

葡萄糖调节蛋白 75 在糖尿病肾病发生、发展机制中的作用研究进展

罗婷, 黄帅帅, 岑东

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.03.002

【中图分类号】 R587.1 【文献标志码】 C 【文章编号】 1671-0800(2024)03-0285-03

糖尿病肾病 (DN) 是引起终末期肾功能衰竭的主要病因之一, 且会显著增加心脑血管疾病的发病率和病死率^[1]。根据国际糖尿病联合会预测, 到 2045 年全世界糖尿病患者人数将达到 7 亿人, 其中 30%~40% 患者将发展为 DN^[2]。研究发现, DN 发病机制涉及遗传、代谢组学以及血流动力学等多因素的复杂相互作用, 从而引起糖脂代谢紊乱、氧化应激、肾素-血管紧张素系统等改变^[3]。现发现, 线粒体和线粒体相关内质网膜 (mitochondria associated endoplasmic reticulum membrane, MAM) 参与 DN 发生、发展进程, 而葡萄糖调节蛋白 75 (glucose regulated protein 75, GRP75) 作为线粒体和 MAM 中重要的共定位蛋白, 研究其信号传导途径, 将有助于阐明 DN 发生发展分子机制, 为 DN 预防与治疗提供新思路^[4-5], 现报道如下。

1 GRP75 的定位与功能

1.1 GRP75 与线粒体 GRP75 全称为 75 kDa 葡萄糖调节蛋白, 属于 HSP70 热休克蛋白家族成员, 主要定位于线粒体基质。在哺乳动物中涉及多种生物学功能, 包括线粒体蛋白的导入和折叠、线粒体生物合成、抵抗各种应激反应等^[4]。大部分来自核基因编码的蛋白需要在 GRP75 的协助下转运进入到线粒体内部, 并帮助其折叠形成正确的空间构象和参与后续组装过程。另外, GRP75 可通过 ATP 依赖的蛋

白酶对受损或错误折叠的蛋白质进行水解清除^[5]。

GRP75 作为线粒体质量控制系统关键蛋白, 在正常生理状态下, 充当着机体的保护因子, 维持着线粒体质量系统的动态平衡。研究发现, 在神经退行性疾病帕金森病中, GRP75 对维持神经元细胞稳态和活性发挥着重要作用, 可及时修复错误折叠的蛋白质, 降解无效蛋白质, 清除无效蛋白质积累, 从而减缓氧化应激过度激活而导致的机体损伤^[6]。但是在乳腺癌、结肠癌及非小细胞型肺癌等恶性肿瘤中, GRP75 表达水平与肿瘤进展呈正相关^[7-8]。Elwakeel 等^[9]研究表明, GRP75 与 P53 相互作用后, 通过阻断 P53 介导的细胞凋亡、细胞周期阻滞途径, 加速肿瘤细胞的生长与迁移。Liu 等^[10]在肝癌研究中还发现, 肝癌细胞高表达 GRP75 与四膜蛋白 CD151, 两者互相结合形成 GRP75/CD151 复合物, 可稳定 CD151 依赖性跨膜超家族复合体的结构性, 促进肝癌的转移和侵袭并影响其预后效果。

1.2 GRP75 与 MAM MAM 又称内质网-线粒体联络区, 是细胞内部分内质网膜和线粒体外膜之间存在紧密物理连接而形成的一种特化的、类突触样结构, 在细胞中发挥着重要的功能和作用。MAM 上多种内质网及线粒体相关蛋白相互作用构成蛋白复合物, 参与维持 MAM 结构及功能的完整性。作为耦联内质网与线粒体之间的一个动态结构域, 参与调节和协调多种细胞生理过程, 包括调节细胞与线粒体自噬、参与 Ca^{2+} 交换、脂质代谢、氧化应激及细胞凋亡等^[11-12]。这些功能使得 MAM 在维持细胞的正常功能和适应性中起着重要的作用。有研究显示, 内质网与线粒体外膜之间的耦联距离或耦联数量发生改变, 均会导致 MAM 上定位的蛋白或者相应蛋白复合体出现结构变化, 进而引起一系列的 MAM

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目 (2022KY1177); 宁波市科技计划项目 (2023J233); 宁波市鄞州区科技计划项目 (2022AS033)

作者单位: 315100 宁波, 宁波市鄞州区第二医院

通信作者: 岑东, 主任技师。宁波市医学会检验医学分会主任委员、浙江省医学会检验医学分会常务委员等。Email: cendong2002@163.com

功能紊乱^[13-14]。

研究表明,GRP75在MAM的形成和功能中发挥着重要作用,具体表现为以下方面:(1)GRP75参与MAM的形成和稳定性调控,调控 Ca^{2+} 稳态,调节 Ca^{2+} 在MAM区域的传递。GRP75作为MAM界面的关键蛋白,通过与内质网上的特定蛋白质相互作用,促进MAM的形成,与内质网上的IP3受体(IP3R)结合,通过形成IP3R-GRP75-VDAC1蛋白复合体从而稳定MAM结构,成为内质网-线粒体钙通道复合体的有机组分,从而保障内质网-线粒体间的正常 Ca^{2+} 信号流动以维持正常的内质网内钙稳态和线粒体内钙稳态。另外,贮存于内质网中的 Ca^{2+} 由IP3R介导释放入胞质,经耦联的IP3R-GRP75-VDAC1蛋白复合体运输至线粒体外膜,随后通过 Ca^{2+} 单向转运体, Ca^{2+} 穿越线粒体内膜进入线粒体基质,充当第二信使激活一系列的信号通路^[15]。Yuan等^[16]研究发现,MAM过度富集导致的线粒体内 Ca^{2+} 超负荷是发生房颤的一个重要病因,敲低GRP75可减少IP3R-GRP75-VDAC1蛋白复合体含量,抑制内质网向线粒体的 Ca^{2+} 转运,减轻线粒体氧化应激,从而预防房颤的发生。(2)GRP75参与MAM在脂质代谢调节中的作用。研究发现,GRP75与MAM相关的脂质转运蛋白相互作用,调节脂质的转运和代谢。它在脂质合成和降解过程中发挥重要作用,影响细胞内脂质的平衡和代谢^[17]。(3)GRP75通过与线粒体相关蛋白的相互作用,参与调节线粒体功能和细胞应激反应。研究表明,GRP75在MAM中的存在可以影响线粒体的形态和功能,并调节细胞应激反应的发生,参与调控线粒体的膜电位、ATP产生和细胞凋亡等过程^[18]。(4)GRP75和MAM的异常功能与多种疾病的发生和发展相关。GRP75在阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩性侧索硬化症和癌症等疾病中的异常表达与病理过程有关^[19-20]。

2 GRP75与MAM在DN发生发展中的作用

2.1 MAM与DN 近年来,内质网应激、线粒体功能障碍、MAM结构功能紊乱在DN中的影响引起很多关注。Ke等^[21]发现,DN中内质网应激相关因子,如ATF4、CHOP、IRE1 α 被显著激活,通过刺激TXINP/NLRP3途径介导肾损伤发生。Jiang等^[22]发

现,线粒体动力学平衡可保护肾脏免受持续高血糖灌注而引起的细胞损伤。Yang等^[23]发现,高糖刺激会破坏MAM结构,并在DN患者与DN动物模型中均观察到MAM耦联数目显著减少。Li等^[24]进一步研究发现,MAM耦联数目的减少会诱发线粒体自噬,导致肾小管损伤;反之,在DN体外模型中通过上调PACS-2表达的方式改善MAM结构完整性,有助于增强线粒体功能,降低线粒体自噬水平,从而缓解DN的进展。

2.2 GRP75与DN 研究表明GRP75在DN发展中起着重要作用。在已知DN发病机制中,高血糖引起炎症反应和氧化应激的增加,导致肾脏受损。GRP75通过调节炎症因子的产生和氧化应激反应的平衡,参与DN的发展过程^[25]。此外,研究显示GRP75与自噬和凋亡过程的调节也与DN相关。通常情况下,自噬和凋亡的紊乱导致肾脏细胞的死亡和损伤。GRP75通过参与自噬过程的调节和凋亡信号通路的调控,减缓DN的发展^[26]。GRP75还参与调节细胞对胰岛素的敏感性。Zhao等^[27]利用小鼠模型,发现在高糖饮食喂养下构建的胰岛素抵抗小鼠模型中,GRP75表达水平显著下降,但是MAM相关蛋白IP3R、VDAC1表达量未受影响,进一步研究发现,GRP75通过调节线粒体超级复合体更新而非MAM重塑途径来影响细胞胰岛素抵抗的发生;随后在这些研究基础上构建了DN大鼠与细胞模型,发现这些模型中GRP75表达量均显著下降,而且MAM相关蛋白IP3R、VDAC1表达量亦呈显著性降低,此外,GRP75过表达可以有效缓解DN大鼠肾小球系膜增生,减轻蛋白尿水平。由此推测GRP75与DN的发生发展进程息息相关,但是具体的分子机制还有待于后续进一步研究。

3 总结与展望

DN治疗手段主要是通过胰岛素、肾素-血管紧张素-醛固酮抑制剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂和非甾体类盐皮质激素受体拮抗剂等调节血糖和血压,降低尿蛋白,延缓肾小球滤过率下降。然而,这种治疗方式只能延缓DN的进展,无法达到预防或根治的目的。GRP75作为重要的多功能蛋白,与线粒体、MAM结构功能的稳定均紧密相关。尽管前

期已经取得了一些进展,但仍需要更多的研究来揭示 GRP75 在 DN 发生发展中的具体作用和机制,为开发新的治疗策略提供理论依据。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] SUGAHARA M, PAK W L, TANAKA T, et al. Update on diagnosis, pathophysiology, and management of diabetic kidney disease[J]. *Nephrology*, 2021, 26(6): 491-500.
- [2] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9(th) edition[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2019, 157: 107843.
- [3] YANG Y, HE X, CHENG R, et al. Diabetes-induced upregulation of kallistatin levels exacerbates diabetic nephropathy via RAS activation[J]. *FASEB J*, 2020, 34(6): 8428-8441.
- [4] BAHR T, KATURI J, LIANG T, et al. Mitochondrial chaperones in human health and disease[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2022, 179: 363-374.
- [5] LARBURU N, ADAMS C J, CHEN C S, et al. Mechanism of hsp70 specialized interactions in protein translocation and the unfolded protein response[J]. *Open Biology*, 2020, 10(8): 200089.
- [6] ZHAO Z, LI Z, DU F, et al. Linking heat shock protein 70 and parkin in parkinson's disease[J]. *Molecular Neurobiology*, 2023, 60(12): 7044-7059.
- [7] KABAKOV A E, GABAI V L. HSP70s in breast cancer: Promoters of tumorigenesis and potential targets/tools for therapy[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3446.
- [8] SUN J, CHE S L, PIAO J J, et al. Mortalin overexpression predicts poor prognosis in early stage of non-small cell lung cancer[J]. *Tumour Biology: The Journal of The International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 2017, 39(3): 87-108.
- [9] ELWAKEEL A. Abrogating the interaction between p53 and mortalin (grp75/hspa9/mthsp70) for cancer therapy: the story so far[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 879632.
- [10] LIU L X, LU J C, ZENG H Y, et al. Mortalin stabilizes CD151-dependent tetraspanin-enriched microdomains and implicates in the progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Cancer*, 2019, 10(25): 6199-6206.
- [11] JIN C, KUMAR P, GRACIA-SANCHO J, et al. Calcium transfer between endoplasmic reticulum and mitochondria in liver diseases[J]. *FEBS Letters*, 2021, 595(10): 1411-1421.
- [12] ANASTASIA I, ILACQUA N, RAIMONDI A, et al. Mitochondria-rough-ER contacts in the liver regulate systemic lipid homeostasis[J]. *Cell Reports*, 2021, 34(11): 108873.
- [13] WU S, LU Q, DING Y, et al. Hyperglycemia-driven inhibition of AMP-activated protein kinase $\alpha 2$ induces diabetic cardiomyopathy by promoting mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in vivo[J]. *Circulation*, 2019, 139(16): 1913-1936.
- [14] THOUDAM T, HA C M, LEEM J, et al. PDK4 augments er-mitochondria contact to dampen skeletal muscle insulin signaling during obesity[J]. *Diabetes*, 2019, 68(3): 571-586.
- [15] ATAKPA-ADAJI P, IVANOVA A. IP3R at ER-Mitochondrial contact[J]. *Contact*, 2023, 6: 1-12.
- [16] YUAN M, GONG M, HE J, et al. IP3R1/GRP75/VDAC1 complex mediates endoplasmic reticulum stress-mitochondrial oxidative stress in diabetic atrial remodeling[J]. *Redox Biology*, 2022, 52: 102289.
- [17] BASSOT A, PRIP-BUUS C, ALVES A, et al. Loss and gain of function of Grp75 or mitofusin 2 distinctly alter cholesterol metabolism, but all promote triglyceride accumulation in hepatocytes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-molecular and Cell Biology of Lipids*, 2021, 1866(12): 159030.
- [18] TIWARY S, NANDWANI A, KHAN R, et al. GRP75 mediates endoplasmic reticulum-mitochondria coupling during palmitate-induced pancreatic beta-cell apoptosis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2021, 297(6): 101368.
- [19] LIANG T, HANG W, CHEN J, et al. ApoE4 (Delta272-299) induces mitochondrial-associated membrane formation and mitochondrial impairment by enhancing GRP75-modulated mitochondrial calcium overload in neuron[J]. *Cell & Bioscience*, 2021, 11(1): 1-14.
- [20] ERUSTES A G, DELETTTO M, GUARACHE G C, et al. Overexpression of alpha-synuclein inhibits mitochondrial Ca^{2+} trafficking between the endoplasmic reticulum and mitochondria through MAMs by altering the GRP75-IP3R interaction[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2021, 99(11): 2932-2947.
- [21] KE R, WANG Y, HONG S, et al. Endoplasmic reticulum stress related factor IRE1 α regulates TXNIP/NLRP3-mediated pyroptosis in diabetic nephropathy[J]. *Experimental Cell Research*, 2020, 396(2): 112293.
- [22] JIANG N, ZHAO H, HAN Y, et al. HIF-1 α ameliorates tubular injury in diabetic nephropathy via HO-1-mediated control of mitochondrial dynamics[J]. *Cell Proliferation*, 2020, 53(11): e12909.
- [23] YANG M, ZHAO L, GAO P, et al. Dsba-L ameliorates high glucose induced tubular damage through maintaining MAM integrity[J]. *Ebio Medicine*, 2019, 43: 607-619.
- [24] LI C, LI L, YANG M, et al. PACS-2 ameliorates tubular injury by facilitating endoplasmic reticulum-mitochondria contact and mitophagy in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2022, 71(5): 1034-1050.
- [25] FAN Q L, YANG G, LIU X D, et al. Effect of losartan on the glomerular protein expression profile of type 2 diabetic KKAY mice[J]. *Journal of Nephrology*, 2013, 26(3): 517-526.
- [26] XU H, GUAN N, REN Y L, et al. IP(3)R-Grp75-VDAC1-MCU calcium regulation axis antagonists protect podocytes from apoptosis and decrease proteinuria in an adriamycin nephropathy rat model[J]. *BMC Nephrology*, 2018, 19(1): 1-11.
- [27] ZHAO Q, LUO T, GAO F, et al. GRP75 regulates mitochondrial supercomplex turnover to modulate insulin sensitivity[J]. *Diabetes*, 2022, 71(2): 233-248.

收稿日期:2024-02-08

(本文编辑:钟美春)