

文章编号: 1001-6325(2023)02-0332-04

短篇综述

## 线粒体功能障碍在肌萎缩侧索硬化发病中作用的研究进展

刘立洋<sup>1,3</sup>, 柳青<sup>2</sup>, 刘雅萍<sup>1</sup>, 张学<sup>1\*</sup>

1. 中国医学科学院基础医学研究所 北京协和医学院基础学院 医学遗传学系, 北京 100005;
2. 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院 神经科, 北京 100730;
3. 中国医学科学院 北京协和医学院 临床医学专业试点班, 北京 100730

**摘要:** 线粒体功能障碍在肌萎缩侧索硬化(ALS)的发病中有着重要作用。线粒体功能障碍导致严重的氧化应激损伤和细胞钙稳态失衡,以及被异常释放的线粒体DNA激活炎症反应,这些可能是造成ALS患者运动神经元死亡的重要原因。线粒体自噬作为线粒体质量控制的最后环节,其功能的减弱或过度增强都会促进ALS的发展。

**关键词:** 肌萎缩侧索硬化;线粒体功能障碍

中图分类号: R741.02 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.02.332

## Progress in the study of mitochondrial dysfunction in pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis

LIU Liyang<sup>1,3</sup>, LIU Qing<sup>2</sup>, LIU Yaping<sup>1</sup>, ZHANG Xue<sup>1\*</sup>

1. Department of Medical Genetics, Institute of Basic Medical Sciences CAMS, School of Basic Medicine PUMC, Beijing 100005;
2. Department of Neurology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730;
3. 4+4 Medical Doctor Program, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

**Abstract:** Mitochondrial dysfunction plays an important role in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). The mitochondrial dysfunction will cause severe oxidative stress and disruption in calcium homeostasis. The abnormally released mitochondrial DNA will induce cellular inflammation. These phenomena may explain the loss of motor neurons in ALS patients. As a quality control process, either abnormal increased or decreased mitophagy flux will speed up the pathogenic development of ALS.

**Key words:** amyotrophic lateral sclerosis; mitochondrial dysfunction

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是常见的几种神经退行性疾病之一。进行性运动神经元损伤是肌萎缩侧索硬化发病的主要原因。肌萎缩侧索硬化患者先是四肢肌肉出现无力和萎缩症状,最终往往发展为呼吸麻痹导致死亡。

目前肌萎缩侧索硬化的发病机制不明,其可能的致病机制包括氧化应激障碍、神经炎症反应、蛋白代谢异常等<sup>[1-3]</sup>。

线粒体是细胞内主要的产能细胞器,产能时会伴随活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的

收稿日期: 2022-10-04 修回日期: 2022-11-22

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2021-I2M-1-018)

\* 通信作者 (corresponding author): xuezhang@pumc.edu.cn

产生,其在高耗能的神经系统中更容易对细胞造成损害,相应的线粒体损伤对神经系统的影响也更大,因此,稳定线粒体结构和功能对延缓神经退行性疾病的发生和细胞老化有重要意义<sup>[4]</sup>。在 ALS 的细胞模型或患者的尸检中都发现了线粒体损伤的证据<sup>[5-6]</sup>。近期有研究通过核磁共振波谱分析在 ALS 患者的体内也观察到了线粒体损伤所导致的能量代谢异常<sup>[7]</sup>。全面揭示线粒体功能障碍在 ALS 发病中的作用对该病的机制研究和治疗方法探索都具有重要意义。本文结合最近相关研究进展,从核编码的线粒体蛋白异常、线粒体介导的钙稳态失衡、神经炎症反应和线粒体自噬 4 个方面对线粒体功能障碍在 ALS 发病机制中的作用进行综述。

## 1 核编码线粒体蛋白异常在 ALS 发病中的作用

线粒体虽然有独立的 DNA,但是仍需要从细胞质中输入约 1 000 余种核编码的蛋白质以满足其正常的功能<sup>[8-9]</sup>。因此,线粒体的正常功能依赖于核编码蛋白的正常翻译和转运。在 ALS 患者的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)分化的运动神经元轴突中,高度磷酸化的 TDP-43 蛋白聚集体与核编码的线粒体蛋白基因的 mRNA 结合,阻止其向轴突远端和神经肌肉接头处的运输,造成远端的线粒体功能失调和神经肌肉接头的退化<sup>[10]</sup>。TDP-43 是一种 DNA 和 RNA 的结合蛋白,由 ALS 的遗传致病基因 *TARDBP* 编码,这种蛋白的异常聚集被发现存在于几乎所有 ALS 患者的运动神经元胞质中<sup>[11]</sup>。除了直接结合核编码线粒体蛋白的 mRNA 外,被氧化应激诱发的 TDP-43 聚集体还可以选择性地结合大量的 miRNA 调节基因表达,这其中就有很多核编码的线粒体蛋白基因,间接导致线粒体内蛋白失衡,进而导致更严重的氧化应激损伤<sup>[12]</sup>。因为 TDP-43 蛋白聚集体的普遍性,这些线粒体相关的细胞损伤机制可能广泛存在于 ALS 患者中。

除了核编码线粒体蛋白的转录和运输受影响外,有的 ALS 致病基因本来就是核编码的线粒体蛋白。*C9orf72* 是最常见的 ALS 遗传致病基因,其在非编码区的 6 个核苷酸重复的扩增会造成原有的表达量降低<sup>[13]</sup>。携带 *C9orf72* 致病突变的 ALS 患者来源 iPSCs 分化的运动神经元中,轴突的长度明显短于对

照组,在轴突运输的线粒体数目也显著少于对照组,神经元的能量代谢显著下降。在 iPSCs 分化的运动神经元和患者的尸检组织中,都发现以呼吸链复合体 I 和 IV 为代表的电子传递链相关蛋白表达的下调<sup>[14]</sup>。免疫共沉淀实验发现,*C9orf72* 蛋白和至少 13 种线粒体蛋白有紧密的相互作用<sup>[15-16]</sup>,*C9orf72* 蛋白通过 AIFM1/CHCHD4 复合体被转运到线粒体膜间隙,并通过减少复合体 I 的组装辅助因子 TIMMDC1 的降解而达到稳定复合体 I 结构的作用<sup>[16]</sup>。在 ALS 患者的细胞中,*C9orf72* 的转录水平和蛋白水平的下降会导致线粒体复合体 I 结构的不稳定,从而导致氧化磷酸化障碍和能量代谢失衡,进而导致运动神经元死亡。核编码的线粒体蛋白在线粒体的功能维持中起着重要作用,其导致的线粒体功能异常可能在多个方面影响神经元的存活。

## 2 线粒体损伤所致的钙稳态失衡在 ALS 发病中的作用

钙离子稳态的破坏在 ALS 的发病机制中起着重要的作用。钙离子的失稳态主要是由于细胞膜对钙离子的高通透性和细胞对钙离子的清除减少所致,线粒体、内质网等细胞器和钙离子结合蛋白一起组成的细胞内钙离子缓冲调节系统在 ALS 患者细胞内的功能障碍已经被广泛的报道<sup>[17-18]</sup>。目前发现,在携带 TDP-43<sup>M337V</sup> 突变和 *C9orf72* 突变的由 ALS 患者 iPSCs 分化的运动神经元中,线粒体从胞质中吸收钙离子的能力下降,导致细胞质在神经元兴奋后更难以回到静息时的钙离子水平,而持续的高钙离子水平会造成神经元的损伤<sup>[18]</sup>。这种钙离子转运功能的下降很可能是因为两种调节钙离子转运体蛋白活性因子的比例失衡所致<sup>[18]</sup>,这种改变有可能和前述 TDP-43 蛋白聚集体和 *C9orf72* 蛋白水平降低导致线粒体蛋白水平失衡有关。

## 3 线粒体介导的炎症反应失控在 ALS 发病中的作用

神经炎症反应是 ALS 的典型病理改变之一,已发现多种 ALS 致病基因都和异常活化的神经炎症反应有关。比如细胞内的一种识别胞质内双链 DNA 的固有免疫机制——cGAS/STING 信号通路受 *C9orf72* 蛋白的负向调节,在 *C9orf72* 基因突变的患

者中,C9orf72蛋白的缺乏会导致炎症反应的异常活化<sup>[19]</sup>。大多数的散发ALS患者致病基因不明,其运动神经元的炎症反应异常激活可能和细胞内广泛存在的TDP-43蛋白聚集体有关<sup>[20]</sup>。TDP-43蛋白聚集体不仅存在于胞质,也可进入线粒体基质,阻止其在线粒体的聚集,可延缓小鼠运动和认知功能的下降<sup>[21]</sup>。TDP-43蛋白进入到线粒体的过程造成线粒体DNA(mtDNA)向胞质的释放,后者促发cGAS/STING信号通路,导致下游以IFN $\beta$ 、TNF和IL6为代表的炎症反应,从而造成运动神经元的死亡<sup>[20]</sup>。以上这些说明线粒体损伤在cGAS/STING信号通路所介导的炎症反应中起着至关重要的始发作用,TDP-43蛋白聚集体通过诱发线粒体DNA的释放启动细胞炎症反应,造成运动神经元死亡,这可能是ALS患者中普遍存在的一种神经元死亡机制。

#### 4 线粒体自噬障碍在ALS发病中的作用

衰老或损伤的线粒体需要通过线粒体自噬作用被及时清除才能保证细胞的正常功能。线粒体自噬的异常存在于ALS的患者和动物模型中,目前对于线粒体自噬作用在疾病状态中是增强还是减弱仍存在争议。超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, SOD1)的ALS相关突变蛋白可以通过结合线粒体自噬的关键蛋白Optineurin影响其正常功能,减弱线粒体自噬作用,造成线粒体自噬障碍和神经损伤,并加速了ALS动物模型的死亡<sup>[22]</sup>。蛋白激酶TBK1也参与到线粒体的自噬过程中,当ALS相关突变可以同时影响其激酶活性和二聚化功能时,会显著影响其在线粒体周围的聚集和其介导的线粒体自噬过程<sup>[23]</sup>。但过度增强的自噬作用同样被发现于SOD1和TARDBP突变的ALS患者的细胞和动物模型中<sup>[24]</sup>。当用药物诱导TDP-43<sup>WTxQ331K</sup>小鼠体内的线粒体自噬

作用后,小鼠体内的神经元丢失更加显著,且疾病进展更迅速,提示过度增强的自噬作用对于神经元同样有伤害<sup>[25]</sup>。所以线粒体自噬的异常虽然会影响ALS的起病和进展,但是其具体的机制还有待进一步探索。

#### 5 问题与展望

ALS作为一种年龄相关的神经退行性疾病,晚期起病的特点让研究人员希望找到一种损伤累积模型。不断产生氧自由基的线粒体一直是损伤累积模型的重点之一。本文总结了近年来有关线粒体在ALS发病机制中作用的研究进展,其机制包括线粒体氧化应激正反馈、线粒体诱导的细胞炎症反应、电子传递链复合体的不稳定、钙离子转运功能障碍、线粒体蛋白水平失稳态和线粒体自噬功能异常等。这些机制之间相对独立又相互联系,共同导致了神经元细胞的死亡。比如C9orf72突变所致的线粒体电子传递链的缺陷造成患者体内更高水平的氧化应激,氧化应激损伤会触发TDP-43蛋白的聚集,其对核编码的线粒体蛋白表达的影响会进一步加剧氧化应激损伤和能量代谢失调,并且可能是钙离子转运体活性下降的原因。进入线粒体的TDP-43蛋白进一步诱发mtDNA的释放,起始下游的炎症反应。线粒体自噬则是作为线粒体的质量控制机制对损伤的线粒体进行及时清理,中断细胞损伤的过程,对损伤的线粒体清除障碍或者过度清除都会造成神经元损害。综合上述研究结果,TDP-43蛋白聚集体所致的线粒体氧化应激损伤和线粒体损伤诱发的炎症反应可能在ALS的发病中起关键的作用。这些机制是否也存在于ALS患者中还需要更多的研究加以证实,在线粒体诱发的细胞损伤过程的起始阶段进行阻断可能是治疗的潜在方向。

#### 参考文献:

- [1] Mifflin L, Hu Z, Dufort C, *et al.* A RIPK1-regulated inflammatory microglial state in amyotrophic lateral sclerosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118: e2025102118. doi: 10.1073/pnas.2025102118.
- [2] Deng Z, Lim J, Wang Q, *et al.* ALS-FTLD-linked mutations of SQSTM1/p62 disrupt selective autophagy and NFE2L2/NRF2 anti-oxidative stress pathway [J]. Autophagy, 2020, 16: 917-931. doi: 10.1080/15548627.2019.1644076.
- [3] Marmor-Kollet H, Siany A, Kedersha N, *et al.* Spatio-temporal proteomic analysis of stress granule disassembly using APEX reveals regulation by SUMOylation and links to ALS pathogenesis [J]. Mol Cell, 2020, 80: 876-891 e6. doi: 10.1016/j.molcel.2020.10.032.

- [4] Bharath LP, Agrawal M, McCambridge G, *et al.* Metformin enhances autophagy and normalizes mitochondrial function to alleviate aging-associated inflammation [J]. *Cell Metab*, 2020, 32: 44-55 e6. doi: 10.1016/j.cmet.2020.04.015.
- [5] Singh T, Jiao Y, Ferrando LM, *et al.* Neuronal mitochondrial dysfunction in sporadic amyotrophic lateral sclerosis is developmentally regulated [J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 18916. doi: 10.1038/s41598-021-97928-7.
- [6] Hor JH, Santosa MM, Lim VJW, *et al.* ALS motor neurons exhibit hallmark metabolic defects that are rescued by SIRT3 activation[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28: 1379-1397. doi: 10.1038/s41418-020-00664-0.
- [7] Sassani M, Alix JJ, McDermott CJ, *et al.* Magnetic resonance spectroscopy reveals mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Brain*, 2020, 143: 3603-3618. doi: 10.1093/brain/awaa340.
- [8] Cheong A, Archambault D, Degani R, *et al.* Nuclear-encoded mitochondrial ribosomal proteins are required to initiate gastrulation [J]. *Development*, 2020, 147: dev188714. doi: 10.1242/dev.188714.
- [9] Wynne ME, Lane AR, Singleton KS, *et al.* Heterogeneous expression of nuclear encoded mitochondrial genes distinguishes inhibitory and excitatory neurons [J]. *eNeuro*, 2021, 8: ENEURO.0232-21.2021. doi: 10.1523/ENEURO.0232-21.2021.
- [10] Altman T, Ionescu A, Ibraheem A, *et al.* Axonal TDP-43 condensates drive neuromuscular junction disruption through inhibition of local synthesis of nuclear encoded mitochondrial proteins [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 6914. doi: 10.1038/s41467-021-27221-8.
- [11] Mao F, Robinson JL, Unger T, *et al.* TMEM106B modifies TDP-43 pathology in human ALS brain and cell-based models of TDP-43 proteinopathy [J]. *Acta Neuropathol*, 2021, 142: 629-642. doi: 10.1007/s00401-021-02330-2.
- [12] Zuo X, Zhou J, Li Y, *et al.* TDP-43 aggregation induced by oxidative stress causes global mitochondrial imbalance in ALS[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2021, 28: 132-142. doi: 10.1038/s41594-020-00537-7.
- [13] DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, *et al.* Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS[J]. *Neuron*, 2011, 72: 245-56. doi: 10.1016/j.neuron.2011.09.011.
- [14] Mehta AR, Gregory JM, Dando O, *et al.* Mitochondrial bioenergetic deficits in C9orf72 amyotrophic lateral sclerosis motor neurons cause dysfunctional axonal homeostasis[J]. *Acta Neuropathol*, 2021, 141: 257-279. doi: 10.1007/s00401-020-02252-5.
- [15] Liu Y, Wang T, Ji YJ, *et al.* A C9orf72-CARM1 axis regulates lipid metabolism under glucose starvation-induced nutrient stress[J]. *Genes Dev*, 2018, 32: 1380-1397. doi: 10.1101/gad.315564.118.
- [16] Wang T, Liu H, Itoh K, *et al.* C9orf72 regulates energy homeostasis by stabilizing mitochondrial complex I assembly[J]. *Cell Metab*, 2021, 33: 531-546 e9. doi: 10.1016/j.cmet.2021.01.005.
- [17] Nahm M, Lim SM, Kim YE, *et al.* ANXA11 mutations in ALS cause dysregulation of calcium homeostasis and stress granule dynamics [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eaax3993. doi: 10.1126/scitranslmed.aax3993.
- [18] Dafinca R, Barbagallo P, Farrimond L, *et al.* Impairment of mitochondrial calcium buffering links mutations in C9ORF72 and TARDBP in iPSC-derived motor neurons from patients with ALS/FTD [J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 14: 892-908. doi: 10.1016/j.stemcr.2020.03.023.
- [19] Mccauley ME, O'Rourke JG, Yáñez A, *et al.* C9orf72 in myeloid cells suppresses STING-induced inflammation [J]. *Nature*, 2020, 585: 96-101. doi: 10.1038/s41586-020-2625-x.
- [20] Yu CH, Davidson S, Harapas CR, *et al.* TDP-43 triggers mitochondrial DNA release via mPTP to activate cGAS/STING in ALS[J]. *Cell*, 2020, 183: 636 - 649. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.020.
- [21] Wang W, Arakawa H, Wang L, *et al.* Motor-coordinative and cognitive dysfunction caused by mutant TDP-43 could be reversed by inhibiting its mitochondrial localization[J]. *Mol Ther*, 2017, 25: 127-139. doi: 10.1016/j.ymthe.2016.10.013.
- [22] Tak YJ, Park JH, Rhim H, *et al.* ALS-related mutant SOD1 aggregates interfere with mitophagy by sequestering the autophagy receptor optineurin [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7525. doi: 10.3390/ijms21207525.
- [23] Harding O, Evans CS, Ye J, *et al.* ALS- and FTD-associated missense mutations in TBK1 differentially disrupt mitophagy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118: e2025053118. doi: 10.1073/pnas.2025053118.
- [24] Maestro I, De La Ballina LR, Porras G, *et al.* Discovery of mitophagy inhibitors with therapeutic potential in different familial amyotrophic lateral sclerosis mutations[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 12676. doi: 10.3390/ijms232012676.
- [25] Perera ND, Tomas D, Wanniarachchillage N, *et al.* Stimulation of mTOR-independent autophagy and mitophagy by rilmenidine exacerbates the phenotype of transgenic TDP-43 mice[J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 154: 105359. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105359.