

mTOR 调控自噬参与糖尿病并发症的研究进展

钱子冰^{1,2}, 刘静², 曾佩芸¹, 张琦^{2*}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院内分泌科, 甘肃兰州 730000)

摘要:在糖尿病状态下,失调的自噬可能导致多个脏器的病变。mTOR 介导的自噬参与糖尿病并发症及合并疾病的调控机制,如糖尿病肾病、非酒精性脂肪肝、糖尿病心脏病、糖尿病性视网膜病变、糖尿病周围神经病变等。对糖尿病自噬机制的研究将有助于发现新的治疗靶点,更好的预防和治疗糖尿病并发症。

关键词: mTOR; 自噬; 新型降糖药物; 糖尿病并发症

中图分类号: R589.9 文献标志码: A

Research progress of autophagy regulated by mTOR in diabetic complications

QIAN Zi-bing^{1,2}, LIU Jing², ZENG Pei-yun¹, ZHANG Qi^{2*}

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000;

2. Department of Endocrinology, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China)

Abstract: In the state of diabetes, dysfunctional autophagy may lead to pathological changes of multiple organs. The mTOR-mediated autophagy is involved in the regulation of diabetic complications and concomitant diseases, such as diabetic nephropathy, non-alcoholic fatty liver, diabetic heart disease, diabetic retinopathy, diabetic peripheral neuropathy and so on. The study on the mechanism of diabetic autophagy will help to find new therapeutic targets and better methods to prevent and treat diabetic complications.

Key words: mTOR; autophagy; new hypoglycemic drugs; diabetic complications

1 自噬

自噬发生于绝大多数细胞,参与维持细胞稳态、细胞分化、动物发育和营养代谢等生理过程。而应激诱导的自噬主要是细胞生存的一种适应性和防御性机制。在基础条件下,细胞自噬水平都较低,但能被不同形式的压力诱导,如营养或饥饿、生长因子耗尽、感染和缺氧等^[1]。根据靶物质捕获和递送到溶酶体的方式,自噬可以分为宏观自噬、微观自噬和伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。

哺乳动物细胞的选择性宏观自噬是本综述的重点。自噬是一种保守的细胞内降解机制,可将胞质内容物,如聚集的蛋白质和细胞器,运送到溶酶体以清除。在非饥饿和饥饿条件下,自噬可以降解易于聚集的蛋白(凝集吞噬)、细胞内病原体(异噬)、受损的线粒体(有丝分裂吞噬)、过量的过氧化物酶体(过噬)和受损的内质网(ER-吞噬)^[2]。高血糖条件下,信号通路发生改变使得细胞自噬功能受损,不能对细胞外各种应激发挥正常反应,进一步加重细胞器功能的紊乱继而发生各种糖尿病并发症。

收稿日期: 2020-06-27 修回日期: 2020-10-13

基金项目: 国家自然科学基金(81760151)

* 通信作者(corresponding author): lzzq78@126.com

2 mTOR 机制靶点与信号通路

mTOR 在自噬调控中起着关键作用。mTOR 受多种不同的上游信号通路影响,通过调控 mTOR 可相应抑制或提高自噬水平。mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白酶,是磷脂酰肌醇 3 激酶相关激酶(phosphatidylinositol 3-kinase related kinase, PIKK) 家族中的成员。在多细胞真核生物中,mTOR 可与其他调控蛋白相互作用至少形成两个不同的复合物,分别是雷帕霉素复合物 1 (mTORC1) 和雷帕霉素复合物 2 (mTORC2)。虽然这两个复合物含有相同的催化亚基-TOR,但它们可以磷酸化不同的下游靶点,从而显示出不同的细胞功能^[3]。mTORC1 由 mTOR、Raptor(mTOR 调节相关蛋白)、40 ku 富脯氨酸 Akt 底物(prolin-rich Akt substrate of 40 ku, PRAS40)、哺乳动物酵母同源致命因子(mammalian lethal with SEC13 protein 8, mLST8) 和 Deptor(含 DEP 结构域的 mTOR 相互作用蛋白)组成。mTORC2 由 mTOR、RICTOR(雷帕霉素不敏感的 mTOR 伴侣)、哺乳动物应激激活蛋白激酶相互作用蛋白(atres activated protein kinase-interacting protein 1, MSIN1)、Protor-1、Deptor 和哺乳动物 SEC13 致死蛋白(mammalian lethal with SEC13 protein, mLST)组成。激活 mTOR 可阻断细胞凋亡损伤,抑制 mTOR 可诱导自噬,影响胰岛素抵抗和炎症反应。mTOR 信号轴依赖于磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3-K)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(protein Kinase B, PKB)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、NAD-依赖性去乙酰化酶 Sirtuin-1(NAD-dependent deacetylase sirtuin-1, SIRT1)、Wnt1 诱导信号通路蛋白 1(Wnt1 inducible signaling pathway protein 1, WISP1) 以及表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF) 和促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)^[1]。mTOR 通过刺激蛋白质、核苷酸和脂质等主要构件的从头合成和抑制自噬来促进增殖。mTOR 的主要 3 条上游通路^[1]:PI3K/PKB 信号通路、AMPK 信号通路和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)/细胞外信号调节激酶(recombinant extracellular signal regulated kinase, ERK) 信号通路。因此,调控 mTOR 不同的上游信号通路可能是治疗糖尿病的一个新思路。

3 mTOR 与糖尿病

mTOR 是糖尿病状态下控制细胞代谢所必需的途径之一。高糖状态下,胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide 1, GLP-1) 受体激动剂激活 mTOR 可以保护胰腺 β 细胞免受胆固醇介导的凋亡细胞损伤,促进胰腺 β 细胞增殖,并通过表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGF-R) 阻断糖尿病神经细胞凋亡^[4]。mTOR 有缓解胰岛素抵抗和抗血栓形成作用,通过 mTOR 激活,与凋亡和动脉粥样硬化相关的通路也可以被阻断^[5]。因此,控制 mTOR 被视为治疗糖尿病及其并发症可能有效策略的重要组成部分。

4 新型降糖药物对自噬的影响

糖尿病造成了巨大的社会经济负担,包括预防和管理糖尿病所需的药物及并发症的治疗。新型降糖药包括二肽基肽酶-4 抑制剂(dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, DPP-4i)、GLP-1 受体激动剂(glucagon-like peptide-1 receptor agonist, GLP-1RA) 和钠-葡萄糖共转运体 2 抑制剂(sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors, SGLT2i)。探讨西格列汀(DPP-4i) 对糖尿病小鼠心肌梗死后心功能的影响。结果表明西格列汀有效地提高了存活率,改善了心功能,减少了梗死面积、心肌纤维化和炎症反应^[6]。恩格列净(SGLT2i) 通过促进自噬,恢复了线粒体的数量和大小,并抑制了线粒体的缩小,改善了糖尿病大鼠心肌梗死的预后^[7]。同时又有研究评估了 GLP-1RA 对糖尿病小鼠的肝脏保护作用^[8],结果显示,GLP-1RA 治疗的小鼠有效地降低了空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC) 和三酰甘油(TG) 以及丙二醛(malondialdehyde, MDA)。这些数据表明,DPP-4i、GLP-1RA、SGLT2i 可以潜在地调节自噬过程。即这些新型降糖药物对自噬有调控作用,发现更多的药物靶点及与自噬的作用机制,可能更新新的治疗理念。

5 mTOR 调控自噬参与糖尿病并发症的发生发展

5.1 糖尿病肾病

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD) 是终末期肾病的主要病因,30%~50% 的 1 型或 2 型糖尿

病患者最终发展为 DKD, 导致 DM 的病死率显著增加, 严重威胁糖尿病患者的临床结局^[9]。许多研究发现, 在 DKD 病理背景下, 高血糖被证明通过 AMPK/mTOR 信号, 诱导氧化应激和其他病理生理相关过程, 导致足细胞损伤和蛋白尿的发展, 从而伴随着肾功能的丧失^[10]。糖尿病肾病可以通过减少足细胞的 mTORC1 表达^[11]来延迟/预防, 这意味着胰岛素激活的 mTORC1 在推动糖尿病肾病中发挥了作用。鉴于这些发现, 假设糖尿病肾脏的自噬缺陷可能会增加肾脏细胞对糖尿病相关损害的易感性, 这反过来又会导致难治性蛋白尿和肾脏功能的进行性下降。因此, 恢复自噬活性可能成为保护肾脏免受 DKD 的一种新的治疗选择。

5.2 非酒精性脂肪肝

约 60% T2DM 患者合并非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)。世界卫生组织预测, 未来十年 NAFLD 可能成为肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的主要病因。活化自噬可以减轻肝脂肪变性, 高脂肪饮食或长期积累的脂质可能会降低自噬活性^[12]。脂噬是自噬参与调节肝脏脂质代谢的主要机制^[12]。脂噬的主要过程为将多余的脂滴隔离在自噬小体中, 然后与溶酶体融合形成自溶酶体, 最终被溶酶体中的脂化降解。AMPK 在 NAFLD 中的作用主要总结为 3 个机制^[13]: 1) 抑制肝脏的新生脂肪生成; 2) 增加肝脏的脂肪酸氧化; 3) 促进脂肪组织的线粒体功能/完整性。多磷酸肌醇激酶 (inositol polyphosphate multikinase, IPMK) 可以通过 IPMK-AMPK-SIRT-1 和 IPMK-AMPK-ULK1 (人类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, Unc-51-like kinase 1, ULK1) 两个信号轴与 AMPK 相互作用介导自噬^[14]。在小鼠中 IPMK 的缺失几乎消除了吞脂性, 促进了肝损伤, 并损害了肝细胞的再生。因此可以推断, IPMK 介导的自噬可能成为 NAFLD 和肝再生治疗的一个潜在靶点。除上述机制外, 还发现激活 AMPK/mTOR 调节的自噬也是一种重要的保护机制。治疗剂量的对乙酰氨基酚可加重 NAFLD 的脂肪蓄积, 其潜在机制可能与抑制 AMPK/mTOR 途径介导的自噬有关^[15]。AMPK/mTOR 介导的自噬水平在高脂喂养的小鼠和用游离脂肪酸处理的人正常肝细胞中都受到显著抑制。然而, 当脑肠肽 O 酰基转移酶 (ghrelinO-acyltransferase,

GOAT) 被抑制时, AMPK/mTOR 介导的自噬水平显著增加, 从而减轻了肝脏毒性。提示 AMPK/mTOR 介导的自噬激活是 NAFLD 的重要保护机制。

5.3 糖尿病性心脏病

大血管病变占 T2DM 患者死亡人数的比例稳居不下, 心血管病变占大血管病变一个重要部分。糖尿病心血管疾病由两个独立的病理过程驱动, 即动脉粥样硬化性心血管疾病 (arteriosclerotic cerebral vascular disease, ASCVD) 和糖尿病性心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM)^[16]。ASCVD 由内皮功能障碍驱动, 导致内膜下极低密度脂蛋白 (VLDL) 残体的浸润和保留, 随后内膜下募集单核/巨噬细胞。活化的巨噬细胞产生的炎性细胞因子 (如 IL-6、CRP、TNF- α) 可诱导血管平滑肌细胞的增殖, 向内膜下层吸引并转化为胶原分泌细胞^[16]。因此, 糖尿病性血管病变是由糖尿病血脂异常合并内皮功能障碍驱动的。与 mTOR 相关的心肌保护通路主要有 4 条: 1) 胰岛素介导的 PI3K/AKT/mTOR 信号通路; 2) GSK-3 β 抑制信号通路; 3) mTOR 依赖的血管生成信号通路; 4) mTORC2 激活信号通路。研究发现褪黑素的心脏保护作用可能通过 mTOR 信号通路减少糖尿病状态下高糖对心肌纤维的损害^[17]。二甲双胍通过激活 AMPK/自噬从而抑制 DCM 中的 NLRP3 炎性小体而具有心脏保护和抗炎作用, 为糖尿病性心肌病的治疗提供了新的信息^[18]。所以能够推测, 通过人为干预逆转信号通路, 可以发挥保护心脏功能、增强自噬的作用。

5.4 糖尿病性眼病

糖尿病的眼部并发症有多种, 糖尿病视网膜病变和糖尿病性白内障为其中较为典型的两种。DJ-1 基因可能通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路改善线粒体功能, 抑制活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成, 增强抗氧化能力, 减少视网膜周细胞凋亡, 这可能与糖尿病视网膜病变的早期发病有关^[19]。小檗碱对高糖刺激的原代视网膜 Müller 细胞的影响, 发现小檗碱可能通过促进自噬和激活 AMPK/mTOR 信号通路来保护 Müller 细胞免受高糖诱导的凋亡^[20]。研究发现, 高糖状态下晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 细胞自噬和氧化应激的变化与白内障有关^[21]。透射电子显微镜显示糖尿病小鼠晶状体组织中自噬活性改变, 自噬小体较大且线粒体较多。自噬可能减

轻高糖对晶状体上皮细胞的氧化损伤。这些发现为糖尿病性眼病的治疗有重要的指引作用,即从 mTOR 通路入手寻找新的治疗契机。

5.5 糖尿病周围神经病变

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy,DPN)是由小的无髓鞘或薄髓鞘表皮内神经纤维密度降低所致,其起源于背神经根节,介导疼痛、温度感觉或自主神经功能。过度活跃的 mTORC1 干扰突触的可塑性而导致慢性神经病变。在炎性和神经病理性疼痛的实验模型中发现,抑制 mTORC1 活性可以导致抗伤害效应^[22]。枸杞多糖(LBP)发挥保护作用是由于 LBP 对糖尿病大鼠的血糖水平有轻微的降低作用。其机制可能是通过抑制 mTOR/p70S6K 通路的激活来诱导自噬^[23]。这些研究表明自噬在糖尿病神经病变中发挥着重要作用,但仍需要进一步的研究来完善其诱导及保护机制。

6 并存的疾病

T2DM 与癌、神经退行性变(阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症)、多

囊卵巢综合征(polycysticovariansyndrome,PCOS)等风险增加有关。激活 mTORC1 可导致这些疾病,意味着 DM 与相关共病之间的病因学联系^[24]。糖代谢异常诱导氧化应激、线粒体功能障碍、自噬等多种致病因素在神经退行性变疾病的病理生理改变中起重要作用。患 PCOS 或 T2DM 的女性,以高胰岛素血症为特征,通常会经历卵巢功能障碍。研究发现,高胰岛素可直接损害胚胎着床过程中的卵巢功能及卵巢自噬失衡,自噬可增强胰岛素所致的卵巢功能损害^[25]。

7 问题与展望

全世界每年患糖尿病的比例仍在持续增加,许多人还未得到诊断。目前控制血糖稳态和避免糖尿病并发症的方法有限,需要开发新的策略。mTOR 靶点介导的自噬作为细胞的一种防御机制,与糖尿病的联系被越来越多的研究所证实。因此针对 mTOR 信号通路及其调控靶点进行,对于延缓糖尿病并发症的发生,延长健康寿命至关重要。

参考文献:

- [1] Cao Y, Luo Y, Zou J, *et al.* Autophagy and its role in gastric cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2019,489:10-20.
- [2] Menzies FM, Fleming A, Caricasole A, *et al.* Autophagy and neurodegeneration: pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities[J]. *Neuron*, 2017, 93: 1015-1034.
- [3] Maiese K. Novel nervous and multi-system regenerative therapeutic strategies for diabetes mellitus with mTOR[J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11: 372-385.
- [4] Miao XY, Gu ZY, Liu P, *et al.* The human glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide regulates pancreatic beta-cell proliferation and apoptosis via an AMPK/mTOR/P70S6K signaling pathway [J]. *Peptides*, 2013, 39: 71-79.
- [5] Peng N, Meng N, Wang S, *et al.* An activator of mTOR inhibits oxLDL-induced autophagy and apoptosis in vascular endothelial cells and restricts atherosclerosis in apolipoprotein E^{-/-} mice[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:1-9.
- [6] Gu Y, Ma CT, Gu HL, *et al.* Sitagliptin improves cardiac function after myocardial infarction through activation of autophagy in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018,22:8973-8983.
- [7] Mizuno M, Kuno A, Yano T, *et al.* Empagliflozin normalizes the size and number of mitochondria and prevents reduction in mitochondrial size after myocardial infarction in diabetic hearts[J]. *Physiol Rep*, 2018, 6: e13741.doi: 10.14814/phy2.13741.
- [8] Shao N, Yu XY, Ma XF, *et al.* Exenatide delays the progression of nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 mice, which may involve inhibition of the NLRP3 inflammasome through the mitophagy pathway[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2018,15:1864307.doi:10.1155/2018/1864307.
- [9] Furuichi K, Shimizu M, Hara A, *et al.* Diabetic nephropathy: A comparison of the clinical and pathological features between the CKD risk classification and the classification of diabetic nephropathy 2014 in Japan [J]. *Intern Med*, 2018,57:3345-3350.

- [10] Puelles VG, Van Der Wolde JW, Wanner N, *et al.* mTOR-mediated podocyte hypertrophy regulates glomerular integrity in mice and humans[J]. *JCI Insight*, 2019, 19: e99271. doi:10.1172/jci.insight.99271.
- [11] Inoki K, Mori H, Wang J, *et al.* mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121: 2181-2196.
- [12] Horas HNS, Nishiumi S, Kawano Y, *et al.* Adrenic acid as an inflammation enhancer in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 623-624: 64-75.
- [13] Smith BK, Marcinko K, Desjardins EM, *et al.* Treatment of nonalcoholic fatty liver disease; role of AMPK[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 311: 730-740.
- [14] Guha P, Tyagi R, Chowdhury S, *et al.* IPMK mediates activation of ULK signaling and transcriptional regulation of autophagy linked to liver inflammation and regeneration [J]. *Cell Rep*, 2019, 26: 2692-2703.
- [15] Shi C, Xue W, Han B, *et al.* Acetaminophen aggravates fat accumulation in NAFLD by inhibiting autophagy via the AMPK/mTOR pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 850:15-22.
- [16] Dunlay SM, Givertz MM, Aguilar D, *et al.* Type 2 diabetes mellitus and heart failure; A scientific statement from the american heart association and the heart failure society of america; This statement does not represent an update of the 2017 ACC/AHA/HFSA heart failure guideline update[J]. *Circulation*, 2019, 140:294-324.
- [17] Kandemir YB, Tosun V, Güntekin Ü. Melatonin protects against streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy through the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2019, 28: 1171-1177.
- [18] Yang F, Qin Y, Wang Y, *et al.* Metformin inhibits the NLRP3 inflammasome via AMPK/mTOR-dependent effects in diabetic cardiomyopathy[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15: 1010-1019.
- [19] Zeng J, Zhao H, Chen B. DJ-1/PARK7 inhibits high glucose-induced oxidative stress to prevent retinal pericyte apoptosis via the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Exp Eye Res*, 2019, 189: 107830. doi: 10.1016/j.exer.2019d07830.
- [20] Chen H, Ji Y, Yan X, *et al.* Berberine attenuates apoptosis in rat retinal Müller cells stimulated with high glucose via enhancing autophagy and the AMPK/mTOR signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108:1201-1207.
- [21] Liu X, Zhao X, Cheng R, *et al.* Autophagy attenuates high glucose-induced oxidative injury to lens epithelial cells[J]. *Bioence Rep*, 2020, 40:1-31
- [22] Wu LY, Li M, Qu ML, *et al.* High glucose up-regulates Semaphorin 3A expression via the mTOR signaling pathway in keratinocytes: A potential mechanism and therapeutic target for diabetic small fiber neuropathy[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 472:107-116.
- [23] Liu SY, Chen L, Li XC, *et al.* Lycium barbarum polysaccharide protects diabetic peripheral neuropathy by enhancing autophagy via mTOR/p70S6K inhibition in Streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *J Chem Neuroanat*, 2018, 89:37-42.
- [24] El Hiani Y, Egom EE, Dong XP. mTOR signalling: jack-of-all-trades[J]. *Biochem Cell Biol*, 2019, 97: 58-67.
- [25] Su Y, Wu J, He J, *et al.* High insulin impaired ovarian function in early pregnant mice and the role of autophagy in this process[J]. *Endocr J*, 2017, 64: 613-621.