

综 述

细胞内ATP水平调节机制在肥胖病理生理中的作用

钱胜南¹, 彭诗乔², 章小英², 叶建平^{1,2,*}¹上海海洋大学食品学院, 上海 201306; ²上海交通大学第六人民医院糖尿病研究所, 上海 200233

摘要: ATP是细胞的重要能源。传统观点认为细胞内ATP水平相对恒定, 不会出现持续升高。而新的研究提示: 在能量过剩状态下, ATP水平在多种组织中持续升高, 这种升高与能量过剩引起的代谢紊乱密切相关, 但其升高机制尚不清楚。本文通过回顾本研究组前期实验结果和文献, 论述调节细胞内ATP水平的多种因素, 其中涉及超氧离子、线粒体炫、抗氧化剂、抗凋亡蛋白(Bcl-xL)、AMP活化的蛋白激酶以及二甲双胍等, 重点讨论这些因素改变ATP设定点的作用及其潜在机制, 评估它们在细胞内ATP水平升高或降低中扮演的角色。本文以能量过剩的分子机制为中心, 探讨细胞内ATP水平升高导致胰岛素抵抗的分子机制, 同时阐明新的实验结果与ATP传统观点之间发生矛盾的可能原因。作者认为在肥胖条件下, ATP水平升高是细胞能量过剩的重要信号, 该信号通过激活反馈通路抑制线粒体功能, 造成糖脂代谢紊乱。

关键词: ATP; 线粒体; 胰岛素抵抗; 能量平衡; 2型糖尿病

中图分类号: R332; R363.2; R329.2

Novel role of intracellular ATP in obesity pathology

QIAN Sheng-Nan¹, PENG Shi-Qiao², ZHANG Xiao-Ying², YE Jian-Ping^{1,2,*}¹College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; ²Diabetes Research Institute, Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Abstract: ATP is an important energy source for cells. Traditionally, intracellular ATP levels are believed to be relatively stable and will not rise consistently in the physiological conditions. However, new studies suggest that ATP levels may rise in multiple tissues under the condition of energy surplus contributing to the metabolic disorders in obesity. However, the molecular mechanism of ATP elevation remains unknown in obesity except the increase in energy supply. Based on our experimental results and the findings reported in the literature, we discuss the cellular and molecular mechanisms by which ATP levels are regulated in cells by multiple factors, including superoxide ions, mitochondrial flash, antioxidants, anti-apoptotic molecule Bcl-xL, AMP-activated protein kinase (AMPK) and metformin. Contribution of these factors to the alteration of ATP set-point will be discussed together with their impact on insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. With a focus on the energy surplus in obesity, we explore the mechanism of insulin resistance induced by ATP elevation and provide an answer to the contradiction between the new experimental results and the traditional viewpoint of intracellular ATP. We propose that elevation of intracellular ATP may lead to metabolic disorder in obesity through activation of a feedback mechanism that inhibits mitochondrial function.

Key words: ATP; mitochondrion; insulin resistance; energy balance; type 2 diabetes mellitus

ATP 是细胞的重要能源, 在细胞生理活动中发挥着多种调节作用, 其中包括细胞增殖、分化以及凋亡等。由于细胞的生理活动如信号转导、离子通道活动、细胞骨架的重塑以及基因转录等均需要

ATP 提供能量, 细胞严格调节 ATP 是保持其稳态的基础。在中国, 2 型糖尿病已经成为常见多发病, 患病率占总人口数的 10%^[1], 成为亟待解决的问题。2 型糖尿病的病理特征主要是胰岛素抵抗, 即胰岛

素无法发挥正常降糖作用, 空腹血糖和胰岛素均高于正常水平。在胰岛素抵抗条件下, 胰岛素刺激细胞利用葡萄糖产生 ATP 的能力降低, 但刺激葡萄糖合成脂肪酸的能力变化不大^[2]。而肥胖是导致 2 型糖尿病的常见原因, 提示能量过剩可以引起胰岛素抵抗, 但能量过剩转变为胰岛素抵抗的机制尚不清楚。关于该机制存在多个学说, 如脂毒说、糖毒说、炎症说、线粒体功能失常说、氧化应激说和高胰岛素血症说等^[3], 但这些理论还不成熟, 尚不能为 2 型糖尿病的病理表现提供全面、统一的解释, 也不能为临床治疗提供有力的指导。本综述以 ATP 为中心, 解释能量过剩引起细胞内 ATP 水平升高的机制, 同时探讨 ATP 过剩引起胰岛素抵抗的机制, 为肥胖引起 2 型糖尿病的病理生理提供新的解释。

1 细胞内ATP水平调节机制

细胞内 ATP 的信号作用是一个新领域, 相关报道较少。细胞内 ATP 与细胞外 ATP 的作用不同。已有很多文献对细胞外 ATP 的信号作用进行阐述, 细胞外 ATP 可以通过结合细胞膜表面的嘌呤能受体, 调节细胞的增殖及分化^[4]。细胞内 ATP 的作用涉及面很广, 不仅可以为多种酶提供能量, 而且可以提供磷酸基团参与蛋白磷酸化修饰, 从而调控信号传递及代谢适应性。其中涉及 ATP 对糖酵解及三羧酸循环进行反馈调节, 从而维持细胞内 ATP 供需平衡。ATP 水平稳态是细胞正常分裂、增殖、迁移、分化和凋亡等活动的基础, 也决定了细胞对神经激素和微环境的生理反应。

2 细胞内ATP水平设定点及调控机制

传统观点认为, 在生理条件下, 细胞内 ATP 水平维持在 2 mmol/L 左右的水平, 处于相对恒定, 虽存在一过性波动, 但不会持续升高或降低^[5-7]。细胞内 ATP 恒定的机制是由于细胞内存在 2 mmol/L 水平的“设定点”(set-point)。不同的细胞产生和利用 ATP 的能力差别很大, 但所有哺乳动物的细胞都有维持自身 ATP 水平相对稳定的能力。如心肌细胞在运动时的 ATP 消耗速度增加 5~10 倍, 其产生 ATP 的速度也提高 5~10 倍, 使细胞内 ATP 维持在设定点水平保持不变。线粒体是产生 ATP 的主要细胞器, 其功能依赖于氧和底物的正常供应^[5]。这是维持 ATP 设定点的基本要求, 是本文讨论的基础。在缺氧或缺少能量底物的条件下, ATP 设定点无法

维持正常水平。在能量需求增加的条件下, 由于 ATP 消耗增加, 细胞内 ATP 水平有降低的趋势。为防止 ATP 水平低于设定点, 细胞启动代偿机制, 刺激线粒体 ATP 合成。这种能量需求拉动 ATP 合成学说简称为“拉动说”。拉动说的分子机制与 AMP 或 ADP 激活的腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 有关, AMPK 通过磷酸化多种合成与分解代谢途径中的相关酶, 一方面通过促进葡萄糖和脂肪酸吸收及水解, 增加线粒体底物供应, 另一方面可以提高线粒体合成 ATP 的能力。两者结合, 大大加速线粒体 ATP 的合成反应, 适应 ATP 消耗增加的需求, 防止 ATP 水平降低。当 ATP 水平高于设定点时, 除 AMPK 通路不被激活外, 细胞还启动另一套代偿机制, 降低 ATP 的产生。该机制包括增加呼吸链产生氧自由基从而氧化解耦联蛋白 (uncoupling protein, UCP)^[8] 和增加 ADP/ATP 转运子 (ADP/ATP carrier, AAC) 对质子 (H^+) 的转运能力^[9], 从而提高线粒体产热活动, 释放过剩的能量。这些反应可降低膜电位, 减少 ATP 合成。线粒体产热可调控 ATP 设定点。产热与合成 ATP 是线粒体主要能量输出方式, 两者之间存在竞争关系。两者利用能量的比例呈负相关。合成 ATP 所占比重增加时, 产热占比减少。相反, 产热占比增加时, ATP 合成占比减少。因此, 细胞可以通过调节线粒体热量输出来控制细胞内 ATP 的合成速度, 从而影响 ATP 水平。

2.1 解耦联剂和超氧离子降低ATP设定点

解耦联剂 dinitrophenol (DNP) 是刺激线粒体产热的一类化合物, 它们激活 UCP, 使 H^+ 从线粒体膜间隙进入线粒体基质, 释放热量, 而不是用于合成 ATP^[10]。因此, 呼吸链解耦联可以抑制 ATP 的合成, 降低 ATP 设定点。线粒体在大量能量物质 (如葡萄糖、丙酮酸等) 的刺激下, 会产生过多的超氧离子 (O_2^-)。线粒体的超氧离子可以用黄色荧光素进行跟踪定量。超氧离子通过氧化植入线粒体的黄色荧光素, 使线粒体产生阵发的、强烈的荧光。这一现象在共聚焦显微镜下最早被观察到, 命名为“线粒体炫”(mitochondrial flash/mitoflash) 或“超氧炫”(superoxide flash)^[6]。线粒体炫是单个线粒体的活动, 广泛存在于细胞中^[11]。线粒体炫的产生依赖于呼吸链功能, 也依赖于线粒体膜电位^[12]。线粒体炫的产生依赖底物引起膜电位升高和 ATP 水平升高。在心肌细胞或 Hela 细胞中, 用激光共聚焦显微镜观察到,

线粒体炫在 ATP 短暂快速升高后发生。在线粒体炫启动后, 线粒体膜电位和细胞 ATP 降回到正常水平^[7, 13]。在肥胖 (db/db) 小鼠骨骼肌组织和细胞中, 线粒体炫的频率明显持续升高^[14], 提示骨骼肌中存在能量过剩。这些研究结果表明, 细胞内 ATP 水平升高与线粒体炫频率成正相关。线粒体产生的超氧离子可通过修饰 UCP1 及 UCP2 增加其活性, 促进线粒体产热^[15, 16], 降低 ATP 合成 (图 1)。这些研究提示, 线粒体炫是能量过剩引起的线粒体反应, 其生理学意义是防止细胞内 ATP 过剩。因此, 超氧离子有可能是线粒体防止 ATP 过度合成的一种反馈机制。

2.2 抗氧化剂提高ATP设定点

用抗氧化剂降低超氧离子水平可以降低 UCP 活性, 降低线粒体产热, 导致 ATP 合成增加 (图 1)。锰超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD₂) 是线粒体中的抗氧化酶, 其作用是将超氧离子变成双氧水 (H₂O₂), 降低超氧离子水平。在线粒体基质中, 双氧水经过氧化氢酶 (catalase) 催化变成水和

氧气, 实现抗氧化作用。线粒体 SOD₂ 的表达水平升高可以加速超氧离子变成双氧水, 降低超氧离子水平, 减少线粒体产热, 同时促进 ATP 合成, 提高细胞内 ATP 水平。Wang 等通过共聚焦成像法测定小鼠心肌细胞线粒体的 ATP 生成率, 发现可以通过增加 SOD₂ 基因表达提高 ATP 设定点, 升高细胞内 ATP 水平^[7]。

超氧离子特异化学抗氧化剂 SS31 (D-Arg-2,6-dimethyltyrosine-Lys-Phe-NH₂) 是一种细胞通透性的线粒体靶向多肽分子, 能够穿过细胞膜和线粒体膜渗透到线粒体中, 与超氧离子结合, 降低超氧离子水平^[17]。经过 SS31 处理的神经元细胞, 细胞内 ATP 的水平显著升高^[18]。超氧离子特异抗氧化剂 TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidine-1-oxyl) 是氧化亚氮家族的成员, 是稳定的低分子量自由基, 可以与超氧离子结合, 中和超氧离子的作用, 是氧自由基的清除剂和稳定剂^[19]。体内注射 TEMPO 可以清除超氧离子自由基, 降低线粒体产热, 提高细胞

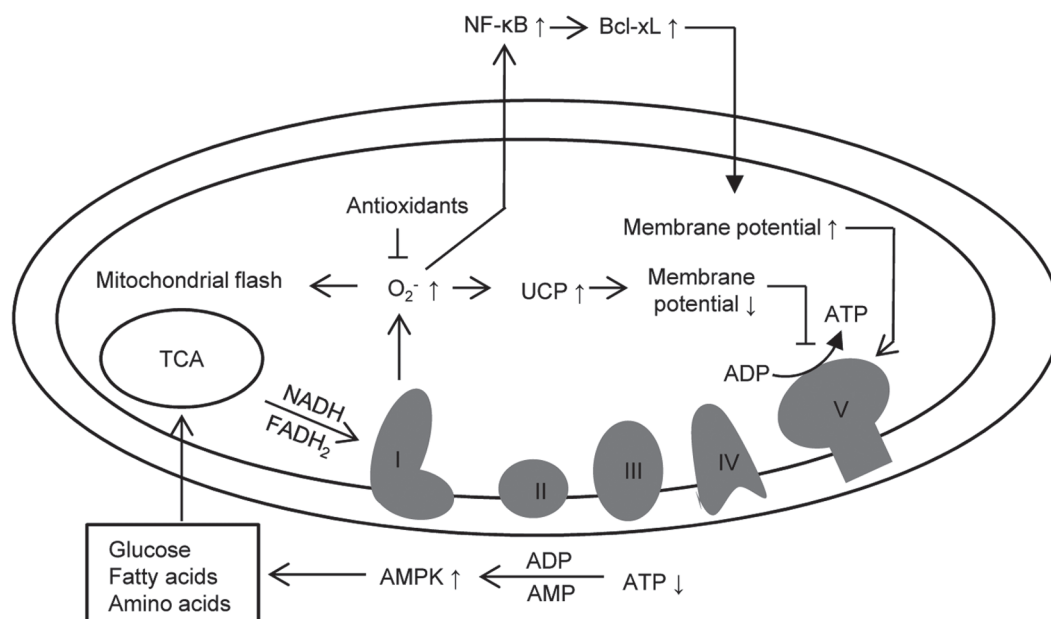


图 1. ATP设定点的调节机制

Fig. 1. Mechanism of ATP set-point regulation. Energy substances including glucose, fatty acids and amino acids, provide energy to the respiratory chain through the tricarboxylic acid (TCA) cycle in mitochondria. Compound I of respiratory chain is the main source of reactive oxygen species (ROS) that triggers superoxide flash or mitochondrial flash. Superoxide ion increases heat production by mitochondria, reduces membrane potential and ATP synthesis through oxidation of the uncoupling proteins (UCP). In addition, superoxide ion can activate the transcription factor NF- κ B to induce the expression of Bcl-xL in stabilization of the membrane potential and promotion of ATP synthesis. Antioxidants neutralize superoxide ion to block the two reactions leading to an increase in ATP synthesis. When intracellular ATP level decreases, AMPK is activated to promote breakdown of glucose, fatty acids and protein to provide energy to mitochondria; on the other hand, AMPK increases the activity of mitochondrial respiratory chain to maintain the mitochondrial membrane potential in acceleration of ATP synthesis.

ATP 水平^[16]。因此，超氧离子特异抗氧化剂可以提高细胞的 ATP 水平。TEMPO 降低线粒体产热的作用是改变 ATP 设定点的一个潜在机制。

2.3 线粒体抗凋亡蛋白提高ATP设定点

特大型 B 细胞淋巴瘤蛋白 (B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xL) 是线粒体的抗凋亡蛋白，是抗凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤 -2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族成员。有研究报道，该蛋白存在于线粒体外膜，通过结合促凋亡蛋白 Bax (Bcl-2-associated X) 来阻断细胞凋亡反应。通过慢病毒转染技术过表达 Bcl-xL 蛋白，可以引起神经元细胞内 ATP 水平高于对照组^[20]。在机制上，Bcl-xL 蛋白直接结合线粒体呼吸链的 F_0F_1 -ATP 合成酶，提高 ATP 的合成水平。重组 Bcl-xL 蛋白在体外与纯化的 F_0F_1 -ATP 合成酶结合，提高酶的催化活性。用化学抑制剂 ABT-737 降低 Bcl-xL 的活性，破坏 Bcl-xL 与 Bax 的相互作用，可造成 ATP 合成酶活性降低^[21]。因此 Bcl-xL 表达水平的升高，可以通过提高 ATP 合成酶的活性，上调 ATP 设定点，使细胞内 ATP 维持在高水平 (图 1)。

2.4 细胞ATP水平存在异质性

在研究 ATP 水平方面，分单细胞系统和多细胞系统。单个细胞或单个线粒体是研究 ATP 的传统模型。在单个细胞中，能量物质 (葡萄糖和丙酮酸) 可诱导细胞内 ATP 水平表现出一过性升高。在高水平葡萄糖 (或丙酮酸) 刺激下，心肌细胞 ATP 水平在 1 min 内超过设定点，引起超氧离子 O_2^- (氧自由基) 水平升高，并在 3 min 内将 ATP 水平降回到设定点^[6, 7]。因此传统的观点认为，ATP 水平在细胞内是相对恒定的。在多细胞系统中，ATP 水平来自组织匀浆或细胞培养，反映成千上万个细胞的平均 ATP 水平。在细胞培养中，脂肪酸刺激培养的细胞，引起细胞内 ATP 出现持续升高可达数小时^[22]。在高脂喂养肥胖小鼠模型中，我们观察到 ATP 水平在脂肪^[22]、肝脏^[23]和肠道组织^[24]中均升高。有文献报道，人体在摄取高脂饮食后，ATP 水平在肝脏中也增加^[25]。这些研究提示，在 ATP 水平方面，单细胞研究结论和多细胞研究结论并不一致。目前还没有公认的理论将两种模型的结果统一起来。在此，我们提出一个以单细胞模型为基础的细胞群体效应假设，来统一两种结论。在单个细胞或单个线粒体系统中，ATP 水平在能量刺激条件下不会持续升高。但在多细胞系统中，由于存在细胞异质性，细胞对能量刺激的反应有快有慢。反应快的细胞先

引起组织 ATP 水平升高，反应慢的细胞后引起组织 ATP 水平升高。在细胞群体中，这些反应交替发生，产生群体效应，引起组织或器官 ATP 持续升高。该假设还须进一步验证。

2.5 药物

用药物如二甲双胍^[26, 27]抑制线粒体 ATP 合成，可以降低细胞内 ATP 供应，还有文献提出丁酸钠可以刺激线粒体以热的形式释放能量，缓解能量过剩^[28]。二甲双胍是典型的胰岛素增敏剂，一般认为其通过两方面作用缓解胰岛素抵抗，一方面抑制肝脏线粒体呼吸链，激活 AMPK，提高胰岛素敏感性，降低糖异生反应；另一方面，可能通过 AMP 抑制果糖 -1, 6-二磷酸酶，缓解胰岛素抵抗^[29]。二甲双胍的药效可不依赖 AMPK，因降低 ATP 产量是药效的关键^[30]。另外，线粒体复合物 I 的抑制剂鱼藤酮可以增强糖酵解，降低烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 $NAD^+/NADH$ 的比率，减少线粒体 ATP 产量^[31]。

3 ATP过剩是胰岛素抵抗的关键因素

在肥胖小鼠中，ATP 水平在多个组织和器官中的升高与胰岛素抵抗密切相关^[22-24]，并可以增加 2 型糖尿病的风险。ATP 过剩引起的胰岛素抵抗存在两种机制：一种是 AMPK 依赖性的通路，另一种是 AMPK 非依赖性的通路。

3.1 AMPK依赖通路

AMPK 依赖通路是在 ATP 过多条件下，AMPK 活性降低，使葡萄糖转运子 4 (glucose transporter 4, GLUT-4) 无法被磷酸化，从而抑制胰岛素诱导的细胞糖吸收，导致胰岛素抵抗^[29]。因此，抑制线粒体 ATP 的产生是治疗胰岛素抵抗的有效方法^[3]。大多数胰岛素增敏药物能够抑制线粒体中的 ATP 生成^[32]。

3.2 AMPK非依赖通路

AMPK 非依赖通路分为两部分：一方面 ATP 导致 mTOR (mammalian target of rapamycin)/S6K 和 JNK 活性升高，增加胰岛素受体底物蛋白 (insulin receptor substrate, IRS) 丝氨酸磷酸化修饰，降低其信号传递作用，产生胰岛素抵抗^[33]；在高脂喂养的小鼠模型中，脂肪和肝脏中 ATP 水平升高，一方面可以引起脂肪细胞胰岛素抵抗，另一方面引起脂肪组织发生炎症反应^[22]。ATP 水平在肝脏中升高也可引起胰岛素抵抗^[23]，ATP 在肥胖鼠肠道组织中长期升高，引起胰高血糖素样多肽 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 减少^[24]，这些病理生理变化可以导致糖代谢紊乱，

增加 2 型糖尿病的风险。另一方面 ATP 过多会造成丙酮酸脱氢酶活性下降, 糖利用减少, 引起胰岛素抵抗^[23]。

4 ATP过剩与线粒体退化

ATP 过剩对线粒体结构和功能有多种抑制作用, 如通过产生超氧离子抑制 ATP 合成并损伤线粒体结构, 通过抑制 AMPK 活化 mTOR 降低线粒体自噬活动, 引起线粒体功能退化^[34]。这两种机制长期作用可引起线粒体功能退化, 不但加剧代谢紊乱, 还升高糖尿病并发症的风险^[35, 36]。在肥胖状态下, 超氧离子激活 UCP2, 在胰岛 β 细胞中此效应降低 ATP 水平, 导致胰岛素分泌减少, 引起血糖紊乱, 用小分子化合物 Genipin 抑制 UCP2 可反转这一现象^[37]。这些文献提示 ATP 过剩可以通过损伤线粒体并阻碍线粒体更新, 引起能量代谢紊乱。

5 展望与总结

细胞内 ATP 水平调节机制是了解细胞能量代谢稳态的关键。细胞内 ATP 水平受多种因素调控, 如氧供、能量底物、解耦联剂、超氧离子、抗氧化剂、凋亡蛋白以及药物等。这些因素可以调低或调高 ATP 的设定点 (图 2)。ATP 过多或者过少都会对细胞产生不利的影响。我们对 ATP 不足有比较多的认识, 但对 ATP 过剩的认识还相对不足。肥胖和 2 型糖尿病的研究使我们认识到 ATP 过剩的重要性。ATP 过剩可以通过 AMPK 依赖和非依赖的途径引起胰岛素抵抗。另外, ATP 过剩可诱导氧自由基增加, 导致线粒体损伤, 还可通过抑制线粒体自噬阻断线粒体更新。作者认为能量过剩先引起线粒体功能亢进, 通过提高细胞内 ATP 水平引起胰岛素抵抗和线粒体功能退化, 这是肥胖条件下糖脂代谢紊乱的细胞学基础。ATP 是能量过剩引起代谢紊乱的信

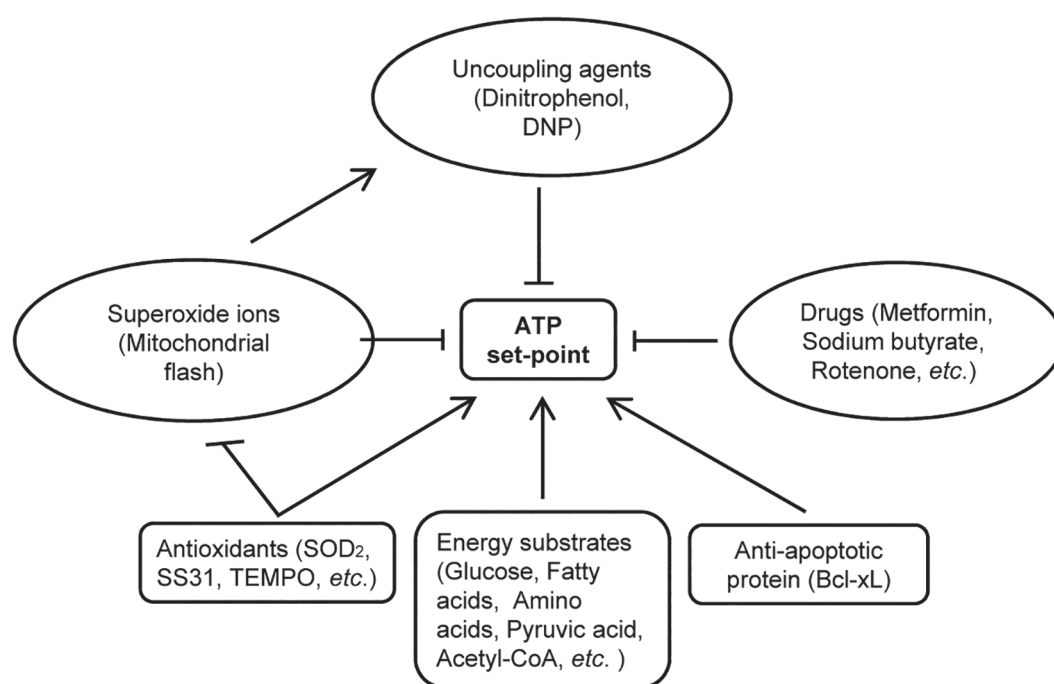


图 2. ATP设定点的调节因素

Fig. 2. Factors involved in the regulation of ATP set-point. The intracellular ATP level is determined by the set-point, which is proportional to the mitochondrial membrane potential. With the increased supply in energy substrates, mitochondrial membrane potential, ATP set-point and intracellular ATP level tend to elevate together. As ATP increases, the negative feedback mechanism of mitochondria will be activated to increase the production of superoxide ions. Superoxide ions promote mitochondrial heat production by oxidative modification of uncoupling proteins to reduce the membrane potential and ATP synthesis. Antioxidants can neutralize the superoxide ions, block the negative feedback reaction, and prevent the decrease of membrane potential to increase the set-point. Uncoupling agents such as Dinitrophenol (DNP) can reduce the membrane potential and down-regulate the ATP set-point through activation of the uncoupling proteins. The anti-apoptotic protein Bcl-xL increases ATP set-point by up-regulation of the mitochondrial membrane potential.

号分子。关于 ATP 过剩引起活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增加的机制还不清楚, 是胰岛素抵抗机制研究的热点。

参考文献

- Xu Y, Wang L, He J, Bi Y, Li M, Wang T, Wang L, Jiang Y, Dai M, Lu J, Xu M, Li Y, Hu N, Li J, Mi S, Chen CS, Li G, Mu Y, Zhao J, Kong L, Chen J, Lai S, Wang W, Zhao W, Ning G, China Noncommunicable Disease Surveillance Group. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults. *JAMA* 2013; 310(9): 948–959.
- Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 2012; 148(5): 852–871.
- Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* 2013; 7(1): 14–24.
- Vitiello L, Gorini S, Rosano G, la Sala A. Immunoregulation through extracellular nucleotides. *Blood* 2012; 120(3): 511–518.
- Wilson DF. Oxidative phosphorylation: regulation and role in cellular and tissue metabolism. *J Physiol* 2017; 595(23): 7023–7038.
- Wang W, Fang H, Groom L, Cheng A, Zhang W, Liu J, Wang X, Li K, Han P, Zheng M, Yin J, Wang W, Mattson MP, Kao JP, Lakatta EG, Sheu SS, Ouyang K, Chen J, Dirksen RT, Cheng H. Superoxide flashes in single mitochondria. *Cell* 2008; 134(2): 279–290.
- Wang X, Zhang X, Wu D, Huang Z, Hou T, Jian C, Yu P, Lu F, Zhang R, Sun T, Li J, Qi W, Wang Y, Gao F, Cheng H. Mitochondrial flashes regulate ATP homeostasis in the heart. *Elife* 2017; 6: e23908.
- Azzu V, Brand MD. The on-off switches of the mitochondrial uncoupling proteins. *Trends Biochem Sci* 2010; 35(5): 298–307.
- Bertholet AM, Chouchani ET, Kazak L, Angelin A, Fedorenko A, Long JZ, Vidoni S, Garrity R, Cho J, Terada N, Wallace DC, Spiegelman BM, Kirichok Y. H^+ transport is an integral function of the mitochondrial ADP/ATP carrier. *Nature* 2019; 571(7766): 515–520.
- McBride S, Wei-LaPierre L, McMurray F, MacFarlane M, Qiu X, Patten DA, Dirksen RT, Harper ME. Skeletal muscle mitoflashes, pH, and the role of uncoupling protein-3. *Arch Biochem Biophys* 2019; 663: 239–248.
- Schwarzlander M, Logan DC, Johnston IG, Jones NS, Meyer AJ, Fricker MD, Sweetlove LJ. Pulsing of membrane potential in individual mitochondria: a stress-induced mechanism to regulate respiratory bioenergetics in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2012; 24(3): 1188–1201.
- Wang S, Hu M, He H. Quantitative analysis of mitoflash excited by femtosecond laser. *J Biomed Opt* 2018; 23(6): 1–6.
- Wang X, Zhang X, Huang Z, Wu D, Liu B, Zhang R, Yin R, Hou T, Jian C, Xu J, Zhao Y, Wang Y, Gao F, Cheng H. Protons trigger mitochondrial flashes. *Biophys J* 2016; 111(2): 386–394.
- Ding Y, Fang H, Shang W, Xiao Y, Sun T, Hou N, Pan L, Sun X, Ma Q, Zhou J, Wang X, Zhang X, Cheng H. Mitoflash altered by metabolic stress in insulin-resistant skeletal muscle. *J Mol Med (Berl)* 2015; 93(10): 1119–1130.
- Krauss S, Zhang CY, Scorrano L, Dalgaard LT, St-Pierre J, Grey ST, Lowell BB. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. *J Clin Invest* 2003; 112(12): 1831–1842.
- Chouchani ET, Kazak L, Jedrychowski MP, Lu GZ, Erickson BK, Szpyt J, Pierce KA, Laznik-Bogoslavski D, Vetrivelan R, Clish CB, Robinson AJ, Gygi SP, Spiegelman BM. Mitochondrial ROS regulate thermogenic energy expenditure and sulfenylation of UCP1. *Nature* 2016; 532(7597): 112–116.
- Szeto HH. Cell-permeable, mitochondrial-targeted, peptide antioxidants. *AAPS J* 2006; 8(2): E277–E283.
- Yin X, Manczak M, Reddy PH. Mitochondria-targeted molecules MitoQ and SS31 reduce mutant huntingtin-induced mitochondrial toxicity and synaptic damage in Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 2016; 25(9): 1739–1753.
- Guo X, Mittelstaedt RA, Guo L, Shaddock JG, Heflich RH, Bigger AH, Moore MM, Mei N. Nitroxide TEMPO: a genotoxic and oxidative stress inducer in cultured cells. *Toxicol In Vitro* 2013; 27(5): 1496–1502.
- Chen YB, Aon MA, Hsu YT, Soane L, Teng X, McCaffery JM, Cheng WC, Qi B, Li H, Alavian KN, Dayhoff-Branigan M, Zou S, Pineda FJ, O'Rourke B, Ko YH, Pedersen PL, Kaczmarek LK, Jonas EA, Hardwick JM. Bcl-xL regulates mitochondrial energetics by stabilizing the inner membrane potential. *J Cell Biol* 2011; 195(2): 263–276.
- Alavian KN, Li H, Collis L, Bonanni L, Zeng L, Sacchetti S, Lazrove E, Nabili P, Flaherty B, Graham M, Chen Y, Messerli SM, Mariggio MA, Rahner C, McNay E, Shore GC, Smith PJ, Hardwick JM, Jonas EA. Bcl-xL regulates metabolic efficiency of neurons through interaction with the mitochondrial FIFO ATP synthase. *Nat Cell Biol* 2011; 13(10): 1224–1233.
- Lee JH, Zhang Y, Zhao Z, Ye X, Zhang X, Wang H, Ye J. Intracellular ATP in balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in adipose tissue with and without tissue expansion. *Int J Obes (Lond)* 2017; 41(4): 645–651.
- Zhang Y, Zhao Z, Ke B, Wan L, Wang H, Ye J. Induction of posttranslational modifications of mitochondrial proteins by

- ATP contributes to negative regulation of mitochondrial function. *PLoS One* 2016; 11(3): e0150454.
- 24 Sun Y, Jin C, Zhang X, Jia W, Le J, Ye J. Restoration of GLP-1 secretion by Berberine is associated with protection of colon enterocytes from mitochondrial overheating in diet-induced obese mice. *Nutr Diabetes* 2018; 8: 53.
- 25 Hernandez EA, Kahl S, Seelig A, Begovatz P, Irmeler M, Kupriyanova Y, Nowotny B, Nowotny P, Herder C, Barosa C, Carvalho F, Rozman J, Neschen S, Jones JG, Beckers J, de Angelis MH, Roden M. Acute dietary fat intake initiates alterations in energy metabolism and insulin resistance. *J Clin Invest* 2017; 127(2): 695–708.
- 26 Brunmair B, Staniek K, Gras F, Scharf N, Althaym A, Clara R, Roden M, Gnaiger E, Nohl H, Waldhausl W, Fornsinn C. Thiazolidinediones, like metformin, inhibit respiratory complex I: a common mechanism contributing to their antidiabetic actions? *Diabetes* 2004; 53(4): 1052–1059.
- 27 Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex I of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J* 2000; 348 Pt 3: 607–614.
- 28 Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, Cefalu WT, Ye J. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 2009; 58(7): 1509–1517.
- 29 Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia* 2017; 60(9): 1577–1585.
- 30 Foretz M, Hebrard S, Leclerc J, Zarrinpashneh E, Soty M, Mithieux G, Sakamoto K, Andreelli F, Viollet B. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. *J Clin Invest* 2010; 120(7): 2355–2369.
- 31 Hou WL, Yin J, Alimujiang M, Yu XY, Ai LG, Bao YQ, Liu F, Jia WP. Inhibition of mitochondrial complex I improves glucose metabolism independently of AMPK activation. *J Cell Mol Med* 2018; 22(2): 1316–1328.
- 32 Zhang Y, Ye J. Mitochondrial inhibitor as a new class of insulin sensitizer. *Acta Pharm Sin B* 2012; 2(4): 341–349.
- 33 Zhang J, Gao Z, Yin J, Quon MJ, Ye J. S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF-(alpha) signaling through IKK2. *J Biol Chem* 2008; 283(51): 35375–35382.
- 34 Rabinowitz JD, White E. Autophagy and metabolism. *Science* 2010; 330(6009): 1344–1348.
- 35 Wei H, Liu L, Chen Q. Selective removal of mitochondria via mitophagy: distinct pathways for different mitochondrial stresses. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1853(10 Pt B): 2784–2790.
- 36 Eisner V, Picard M, Hajnóczky G. Mitochondrial dynamics in adaptive and maladaptive cellular stress responses. *Nat Cell Biol* 2018; 20: 755–765.
- 37 Zhang CY, Parton LE, Ye CP, Krauss S, Shen R, Lin CT, Porco JA Jr, Lowell BB. Genipin inhibits UCP2-mediated proton leak and acutely reverses obesity- and high glucose-induced beta cell dysfunction in isolated pancreatic islets. *Cell Metab* 2006; 3(6): 417–427.