598-017-04127-4.
- [24] Toyoda Y, Mančiková A, Krylov V, et al. Functional characterization of clinically-relevant rare variants in ABCG2 identified in a gout and hyperuricemia cohort [J]. *Cells*, 2019, 8 (4): 363. DOI:10.3390/cells8040363.
- [25] Toyoda Y, Pavelcová K, Klein M, et al. Familial early-onset hyperuricemia and gout associated with a newly identified dysfunctional variant in urate transporter ABCG2[J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21 (1): 219. DOI:10.1186/s13075-019-2007-7.
- [26] Roberts RL, Wallace MC, Phipps-Green AJ, et al. ABCG2 loss-of function polymorphism predicts poor response to allopurinol in patients with gout [J]. *Pharmacogenomics J*, 2017, 17 (2): 201-203. DOI:10.1038/tpj.2015.101.
- [27] Stamp LK, Chapman PT, Barclay M, et al. Relationships between allopurinol dose, oxypurinol concentration and urate lowering response in search of a minimum effective oxypurinol concentration[J]. *Clin Transl Sci*, 2020, 13 (1): 110-115. DOI: 10.1111/cts.12686.
- [28] Stamp LK, Wallace M, Roberts RL, et al. ABCG2 rs2231142 (Q141K) and oxypurinol concentrations in people with gout receiving allopurinol [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2018, 33 (6): 241-242. DOI:10.1016/j.dmpk.2018.09.002.
- [29] Wallace MC, Roberts RL, Nanavati P, et al. Association between ABCG2 rs2231142 and poor response to allopurinol: replication and meta-analysis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2018, 57 (4): 656-660. DOI:10.1093/rheumatology/kex467.
- [30] Nakamura M, Fujita K, Toyoda Y, et al. Investigation of the transport of xanthine dehydrogenase inhibitors by the urate transporter ABCG2[J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2018, 33 (1): 77-81. DOI:10.1016/j.dmpk.2017.11.002.
- [31] Stamp LK, Topless R, Miner JN, et al. No association between ATP-binding cassette transporter G2 rs2231142 (Q141K) and urate-lowering response to febuxostat [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2019, 58 (3): 547-548. DOI: 10.1093/rheumatology/key423.

(收稿日期:2020-02-16)

(本文编辑:饶颖)

(上接第 346 页)

- [17] Gan KX, Wang C, Chen JH, et al. Mitofusin-2 ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance in liver of rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19 (10): 1572-1581. DOI: 10.3748/wjg.v19.i10.1572.
- [18] Contreras-Ferrat A, Lavandero S, Jaimovich E, et al. Calcium signaling in insulin action on striated muscle[J]. *Cell Calcium*, 2014, 56(5): 390-396. DOI:10.1016/j.ceca.2014.08.012.
- [19] Tubbs E, Chanon S, Robert M. Disruption of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (MAM) integrity contributes to muscle insulin resistance in mice and humans[J]. *Diabetes*, 2018, 67(4): 636-650. DOI:10.2337/db17-0316.
- [20] Wang CH, Chen YF, Wu CY, et al. Cisd2 modulates the differentiation and functioning of adipocytes by regulating intracellular Ca^{2+} homeostasis[J]. *Mol Genet*, 2014, 23 (18): 4770-4785. DOI:10.1093/hmg/ddu193.
- [21] Arruda AP, Pers BM, Parlakg  l G, et al. Chronic enrichment of hepatic endoplasmic reticulum-mitochondria contact leads to mitochondrial dysfunction in obesity[J]. *Nat Med*, 2014, 20 (12): 1427-1435. DOI:10.1038/nm.3735.
- [22] Thoudam T, Ha CM, Leem J, et al. PDK4 augments ER-mitochondria contact to dampen skeletal muscle insulin signaling during obesity[J]. *Diabetes*, 2019, 68(3): 571-586. DOI:10.2337/db18-0363.
- [23] Rieusset J. Role of endoplasmic reticulum-mitochondria communication in type 2 diabetes[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 997: 171-186. DOI: 10.1007/978-981-10-4567-7_13.
- [24] Klec C, Madreiter-Sokolowski CT, Stryeck S, et al. Glycogen synthase kinase 3 beta controls presenilin-1-mediated endoplasmic reticulum Ca^{2+} leak directed to mitochondria in pancreatic islets and beta-cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 52 (1): 57-75. DOI: 10.33594/000000005.
- [25] Rutter GA, Pinton P. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in insulin signaling [J]. *Diabetes*, 2014, 63 (10): 3163-3165. DOI:10.2337/db14-0812.
- [26] hivolet C, Vial G, Cassel R, et al. Reduction of endoplasmic reticulum-mitochondria interactions in beta cells from patients with type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2017, 12 (7): e182027. DOI:10.1371/journal.pone.0182027.
- [27] Dingreville F, Panthu B, Thivolet C, et al. Differential effect of glucose on ER-mitochondria Ca^{2+} exchange participates to insulin secretion and to glucotoxicity-mediated dysfunction of β cells[J]. *Diabetes*, 2019, 68(9): 1778-1794. DOI: 10.2337/db18-1112.
- [28] Rieusset J. The role of endoplasmic reticulum-mitochondria contact sites in the control of glucose homeostasis: an update[J]. *Cell Death Disease*, 2018, 9 (3): 1-12. DOI: 10.1038/s41419-018-0416-1.

(收稿日期:2020-01-01)

(本文编辑:刘欣)