

综述

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2024.04.006

线粒体动力学相关蛋白与缺血性脑卒中研究进展

李婷婷 王钦鹏 刘晓庆 蔡珂 魏阳阳 梁成

【摘要】 缺血性脑卒中是临床常见的急危脑血管病，对人类健康构成了极大的威胁。近年来，随着对缺血性脑卒中的深入了解，其诊断和治疗取得了显著进展。然而缺血性脑卒中的病理机制极其复杂，目前的治疗手段也受到部分限制。研究显示，线粒体功能障碍在缺血性脑卒中的发病机制中起着重要的作用。通过线粒体动力学调控线粒体功能对于改善脑缺血神经细胞的损伤至关重要。文章就线粒体动力学的分子机制及对缺血性脑卒中的作用进行综述，以期对缺血性脑卒中的治疗提供有益的参考。

【关键词】 缺血缺氧；线粒体动力学；氧化应激；炎症反应；细胞凋亡；坏死性凋亡；铁死亡

Research progress in mitochondrial dynamics-related proteins and ischemic stroke Li Tingting[△], Wang Qinpeng, Liu Xiaoping, Cai Ke, Wei Yangyang, Liang Cheng.[△] The Second Clinical Medical School of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China
Corresponding author: Liang Cheng, E-mail: hongyan200107@126.com

【Abstract】 Ischemic stroke is a common acute cerebrovascular disease in clinical practice, which poses a severe threat to human health. In recent years, with deepening understanding of ischemic stroke, significant progress has been made in the diagnosis and treatment. However, current treatments for ischemic stroke are partially limited due to extremely complex pathological mechanisms. Studies have shown that mitochondrial dysfunction plays an important role in the pathogenesis of ischemic stroke. Therefore, modulation of mitochondrial function through mitochondrial dynamics is essential to ameliorate the damage of cerebral ischemic neuronal cells. In this article, the molecular mechanism of mitochondrial dynamics and its role in ischemic stroke were reviewed, aiming to provide useful reference for the treatment of ischemic stroke.

【Key words】 Ischemia and hypoxia; Mitochondrial dynamics; Oxidative stress; Inflammatory reaction; Apoptosis; Necroptosis; Ferroptosis

脑卒中是高患病率、高致残率和高病死率的疾病。研究显示，线粒体功能障碍是导致脑缺血神经细胞损伤的重要病理基础^[1,2]。缺血性脑卒中是最常见的脑卒中类型，其病理机制复杂，静脉注射组织型纤溶酶原激活剂（tPA）是其主要治疗方法。由于tPA有严格的治疗时间窗限制，因此对于超过治疗时间窗的患者，寻找特异性的治疗方法尤为重要。近年的研究显示，启动与线粒体动力学相关的神经保护机制是治疗缺血性脑卒中的重要方式^[1]。文章就线粒体动力学的分子机制及其在缺血性脑卒中的作用进行综述，以期对缺血性脑卒中的治疗提供参考依据。

一、线粒体动力学

线粒体动力学是维持线粒体正常结构和功能的动态平衡过程，其作用在大脑、心脏和骨骼肌等具有高能量需求的器官和组织中尤其强烈^[2]。

1. 线粒体分裂

线粒体分裂受多种蛋白质调控，包括线粒体动力学相关蛋白-1（Drp1）、线粒体分裂蛋白-1（Fis1）、线粒体分裂因子（MFF）和线粒体动力学蛋白49/51（Mid49/51）^[3]。

线粒体分裂在空间上有2种不同的形式——中央分裂和周边分裂^[4]。中央分裂发生在正常功能的线粒体中，主要与内质网接触有关，使线粒体

基金项目：甘肃省科技厅自然科学基金（20210405JCC1549）；甘肃省神经病学重点实验室（20JR10RA766）

作者单位：730030 兰州，兰州大学第二临床医学院（李婷婷，刘晓庆，蔡珂，魏阳阳）；730030 兰州，兰州大学第二医院神经内科ICU（王钦鹏，梁成）

通信作者：梁成，E-mail: hongyan200107@126.com

大量增殖,促进细胞分裂和生长。周边分裂发生在线粒体损伤情况下,当线粒体发生膜电位降低或活性氧水平增加时,线粒体会产生2个大小不一的子线粒体,受损的物质会释放到较小的子线粒体中,进而被线粒体自噬清除^[4]。这2种形式的线粒体分裂均与Drp1在线粒体外膜的积累有关。Drp1是三磷酸鸟苷水解酶动力蛋白的同源蛋白,是线粒体分裂过程中的关键调节因子,Drp1第637位丝氨酸的磷酸化使其保持在细胞质内,而相同残基的脱磷酸化或Drp1第616位丝氨酸的磷酸化会激活Drp1,激活的Drp1从细胞质中易位到线粒体外膜上,并与其相应受体(包括Fis1、MFF、Mid49/51)结合形成螺旋状结构,线粒体分裂完成后返回细胞质^[5]。

2. 线粒体融合

线粒体融合是去极化线粒体和正常线粒体发生整合后,抑制线粒体碎片化形成并维持线粒体内基因组平衡的过程^[6]。线粒体融合分为线粒体外膜融合和内膜融合,融合过程受多种蛋白质的调控,包括线粒体融合蛋白(Mfn)和视神经萎缩蛋白1(Opa1)^[7]。

Mfn通过跨膜结构域插入线粒体外膜,暴露含有鸟苷三磷酸(GTP)酶和HR1结构域的N-末端区域,以及含有HR2结构域的C-末端区域。Mfn1/2通过其疏水区的HR2结构域与另一个线粒体外膜上的HR2结构域相互作用形成Mfn1或Mfn2同源二聚体或Mfn1/Mfn2异源二聚体,促进GTP酶结构域水解GTP引起膜构象改变,最终使2个线粒体外膜融合^[8]。

Opa1调控线粒体内膜融合,其结构包括N-末端线粒体转运序列(MTS)、TM结构域、GTP酶结构域、中茎区以及C-末端的GTP酶效应域(GED)^[9]。Opa1被线粒体加工多肽酶(MPP)处理,产生长亚型Opa1(L-Opa1),随后再被依赖ATP的锌金属蛋白酶YME1L和不依赖ATP的金属内肽酶OMA1进一步切割为短亚型Opa1(S-Opa1)^[10]。

二、线粒体动力学在缺血性脑卒中的作用机制

1. 线粒体动力学与氧化应激

脑组织缺血后,功能障碍线粒体会生成大量活性氧(ROS),由于脑组织中的抗氧化酶水平较低,短时间内会引发严重的氧化应激损伤^[11]。研究显示,线粒体ROS(mtROS)水平可以调控线粒体动力学相关蛋白的表达,影响线粒体的分裂和融

合。mtROS作为上游信号分子,能够激活细胞外信号调节蛋白1/2(ERK1/2),促进Drp1第616位丝氨酸的磷酸化,同时还能够招募Drp1在线粒体外膜聚集,刺激线粒体异常分裂和碎片化,进一步加重缺血脑组织的损伤^[12-13]。此外,mtROS可激活线粒体内膜多肽酶OMA1,促进L-Opa1被剪切为S-Opa1,S-Opa1的过度积累导致线粒体分裂增加以及细胞色素C(CytC)的释放,最终造成细胞的凋亡^[14]。

相反地,线粒体动力学相关蛋白也可能影响着氧化应激。L-Opa1的过度表达可通过增加超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的活性,同时增加还原型/氧化型谷胱甘肽(GSH)的比值,减少缺血脑组织ROS和丙二醛的产生^[15]。因此,维持线粒体动力学平衡是一项至关重要的任务,它可以有效地抑制氧化应激对缺血神经细胞损伤的影响。

2. 线粒体动力学与炎症反应

炎症反应是缺血性脑卒中主要的病理机制之一。脑缺血缺氧会诱导促炎型小胶质细胞激活,并释放IL-6、IL-1 β 、TNF- α 及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)等炎症因子,这些炎症因子会调节线粒体动力学相关蛋白的表达,并对线粒体的结构和功能产生深远的影响^[16]。研究显示,IL-6可以减少过氧化物酶体增殖物激活受体- α 共激活因子-1(PGC-1 α)的表达,从而减少线粒体Mfn2蛋白的表达,最终阻碍线粒体的融合过程^[17]。此外,TNF- α 可以激活核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,显著提高线粒体融合蛋白Opa1的表达量,加速线粒体的融合,同时提高呼吸链的效率,维持线粒体系统的稳定性^[18]。

NLRP3炎症小体与线粒体动力学之间也存在着紧密的联系。NLRP3炎症小体具有识别损伤相关分子模式的能力,可通过激活Caspase-1刺激IL-1 β 和IL-18的分泌,进而引起强烈的炎症反应^[19]。研究显示,随着线粒体分裂程度的增加,大量的mtROS和线粒体DNA被释放到细胞质中,成为激活NLRP3炎症小体的重要催化剂。敲除Drp1基因能成功抑制线粒体的分裂且能有效减少NLRP3炎症小体的激活^[20]。

3. 线粒体动力学与细胞凋亡

在脑组织缺血过程中,线粒体的过度损伤会引起异常的细胞信号转导,进而启动细胞凋亡的级联反应,最终加重缺血脑组织的损伤^[21]。研究显

示,在脑缺血过程中,Drp1水平增加会促进线粒体通透性转换孔(mPTP)的开放、Bax的寡聚以及CytC的释放,进一步诱导神经细胞的凋亡^[21]。当内源性Drp1抑制剂A型激酶锚定蛋白1(AKAP1)失活时,会解除蛋白激酶A(PKA)对Drp1第637位丝氨酸的磷酸化并促进Drp1-Fis1复合体的形成,进一步引发线粒体的过度分裂,导致神经细胞凋亡小体的形成^[21]。Xu等^[24]发现,在脑缺血/再灌注损伤大鼠中,予以益气复脉粉针剂可以抑制Drp1的激活、关联及易位,并调控Bcl-2家族的蛋白水平,从而抑制线粒体的过度分裂,缩小脑缺血的梗死体积和减少缺血后神经细胞的凋亡数量。

Mfn2作为一种线粒体融合蛋白,在脑缺血诱导的细胞凋亡过程中也发挥了重要作用。Bax和Bak作为促凋亡的蛋白,凋亡信号一旦产生,它们会从细胞质转移到线粒体外膜,与Mfn2蛋白相互结合,从而降低线粒体融合的能力,导致线粒体动力学平衡转向线粒体分裂,最终启动线粒体介导的细胞凋亡程序^[25]。总而言之,抑制Drp1介导的线粒体分裂被证实可以有效地减轻脑缺血诱导的线粒体依赖性细胞凋亡,这一方法有望成为缺血性脑卒中的靶向治疗手段。

4. 线粒体动力学与坏死性凋亡

坏死性凋亡是细胞凋亡的一种调节形式,其关键分子包括受体相互作用蛋白激酶-1(RIPK-1)、RIPK-3和假激酶混合谱系激酶结构域(MLKL)。RIPK-1磷酸化后与RIPK-3通过RIP同型基序结构域相互作用,使RIPK-3磷酸化并调控MLKL的磷酸化,形成RIPK1/RIPK3/MLKL寡聚物,易位至质膜并触发细胞膜孔的打开,最终导致细胞坏死性凋亡^[26]。磷酸甘油酸变位酶5(PGAM5)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶,也是坏死性凋亡的关键下游因子,其通过特异性的Ser/Thr/His蛋白磷酸酶活性以及蛋白-蛋白相互作用来调节线粒体动力学和坏死性凋亡。具体机制可能是PGAM5受到RIPK1/RIPK3/MLKL坏死性凋亡复合体的激活,从而诱导Drp1在线粒体外膜上的募集,导致线粒体过度分裂和功能障碍,这是坏死性凋亡的关键步骤^[27]。

5. 线粒体动力学与铁死亡

铁死亡是一种独特的细胞凋亡机制,其主要特征是细胞内铁、脂质过氧化物以及ROS的大量积聚,导致细胞膜受到氧自由基的严重破坏,最

终引发神经细胞的凋亡^[28]。既往研究表明,铁死亡参与了各种神经退行性疾病的发生发展,其中阿尔茨海默病、帕金森病、多发性硬化等与铁蛋白异常有关,在脑缺血性疾病中也有类似的表现。铁死亡受多种因素调控,其中包括线粒体、内质网、溶酶体、脂质和过氧化物酶等^[29-30]。

线粒体动力学相关蛋白与铁死亡之间存在着密切的联系。IFN反应刺激物cGAMP相互作用因子-1(STING-1)是一种内质网蛋白,可以通过增加依赖Mfn1/2的线粒体融合来促进胰腺癌细胞系的铁死亡。Erastin是一种经典的铁死亡诱导剂,它能够引发内质网蛋白STING-1在线粒体中的积聚,并与Mfn1/2相互作用触发线粒体大量融合,随后引发ROS及脂质过氧化,促进细胞铁死亡的形成^[31]。目前,关于线粒体融合蛋白的生物学功能已经有大量研究成果,但对于它在铁死亡中的作用及其确切的分子机制尚未得到充分的探究。

三、调控线粒体动力学与缺血性脑损伤的保护

线粒体分裂能够清除功能障碍线粒体、稳定线粒体DNA以及促进细胞信号传导等,在脑缺血神经功能的维持中发挥着重要作用。Wu等^[32]发现川芎内酯能够刺激线粒体分裂蛋白Drp1的表达,激活脑缺血区域线粒体分裂,增强依赖Drp1的线粒体自噬,最终发挥脑缺血神经保护作用。但是,线粒体分裂对缺血脑组织并非全是保护作用,过度分裂可能是脑缺血后继发性脑损伤的一种潜在原因。因此,寻找调节线粒体分裂“正常化”的确切分子靶点,对于改善脑缺血损伤和神经细胞功能具有至关重要的意义。

线粒体融合在脑缺血诱导的神经细胞损伤中发挥保护作用。Mfn2基因的表达不仅能促进线粒体融合,还能通过调节Bcl-2家族成员及其下游信号通路,减少CytC的释放、提高Bcl-2与Bax的比值、阻碍Caspase-3及Caspase-9的激活,达到抑制缺血后神经细胞凋亡的作用^[33]。Zeng等^[34]发现松果菊苷(ECH)以CK2 α' 亚基为靶点,招募基本转录因子3(BTF3)作为底物,形成CK2 α' /BTF3复合体,从而激活Wnt/ β -连环蛋白信号通路,并促进线粒体融合相关基因Mfn2的转录,最终表现出显著的神经保护作用,对脑缺血具有重要意义。以上研究表明,线粒体融合与细胞凋亡之间存在相互拮抗的作用,通过促进线粒体融合可以减轻脑缺血的细胞凋亡,发挥神经保护作用。

四、总结与展望

缺血性脑卒中是临床常见的急性脑血管疾病,严重影响着患者的生活质量,并给患者家庭和社会带来了巨大的负担。目前,对于超过治疗时间窗的患者,寻找新的治疗方法尤为重要。在脑缺血时,线粒体的功能障碍是导致神经细胞凋亡的关键因素。因此,通过线粒体动力学调控线粒体的功能是治疗缺血性脑卒中的有效方法。值得注意的是,若脑缺血时间较长或者缺血程度较重,神经细胞内线粒体发生不可逆损伤时,调控线粒体的功能难以达到治疗目标。目前相关研究还存在以下问题:①线粒体动力学在缺血性脑卒中不同时期的分子机制还需进行深入的研究;②药物调控线粒体动力学的相关研究尚处于初步阶段,临床试验匮乏;③以线粒体为靶点的药物治疗脑缺血的分子机制尚未明确,还需进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Jangholi E, Sharifi Z N, Hoseinian M, et al. Verapamil inhibits mitochondria-induced reactive oxygen species and dependent apoptosis pathways in cerebral transient global ischemia/reperfusion [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020 : 5872645.
- [2] Varuzhanyan G, Chan D C. Mitochondrial dynamics during spermatogenesis [J]. *J Cell Sci*, 2020, 133 (14) : jcs235937.
- [3] Fonseca T B, Sánchez-Guerrero Á, Milosevic I, et al. Mitochondrial fission requires DRP1 but not dynamin [J]. *Nature*, 2019, 570 (7761) : E34-E42.
- [4] Kleele T, Rey T, Winter J, et al. Distinct fission signatures predict mitochondrial degradation or biogenesis [J]. *Nature*, 2021, 593 (7859) : 435-439.
- [5] Edwards G, Perkins G A, Kim KY, et al. Loss of AKAP1 triggers Drp1 dephosphorylation-mediated mitochondrial fission and loss in retinal ganglion cells [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (4) : 254.
- [6] Gao S, Hu J. Mitochondrial fusion: the machineries in and out [J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31 (1) : 62-74.
- [7] Adebayo M, Singh S, Singh A P, et al. Mitochondrial fusion and fission: the fine-tune balance for cellular homeostasis [J]. *FASEB J*, 2021, 35 (6) : e21620.
- [8] Chan D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease [J]. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2020, 15 : 235-259.
- [9] Ge Y, Shi X, Boopathy S, et al. Two forms of Opa1 cooperate to complete fusion of the mitochondrial inner-membrane [J]. *eLife*, 2020, 9 : 50973.
- [10] Lee H, Smith S B, Sheu S S, et al. The short variant of optic atrophy 1 (OPA1) improves cell survival under oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295 (19) : 6543-6560.
- [11] Cassidy L, Fernandez F, Johnson J B, et al. Oxidative stress in Alzheimer's disease: a review on emergent natural polyphenolic therapeutics [J]. *Complementary Ther Med*, 2020, 49 : 102294.
- [12] Liang X, Wang S, Wang L, et al. Mitophagy inhibitor liensinine suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity through inhibition of Drp1-mediated maladaptive mitochondrial fission [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 157 : 104846.
- [13] 翟晓明, 谭嗣伟, 易玉君, 等. ERK1/2 通过调控 NADPH 氧化酶和线粒体分裂在结肠炎中的作用 [J]. *新医学*, 2023, 54 (3) : 197-204.
- [13] Zhai X M, Tan S W, Yi Y J, et al. The role of ERK1/2 in colitis through regulation of NADPH oxidase and mitochondrial fission [J]. *J New Med*, 2023, 54 (3) : 197-204.
- [14] MacVicar T, Ohba Y, Nolte H, et al. Lipid signalling drives proteolytic rewiring of mitochondria by YME1L [J]. *Nature*, 2019, 575 (7782) : 361-365.
- [15] Lai Y, Lin P, Chen M, et al. Restoration of L-OPA1 alleviates acute ischemic stroke injury in rats *via* inhibiting neuronal apoptosis and preserving mitochondrial function [J]. *Redox Biol*, 2020, 34 : 101503.
- [16] Jariyamana N, Chuveera P, Dewi A, et al. Effects of N-acetyl cysteine on mitochondrial ROS, mitochondrial dynamics, and inflammation on lipopolysaccharide-treated human apical papilla cells [J]. *Clin Oral Invest*, 2021, 25 (6) : 3919-3928.
- [17] Wang Y, Guo Y, Xu Y, et al. HIIT ameliorates inflammation and lipid metabolism by regulating macrophage polarization and mitochondrial dynamics in the liver of type 2 diabetes mellitus mice [J]. *Metabolites*, 2022, 13 (1) : 14.
- [18] Wang S, Liu X, Lei L, et al. Selenium deficiency induces apoptosis, mitochondrial dynamic imbalance, and inflammatory responses in calf liver [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2022, 200 (11) : 4678-4689.
- [19] Zhang C, Hu Z, Hu R, et al. New insights into crosstalk between pyroptosis and autophagy co-induced by molybdenum and cadmium in duck renal tubular epithelial cells [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 416 : 126138.
- [20] Chen Q, Lei J H, Bao J, et al. BRCA1 Deficiency Impairs Mitophagy and Promotes Inflammasome Activation and Mammary Tumor Metastasis [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7 (6) : 1903616.
- [21] Geng C, Wei J, Wu C. Yap-Hippo pathway regulates cerebral hypoxia-reoxygenation injury in neuroblastoma N2a cells via inhibiting ROCK1/F-actin/mitochondrial fission pathways [J]. *Acta Neurol Belg*, 2020, 120 (4) : 879-892.
- [22] Duan C, Kuang L, Hong C, et al. Mitochondrial Drp1 recognizes and induces excessive mPTP opening after hypoxia through BAX-PiC and LRRK2-HK2 [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12 (11) : 1050.
- [23] Das Banerjee T, Reihl K, Swain M, et al. Mitochondrial PKA is neuroprotective in a cell culture model of Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58 (7) : 3071-3083.
- [24] Xu Y, Wang Y, Wang G, et al. YiQiFuMai powder injection protects against ischemic stroke via inhibiting neuronal apoptosis

- and PKC δ /Drp1-mediated excessive mitochondrial fission[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017 : 1832093.
- [25] Du M, Yu S, Su W, et al. Mitofusin 2 but not mitofusin 1 mediates Bcl-XL-induced mitochondrial aggregation[J]. *J Cell Sci*, 2020, 133 (20): jcs245001.
- [26] Zhou Y, Cai Z, Zhai Y, et al. Necroptosis inhibitors: mechanisms of action and therapeutic potential[J]. *Apoptosis*, 2023.
- [27] Cheng M, Lin N, Dong D, et al. PGAM5 : a crucial role in mitochondrial dynamics and programmed cell death[J]. *Eur J Cell Biol*, 2021, 100 (1): 151144.
- [28] Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*, 2021, 31 (2): 107-125.
- [29] An P, Gu D, Gao Z, et al. Hypoxia-augmented and photothermally-enhanced ferroptotic therapy with high specificity and efficiency[J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8 (1): 78-87.
- [30] Liu Y, Wang Y, Liu J, et al. The circadian clock protects against ferroptosis-induced sterile inflammation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525 (3): 620-625.
- [31] Li C, Liu J, Hou W, et al. STING1 promotes ferroptosis through MFN1/2-dependent mitochondrial fusion[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9 : 698679.
- [32] Wu Q, Liu J, Mao Z, et al. Ligustilide attenuates ischemic stroke injury by promoting Drp1-mediated mitochondrial fission via activation of AMPK[J]. *Phytomedicine*, 2022, 95 : 153884.
- [33] Cleland M M, Norris K L, Karbowski M, et al. Bcl-2 family interaction with the mitochondrial morphogenesis machinery[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18 (2): 235-247.
- [34] Zeng K W, Wang J K, Wang L C, et al. Small molecule induces mitochondrial fusion for neuroprotection via targeting CK2 without affecting its conventional kinase activity[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6 : 71.

(收稿日期: 2023-05-28)

(责任编辑: 洪悦民)

