

线粒体功能及其与急性肾损伤和糖尿病肾病的关系

关毅鸣 王丽妍 刘文虎

摘要 肾脏的线粒体数量和耗氧量仅次于心脏,因为其需要大量能量来维持机体的新陈代谢、血流动力学、电解质和水平衡、营养物质再吸收和激素分泌等功能。线粒体稳态指在线粒体生物合成、分裂、融合及线粒体自噬之间取得平衡,对维持线粒体功能至关重要,这些过程有多种蛋白和信号通路参与。而线粒体稳态失衡会导致 ATP 产量减少,细胞功能和结构改变。持续性的线粒体功能障碍在肾脏疾病,如急性肾损伤和糖尿病肾病的早期和进展中发挥决定性作用。因此,调节线粒体稳态,保持良好的线粒体功能是治疗部分肾脏疾病的潜在靶点。

关键词 线粒体稳态 线粒体动力学 急性肾损伤 糖尿病肾病

中图分类号 R587.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.07.002

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)以短时间内血肌酐升高和尿量减少为主要诊断标准。据统计,全球每年有 1330 万人被诊断为 AKI,其中 170 万患者最终死亡^[1]。而对于存活的 AKI 患者,甚至临床上肾功能已经恢复的良性病程者,也有相当高的比例会进展为慢性肾脏病,并最终发展至终末期肾脏病,需要依赖肾脏替代治疗存活,给家庭和社会造成极大的负担。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病严重的微血管并发症,是导致终末期肾脏病的主要原因,也是糖尿病患者的主要死亡原因之一。传统观念认为 DN 是一种非免疫性疾病,治疗主要集中在严格控制血糖、血压、血脂,抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统改善患者血流动力学、降尿蛋白和处理并发症方面,然而上述治疗并不能有效延缓肾功能进展。

近年来研究发现,线粒体损伤参与 AKI 和 DN 的发生或发展过程。线粒体不仅是真核细胞能量的主要来源,还参与多种细胞功能的调节。肾脏作为一个需要高能量的器官,包含大量线粒体。在肾脏的超微结构中,近端肾小管上皮细胞只能依赖有氧代谢供能,因而与具有无氧酵解能力的远端肾小管比较,其线粒体处于氧化活跃状态,对损伤更为敏感。作为一种双层膜结构的细胞器,线粒体不断进行着分裂和融

合,其动态平衡会影响线粒体的功能,从而影响肾脏疾病的发生与发展。

一、线粒体功能

1. ATP 的产生:肾脏中的所有细胞都需要 ATP 来维持功能,但 ATP 的产生机制依赖于细胞种类。在肾脏皮质中,近端肾小管 ATP 的产生依赖于氧化磷酸化,从而完成葡萄糖、离子及营养物质的转运。而肾小球细胞(足细胞、内皮细胞和系膜细胞)则具有较低的氧化能力,因为其功能是滤过,即除去血液中的小分子物质,保留大分子蛋白质。这种被动过程不直接依赖 ATP,因此肾小球细胞有能力进行有氧和无氧呼吸。

非酯化脂肪酸的 β 氧化作用是近端肾小管产生 ATP 的主要途径。脂肪酸首先通过转运蛋白被近端肾小管摄取,或在细胞质中合成。随后在线粒体基质中通过 β 氧化作用分解为能量。虽然 β 氧化作用是最有效的产能机制,但由于近端小管耗氧量高,比其他细胞更易受到含氧量变化的影响。含氧量下降会导致 β 氧化作用受损,ATP 产量减少。分解代谢和合成代谢营养传感通路的平衡可以调节细胞中脂肪酸的浓度,并对线粒体能量代谢产生不利影响。例如,在急性肾损伤和糖尿病肾病中,脂肪酸的积累会减少 β 氧化作用或增加细胞内脂滴的形成,进而导致 ATP 生成减少。

2. 抗氧化防御系统:线粒体通过电子传递链(electron transport chain, ETC)产生 ATP。当线粒体处于稳态时,电子通过 ETC 向氧分子传递的过程中,复合物 I 和复合物 III 生成低浓度的 ROS。低浓度的 ROS 对细胞功能至关重要,但高浓度的 ROS 对线粒

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81570660);北京市医院管理局基金资助项目(ZYLX201824);首都医科大学科研培育基金资助项目(PYZ2018051)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院肾内科

通讯作者:刘文虎,教授,博士生导师,电子信箱:liuwenhu2013@163.com

体和细胞具有毒性作用,它可以引起细胞色素 C 的释放导致细胞凋亡。因此,线粒体具有抗氧化防御系统,以抑制过多活性氧的产生,其重要性在于维持 ATP 的最佳产量和线粒体功能。

解偶联蛋白是一类位于线粒体内膜的转运蛋白,是抗氧化防御系统的重要组成部分。它们将质子通过线粒体内膜转运至线粒体基质。线粒体解偶联蛋白 2(uncoupling protein, UCP2)在肾脏表达,可由线粒体 ROS 或其他刺激因素激活。活化的 UCP2 以热能的形式消散质子的动力,最终减少 ROS 的产生。由于 ROS 参与 AKI 和 DN 的病理过程,因此关于 UCP2 在肾病领域的相关研究已广泛开展^[2]。例如对于 UCP2 基因多态性的一项研究表明,UCP2 是 DN 患者的潜在治疗靶点,而在 AKI 小鼠中发现,缺乏 UCP2 会加重肾小管损伤^[2,3]。

二、线粒体稳态

1. 线粒体生物合成:线粒体生物合成是指细胞产生新的、有功能的线粒体,以增加 ATP 产量,从而满足细胞不断增长的能量需求。线粒体的生物合成受一系列转录共激活因子和共抑制因子的调控。一项研究表明,在肾脏转录水平,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助活化因子 1α (PPAR γ coactivator - 1α , PGC - 1α)是三羧酸循环、氧化磷酸化和脂肪酸代谢的主要调节因子。对正常饮食或高脂饮食的野生型小鼠和 PGC - 1α 敲除(NiPKO)小鼠的肾脏进行了基因表达谱分析。发现在两组 NiPKO 小鼠中,与氧化磷酸化、三羧酸循环和糖酵解相关的基因转录减少,提示肾脏中 PGC - 1α 失活可减弱线粒体功能和新陈代谢,减少线粒体生物合成。而在体外实验中,过表达 PGC - 1α 可以减轻由氧化剂引起的线粒体功能障碍,表明 PGC - 1α 在调节线粒体生物合成、维持线粒体稳态中起重要作用。

一般来说,如果细胞需要更多能量,PGC - 1α 可被脱乙酰化作用激活,而当能量水平很高时,PGC - 1α 则被乙酰化作用灭活。在骨骼肌和心脏中,运动和胰岛素可以刺激 PGC - 1α 的表达增加,而在肝脏中,禁食可以增加 PGC - 1α 的表达^[4]。在棕色脂肪组织和肌肉细胞中,寒冷刺激可激活 PGC - 1α 。由于 PGC - 1α 的激活或抑制受外部刺激和转录后修饰的调节,故认为它是肾脏的营养传感器。目前关于肾病中 PGC - 1α 调节过程的研究,主要集中在 DN、肾脏缺血再灌注损伤、脓毒症及顺铂所致 AKI 等方面。

2. 线粒体动力学:线粒体处于不断分裂和融合的

状态,二者的动态平衡是维持线粒体稳态所必需的条件。当编码分裂、融合相关蛋白的基因出现缺失时会导致人类疾病的发生。研究表明,细胞的氧化磷酸化随线粒体融合而增加,随线粒体分裂而减少。这正如神经退行性疾病所表现的那样,过度融合和过度分裂都与疾病状态有关。然而,体内某些细胞并不符合这一规律,如成年心肌细胞和衰老细胞。心肌细胞中的线粒体成碎片状,但保持氧化能力;而衰老细胞中的线粒体呈拉长形态,这是融合活跃的特征,处于拉长状态的衰老细胞的能量供应能力下降。

线粒体融合包括两步,先是外膜融合,随后内膜融合。动力蛋白超家族的线粒体融合蛋白 1(mitochondrial fusion protein, MFN1)、MFN2 和视神经萎缩蛋白 1(optic atrophy protein, OPA1)是参与线粒体融合的关键分子。融合使得线粒体在生理条件下被拉长,有助于维持氧化磷酸化。线粒体外膜通过 MFN1 和 MFN2 的二聚作用而被拴紧。外膜融合可由氧化应激等外部刺激激活,内膜融合可以通过改变 OPA1 蛋白水解裂解位点来调控。

线粒体分裂对于从网络中分离受损的线粒体是必要的。去极化或不平衡的线粒体将通过自噬被清除。然而,在 DN 和 AKI 等疾病中出现的过度分裂,对维持线粒体稳态是有害的。体外研究表明,营养过剩或氧化应激会刺激细胞线粒体分裂。线粒体膜电位丢失后,动力相关蛋白 1(dynamic related protein, DRP1)从胞质转移到线粒体外膜,介导线粒体分裂。DRP1 可以与几种不同的受体结合,如线粒体分裂蛋白 1、线粒体动力蛋白 MID49 和 MID51 以及位于线粒体外膜的线粒体分裂因子(mitochondrial fission factor, MFF)。DRP1 与受体结合后在线粒体外膜上聚集,介导线粒体的分裂,其活性可以通过翻译后修饰来调控,如磷酸化、泛素化和类泛素化^[5]。

3. 线粒体自噬:线粒体自噬是指选择性地从细胞中去除受损的和无功能的线粒体,受到多种信号通路的调控。目前较为公认的途径有线粒体膜蛋白磷酸酶和张力蛋白同源物诱导激酶 1(PTEN - induced putative kinase 1, PINK1)/细胞溶质 E_3 泛素连接酶 Parkin 通路、Bcl - 2/腺病毒 E1B19000 结合蛋白(Bcl - 2 and adenovirus E1B19000 interacting protein, BNIP3)/线粒体外膜类 NIP3 蛋白(NIP3 - like protein X, NIX)通路。此外,还有线粒体外膜蛋白 FUNDC1、NIX 等与以上途径相互协调,共同调控线粒体自噬过程。

PINK1/Parkin 是哺乳动物中公认的介导线粒体

自噬的途径。PINK1 是一种位于细胞质中的线粒体靶向激酶;Parkin 是细胞溶质泛素连接酶。在生理条件下,PINK1 在线粒体膜上表达较少,在外膜转运蛋白作用下进入线粒体内,锚定在线粒体内膜上,而后被基质内水解酶降解。在病理条件下,由于线粒体发生去极化改变,PINK1 无法被转运至线粒体内,故而聚集在线粒体外膜上,发生自磷酸化而活化。活化的 PINK1 招募并活化 Parkin,促进其向线粒体移位,启动线粒体自噬^[6,7]。

BNIP3/NIX 通路在调节线粒体自噬过程中也发挥重要作用。BNIP3 和 NIX 都是促凋亡蛋白,通过磷酸化自身结构域来启动线粒体自噬^[8]。在缺氧条件下,BNIP3/NIX 通过改变线粒体膜电位来维持线粒体功能。有研究结果显示,BNIP3 抑制 PINK1 裂解,从而促进线粒体自噬的发生。

三、线粒体与肾脏疾病

1. 急性肾损伤:大量研究结果证明,线粒体功能障碍是 AKI 的启动因素和促进因素。在病理学方面,可观察到近端肾小管上皮细胞线粒体的肿胀和分裂。在分子生物学方面,肾脏 ATP 产生减少,ROS 生成增加,细胞色素 C 的释放均提示线粒体损伤在其中的重要作用^[9]。在包括脓毒症在内的许多 AKI 动物模型中均可观察到近端肾小管细胞线粒体呼吸蛋白的丢失和线粒体功能障碍^[10,11]。此外,在损伤过程中,ETC 蛋白的持续丢失可能延缓 AKI 肾功能的恢复。在缺血肾脏中,许多因素会破坏脂肪酸的氧化和转运。例如,NAD⁺等辅助性因子是脂肪酸氧化所必需的,但 ETC 功能失调会导致 NAD⁺生成障碍。最终引起脂肪酸在细胞质中的堆积,使得线粒体 ATP 生成减少^[12]。在 AKI 小鼠模型中,PGC-1 α 的表达被持续抑制,PGC-1 α 可以调控线粒体蛋白的转录,因此 AKI 时这些线粒体蛋白表达下降。在脓毒症 AKI 的动物模型中,PGC-1 α 敲除后血清肌酐、尿素氮水平较对照组显著升高^[4]。相反,在近端肾小管过表达 PGC-1 α 能够减轻肾脏损伤。总之,这些研究结果表明 PGC-1 α 在 AKI 肾功能恢复过程中起到重要作用。

线粒体动力学的改变是导致线粒体能量障碍的因素。在肾损伤早期,DRP1 易位至线粒体外膜,DRP1 的激活促进线粒体破碎和凋亡^[13,14]。在 AKI 中观察到线粒体嵴结构的丧失,造成线粒体膜电位下降,ATP 生成减少^[9]。给予 AKI 肾脏 DRP1 抑制剂 mdivi-1 后,线粒体分裂被抑制,肾损伤减轻。近年

来研究发现去乙酰化酶 sirtuin3 (Sirt3) 在 AKI 中起重要作用。Sirt3 是线粒体特有的蛋白去乙酰化酶,在维持线粒体正常结构和功能中发挥着积极作用。在顺铂刺激肾小管上皮细胞的实验中发现,过表达 Sirt3 减少了 DRP1 从胞质向线粒体外膜的移位,从而减轻了线粒体分裂,提示 AKI 时 Sirt3 对线粒体动力学发挥调节作用。在顺铂诱导的 AKI 小鼠模型中,Sirt3 的缺失加重了肾脏损伤,提示 Sirt3 在肾功能恢复中发挥重要作用^[15]。

2. 糖尿病肾病:高血糖是导致 DN 发生的主要因素。高血糖会通过 TCA 循环增加还原型辅酶 I (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 和黄素腺嘌呤二核苷酸递氢体(flavine adenine dinucleotide, FADH₂) 的生成,给 ETC 提供能量。ETC 释放的 ROS 会破坏线粒体 DNA,阻碍线粒体蛋白的生成。早期研究认为,高血糖状态是通过刺激超极化线粒体的生成而导致线粒体功能障碍,这种线粒体产生更多 ATP,并从复合物 I 和 III 中释放出比正常线粒体更高水平的超氧化物。然而,服用维生素 E 和维生素 A 等抗氧化剂并不能降低糖尿病患者并发症的发生,这表明线粒体 ROS 可能不是 DN 线粒体功能障碍的主要因素。高血糖还会增加晚期糖基化终产物的生成,增加蛋白激酶 C 和己糖胺通路的活性,从而导致线粒体功能障碍。这 3 种机制对人体都会产生不良影响,包括纤维化、血栓形成、氧化损伤及全身血管系统和血液流动的异常^[16]。

尽管引起糖尿病线粒体动力学变化的机制尚不清楚,但在糖尿病早期,近端小管中已观察到线粒体碎片化。线粒体分裂使线粒体膜电位下降,减少 ATP 生成,促进凋亡发生^[17]。有研究结果表明,RHO 相关蛋白激酶 1 (RHO-associated protein kinase 1, ROCK1) 信号在激活 DN 的线粒体分裂中发挥作用。ROCK1 促进 DRP1 向线粒体易位,并通过磷酸化 DRP1 促进线粒体分裂。在链脲霉素诱导的 DN 小鼠中,缺失 ROCK1 可以防止线粒体分裂,减少 ROS 生成,恢复肾脏正常功能^[18]。

在糖尿病大鼠的肾脏中观察到 PGC-1 α 的表达下降。在肾脏系膜细胞中过表达 PGC-1 α 可以减弱高糖引起的病理生理学改变。研究显示,在糖尿病大鼠肾脏中,DRP1 向线粒体外膜的易位减弱,线粒体碎片化表现增强,线粒体生物合成减少^[19]。高糖刺激足细胞后,PGC-1 α 的基因和蛋白水平均减少,提示线粒体生物合成减少^[20]。这些研究结果提示以线

粒体生物合成和动力学之间的平衡为目标可能是 DN 的潜在治疗方向。

四、展 望

线粒体功能及稳态平衡主要调控生成 ATP 的细胞网络,这些网络的破坏可导致线粒体功能障碍和器官损伤。线粒体动力学的平衡保证了线粒体的功能和分布,使其能够适应不同的代谢需求。尽管对线粒体分裂、融合、生物合成及线粒体自噬已经有所了解,但这些过程在肾脏疾病中的确切作用仍有待于进一步研究。目前研究发现,在 AKI 和 DN 中存在明显的线粒体功能障碍,持续的功能障碍可能会导致肾功能的持续恶化,从而发展为慢性肾脏病。因此,修复线粒体功能障碍可能具有逆转细胞损伤、保护肾脏功能的作用。在心血管、神经病学和肿瘤学领域,一些针对线粒体的药物已经出现,而在肾脏领域研究进度相对落后。未来,更多研究应以线粒体稳态为目标寻找治疗靶点,研究基于线粒体的新的治疗方法,从而改善肾脏疾病的预后。

参考文献

- Mehta RL, Cerdá J, Burdmann EA, *et al.* International Society of Nephrology's 0 by 25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology[J]. *Lancet*, 2015, 385(9987): 2616–2643
- Zhou Y, Cai T, Xu J, *et al.* UCP2 attenuates apoptosis of tubular epithelial cells in renal ischemia – reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(4): F926–F937
- Christensen M, Schiffer TA, Gustafsson H, *et al.* Metformin attenuates renal medullary hypoxia in diabetic nephropathy through inhibition uncoupling protein – 2[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(2): e3091
- Lynch MR, Tran MT, Parikh SM. PGC1 α in the kidney[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(1): F1–F8
- Sprenger HG, Langer T. The Good and the bad of mitochondrial breakups[J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(11): 888–900
- Sachdeva K, Do DC, Zhang Y, *et al.* Environmental exposures and asthma development: autophagy, mitophagy, and cellular senescence [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2787
- Sato S, Furuya N. Induction of PINK1/Parkin – mediated mitophagy [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1759: 9–17
- Zhao Y, Zhu Q, Song W, *et al.* Exercise training and dietary restriction affect PINK1/Parkin and Bnip3/Nix – mediated cardiac mitophagy in mice[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2018, 37(6): 657–666
- Emma F, Montini G, Parikh SM, *et al.* Mitochondrial dysfunction in inherited renal disease and acute kidney injury[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(5): 267–280
- Tang C, Han H, Liu Z, *et al.* Activation of BNIP3 – mediated mitophagy protects against renal ischemia – reperfusion injury[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(9): 677
- Liu JX, Yang C, Zhang WH, *et al.* Disturbance of mitochondrial dynamics and mitophagy in sepsis – induced acute kidney injury[J]. *Life Sci*, 2019, 235: 116828
- Yamaguchi S, Franczyk MP, Chondronikola M, *et al.* Adipose tissue NAD + biosynthesis is required for regulating adaptive thermogenesis and whole – body energy homeostasis in mice[J]. *Proceed Nat Acad Sci USA*, 2019, 116(47): 23822–23828
- Liu Z, Li H, Su J, *et al.* Numb depletion promotes Drp1 – mediated mitochondrial fission and exacerbates mitochondrial fragmentation and dysfunction in acute kidney injury[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(15): 1797–1816
- Perry HM, Huang L, Wilson RJ, *et al.* Dynamin – related protein 1 deficiency promotes recovery from AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(1): 194–206
- Yuan Y, Zhu L, Li L, *et al.* S – Sulfhydration of SIRT3 by hydrogen sulfide attenuates mitochondrial dysfunction in cisplatin – induced acute kidney injury [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 31(17): 1302–1319
- Hallan S, Sharma K. The role of mitochondria in diabetic kidney disease[J]. *Curr Diab Rep*, 2016, 16(7): 61
- Wu M, Li S, Yu X, *et al.* Mitochondrial activity contributes to impaired renal metabolic homeostasis and renal pathology in STZ – induced diabetic mice [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 317(3): F593–F605
- Peng H, Li Y, Wang C, *et al.* ROCK1 induces endothelial – to – mesenchymal transition in glomeruli to aggravate albuminuria in diabetic nephropathy[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20304
- Ni Z, Tao L, Xiaohui X, *et al.* Polydatin impairs mitochondria fitness and ameliorates podocyte injury by suppressing Drp1 expression[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(10): 2776–2787
- Imasawa T, Obre E, Bellance N, *et al.* High glucose repatterns human podocyte energy metabolism during differentiation and diabetic nephropathy[J]. *FASEB J*, 2017, 31(1): 294–307

(收稿日期:2019 – 12 – 23)

(修回日期:2020 – 02 – 17)