线粒体与糖尿病肾病足细胞损伤的研究进展

高崇婷　桂定坤　苏　君　叶　丹

摘　要　糖尿病肾病(DN)是糖尿病的常见微血管并发症,是终末期肾脏疾病(ESRD)的主要病因之一,随着肾功能的逐渐降低,最终出现难以逆转的肾脏结构损伤和功能障碍,从而进展至 ESRD。而缺乏早期、有效的干预措施是目前 DN 防治面临的瓶颈问题。大量研究表明,线粒体在 DN 的进展中发挥重要的作用。DN 是典型的足细胞损伤性疾病,足细胞中存在大量线粒体,因此,进一步探讨线粒体结构及功能障碍在 DN 足细胞损伤中的具体作用机制,将为防治 DN 提供新的思路和方法。本文将从内质网应激、氧化应激及炎性反应 3 种主要途径对线粒体结构和功能障碍在 DN 足细胞损伤中的作用机制进行综述。

关键词　糖尿病肾病　足细胞　线粒体　机制

中图分类号　R587.2　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2020.05.004

糖尿病(diabetes mellitus,DM)已成为我国慢性肾脏病的主要病因之一,其流行率高于肾小球肾炎导致的慢性肾脏病[1]。糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN)是糖尿病的常见微血管并发症,是终末期肾疾病(end-stage renal disease,ESRD)的主要病因之一。肾脏结构和功能随着糖尿病的进展逐渐损伤,最终出现难以逆转的肾脏结构损伤和功能障碍,从而进展至 ESRD。然而,目前临床广泛应用的降糖、调脂、控制血压及阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统等治疗措施并不能完全阻止疾病进展。缺乏早期、有效的干预措施是目前 DN 防治面临的瓶颈问题。因此,深入 DN 进展的机制,从而寻找早期有效防治 DN 的新方法是目前迫切需要解决的关键科学问题之一。本文将对线粒体的结构和功能以及线粒体结构和功能损伤在 DN 进展中的作用机制进行综述。

一、足细胞损伤与 DN 进展

研究认为,糖尿病肾病是典型的足细胞损伤性疾病,早期 DN 患者肾脏中足细胞数量有所减少,晚期患者足细胞数量则减少得更明显[2]。近年来研究表明,足细胞损伤是启动 DN 蛋白尿和肾小球硬化的关键因素[3]。足细胞是一种高度分化的终末期细胞,是构成肾小球滤过膜的最后一道屏障,因此当足细胞损伤时,肾小球滤过屏障受损,产生蛋白尿。蛋白尿与 DN 肾小球损伤的严重程度呈正相关。DN 进展与足细胞的多种病理损伤途径密切相关,足细胞凋亡是早期 DN 进展的重要机制之一,可由高糖能直接诱导[4]。此外,高糖还能降低足细胞与肾小球基膜之间的黏附力,足细胞脱落,使得肾小球基膜裸露,继而加重 DN 进展[5]。足细胞上皮-间充质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)是导致 DN 进展的另一重要机制,通过破坏肾小球滤过屏障,在 DN 的进展机制中发挥重要作用[6]。足细胞的这些病理损伤环节是导致 DN 进展的关键[7]。

二、线粒体的结构及生理功能

一切细胞维持正常的功能都与线粒体息息相关。线粒体是细胞进行有氧呼吸的主要场所,参与细胞的生长、分化、凋亡和细胞间的信息传递等过程。线粒体是高度动态变化的细胞器,处于不断融合和分裂状态。两者保持的动态平衡对维持线粒体正常的形态、数量、分布和功能十分重要也与细胞的代谢、增殖、凋亡等各种功能密切相关。线粒体融合实现了线粒体间的协作、信号交流及能量传递,使线粒体 DNA 和线粒体基质蛋白通过网络状结构进行交换。通过适度的分裂,可产生形态、功能各异的细胞器并清除受损线粒体,从而发挥线粒体质量控制作用[8]。分裂异常导致线粒体破碎,导致细胞凋亡;而融合异常则会导致线粒体形态延长,产生过多的 ROS,ATP 合成减少,导致细胞损伤及凋亡。线粒体的融合与分裂需在多种蛋白质的精确调控下协同完成。线粒体间的融合依赖于一系列跨膜 GTP 酶,其中包括线粒体融合蛋白 1(mitofusin1,Mfn1)、线粒体融合蛋白 2(Mfn2)

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81774052,81573738)

作者单位:200233　上海交通大学附属第六人民医院肾内科(高崇婷、桂定坤、苏君);201306　上海健康医学院附属第六人民医院东院肾脏风湿科(桂定坤);201306　上海海洋大学(叶丹)

通讯作者:桂定坤,主任医师,电子信箱:dingkungui@alu.fudan.edu.cn

和线粒体内膜的视神经萎缩因子 1(optic atrophy 1, OPA1)。其中 Mfn1 与 Mfn2 参与线粒体外膜的融合, OPA1 则参与线粒体内膜的融合。线粒体分裂是线粒体的一种增殖过程,动力相关蛋白 1(Drp1)和线粒体分裂蛋白 1(Fis1)在调控线粒体分裂中起主要作用。Drp1 存在于线粒体胞质中,分裂开始后,被线粒体外膜上的 Fis1 所招募,转位到线粒体外膜,围绕线粒体分裂位点聚集形成特定结构,在 GTP 水解作用下实现线粒体的分裂,而后 Drp1 返回胞质,维持线粒体融合和分裂的动态平衡。融合与分裂这种动态平衡被称为线粒体动力学。线粒体动力学稳定关系着钙信号的调控、细胞膜电位的调节,也控制着细胞程序性死亡、细胞代谢与增殖,也参与细胞信号转导,对细胞的存亡至关重要。线粒体动力学紊乱是多种代谢性疾病的发病机制,DN 作为一种代谢性疾病,线粒体正常功能的维持在 DN 的慢性进展中发挥重要的作用[9]。

三、线粒体与 DN 足细胞损伤的研究进展

肾小球足细胞是 DN 进展的关键,足细胞多级足突结构和功能的特殊性使其成为高耗能细胞。因此,在足细胞足突和胞体中均存在大量线粒体,通过线粒体的氧化磷酸化来获得生命所需的大部分能量以满足能量和氧气消耗。线粒体功能障碍在 DN 足细胞损伤中发挥重要作用[10]。线粒体功能障碍导致能量产生减少,会特异性破坏肌动蛋白和中间丝结构,导致足细胞结构损伤。肌动蛋白为主的足细胞骨架结构是足细胞发挥正常功能的基础。线粒体可通过以下 3 种主要途径导致足细胞损伤,从而加重 DN 的进展。

1. 氧化应激途径:线粒体是细胞有氧呼吸的主要场所,通过氧化磷酸化将 ADP 和无机磷酸合细胞代谢和维持功能所需的 ATP,伴随着 NADH 或 FADH2 递氢递电子的呼吸作用,活性氧(reactive oxygen species, ROS)不断产生。氧化反应是维持细胞生命所必需的过程,过度的氧化反应导致 ROS 在体内蓄积,从而产生氧化应激,引起的细胞、组织器官的损伤。线粒体 ROS 产物增加是糖尿病各种致病通路的一个关键始动因子。长期高血糖刺激导致肾组织糖基化反应增强,抗氧化应激功能减弱,高糖刺激下的高氧化应激水平引起体内 ROS 过度蓄积和氧自由基产生。ROS 可启动足细胞凋亡,诱导足细胞从肾小球基膜上脱落,随着足细胞数目的减少,肾脏进一步损伤。同时,氧自由基可激活引起 DN 的 4 条经典途径,包括多元醇通路、蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)途径、己糖胺旁路及晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)途径。同时上述通路的产物通过氧化应激不断形成和积累,在糖尿病中,这种下游通路之间的正反馈形成恶性循环[11]。过多的氧自由基导致肾小球滤过膜上的负电荷丢失,损伤肾小球的滤过屏障,也了加速 DN 的发生和发展。这些途径的激活和相互作用,使肾小球滤过增加、基膜增厚,足细胞损伤从而加速 DN 的进展。因此,足细胞线粒体内 ROS 过度蓄积从而导致氧化应激,是 DN 进展的重要机制之一[12]。

2. 内质网应激途径:内质网(endoplasmic reticulum, ER)是细胞内重要的细胞器,含有大量的伴侣蛋白、糖基化酶以及氧化还原酶,负责蛋白质的合成、折叠、装配、转运等。内质网与线粒体之间存在内质网-线粒体联接区域(mitochondrial associated membranes, MAMs),MAMs 结构中的功能蛋白可通过调节基础代谢物或 Ca^{2+} 的双向供应,来调控线粒体的功能及细胞存亡[13,14]。已有研究表明线粒体氧化应激可导致内质网 Ca^{2+} 内流障碍失常及足细胞凋亡[15]。许多因素如线粒体功能紊乱导致的细胞缺氧、氧化应激等均可导致内质网内稳态失衡,形成内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)[16]。ERS 在 DN 足细胞凋亡中发挥重要作用,抑制 ERS 可改善足细胞损伤[17]。由于 MAMs 的存在,使线粒体对 ERs 非常敏感,ERs 可通过改变 Ca^{2+} 等的转移,实现与线粒体之间的信息传递,从而影响线粒体的功能[18]。适度的 ERs 状态下,线粒体与内质网之间的相互作用为细胞能量代谢调节提供保障;过度的 ERs 将导致线粒体受损,从而使细胞凋亡[19]。过度的 ERs 与线粒体功能障碍交互作用,可形成恶性循环,从而诱导氧化应激和细胞凋亡。Bcl-2 凋亡家族蛋白中的很多成员,如 Bcl-2、Bax 和 Bak 等均可在线粒体和内质网上同时存在。线粒体与内质网之间的 Ca^{2+} 交换异常可导致线粒体内膜两侧膜电位变化,进而诱发线粒体内促凋亡因子释放,如细胞色素 C,细胞色素 C 从线粒体释放至胞质,激活 caspases,进而导致细胞凋亡[20]。由于足细胞是高度耗氧的细胞,其维持多级足突结构的正常功能,需消耗大量的能量和氧气,因此对氧化应激敏感,更容易产生线粒体功能障碍,同时由于内质网-线粒体联接区域的存在,两者之间的交互作用共同促进了 DN 足细胞损伤[21]。

3. 炎性反应途径:炎症(inflammation)是机体对

抗病原微生物入侵的一种适应性反应,可以促进损伤细胞和组织的修复,并阻止其进一步损伤。近年来研究表明炎性反应是 DN 进展的重要病理机制[22]。

在炎性反应过程中,产生多种炎性介质,如肿瘤坏死因子 - α(TNF - α)、白细胞介素 1(IL - 1)和白细胞介素 6(IL - 6)等。炎症的发生、发展与线粒体功能密切相关,线粒体不仅可以作用于炎性介质,也可以调控固有免疫细胞中的炎性反应。同时,多种炎性介质还可以通过调节 Drp1、Fis1、Mfn1/2 与 OPA1,影响线粒体的融合与分裂过程,从而改变线粒体的结构和功能[23]。氧化应激时,线粒体内增多的 ROS 诱导 Drp1 活化使线粒体分裂、片段化[24];NO 可通过调节 Mfn2、Drp1 影响线粒体融合和分裂的动态平衡;在不同细胞和组织中,白细胞介素(interleukin,IL)对线粒体的动力学起着不同的调节作用[25]。在胰岛 β 细胞中促炎性反应细胞因子 TNF - α 可激活 TNF - α/NF - κB/OPA1 信号通路,活化 NF - κB 使线粒体融合蛋白 OPA1 表达增加,从而加速线粒体的融合。此外,ERs 还可通过增加炎性基因 MCP - 1 表达引起 DN 足细胞损伤。总之,炎性细胞因子不仅可以影响线粒体的融合与分裂,改变线粒体的功能和结构,还可以改变 DN 足细胞的生理状态,与 DN 的发展密切相关。

四、展　望

综上所述,线粒体是真核细胞内的重要细胞器,不仅是细胞能量的主要来源,还参与细胞的生长、分化、凋亡和细胞间的信息传递等过程。足细胞具有丰富的线粒体,线粒体在糖尿病肾病的进展中发挥着重要的作用。线粒体融合与分裂的动态平衡是影响线粒体功能的关键因素。而且,线粒体和内质网存在结构和功能上的紧密联系,两者之间的交互作用形成恶性循环,导致氧化应激、炎性反应及细胞凋亡,在 DN 足细胞损伤中起关键作用。因此,进一步探讨线粒体结构及功能障碍在 DN 足细胞损伤中的具体作用机制,将为防治 DN 提供新的思路和方法。

参考文献

1 Zhang L, Long J, Jiang W, *et al*. Trends in chronic kidney disease in China[J]. New Engl J Med, 2016, 375(9):905 - 906

2 Liapis H, Romagnani P, Anders HJ. New insights into the pathology of podocyte loss: mitotic catastrophe[J]. Am J Pathol, 2013, 183(5):1364 - 1374

3 Hong Q, Zhang L, Das B, *et al*. Increased podocyte Sirtuin - 1 function attenuates diabetic kidney injury[J]. Kidney Int, 2018, 93(6):1330 - 1343

4 Shi JX, Wang QJ, Li H, *et al*. SIRT4 overexpression protects against diabetic nephropathy by inhibiting podocyte apoptosis[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(1): 342 - 348

5 Chen J, Chen Y, Luo Y, *et al*. Astragaloside IV ameliorates diabetic nephropathy involving protection of podocytes in streptozotocin induced diabetic rats[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 736:86 - 94

6 Xu H, Wang X, Liu M, *et al*. Tangzhiqing granules alleviate podocyte epithelial - mesenchymal transition in kidney of diabetic rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017:1479136

7 Rui X, Dingkun G, Liyang Z, *et al*. Mechanistic insight and management of diabetic nephropathy: recent progress and future perspective[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017:1 - 7

8 Sharp WW, Archer SL. Mitochondrial dynamics in cardiovascular disease: fission and fusion foretell form and function[J]. J Mol Med, 2015, 93(3):225

9 Wang RM, Wang ZB, Wang Y, *et al*. Swiprosin - 1 promotes mitochondria - dependent apoptosis of glomerular podocytes via p38 MAPK pathway in early - stage diabetic nephropathy[J]. Cell Physiol Biochem, 2018:899 - 916

10 Wang W, Wang Y, Long J, *et al*. Mitochondrial fission triggered by hyperglycemia is mediated by ROCK1 activation in podocytes and endothelial cells[J]. Cell Metab, 2012, 15(2):186 - 200

11 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. Diabetes, 2005, 54(6):1615 - 1625

12 Schultz JJ, Harris AK, Rychly DJ, *et al*. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice[J]. Cardiovas Diabetol, 2005, 4(1):5

13 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

14 Patergnani S, Suski JM, Agnoletto C, *et al*. Calcium signaling around Mitochondria Associated Membranes (MAMs)[J]. Cell Commun Signal, 2011, 9(1):19

15 Xu S, Nam SM, Kim JH. Palmitate induces ER calcium depletion and apoptosis in mouse podocytes subsequent to mitochondrial oxidative stress[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(11): e1976

16 Chakrabarti A, Chen AW, Varner JD. A review of the mammalian unfolded protein response[J]. Biotechnol Bioengineer, 2011, 108(12):2777 - 2793

17 Cao Y, Hao Y, Li H, *et al*. Role of endoplasmic reticulum stress in apoptosis of differentiated mouse podocytes induced by high glucose[J]. Int J Mol Med, 2014, 33(4):809 - 816

18 Vance, Jean E. MAM (mitochondria - associated membranes) in mammalian cells: lipids and beyond[J]. Biochim Biophys Acta (BBA) - Mole Cell Biol Lipids, 2014, 1841(4):595 - 609

19 Bravo R, Gutierrez T, Paredes F. Endoplasmic reticulum: ER stress regulates mitochondrial bioenergetics[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44(1):16 - 20

20 Scorrano L, Oakes SA, Opferman JT. BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum Ca^{2+}: a control point for apoptosis[J]. Science, 2003, 300(5616):135 - 139

(转第 4 页)

7 Han Y, Li X, Zhang Y, *et al*. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine[J]. Cells, 2019, 8(8): 886

8 Greenblatt MB, Ono N, Ayturk UM, *et al*. The unmixing problem: a guide to applying single - cell RNA sequencing to bone[J]. J Bone Miner Res, 2019, 34(7): 1207 - 1219

9 Phinney DG, Kopen G, Isaacson RL, *et al*. Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice: variations in yield, growth, and differentiation[J]. J Cell Biochem, 1999, 72(4): 570 - 585

10 Phinney DG, Kopen G, Righter W, *et al*. Donor variation in the growth properties and osteogenic potential of human marrow stromal cells[J]. J Cell Biochem, 1999, 75(3): 424 - 436

11 Wang W, Han ZC. Heterogeneity of human mesenchymal stromal/stem cells[M]//Birbrair A. Stem Cells Heterogeneity - Novel Concepts. Cham; Springer International Publishing, 2019: 165 - 177

12 Tang F, Barbacioru C, Wang Y, *et al*. mRNA - Seq whole - transcriptome analysis of a single cell[J]. Nat Methods, 2009, 6(5): 377 - 382

13 Hedlund E, Deng Q. Single - cell RNA sequencing: technical advancements and biological applications[J]. Mol Aspects Med, 2018, 59: 36 - 46

14 Freeman BT, Jung JP, Ogle BM. Single - cell RNA - seq of bone marrow - derived mesenchymal stem cells reveals unique profiles of lineage priming[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0136199

15 Liu X, Xiang Q, Xu F, *et al*. Single - cell RNA - seq of cultured human adipose - derived mesenchymal stem cells[J]. Sci Data, 2019, 6: 190031

16 Merrick D, Sakers A, Irgebay Z, *et al*. Identification of a mesenchymal progenitor cell hierarchy in adipose tissue[J]. Science, 2019, 364(6438): eaav2501

17 Wolock SL, Krishnan I, Tenen DE, *et al*. Mapping distinct bone marrow niche populations and their differentiation paths[J]. Cell Rep, 2019, 28(2): 302 - 311

18 Barrett AN, Fong CY, Subramanian A, *et al*. Human wharton's jelly mesenchymal stem cells show unique gene expression compared with bone marrow mesenchymal stem cells using single - cell RNA - sequencing[J]. Stem Cells Dev, 2019, 28(3): 196 - 211

19 Zhou W, Lin J, Zhao K, *et al*. Single - cell profiles and clinically useful properties of human mesenchymal stem cells of adipose and bone marrow origin [J]. Am J Sports Med, 2019, 47(7): 1722 - 1733

20 Zhao X, Han Y, Liang Y, *et al*. RNA - seq reveals the angiogenesis diversity between the fetal and adults bone mesenchyme stem cell [J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0149171

21 Sisakhtnezhad S, Heshmati P. Comparative analysis of single - cell RNA sequencing data from mouse spermatogonial and mesenchymal stem cells to identify differentially expressed genes and transcriptional regulators of germline cells[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(7): 5231 - 5242

22 Xiao E, He L, Wu Q, *et al*. Microbiota regulates bone marrow mesenchymal stem cell lineage differentiation and immunomodulation[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 213

23 Liu Y, Fan X, Wang R, *et al*. Single - cell RNA - seq reveals the diversity of trophoblast subtypes and patterns of differentiation in the human placenta[J]. Cell Res, 2018, 28(8): 819 - 832

24 Shafiee A, Patel J, Hutmacher DW, *et al*. Meso - endothelial bipotent progenitors from human placenta display distinct molecular and cellular identity[J]. Stem Cell Reports, 2018, 10(3): 890 - 904

25 Kameishi S, Umemoto T, Matsuzaki Y, *et al*. Characterization of rabbit limbal epithelial side population cells using RNA sequencing and single - cell qRT - PCR [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(3): 704 - 709

26 Gu W, Nowak WN, Xie Y, *et al*. Single - cell RNA - sequencing and metabolomics analyses reveal the contribution of perivascular adipose tissue stem cells to vascular remodeling [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(10): 2049 - 2066

27 Takahashi A, Nagata M, Gupta A, *et al*. Autocrine regulation of mesenchymal progenitor cell fates orchestrates tooth eruption[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(2): 575 - 580

28 Kayaba A, Itoh - Nakadai A, Niibe K, *et al*. Bone marrow PDGFRalpha + Sca - 1 $^{+}$ - enriched mesenchymal stem cells support survival of and antibody production by plasma cells in vitro through IL - 6[J]. Int Immunol, 2018, 30(6): 241 - 253

29 Li H, Zhu L, Chen H, *et al*. Generation of functional hepatocytes from human adipose - derived MYC $^{+}$ KLF4 $^{+}$ GMNN $^{+}$ stem cells analyzed by single - cell RNA - seq profiling[J]. Stem Cells Transl Med, 2018, 7(11): 792 - 805

(收稿日期:2020 - 02 - 20)
(修回日期:2020 - 02 - 25)

(接第 15 页)

21 Cai X, Bao L, Ren J. Grape seed procyanidin B2 protects podocytes from high glucose - induced mitochondrial dysfunction and apoptosis via the AMPK - SIRT1 - PGC - 1α axis in vitro[J]. Food Function, 2016, 7(2):805

22 You H, Gao T, Raup - Konsavage WM, *et al*. Podocyte - specific chemokine (C - C motif) receptor2 overexpression mediates diabetic renal injury in mice[J]. Kidney Int, 2017, 91(3):671 - 682

23 López - Armada MJ, Riveiro - Naveira RR, Vaamonde - García C. Mitochondrial dysfunction and the inflammatory response[J]. Mitochondrion, 2013, 13(2):106 - 118

24 Maimaitijiang A, Zhuang X, Jiang X, *et al*. Dynamin - related protein inhibitor downregulates reactive oxygen species levels to indirectly suppress high glucose - induced hyperproliferation of vascular smooth muscle cells[J]. Biochem Biophysi Res Commun, 2016, 471(4): 474 - 478

25 Martínez - Redondo V, Pettersson AT, Ruas JL. The hitchhiker's guide to PGC - 1α isoform structure and biological functions[J]. Diabetologia, 2015, 58(9):1969 - 1977

(收稿日期:2019 - 10 - 28)
(修回日期:2019 - 11 - 14)