

## 线粒体自噬在心肌缺血/再灌注损伤中的作用研究进展

马聪聪, 刘洋, 吕洋, 王海萍\*

河北北方学院 干细胞与生殖生物学实验室, 河北 张家口 075000

**摘要:** 心肌缺血/再灌注损伤(MI/RI)时,可通过多种分子机制激活线粒体自噬。适度的线粒体自噬有助于维持线粒体膜电位,保护细胞膜结构和功能,从而减少MI/RI的发生。当线粒体功能出现紊乱,受损的线粒体不能充分清除或者线粒体自噬过度激活时,都会使MI/RI更严重。

**关键词:** 线粒体自噬;心肌缺血/再灌注损伤(MI/RI);分子机制;信号通路

中图分类号:R36 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2023.11.1723

## Progress on the role of mitophagy in myocardial ischemia-reperfusion injury

MA Congcong, LIU Yang, LYU Yang, WANG Haiping\*

Stem Cell and Reproductive Biology Laboratory, Hebei North University, Zhangjiakou, 075000, China

**Abstract:** Myocardial ischemia-reperfusion injury (MI/RI) is potentially associated with activation of mitophagy through a variety of molecular mechanisms. Moderate mitophagy is effective in maintaining mitochondrial membrane potential and cell membrane structure and function, thereby reducing MI/RI, whereas mitochondrial dysfunction, inadequate clearance or over-activated mitophagy can make MI/RI more severe.

**Key words:** mitophagy; myocardial ischemia-reperfusion injury (MI/RI); molecular mechanisms; signaling pathway

中国的心血管病患病率逐年上升,其中冠心病患病人数居前位。目前,冠心病的治疗主要通过冠状动脉血管重建、溶栓及经皮冠状动脉介入等<sup>[1]</sup>,恢复心肌的血液供应,可以修复受损的心肌组织,但同时也可导致心肌缺血/再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury, MI/RI)<sup>[2-3]</sup>。

当心肌细胞由于缺血导致损伤时,线粒体选择性自噬降解,能够清理损伤堆积的线粒体,使细胞内环境维持稳态并保障心肌细胞功能的正常<sup>[4]</sup>。因此,与线粒体自噬有关的分子途径被认为是临床治疗缺血性心脏病等疾病的重要研究方向和靶点。本

文综述线粒体自噬在心肌缺血/再灌注损伤中的作用及研究进展。

### 1 线粒体自噬简介

线粒体自噬是一种选择性自噬,通过选择性自噬来减少受损线粒体的堆积,从而维持线粒体内稳态<sup>[5]</sup>。与其他细胞自噬不同的是,在蛋白质调节网络中,线粒体自噬具有高度的选择性<sup>[6]</sup>。

线粒体自噬发生时,受损的线粒体会被选择性清除,细胞内功能异常的线粒体数量大大减少;线粒体自噬会参与到线粒体的分裂过程和融合循环,在

收稿日期:2022-10-26 修回日期:2023-05-04

基金项目:河北省自然科学基金(C2019405091);河北省高等学校科学技术研究项目(ZD2019066)

\*通信作者(corresponding author): haipingmimi@126.com

线粒体质量和数量控制、维持细胞的稳态、提高细胞的生存率中起着积极作用。相反,线粒体自噬的调节紊乱会导致许多疾病<sup>[7-8]</sup>。

## 2 MI/RI 中线粒体自噬的分子机制

介导哺乳动物线粒体自噬的通路主要有 PTEN 介导的蛋白激酶 1 (PTEN-induced putative kinase 1, PINK1) 及 E3 泛素连接酶 (Parkin) 介导的分子通路、腺病毒相互作用蛋白 3 (adenovirus interaction protein 3, BNIP3, 又称 NIX, NIP3-like protein X) 介导的分子通路以及 FUN14 域蛋白 1 (FUN14 domain-containing 1, FUNDC1) 等分子通路。

### 2.1 PINK1-Parkin 经典途径

哺乳动物细胞中已被发现和研究的线粒体自噬形式较多,但最为常见的形式是 PINK1-Parkin 介导的线粒体自噬。通常情况下,PINK1 在进入线粒体后被剪切掉,最终被线粒体内膜上的蛋白酶降解,因此会造成 PINK1 在细胞内的含量较低<sup>[9]</sup>。MI/RI 时,活性氧 (reactive oxide species, ROS) 对线粒体功能造成一定伤害,造成线粒体去极化,引起 PINK1 向线粒体运输受到抑制。由于完整的 PINK1 在线粒体外膜聚集,因此当 Parkin 被募集至受损的线粒体上,PINK1 可以与其结合,导致线粒体泛素化<sup>[10]</sup>。泛素结合蛋白 p62 通过与微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule associated protein 1 light chain 3, LC3) 相互作用,识别线粒体的泛素化修饰,其通过与自噬泡结合,将线粒体运输到自噬泡中,促进线粒体的降解<sup>[11]</sup>。

### 2.2 线粒体自噬受体介导线粒体自噬途径

线粒体自噬受体蛋白是一种在一定条件下能够与 LC3 产生结合,能够募集并激活线粒体自噬的氨基酸序列模体。BNIP3、NIX 和 FUNDC1 是近年来被广泛关注的 3 种线粒体自噬受体,是调控线粒体自噬的重要分子。

BNIP3 是 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2, BCL2) 家族中的一类非经典的促凋亡蛋白,它主要分布在线粒体外膜上,能够促进线粒体自噬和细胞凋亡的发生<sup>[12-13]</sup>。在正常的生理状态下,BNIP3、NIX 在正常生理条件下表达下降,然而,当出现心肌缺血时,它们会在细胞中表达增加,并启动线粒体的自噬,从而维持细胞的

正常功能。

NIX 是一个与 BNIP3 同源的线粒体膜结合蛋白。NIX 在一定水平上可以调控 Parkin 向线粒体发生转位,而其激活线粒体自噬的方式在前期研究中被证实是通过 PINK1-Parkin 通路实现的<sup>[14]</sup>。

FUNDC1 是存在于线粒体外膜上的 3 次跨膜蛋白。FUNDC1 在缺氧诱导的线粒体自噬和膜电位下降中发挥重要作用,但 FUNDC1 对线粒体的自噬调节作用尚不清楚。前期研究发现,正常情况下,第十三位丝氨酸、第十八位酪氨酸的激酶能够使得 FUNDC1 发生磷酸化,FUNDC1 磷酸化后,与 LC3 的结合会在一定程度上减弱,从而抑制线粒体的自噬;在心肌缺血时,FUNDC1 的磷酸化程度减弱,与 LC3 相互作用则会增强,加重线粒体自噬<sup>[15]</sup>。

## 3 线粒体自噬在心肌缺血/再灌注损伤中的作用

当心肌出现缺血时,线粒体损伤会引起氧化磷酸化功能障碍,降低 ATP 的生成,对心肌细胞机能造成损伤,从而导致严重的能量危机;线粒体内的钙超载会促进  $Ca^{2+}$  依赖性离子通道的开放,这些离子通道在细胞内分布广泛,主要作用是调节细胞内外的钙离子浓度,从而影响线粒体膜的通透性,导致线粒体膜的通透性会在此影响下发生一定改变,使膜结构被破坏,从而促进凋亡蛋白因子释放到胞浆,引起心肌细胞损伤,促使心肌细胞出现凋亡和坏死<sup>[16]</sup>。

线粒体自噬具有双向性<sup>[17]</sup>,一方面,在正常的范围内,线粒体自噬能够保持细胞的正常生理机能;另一方面,线粒体自噬水平偏高或偏低均可诱发相关疾病。

### 3.1 适度线粒体自噬在心肌缺血/再灌注损伤中的作用

线粒体是介导能量生成、氧化应激和细胞凋亡的主要细胞器<sup>[18]</sup>,在各种细胞过程中起着各种调节作用<sup>[19]</sup>。

在心肌缺血/再灌注损伤过程中,活性氧会大量产生,氧化应激发生,加重了线粒体损伤,受损的线粒体进一步促进活性氧的产生和累积,这一叠加效应严重时,线粒体相关凋亡通道会被激活,直接诱发

细胞死亡。由此可知,保持一定的线粒体自噬水平,及时清除受损的线粒体,可以起到保护心肌细胞的作用<sup>[20]</sup>。

甲状腺激素缺血后处理可通过提高线粒体自噬水平,保护心脏免受 I/R 损伤<sup>[21]</sup>。电针预处理通过抑制 mTORC1-ULK1-FUNDC1 (mTOR complex 1-unc-51-like autophagy-activating kinase 1-FUN14 domain-containing 1, mTORC1-ULK1-FUNDC1) 通路介导的线粒体自噬,减小 MI/R1 大鼠的梗死面积,降低血清中肌酸激酶同工酶 (creatin kinase-MB, CK-MB)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 的含量,减轻心肌 I/R 损伤,从而起到心肌保护作用。五味子乙素能够显著降低 MI/R 小鼠血清 LDH 含量和心肌损伤标志物肌酸激酶 (creatin kinase, CK) 水平,MI/R 小鼠梗死面积显著减小,其可能通过诱导线粒体自噬减轻心肌 I/R 损伤。白金方能够通过适度上调 PINK/Parkin 介导的线粒体自噬水平,清除受损的细胞,减轻 MI/RI,从而起到心肌保护作用<sup>[22]</sup>。

运动预处理可能通过调控 Beclin-1、LC3 II 等自噬相关蛋白的表达,诱导心肌细胞产生适度的自噬,使 Bcl-2、Bcl-XL 的表达升高,与此同时,也在一定程度上抑制 Bax、caspase-9 的表达,心肌细胞凋亡的程度得到一定缓解,可见其在心肌细胞的保护方面起到了积极作用<sup>[23]</sup>。

### 3.2 过度线粒体自噬在心肌缺血/再灌注损伤中的作用

心肌细胞主要依靠线粒体所提供的能量,以维持机体的新陈代谢和机能。一般认为,在基本水平上,自噬是一种对压力的保护性反应。其机制在于它通过清除受损的蛋白质及衰老的细胞器,从而保持细胞内环境稳态。但在 MI/RI 过程中,自噬并非始终起到保护作用。

线粒体过度自噬通常表现为细胞内线粒体被过度清理,从而导致细胞功能显著降低,进一步加重了心肌细胞受损程度。当线粒体自噬过度激活而得不到有效控制时,会造成自噬体大量堆积,关键蛋白质和细胞器异常降解,导致心肌细胞内线粒体数量减少、心肌细胞能量供应出现障碍。

紫苏醛对大鼠 MI/RI 诱导的自噬探究实验中

显示大鼠血清中的 LDH、心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTn I) 水平明显升高,提示心肌缺血/再灌注后的过度自噬加剧了心肌细胞的损伤<sup>[24]</sup>。乌头赤石脂丸能够降低心肌损伤标志物 CK 的水平,减轻心肌组织病理性损伤,并使自噬相关蛋白 Beclin-1、LC3 II 表达降低,PI3K、p-Akt 表达水平上调,这可能通过抑制细胞过度自噬,对 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路进行调控从而发挥对 MI/RI 大鼠的保护作用<sup>[25]</sup>。

### 3.3 线粒体自噬不足在心肌缺血/再灌注损伤中的作用

另一方面,当线粒体自噬减少时,损伤的线粒体在细胞内的清除发生障碍,并在心肌细胞中堆积,从而造成严重的氧化应激,最终造成心肌细胞的凋亡。在 MI/RI 的人成年心肌细胞中,miR-410 表达下降,线粒体自噬减少,高迁移率蛋白-1 (high mobility group box-1, HMGB) 表达下调,细胞活力明显下降,加重 MI/RI<sup>[26]</sup>。

在对血管平滑肌细胞动脉粥样硬化模型进行研究的过程中,实验研究发现存在线粒体自噬水平降低的现象,功能障碍的线粒体大量堆积,造成细胞功能减少,增加细胞凋亡<sup>[27]</sup>。

## 4 问题与展望

线粒体自噬参与了多条信号途径的调节,对心肌缺血/再灌注损伤具有双重作用。当前大部分的研究成果均证明,线粒体自噬障碍与 MI/RI 具有紧密联系,维持线粒体适度自噬水平可作为 MI/RI 治疗的重要靶点,值得注意的是线粒体过度自噬会造成线粒体流失,从而引起心肌坏死;线粒体自噬水平过低也会增加细胞凋亡。因此维持线粒体适度自噬水平是目前 MI/RI 治疗过程中的一个重要课题。

同时,线粒体自噬在 MI/RI 发展的不同时期发挥的作用并不相同,如何有效调控线粒体适度自噬,成为 MI/RI 治疗面临的重大挑战。

本文旨在阐明线粒体自噬在 MI/RI 过程中的作用机制,为深层次了解和研究线粒体自噬与 MI/RI 及多种疾病之间的联系提供一定参考,从而为今后的临床治疗开辟出更为广阔的思路。

## 参考文献:

- [1] Zhou M, Yu Y, Luo X, *et al.* Myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutics from a mitochondria-centric perspective[J]. *Cardiology*, 2021;146:781-792.
- [2] Chen Y, Lin H, Wang Q, *et al.* Protective role of silibinin against myocardial ischemia/reperfusion injury-induced cardiac dysfunction[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16: 1972-1988.
- [3] Zhang D, Zheng N, Fu X, *et al.* DL-3-n-butylphthalide attenuates myocardial ischemia reperfusion injury by suppressing oxidative stress and regulating cardiac mitophagy via the PINK1/Parkin pathway in rats[J]. *J Thorac Dis*, 2022, 14: 1651-1662.
- [4] Zhu N, Li J, Li Y, *et al.* Berberine protects against simulated ischemia/reperfusion injury-induced H9C2 cardiomyocytes apoptosis *in vitro* and myocardial ischemia/reperfusion-induced apoptosis *in vivo* by regulating the mitophagy-mediated HIF-1 $\alpha$ /BNIP3 pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 367-378.
- [5] Bravo-San J, Kroemer G, Galluzzi L. Autophagy and mitophagy in cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2017; 120:1812-1824.
- [6] Quiles J, Gustafsson A. Mitochondrial quality control and cellular proteostasis: two sides of the same coin[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 515-531.
- [7] Choi G, Lee H, Chae C, *et al.* BNIP3L/NIX-mediated mitophagy protects against glucocorticoid-induced synapse defects[J]. *Nat Commun*, 2021;12:487-505.
- [8] Bonora M, Wieckowski M, Sinclair D, *et al.* Targeting mitochondria for cardiovascular disorders: therapeutic potential and obstacles[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16: 33-55.
- [9] Xiong W, Hua J, Liu Z, *et al.* PTEN induced putative kinase 1 (PINK1) alleviates angiotensin II-induced cardiac injury by ameliorating mitochondrial dysfunction[J]. *Int J Cardiol*, 2018, 266: 198-205.
- [10] Tu M, Tan V, Yu J, *et al.* RhoA signaling increases mitophagy and protects cardiomyocytes against ischemia by stabilizing PINK1 protein and recruiting Parkin to mitochondria[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29: 2472-2486.
- [11] Luo H, Zhang R, Krigman J, *et al.* A healthy heart and a healthy brain: looking at mitophagy[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 294-305.
- [12] Yao J, Wang J, Xu Y, *et al.* CDK9 inhibition blocks the initiation of PINK1-PRKN-mediated mitophagy by regulating the SIRT1-FOXO3-BNIP3 axis and enhances the therapeutic effects involving mitochondrial dysfunction in hepatocellular carcinoma[J]. *Autophagy*, 2022, 18: 1879-1897.
- [13] Gao A, Jiang J, Xie F, *et al.* Bnip3 in mitophagy: novel insights and potential therapeutic target for diseases of secondary mitochondrial dysfunction[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 506: 72-83.
- [14] Rogov V, Suzuki H, Marinković M, *et al.* Phosphorylation of the mitochondrial autophagy receptor Nix enhances its interaction with LC3 proteins[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 1131-1143.
- [15] Chen M, Chen Z, Wang Y, *et al.* Mitophagy receptor FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics and mitophagy[J]. *Autophagy*, 2016, 12: 689-702.
- [16] Wang C, Li Y, Li Y, *et al.* FAM134B-mediated ER-phagy in Mg<sup>2+</sup>-free solution-induced mitochondrial calcium homeostasis and cell death in epileptic hippocampal neurons[J]. *Neurochem Res*, 2021, 46: 2485-2494.
- [17] Ajoalabady A, Chiong M, Lavandero S, *et al.* Mitophagy in cardiovascular diseases: molecular mechanisms, pathogenesis, and treatment[J]. *Trends Mol Med*, 2022; 28:836-849.
- [18] Mukherjee I, Ghosh M, Meinecke M. MICOS and the mitochondrial inner membrane morphology-when things get out of shape[J]. *FEBS Lett*, 2021, 595: 1159-1183.
- [19] Wang X, An P, Gu Z, *et al.* Mitochondrial metal ion transport in cell metabolism and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22:7525-7542.
- [20] 江罗佳,许海波.白藜芦醇缓解低氧/复氧诱导的TCMK1 细胞线粒体自噬[J].*基础医学与临床*,2022, 42:1709-1715.
- [21] Lieder H, Braczo F, Gedik N, *et al.* Cardioprotection by post-conditioning with exogenous triiodothyronine in isolated perfused rat hearts and isolated adult rat cardiomy-

- ocytes[J]. Basic Res Cardiol, 2021, 116:27-42.
- [22] 孙宏, 刘凯, 蔡国锋, 等. 基于线粒体自噬探讨白金方对 MIRI 大鼠的心肌保护作用及机制[J]. 时珍国医国药, 2020, 31: 539-542.
- [23] 李宏玉, 尹侠, 王艳霞, 等. 运动预处理对心肌缺血再灌注损伤老龄大鼠心肌细胞自噬和凋亡的影响[J]. 康复学报, 2022, 32: 124-130.
- [24] 张小赏, 童随阳, 操传斌. 紫苏醛对大鼠心肌缺血/再灌注损伤诱导的自噬的影响[J]. 湖北医药学院学报, 2022, 41: 224-228.
- [25] 肖钰雪, 史晓梅, 谢璐璐, 等. 乌头赤石脂丸对大鼠心肌缺血再灌注损伤自噬及 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28: 26-32.
- [26] Yang F, Li T, Dong Z, *et al.* MicroRNA-410 is involved in mitophagy after cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting high-mobility group box 1 protein[J]. J Cell Biochem, 2018, 119: 2427-2439.
- [27] He L, Zhou Q, Huang Z, *et al.* PINK1/Parkin-mediated mitophagy promotes apelin-13-induced vascular smooth muscle cell proliferation by AMPK $\alpha$  and exacerbates atherosclerotic lesions[J]. J Cell Physiol, 2019, 234: 8668-8682.

