

# 细胞器互作分子机制及其在疾病发生发展中的作用

黄淑贞, 王广基, 谢媛\*

(中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 南京 210009)

**摘要** 细胞器有其特殊的功能, 且同时细胞器之间会发生相互作用, 通过相互协调来完成一系列重要生理功能。细胞器的相互作用通常发生在膜接触位点 (membrane contact sites, MCSs), 其中以膜性细胞器内质网最为核心, 膜接触位点上特定的束缚蛋白与细胞器膜结合, 各种蛋白质复合物协同工作, 执行特定的功能, 例如脂质转运、 $\text{Ca}^{2+}$  的转移等。本文综述了近年来关于膜接触位点的结构和功能及其在细胞器中的关键作用研究, 主要关注内质网与质膜、线粒体和高尔基体之间的连接, 以及膜接触位点上的关键蛋白与各种疾病发生发展的关联。

**关键词** 细胞器; 内质网; 相互作用; 膜接触位点;  $\text{Ca}^{2+}$ ; 脂质转运

中图分类号 Q244 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2019)04-0389-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190402

引用本文 黄淑贞, 王广基, 谢媛. 细胞器互作分子机制及其在疾病发生发展中的作用 [J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(4):389–396.  
Cite this article as: HUANG Shuzhen, WANG Guangji, XIE Yuan. Advances in molecular mechanisms of organelle interaction and their role in disease development [J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(4):389–396.

## Advances in molecular mechanisms of organelle interaction and their role in disease development

HUANG Shuzhen, WANG Guangji, XIE Yuan\*

Key Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Organelles have their special functions, they interact with each other and coordinate a series of important physiological functions at the same time. Organelle interaction occurs at membrane contact sites (MCSs), where the membranous organelle endoplasmic reticulum is the core, and specific tethered proteins at the membrane contact site bind to the organelle membrane and various protein complexes work together to perform specific functions, such as lipid transport,  $\text{Ca}^{2+}$  transfer, etc. This review studies on the structure and function of membrane contact sites and their key roles in organelle interactions, focusing on the connection between the endoplasmic reticulum and plasma membrane, mitochondria and Golgi, as well as the association between the key proteins at membrane contact sites and the occurrence and development of various diseases.

**Key words** organelle; endoplasmic reticulum; interaction; membrane contact sites;  $\text{Ca}^{2+}$ ; lipid transport

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81673679, No. 81872932)

具有特定形态和功能的膜性结构细胞器是真核细胞执行生命活动的功能区域。每种细胞器均有其特定的功能, 但同时它们之间发生相互作用, 通过相互协调来完成一系列重要生理功能。细胞器的精细分工、相互协作和密切接触, 形成细胞器互作网络, 实现快速的物质交换和信息交流, 执行

不同条件下细胞生命活动的多种生物学过程。细胞器互作网络的紊乱与多种疾病的发生发展密切相关。例如, 内质网(ER)作为真核细胞中最大的膜系统, 由多个相互连接且相邻的结构域组成<sup>[1]</sup>。内质网具有多种必需的生理功能, 包括蛋白质合成和加工、脂质合成以及  $\text{Ca}^{2+}$  的储存和释放<sup>[1]</sup>。长

期以来认为囊泡运输是内质网与其他细胞器相联系的主要机制,但最近的研究表明内质网膜与线粒体、质膜(PM)、高尔基体紧密连接并促进脂质的转移以及介导信号的功能,这种与其他细胞器形成的微小的膜连接称之为膜接触位点(MCSs)。细胞器膜接触位点的存在表明,定位于两个不同细胞器的因子可以聚集在一起,协同参与细胞器的附加功能。因此,本文重点介绍内质网与3种不同的胞质细胞器:质膜、线粒体和高尔基体的MCSs中已发现的结构和功能,探讨其在生命学科以及药学领域中的相关研究进展。

## 1 内质网与质膜(ER-PM)的相互作用

通过电子显微镜首次观察到内质网与质膜之间存在紧密的接触,这种接触不是简单的膜的融合,而是分别位于内质网膜和质膜上的特殊蛋白之间的交互作用。两者在连接处的间隙距离在10~30 nm,间隙距离太窄而不能适应核糖体的存在。目前已知的位于质膜的连接位点有瞬时受体电位通道(TRPC)、钠-钙交换体(NCX),以及直接跨越ER和PM的亲联蛋白(JP)和Nir2<sup>[2-4]</sup>等,在这些连接位点中发生着许多重要的生理活动,例如脂质转运以及Ca<sup>2+</sup>稳态的维持等。

### 1.1 ER-PM间Ca<sup>2+</sup>转移机制及其在心血管疾病和肿瘤发病中的意义

质膜作为防止胞外Ca<sup>2+</sup>进入胞内的重要屏障,ER-PM连接在Ca<sup>2+</sup>信号转移中发挥重要作用,而ER-PM连接的形成同样需要Ca<sup>2+</sup>的调控。

基质相互作用分子(STIM)蛋白在细胞中起着Ca<sup>2+</sup>信号的动态协调作用。随着ER释放Ca<sup>2+</sup>,STIM蛋白发生复杂的活化反应并迅速移位到ER-PM连接区域。在那里,STIM蛋白激活Orai通道,介导控制Ca<sup>2+</sup>信号和平衡胞内Ca<sup>2+</sup>的稳态<sup>[3]</sup>。在此过程中,钙池操纵钙内流(SOCE)被激活,其中瞬时受体电位通道1(TRPC1)被鉴定为SOCE的分子组分。TRPC介导的钙库操纵性电流与Orai1介导的钙释放激活钙电流( $I_{CRAC}$ )不同,因此两者可以形成TRPC-Orai1复合物调节Ca<sup>2+</sup>信号。

SOCE主要是非兴奋性细胞中的钙通道,而在兴奋细胞中起作用的是二氢吡啶受体(DHPR)-位于PM上的电压门控型Ca<sup>2+</sup>通道(VGCC)和位于ER上的RyRs,两者在磷脂酰肌醇和JP的作用下介导

平滑肌细胞收缩。收缩期间,DHPR首先通过膜去极化激活以介导Ca<sup>2+</sup>内流,随后ER-PM连接处局部Ca<sup>2+</sup>水平的增加开放RyR,导致SR Ca<sup>2+</sup>释放和胞质Ca<sup>2+</sup>水平进一步增加,从而引发肌肉收缩<sup>[5]</sup>。

除上述蛋白,ER-PM连接处还存在例如NCX,它与TRPC3和IP3R1形成NCX1-TRPC3-IP3R1复合物参与TNF-α诱导的Ca<sup>2+</sup>失衡和细胞凋亡,进一步研究发现乙酰胆碱可以通过激活M3AChR/AMPK途径阻止NCX1-TRPC3-IP3R1复合物的形成<sup>[5]</sup>。此外,还观察到平滑肌细胞中NCX1与ER上的SERCA2分布的重叠,通过抑制SERCA的活化,NCX介导的Ca<sup>2+</sup>内流降低,避免了由于Ca<sup>2+</sup>超载引起的细胞损伤<sup>[6]</sup>。

Ca<sup>2+</sup>的稳态在心血管疾病发生过程中至关重要,用于治疗心血管疾病的钙通道阻滞药主要就是通过选择性的阻滞PM上的Ca<sup>2+</sup>内流,从而减少胞内Ca<sup>2+</sup>的蓄积<sup>[7]</sup>。其中STIM-Orai介导的SOCE与响应病理刺激的心脏和血管重塑密切相关<sup>[8]</sup>。另外,NCX1和TRPC6的上调参与了多种原发性高血压模型中高血压的发病机制<sup>[9]</sup>。除此之外,越来越多的证据暗示了肿瘤发生发展中STIM-Orai信号传导的作用,STIM1依赖性Ca<sup>2+</sup>信号传导可以整合肌动蛋白和黏着斑之间的动态相互作用,以介导有效的肿瘤细胞迁移,靶向SOCE、STIM1和Orai1的分子组分是抑制肿瘤细胞迁移和肿瘤转移的有前景的方法<sup>[10]</sup>。

### 1.2 ER-PM间脂质转运与脂质紊乱疾病的关系

控制ER-PM连接的PM磷脂水平可以通过一些参与连接的LTP来控制。例如,在PM中与磷脂酰肌醇-4-磷酸(PI4P)结合的氧化固醇结合蛋白(OSBP)相关蛋白5(ORP5)和ORP8,也通过与ER定位的Sac1磷酸酶接触来控制膜中的PI4P浓度并选择性富集PM中的磷脂酰丝氨酸(PS)<sup>[11-12]</sup>。Nir2和Nir3,其与PM的结合涉及PI(4,5)P2代谢物磷脂酸(PA),介导PA从PM到ER的转运以及磷脂酰肌醇(PI)从ER到PM的转运,从而提供PM中PI(4,5)P2产生所需的PI<sup>[13]</sup>。这些相互关系意味着在膜接触位点发生脂质运输的反馈机制,而脂质运输的紊乱会引起多种疾病的发生,例如体内脂质平衡的改变会影响脊髓灰质炎病毒多蛋白的蛋白水解加工,这一过程依赖于宿主因子:磷脂酰肌醇-4-激酶IIIβ(PI4KB)和OSBP用于基因组复制<sup>[14]</sup>。

## 2 内质网-线粒体(MAM)的相互作用

通过荧光显微镜和电子显微镜可以观察到内质网和线粒体在多个接触位点连接在一起形成特定区域, 称为线粒体-内质网相关膜(mitochondria-associated membrane, MAM)。然而, 虽然内质网和线粒体膜形成特定的接触位点, 但它们不融合, 维持细胞器的不同结构, 保持其功能和特性。

MAM 是对细胞生理条件十分敏感的一种高度可变的动态结构, 其在动态过程中保持正常的形态结构依赖于某些作为物理连接的蛋白质分子, 主要包括钙离子通道 IP3 受体(IP3R)、分子伴侣葡萄糖调节蛋白 75(Grp75)、内质网-线粒体相遇结构复合体(endoplasmic reticulum-mitochondria encounter structure, ERMES)以及线粒体融合蛋白 2(MFN2)等。此外, MAM 内还含有其他多种蛋白, 与协调  $\text{Ca}^{2+}$  转移、ROS 的产生、凋亡诱导以及脂质代谢相关。例如与内质网-线粒体间  $\text{Ca}^{2+}$  转移相关的VDACs、PTEN、Sig-1R、mTORC2 及 calnexin; 与 ROS 的生成相关的 p66shc、Ero1-La、Ero1-Lb, 其中 Ero1-La 还与 ER 的 IP3R 相互作用调节内质网-线粒体间  $\text{Ca}^{2+}$  的转移, 影响凋亡的诱导; 而定位于 MAM 的 Ltc1 和脂质代谢调节相关。

### 2.1 MAM 中 $\text{Ca}^{2+}$ 转移机制及其在疾病发生中的作用

肌醇 1,4,5-三磷酸(IP3)受体(IP3R)是位于 ER 上的 IP3 激活的  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道, 通过 MAM 控制  $\text{Ca}^{2+}$  从 ER 向线粒体转移<sup>[15]</sup>。与此相对的VDAC1, 其通过 MAM 上的分子伴侣葡萄糖调节蛋白 75(GRP75)与 IP3R 相互作用, 且 GRP75 沉默会消除 IP3R 和 VDAC1 之间的功能性偶联, 从而减少线粒体  $\text{Ca}^{2+}$  摄取<sup>[16]</sup>。此外, 包括张力蛋白同系物(PTEN)<sup>[17]</sup>、早幼粒细胞白血病蛋白(PML)<sup>[18]</sup>、p53<sup>[19]</sup>等定位于 ER 或 MAM 的抑癌基因和肿瘤抑制因子通过与 IP3Rs 以及 Akt 相互作用, 调节  $\text{Ca}^{2+}$  稳态, 负调节或正调节细胞凋亡。临床上有不少抗肿瘤药的作用基于此机制, 例如三氧化二砷通过增加 MAM 的 PML 水平, 恢复了肿瘤细胞中 IP3R 介导的内质网-线粒体  $\text{Ca}^{2+}$  转移, 抑制自噬<sup>[20]</sup>; 阿霉素通过在 SERCA 泵中富集 p53 使  $\text{Ca}^{2+}$  转移更有效, 导致 SERCA 活性增加, ER  $\text{Ca}^{2+}$  水平增加和致敏细胞凋亡<sup>[19]</sup>。

此外, calnexin 也是影响病理状态下  $\text{Ca}^{2+}$  稳态的重要因素。Calnexin 是一种内质网凝集素, 介导粗面内质网上的蛋白质折叠。Calnexin 与细胞质分选蛋白 PACS-2 相互作用将 calnexin 分布于 ER, MAM 和质膜之间, 其中超过 80% 的 calnexin 定位于 ER, 其中大部分位于 MAM, 而 PACS-2 敲除导致 calnexin 从 ER 向质膜再分布, 从而影响线粒体和 ER  $\text{Ca}^{2+}$  稳态<sup>[21]</sup>。和 PACS-2 敲除细胞一样, Mfn2 敲除同样引起  $\text{Ca}^{2+}$  转移, Brito 等<sup>[22]</sup>认为当 Mfn2 缺失时, 细胞器间的距离增大, 钙摄取功能受损; 而 Mfn2 过表达则会使细胞器间连接更紧密, 有助于钙传递并诱发凋亡<sup>[23]</sup>。Filadi 等<sup>[24]</sup>研究显示在 Mfn2 敲除细胞显示增加的内质网-线粒体密切接触的数量, 增强的细胞器间  $\text{Ca}^{2+}$  转移以及对细胞死亡刺激的更高的敏感性。当与钙蛋白酶抑制剂共存时, Mfn2 可能在保护神经肌肉突触中发挥作用, 并作为骨骼肌萎缩的常见治疗靶点。Mfn2 在多种生理过程中均发挥重要作用, Filadi 等<sup>[24]</sup>描述了其在神经退行性疾病、心肌病、肥胖、糖尿病和肿瘤等疾病的发病机制, 很有希望成为这些疾病治疗的潜在靶点。

此外, 还有一些与  $\text{Ca}^{2+}$  转移相关的蛋白, 如 Sigma 1 受体(Sig1R)在 MAM 处富集, 通过与 IP3R 相互作用调节 ER 和线粒体之间的  $\text{Ca}^{2+}$  交换, 充当细胞间信号调节剂<sup>[25]</sup>, 在阿尔茨海默病(AD)的病理生理学中占据突出地位, 是开发新的疾病修饰治疗策略的目标<sup>[26]</sup>。精神分裂症破坏蛋白 1(DISC1)是一种支架蛋白, 与认知和情绪缺陷有关, 其定位于 MAM, 与 IP3R1 相互作用并调节其配体结合, 调节  $\text{Ca}^{2+}$  转移。由 DISC1 功能障碍引起的  $\text{Ca}^{2+}$  转运的调节紊乱导致氧化应激后线粒体中的  $\text{Ca}^{2+}$  异常积累, 其损害线粒体功能<sup>[27]</sup>。

### 2.2 MAM 中脂质交换异常与疾病的关系

除了调节  $\text{Ca}^{2+}$  转移, MAM 另外一个重要功能是细胞器之间的磷脂交换。磷脂酰丝氨酸(PS)通过 MAM 被转移到线粒体中, 通过 PS 脱羧酶脱羧成磷脂酰乙醇胺(PE) (PS 转移由 ORP5 和 ORP8 介导, 其也定位于 MAM) PE 也通过溶血-PE 酰基转移酶酰化溶血-PE 在 MAM 上产生。最后, PE 返回到 ER, 其中 PE N-甲基转移酶甲基化它以合成磷脂酰胆碱(PC)<sup>[28]</sup>, ORP5/ORP8 的缺失会引发磷脂交换的异常, 导致线粒体形态的缺陷。Caveolin 1 最近在 MAM 界面被发现, 它调节内质网-线粒体胆固醇

转移<sup>[28]</sup>, caveolin 1 突变会导致脂肪代谢障碍, 表现出脂肪组织的逐渐减少和胰岛素抵抗, 与 Berardinelli-Seip 先天性脂肪代谢障碍 (BSCL) 疾病密切相关<sup>[29]</sup>。ERMES 同样具有磷脂转运的功能, Murley 等<sup>[30]</sup> 鉴定出一个保守的非特征性 ER 蛋白 Yhr072w 作为 ERMES 相互作用蛋白, 其选择性地转运甾醇并因此被称为 Ltc1, 在线粒体中, 在缺乏 Mdm34 (ERMES 亚基) 的情况下, Ltc1 对于细胞活力是必需的。

### 2.3 MAM 中活性氧 (ROS) 水平变化与疾病发生发展的关系

ROS 是氧化损伤诱导剂, 它涉及调节特定的细胞功能, 包括细胞凋亡。p66Shc 是一种位于 MAM 的氧化还原酶, 能够产生线粒体 ROS 作为细胞凋亡的信号分子。p66Shc 与细胞色素 c 相互作用并将电子从细胞色素 c 转移至分子氧, 导致  $H_2O_2$  形成<sup>[31]</sup>。p66Shc 缺失已被证明可以减少缺血/再灌注 (I/R) 损伤以及与糖尿病和衰老相关的血管异常, p66Shc 诱导的 ROS 形成也参与胰岛素信号传导, 并且可能有助于针对轻度 I/R 损伤的自身内源性防御<sup>[32]</sup>。另外, 研究发现天然抗氧化剂鼠尾草酸能通过 SIRT1/p66Shc 介导的线粒体途径减弱急性乙醇诱导的肝损伤<sup>[33]</sup>。此外, Ero1 $\alpha$  也是蛋白质折叠和 ER 氧化还原平衡的关键控制者, 它在 MAM 中的定位超过 75% (定位取决于氧化条件)<sup>[34–35]</sup>。研究发现同型半胱氨酸 (Hcy) 可诱导 Ero1 $\alpha$  表达, 增加的 Ero1 $\alpha$  活性产生过量的  $H_2O_2$  并导致 ER 中的蛋白质过度氧化, 阐明了靶向 ER 氧化还原稳态作为内皮功能障碍相关血管疾病 (包括动脉硬化、高血压、中风和 I/R 损伤) 干预的可能性<sup>[36]</sup>。此外, Ero1-La 和 ERp44 (一种存在于 MAM 的 ER 管腔伴侣蛋白) 相互作用, 调节通过 IP3R1 从 ER 释放的  $Ca^{2+}$ , 进而影响细胞凋亡<sup>[34,37]</sup>。增加的 Ero1 $\alpha$  表达与肿瘤的过度增殖有关, 抑制 Ero1 $\alpha$  的表达来抑制肿瘤细胞增殖可能是一条新的途径, 同时心脏病的发展也可能以 Ero1 $\alpha$  表达的增加为特征。

### 2.4 线粒体分裂与自噬及其与疾病的关系

线粒体分裂的调节对于正常的细胞功能至关重要。线粒体分裂的中心参与者是高度保守的 dynamin 相关蛋白 (哺乳动物中的 Drp1, 酵母中的 Dnm1)<sup>[38]</sup>。Chakrabarti 等<sup>[39]</sup> 表明 INF2 介导的肌

动蛋白在 ER 上的聚合通过两种独立的机制刺激线粒体分裂: (1) 线粒体钙摄取, 导致 IMM 收缩和 (2) Drp1 寡聚化, 导致 OMM 收缩。此外, 线粒体钙单向转运体 (MCU) 也参与线粒体分裂, 缺少 MCU 的细胞中裂变事件减少了 60%<sup>[39]</sup>。研究还发现一种新型的 MAM 蛋白-线粒体外膜蛋白 FUNDC1, 通过与缺氧条件下的 ER 驻地蛋白 calnexin 相互作用而在 MAM 中富集, 并随着线粒体自噬的进行, 它与 calnexin 分离并优先募集 DNM1L/DRP1 以驱动线粒体分裂以响应缺氧应激。此外, 在缺氧细胞中敲除 FUNDC1, DNM1L 或 calnexin 可增加细长线粒体的数量, 并减少自噬体和线粒体的共定位, 从而防止线粒体自噬<sup>[40]</sup>。与自噬有关的蛋白还有 Lpg1137, 其靶向 MAM 并降解 syntaxin17——一种可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体 (SNARE) 蛋白, 其通过与 Drp1 相互作用参与线粒体动态调节, 而 syntaxin17 的降解阻断了自噬和 BAX 诱导的凋亡<sup>[41]</sup>。

过量线粒体裂变被认为是心肌再灌注损伤发病机制的主要致病因素, 可能通过 Drp1 募集和收缩加剧心脏 I/R 损伤。同样 MCU 的活性也是 I/R 损伤诱导的线粒体异常和心肌细胞损伤的高度原因, 提示 MCU 抑制可作为潜在治疗策略<sup>[42]</sup>。此外, 涉及神经变性疾病、心血管疾病、肿瘤等疾病的发生均与过度的线粒体分裂相关<sup>[43]</sup>, 而自噬已成为免疫介导疾病 (包括自体炎症和自身免疫性疾病、感染和肿瘤) 发病机制中的一个重要角色<sup>[44]</sup>。

## 3 内质网与高尔基体 (ER-Golgi intermediate compartment, ERGIC) 的相互作用

在高等真核生物中, 高尔基体 (GA) 代表沿分泌途径的中央分选和加工站, 确保在 ER 中合成的货物蛋白被适当修饰, 并最终导向其目的地。

### 3.1 ERGIC 中蛋白质分选异常机制及其和疾病的关系

外壳蛋白复合体 II (COPII) 介导 ERGIC 分泌性蛋白质运输的初始步骤, COPII 包被的囊泡将货物蛋白从 ER 转运到高尔基体, 其中 Sec24 作为货物适配器包含多个货物结合位点以驱动捕获多种货物蛋白, 这些货物蛋白的分选通过受体介导的运输发生, 例如 Erv14 信号, 其增强 Sec24 与货物蛋白的内源分选信号之间的相互作用。而 COPI 介

导从高尔基到内质网和高尔基隔室之间的逆向运输, 主要负责回收、转运内质网逃逸蛋白(escaped proteins)返回内质网<sup>[45]</sup>。ER-Golgi 界面蛋白质分选质量控制的缺陷是许多错误折叠疾病的核心, 其中与 COPII 相互作用的激活转录因子-6(ATF6)可以感知 ER 上错误折叠蛋白的积累, 引发的内质网应激是肿瘤、糖尿病和神经退行性疾病, 例如 AD、帕金森病(PD)等疾病的重要发病机制<sup>[46-47]</sup>, 也是这些疾病的重要治疗靶点之一。

### 3.2 ERGIC 中脂质转运相关病理机制

ER 和 Golgi 之间的膜接触位点包含以下脂质转运蛋白: CERT, 其以非囊泡方式介导神经酰胺的细胞内运输<sup>[48]</sup>。FAPP2, 一种葡萄糖神经酰胺转移蛋白, 在复合鞘糖脂, 质膜的关键结构和信号组分中的合成中具有关键作用<sup>[49]</sup>。Sec14/Nir2, 一种 PI 转运蛋白, 参与调节高尔基复合体中的 DAG 稳态<sup>[50]</sup> 和 OSBP, 运输胆固醇并伴随 PI4P 的转移<sup>[51]</sup>, 最近的研究发现其通过使用 PI4P 作为驱动力, 在 ER-Golgi 界面建立固醇梯度<sup>[52]</sup>, 病理状态下该过程失调从而引发脂质紊乱。

## 4 内质网与溶酶体(ER-lyso)的相互作用

溶酶体是细胞的再循环中心, 在细胞内吞作用、胞吐作用和自噬作用等基本细胞生物过程中发挥重要作用。ER 和溶酶体膜之间的短距离( $< 30$  nm)使静止的 ER 到溶酶体  $\text{Ca}^{2+}$  转运不会引起全局  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  增加。然而目前对连接内质网-溶酶体的分子的认识知之甚少。在对接过程中, MCS 间隙可以从 20~30 nm 减少到 5~15 nm, 以提供高度顺应  $\text{Ca}^{2+}$  交换的功能构象。同时, ER 溶酶体 MCSs 富含 IP3R 和溶酶体  $\text{Ca}^{2+}$  通道如瞬时受体电位(TRP)通道 TRPML1 和双孔通道 TPC2。然后  $\text{Ca}^{2+}$  通过 IP3R 从 ER 释放, 通过 TRPML1/TPC2 驱动  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 导致  $\text{Ca}^{2+}$  梯度急剧变化且在不同水平影响自噬过程<sup>[53-54]</sup>。TRPML1 基因突变会导致人类 IV 型黏脂病, 其临床特征包括精神运动迟缓、角膜混浊和视网膜变性<sup>[55]</sup>。

## 5 结语与展望

细胞器互作研究是当前生物医药领域前沿热点, 其交互作用的关联点主要在膜接触位点(MCSs), 本文综述了一部分定位于 MCSs 的关键

蛋白分子, 绘制了内质网-细胞器 MCSs 蛋白分子机制图(图 1), 总结了调节 MCSs 结构和功能的可能方式及其与疾病的关系(表 1)。ER 的连续性以及与其他细胞器之间的接触使得各种信号得以在整个 ER 网络中传播, 随后协调细胞器之间的反应, 促进有效的细胞内或细胞间的信号传导, 通过对疾病状态下 MCSs 介导的细胞器互作变化的研究, 可以进一步深入的阐明疾病发生发展的机制, 发现相关的调控靶点, 对于新药开发、临床治疗和预防有重要意义。例如, 在神经退行性疾病发生发展中, MAM 起着重要作用, AD 患者的大脑线粒体分裂活性表现出增加, 并以  $\text{A}\beta$  依赖的方式表达更高水平的 Drp1<sup>[56]</sup>。另外, MAM 中的 Mfn2、Sig1R, ERGIC 中的 ATF6 也在 AD 的发病过程中发挥重要作用<sup>[24,26,47]</sup>, 是目前 AD 治疗研究的重要靶点。又如, 心血管疾病与  $\text{Ca}^{2+}$  的稳态密切相关, 临幊上用于治疗心血管疾病的钙通道阻滞药主要通过选择性的阻滞 PM 上的  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 从而减少胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的蓄积。除了 ER-PM 中某些蛋白如 NCX1 和 TRPC6 的上调参与了多种原发性高血压模型中高血压的发病机制外<sup>[9]</sup>, 最近研究还发现靶向 MAM 中的 Mfn、Drp 等融合与分裂相关因子对于治疗心血管疾病具有巨大潜力<sup>[57]</sup>, 为心血管疾病的治疗提供了新的靶点和方向。过去几年也发现了许多 MCSs 与肿瘤和肿瘤发生的关联, 例如 MAM 中增加的 Ero1 $\alpha$  表达与肿瘤的过度增殖有关, 抑制 Ero1 $\alpha$  的表达来抑制肿瘤细胞增殖可能是一条新的途径, 同时心脏病进展也可能以 Ero1 $\alpha$  表达的增加为特征<sup>[58]</sup>, 是否能成为心脏病治疗靶点值得进一步的研究。此外, PACS-2 在多达 40% 的散发性结直肠癌活组织检查中发生突变, 因此可以作为肿瘤抑制因子<sup>[58]</sup>。除了 MAM, ER-PM 中的 SOCE 在肿瘤细胞凋亡、增殖、迁移、侵袭、转移和血管生成的调节中均起着至关重要的作用<sup>[10]</sup>, 对肿瘤转移的药物的研发具有重大意义。此外仍然有很多问题需要进一步探讨: 膜间距的改变或维持是否对功能有影响; 定位于 MCSs 上的蛋白的缺失是否会影响甚至消除其功能; 细胞器的运动在其中的作用以及识别构成 MCSs 的组分的新技术新方法的探索等。总之, 基于 MCSs 的细胞器互作分子时代已经到来, 针对 MCSs 的组成和功能的研究是细化疾病机制研究的关键, 也为相关药物研发提供了新的思路。

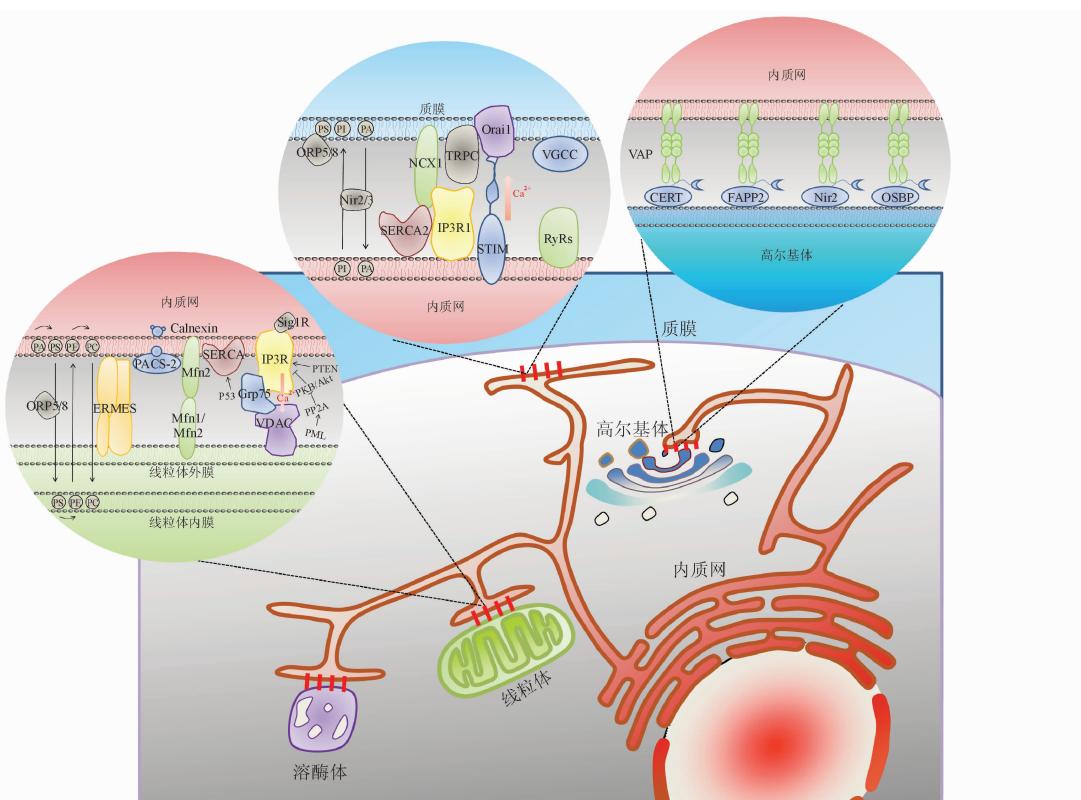


图1 内质网-细胞器膜接触位点(MCSs)蛋白分子机制图

表1 内质网-细胞器 MCSs 蛋白的特点、功能及相关疾病

MCS 蛋白	特 点	功 能	疾 病
<b>内质网-质膜</b>			
STIM-Orai1	STIM, ER 整合膜蛋白 Orai1, 定位于 PM	介导控制 $\text{Ca}^{2+}$ 信号和平衡胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 的稳态, 激活钙池	心血管重塑、肿瘤转移
DHPR/VGCC-RyRs	VGCC, 位于 PM 上的电压门控型 $\text{Ca}^{2+}$ 通道 RyRs, ER 整合膜蛋白 TRPC3, NCX, 位于 PM	收缩期间, DHPR 首先通过膜去极化激活以介导 $\text{Ca}^{2+}$ 内流, 随后 ER-PM 连接处局部 $\text{Ca}^{2+}$ 水平的增加开放 RyR, 导致 SR $\text{Ca}^{2+}$ 释放和胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 水平进一步增加	心血管疾病
NCX1-TRPC3-IP3R1	NCX1, ER 整合膜蛋白	参与 TNF- $\alpha$ 诱导的 $\text{Ca}^{2+}$ 失衡和细胞凋亡	高血压
ORP5/ORP8	PM 中与 PI4P 结合的卵磷脂结合蛋白 (OSBP) 相关蛋白	与 ER 定位的 Sac1 磷酸酶接触来控制膜中的 PI4P 浓度 并选择性富集 PM 中的 PS	脊髓灰质炎
<b>内质网-线粒体</b>			
VDAC-Grp75-IP3R	VDAC, 线粒体外膜 $\text{Ca}^{2+}$ 摄取通道 Grp75, 可溶性蛋白 IP3R, ER 整合膜蛋白	IP3R 是 ER 上的 $\text{Ca}^{2+}$ 释放通道, 受刺激的 $\text{Ca}^{2+}$ 可以通过 MCSs 转移到线粒体并通过 VDACs 摄入线粒体	神经退行性疾病
Calnexin, PACS-2	Calnexin, 内质网凝集素定位于 ER PACS-2, 细胞质分选蛋白	PACS-2 敲除导致 calnexin 从 ER 向质膜再分布, 从而影响线粒体和 ER $\text{Ca}^{2+}$ 稳态	散发性结直肠癌
PTEN, PML, p53	抑癌基因	通过与 IP3Rs 以及 Akt 相互作用, 调节 $\text{Ca}^{2+}$ 稳态, 负调节或正调节细胞凋亡	肿瘤
p66Shc, Ero1 $\alpha$	氧化还原酶	产生线粒体 ROS 作为细胞凋亡的信号分子	I/R 损伤、糖尿病、血管异常
Calnexin, Drp1, FUNDC1	Drp1, dynamin 相关蛋白 FUNDC1, 线粒体外膜蛋白	敲除 FUNDC1, DNM1L 或 calnexin 可增加细长线粒体的数量, 防止线粒体自噬	神经退行性疾病、心血管疾病
<b>内质网-高尔基体</b>			
CERT, FAPP2, NIR2, OSBP	这 4 种蛋白质含有底物同源 (PH) 结构域, 使其能结合到 PtdIns(4)P 和一个 FFAT 序, 其能够与 ER 定位的 VAP 相互作用	CERT 在 ER-Golgi MCSs 的神经酰胺运输中发挥作用; FAPP2 在 ER-Golgi MCSs 中的葡萄糖神经酰胺转移中起作用; NIR2 调节高尔基复合体中的 DAG 稳态; OSBP 运输胆固醇并伴随磷 PI4P 的转移	脂质紊乱
<b>内质网-溶酶体</b>			
IP3R, TRPML1 和 TPC2	TRPML1/TPC2, 溶酶体 $\text{Ca}^{2+}$ 通道	$\text{Ca}^{2+}$ 通过 IP3R 从 ER 释放, 通过 TRPML1/TPC2 驱动 $\text{Ca}^{2+}$ 内流	人类 IV 型黏脂病

## 参考文献

- [1] Phillips MJ, Voeltz GK. Structure and function of ER membrane contact sites with other organelles [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, **17**(2):69–82.
- [2] Kim YJ, Guzman-Hernandez ML, Wisniewski E, et al. Phosphatidylinositol and phosphatidic acid transport between the ER and plasma membrane during PLC activation requires the Nir2 protein [J]. *Biochem Soc Trans*, 2016, **44**(1):197–201.
- [3] Soboloff J, Rothberg BS, Madesh M, et al. STIM proteins: dynamic calcium signal transducers [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(9):549–565.
- [4] Zhao M, Jia HH, Liu LZ, et al. Acetylcholine attenuated TNF- $\alpha$ -induced intracellular  $Ca^{2+}$  overload by inhibiting the formation of the NCX1-TRPC3-IP3R1 complex in human umbilical vein endothelial cells [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, **107**:1–12.
- [5] Chang CL, Chen YJ, Liou J. ER-plasma membrane junctions: why and how do we study them [J]? *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2017, **1864**(9):1494–1506.
- [6] Akolkar G, Pande J, Samson SE, et al. Thapsigargin decreases the  $Na^+$ - $Ca^{2+}$  exchanger mediated  $Ca^{2+}$  entry in pig coronary artery smooth muscle [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1818**(3):730–737.
- [7] Godfraind T. Calcium channel blockers in cardiovascular pharmacotherapy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2014, **19**(6):501–515.
- [8] Nguyen NT, Han WD, Cao WM, et al. Store-operated calcium entry mediated by ORAI and STIM [J]. *Compr Physiol*, 2018, **8**(3):981–1002.
- [9] Pulina MV, Zulian A, Baryshnikov SG, et al. Cross talk between plasma membrane  $Na^+$ / $Ca^{2+}$  exchanger-1 and TRPC/Orai-containing channels: key players in arterial hypertension [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, **961**:365–374.
- [10] Chen YF, Chen YT, Chiu WT, et al. Remodeling of calcium signaling in tumor progression [J]. *J Biomed Sci*, 2013, **20**(1):23.
- [11] Chung J, Torta F. PI4P/phosphatidylserine countertransport at ORP5-and ORP8-mediated ER-plasma membrane contacts [J]. *Science*, 2015, **349**(6246):428–432.
- [12] Dickson EJ, Jensen JB, Vivas O, et al. Dynamic formation of ER-PM junctions presents a lipid phosphatase to regulate phosphoinositides [J]. *J Cell Biol*, 2016, **213**(1):33–48.
- [13] Saheki Y, De Camilli P. Endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, **86**:659–684.
- [14] Lyoo H, Dorobantu CM, van der Schaar HM, et al. Modulation of proteolytic polyprotein processing by coxsackievirus mutants resistant to inhibitors targeting phosphatidylinositol-4-kinase III $\beta$  or oxysterol binding protein [J]. *Antiviral Res*, 2017, **147**:86–90.
- [15] Ando H, Kawai K, Bonneau B, et al. Remodeling of  $Ca^{2+}$  signaling in cancer: regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors through oncogenes and tumor suppressors [J]. *Adv Biol Regul*, 2018, **68**:64–76.
- [16] Honrath B, Metz I, Bendridi N, et al. Glucose-regulated protein 75 determines ER-mitochondrial coupling and sensitivity to oxidative stress in neuronal cells [J]. *Cell Death Discov*, 2017, **3**:17076.
- [17] Bononi A, Bonora M, Marchi S, et al. Identification of PTEN at the ER and MAMs and its regulation of  $Ca^{2+}$  signaling and apoptosis in a protein phosphatase-dependent manner [J]. *Cell Death Differ*, 2013, **20**(12):1631–1643.
- [18] Rizzuto R, De Stefani D, Raffaello A, et al. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(9):566–578.
- [19] Giorgi C, Bonora M, Sorrentino G, et al. P53 at the endoplasmic reticulum regulates apoptosis in a  $Ca^{2+}$ -dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112**(6):1779–1784.
- [20] Missiroli S, Bonora M, Paternani S, et al. PML at mitochondria-associated membranes is critical for the repression of autophagy and cancer development [J]. *Cell Rep*, 2016, **16**(9):2415–2427.
- [21] Myhill N, Lynes EM, Nanji JA, et al. The subcellular distribution of calnexin is mediated by PACS-2 [J]. *MBoC*, 2008, **19**(7):2777–2788.
- [22] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria [J]. *Nature*, 2008, **456**(7222):605–610.
- [23] Filadi R, Greotti E, Turacchio G, et al. Mitofusin 2 ablation increases endoplasmic reticulum-mitochondria coupling [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112**(17):E2174–E2181.
- [24] Filadi R, Pendin D, Pizzo P. Mitofusin 2: from functions to disease [J]. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(3):330.
- [25] Goguadze N, Zhuravlova E, Morin D, et al. Sigma-1 receptor agonists induce oxidative stress in mitochondria and enhance complex I activity in physiological condition but protect against pathological oxidative stress [J]. *Neurotox Res*, 2019, **35**(1):1–18.
- [26] Jia HM, Zhang Y, Huang YY. Imaging sigma receptors in the brain: new opportunities for diagnosis of Alzheimer's disease and therapeutic development [J]. *Neurosci Lett*, 2019, **691**:3–10.
- [27] Park SJ, Lee SB, Suh Y, et al. DISC1 modulates neuronal stress responses by gate-keeping ER-mitochondria  $Ca^{2+}$  transfer through the MAM [J]. *Cell Rep*, 2017, **21**(10):2748–2759.
- [28] Rieusset J. The role of endoplasmic reticulum-mitochondria contact sites in the control of glucose homeostasis: an update [J]. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(3):388.
- [29] Kim CA, Delépine M, Boutet E, et al. Association of a homozygous nonsense caveolin-1 mutation with Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, **93**(4):1129–1134.
- [30] Murley A, Sarsam RD, Toulmay A, et al. Ltc1 is an ER-localized sterol transporter and a component of ER-mitochondria and ER-

- vacuole contacts [J]. *J Cell Biol*, 2015, **209**(4): 539–548.
- [31] Giorgio M, Migliaccio E, Orsini F, et al. Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis [J]. *Cell*, 2005, **122**(2): 221–233.
- [32] Di Lisa F, Giorgio M, Ferdinand P, et al. New aspects of p66Shc in ischaemia reperfusion injury and other cardiovascular diseases [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, **174**(12): 1690–1703.
- [33] Tian XY, Hu Y, Li MZ, et al. Carnosic acid attenuates acute ethanol-induced liver injury via a SIRT1/p66Shc-mediated mitochondrial pathway [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, **94**(4): 416–425.
- [34] Anelli T, Bergamelli L, Margittai E, et al. Ero1 $\alpha$  regulates Ca<sup>2+</sup> fluxes at the endoplasmic reticulum-mitochondria interface (MAM) [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, **16**(10): 1077–1087.
- [35] Gilady SY, Bui M, Lynes EM, et al. Ero1 $\alpha$  requires oxidizing and normoxic conditions to localize to the mitochondria-associated membrane (MAM) [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2010, **15**(5): 619–629.
- [36] Wu X, Zhang LH, Miao Y, et al. Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis [J]. *Redox Biol*, 2019, **20**: 46–59.
- [37] Giorgi C, Missiroli S, Paternani S, et al. Mitochondria-associated membranes: composition, molecular mechanisms, and physiopathological implications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, **22**(12): 995–1019.
- [38] Friedman JR, Lackner LL, West M, et al. ER tubules mark sites of mitochondrial division [J]. *Science*, 2011, **334**(6054): 358–362.
- [39] Chakrabarti R, Ji WK, Stan RV, et al. INF2-mediated actin polymerization at the ER stimulates mitochondrial calcium uptake, inner membrane constriction, and division [J]. *J Cell Biol*, 2018, **217**(1): 251–268.
- [40] Wu WX, Li W, Chen H, et al. FUNDC1 is a novel mitochondrial-associated-membrane (MAM) protein required for hypoxia-induced mitochondrial fission and mitophagy [J]. *Autophagy*, 2016, **12**(9): 1675–1676.
- [41] Arasaki K, Mikami Y, Shames SR, et al. Legionella effector Lpg1137 shuts down ER-mitochondria communication through cleavage of syntaxin 17 [J]. *Nat Commun*, 2017, **8**: 15406.
- [42] Zhou H, Zhu PJ, Wang J, et al. Pathogenesis of cardiac ischemia reperfusion injury is associated with CK2 $\alpha$ -disturbed mitochondrial homeostasis via suppression of FUNDC1-related mitophagy [J]. *Cell Death Differ*, 2018, **25**(6): 1080–1093.
- [43] Serasinghe MN, Chipuk JE. Mitochondrial fission in human diseases [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, **240**: 159–188.
- [44] Plantinga TS, Joosten LA, van der Meer JW, et al. Modulation of inflammation by autophagy: consequences for Crohn's disease [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, **12**(4): 497–502.
- [45] Gomez-Navarro N, Miller E. Protein sorting at the ER-Golgi interface [J]. *J Cell Biol*, 2016, **215**(6): 769–778.
- [46] Gong HJ, Feng L. Computational analysis of the roles of ER-Golgi network in the cell cycle [J]. *BMC Syst Biol*, 2014, **8**(Suppl 4): 3.
- [47] Credle JJ, Forcelli PA, Delannoy M, et al. A-Synuclein-mediated inhibition of ATF6 processing into COPII vesicles disrupts UPR signaling in Parkinson's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, **76**: 112–125.
- [48] Hanada K, Kumagai K, Yasuda S, et al. Molecular machinery for non-vesicular trafficking of ceramide [J]. *Nature*, 2003, **426**(6968): 803–809.
- [49] D'Angelo G, Polishchuk E, Di Tullio G, et al. Glycosphingolipid synthesis requires FAPP2 transfer of glucosylceramide [J]. *Nature*, 2007, **449**(7158): 62–67.
- [50] Litvak V, Ramachandran S, et al. Maintenance of the diacylglycerol level in the Golgi apparatus by the Nir2 protein is critical for Golgi secretory function [J]. *Nat Cell Biol*, 2005, **7**(3): 225–234.
- [51] Mesmin B, Bigay J, Moser von Filseck J, et al. A four-step cycle driven by PI(4)P hydrolysis directs sterol/PI(4)P exchange by the ER-Golgi tether OSBP [J]. *Cell*, 2013, **155**(4): 830–843.
- [52] Moser von Filseck J, Mesmin B, Bigay J, et al. Building lipid 'PIPelines' throughout the cell by ORP/Osh proteins [J]. *Biochem Soc Trans*, 2014, **42**(5): 1465–1470.
- [53] Yang JS, Zhao ZZ, Gu MX, et al. Release and uptake mechanisms of vesicular Ca<sup>2+</sup> stores [J]. *Protein Cell*, 2019, **10**(1): 8–19.
- [54] Roest G, La Rovere RM, Bultynck G, et al. IP<sub>3</sub> receptor properties and function at membrane contact sites [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, **981**: 149–178.
- [55] Grimm C, Hassan S, Wahl-Schott C, et al. Role of TRPML and two-pore channels in endolysosomal cation homeostasis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, **342**(2): 236–244.
- [56] Manczak M, Mao PZ, Calkins MJ, et al. Mitochondria-targeted antioxidants protect against amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease neurons [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, **20**(Suppl 2): S609–S631.
- [57] Hall AR, Burke N, Dongworth RK, et al. Mitochondrial fusion and fission proteins: novel therapeutic targets for combating cardiovascular disease [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, **171**(8): 1890–1906.
- [58] Raturi A, Simmen T. Where the endoplasmic reticulum and the mitochondrion tie the knot: the mitochondria-associated membrane (MAM) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1833**(1): 213–224.