

自噬溶酶体途径缺陷与糖尿病性眼表病变关系的研究进展

王亚尼 综述 周庆军 谢立信 审校

山东第一医科大学附属眼科研究所 山东省眼部疾病重点实验室-省部共建国家重点实验室
培育基地 山东第一医科大学眼科学院, 青岛 266071

通信作者: 谢立信, Email: lixin_xie@hotmail.com

【摘要】 自噬溶酶体途径 (ALP) 是维持细胞内稳态, 清除细胞内未折叠的蛋白质、受损细胞器的重要降解系统, 自噬过程主要包括自噬体形成、自噬体与溶酶体融合、自噬底物在成熟溶酶体内降解。干眼、睑板腺功能障碍、角膜病变是常见的糖尿病眼表并发症, 临床表现为眼睛干涩、泪液分泌减少、角膜上皮延迟愈合、神经病变 (角膜敏感性降低) 及内皮功能障碍。糖尿病条件下晚期糖基化终末产物蓄积及活性氧的过量产生引起异常基因表达、氧化应激、炎症反应是糖尿病性眼表病变的重要发病机制。这些发病机制均涉及自噬调控基因缺陷、自噬相关蛋白表达异常及多条自噬信号通路的调控, 引起自噬体-溶酶体融合障碍、自噬底物累积及溶酶体功能异常等 ALP 缺陷, 进一步加重氧化应激及炎症因子的释放。糖尿病性眼表病变的发生和发展与 ALP 缺陷密切相关。本文就 ALP 缺陷与糖尿病性眼表病变关系的基础研究现状展开综述, 以期为研究糖尿病性眼表病变的发病机制和临床治疗提供新的思路。

【关键词】 糖尿病/并发症; 眼表疾病; 自噬溶酶体途径; 氧化应激; 晚期糖基化终末产物

基金项目: 山东省第一医科大学学术提升计划 (2019ZL001)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20210111-00025

Research progress of autophagy-lysosomal pathway dysfunction in ocular surface diseases associated with diabetes mellitus

Wang Yani, Zhou Qingjun, Xie Lixin

Eye Institute of Shandong First Medical University, State Key Laboratory Cultivation Base, Shandong Key Laboratory of Eye Diseases, School of Ophthalmology, Shandong First Medical University, Qingdao 266071, China

Corresponding author: Xie Lixin, Email: lixin_xie@hotmail.com

【Abstract】 Autophagy-lysosomal pathway (ALP) is the degradation system that remove unfolded proteins and damaged organelles in cells, and plays an important role in maintaining intracellular homeostasis. The process of autophagy mainly includes autophagosome formation, autophagosome-lysosome fusion, and degradation of cargoes in mature lysosomes by lysosomal enzymes. Dry eye disease, meibomian gland dysfunction and keratopathy are common ocular surface diseases associated with diabetes mellitus, and clinical manifestations include dry eyes, reduced tear secretion, persistent corneal epithelial defects, neuropathy (decreased corneal sensitivity) and endothelial cell dysfunction. Aberrant expression of gene, oxidative stress and inflammation related advanced glycosylation end products and reactive oxygen species are significant pathogenesis of ocular surface diseases related to diabetes. Moreover, the above pathogenesis involves defects of autophagy regulatory gene, abnormal expression of autophagy related protein and activation of autophagy signaling pathway which lead to the defects of ALP such as autophagosome lysosome fusion disorder, accumulation of cargoes and abnormal lysosomal function, and the deficiency of autophagy further promoting the oxidative stress and release of inflammatory factors. The occurrence and development of ocular surface diseases associated with diabetes are closely related to the defects of ALP. This article reviews the basic research status between the defects of ALP and diabetic ocular surface diseases to provide new ideas for the mechanism and treatment research.

【Key words】 Diabetes mellitus, complications; Ocular surface disease; Autophagy-lysosomal pathway; Oxidative stress; Advanced glycation end products

Fund program: The Academic Promotion Program and Innovation Project of Shandong First Medical University (2019ZL001)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20210111-00025

糖尿病是多病因引起的以胰岛素抵抗或胰岛 B 细胞功能受损、血液中葡萄糖含量增高为特点的慢性代谢性疾病。糖尿病及其并发症给人类健康和社会经济带来严重负担,其患病率在全球呈指数增长,预计 2045 年糖尿病患者将达 6.93 亿^[1]。自噬是细胞的一种自我保护机制,其中自噬溶酶体途径 (autophagy lysosome pathway, ALP) 是细胞内清除未折叠蛋白质及受损细胞器的降解系统,其功能正常发挥对细胞内稳态起重要的调控作用。许多代谢紊乱性疾病包括肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化及神经退行性疾病等均已证实与 ALP 稳态的缺陷有关^[2]。高血糖会引起肾脏、眼睛、心血管系统等全身各个器官组织发生一系列严重并发症^[3-5]。研究证实 ALP 缺陷参与糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 等并发症的发病机制^[6-7]。糖尿病性眼表病变包括干眼、睑板腺功能障碍 (meibomian gland dysfunction, MGD)、糖尿病性角膜病变^[8]。目前在糖尿病干眼、角膜创伤愈合及糖尿病角膜神经病变等方面已涉及 ALP 缺陷。本文就 ALP 缺陷与糖尿病性眼表病变关系的研究现状展开综述,以增加对糖尿病性眼表疾病发病机制的认识及理解。

1 糖尿病性眼表病变的临床特征与发病机制

糖尿病会导致人眼表的组织结构和功能发生改变^[8],临床特征包括眼睛干涩、畏光、泪液分泌物减少、角膜上皮持续性缺损和复发性糜烂、溃疡、角膜基质水肿、神经病变 (角膜敏感性降低) 及内皮细胞功能障碍^[9-10]。糖尿病患者角膜创伤通常偏离正常的伤口愈合机制,对治疗无反应,体内共聚焦显微镜显示糖尿病患者角膜上皮基底细胞及基底下神经丛的神经纤维束密度明显降低,角膜神经支配水平降低又导致上皮基底细胞衰竭^[10-11],这是引起角膜上皮延迟愈合的原因之一。此外,糖尿病可引起泪液分泌功能障碍及 MGD 导致干眼,此类患者行眼部手术如白内障手术、角膜屈光手术后更容易出现角膜上皮缺损或溃疡,使治疗复杂化。

糖尿病性眼表病变潜在发病机制包括异常基因表达、炎症反应、角膜上皮细胞与基底膜间异常粘连、蛋白水解酶活化增强及晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 蓄积和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 过量产生。角膜组织累积的 AGEs 与其受体 (receptor of AGEs, RAGE) 相互作用引起 ROS 过量产生,诱导氧化应激、炎症反应、免疫细胞活化是导致糖尿病泪腺功能损伤、角膜上皮创面愈合缺陷、基底下神经和基质神经异常、角膜内皮功能障碍的主要机制^[11]。但糖尿病性眼表病变具体发病机制并未完全明确,各种发病机制的确切作用及相互联系仍有待阐明。

2 ALP 的功能与调节

自噬包括大自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬,在饥饿、生长因子剥夺、内质网应激和病原体感染等应激条件下,自噬被激活以维持细胞内稳态^[12]。大自噬即自噬,由自噬溶酶体参与的细胞内自噬降解系统,自噬过程主要包括自噬体形成、自噬体与溶酶体融合、自噬底物在成熟溶酶体内的降解,受多

个自噬调控因子及信号通路调控。自噬体形成依赖的多个基因包括 *Map1lc3B/LC3B*、*Becn1/Beclin-1* 及其他自噬相关基因 (autophagy related genes, ATG) 对自噬过程起重要调控作用^[13-14]。Sirtuins 是一类依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的脱乙酰酶,由 7 个异构体 (Sirt1 到 Sirt7) 组成,Sirt1 和 Sirt3 已被证实参与调节 ALP,抑制与自噬相关的 NLRP3 炎症小体活化,减轻氧化应激,并且通过调节去乙酰化自噬相关基因 *ATG5*、*ATG7*、*ATG8*、*Foxo* 直接影响自噬过程^[15-16]。自噬调控基因异常表达可引发自噬体形成障碍、自噬体与溶酶体融合障碍、自噬底物的累积和溶酶体功能异常等自噬缺陷,破坏细胞内稳态^[6,17]。

酸性水解酶和溶酶体膜蛋白 (lysosomal-associated membrane protein, LAMP) 决定溶酶体的功能^[18]。水解酶最佳活性的 PH 值为 5,其中组织蛋白酶是较重要的溶酶体蛋白酶,在酸性 pH 值下保持稳定和活性^[19]。氧化应激、炎症反应引起溶酶体膜通透性改变,组织蛋白酶选择性地释放入胞质,激活 Bcl-2 家族蛋白,从而引起细胞凋亡^[20]。LAMP- I 与 LAMP- II 是溶酶体功能标志物,其中 LAMP- II 是自噬体与溶酶体融合所必需的标志性蛋白。溶酶体酸化程度改变,未折叠蛋白的积累与细胞的营养状态可以改变溶酶体的定位与运动^[21]。在营养过剩条件下,溶酶体定位细胞外周区域,而在养分耗尽后,溶酶体向细胞核周边区域迁移,以促进自噬体-溶酶体融合^[22]。溶酶体的胞浆内运动对于溶酶体的生物发生、蛋白质量控制和代谢等细胞稳态的过程至关重要。

雷帕霉素复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 位于溶酶体膜,是自噬调节靶点^[23]。在应激、外伤及其他因素刺激下启动自噬信号通路级联反应,上调腺嘌呤核糖核苷酸依赖的蛋白质激酶抑制 mTORC1,通过应激信号通路调控并启动新生自噬体的形成, *BECN1/Beclin-1* 与 *LC3* 是自噬体形成的标志性蛋白, *P62/SQSTM1* 是判断自噬通量标志物, *LC3-II/LC3-I* 是评估自噬活性的标志物,自噬激活后, *LC3-II/LC3-I* 比值升高^[24]。转录因子 EB (translocation factor EB, TFEB) 是自噬体和自噬溶酶体生物发生的主要调控因子,能够被 mTORC1 磷酸化,而去磷酸化的 TFEB 增加自噬体和溶酶体基因表达,促进自噬体与溶酶体融合,降低溶酶体酶 PH 值,减少自噬底物的积累^[25-27]。溶酶体膜可能是 ROS 信号的直接靶点,其损伤依赖于 ROS 的产生^[28],溶酶体瞬时电位受体通道 1 是定位于溶酶体膜的 ROS 传感器,其活性介导 Ca^{2+} 从溶酶体管腔释放到胞质。在饥饿和 ROS 等多种应激条件激活,ROS 通过溶酶体 Ca^{2+} 依赖机制激活 TFEB,进而通过自噬依赖性负反馈程序来减轻细胞内的氧化应激^[29-30]。

3 ALP 缺陷与糖尿病性眼表病变

糖尿病相关慢性眼表疾病包括干眼、MGD、角膜病变,主要是由高糖状态糖基化产物的沉积、角膜神经末梢损伤、泪液分泌减少和氧化应激引起^[11]。高糖条件下 AGEs 累积引起的抗氧化防御能力受损,高水平 ROS 激活 NLRP3 炎症小体,促进 caspase-1 依赖的白细胞介素 (interleukin, IL)-1B 分泌,加重组织氧化应激损伤,而持续的氧化应激损伤是自噬异常的前提和

基础^[31]。ALP 缺陷导致自噬蛋白和炎症小体成分之间直接相互作用增强线粒体 ROS 的产生从而间接激活 NLRP3 炎症小体,加重组织炎症反应,引起细胞凋亡增加^[32]。ALP 缺陷与氧化应激、炎症反应密切相关,三者之间可以形成恶性循环,进一步加重组织及细胞的氧化应激及炎性损伤。

3.1 ALP 缺陷与糖尿病干眼

ALP 在平衡宿主免疫与炎症反应中存在缺陷,高糖环境下内分泌和免疫因素引起基因表达异常,诱导持续性氧化应激及凋亡、炎症相关基因表达增加,破坏睑板腺上皮细胞稳态^[33]。过氧化氢酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptors γ , PPAR γ) 是睑板腺细胞分化和功能的主要调节因子,并参与自噬过程调节^[34]。有研究发现干眼大鼠和糖尿病大鼠泪腺中 PPAR γ 及 Sirt1 表达降低,而肿瘤坏死因子 α 、IL-1 β 、IL-6、MyD88 和转化生长因子 β 表达上调^[35]。睑板腺与皮肤皮脂细胞具有相同分泌脂质的作用,皮肤皮脂腺细胞自噬相关蛋白 ATG7 的缺失导致自噬缺陷,引起腺体形态改变,脂质细胞破坏,皮脂类比例改变^[36],高糖下自噬相关因子异常表达引起的自噬缺陷能够促进睑板腺细胞炎症因子释放,加重组织的炎性损伤。Alves 等^[37]报道糖尿病大鼠泪腺中 AGEs、RAGE 和 NF- κ B 表达明显上调,它们共同参与糖尿病干眼相关的信号传导和炎症改变;Zoukhri 等^[38]和 Srinivasan 等^[39]通过动物实验证实炎症应激条件下,自噬相关蛋白异常表达及溶酶体功能异常等自噬缺陷引起泪腺腺泡丢失、泪腺及唾液腺的分泌损伤;而且糖尿病条件下 AGEs 累积诱导氧化应激改变眼表面蛋白基质的结构,如与糖尿病干眼相关的多功能泪腺糖蛋白表达缺陷,不能有效触发自噬改善自噬通量,从而增加炎症因子对角膜上皮细胞的损伤^[40]。另有研究表明糖尿病患者角膜上皮细胞 Sirt1 及 Foxo3 表达下调,氧化应激增强,表现出泪液分泌明显减少并伴有角膜上皮严重损伤,高糖环境同时抑制 Sirt3,并通过 Foxo3a/Pink1-Parkin 信号轴介导线粒体自噬水平下调,引起自噬体形成及自噬体-溶酶体融合障碍,诱导 ROS 过量产生,继而导致干眼的发生及角膜上皮延迟愈合^[41]。以上研究表明,糖尿病条件下 AGEs 及 ROS 诱导炎症反应及氧化应激引起自噬调控相关因子表达异常,导致自噬缺陷,进一步加重泪腺组织与角膜上皮细胞的氧化应激性损伤。

自噬抑制剂及诱导剂通过调控自噬水平减轻应激状态下炎症反应,如干燥应激条件下人角膜上皮细胞及角膜成纤维细胞丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 mTOR 通路蛋白的磷酸化水平发生改变,IL-6、肿瘤坏死因子 α 、MCP-1 和 MMP-9 基因表达上调,自噬抑制剂氯喹通过调控核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 通路抑制 p65/RelA 的磷酸化和核易位,阻断下游炎症因子基因转录以减轻炎症^[42]。自噬诱导可能通过清除积累的蛋白质和受损的分泌小泡,帮助减轻泪腺炎症。干燥综合征动物模型证实自噬激活剂如雷帕霉素通过抑制 Akt3 基因表达诱导自噬,减轻自身免疫介导的泪腺炎症,促进泪液分泌^[43]。

3.2 ALP 缺陷与糖尿病角膜上皮延迟愈合

2 型糖尿病患者皮肤 AGEs 累积诱导 ROS 生成,激活

NLRP3 炎症小体,促进 caspase-8/3 依赖的人皮肤成纤维细胞凋亡^[44];糖尿病足溃疡 AGEs 蓄积诱导溶酶体定位的关键调节因子 Arl8 表达上调,Arl8 依赖抑制自噬体-溶酶体融合,减少巨噬细胞自噬通量引起自噬缺陷^[45],导致皮肤溃疡延迟愈合。Nakahira 等^[46]报道自噬基因缺陷小鼠模型的巨噬细胞存在自噬蛋白 LC3B 和 Beclin-1 表达缺陷,caspase-1 介导的线粒体 ROS 产生和 IL-1、IL-18 的分泌增强,引起异常功能线粒体累积及炎症反应,而自噬蛋白与炎症小体成分之间的相互作用又导致线粒体 ROS 过量产生,促进炎症因子释放^[32];Sirt3 缺陷巨噬细胞中转录表达 TFEB 的 mRNA、自噬体/溶酶体共定位、自噬通量及自噬体标志物均表达下调,炎性细胞因子 TNF、IL-1B 和 IL-6 表达水平明显升高^[47]。糖尿病条件下 AGEs 诱导炎症因子大量释放,并通过调控自噬相关因子激活炎性信号通路导致自噬途径缺陷是影响糖尿病皮肤溃疡愈合的重要机制。

与皮肤创面愈合一样,自噬缺陷与炎症均参与角膜创面愈合的基本过程^[48]。ALP 功能发挥正常保持有助于维持角膜缘上皮细胞增殖,通过调节自噬标记物 LC3 和 LAMP- I 及溶酶体含量减轻氧化应激对角膜上皮的损害^[33]。有研究发现自噬缺陷型 (Beclin-1^{-/-}) 小鼠角膜上皮损伤愈合显著延迟,猜测可能是 ALP 终末期缺陷导致角膜缘干细胞活化失败有关^[49]。另外高糖环境 AGEs 沉积于角膜上皮细胞、上皮基底膜,AGEs 与 RAGE 相互作用导致氧化/抗氧化防御系统失衡,释放促炎因子,包括 NF- κ B、NLRP3 炎症小体,延缓角膜伤口愈合^[11]。AGEs 蓄积是影响角膜上皮细胞的有效迁移,导致伤口延迟愈合和复发性侵蚀的主要原因,而 AGEs 蓄积引起的自噬缺陷可能是导致炎症因子释放的直接原因。由 AGEs 引起角膜上皮细胞自噬缺陷的相关信号通路及调控机制尚不清楚,推测糖尿病条件下角膜上皮细胞 AGEs 引起自噬调控因子及自噬相关蛋白表达异常,导致自噬缺陷进一步加重氧化应激及炎症反应参与糖尿病角膜上皮损伤延迟愈合。

3.3 ALP 缺陷与糖尿病角膜神经病变

ALP 正常功能维持对神经损伤起重要保护作用^[50]。有研究发现溶酶体功能损伤引起的自噬功能降低将导致神经退行性疾病,如糖尿病视神经病变中神经元的丢失^[7];高糖条件下氧化应激激活 JNK 通路增加 LC3A/B、Beclin-1 等自噬调控相关蛋白和促凋亡因子的分泌,降低大鼠外周神经 Schwann 细胞增殖能力,导致 caspase 依赖的细胞死亡,而丹酚酸 B 通过降低自噬相关蛋白水平,促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 分泌可以提高大鼠 Schwann 细胞增殖能力^[51];1 型糖尿病小鼠坐骨神经元 Schwann 细胞在体外高糖环境下组蛋白去乙酰化酶表达上调,自噬受到抑制,且以组蛋白去乙酰化酶-Atg3 依赖的方式抑制 LC3-II/LC3-I 表达,以组蛋白去乙酰化酶非依赖的形式通过 JAK-STAT3 信号通路降低 P62 表达^[52]。高糖条件下氧化应激或异常基因调控激活 JNK、JAK-STAT 等多条信号通路引起自噬缺陷,导致外周神经胶质细胞凋亡,但高糖环境下信号通路的激活导致自噬活性标志物表达上调后仍有可能存在自噬过程终末期缺陷。体内动物实验及体外培养的视网膜神经元 Müller 细胞在高糖环境下自噬标志物上调,但表现出溶酶体功

能损伤及自噬底物累积,组织蛋白酶 L 活性降低,caspase-8 活化,引起血管内皮生长因子大量释放及细胞凋亡^[7]。雷帕霉素抑制 mTORC1 靶点,恢复溶酶体组织蛋白酶水解活性,促进组织蛋白酶 L 表达,抑制 caspase-8 活性,改善溶酶体功能以减少自噬底物的积累对视网膜神经元细胞的损伤,溶酶体损伤是 DR 发病的早期事件^[7]。海藻糖作为一种不依赖 mTORC1 的自噬激活剂,直接参与自噬体形成并增强自噬关键调节因子的活性,恢复自噬活性以清除功能受损的细胞器,并有望成为治疗自噬缺陷疾病的一种选择^[53]。高糖条件下氧化应激上调视网膜神经元 Müller 细胞自噬现象,溶酶体介导的自噬功能障碍是视网膜神经元 Müller 细胞凋亡的主要原因。但溶酶体介导的自噬终末期缺陷在糖尿病视网膜病变中涉及的信号调控尚不清楚,在糖尿病角膜神经病变中更缺乏相关的研究。

自噬基因缺陷可引起神经发育异常及神经退行性病变^[54]。目前研究发现一些 miRNA 通过调节自噬相关蛋白基因表达参与糖尿病周围神经病变,miR-195 表达上调通过靶向 ATG14 抑制自噬,加重神经炎症和神经病理性疼痛^[55];miR-1273g-3p 在糖尿病小鼠视网膜色素细胞中高表达,通过调节 ALP 相关因子参与 DR 的进展^[56]。角膜神经支配来源于三叉神经节的分支,通过与三叉神经节感觉神经元相互作用影响角膜上皮创面愈合。有研究发现 miR-34c、miR-181a 在糖尿病三叉神经神经节中表达明显上调,分别下调自噬相关蛋白 ATG4B、ATG5 表达引起自噬缺陷延缓糖尿病三叉神经感觉神经元的生长和角膜神经末梢的修复^[57-58]。另有报道 miRNA-182 受 Sirt1 调控及 miRNA-204-5p 介导 Sirt1 参与糖尿病角膜神经再生及上皮损伤修复^[59-60]。以上研究表明,多个基因能够调控自噬相关蛋白表达引起自噬缺陷参与糖尿病角膜神经病变,但自噬缺陷的具体过程及其如何参与糖尿病角膜神经病变目前尚不清楚,以上结果为研究自噬缺陷在糖尿病角膜神经病变中的作用机制提供了参考方向。

3.4 ALP 缺陷与糖尿病角膜内皮病变

自噬缺陷在糖尿病和衰老相关的内皮功能障碍方面起重要作用,高度应激状态引起的 ALP 缺陷是导致血管内皮细胞功能障碍的原因之一^[61]。AGEs 蓄积诱导氧化应激是引起溶酶体膜通透性改变及溶酶体功能损伤的主要机制。Hou 等^[62]报道糖尿病肾小球内皮细胞 AGEs 累积诱导 ROS 及炎症因子过量产生,导致 P62/Sqstm1 累积,LC3-II 与 LC3-I 比值及 Beclin-1 表达下调;Zhang 等^[63]报道糖尿病患者主动脉内膜和血管内皮细胞存在自噬体-溶酶体融合受损,体外实验发现高糖条件下长时间的 AGEs 刺激会通过诱导 Foxo1 抑制 Ag14 表达,削弱自噬体-溶酶体融合,介导 AGEs 诱导的主动脉内皮细胞自噬性凋亡。与以上研究结果不同,Fetterman 等^[64]发现糖尿病患者血管内皮细胞自噬启动标志物 LC3 和 Beclin-1 表达与非糖尿病患者无明显差异,而糖尿病患者自噬终末期指标溶酶体蛋白 LAMP2a 和组织蛋白酶 B、P62 表达上调,利用自噬抑制剂巴弗洛霉素抑制自噬体-溶酶体融合导致自噬溶酶体减少,P62 表达明显升高,表明糖尿病条件下血管内皮细胞自噬过程终末期存在缺陷。高糖环境下 AGEs 通过氧化应激激活炎

性通路或通过调控自噬相关因子引起自噬体-溶酶体融合等自噬过程终末期缺陷导致糖尿病血管内皮细胞自噬性凋亡,但导致自噬过程缺陷的多种调控机制之间的内在联系尚不清楚。

慢性高糖环境下人角膜内皮细胞表现出密度下降及六边形形态改变,与非糖尿病患者相比,糖尿病患者角膜内皮细胞变异系数升高,并与糖尿病病程有明显相关性^[65-66]。AGEs 与 RAGE 的相互作用是糖尿病角膜内皮细胞发生氧化应激的上游通路,其产生高水平 ROS 导致角膜内皮细胞氧化/抗氧化系统失衡,炎症因子活化,抗凋亡因子 Bcl-2 表达降低^[11,38,67],而自噬缺陷减少内皮一氧化氮合酶的磷酸化和一氧化氮产生,增加内皮细胞 ROS 产生和炎症细胞因子分泌^[68]。关于 ALP 缺陷在糖尿病角膜内皮病变的研究较少,有报道在培养的牛角膜内皮细胞中,角膜后弹力层累积的 AGEs 减弱角膜内皮细胞的粘附力及迁移,并且通过氧化应激通路诱导细胞凋亡,晚期糖尿病供体患者的角膜内皮细胞表现出自噬体/溶酶体的积累^[22,69]。自噬缺陷在糖尿病角膜内皮病变中具体调控机制尚不清楚,推测 AGEs 蓄积引起的自噬缺陷参与糖尿病角膜内皮细胞氧化应激及炎症损伤的重要机制。

4 结语与展望

综上所述,自噬体形成障碍、自噬体-溶酶体融合障碍、自噬底物累积、溶酶体功能异常等自噬缺陷参与糖尿病干眼、角膜创伤愈合、神经病变及内皮功能障碍,自噬过程缺陷涉及多个自噬相关因子及多条信号通路的调控,其机制包括异常基因表达、氧化应激、炎症反应。AGEs 介导的自噬调控因子异常表达引起自噬体-溶酶体融合障碍及溶酶体功能异常,诱导 NLRP3 小体活化,促进炎症因子释放,导致糖尿病干眼及角膜上皮延迟愈合;氧化应激及自噬基因缺陷通过调控不同的信号通路引起溶酶体功能异常及自噬底物累积,引起 caspase 依赖的细胞死亡,导致糖尿病外周神经病变。自噬增强剂(海藻糖、雷帕霉素)、组蛋白去乙酰化酶 6 抑制剂及过氧化氢酶在糖尿病动物模型中证实可以调控自噬关键因子表达,改善溶酶体功能等促进自噬活性以减少细胞凋亡^[70]。ALP 缺陷在糖尿病角膜上皮损伤延迟愈合、角膜神经病变、角膜内皮病变的机制研究尚浅,在糖尿病角膜上皮延迟愈合及角膜神经病变方面,因氧化应激引起溶酶体功能异常等自噬缺陷的相关信号通路及调控机制尚不完全明确,自噬缺陷在糖尿病 MGD 及角膜内皮病变中的直接作用及调控机制也尚未开展。ALP 缺陷在糖尿病性眼表病变中的作用及具体调控机制有待进一步研究,通过调控 ALP 缺陷治疗糖尿病性眼表病变可能是未来新的靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138: 271-281. DOI: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
- [2] Costantino S, Paneni F. GLP-1-based therapies to boost autophagy in cardiometabolic patients: From experimental evidence to clinical trials [J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 115: 64-68. DOI: 10.1016/j.vph.

2019. 03. 003.
- [3] Paneni F, Lüscher TF. Cardiovascular protection in the treatment of type 2 diabetes; a review of clinical trial results across drug classes [J]. *Am J Cardiol*, 2017, 120 (1S) : S17–S27. DOI: 10. 1016/j. amjcard. 2017. 05. 015.
- [4] Dow C, Mancini F, Rajaobelina K, et al. Diet and risk of diabetic retinopathy; a systematic review [J]. *Eur J Epidemiol*, 2018, 33 (2) : 141–156. DOI: 10. 1007/s10654-017-0338-8.
- [5] Sardu C, De Lucia C, Wallner M, et al. Diabetes mellitus and its cardiovascular complications; new insights into an old disease [J/OL]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019 : 1905194 [2024 - 06 - 10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31236416>. DOI: 10. 1155/2019/1905194.
- [6] Liu WJ, Shen TT, Chen RH, et al. Autophagy-lysosome pathway in renal tubular epithelial cells is disrupted by advanced glycation end products in diabetic nephropathy [J/OL]. *J Biol Chem*, 2015, 290 (33) : 20499–20510 [2024 - 06 - 10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26100632>. DOI: 10. 1074/jbc. M115. 666354.
- [7] Lopes de Faria JM, Duarte DA, Montemurro C, et al. Defective autophagy in diabetic retinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57 (10) : 4356–4366. DOI: 10. 1167/iovs. 16-19197.
- [8] Zhou Q, Yang L, Wang Q, et al. Mechanistic investigations of diabetic ocular surface diseases [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13 : 1079541 [2024 - 06 - 10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36589805>. DOI: 10. 3389/fendo. 2022. 1079541.
- [9] Ljubimov AV. Diabetic complications in the cornea [J]. *Vision Res*, 2017, 139 : 138–152. DOI: 10. 1016/j. visres. 2017. 03. 002.
- [10] Priyadarsini S, Whelchel A, Nicholas S, et al. Diabetic keratopathy: insights and challenges [J]. *Surv Ophthalmol*, 2020, 65 (5) : 513–529. DOI: 10. 1016/j. survophthal. 2020. 02. 005.
- [11] Buonfiglio F, Wasielica-Poslednik J, Pfeiffer N, et al. Diabetic keratopathy: redox signaling pathways and therapeutic prospects [J/OL]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13 (1) : 120 [2024 - 06 - 10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38247544>. DOI: 10. 3390/antiox13010120.
- [12] He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy [J]. *Annu Rev Genet*, 2009, 43 : 67–93. DOI: 10. 1146/annurev-genet-102808-114910.
- [13] Lenoir O, Jasiek M, Hénique C, et al. Endothelial cell and podocyte autophagy synergistically protect from diabetes-induced glomerulosclerosis [J]. *Autophagy*, 2015, 11 (7) : 1130–1145. DOI: 10. 1080/15548627. 2015. 1049799.
- [14] Levine B, Kroemer G. Biological functions of autophagy genes: a disease perspective [J]. *Cell*, 2019, 176 (1–2) : 11–42. DOI: 10. 1016/j. cell. 2018. 09. 048.
- [15] Liu P, Huang G, Wei T, et al. Sirtuin 3-induced macrophage autophagy in regulating NLRP3 inflammasome activation [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864 (3) : 764–777. DOI: 10. 1016/j. bbadis. 2017. 12. 027.
- [16] Ou X, Lee MR, Huang X, et al. SIRT1 positively regulates autophagy and mitochondria function in embryonic stem cells under oxidative stress [J]. *Stem Cells*, 2014, 32 (5) : 1183–1194. DOI: 10. 1002/stem. 1641.
- [17] Rubinsztein DC, DiFiglia M, Heintz N, et al. Autophagy and its possible roles in nervous system diseases, damage and repair [J]. *Autophagy*, 2005, 1 (1) : 11–22. DOI: 10. 4161/auto. 1. 1. 1513.
- [18] Trivedi PC, Bartlett JJ, Pulini kunnill T. Lysosomal biology and function: modern view of cellular debris bin [J/OL]. *Cells*, 2020, 9 (5) : 1131 [2024-06-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32375321>. DOI: 10. 3390/cells9051131.
- [19] Kaminsky V, Zhivotovsky B. Proteases in autophagy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1824 (1) : 44–50. DOI: 10. 1016/j. bbapap. 2011. 05. 013.
- [20] Gros F, Muller S. The role of lysosomes in metabolic and autoimmune diseases [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19 (6) : 366–383. DOI: 10. 1038/s41581-023-00692-2.
- [21] Bonifacino JS, Neeffjes J. Moving and positioning the endolysosomal system [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 47 : 1–8. DOI: 10. 1016/j. ceb. 2017. 01. 008.
- [22] Pu J, Guardia CM, Keren-Kaplan T, et al. Mechanisms and functions of lysosome positioning [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129 (23) : 4329–4339. DOI: 10. 1242/jcs. 196287.
- [23] Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease [J]. *Cell*, 2017, 169 (2) : 361–371. DOI: 10. 1016/j. cell. 2017. 03. 035.
- [24] Yang Z, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22 (2) : 124–131. DOI: 10. 1016/j. ceb. 2009. 11. 014.
- [25] Wang H, Wang N, Xu D, et al. Oxidation of multiple MiT/TFE transcription factors links oxidative stress to transcriptional control of autophagy and lysosome biogenesis [J]. *Autophagy*, 2020, 16 (9) : 1683–1696. DOI: 10. 1080/15548627. 2019. 1704104.
- [26] Martina JA, Chen Y, Gucek M, et al. MTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB [J]. *Autophagy*, 2012, 8 (6) : 903–914. DOI: 10. 4161/auto. 19653.
- [27] Settembre C, Di Malta C, Polito VA, et al. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis [J]. *Science*, 2011, 332 (6036) : 1429–1433. DOI: 10. 1126/science. 1204592.
- [28] Zhang X, Cheng X, Yu L, et al. MCOLN1 is a ROS sensor in lysosomes that regulates autophagy [J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7 : 12109 [2024-06-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27357649>. DOI: 10. 1038/ncomms12109.
- [29] Papadopoulos C, Meyer H. Detection and clearance of damaged lysosomes by the endo-lysosomal damage response and lysophagy [J]. *Curr Biol*, 2017, 27 (24) : R1330–R1341. DOI: 10. 1016/j. cub. 2017. 11. 012.
- [30] Ballabio A, Bonifacino JS. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21 (2) : 101–118. DOI: 10. 1038/s41580-019-0185-4.
- [31] Hu J, Hu X, Kan T. MiR-34c participates in diabetic corneal neuropathy via regulation of autophagy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60 (1) : 16–25. DOI: 10. 1167/iovs. 18-24968.
- [32] Wang Y, Li YB, Yin JJ, et al. Autophagy regulates inflammation following oxidative injury in diabetes [J]. *Autophagy*, 2013, 9 (3) : 272–277. DOI: 10. 4161/auto. 23628.
- [33] Yıldız E, Zibandeh N, Özer B, et al. Effects of type 2 diabetes mellitus on gene expressions of mouse meibomian glands [J]. *Curr Eye Res*, 2020, 45 (1) : 72–80. DOI: 10. 1080/02713683. 2019. 1656750.
- [34] Zhao T, Wu K, Hogstrand C, et al. Lipophagy mediated carbohydrate-induced changes of lipid metabolism via oxidative stress, endoplasmic reticulum (ER) stress and ChREBP/PPAR γ pathways [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77 (10) : 1987–2003. DOI: 10. 1007/s00018-019-03263-6.
- [35] Mu PY, Chu CC, Yu D, et al. PPAR γ : the dominant regulator among PPARs in dry eye lacrimal gland and diabetic lacrimal gland [J]. *Int J Ophthalmol*, 2020, 13 (6) : 860–869. DOI: 10. 18240/ijo. 2020. 06. 02.
- [36] Rossiter H, Stübiger G, Gröger M, et al. Inactivation of autophagy leads to changes in sebaceous gland morphology and function [J]. *Exp Dermatol*, 2018, 27 (10) : 1142–1151. DOI: 10. 1111/exd. 13752.
- [37] Alves M, Calegari VC, Cunha DA, et al. Increased expression of advanced glycation end-products and their receptor, and activation of nuclear factor kappa-B in lacrimal glands of diabetic rats [J]. *Diabetologia*, 2005, 48 (12) : 2675–2681. DOI: 10. 1007/s00125-005-0010-9.
- [38] Zoukhri D, Fix A, Alroy J, et al. Mechanisms of murine lacrimal gland repair after experimentally induced inflammation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 (10) : 4399–4406. DOI: 10. 1167/iovs. 08-1730.
- [39] Srinivasan S, Thangavelu M, Zhang L, et al. iTRAQ quantitative proteomics in the analysis of tears in dry eye patients [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53 (8) : 5052–5059. DOI: 10. 1167/iovs. 11-9022.
- [40] Yang X, Pan X, Zhao X, et al. Autophagy and age-related eye diseases [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019 : 5763658 [2024 - 06 - 16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31950044> DOI: 10. 1155/



- 2019/5763658.
- [41] Hu J, Kan T, Hu X. Sirt3 regulates mitophagy level to promote diabetic corneal epithelial wound healing [J]. *Exp Eye Res*, 2019, 181 : 223-231. DOI: 10.1016/j.exer.2019.02.011.
- [42] Shivakumar S, Panigrahi T, Shetty R, et al. Chloroquine protects human corneal epithelial cells from desiccation stress induced inflammation without altering the autophagy flux[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018 : 7627329 [2024-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30519584>. DOI: 10.1155/2018/7627329.
- [43] Shah M, Edman MC, Reddy Janga S, et al. Rapamycin eye drops suppress lacrimal gland inflammation in a murine model of Sjögren's syndrome[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(1) : 372-385. DOI: 10.1167/iovs.16-19159.
- [44] Dai J, Chen H, Chai Y. Advanced glycation end products (ages) induce apoptosis of fibroblasts by activation of NLRP3 inflammasome via reactive oxygen species (ROS) signaling pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25 : 7499-7508. DOI: 10.12659/MSM.915806.
- [45] Xie X, Yang C, Duan C, et al. Advanced glycation end products reduce macrophage-mediated killing of *Staphylococcus aureus* by ARL8 upregulation and inhibition of autolysosome formation [J]. *Eur J Immunol*, 2020, 50(8) : 1174-1186. DOI: 10.1002/eji.201948477.
- [46] Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VA, et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(3) : 222-230. DOI: 10.1038/ni.1980.
- [47] Kim TS, Jin YB, Kim YS, et al. SIRT3 promotes antimicrobial defenses by coordinating mitochondrial and autophagic functions [J]. *Autophagy*, 2019, 15(8) : 1356-1375. DOI: 10.1080/15548627.2019.1582743.
- [48] Bukowiecki A, Hos D, Cursiefen C, et al. Wound-healing studies in cornea and skin: parallels, differences and opportunities [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6) : 1257 [2024-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28604651>. DOI: 10.3390/ijms18061257.
- [49] 邹雪香, 李娟. 自噬在角膜病中的作用及调节自噬的潜在治疗效果 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37(2) : 129-133. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.02.011.
- Zou XX, Li J. The role of autophagy and potential therapeutic effect of autophagy regulation in cornea diseases [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37(2) : 129-133. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.02.011.
- [50] Beckers J, Tharkeshwar AK, Fumagalli L, et al. A toxic gain-of-function mechanism in C9orf72 ALS impairs the autophagy-lysosome pathway in neurons [J/OL]. *Acta Neuropathol Commun*, 2023, 11(1) : 151 [2024-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/37723585>. DOI: 10.1186/s40478-023-01648-0.
- [51] Wang QQ, Zhai C, Wahafu A, et al. Salvianolic acid B inhibits the development of diabetic peripheral neuropathy by suppressing autophagy and apoptosis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71(3) : 417-428. DOI: 10.1111/jphp.13044.
- [52] Du W, Wang N, Li F, et al. STAT3 phosphorylation mediates high glucose-impaired cell autophagy in an HDAC1-dependent and -independent manner in Schwann cells of diabetic peripheral neuropathy [J]. *FASEB J*, 2019, 33(7) : 8008-8021. DOI: 10.1096/fj.201900127R.
- [53] Xu C, Chen X, Sheng WB, et al. Trehalose restores functional autophagy suppressed by high glucose [J]. *Reprod Toxicol*, 2019, 85 : 51-58. DOI: 10.1016/j.reprotox.2019.02.005.
- [54] Cheng L, Chen Y, Guo D, et al. mTOR-dependent TFEB activation and TFEB overexpression enhance autophagy-lysosome pathway and ameliorate Alzheimer's disease-like pathology in diabetic encephalopathy [J/OL]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1) : 91 [2024-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/37143104>. DOI: 10.1186/s12964-023-01097-1.
- [55] Shi G, Shi J, Liu K, et al. Increased miR-195 aggravates neuropathic pain by inhibiting autophagy following peripheral nerve injury [J]. *Glia*, 2013, 61(4) : 504-512. DOI: 10.1002/glia.22451.
- [56] Ye Z, Li ZH, He SZ. miRNA-1273g-3p involvement in development of diabetic retinopathy by modulating the autophagy-lysosome pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23 : 5744-5751. DOI: 10.12659/msm.905336.
- [57] Hu J, Hu X, Kan T. MiR-34c participates in diabetic corneal neuropathy via regulation of autophagy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(1) : 16-25. DOI: 10.1167/iovs.18-24968.
- [58] Hu J, Huang Y, Lin Y, et al. Protective effect inhibiting the expression of miR-181a on the diabetic corneal nerve in a mouse model [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 192 : 107925 [2024-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31926967>. DOI: 10.1016/j.exer.2020.107925.
- [59] Wang Y, Zhao X, Wu X, et al. microRNA-182 mediates Sirt1-induced diabetic corneal nerve regeneration [J]. *Diabetes*, 2016, 65(7) : 2020-2031. DOI: 10.2337/db15-1283.
- [60] Gao J, Wang Y, Zhao X, et al. MicroRNA-204-5p-mediated regulation of sirt1 contributes to the delay of epithelial cell cycle traversal in diabetic corneas [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(3) : 1493-1504. DOI: 10.1167/iovs.14-15913.
- [61] Zhu XX, Su JB, Wang FM, et al. Sodium pump subunit NKA α 1 protects against diabetic endothelial dysfunction by inhibiting ferroptosis through the autophagy-lysosome degradation of ACSL4 [J/OL]. *Clin Transl Med*, 2025, 15(2) : e70221 [2024-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/39902679>. DOI: 10.1002/ctm2.70221.
- [62] Hou B, Qiang G, Zhao Y, et al. Salvianolic acid A protects against diabetic nephropathy through ameliorating glomerular endothelial dysfunction via inhibiting AGE-RAGE signaling [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(6) : 2378-2394. DOI: 10.1159/000486154.
- [63] Zhang H, Ge S, He K, et al. FoxO1 inhibits autophagosome-lysosome fusion leading to endothelial autophagic-apoptosis in diabetes [J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(14) : 2008-2020. DOI: 10.1093/cvr/cvz014.
- [64] Fetterman JL, Holbrook M, Flint N, et al. Restoration of autophagy in endothelial cells from patients with diabetes mellitus improves nitric oxide signaling [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 247 : 207-217. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.01.043.
- [65] Mishima S. Clinical investigations on the corneal endothelium [J]. *Ophthalmology*, 1982, 89(6) : 525-530. DOI: 10.1016/s0161-6420(82)34755-7.
- [66] Urban B, Raczyńska D, Bakunowicz-Łazarczyk A, et al. Evaluation of corneal endothelium in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus [J/OL]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013 : 913754 [2024-06-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24381412>. DOI: 10.1155/2013/913754.
- [67] Moruno-Manchon JF, Uzor NE, Kesler SR, et al. TFEB ameliorates the impairment of the autophagy-lysosome pathway in neurons induced by doxorubicin [J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(12) : 3507-3519. DOI: 10.18632/aging.101144.
- [68] Bharath LP, Mueller R, Li Y, et al. Impairment of autophagy in endothelial cells prevents shear-stress-induced increases in nitric oxide bioavailability [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2014, 92(7) : 605-612. DOI: 10.1139/cjpp-2014-0017.
- [69] Aldrich BT, Schlötzer-Schrehardt U, Skeie JM, et al. Mitochondrial and morphologic alterations in native human corneal endothelial cells associated with diabetes mellitus [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(4) : 2130-2138. DOI: 10.1167/iovs.16-21094.
- [70] Zheng HJ, Zhang X, Guo J, et al. Lysosomal dysfunction-induced autophagic stress in diabetic kidney disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(15) : 8276-8290. DOI: 10.1111/jcmm.15301.

(收稿日期:2024-07-18 修回日期:2025-02-21)

(本文编辑:张宇 骆世平)