

## · 综述 ·

# 线粒体-内质网偶联结构调控的线粒体形态动力学在中枢神经系统疾病中的作用

李依桐 李越 杨宁 薛言学 李正迁 郭向阳

线粒体外膜和内质网膜之间存在某种高度重叠的特殊物理连接,是二者发生相互作用的亚细胞结构,被称为线粒体-内质网偶联结构(mitochondria associated endoplasmic reticulum membranes, MAMs)。MAMs 在氧化应激、内质网应激、细胞凋亡、细胞自噬、线粒体动态变化及流动性和炎症反应等生命过程中扮演重要角色<sup>[1]</sup>。组成 MAMs 的蛋白主要包括膜结构分子和伴侣分子两类。其中,线粒体融合蛋白 2 (mitofusin2, Mfn2)、线粒体动力相关蛋白 1 (dynammin-related protein 1, Drp1)、线粒体移动相关蛋白等参与线粒体形态的动态调节<sup>[2]</sup>。线粒体可通过融合与分裂完成能量传递以及损伤线粒体的清除<sup>[3]</sup>,此外,线粒体沿微管的顺向和逆向转运作为线粒体形态调节的先导,调节机体对能量需求的应答<sup>[4]</sup>。线粒体形态动力学调节能够维持神经元生理功能的稳态,与中枢神经系统疾病关系密切<sup>[5-6]</sup>。本文主要对 MAMs 调控的线粒体形态动力学异常在认知相关的中枢神经系统疾病中的重要作用进行综述。

## MAMs 调控的线粒体形态动力学机制

线粒体和部分内质网区域具有高度的胞内共定位性,二者通过 MAMs 形成密切的物理和功能连接,并保持稳定的膜间距,不发生膜融合,但当细胞微环境发生变化,线粒体转运和形态发生改变时,MAMs 的空间结构和功能会受到影响,更多信号转导分子在 MAMs“募集”或“组合”,通过细胞器之间相互调控,维持细胞稳态<sup>[2]</sup>。

**线粒体融合** 线粒体融合过程分为外膜融合和内膜融合,分别由不同的 GTP 酶调控。线粒体融合蛋白 1 (mitofusin1, Mfn1) 和 Mfn2 负责外膜的融合,其中 Mfn1 只存在于线粒体,而 Mfn2 大量存在于 MAMs 中<sup>[2]</sup>。Mfn2 除了参与外膜融合,还参与调节内质网和线粒体的连接距离,并能与促凋亡蛋白 Bax/Bak 结合影响细胞凋亡<sup>[7]</sup>。线粒体外膜融合后,由视神经萎缩症蛋白(optic atrophy, OPA1) 调节内膜融合过程,最终两个线粒体融合、形态伸长。在饥饿状态下,OPA1 可以诱导线粒体融合,使损伤的线粒体完成修复,提升 ATP 的生成效率。OPA1 分为主要调控线粒体嵴融合的

L 型和可能有促进分裂的作用的 S 型。在应激条件下,L 型蛋白向 S 型转化,降低线粒体融合效率<sup>[7]</sup>。

**线粒体分裂** 线粒体分裂初期,内质网的微管环绕在线粒体的分裂位点,并将其压缩,随后 Drp1 被线粒体分裂蛋白 1、线粒体分裂因子、线粒体动态蛋白由胞浆招募至线粒体外膜。Drp1 与线粒体外膜受体蛋白相结合形成复合物,随后 Drp1 持续向内压缩,将线粒体一分为二,完成线粒体分裂过程。经典的动力蛋白 Dyn2 也协同 Drp1 参与了此过程<sup>[8]</sup>。Drp1 蛋白能够通过翻译后修饰改变其表达状态如磷酸化、亚硝基化、泛素化及类泛素化等调节线粒体分裂。此外,线粒体分裂与线粒体自噬密切相关。线粒体过度分裂可激活线粒体自噬,通过清除受损的线粒体发挥神经保护功能<sup>[9]</sup>。线粒体自噬调控蛋白 Pink1/Parkin 可通过与线粒体融合/分裂蛋白相互作用,参与线粒体形态动力学的调控。由 Pink1/Parkin 介导的 Mfn2 泛素化触发 p97 依赖的 Mfn2 复合物从线粒体外膜的解体,使 MAMs 分离,驱动线粒体自噬过程<sup>[10]</sup>。MAMs 可调控线粒体形态,对其发挥生物学功能具有重要意义。

**线粒体转运** 神经元的存活依赖于线粒体转运,此过程可为神经元提供生命活动所需的能量和钙缓冲等细胞微环境。线粒体的轴突转运是以微管为轨道的快速轴突转运,按转运方向分为顺向转运和逆向转运两种:顺向转运是线粒体由细胞体向轴突运动,为突触提供能量;逆向转运是线粒体由轴突向胞体移动,降解和替换受损的线粒体,使线粒体处在最佳状态。从应激的线粒体中选择性释放线粒体锚定蛋白(syntaxilin, SNPH) 可增强其逆向转运,并激活 PARK/Parkin 介导的线粒体自噬<sup>[11]</sup>。线粒体的转运方向主要受微管马达蛋白包括驱动蛋白 Kinesin 超家族成员和动力蛋白 Dynein 调控。Kinesin 与衔接蛋白 Miro 和 Milton 结合形成复合物参与顺向转运的调控,Dynein 与 Dynactin 形成复合物参与逆向转运的调控。当 SNPH 与线粒体和微管均连接时,线粒体会沿微管分布。当上述线粒体轴突转运过程出现障碍时,局部功能失调的线粒体体积聚,远端轴突 ATP 供应不足,可影响整个细胞的生命过程,导致多种神经系统疾病。而增强线粒体转运并挽救能量的缺乏能够促进轴突再生<sup>[12]</sup>。

## 线粒体形态动力学与中枢神经系统疾病

近年来,线粒体融合、分裂和转运过程在中枢神经系统中的作用不断被发现。以上过程互相影响,互相制约,任何环节障碍都可导致神经元功能缺陷,进一步则可能发展成认知相关的中枢神经系统疾病,主要有以下 4 种。

DOI:10.12089/jca.2021.06.023

基金项目:国家自然科学基金(81873726,81971012,81901095);北京大学“临床医学+X”青年专项(PKU2020LCXQ016);北京大学第三医院临床重点项目(BYSYZD2019027)

作者单位:100191 北京大学第三医院麻醉科(李依桐、李越、杨宁、李正迁、郭向阳);北京大学中国药物依赖性研究所(薛言学)

通信作者:郭向阳,Email: puthmzk@hsc.pku.edu.cn

阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) AD 作为全球最常见的神经退行性疾病之一,临床表现为记忆功能减退,进而发展成语言功能、视空间受损、人格改变、生活无法自理等。目前认为 AD 主要是由于  $\beta$  淀粉样蛋白 (amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ) 沉积以及  $\tau$  蛋白磷酸化导致转运斑块或纤维缠结所致<sup>[13]</sup>。

MAMs 调控的线粒体形态动力学失衡与 AD 的发生密切相关。其中,内质网和线粒体之间的相互作用增加以及 MAMs 功能的上调是 AD 发病机制的早期核心事件,而纤维斑块和转运缠结则作为其下游结果加速疾病的进程<sup>[14]</sup>。Drp1 作为线粒体形态调节蛋白可以与 A $\beta$  和磷酸化的  $\tau$  蛋白相互作用,造成线粒体过度断裂和突触缺陷,进而导致神经元损伤和认知功能减退。由于 Drp1 与 A $\beta$  相互作用,AD 患者神经元中线粒体形态动力学受损,线粒体分裂增多,融合减少,而抑制这种相互作用则可减轻线粒体功能障碍和突触毒性,维持 AD 患者神经元的线粒体形态动力学和突触活性<sup>[5]</sup>。

线粒体分裂蛋白 Drp1 除了可以影响线粒体的形态,还能影响线粒体的转运。AD 患者线粒体顺向转运功能受损,突触末端线粒体数量急剧减少,ATP 供应不足,这被认为是神经退行性疾病的发病机制之一<sup>[15]</sup>。Bergamin 等<sup>[4]</sup> 研究表明,在 Mfn2 突变的斑马鱼模型中,线粒体轴突转运存在缺陷。此外,在应激状态下,细胞产生的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 也会影响线粒体转运,而线粒体通过其融合/分裂来应对 ROS 介导的氧化应激,发挥神经保护效应<sup>[16]</sup>。

帕金森病 (Parkinson disease, PD) PD 是以静止性震颤、运动迟缓、僵直和姿势反射丧失为主要临床症状的神经退行性疾病。线粒体形态动力学失衡引起的线粒体功能障碍是 PD 的重要机制之一。在鱼藤酮暴露的小鼠纹状体原代神经元中,Drp1 表达显著增加,穿心莲内酯则能通过减少 Drp1 的募集减轻多巴胺能神经元的丢失,发挥神经保护作用<sup>[17]</sup>。过表达 Mfn2 可阻断百草枯诱导离体神经元的线粒体分裂,减轻神经元线粒体功能障碍,在 Mfn2 过表达的转基因小鼠中,百草枯诱导的黑质和纹状体轴突末端的氧化应激、神经元损伤及多巴胺能神经元的丢失较野生型小鼠明显减轻<sup>[6]</sup>。

PD 致病蛋白  $\alpha$  突触核蛋白 ( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn) 的磷酸化和寡聚化是 PD 的两个显著分子病理特征。 $\alpha$ -syn 与线粒体外膜结合会影响膜的弯曲度,降低线粒体的融合率,使线粒体变小<sup>[18]</sup>。除了直接影响线粒体形态, $\alpha$ -syn 还能通过损害轴突上线粒体的转运影响线粒体形态。过表达  $\alpha$ -syn 减弱马达蛋白的功能,降低线粒体的顺行转运效率。 $\alpha$ -syn 可定位于 MAMs 上<sup>[19]</sup>,其是否能通过影响 MAMs 调控的线粒体形态动力学而产生线粒体毒性值得进一步研究。Drp1 的抑制剂 mdivi-1 可通过降低线粒体分裂和氧化应激的水平,抑制  $\alpha$ -syn 聚集,减少神经退行性病变,提示 mdivi-1 可能具有治疗 PD 的潜力<sup>[20]</sup>。

缺血性脑卒中 缺血性脑卒中是指各种原因引起的脑

部血管狭窄或闭塞,局部脑组织由于缺血缺氧而坏死,进而导致神经功能受损的临床疾病。双光子显微镜下发现,轻、中度脑缺血性损伤后,神经元线粒体可逆性断裂,由长的线粒体转变为线粒体片段,而线粒体结构可于 1~2 周后完全恢复完整<sup>[21]</sup>。上述结果表明,调控线粒体形态动力学稳态是缺血性脑卒中的一个重要的治疗策略。在大鼠大脑中动脉闭塞模型中,间充质干细胞来源的健康线粒体移植可减少细胞凋亡及小胶质细胞活化,减少脑梗死面积,改善大鼠运动功能<sup>[22]</sup>。因此,线粒体可能既是缺血-再灌注过程中的损伤靶点,也是缺血预处理发挥神经保护作用的治疗靶点。

围术期神经认知障碍 (perioperative neurocognitive disorders, PND) PND 是围术期以认知功能障碍为主要表现的神经系统并发症,常见于老年患者。PND 的发生可能与高龄、术前疾病、手术创伤、术中全身麻醉药物的使用有关。其中,接受胫骨骨折手术的老年大鼠脂质与蛋白质氧化损伤,线粒体呼吸功能被破坏,脑源性神经营养因子水平降低,进而导致学习记忆功能障碍<sup>[23]</sup>。吸入性麻醉药物异氟醚还能通过 ROS 的累积,诱导线粒体通透性转换孔开放,增加线粒体膜的通透性,降低其膜电位,减少 ATP 的生成,激活 caspase-3 细胞凋亡途径诱导产生神经毒性,造成学习和记忆功能的损伤<sup>[24]</sup>。异氟醚以线粒体复合物 I 作为主要靶点,通过限制突触 ATP 的产生,抑制兴奋性囊泡胞吞和胞吐<sup>[25]</sup>。以上研究表明,手术/麻醉可能通过线粒体依赖的细胞凋亡途径等靶点来破坏神经元功能,而线粒体质量控制与多种调控机制相关。其中,线粒体形态动力学缺陷可能作为重要机制影响患者术后认知的转归。

Lu 等<sup>[26]</sup> 研究表明,手术或麻醉后表现出谵妄异常行为的小鼠,其海马线粒体融合蛋白 Mfn2 含量下降,分裂蛋白 Drp1 含量升高,线粒体分裂增加,伴随 ROS 异常升高、能量缺陷,突触可塑性降低和线粒体功能受损现象。长时间吸入麻醉药也可对线粒体形态动力学产生不良影响。老年小鼠接受 3% 七氟醚麻醉 2 h 可出现认知功能障碍,其潜在机制可能与老年小鼠海马中小泛素类修饰蛋白特异性蛋白酶 3 (small ubiquitin-like modifier proteins specific protease 3, SENP3) 上调有关<sup>[27]</sup>。SENP3 使 Drp1 蛋白发生去类泛素化修饰,促进线粒体过度分裂造成线粒体功能障碍,亚甲蓝预处理后,老年海马 Drp1 的去类泛素化修饰水平降低,进而减轻七氟醚引起的术后认知功能恢复延迟<sup>[27]</sup>。综上所述,由 MAMs 介导的线粒体形态动力学障碍是 PND 发生的重要机制之一。

## 小 结

MAMs 调控的线粒体形态动力学稳态失衡是认知相关的神经系统疾病中的早期事件,参与线粒体损伤、能量代谢障碍、钙稳态失衡等病理生理过程。在颅脑损伤、缺血性脑卒中等急性病模型中,细胞能量需求急剧增加,早期线粒体通过移动再分布来代偿能量供应,在此基础上发生的线粒体融合/分裂与之形成整体性反应,以满足细胞对能量的快速

需求。在 AD、PD 等慢性疾病模型中,线粒体融合/分裂又可以反向调控其转运过程。线粒体转运与形态调节密不可分。在 AD、PD、缺血性脑卒中、颅脑损伤、PND 等疾病早期,为维持 MAMs 调控的线粒体形态动力学平衡而采取一定的干预措施,具有深厚的理论基础和临床治疗前景。

### 参 考 文 献

- [1] Giacomello M, Pellegrini L. The coming of age of the mitochondria-ER contact: a matter of thickness. *Cell Death Differ*, 2016, 23(9): 1417-1427.
- [2] Veeresh P, Kaur H, Sarmah D, et al. Endoplasmic reticulum-mitochondria crosstalk; from junction to function across neurological disorders. *Ann N Y Acad Sci*, 2019, 1457(1): 41-60.
- [3] Zheng Y, Zhang X, Wu X, et al. Somatic autophagy of axonal mitochondria in ischemic neurons. *J Cell Biol*, 2019, 218(6): 1891-1907.
- [4] Bergamin G, Cieri D, Vazza G, et al. Zebrafish Tg(hb9; MTS-Kaede): a new in vivo tool for studying the axonal movement of mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(6): 1247-1255.
- [5] Manczak M, Kandimalla R, Fry D, et al. Protective effects of reduced dynamin-related protein 1 against amyloid beta-induced mitochondrial dysfunction and synaptic damage in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(23): 5148-5166.
- [6] Zhao F, Wang W, Wang C, et al. Mfn2 protects dopaminergic neurons exposed to paraquat both in vitro and in vivo: implications for idiopathic Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(6): 1359-1370.
- [7] Ge Y, Shi X, Boopathy S, et al. Two forms of Opa1 cooperate to complete fusion of the mitochondrial inner-membrane. *Elife*, 2020, 9: e50973.
- [8] Lee JE, Westrate LM, Wu H, et al. Multiple dynamin family members collaborate to drive mitochondrial division. *Nature*, 2016, 540(7631): 139-143.
- [9] Burman JL, Pickles S, Wang C, et al. Mitochondrial fission facilitates the selective mitophagy of protein aggregates. *J Cell Biol*, 2017, 216(10): 3231-3247.
- [10] McLelland GL, Goiran T, Yi W, et al. Mfn2 ubiquitination by PINK1/parkin gates the p97-dependent release of ER from mitochondria to drive mitophagy. *Elife*, 2018, 7: e32866.
- [11] Lin MY, Cheng XT, Tammineni P, et al. Releasing syntaphilin removes stressed mitochondria from axons independent of mitophagy under pathophysiological conditions. *Neuron*, 2017, 94(3): 595-610.
- [12] Zhou B, Yu P, Lin MY, et al. Facilitation of axon regeneration by enhancing mitochondrial transport and rescuing energy deficits. *J Cell Biol*, 2016, 214(1): 103-119.
- [13] Jang H, Kim HJ, Choe YS, et al. The impact of amyloid- $\beta$  or Tau on cognitive change in the presence of severe cerebrovascular disease. *J Alzheimers Dis*, 2020, 78(2): 573-585.
- [14] Del Prete D, Suski JM, Oulès B, et al. Localization and processing of the amyloid- $\beta$  protein precursor in mitochondria-associated membranes. *J Alzheimers Dis*, 2017, 55(4): 1549-1570.
- [15] Wang Q, Tian J, Chen H, et al. Amyloid beta-mediated KIF5A deficiency disrupts anterograde axonal mitochondrial movement. *Neurobiol Dis*, 2019, 127: 410-418.
- [16] DeBattisti V, Gerencser AA, Saotome M, et al. ROS control mitochondrial motility through p38 and the motor adaptor Miro/Trak. *Cell Rep*, 2017, 21(6): 1667-1680.
- [17] Geng J, Liu W, Gao J, et al. Andrographolide alleviates Parkinsonism in MPTP-PD mice via targeting mitochondrial fission mediated by dynamin-related protein 1. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(23): 4574-4591.
- [18] Pozo Devoto VM, Dimopoulos N, Alloati M, et al.  $\alpha$ Synuclein control of mitochondrial homeostasis in human-derived neurons is disrupted by mutations associated with Parkinson's disease. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5042.
- [19] Paillusson S, Gomez-Suaga P, Stoica R, et al.  $\alpha$ -Synuclein binds to the ER-mitochondria tethering protein VAPB to disrupt  $Ca^{2+}$  homeostasis and mitochondrial ATP production. *Acta Neuro-pathol*, 2017, 134(1): 129-149.
- [20] Bido S, Soria FN, Fan RZ, et al. Mitochondrial division inhibitor-1 is neuroprotective in the A53T- $\alpha$ -synuclein rat model of Parkinson's disease. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 7495.
- [21] Kislin M, Sword J, Fomitcheva IV, et al. Reversible disruption of neuronal mitochondria by ischemic and traumatic injury revealed by quantitative two-photon imaging in the neocortex of anesthetized mice. *J Neurosci*, 2017, 37(2): 333-348.
- [22] Pourmohammadi-Bejarpasi Z, Roushandeh AM, Saberi A, et al. Mesenchymal stem cells-derived mitochondria transplantation mitigates I/R-induced injury, abolishes I/R-induced apoptosis, and restores motor function in acute ischemia stroke rat model. *Brain Res Bull*, 2020, 165: 70-80.
- [23] Netto MB, de Oliveira Junior AN, Goldim M, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction contributes to postoperative cognitive dysfunction in elderly rats. *Brain Behav Immun*, 2018, 73: 661-669.
- [24] Li J, Zhu X, Yang S, et al. Lidocaine attenuates cognitive impairment after isoflurane anesthesia by reducing mitochondrial damage. *Neurochem Res*, 2019, 44(7): 1703-1714.
- [25] Zimin PI, Woods CB, Kayser EB, et al. Isoflurane disrupts excitatory neurotransmitter dynamics via inhibition of mitochondrial complex I. *Br J Anaesth*, 2018, 120(5): 1019-1032.
- [26] Lu Y, Chen L, Ye J, et al. Surgery/Anesthesia disturbs mitochondrial fission/fusion dynamics in the brain of aged mice with postoperative delirium. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(1): 844-865.
- [27] Zheng F, Fang P, Chang J, et al. Methylene blue protects against sevoflurane-induced cognitive dysfunction by suppressing Drp1 desumoylation in aged mice. *Neurochem Res*, 2020, 45(4): 956-963.

(收稿日期:2020-05-01)