

· 综述 ·

## 线粒体-内质网动态关联与胰岛 $\beta$ 细胞功能稳态

王 悦, 刘率男, 申竹芳\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 胰岛  $\beta$  细胞内的能量及物质代谢稳态是维持其正常功能及存活的关键, 细胞器线粒体与内质网之间的动态关联在此过程中起到了重要的调控作用。线粒体自身的动态变化响应胞内能量和物质代谢, 为胰岛  $\beta$  细胞稳态提供物质基础; 内质网则可根据线粒体的变化, 实时调节相关代谢酶及蛋白的合成, 从而调控胰岛  $\beta$  细胞功能。本文将综述近年围绕线粒体与内质网间动态联系的相关研究, 阐述二者通过结构或功能变化, 相互影响、协同作用, 进而维持胰岛  $\beta$  细胞正常状态以及生理功能的过程。线粒体与内质网之间的动态关联, 以全新视角对胰岛  $\beta$  细胞损伤及保护的可能途径进行了阐释, 其中也不乏一些潜在的药物治疗靶点, 对于 2 型糖尿病的相关机制探讨及新药研发具有十分重要的意义。

**关键词:** 线粒体; 内质网; 胰岛  $\beta$  细胞; 物质代谢; 2 型糖尿病

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 05-0667-06

## Dynamic associations of mitochondria-endoplasmic reticulum in maintenance of pancreatic beta cell homeostasis

WANG Yue, LIU Shuai-nan, SHEN Zhu-fang\*

(State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** The appropriate regulation of intracellular bioenergy and nutrient metabolism is a basic requirement for proper function and survival of pancreatic beta cells, where mitochondria-endoplasmic reticulum (ER)-associations play crucial roles. Mitochondria are changed dynamically according to intracellular energy and nutrients, which provides material foundation for energy homeostasis; while ER regulates metabolic enzymes and protein synthesis in different pathways. This review sheds light upon the development of mitochondria-ER associations and its role in the regulation of insulin secretion in pancreatic beta cell. The impact on beta cell viability is discussed. Interruption of calcium and redox oxidative species results in reduction of glucose-stimulated insulin secretion, while intracellular calcium levels could be partial altered by depleting calcium from the ER. Given the tight link between ER and mitochondria, the association are crucial to the homeostasis and are an indicator of overall beta cell status, with a potential as a novel drug target for treatment of type 2 diabetes mellitus.

**Key words:** mitochondria; endoplasmic reticulum; pancreatic beta cell; nutrient metabolism; type 2 diabetes mellitus

收稿日期: 2016-11-24; 修回日期: 2017-01-03.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202574); 北京市自然科学基金资助项目 (7132162); 重大新药创制国家科技重大专项资助项目 (2012ZX09301002-004).

\*通讯作者 Tel: 86-10-83172669, E-mail: shenzhf@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1132

线粒体功能异常及内质网应激与胰岛  $\beta$  细胞功能紊乱密切相关, 参与 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的发生与发展<sup>[1]</sup>。线粒体作为细胞代谢网络和信号传导网络的调控中心, 具有多种重要的生理功能。并且现有研究表明, 内质网与线粒体之间存在结构与功能方面的双重联系, 而这种关联对于维持细胞生理功能及存活具有重要意义。因此, 以线粒体相关功能调控为目的的药物研究已成为新药研发的热点之一, 包括通过直接调节线粒体功能的抗氧化剂和化学解偶联剂, 以及作用于线粒体和内质网二者间动态关联的新靶点, 均可为糖尿病以及其他代谢性疾病的防治提供新的机遇。

## 1 线粒体动态变化与胰岛 $\beta$ 细胞

### 1.1 线粒体动态变化

线粒体融合、线粒体分裂以及线粒体自噬在线粒体形态、数量和功能调控过程中起到极其重要的作用<sup>[2, 3]</sup>。研究表明, 线粒体的动态变化与能量及营养物质供应之间具有直接联系, 线粒体结构的变化可能是适应生化或代谢需求的重要机制<sup>[4]</sup>。通过对自身结构的调整, 线粒体可精确调控胞内能量利用及消耗过程<sup>[5]</sup>。

### 1.2 胰岛 $\beta$ 细胞内线粒体参与的能量调控

胰岛  $\beta$  细胞可直接利用葡萄糖、游离脂肪酸及氨基酸等营养物质供能, 以调控胰岛素分泌<sup>[6, 7]</sup>, 这种精确的调控作用主要通过上述营养物质的氧化而得以实现。其中, 葡萄糖氧化上调胞内 ATP/ADP 比率是刺激胰岛素分泌的最主要因素。另外, 多个研究显示, 线粒体内营养物质代谢的副产物 [如琥珀酰辅酶 A、活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 以及三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP)] 也是胰岛素分泌过程中的调控因子<sup>[8–10]</sup>; 此外, 某些氨基酸也可通过提供代谢产物乙酰辅酶 A 促进线粒体 ATP 合成, 从而刺激胰岛素分泌<sup>[11, 12]</sup>。

值得注意的是, 不同营养物质还可通过其他途径影响胰岛素分泌环节, 如脂肪酸可通过线粒体内  $\beta$  氧化过程或与细胞膜受体的直接作用, 协同调控葡萄糖刺激的胰岛素分泌<sup>[13]</sup>。由于胰岛  $\beta$  细胞具有基于最大处置能力 (而非实际需求) 利用营养物质的特性, 所以在营养物质过量的糖尿病状态下, 胰岛  $\beta$  细胞常处于超载状态。因此, 其对于过量营养物质的代偿处置方式更为重要。

### 1.3 线粒体应对胰岛 $\beta$ 细胞内过量营养物质的代谢调节

研究表明, 过量营养物质对  $\beta$  细胞的毒性主要

来自葡萄糖与游离脂肪酸<sup>[14]</sup>。若使胰岛  $\beta$  细胞长期暴露于过量的葡萄糖或脂质环境, 则会导致其功能紊乱。

多数研究认为, 该现象主要是因胰岛  $\beta$  细胞对 ROS 十分敏感, 但其抗氧化能力却较弱<sup>[15]</sup>。2 型糖尿病状态下, 过量营养物质在胰岛  $\beta$  细胞线粒体中进行氧化和利用, 同时产生一定量的 ROS, 但该过程与线粒体内 ATP 的合成和利用关联不甚密切<sup>[16]</sup>, 即使胰岛  $\beta$  细胞对 ATP 需求很低时, 也会刺激胰岛素分泌。因此, 长期营养物质过量的病理环境 (如 2 型糖尿病) 使 ROS 持续产生和累积, 从而导致胰岛  $\beta$  细胞抗氧化能力降低, 将会引起线粒体损伤, 进而损伤胰岛  $\beta$  细胞功能<sup>[17–19]</sup>。

鉴于胰岛素分泌过程中 ATP 生成、ROS 以及线粒体产生的偶联因子扮演着如此重要的角色, 可推测对于胰岛  $\beta$  细胞内 ATP 合成而言, ATP 生成的主要途径——线粒体参与的呼吸作用至关重要。然而, 事实却恰恰相反。胰岛  $\beta$  细胞线粒体内源性质子外流水平高于其他组织 (如肌肉等)<sup>[20]</sup>。尽管不甚相符, 但解偶联的呼吸作用对于营养物质过量引起的 ROS 毒性具有一定的限制作用, 而这也与胰岛  $\beta$  细胞内 ROS 生成的复杂机制相关。据此可得出结论, 与肌肉或棕色脂肪等其他组织内的线粒体相比, 胰岛  $\beta$  细胞内的线粒体具有某种特有属性, 令其对于能量稳态变化具有精确的感知能力<sup>[21]</sup>。

### 1.4 线粒体结构与能量代谢变化对胰岛 $\beta$ 细胞功能的影响

$\beta$  细胞内的物质氧化及能量利用, 与胰岛素分泌过程密切相关。因此, 胰岛  $\beta$  细胞可作为研究线粒体动态变化以及细胞内能量代谢效率的理想模型。

线粒体是一种动态细胞器, 其形态结构的维持在调节能量代谢中发挥重要作用, 并可通过不断的融合、分裂过程调控其功能<sup>[22]</sup>。在胰岛  $\beta$  细胞株 MIN-6 及 NIT-1 细胞中, 给予高脂条件刺激 24 h, 或同时给予葡萄糖刺激 10 h 后, 均可引起线粒体外膜破裂<sup>[23, 24]</sup>; 类似研究显示, 在原代小鼠胰岛细胞中, 给予高糖及高脂处理 48 h 后, 亦可观察到线粒体融合水平显著下调<sup>[25]</sup>。上述研究提示,  $\beta$  细胞中的线粒体受损是与胞内营养物质氧化水平直接相关的早期事件。同时 Corkey 等<sup>[6]</sup>的研究结果提示, 过量营养物质引起胞内营养物质氧化水平以及代谢循环水平升高, 致使胰岛  $\beta$  细胞内线粒体负担加重, 可能是胰岛  $\beta$  细胞损伤的重要机制。

研究显示, 过量脂肪酸对胰岛  $\beta$  细胞形态结构的

损伤较高糖更为严重。目前, 针对脂肪酸与葡萄糖调控胰岛 $\beta$ 细胞内线粒体外膜破裂的不同机制有以下两种假说: ① 以脂肪酸为底物的呼吸作用常伴随膜电位降低, 这与线粒体内质子外流作用增强相关; 而以葡萄糖为底物的氧化过程则伴随相对较高的膜电位以及较弱的质子外流作用<sup>[26]</sup>。由此推测, 脂肪酸的氧化过程及质子外流增强引发的附加效应更易引起线粒体外膜破裂。研究发现, 脂肪酸氧化生成的超氧化物与 ROS 水平升高紧密相关, ROS 亦是线粒体外膜破裂以及解偶联中的主要触发因子<sup>[27]</sup>。因此, 线粒体外膜破裂以及解偶联可能是抑制其受到进一步氧化应激损伤的防御机制。② 脂肪酸可能通过直接干扰线粒体融合, 诱导线粒体外膜破裂。研究显示, 棕色脂肪组织内的脂肪酸可通过解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 激活解偶联呼吸作用<sup>[28]</sup>, 该激活机制与其化学结构 (而不是脂肪酸代谢或内源性质子流动调控过程) 关系更为密切<sup>[29]</sup>。由此推测, 特定种类的脂肪酸除了作为线粒体物质氧化的能源外, 还可通过 UCP1 介导, 激活线粒体分裂信号并促进解偶联呼吸作用发生。此外, 过量脂肪酸可能通过干扰磷脂酶相关的生理过程, 对线粒体融合过程起到调控作用。研究发现, 线粒体融合蛋白 (mitofusin, Mfn) 调控线粒体融合的过程依赖线粒体内磷脂酶活性, 该研究将线粒体内磷脂酶介导产生的酸性脂质与线粒体融合过程直接联系起来<sup>[30]</sup>。

回归胰岛 $\beta$ 细胞本身, 其线粒体解偶联呼吸作用增强, 可满足其减少过量营养物质并维持生物能量代谢效率的需求, 从而保持胞内营养物质供需稳态<sup>[31]</sup>。解偶联呼吸作用增强, 促使细胞通过产热消耗多余营养物质, 可能是降低胰岛 $\beta$ 细胞内生物能量效率的机制之一。因此, 针对解偶联呼吸环节研发更为合适的解偶联剂, 以促进 $\beta$ 细胞线粒体呼吸, 同时减少 ATP 的生成, 有望改善胰岛 $\beta$ 细胞功能紊乱。

## 2 线粒体与内质网动态关联共调控胰岛 $\beta$ 细胞稳态

### 2.1 线粒体与内质网的功能联系

内质网作为细胞内生物合成以及蛋白加工的重要细胞器, 几乎参与物质代谢的所有环节, 并将物质代谢与细胞内信号传导联系起来。多种病理及生理因素均会影响内质网功能, 甚至引起内质网应激。内质网应激过程可启动下游信号级联反应即未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 以释放压力。若 UPR 过程不足以消除内质网应激, 则会引起诸如胰岛 $\beta$ 细胞功能异常及凋亡的病理状态发生, 最终导致 2 型糖尿病的发生<sup>[32]</sup>。

高糖 (糖毒性)、高脂 (脂毒性) 或二者同时存在条件下, 内质网可抑制 ROS 生成, 尤其是来源于线粒体的 ROS, 同时, 可降低某些内质网应激相关因子的表达, 并可一定程度上抵御棕榈酸诱导的胰岛 $\beta$ 细胞凋亡<sup>[33]</sup>; 但内质网应激却可通过干扰线粒体内钙离子稳态, 引起胰岛 $\beta$ 细胞凋亡。除此以外, 近期研究表明, 线粒体功能异常亦会引起内质网应激; 上述研究均提示, 内质网与线粒体在维持胰岛 $\beta$ 细胞存活及功能方面具有一定的协同作用。

线粒体与内质网功能之间存在多种间接或直接的联系, 共同调节细胞内物质及能量代谢稳态, 其中即包括脂质转运过程及钙离子交换过程 (对钙离子方面影响见 2.3 线粒体-内质网动态关联与胰岛素相关信号通路)。以脂质转运过程为例, Lahiri 等<sup>[34]</sup>研究表明, 内质网膜蛋白复合物 (EMS) 可通过与线粒体外膜移位酶蛋白复合物 5 (translocase of the outer membrane 5, Tom5) 发生相互作用, 促使脂质由内质网向线粒体转运。

### 2.2 线粒体与内质网的结构偶联关系

近年, 针对内质网与线粒体之间膜接触位点 (即结构偶联) 形成机制的研究进展迅速, 也进一步揭示了两个重要细胞器之间的相互调控对细胞生理生化功能的影响。研究发现, HeLa 细胞中 5%~20% 的线粒体表面膜结构 (线粒体外膜) 与内质网存在联系<sup>[35]</sup>。与此类似, 针对酵母的研究发现, 内质网与线粒体之间存在约 100 个紧密联系 (< 30 nm) 的位点<sup>[36]</sup>。目前认为, 这些接触位点对于内质网与线粒体之间的钙离子以及脂质交换具有重要作用。de Brito 等<sup>[37]</sup>证实, 同时存在于内质网及线粒体上的线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, Mfn2) 对于线粒体的融合过程具有重要调控作用。绝大多数 Mfn2 位于线粒体外膜 (mitochondrial outer membrane, OMM), 但内质网中同样表达一部分 Mfn2, 存在于内质网上的这部分 Mfn2 可与线粒体外膜上的 Mfn2 及 Mfn1 形成二聚体, 从而连接内质网与线粒体。更为重要的是, 敲除 Mfn2 可减少细胞内质网及线粒体之间的钙离子运输, 这与 Mfn2 在二者连接之间的作用相一致。亦有研究表明, 这种连接作用同样受到角蛋白结合蛋白多毛蛋白 (trichoplein) 或肌肉生长抑制素 (mitostatin) 的调控<sup>[38]</sup>。

最近, Kornmann 及其团队<sup>[39, 40]</sup>在酵母中发现了一种可连接内质网与线粒体的复合物, 并将其命名为 ERMES (ER-mitochondria encounter structure), 该研究采用一种巧妙的方法分离出内质网与线粒体连

接缺陷的突变体, 并发现该复合物由内质网蛋白 Mmm1、线粒体外膜蛋白 Mdm10 以及 Mdm34 和胞内蛋白 Mdm12 组成, 敲除其中任何一种蛋白均会导致该复合物的解离, ERMES 突变也可抑制内质网与线粒体之间的脂质交换过程。研究中也发现, ERMES 复合物的 4 种组成蛋白中, 有 3 种均具有形成管状结构的结构域, 这种结构可能与膜间脂质交换过程密切相关<sup>[41]</sup>。

线粒体与内质网具有结构上及生理功能上的相互联系。这种联系一般发生在与线粒体相连接的内质网膜 (MAM)、内质网的特定区域或 OMM。有研究表明, 通过调控内质网与线粒体之间的接触, 可影响  $\gamma$ -分泌酶 ( $\gamma$ -secretase) 活性及  $\beta$ -淀粉样蛋白 (A $\beta$ ) 的生成。若内质网与线粒体之间联系增加, 则会引起  $\gamma$ -secretase 活性降低<sup>[42, 43]</sup>。Lewis 等<sup>[43]</sup>研究发现, 内质网与线粒体的接触还决定着线粒体的复制、分裂和分布。整个细胞中, 有上百个这样的接触点决定着线粒体 DNA 分裂发生的位置及线粒体在细胞中分裂的方式, 这表明内质网与线粒体间存在更高层级的调控作用。本实验室在探索线粒体蛋白 SIRT5 的生理功能时发现, 过表达 SIRT5 可抑制糖脂诱导的胰岛  $\beta$  细胞凋亡, 同时也会显著抑制内质网应激相关的多个关键分子<sup>[24]</sup>, 亦提示线粒体中某些蛋白可能通过某种调控机制影响内质网的分子表达。

随着对内质网与线粒体的结构偶联现象及其调节机制的深入了解, 可推测这种结构上的联系直接或间接地参与某些疾病的病理机制, 对其功能异常与相关疾病的研究有助于发现潜在药物靶点和形成新的治疗策略。

### 2.3 线粒体-内质网动态关联与胰岛 $\beta$ 细胞调控

线粒体功能受损及内质网应激与 2 型糖尿病的发生发展密切相关。一方面, 线粒体与内质网之间的联系对于维持胰岛  $\beta$  细胞存活、抵御病理状态具有重要作用; 另一方面, 二者间联系也对胰岛  $\beta$  细胞的正常分泌功能具有关键调控作用。

#### 2.3.1 线粒体-内质网动态关联与胰岛 $\beta$ 细胞存活

在 2 型糖尿病状态下,  $\beta$  细胞线粒体内氧消耗水平降低, 胞内 ROS 种类增加, 引起多种分子氧化及细胞损伤。同样, 内质网稳态遭到破坏时, 如内质网内发生 UPR, 也会启动细胞死亡信号通路<sup>[44]</sup>。高糖或高脂对线粒体活性及内质网稳态产生的损伤作用, 均可引发能量代谢失衡及 UPR 加剧, 最终导致胰岛  $\beta$  细胞死亡<sup>[45]</sup>。亲联蛋白 (Junctophilin, JPH) 在细胞膜及内质网之间起到通道作用, 为细胞提供内部交流的通道。

有研究表明, 特异性敲低小鼠胰岛内 *Jph3*, 可下调葡萄糖刺激的胰岛素分泌 (glucose-stimulated insulin secretion, GSIS) 水平, 且伴随线粒体功能损伤<sup>[46]</sup>。

细胞内能量代谢及营养物质代谢稳态的正常调控是维持胰岛  $\beta$  细胞功能的关键。在此过程中, 线粒体与内质网之间的联系起到重要作用。当线粒体内钙离子稳态遭到破坏时, 葡萄糖刺激的胰岛素分泌水平显著降低, 但释放内质网中的钙离子可一定程度抵消该作用; 然而, 当内质网中钙离子浓度下降时, 内质网内蛋白错误折叠及内质网应激效应风险将会增加, 并进一步影响胰岛素分泌过程<sup>[47, 48]</sup>。

#### 2.3.2 线粒体-内质网动态关联与胰岛素相关信号通路

有研究表明, 特异性敲除肝脏中 *Mfn2* 会导致线粒体与内质网间联系减少, 从而导致线粒体功能异常、胰岛素抵抗及葡萄糖耐量异常<sup>[49]</sup>, 提示线粒体与内质网的动态关联对于胰岛素信号传导具有重要影响, 该观点得到了一系列研究的支持。Tubbs 等<sup>[50]</sup>研究证实, 胰岛素的信号传导与 MAM 的形成和维持直接相关, 且 T2DM 模型中 MAM 联系被破坏, 其中蛋白激酶 B (PKB, 也被称为 Akt) 是参与 MAM 水平调节的关键激酶, 可能通过与 IP3R1 相互作用, 调控其磷酸化水平, 进而影响内质网内  $\text{Ca}^{2+}$  的释放。胞内  $\text{Ca}^{2+}$  稳态在胰岛素信号通路中作用尤为关键, 尤其对于胰岛  $\beta$  细胞而言, 葡萄糖引起的胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平变化在胰岛素分泌过程中的作用已十分明确<sup>[7]</sup>, 且其异常可能导致 T2DM 的发生<sup>[51]</sup>。

虽然已证实线粒体的完整性与胰岛  $\beta$  细胞对于葡萄糖反应性密切相关<sup>[22]</sup>, 但线粒体-内质网间动态联系与胰岛  $\beta$  细胞相关研究仍十分有限。考虑到胰岛  $\beta$  细胞可能也是胰岛素作用的关键靶点之一<sup>[52]</sup>, 其中线粒体-内质网间联系的相关研究可能具有更为重要的意义。然而, 对于线粒体-内质网动态关联,  $\text{Ca}^{2+}$ 、ROS 及脂质 (亦或三者共同作用) 造成的影响孰轻孰重目前尚无定论, 仍需后续研究进一步探讨。

### 3 展望

线粒体与内质网作为重要的亚细胞结构, 与细胞的功能状态密切相关, 线粒体与内质网结构偶联亦加强了二者联系。线粒体自身动态变化响应胞内能量代谢过程, 并参与部分物质代谢过程, 为胰岛  $\beta$  细胞稳态提供物质基础; 内质网则可实时响应线粒体变化, 并通过调控相关蛋白合成, 影响胰岛  $\beta$  细胞功能。除二者各自功能外, 线粒体与内质网结构或能量代谢状态中的相互影响、协同作用, 对于维持胰岛  $\beta$  细胞的状态及生理功能具有十分重要的意义。对线

粒体-内质网动态关联共调控胰岛 $\beta$ 细胞功能稳态的深入探索, 将进一步揭示亚细胞水平细胞器间对 $\beta$ 细胞功能的精密调节, 有助于糖尿病发病机制研究及药物新靶点的发现, 也将为糖尿病的防治提供全新思路。

## References

- [1] Rutter GA, Pinton P. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in insulin signaling [J]. *Diabetes*, 2014, 63: 3163–3165.
- [2] Liu X, Hajnóczky G. Altered fusion dynamics underlie unique morphological changes in mitochondria during hypoxia-reoxygenation stress [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18: 1561–1572.
- [3] Liesa M, Palacín M, Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease [J]. *Physiol Rev*, 2009, 89: 799–845.
- [4] Yin F, Cadenas E. Mitochondria: the cellular hub of the dynamic coordinated network [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22: 961–964.
- [5] Wang C, Du W, Su QP, et al. Dynamic tubulation of mitochondria drives mitochondrial network formation [J]. *Cell Res*, 2015, 25: 1108–1120.
- [6] Corkey BE, Deeney JT, Yaney GC, et al. The role of long-chain fatty acyl-CoA esters in  $\beta$ -cell signal transduction [J]. *J Nutr*, 2000, 130: 299S–304S.
- [7] Rutter GA. Nutrient-secretion coupling in the pancreatic islet  $\beta$ -cell: recent advances [J]. *Mol Aspects Med*, 2001, 22: 247–284.
- [8] Pi J, Zhang Q, Fu J, et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic  $\beta$ -cell function [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244: 77–83.
- [9] Buteau J, Roduit R, Susini S, et al. Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in  $\beta$  (INS-1)-cells [J]. *Diabetologia*, 1999, 42: 856–864.
- [10] Kibbey RG, Pongratz RL, Romanelli AJ, et al. Mitochondrial GTP regulates glucose-stimulated insulin secretion [J]. *Cell Metab*, 2007, 5: 253–264.
- [11] Floyd JC Jr, Fajans SS, Conn JW, et al. Stimulation of insulin secretion by amino acids [J]. *J Clin Invest*, 1966, 45: 1487–1502.
- [12] Poyntout V, Robertson RP. Glucolipototoxicity: fuel excess and  $\beta$ -cell dysfunction [J]. *Endocr Rev*, 2008, 29: 351–366.
- [13] Chang-Chen KJ, Mullur R, Bernal-Mizrachi E.  $\beta$ -Cell failure as a complication of diabetes [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2008, 9: 329–343.
- [14] Prentki M, Nolan CJ. Islet  $\beta$  cell failure in type 2 diabetes [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 1802–1812.
- [15] Gilon P, Chae HY, Rutter GA, et al. Calcium signaling in pancreatic  $\beta$ -cells in health and in type 2 diabetes [J]. *Cell Calcium*, 2014, 56: 340–361.
- [16] Pi J, Bai Y, Zhang Q, et al. Reactive oxygen species as a signal in glucose-stimulated insulin secretion [J]. *Diabetes*, 2007, 56: 1783–1791.
- [17] Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 42351–42354.
- [18] Supale S, Li N, Brun T, et al. Mitochondrial dysfunction in pancreatic  $\beta$  cells [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2012, 23: 477–487.
- [19] Liu SN, Liu Q, Shen ZF. Metformin improves  $\beta$ -cell dysfunction by regulating inflammation production, ion and hormone homeostasis of pancreas in diabetic KKAY mice [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2014, 49: 1554–1562.
- [20] Affourtit C, Brand MD. Stronger control of ATP/ADP by proton leak in pancreatic  $\beta$ -cells than skeletal muscle mitochondria [J]. *Biochem J*, 2006, 393: 151–159.
- [21] Irls E, Neco P, Lluemas M, et al. Enhanced glucose-induced intracellular signaling promotes insulin hypersecretion: pancreatic  $\beta$ -cell functional adaptations in a model of genetic obesity and prediabetes [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 404: 46–55.
- [22] Chan DC. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development [J]. *Cell*, 2006, 125: 1241–1252.
- [23] Ishihara H, Asano T, Tsukuda K, et al. Pancreatic  $\beta$  cell line MIN6 exhibits characteristics of glucose metabolism and glucose-stimulated insulin secretion similar to those of normal islets [J]. *Diabetologia*, 1993, 36: 1139–1145.
- [24] Wang Y, Liu SN, Shen ZF. Up-regulation of Sirtuin 5 contributes to protection for mouse pancreatic beta cell against apoptosis induced by high fat and glucose [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2014, 30: 50–51.
- [25] Molina AJ, Wikstrom JD, Stiles L, et al. Mitochondrial networking protects  $\beta$ -cells from nutrient-induced apoptosis [J]. *Diabetes*, 2009, 58: 2303–2315.
- [26] Seifert EL, Estey C, Xuan JY, et al. Electron transport chain-dependent and -independent mechanisms of mitochondrial  $H_2O_2$  emission during long-chain fatty acid oxidation [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 5748–5758.
- [27] Echtay KS, Roussel D, St-Pierre J, et al. Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins [J]. *Nature*, 2002, 415:

- 96–99.
- [28] Matthias A, Ohlson KBE, Fredriksson JM, et al. Thermogenic responses in brown fat cells are fully UCP1-dependent. UCP2 or UCP3 do not substitute for UCP1 in adrenergically or fatty acid-induced thermogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 25073–25081.
- [29] Shabalina IG, Backlund EC, Bar-Tana J, et al. Within brown-fat cells, UCP1-mediated fatty acid-induced uncoupling is independent of fatty acid metabolism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1777: 642–650.
- [30] Choi SY, Huang P, Jenkins GM, et al. A common lipid links Mfn-mediated mitochondrial fusion and SNARE-regulated exocytosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 1255–1262.
- [31] Anello M, Lupi R, Spampinato D, et al. Functional and morphological alterations of mitochondria in pancreatic beta cells from type 2 diabetic patients [J]. *Diabetologia*, 2005, 48: 282–289.
- [32] Laybutt DR, Preston AM, Åkerfeldt MC, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2007, 50: 752–763.
- [33] Lin N, Chen H, Zhang H, et al. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) inhibition ameliorates palmitate-induced INS-1  $\beta$  cell death [J]. *Endocrine*, 2012, 42: 107–117.
- [34] Lahiri S, Chao JT, Tavassoli S, et al. A conserved endoplasmic reticulum membrane protein complex (EMC) facilitates phospholipid transfer from the ER to mitochondria [J]. *PLoS Biol*, 2014, 12: e1001969.
- [35] Rizzuto R, Pinton P, Carrington W, et al. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial  $Ca^{2+}$  responses [J]. *Science*, 1998, 280: 1763–1766.
- [36] Achleitner G, Gaigg B, Krasser A, et al. Association between the endoplasmic reticulum and mitochondria of yeast facilitates interorganelle transport of phospholipids through membrane contact [J]. *Eur J Biochem*, 1999, 264: 545–553.
- [37] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria [J]. *Nature*, 2008, 456: 605–610.
- [38] Cerqua C, Anesti V, Pyakurel A, et al. Trichoplein/mitostatin regulates endoplasmic reticulum–mitochondria juxtaposition [J]. *EMBO Rep*, 2010, 11: 854–860.
- [39] Stroud DA, Oeljeklaus S, Wiese S, et al. Composition and topology of the endoplasmic reticulum–mitochondria encounter structure [J]. *J Mol Biol*, 2011, 413: 743–750.
- [40] Toulmay A, Prinz WA. Lipid transfer and signaling at organelle contact sites: the tip of the iceberg [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23: 458–463.
- [41] Kopec KO, Alva V, Lupas AN. Homology of SMP domains to the TULIP superfamily of lipid-binding proteins provides a structural basis for lipid exchange between ER and mitochondria [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26: 1927–1931.
- [42] Leal NS, Schreiner B, Pinho CM, et al. Mitofusin-2 knock-down increases ER–mitochondria contact and decreases amyloid  $\beta$ -peptide production [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20: 1686–1695.
- [43] Lewis SC, Uchiyama LF, Nunnari J. ER-mitochondria contacts couple mtDNA synthesis with mitochondrial division in human cells [J]. *Science*, 2016, 353: aaf5549.
- [44] Roy S, Trudeau K, Roy S, et al. Mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress in diabetic retinopathy: mechanistic insights into high glucose-induced retinal cell death [J]. *Curr Clin Pharmacol*, 2013, 8: 278–284.
- [45] Rocha M, Diaz-Morales N, Rovira-Llopis S, et al. Mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress in diabetes [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22: 2640–2649.
- [46] Li L, Pan ZF, Huang X, et al. Junctophilin 3 expresses in pancreatic beta cells and is required for glucose-stimulated insulin secretion [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e2275.
- [47] Ozcan L, Tabas I. Calcium signalling and ER stress in insulin resistance and atherosclerosis [J]. *J Intern Med*, 2016, 280: 457–464.
- [48] Wiederkehr A, Wollheim CB. Mitochondrial signals drive insulin secretion in the pancreatic  $\beta$ -cell [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 353: 128–137.
- [49] Sebastián D, Hernández-Alvarez MI, Segalés J, et al. Mitofusin 2 (Mfn2) links mitochondrial and endoplasmic reticulum function with insulin signaling and is essential for normal glucose homeostasis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 5523–5528.
- [50] Tubbs E, Theurey P, Vial G, et al. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (MAM) integrity is required for insulin signaling and is implicated in hepatic insulin resistance [J]. *Diabetes*, 2014, 63: 3279–3294.
- [51] Kahn SE, Zraika S, Utzschneider KM, et al. The  $\beta$  cell lesion in type 2 diabetes: there has to be a primary functional abnormality [J]. *Diabetologia*, 2009, 52: 1003–1012.
- [52] Kulkarni RN, Brüning JC, Winnay JN, et al. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes [J]. *Cell*, 1999, 96: 329–339.