

自噬与糖尿病视网膜膜病变研究进展

杜军辉¹, 李蓉², 马乐³

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 81500726); 西安市卫生局科技基金(No. 2013020)

作者单位:¹(710054) 中国陕西省西安市第九医院眼科;²(710077) 中国陕西省西安市, 西安医学院第一附属医院眼科;³(710061) 中国陕西省西安市, 西安交通大学公共卫生学院

作者简介: 杜军辉, 毕业于第四军医大学, 硕士, 主治医师, 获西安市科学技术奖(二等奖), 研究方向: 糖尿病视网膜膜病变、黄斑变性。

通讯作者: 杜军辉. djh79918@163.com

收稿日期: 2016-11-04 修回日期: 2017-01-22

Research progress of autophagy and diabetic retinopathy

Jun-Hui Du¹, Rong Li², Le Ma³

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81500726); Science Foundation of Xi'an Bureau of Public Health (No. 2013020)

¹Department of Ophthalmology, Xi'an Ninth Hospital, Xi'an 710054, Shaanxi Province, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China; ³School of Public Health, Xi'an Jiaotong University College of Public Health, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Jun-Hui Du. Department of Ophthalmology, Xi'an Ninth Hospital, Xi'an 710054, Shaanxi Province, China. djh79918@163.com

Received: 2016-11-04 Accepted: 2017-01-22

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the most serious complications and leading causes of blindness for diabetic patients. In recent years, the incidence of DR shows a trend of rising year by year, which is a serious threat to the patients' physical and mental health. Autophagy is a very important physiological process that the cellular contents are processed by the primary lysosomes when the body is under the environment of substance and energy metabolism disorder. Autophagy belongs to one kind of the body's important defense mechanisms. According to the related clinical research data, autophagy can delay the occurrence and development of the chronic complications of diabetes to some extent, such as DR, peripheral neuropathy and diabetic nephropathy. There is a close relationship between autophagy and various relative factors of DR, such as oxidative stress and hypoxia. Therefore, the pathogenesis and treatment measures of DR have become critical research topics in clinical practice.

• KEYWORDS: autophagy; diabetic retinopathy; review

Citation: Du JH, Li R, Ma L. Research progress of autophagy and diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(3):451-453

摘要

糖尿病患者临床上最为严重的并发症之一为糖尿病视网膜膜病变(DR),也是临床上导致糖尿病患者失明的主要原因之一,近年来糖尿病视网膜膜病变的发病率呈现逐年上涨的趋势,严重威胁到患者的身心健康。自噬是当机体处于物质与能量出现代谢障碍的环境下,由细胞初级溶酶体处理内容性底物的一个非常重要的生理过程,属于机体重要防御机制中的一种。根据相关的临床研究资料表明,自噬能够在一定程度上对糖尿病视网膜膜病变及周围神经病变、糖尿病肾病等慢性并发症的发生及发展具有延缓作用。自噬与多种糖尿病视网膜膜病变的相关因素,如氧化应激及缺氧等均存在较为密切的关系。因此,自噬与糖尿病视网膜膜病变的发病机制成为临床该领域重要的研究课题。

关键词: 自噬; 糖尿病视网膜膜病变; 综述

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.3.15

引用: 杜军辉, 李蓉, 马乐. 自噬与糖尿病视网膜膜病变研究进展. 国际眼科杂志 2017;17(3):451-453

0 引言

近年来,中国糖尿病患者人数逐年上升^[1],糖尿病视网膜膜病变作为糖尿病患者致盲的主要原因之一,成为目前眼科临床上研究的热点^[2-3]。目前临床已发现糖尿病视网膜膜病变发病危险因素与高血糖、高血脂及高血压相关,但对于糖尿病视网膜膜病变的发病机制与分子作用机制尚不完全清楚,近年来研究发现,自噬功能紊乱与糖尿病存在较为密切的关系,且在糖尿病微血管病变发病过程中自噬具有重要作用^[4-5]。糖尿病会增加炎症、晚期终末糖基化产物(AGEs)和视网膜及其毛细血管细胞的氧化应激,大量的证据表明在DR的发展过程中涉及了氧化应激与其他主要的代谢异常之间的相互联系,而氧化应激是激活细胞自噬的重要途径,因此,自噬与DR的发展密切相关^[6]。鉴于此,本文对自噬与糖尿病视网膜膜病变之间的关系进行如下综述。

1 自噬简介

临床上最早对自噬现象的发现是通过电子显微镜观察人的肝细胞,这是细胞中初级溶酶体处理内源性底物的重要过程,一些已经遭到损坏的蛋白或者细胞器被双层膜结构的自噬小泡包裹后,会送入溶酶体或者液泡中进行降解,并且将其进行循环利用^[7]。细胞自噬包括微自噬、巨自噬以及分子伴侣介导的自噬三种形式,其中对于分子伴侣介导的自噬来说,其在运输的过程中不需要

膜泡,也不会形成自噬体。在运输中会直接通过溶酶体膜进入溶酶体腔,且具有选择性,一般在动物细胞衰老反应的过程中经常发生此种途径^[8]。一般来说,机体处于生理以及病理的条件下均存在一定程度的自噬,处于正常范围内自噬对细胞能够起到一定的保护与修复,若一旦自噬过度激活则会造成本体细胞的损伤与死亡^[9]。

自噬是一个重要的细胞稳态过程,包含一系列不可或缺而降解和重新利用胞质材料的连续步骤。基本上自噬是一种在应激条件下的适应性反应,保证了衰老和受损细胞器的生理周转,由各种交叉信号控制细胞的命运。自噬在维持机体新陈代谢的过程中具有如下重要的作用:(1)自噬主要是对外源性刺激的适应性反应,其降解的产物能够供物质能量循环;(2)自噬能够参与一些组织的特异性融合^[10];(3)自噬是细胞保持稳定的管家机制,能够对过氧化物体、长寿蛋白以及线粒体进行更新;(4)自噬不仅能够清除细胞质内已经受损的细胞器以及代谢产物,对亚细胞水平进行重构,并对受损的细胞进行保护;除此之外,也能诱导细胞主动性死亡^[11]。

2 糖尿病视网膜病变与自噬关系研究

2.1 氧化应激

相关临床研究资料表明,线粒体会产生过多的过氧化物,因而可以对甘油醛3磷酸脱氢酶活性进行调节,并在一定程度上增加甘油二酯的产量^[12]。然后通过甘油醛3磷酸脱氢酶和甘油二酯与其他调控通路共同作用,最终能够参与糖尿病视网膜疾病的发生及发展^[13]。增加甘油二酯能够激活蛋白激酶C,进而提高活性氧的水平。氧化应激是线粒体呼吸链的副产物,当氧化应激含量超过细胞清除能力时,可能会对线粒体在内的细胞器与细胞产生一定的毒性作用,最终使得细胞功能失调或死亡^[14]。在对糖尿病视网膜病变的研究中发现,相关的细胞出现变形以及功能失调线粒体的堆积,则表明受损的线粒体清除机制可能被抑制。因此,对细胞清除损伤线粒体维持并保持内环境的稳态,可能会成为临床上治疗糖尿病视网膜疾病的新目标^[15]。对线粒体质量进行控制的主要方式是通过线粒体自噬过程来实现。氧化应激可以在一定程度上诱导线粒体自噬,从而能够在一定程度上通过对受损线粒体清除的方式来对细胞进行保护^[16]。相关研究指出,外源性过氧化氢可以通过对PERK的激活来对mTOR活性进行抑制,进而诱导自噬。但在AMD的研究中,氧化应激可能会导致溶酶体中脂褐素积累,从而会在一定程度上对自噬溶酶体的融合降解过程造成抑制^[17]。因此,仍需要进一步研究氧化应激与自噬的关系。

2.2 高血糖与血脂

糖尿病患者的细胞长期处于高糖以及高游离脂肪酸的环境中,各种途径均会导致患者细胞内环境出现紊乱,从而导致患者各种并发症的出现^[18]。在对糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的研究中我们可以发现,mTOR作为糖类以及脂类等营养物质的感应器,在高糖以及高脂的环境下会显著地增加其活性,从而便会在一定程度上抑制自噬。除此之外,由于高营养负荷状况会对AMPK以及Sirt1通路活性造成抑制,而这二者均为自噬激活的上游通路^[19]。相关研究表明,自噬过程中的抑制可能会在一定程度上导致ROS、AGE等有毒物质在细胞内积聚,并且会导致线粒体等重要的细胞器功能紊乱失去活性,从而无法及时地将其清除,进而会导致细胞内环境出现紊乱,最终细胞也会因功能失调而死亡^[20]。除此

之外,在对AMD研究中发现,正常的自噬功能能够有效地维持视网膜色素上皮细胞功能,从而能够延缓其衰老^[21]。

2.3 内质网应激与缺氧

内质网应激在糖尿病视网膜病变的发生中可能会发挥一定作用。内质网为自噬形成提供自噬体膜的来源以及构建骨架,其功能异常不仅会在一定程度上影响自噬的形成,也会诱导自噬清除失常的内质网^[22]。在糖尿病视网膜病变中,细胞在较长时间内会处于增强内质网应激状态中,因而会加速细胞出现凋亡,出现炎症。因此,在糖尿病患者并发症的发生及发展过程中,内质网的自噬过程可能起着一定的保护作用。此外,研究表明,缺氧也可能诱导细胞发生自噬。此过程主要是通过通过对缺氧诱导转录因子-1 α (HIF-1 α)激活方式来完成。HIF-1 α 诱导转录因子Bnip3及Bnip3L的过表达,会将Beclin1从与Bcl-2蛋白结合中释放,而在自噬的形成中被激活的Beclin1会参与其中。除此之外,Sirt1也可能通过脱乙酰化转录因子FOXO3而将Bnip3激活,从而将诱导自噬。在缺氧的环境下,线粒体会出现受损状况,在细胞内ROS积累进而对细胞造成损伤^[23]。因此,在清除受损线粒体、维持缺氧环境下,能够在一定程度上确保Bnip3诱导的自噬的细胞功能发挥正常。

2.4 自噬与糖尿病视网膜新生血管

相关研究表明,细胞自噬失调是导致糖尿病血管内皮细胞稳态受损的关键因素,并且在糖尿病视网膜新生血管(RNV)形成的过程中起到重要的作用,通过对自噬的抑制可以在一定程度上抑制动脉血管内皮细胞血管的生成^[24]。因而,有学者推测,在高糖诱导的RNV(视网膜新生血管)形成中自噬也可能起到重要作用。他们在体外研究中发现高糖能够激活猴脉络膜视网膜血管内皮细胞(RF/6A)自噬,促进RF/6A细胞迁移和管腔形成,通过自噬抑制剂3-MA可以显著抑制高糖诱导的细胞迁移和管腔形成^[25]。以往研究发现,chemerin是一种脂肪细胞因子,其血清表达水平在视网膜病变患者中升高,与增生性糖尿病视网膜病变具有相关性^[26],他们随后发现chemerin能够激活RF/6A细胞自噬,在体外能够促进RF/6A细胞新生血管的形成,通过抑制自噬能够抑制细胞增生、迁移和管腔形成,提示自噬参与chemerin诱导的RNV形成^[27]。在DR的发生中,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)起到重要作用,参与DR的发生发展。研究发现TNF- α 能够通过激活RF/6A细胞自噬,在体外能够促进新生血管的形成,通过抑制自噬能够抑制RF/6A细胞增生、迁移和管腔形成,提示自噬参与TNF- α 诱导的RNV形成^[28]。以上研究证实了自噬参与了糖尿病患者视网膜新生血管的形成。另有研究发现,自噬在糖尿病视网膜病变中可能起双重作用,在轻度氧化型低密度脂蛋白处理下,自噬能够保护视网膜毛细血管周细胞,减少周细胞凋亡,而在高度氧化型低密度脂蛋白处理下,自噬会进一步促进细胞凋亡。

2.5 自噬与DR的其他相关研究

最新研究发现^[29]:细胞内渗出和LDL修饰参与糖尿病视网膜病变的发生,自噬可能调节这些效应。利用免疫组化检测人和小鼠糖尿病及非糖尿病视网膜中的自噬标记蛋白LC3B的表达。在体外用修饰的高度氧化的糖化低密度脂蛋白(heavily-oxidisedglycated LDL, HOG-LDL)和天然的LDL处理培养的人视网膜毛细血管周细胞(human retinal capillary pericytes, HRCs);进一步在实验动物体内,给STZ诱导的糖尿病和对照组大鼠玻璃体内注射HOG-LDL及N-LDL

(玻璃体腔内蛋白浓度为 50 和 200mg/L),7d 后,分析视网膜的 ER 应激,自噬和凋亡。结果发现:与非糖尿病患者和小鼠相比,糖尿病患者的视网膜内自噬水平增加。在 HRCs, 50mg/L HOG-LDL 诱导了自噬,而不改变细胞活力,抑制自噬降低细胞存活。在 100~200mg/L 的浓度, HOG-LDL 引起明显的细胞死亡,抑制自噬或凋亡促进存活。25~200mg/L HOG-LDL 剂量依赖性地诱导氧化应激和 ER 应激, JNK 活化与自噬有关。在糖尿病大鼠视网膜,玻璃体腔内注射 50mg/L HOG-LDL 引起自噬和 ER 应激,而不引起凋亡;200mg/L 引起更明显的 ER 应激和凋亡。由此,作者认为自噬在 DR 中发挥双重作用。在中等刺激(50mg/L HOG-LDL)下它是保护性的;在更严重的刺激条件下(200mg/L HOG-LDL)它促进细胞死亡。

在 DR 中, Müller 细胞(MCs)是 VEGF 的主要来源,而 VEGF 是治疗 DR 的重要靶点。有研究发现^[30]:大鼠视网膜 Müller 细胞(rMCs)暴露于正常或高糖环境,结果发现高糖诱导早期和晚期自噬标记物的增加,在高糖下,抑制自噬导致更高的 rMC 凋亡率;在高糖中用雷帕霉素(自噬诱导剂)处理视网膜 MCs 显示出可以保护细胞免受凋亡。雷帕霉素激活自噬,阻止 VEGF 释放。在糖尿病的动物模型中,与对照组相比,糖尿病大鼠的视网膜中自噬相关蛋白表达增加。该研究结果证实:高糖能够上调自噬,但是由于溶酶体功能障碍,导致 rMCs 大量的 VEGF 释放和细胞死亡。溶酶体受损和自噬功能障碍是发生在 DR 病理过程中的早期事件,这对于研究治疗 DR 的新策略可能很有价值。

3 小结

糖尿病视网膜病变与自噬具有密切的关系。自噬可能在糖尿病视网膜病变发生的不同阶段起到不同作用,但是目前研究仍不深入,还需要更多的眼科学者开展进一步的研究,在不远的将来,自噬有望成为 DR 干预治疗的新靶点。

参考文献

- Xu Y, Wang L, He J, *et al.* Prevalence and control of diabetes in Chinese adults. *JAMA* 2013;310(9):948-959
- 吴炆. FoxO1 在糖尿病大鼠视网膜和视网膜内皮细胞 IL-1 β 诱导的自刺激中的作用及其机制. 郑州大学 2015
- 卢一, 许迅. 自噬与糖尿病视网膜病变相关性的研究进展. 中华眼科杂志 2012;48(7):649-652
- 梁馨予. 二氢杨梅素调控自噬保护高糖诱导血管内皮细胞损伤的作用研究. 第三军医大学 2014
- 屈岭, 梁晓春. 自噬对糖尿病慢性并发症的影响. 基础医学与临床 2013;33(5):631-634
- Rosa MD, Distefano G, Gagliano C, *et al.* Autophagy in Diabetic Retinopathy. *Curr Neuropharmacol* 2016;14(8):810-825
- 丁洁, 胡益民, 杨春, 等. AMPK-依赖性自噬信号通路在氯胺酮减轻大鼠糖尿病神经痛中的作用. 中华麻醉学杂志 2016;36(2):180-182
- Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, *et al.* The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ* 2011;18(4):571-580
- Wu WH, Zhang MP, Zhang F, *et al.* The role of programmed cell death in streptozotocin-induced early diabetic nephropathy. *J Endocrinol Invest* 2011;34(9):e296-e301
- Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer* 2007;7(12):961-967

- Peng KY, Horng LY, Sung HC, *et al.* Hepatocyte growth factor has a role in the amelioration of diabetic vascular complications via autophagic clearance of advanced glycation end products: Dispo85E, an HGF inducer, as a potential botanical drug. *Metabolism* 2011;60(6):888-892
- Hussey S, Terebiznik MR, Jones NL. Autophagy: healthy eating and self-digestion for gastroenterologists. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46(5):496-506
- Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol* 2010;12(9):814-822
- Klionsky DJ, Abeliovich H, Agostinis P, *et al.* Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes. *Autophagy* 2008;4(2):151-175
- Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, *et al.* Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia. *Br J Cancer* 2010;103(8):1209-1214
- Din FV, Valanciute A, Houde VP, *et al.* Aspirin inhibits mTOR signaling, activates AMP-activated protein kinase, and induces autophagy in colorectal cancer cells. *Gastroenterology* 2012;142(7):1504-1515
- Kitada M, Takeda A, Nagai T, *et al.* Dietary restriction ameliorates diabetic nephropathy through anti-inflammatory effects and regulation of the autophagy via restoration of Sirt1 in diabetic Wistar fatty (fa/fa) rats: a model of type 2 diabetes. *Exp Diabetes Res* 2011;2011:908185
- Cuervo AM. Autophagy: in sickness and in health. *Trends Cell Biol* 2004;14(2):70-77
- Kim R. Recent advances in understanding the cell death pathways activated by anticancer therapy. *Cancer* 2005;103(8):1551-1560
- Lee J, Giordano S, Zhang J. Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signaling. *Biochem J* 2012;441(2):523-540
- Orenstein SJ, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: molecular mechanisms and physiological relevance. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21(7):719-726
- Gonzalez CD, Lee MS, Marchetti P, *et al.* The emerging role of autophagy in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Autophagy* 2011;7(1):2-11
- Sahu R, Kaushik S, Clement CC, *et al.* Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell* 2011;20(1):131-139
- Orenstein SJ, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: molecular mechanisms and physiological relevance. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21(7):719-726
- 杜军辉, 刘佳丽, 马乐, 等. 自噬抑制剂 3-MA 抑制高糖条件下猴脉络膜视网膜血管内皮细胞血管形成. 临床眼科杂志 2015;23(5):456-460
- Du JH, Li R, Xu L, *et al.* Increased serum chemerin levels in diabetic retinopathy of type 2 diabetic patients. *Curr Eye Res* 2016;41(1):114-120
- Du JH, Li R, Yang L, *et al.* The role of autophagy in chemerin-induced angiogenesis of RF/6A cells. *Int J Clin Exp Med* 2016;9(9):17802-17811
- 李蓉, 杜军辉, 常远, 等. 肿瘤坏死因子- α 对 RF/6A 细胞自噬促进细胞增殖、迁移和管腔形成的影响. 眼科新进展 2015;35(12):1132-1136
- Fu D, Yu JY, Yang S, *et al.* Survival or death: a dual role for autophagy in stress-induced pericyte loss in diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2016;59(10):2251-2261
- Lopes DFJ, Duarte DA, Montemurro C, *et al.* Defective Autophagy in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(10):4356-4366